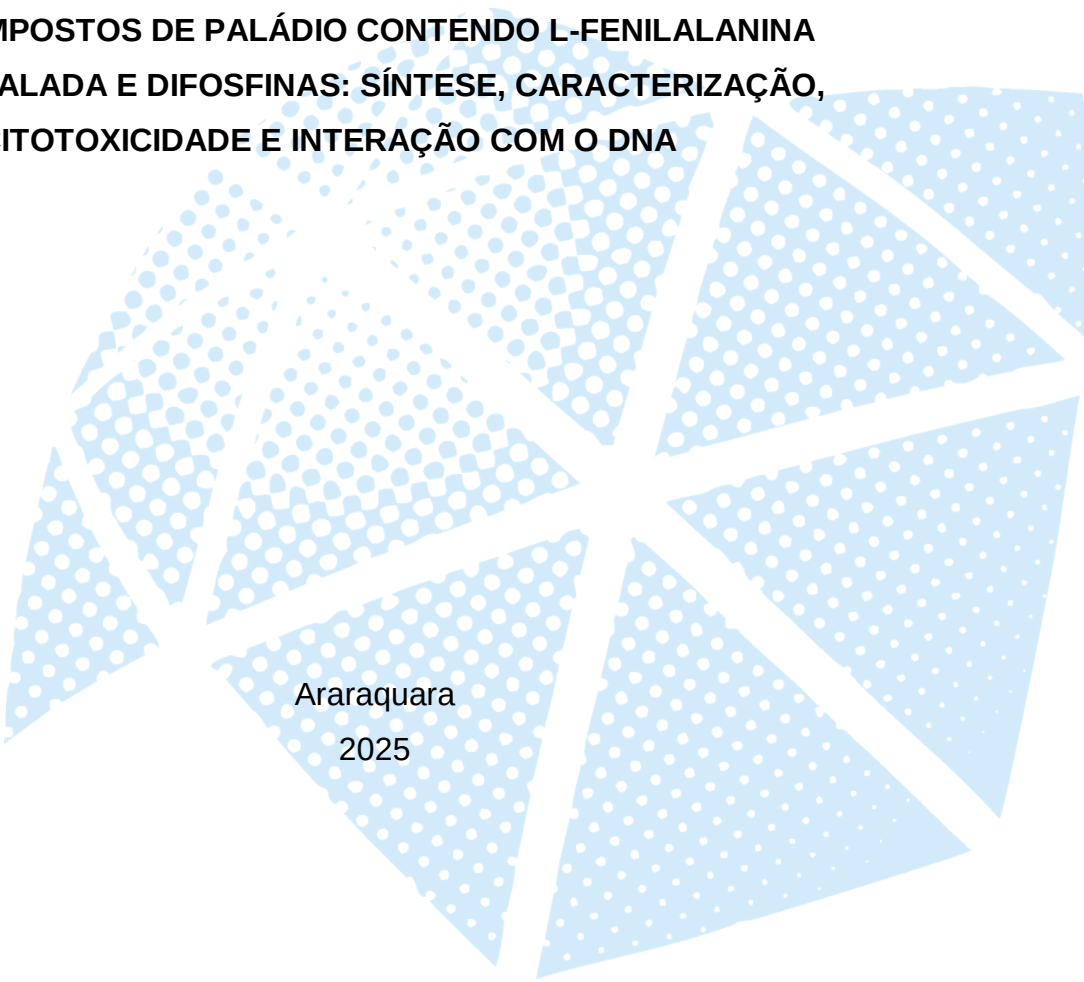


|UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

GABRIEL DE FREITAS MARTINS

**COMPOSTOS DE PALÁDIO CONTENDO L-FENILALANINA
CICLOMETALADA E DIFOSFINAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO,
CITOTOXICIDADE E INTERAÇÃO COM O DNA**

Araraquara
2025



GABRIEL DE FREITAS MARTINS

**COMPOSTOS DE PALÁDIO CONTENDO L-FENILALANINA
CICLOMETALADA E DIFOSFINAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO,
CITOTOXICIDADE E INTERAÇÃO COM O DNA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração:

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Coorientador(a): Dr. Thales Reggiani de Moura

Araraquara

2025

M386c	Martins, Gabriel de Freitas Compostos de paládio contendo l-fenilalanina ciclometalada e difosfinas: : síntese, caracterização, citotoxicidade e interação com o DNA / Gabriel de Freitas Martins. -- Araraquara, 2026 124 p. : il., tabs. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto Coorientador: Thales Reggiani de Moura 1. Câncer. 2. Paládio. 3. Citotoxicidade. 4. Compostos organometálicos. 5. Aminoácidos. I. Título.
-------	---

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A presente pesquisa dedica-se à investigação e compreensão das propriedades físico-químicas e biológicas de novos potenciais metalofármacos à base de paládio. O estudo busca expandir o conhecimento científico sobre alternativas aos quimioterápicos tradicionais, como a cisplatina e seus análogos, focando na busca por novos complexos dotados de mecanismos de ação mais seletivos. Ao prospectar novas rotas sintéticas e avaliar os efeitos desses complexos em células tumorais, este trabalho visa contribuir para o aumentar nosso conhecimento sobre novas moléculas de potencial interesse em saúde pública. Assim, a pesquisa promove o fortalecimento da infraestrutura científica nacional, alinhando-se aos objetivos de Ciência, Tecnologia e Inovação contidos na ODS 3 (Saúde e Bem-Estar) e na ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura), ao fornecer subsídios fundamentais para o desenvolvimento futuro de terapias mais seguras.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research is dedicated to investigating and understanding the physicochemical and biological properties of new potential palladium-based metallodrugs. The study seeks to expand scientific knowledge about alternatives to traditional chemotherapeutic agents, such as cisplatin and its analogues, focusing on the search for new complexes with more selective mechanisms of action. By prospecting new synthetic routes and evaluating the effects of these complexes on tumor cells, this work aims to contribute to increasing our knowledge about new molecules of potential interest in public health. Thus, the research promotes the strengthening of the national scientific infrastructure, aligning with the Science, Technology and Innovation objectives contained in SDG 3 (Good Health and Well-being) and SDG 9 (Industry, Innovation and Infrastructure), by providing fundamental support for the future development of safer therapies.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Compostos de paládio contendo l-fenilalanina ciclometalada e difosfinas: síntese, caracterização, citotoxicidade e interação com o DNA

AUTOR: GABRIEL DE FREITAS MARTINS

ORIENTADOR: ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO

COORIENTADOR: THALES REGGIANI DE MOURA

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

Documento assinado digitalmente
 **ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO**
Data: 27/01/2026 10:49:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **FILLIPE VIEIRA ROCHA**
Data: 27/01/2026 08:25:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FILIPE VIEIRA ROCHA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Federal de São Carlos - UFSCar - São Carlos

Documento assinado digitalmente
 **RENAN LIRA DE FARIAS**
Data: 26/01/2026 12:47:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RENAN LIRA DE FARIAS (Participação Virtual)
Departamento de Química / Pontifícia Universidade Católica - PUC-Rio - Rio de Janeiro

Araraquara, 26 de janeiro de 2026.

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO	
	GABRIEL DE FREITAS MARTINS 24/09/1996
Nacionalidade	Brasil
Nome em citações bibliográficas:	Martins, G.F G.F., MARTINS.
Endereço profissional	Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Campus de Araraquara Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica Rua Francisco Degni, 55 Quitandinha, Araraquara – SP CEP 14800-900 Telefone: (16) 3301 - 9749
Currículo Lattes	https://lattes.cnpq.br/2107708326884491
FORMAÇÃO ACADÊMICA	
2024/2026	Mestrado Acadêmico em Química Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química UNESP Araraquara
2015/2022	Bacharelado Tecnológico em Química Universidade Federal de São Carlos “UFSCar” – Campus São Carlos
FORMAÇÃO COMPLEMENTAR	
Estágio-docência realizado junto à disciplina “Química Inorgânica IV” oferecida aos alunos do 3º ano do curso de Bacharelado em Química da UNESP de Araraquara, período integral, durante o 2º semestre do ano letivo de 2025 e ministrada pelo Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto e Prof. ^a Dr. ^a Marian Davolos.	
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	
MARTINS , Gabriel de Freitas. Compostos orgânicos voláteis (VOCs): caracterização e alternativas de remediação. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/handle/20.500.14289/16997 .	
PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS	

48^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 11., 2025, (Campinas). Synthesis and Biological Studies on a new Palladium (II) compound containing orthometallated Methyl Ester of LPhenylalanine and cis-1,2-bis(diphenylphosphino)ethylene. 2025 (Poster).

48^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 11., 2025, (Campinas). Workshop: Descoberta de Fármacos Colaborativa no Brasil: Desafios e oportunidades . 2025. (Workshop).

Dedico este trabalho a todos que
estiveram ao meu lado, apoiando esta
jornada

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto, pela paciência e ajudas constantes, pelas ideias e compreensão, bem como pela amizade ao longo desses 2 anos.

Ao Thales pelos auxílios no laboratório e na resolução dos resultados.

A Andresa e ao Wladimir, por todo apoio nos ensaios biológicos e nas sínteses

A todos os colegas do grupo de Química de Coordenação e Organometálicos, por todo o auxílio oferecido desde o início da minha trajetória no grupo e pelas conversas descontraídas que tornaram a convivência ainda mais agradável.

Ao Rafael, agradeço pela amizade construída ao longo dos anos, pela ajuda inestimável com os espectros de infravermelho.

Ao Nivaldo, Uenifer e Lidiane, pelos auxílios com os espectros de RMN.

Aos meus pais, Fátima e Wagner, o meu mais sincero obrigado, o apoio e confiança foram essenciais nessa etapa. Sem vocês não seria possível.

A minha namorada Talila, por confiar e apoiar essa conquista.

Aos meus familiares que me apoiaram nessa jornada

Aos meus amigos de anos, que estão sempre apoiando e felizes pelas minhas conquistas.

Ao Instituto de Química da UNESP, agradeço pela infraestrutura essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

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

À FAPESP, pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2022/14041-0, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa (processo 306467/2022-4).

“É mundão, seu filho venceu o breu
Unifiquei meu corpo ao teu
E já não existe mais "eu".”

(Forfun, 2008, O viajante)

RESUMO

No cenário mundial, o câncer de mama é aquele que apresenta maior incidência, já no Brasil foi estimado, no período de 2023 a 2025, cerca de 74 mil novos casos. Frente a esse tipo de câncer, o SUS adota algumas medidas padronizadas, como a cirurgia e a quimioterapia, porém vem a quimiorresistência, que é um fator chave na ineficiência da quimioterapia do câncer. A resistência intrínseca ou adquirida pelas células tumorais a diferentes quimioterápicos, não relacionados estruturalmente ou mecanisticamente, é definida como o fenômeno de resistência a múltiplas drogas (MDR). O aumento do conhecimento sobre os mecanismos de resistência e o aprimoramento das terapias resultará futuramente em avanços clínicos e na solução do problema da quimiorresistência. A Química Inorgânica Medicinal poderá ocupar um papel importante para vencer esses desafios, proporcionando ferramentas complementares àquelas disponíveis à química orgânica. Compostos inorgânicos e metais podem introduzir novos e únicos mecanismos de ação os quais inexistem para os compostos orgânicos. Logo, novos metalofármacos poderão ser incluídos em terapias combinadas, reduzindo assim a ocorrência da resistência. Dentre os complexos metálicos estudados, os compostos ciclometalados de paládio (II), ou ciclopaladados, estão entre as classes de compostos mais promissores. O objetivo principal deste trabalho consiste na síntese, caracterização, investigação da atividade biológica de complexos inéditos de Paládio (II) de fórmula geral $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(P^{\wedge}P)]Br$; contendo ligante metil-éster da L-Fenilalanina (PheOMe) e difosfinas $\{P^{\wedge}P = \text{cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (cis-dppv), trans-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (trans-dppv), 1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf)}\}$ como co-ligantes. Dentre as reações de clivagem envolvendo o dímero $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(Br)]_2$ e as difosfinas, aquela que envolveu a difosfina cis-dppv resultou no composto mononuclear $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(cis\text{-dppv})]Br$ (**1**). As demais reações envolvendo as outras fosfinas não resultaram em misturas de compostos. Durante as tentativas de purificação do composto **1**, obteve-se o complexo inédito $[Pd(C^2,N\text{-Phe})(cis\text{-dppv})]$ (**2**), o qual foi devidamente caracterizado por espectroscopia de RMN de 1H , ^{13}C e ^{31}P , espectroscopia no IV e espectrometria de massas. A citotoxicidade *in vitro* do complexo **2** foi avaliada pelo método MTT, frente às linhagens celulares tumorais A2780, MDA-MB-231, SKBr-3 e não tumoral MCF-10A, destacando sua maior citotoxicidade frente às células tumorais de mama triplo negativo MDA-MB-231 ($6,58 \pm 0,53 \mu\text{mol L}^{-1}$) em relação ao fármaco padrão cisplatina ($18,93 \pm 1,97 \mu\text{mol L}^{-1}$). Ensaios preliminares de interação com o DNA por ensaios de competição com o Hoechst 33258 e o Laranja de Tiazol (TO) indicaram que o complexo tem baixa tendência em se ligar ao DNA, sugerindo assim que sua atividade deve envolver mecanismos diferentes daquele observado para a cisplatina.

Palavras-chave: Câncer, ciclopaladados, L-Fenilalanina, citotoxicidade, difosfina

ABSTRACT

Worldwide, breast cancer presents the highest incidence rates among malignancies. In Brazil, approximately 74,000 new cases are estimated for the 2023–2025 period. To address this disease, the Brazilian Unified Health System (SUS) adopts standardized protocols, such as surgery and chemotherapy. However, chemoresistance remains a major obstacle, acting as a key factor in the inefficiency of cancer chemotherapy. The intrinsic or acquired resistance of tumor cells to various chemotherapeutic agents that are structurally or mechanistically unrelated is defined as Multidrug Resistance (MDR). Increased understanding of resistance mechanisms and the refinement of therapeutic approaches are expected to lead to future clinical advancements and potential solutions to the challenge of chemoresistance. Medicinal Inorganic Chemistry may play a pivotal role in overcoming these challenges by providing tools that complement those available in organic chemistry. Inorganic compounds and metal-based agents can introduce novel and unique mechanisms of action that are distinct from those of organic compounds. Consequently, new metallodrugs could be incorporated into combination therapies, potentially reducing the incidence of resistance. Among the metal complexes currently under investigation, cyclometallated palladium (II) compounds, or cyclopalladated complexes, represent one of the most promising classes. The primary objective of this work involves the synthesis, characterization, and investigation of the biological activity of novel Palladium (II) complexes with the general formula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{P}^{\wedge}\text{P})]\text{Br}$. These complexes contain the L-Phenylalanine methyl ester ligand (PheOMe) and diphosphines $\text{P}^{\wedge}\text{P} = \text{cis-1,2-bis(diphenylphosphino)ethylene (cis-dppv)}$, $\text{trans-1,2-bis(diphenylphosphino)ethylene (trans-dppv)}$, $\text{1,2-bis(diphenylphosphino)ethane (dppe)}$, $\text{1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene (dppf)}$ as co-ligands. Among the cleavage reactions involving the dimer $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{Br})]_2$ and the diphosphines, the reaction with cis-dppv yielded the mononuclear compound $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{cis-dppv})]\text{Br}$ (**1**). The reactions involving the other phosphines did not yield isolated compounds. During attempts to purify compound **1**, the novel complex $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{cis-dppv})]$ (**2**) was obtained. This complex was fully characterized by ^1H , ^{13}C , and ^{31}P NMR spectroscopy, IR spectroscopy, and mass spectrometry. The *in vitro* cytotoxicity of complex **2** was evaluated using the MTT assay against the tumor cell lines A2780, MDA-MB-231, and SKBr-3, as well as the non-tumor line MCF-10A. The results highlighted its superior cytotoxicity against the triple-negative breast cancer cells MDA-MB-231 ($\text{IC}_{50} = 6.58 \pm 0.53 \mu\text{mol L}^{-1}$) compared to the standard drug cisplatin ($\text{IC}_{50} = 18.93 \pm 1.97 \mu\text{mol L}^{-1}$). Preliminary DNA interaction studies using competition assays with Hoechst 33258 and Thiazole Orange (TO) indicated that the complex exhibits a low tendency to bind to DNA, suggesting that its biological activity involves mechanisms distinct from those observed for cisplatin.

Keywords: Cancer, cyclopalladated, L-phenylalanine, cytotoxicity, di-phosphine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Etapas da carcinogênese e evolução do fenótipo maligno. No estágio de **iniciação**, ocorrem modificações genéticas irreversíveis por agentes carcinogênicos. A **promoção** caracteriza-se pela transformação progressiva das células iniciadas em malignas, mediada por agentes oncopromotores sob exposição prolongada. Por fim, a **progressão** consolida o fenótipo tumoral, apresentando multiplicação celular descontrolada e manifestação clínica da doença.....19

Figura 2: Cronologia e evolução estrutural de metalofármacos de platina (II). Destacam-se os fármacos de uso global (Cisplatina, Carboplatina e Oxaliplatina) e de uso regional no mercado asiático (Nedaplatina, Heptaplatina e Lobaplatina).25

Figura 3: Mecanismo de ativação e citotoxicidade da cisplatina. O complexo ingressa na célula majoritariamente por difusão passiva, sofrendo aquação devido aos baixos níveis citosólicos de $[Cl^-]$ e formando adutos com o DNA que induzem à apoptose.....27

Figura 4: Reação hipotética envolvendo a aquação de um complexo contendo o ligante quelante etilenodiamina (en).....30

Figura 5: Estrutura molecular da Padeliporfirina (WST09). Complexo de paládio (II) de aplicação clínica em Terapia Fotodinâmica (PDT) vascular-dirigida para o tratamento de câncer de próstata.....31

Figura 6: Ilustração da reação de aquação envolvendo um complexo cis- $[Pt(PPh_3)Cl(L)]$32

Figura 7: Estrutura molecular de um complexo ciclopaladado de paládio (II). A imagem destaca a formação do anel quelato através da ligação covalente carbono-metal (Pd-C), que confere alta estabilidade termodinâmica ao composto em comparação aos complexos de coordenação convencionais.....33

Figura 8: Valores de IC₅₀ de compostos organometálicos mono e binucleares de Pd(II) contendo difosfinas frente às linhagens de células tumorais humanas C6 (glioma cerebral), Hep-2 (orofaringe) e HeLa(cólon de útero).....34

Figura 9: Representação do $[Pd_2(C^2,N-S(-)dmpa)_2(\mu-dppe)Cl_2]$. Representação estrutural do complexo binuclear de paládio (II) $[Pd_2(C^2,N-S(-)dmpa)_2(\mu-dppe)Cl_2]$. A estrutura ilustra o núcleo bimetálico unido pela ponte da difosfina 1,2-bis(difenilfosfina)etano ($\mu-dppe$), mantendo as unidades ciclopaladadas derivadas da N,N-dimetil-1-feniletilamina (dmpa) em coordenação quelato.35

Figura 10: Representação estrutural do complexo binuclear de paládio (II) $[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-S}(-)\text{dmpa})_2(\mu\text{-dppf})\text{Cl}_2]$. A estrutura ilustra o núcleo bimetálico unido pela ponte da difosfina 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno ($\mu\text{-dppf}$), mantendo as unidades ciclopaladadas derivadas da N,N-dimetil-1-feniletilamina (dmpa) em coordenação quelato.....35

Figura 11: Proposta do mecanismo de ação citotóxica do complexo **7b** em células K562. O composto promove a oxidação de grupamentos tióis (-SH) proteicos em pontes dissulfeto (-S-S-) na mitocôndria, processo revertido por agentes redutores (DTT, GSH e NAC). Esta interação desencadeia disfunção mitocondrial, liberação de citocromo c e ativação da cascata de caspases, culminando em morte por apoptose.36

Figura 12: Representação estrutural do complexo catiônico $[\text{Pd}(\text{S}(-)\text{C}^2, \text{N-dmpa})(\text{dppf})]\text{Cl}$. A imagem destaca a coordenação bidentada do ligante 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (**dppf**) ao centro de paládio(II) estabilizado pela unidade ciclopaladada quelato.....37

Figura 13: Estruturas de complexos ciclopaladados contendo α -aminoácidos como ligantes auxiliares. A imagem ilustra a coordenação bidentada do aminoácido ao centro de paládio (II) via grupamentos amina (-NH) e carboxilato (-COO⁻), formando anéis quelatos estáveis.39

Figura 14: Representação estrutural dos complexos binucleares **Pd1**, **Pd2** e **Pd3**. A série ilustra centros de paládio(II) unidos pela ponte nitrogenada 4,4'-bipiridina, coordenados a diferentes α -aminoácidos (glicina, alanina e metionina) via anéis quelatos estáveis.....41

Figura 15: Representação estrutural de complexos mononucleares de paládio (II) do tipo $[\text{PdCl}(\text{C-N})(\text{PPh}_3)]$. A série destaca a coordenação de ligantes bidentados ciclopaladados (C-N), estabilizados pela presença da trifenilfosfina (PPh_3) e um ligante cloreto terminal, apresentando variações nos substituintes R_1 , R_2 e na isomeria (endo/exo).45

Figura 16: Representação estrutural dos complexos binucleares de paládio (II) derivados da valina. A série ilustra as variações nas pontes de difosfina, destacando a conectividade via ligantes alquílicos (**1b** e **1c**) e a ponte organometálica de ferroceno (**4b**) unindo as unidades ciclopaladadas.46

Figura 17: Representação estrutural do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{PTA})(\text{Br})]$. A estrutura destaca o centro de paládio (II) em geometria

quadrática plana, coordenado ao ligante ciclometalado fenilalanina metil éster (LFME) e a fosfina terciária PTA (1,3,5-triaza-7-fosfa-adamantano).....47

Figura 18: Representação da hipótese de substituição do ligante PTA por difosfinas bidentadas ($P^{\wedge}P$). O esquema ilustra a conversão do complexo neutro $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(PTA)(Br)]$ em uma espécie catiônica quelato, visando modular a estabilidade e a reatividade biológica do centro metálico.....49

Figura 19: Reação de neutralização do cloridrato de fenilalanina metil éster com Na_2CO_3 . O processo promove a desprotonação do grupamento amônio (NH_3^+), viabilizando sua coordenação como ligante ao centro de paládio(II).51

Figura 20: Reação de síntese do sal de triflato de fenilalanina metil éster (PheOMe-OTf). O esquema ilustra a protonação da amina livre pelo ácido trifluorometanossulfônico, resultando na formação do par iônico amônio/triflato estável.52

Figura 21: Reação de formação do precursor catiônico de paládio (II) em acetonitrila. O esquema ilustra a ciclo-paladação do aminoácido, resultando na espécie estável com o contra-íon triflato (OTf).52

Figura 22: Reação de síntese do dímero D1 via metátese de sais em acetona. O esquema ilustra a conversão do precursor catiônico na espécie neutra $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe}(\mu\text{-Br}))_2]$ através da substituição dos ligantes acetonitrila por pontes de brometo.53

Figura 23: Espectro de RMN de 1H em solução de DMSO- d_6 do sal Phe-OMe-OTf. Os sinais confirmam a integridade do aminoácido protonado, destacando o singlete dos hidrogênios metoxílicos em 3,69 ppm e o padrão de deslocamentos na região aromática (7,21–7,38 ppm)57

Figura 24: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio para o sal Phe-OMe-OTf. A atribuição numérica orienta a interpretação dos sinais nos espectros de RMN, correlacionando os deslocamentos químicos à estrutura do aminoácido.57

Figura 25: Esquema representativo dos prótons diastereotópicos do grupo CH_2 benzílico. A formação do centro quiral adjacente torna os hidrogênios H_α e H_β quimicamente não equivalentes, resultando em padrões de acoplamento distintos observáveis no espectro de RMN de 1H58

Figura 26: Ampliação da região aromática (7,00–7,55 ppm) do espectro de RMN de 1H (DMSO- d_6) do sal Phe-OMe-OTf. O padrão de multipletos e as

integrações (2:1:2) confirmam a presença dos cinco núcleos de hidrogênio do anel fenila.....59

Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero **D1**. Os sinais confirmam a formação da unidade ciclopaladada, destacando a diferenciação química dos prótons aromáticos e a manutenção do grupo éster metílico em 3,64 ppm após a coordenação ao centro de paládio (II).....60

Figura 28: Ampliação da região aromática (6,75–7,45 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero **D1**. O padrão de desblindagem confirmam a orto-metalacão do anel fenila, evidenciando a formação da ligação covalente (Pd-C).....61

Figura 29: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio para o dímero **D1**. A atribuição numérica permite correlacionar os sinais observados no espectro de RMN à estrutura binuclear.....61

Figura 30: Ampliação da região alifática (2,80–4,55 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero **D1**. Os sinais confirmam a presença do grupo éster metílico em 3,64 ppm e a não equivalência química dos prótons do sistema benzílico e do carbono alfa.....62

Figura 31: Ampliação da região aromática (6,10–7,90 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero **D1**.63

Figura 32: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do ligante livre cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (cis-dppv). Os sinais concentrados na região de 7,25–7,35 ppm confirmam a equivalência química dos núcleos de hidrogênio dos anéis fenila.64

Figura 33: Representação do plano de simetria no ligante livre cis-dppv. A simetria molecular torna os núcleos de hidrogênio H_α e H_β e de fósforo quimicamente equivalentes, resultando na simplificação dos sinais observados nos espectros de RMN do ligante não coordenado.....65

Figura 34: Espectro de RMN de ^{31}P (CDCl_3) do ligante livre cis-dppv. A presença de um sinal único e intenso em -23,39 ppm confirma a equivalência química e magnética dos dois núcleos de fósforo na estrutura.66

Figure 35: Reação de clivagem do dímero **D1** pelo ligante difosfina cis-dppv em acetona. O esquema ilustra a formação do complexo catiônico monometalado $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{cis-dppv})]\text{Br}$, resultante da substituição das pontes de brometo pelo ligante quelato sob atmosfera inerte.....66

Figura 36: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do sólido **1**. A sobreposição e o desdobramento dos sinais na região aromática (7,00–7,86 ppm) confirmam a coordenação do ligante *cis*-dppv ao centro de paládio (II).67

Figura 37: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio e carbono para o sólido **1**. A atribuição numérica permite a correlação sistemática dos sinais observados nos espectros de RMN de ^1H à estrutura do metalociclo quelato e aos grupos fenila dos ligantes coordenados.68

Figura 38: Ampliação da região aromática (5,90–8,30 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do sólido **1**. A atribuição dos sinais de **H4** a **H7** confirma a manutenção da unidade ciclopaladada.69

Figura 39: Espectro de RMN de ^{31}P (CDCl_3) do sólido **1**. A observação de dois dubletos em 48,71 e 56,84 ppm confirma a coordenação bidentada do ligante *cis*-dppv e a quebra do plano de simetria molecular, resultando em dois ambientes químicos de fósforo não equivalentes.70

Figura 40: Reação de hidrólise básica do sólido **1** para a obtenção do complexo **2**. O esquema ilustra a conversão do éster metílico em grupamento carboxilato ($-\text{COO}^-$) via tratamento com solução de KOH 10%, resultando em uma espécie molecular neutra.71

Figura 41: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio e carbono para o complexo **2**. A atribuição numérica, incluindo os novos centros quaternários identificados em vermelho (**q1** a **q4'**), permite a correlação sistemática dos sinais de RMN à estrutura neutra após a hidrólise do éster.72

Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do complexo **2**. O desaparecimento do sinal intenso em ~4,05 ppm e a manutenção dos multipletos aromáticos e alifáticos confirmam a hidrólise do grupo éster para carboxilato.73

Figura 43: Ampliação do Espectro de RMN de ^1H na região de 6,10 – 7,80 ppm do composto **2** em solução de $\text{CHCl}_3\text{-d}$. Ampliação da região aromática (6,10–7,80 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do complexo **2**. Os sinais confirmam a preservação da ligação (Pd-C) após a hidrólise, destacando os prótons do anel metalocíclico (H4-H7).74

Figura 44: Representação do efeito de anisotropia magnética exercido pelos anéis fenila do ligante *cis*-dppv sobre os prótons do aminoácido. O esquema ilustra como os cones de blindagem (–) e desblindagem (+) influenciam os deslocamentos

químicos observados, justificando o sinal de **H7** em campo mais alto (6,23 ppm) devido à sua proximidade com a nuvem eletrônica π das fosfinas.....75

Figura 45: Ampliação da região alifática (2,80–4,20 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do complexo 2. O desaparecimento do singlete intenso em ~4,05 ppm confirma a hidrólise completa do grupo éster para carboxilato. Os multipletos em 3,56 ppm (H2) e 3,19 ppm (H3) evidenciam a preservação do anel metalocíclico.....76

Figura 46: Espectro de RMN 1D NOESY do complexo 2 (CDCl_3) com irradiação no sinal de H7 (6,22 ppm). A observação de correlações espaciais com o próton H6 (6,55 ppm) e com os hidrogênios das fenilas da fosfina (~7,30 ppm) comprova a vizinhança espacial entre a unidade ciclopaladada e o ligante *cis*-dppv.....77

Figura 47: Espectro de RMN 1D NOESY do complexo 2 (CDCl_3) com irradiação no sinal de H6 (6,55 ppm). A observação de correlações espaciais positivas com os prótons vizinhos H5 (6,94 ppm) e H7 (6,22 ppm) confirma a atribuição sequencial dos núcleos de hidrogênio no anel aromático do aminoácido.....78

Figura 48: Mapa de contorno de HSQC ^1H - ^{13}C para o complexo 2. O espectro correlaciona os deslocamentos químicos dos prótons aos respectivos carbonos, permitindo a atribuição inequívoca dos centros CH, CH_2 e CH_3 da estrutura organometálica.....79

Figura 49: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio e carbono para o complexo 2. A atribuição numérica, incluindo os novos centros quaternários identificados em vermelho (q1 a q4'), permite a correlação sistemática dos sinais de RMN à estrutura resultante da hidrólise do grupo éster.80

Figura 50: Ampliação da região alifática do mapa de contorno HSQC (CDCl_3) do complexo 2. O espectro evidencia as correlações diretas entre o carbono alfa (C2) e seu respectivo hidrogênio (H2), bem como as correlações dos prótons diastereotópicos (H3) com o carbono benzílico (C3).....81

Figura 51: Ampliação da região aromática do mapa de contorno HSQC (CDCl_3) do complexo 2. O espectro permite a correlação inequívoca dos sinais de H4 a H7 aos seus respectivos carbonos no anel orto-metalado, além de mapear a densa região de correlações das fenilas do ligante difosfina.82

Figura 52: Mapa de contorno HMBC (CDCl_3) para o complexo 2. O espectro revela correlações a longa distância ($^2\text{J}_{\text{CH}}$ e $^3\text{J}_{\text{CH}}$), permitindo a atribuição inequívoca dos carbonos quaternários, que não são observados no mapa HSQC.....83

Figura 53: Ampliação do mapa de contorno HMBC (^1H - ^{13}C) δ (CDCl_3) do complexo 2. O espectro destaca as correlações a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) que permitem a atribuição inequívoca dos carbonos quaternários q1, q2, q3, q4 e q4'. ...84

Figura 54: Representação das correlações heteronucleares a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) observadas no mapa HMBC para o complexo 2. As setas coloridas ilustram as conectividades entre os hidrogênios e os carbonos quaternários, permitindo o mapeamento completo do esqueleto molecular, desde o grupo carboxilato (q1) até os centros *ipso* das fenilas da fosfina (q4 e q4').85

Figura 55: Representação das correlações heteronucleares a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) observadas no mapa HMBC para os carbonos aromáticos do fragmento do aminoácido no complexo 2. O esquema detalha as conectividades entre os carbonos e seus respectivos hidrogênios vizinhos, permitindo o mapeamento inequívoco da unidade ciclopaladada.86

Figura 56: Espectro de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3) do complexo 2. A presença de dois dubletos em 48,47 e 57,40 ppm confirma a coordenação bidentada do ligante cis-dppv a um centro metálico assimétrico, mantendo o perfil observado no precursor catiônico 1.88

Figura 57: Esquema reacional para a síntese do Sólido 3. A reação envolve o precursor dimérico bimetálico com o ligante bidentado trans-1,2-bis(difenilfosfina)etileno (trans-dppv), visando a obtenção de uma nova espécie organometálica de paládio(II).89

Figura 58: Espectro de RMN ^{31}P (CDCl_3) do sólido 3. A predominância de um singlete intenso em 28,35 ppm sugere uma simetria superior ou uma dinâmica molecular distinta em comparação aos dubletos observados para os complexos com a difosfina cis.....90

Figura 59: Representação estrutural do sólido 3. A estrutura sugere a formação de uma espécie onde o ligante trans-1,2-bis(difenilfosfina)etileno (trans-dppv) atua como uma ponte entre dois centros de paládio (II) ciclopaladados, mantendo a coordenação do aminoácido e preservando os átomos de bromo em cada centro metálico.91

Figura 60: Esquema reacional para a síntese do Sólido 4. A reação envolve o tratamento do precursor dimérico com o ligante bidentado 1,2-bis(difenilfosfina)etano (dppe), visando a obtenção de uma nova espécie organometálica de paládio (II). ...91

Figura 61: Espectro de RMN ^{31}P (CDCl_3) do sólido 4. A observação de um sinal majoritário em 31,30 ppm sugere a formação de um complexo onde os núcleos de fósforo do ligante dppe encontram-se em ambientes magnéticos muito próximos ou equivalentes, perfil distinto dos dubletos observados para os complexos com a difosfina cis-dppv.....92

Figura 62: Esquema representativo do equilíbrio químico dinâmico sugerido para as espécies formadas na reação entre o precursor dimérico e o ligante dppe em solução. A representação ilustra a interconversão entre espécies mononucleares, bimetalicas e possíveis isômeros de coordenação, justificando a multiplicidade de sinais observada no espectro de RMN de ^{31}P93

Figura 63: Esquema reacional para a síntese do Sólido 5. A reação envolve o tratamento do precursor dimérico o ligante bidentado 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), visando a obtenção de uma nova espécie organometálica de paládio(II).93

Figura 64: Espectros de absorção na região do infravermelho ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) para o ligante livre (Phe-OMe), o precursor dimérico (Dímero), o sólido 1 e o complexo 2. A análise comparativa evidencia a coordenação do aminoácido ao centro de paládio e a subsequente hidrólise do grupo éster.....94

Figura 65: Espectro de massas (ESI-MS) do complexo 2. O pico majoritário em m/z 666,10 (100%) corresponde ao íon molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$, sendo consistente com a fórmula molecular proposta para a espécie ($\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{P}_2\text{Pd}$). O perfil isotópico observado é característico para complexos contendo um átomo de paládio.97

Figura 66: Espectro de massas (ESI-MS) do complexo 2 obtido em modo positivo. O pico base em m/z 666,10 (100%) corresponde ao íon molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$, sendo consistente com a fórmula molecular proposta ($\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{P}_2\text{Pd}$).98

Figura 67: Espectro de massas simulado para o complexo 2 ($\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{P}_2\text{Pd}$). O padrão de distribuição isotópica teórico para o íon molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ é apresentado para fins de comparação com os dados experimentais obtidos por ESI-MS.....98

Figura 68: Espectros de RMN de ^1H (DMSO-d_6) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.....100

Figura 69: Espectros de RMN de ^{31}P (DMSO-d_6) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil

espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.....101

Figura 70: Espectros de RMN de ^1H ($\text{CHCl}_3\text{-d}$) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.....102

Figura 71: Espectros de RMN de ^{31}P ($\text{CHCl}_3\text{-d}$) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.....103

Figura 72: Representação esquemática do ensaio colorimétrico de viabilidade celular por MTT. O MTT(amarelo) é internalizado pelas células via endocitose e reduzido a cristais de formazan (roxo) pela ação das enzimas desidrogenases mitocondriais em células metabolicamente ativas.....104

Figura 73: Representação esquemática dos modos de interação entre moléculas e a dupla hélice do DNA. As interações são classificadas em não-covalentes (intercalação, interação com sulcos e eletrostática) e covalentes (ligação às bases nitrogenadas ou ao grupo fosfato).106

Figura 74: Representação esquemática do ensaio de competição por fluorescência utilizando o corante Hoeschst 33258. O experimento monitora a capacidade do complexo de deslocar o corante do sulco menor da dupla hélice do DNA, resultando em uma diminuição progressiva da intensidade de emissão de fluorescência.108

Figura 75: Espectro de emissão do aduto Hoechst 33258-DNA na presença de crescentes quantidades do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-L-Phe})(\text{cis-dppv})]$ 2. (0 - 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão tris HCl. $[\text{ct-DNA}] = 60 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $[\text{Hoechst}] = 6 \mu\text{mol L}^{-1}$109

Figura 76: Representação esquemática do ensaio competitivo de fluorescência utilizando o corante Thiazole Orange (TO). O experimento avalia a capacidade do complexo de paládio em deslocar o TO, um intercalador clássico, dos pares de bases da dupla hélice do DNA.....110

Figura 77: Espectro de emissão do aduto TO-DNA na presença de crescentes quantidades do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-L-F})(\text{cis-dppv})]$ 2. (0 – 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão tris HCl. $[\text{ct-DNA}] = 60 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{TO}] = 6 \mu\text{mol L}^{-1}$111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação molecular do câncer de mama baseada em biomarcadores imuno-histoquímicos e diretrizes terapêuticas correspondentes. Estão descritos os subtipos **Luminal A**, **Luminal B**, **HER2-positivo** e **Triplo-Negativo**, correlacionando a expressão de receptores hormonais (RE e RP), a proteína HER2 e o índice de proliferação celular (Ki-67) às abordagens de hormonioterapia, terapia alvo e quimioterapia.....21

Tabela 2: Modalidades de tratamento de câncer de mama adotadas pelo SUS considerando-se os perfis de estadiamentos e os subtipos mais frequentes em uma mulher adulta.....24

Tabela 3: Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol. L}^{-1}$) para a série Pd-aminoácido em linhagens tumorais e não-tumorais (HUVEC). Os dados demonstram a potência citotóxica comparativa frente à cisplatina, destacando a seletividade e eficácia dos complexos de paládio (II) em diferentes fenótipos celulares.40

Tabela 4: Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol. L}^{-1}$) para os complexos Pd1, Pd2 e Pd3 em diferentes tempos de incubação (24, 48 e 72 h). Os dados comparativos com a cisplatina (CP) em linhagens MCF-7, MDA-MB-231 e MRC-5 indicam perfis de citotoxicidade tempo-dependentes e seletividade variável entre células tumorais e não-tumorais.42

Tabela 5: Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol. L}^{-1}$) para ciclometalados de paládio (II) frente à enzima cathepsina B e linhagem tumoral A2780S. Os dados correlacionam a potência de inibição enzimática com a atividade citotóxica, destacando o perfil de eficácia dos complexos 1a, 1b e 1c.....46

Tabela 6: Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol. L}^{-1}$) para o complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{N-PheOMe})(\text{PTA})(\text{Br})]$ em linhagens tumorais e não-tumorais (MRC-5). Os resultados demonstram a eficácia citotóxica seletiva do composto.48

Tabela 7: Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (CDCl_3) para o dímero D1. A tabela correlaciona os deslocamentos químicos (δ), constantes de acoplamento (J), integrais e multiplicidades aos respectivos núcleos de hidrogênio, confirmando a estrutura binuclear e a orto-metalação do sistema.....64

Tabela 8: Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (CDCl_3) para o sólido 1. A tabela correlaciona os deslocamentos químicos (δ), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) aos núcleos de hidrogênio.....69

Tabela 9: Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (CDCl_3) para o complexo 2. A tabela correlaciona os deslocamentos químicos (δ), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) aos núcleos de hidrogênio.....73

Tabela 10: Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3) para o composto 2. A atribuição correlaciona os deslocamentos químicos (δ), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) aos respectivos núcleos de carbono, integrando as evidências obtidas por experimentos bidimensionais (HSQC e HMBC).87

Tabela 11: Dados de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) para o ligante Phe-OMe, precursor dimérico e complexos organometálicos ..96

Tabela 12: Valores de IC_{50} (μmolL^{-1}) obtidos para o complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (2), $[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{PTA})]$ e cisplatina após 48h de incubação .105

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Câncer	18
1.2 Câncer de mama	20
1.3 Quimioterapia com antineoplásicos a base de Platina	25
1.4 Paládio.....	28
1.5 Compostos ciclopaladados contendo difosfinas.....	32
1.6 Complexos de Paládio com Aminoácidos	38
1.7 Ciclopaladados de Aminoácidos e co-ligantes de Fosfinas	44
1.8 Hipótese	47
2 OBJETIVOS	49
2.1 Objetivos específicos	49
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
3.1 Procedência dos solventes e reagentes.....	50
3.2 Instrumentação	50
3.3 Síntese dos precursores	50
3.3.1 Síntese do ligante L1:	51
3.3.2 Síntese do dímero D1:	52
3.4 Síntese dos complexos de paládio (II)	53
3.4.1 Estudo da interação entre o $[PdBr(C^2,N-PheOMe)]_2$ e cis-dppv (reação 1)	53
3.4.2 Síntese do Complexo $[Pd(C^2,N-Phe)(cis-dppv)]$ (2).....	54
3.4.3 Estudo da interação entre o $[PdBr(C^2,N-PheOMe)]_2$ e outras difosfinas...	54
3.5 Ensaio de comportamento em solução	54
3.6 Atividade citotóxica <i>in vitro</i>	55
3.6.1 Diluição do complexo	55
3.6.2 Linhagens celulares	55
3.6.3 Viabilidade celular - Ensaio MTT	55
3.7 Ensaio de competição com Hoechst 33258 e Laranja de Tiazol	56
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	56
4.2 Espectroscopia vibracional na região infravermelho	93
4.3 Espectroscopia de massas	96
4.4 Comportamento em solução	99
4.5 Ensaios Biológicos.....	103
4.5.1 Ensaio da atividade antiproliferativa.....	103
4.5.2 Ensaio de competição com as sondas Hoechst 33258 e TO	105
5 CONCLUSÃO.....	112

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

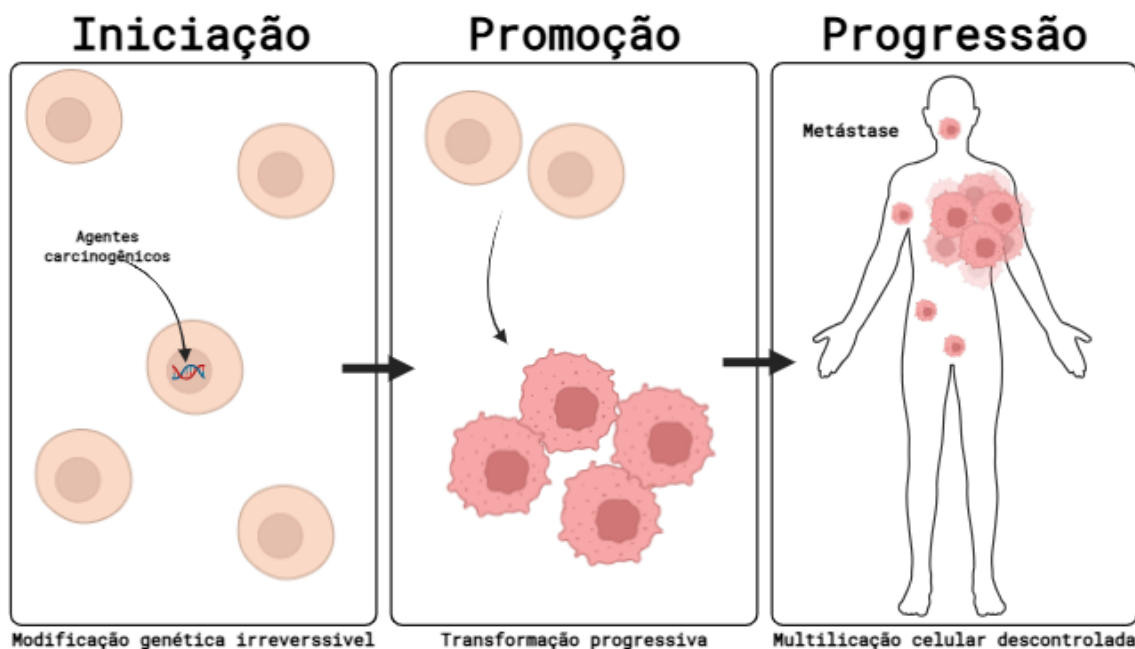
Cerca de 100 tipos de doenças malignas podem ser nomeados de câncer, elas apresentam um comportamento em comum, o crescimento desordenado de células, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos a distância.¹ Sendo um dos principais problema de saúde pública no mundo, figurando como a segunda principal causa de morte no mundo. De acordo com a Organização mundial de saúde (OMS), o câncer é a primeira ou a segunda maior causa de mortes abaixo de 70 anos, dependendo do país, e o impacto e incidência estão aumentando rapidamente no cenário mundial.²

O câncer surge de uma mutação genética, fazendo a célula receber instruções erradas sobre sua atividade. O processo de formação do câncer é chamado de carcinogênese, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa se multiplique e dê origem a um tumor visível.¹

Existem alguns fatores que podem influenciar o aparecimento de câncer, como fatores físicos, exposição à radiação Ultravioleta (UV), fatores químicos, componentes no cigarro e bebidas alcoólicas, e também por fatores biológicos, como infecções virais, HPV.²

A carcinogênese, figura 1, é composta por três estágios, o primeiro é o estágio de iniciação, onde os genes irão sofrer ação dos agentes carcinogênicos, provocando modificações. Nessa fase as células estão geneticamente alteradas, porém, ainda não é possível detectar clinicamente o tumor. O segundo estágio, é o da promoção, as células depois de alteradas, irão sofrer efeito de agente carcinogênicos conhecidos como oncopromotores, assim sendo transformada em maligna, de forma lenta e gradual, para que haja essa transformação é necessário que a célula iniciada permaneça em contato com esse agente por um longo período, muitas vezes interromper esse contato leva ao fim desse processo, alguns desses agentes estão presentes na alimentação e ou na exposição prolongada a hormônios. Por fim, o terceiro estágio é o da progressão, onde a célula irá se multiplicar descontroladamente e de forma irreversível, nesse estágio o câncer já está instalado e é quando é possível observar manifestações clínicas da doença, agentes que atuam nesse estágio são chamados de oncoaceleradores³

Figura 1: Etapas da carcinogênese e evolução do fenótipo maligno. No estágio de **iniciação**, ocorrem modificações genéticas irreversíveis por agentes carcinogênicos. A **promoção** caracteriza-se pela transformação progressiva das células iniciadas em malignas, mediada por agentes oncopromotores sob exposição prolongada. Por fim, a **progressão** consolida o fenótipo tumoral, apresentando multiplicação celular descontrolada e manifestação clínica da doença.



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

No cenário mundial, a OMS, apresenta dados em 2020, que atestam o câncer como causa de morte de cerca de 10 milhões de pessoas, sendo o câncer de mama o mais incidente e o de pulmão o mais mortal. Na região das Américas, em 2022, houve mais de 4,2 milhões de novos casos e há projeção de 60% de aumento até 2045, sendo 6,7 milhões de casos. Cerca de 1,4 milhões de pessoas tiveram como causa de morte o câncer em 2022, das quais 45% ocorreram entre pessoas com 69 anos ou menos, os mais incidentes sendo o de próstata e mama e os mais mortais pulmão e mama. Já no cenário Brasileiro, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou mais de 2 milhões de novos casos no triênio de 2023 a 2025, dentre esses casos, destacam-se 74 mil de câncer de mama e 72 mil de câncer de próstata. Em 2021, o INCA apresentou dados de mortalidade dos tipos de câncer no Brasil, sendo o de Mama o mais mortal para mulheres, com cerca de 18 mil óbitos e o de próstata para homens, com cerca de 16 mil óbitos. Em comparação com o triênio anterior (2020 a 2022), houve um aumento significativo de 625 mil novos casos.^{2,4,5}

1.2 Câncer de mama

As células cancerígenas do câncer de mama são originadas dentro dos ductos mamários ou dos lobos produtores de leite, em estágios iniciais não ameaça a vida e podem ser detectados, se continuarem a evolução podem invadir outros tecidos próximos ao tecido mamário, metástase, como os linfonodos, isso irá criar nódulos ou espaçamentos.⁶

Alguns fatores externos e internos podem influenciar o aparecimento de células cancerígenas nas mamas, como a menopausa tardia, a cada um ano de atraso do início da menopausa, aumenta em 3% o risco de desenvolvimento do tumor.⁷ O estrogênio, tanto endógeno como exógeno, podem aumentar o risco, o endógeno é produzido na pré menopausa pelo ovário e a retirada do mesmo pode reduzir os riscos⁸, já as duas principais fontes do estrogênio exógeno são os anticoncepcionais orais, que se o uso for interrompido por mais de 10 anos o aumento do risco deixa de existir⁹, o outro é a terapia de reposição hormonal (TRH), que de acordo com o estudo da Million Women Study, pode aumentar em 66% o risco de câncer de mama.¹⁰

O fator estilo de vida também pode influenciar fortemente o aparecimento de câncer de mama, a ingestão exagerada de álcool e de gorduras podem aumentar os riscos, a ingestão de 35 a 44 grama de álcool diariamente, pode aumentar o risco de câncer em 32%, pois pode elevar os níveis de hormônios relacionados ao estrogênio no sangue e ativar as vias de recepção do mesmo.^{11,12} E o consumo de gorduras, especialmente a saturada, influencia em 30% a mais a mortalidade de pacientes com câncer de mama.¹³

A hereditariedade é um importante fator epidemiológico (5% a 10% dos cânceres de mama estão relacionados a herança de mutação genética). As alterações em genes, como os da família BRCA, podem aumentar os riscos. Os genes BRCA1 e BRCA2 são genes supressores tumorais, pois estão relacionados com o reparo de DNA, regulação de expressões gênicas e controle do ciclo celular. Estudos mostram que famílias que apresentam diversos casos de câncer de mama na família, 52% delas estão ligadas a BRCA1 e 32% a BRCA2.¹⁴

Em indivíduos portadores de mutações germinativas nos genes BRCA1 e BRCA2, 90% dos casos serão caracterizados como triplo negativo, ou seja, irá apresentar deficiência nos três receptores celulares: o receptor de fatores de

crescimento epidermal (HER2/Erb2), receptor de progesterona (PR) e o receptor de estrógeno (ER).¹⁴

O câncer de mama pode ser classificado em diferentes subclasses, dependendo da expressão de marcadores moleculares específicos, como os já citados ER, PR e HER2.¹⁵ Em geral são divididos em 4 categorias de subtipos, baseado na expressão imuno-histoquímica dos receptores de hormônio, receptor de estrógeno + (ER+), receptor de progesterona positivo (PR+), fator de crescimento epidermal + (HER2+) e o triplo negativo (TN), que é caracterizado por não apresentar expressão de nenhum dos receptores citados anteriormente.¹⁶ Tabela 1

Tabela 1: Classificação molecular do câncer de mama baseada em biomarcadores imuno-histoquímicos e diretrizes terapêuticas correspondentes. Estão descritos os subtipos Luminal A, Luminal B, HER2-positivo e Triplo-Negativo, correlacionando a expressão de receptores hormonais (RE e RP), a proteína HER2 e o índice de proliferação celular (Ki-67) às abordagens de hormonioterapia, terapia alvo e quimioterapia.

Subtipos	Expressão de Biomarcadores	Terapia
Luminal A	ER(+), PR(+), HER2(-), Ki67 < 20%	Hormonal
Luminal B	ER(+), PR baixo, HER2(-), Ki67 > 20%	Hormonal/Químio
HER2	ER e PR baixo, HER2(+), Ki67 (2 tipos)*	Hormonal/Químio/Anti HER2
TN	ER(-), PR(-), HER2(-),	Químio

*: Luminal HER2 - Ki67 15 - 30%; HER2 Enriquecido - Ki67 >30%

Fonte: Autor.

O antígeno Ki67 é um marcador celular que fornece informações sobre a proliferação, as atividades proliferativas determinadas por esse marcador refletem a agressividade do câncer, juntamente com o tratamento e o tempo de recorrência. O Ki67 tem um papel importante na escolha da terapia de tratamento adequada e os possíveis acompanhamentos futuros. Pode também ser considerado um fator de prognóstico, assim como refletir menores taxas de sobrevivência, caso tenha alta expressão.¹⁶

Tumores do subtipo Luminal A são caracterizados por apresentarem PR e/ou ER positivos em conjunto com a falta do HER2, apresenta uma baixa expressão, menor do que 20%, do antígeno Ki67. Clinicamente são de baixo grau, isto é, são menos agressivos, crescem lentamente e apresentam o melhor prognóstico entre os subtipos, apresentam menores riscos de recorrência e a maior taxa de sobrevivência

entre eles. A terapia de tratamento mais comum é a terapia hormonal com tamoxifeno ou inibidores de aromatase. A quimioterapia apresenta menores benefícios no âmbito do tratamento desse subtipo¹⁷, porém ainda pode ser utilizada como tratamento adjuvante. A recorrência desses tumores é mais frequente em níveis ósseos, com taxas menores no sistema nervoso, mesmo em recidivas, esse subtipo apresenta maiores taxas de sobrevivência.¹⁸

Tumores do subtipo Luminal B, se comparados com os Luminal A, são de grau mais alto e apresentam um prognóstico pior. São caracterizados por ter ER positivo, podem apresentar o PR negativo e a expressão do Ki67 é alta, maior que 20%. Geralmente, tumores desse subtipo são de grau histológico intermediário ou alto, isto é, o nível de diferenciação das células para células saudáveis pode ser grande. Elas são mais deformadas, caóticas e se multiplicam em uma velocidade maior e mais desorganizada que as saudáveis, sendo considerados tumores agressivos.¹⁹ Ele possui uma expressão moderada de receptores de estrogênio, isso pode indicar que o tumor é parcialmente dependente de hormônios, e por isso a terapia hormonal ainda é benéfica, embora tenha uma menor eficácia do que o subtipo anterior. Por outro lado, a quimioterapia apresenta resultados mais eficientes do que no grupo anterior. Embora o reaparecimento desses tumores costuma acontecer em regiões ósseas, eles vão ter uma maior taxa de recorrência em órgãos internos, se comparados com os tumores Luminal A.²⁰ Dessa forma, a taxa de sobrevivência da recorrência desses tumores é menor.^{21,22}

O grupo HER2 positivo é caracterizado pela alta expressão do receptor HER2 e, geralmente, pela ausência de receptores de estrógeno (ER) e progesterona (PR). Biologicamente esses tumores são mais agressivos e apresentam crescimento mais rápido do que os do grupo Luminal. Historicamente associado a um prognóstico desfavorável, o desfecho clínico desse grupo foi transformado pela introdução de terapias direcionadas (anti-HER2), tornando a doença tratável para a maioria dos pacientes. Esse grupo pode ser subdividido em: Luminal HER2 (ER+, PR+, HER2+ e Ki67 entre 15-30%) e HER2-enriquecido (ER-, PR-, HER2+ e Ki67 > 30%).²³ Ambos apresentam comportamento mais severo que os tipos Luminal A e B, exigindo protocolos que combinam cirurgia, quimioterapia e fármacos específicos, como inibidores de tirosina quinase.²⁴ Quanto à progressão da doença, os locais de metástase mais comuns são as regiões ósseas, enquanto as recidivas tendem a atingir órgãos internos.^{25,26}

O último subtipo no qual o câncer de mama é dividido é o Triplo Negativo, que se caracteriza por apresentar ER (-), PR (-) e HER2 (-) e constitui cerca de 20% dos cânceres de mama, sendo mais comum em mulheres abaixo de 40 anos e afro americanas. O TN pode ser dividido em 5 outros subgrupos: o Basal (BL1 e BL2), claudin-low, mesenquimal (MES), receptor de androgênio luminal (LAR) e o imunomodulador (IM).²⁷ Os dois primeiros são os mais frequentes, sendo cerca de 50 a 70 % dos cânceres TN. Cada um desses subgrupos tem resultados clínicos, fenótipos e sensibilidades farmacológicas distintas, o que os torna de difícil tratamento. Possuem um comportamento agressivo e 80 dos tumores deste subgrupo são supressores do BRCA1 e BRCA2.²⁸ O TN é caracterizado por sua agressividade, recaída precoce e uma maior tendência de se apresentar em estágios avançados da doença, tendo uma alta taxa de proliferação, podendo alterar genes de reparo de DNA e aumentar a instabilidade genômica. Histologicamente, as células perderam a maioria das características de uma célula normal, apresentando alta proliferação de células heterogêneas.¹⁶

O tratamento desse tipo de tumor se torna difícil, pois não apresenta nenhum dos três receptores que seriam alvos de terapias direcionadas, por isso há uma limitação de tratamentos, ocasionando a dependência da quimioterapia, que irá atacar todas as células de crescimento rápido. A tabela 2 mostra as modalidades de tratamento do câncer de mama adotada pelo SUS considerando-se os perfis de estadiamentos e os subtipos mais frequentes em uma mulher adulta.²⁹ O triplo negativo possui o pior prognóstico comparado aos outros subtipos, principalmente devido ao elevado potencial metastático e opções limitadas de tratamento, já que são insensíveis a terapia endócrina e agentes anti-HER2.³⁰ É importante destacar que, independentemente do status do receptor hormonal do câncer de mama, 10-30 % dos pacientes desenvolverão metástases nos linfonodos e/ou órgãos distantes, fazendo da concepção de um tratamento eficiente para este tipo de câncer de mama metastático um desafio hercúleo e urgente.²⁹

Tabela 2: Modalidades de tratamento de câncer de mama adotadas pelo SUS considerando-se os perfis de estadiamentos e os subtipos mais frequentes em uma mulher adulta

Paciente	estadiamento I	estadiamento II	estadiamento III	estadiamento IV
HER-2 Negativo com RH+ em mulheres na pré-menopausa	CR + RT + TMX/5 anos	CR + DTX + CICLO + RT + TMX /5 anos	CR + DTX + CICLO + PTX + RT + TMX /5 anos	CR + RT + ATZ e supressão ovariana com Análogo de LHRH
HER-2 Negativo com RH+ em mulheres na pós-menopausa	CR + ATZ /5 anos + RT	CR + DTX + CICLO + PTX + RT + ATZ /5 anos	CR + DTX + CICLO + PTX + RT + ATZ /5 anos	CR + RT + Fulvestranto a cada 28 dias
HER-2 Positivo e RH-	CR + DOX + CICLO + PTX + TTZ + RT	CR + TTZ (pós cirúrgico) + DOX + CICLO + PTX + TTZ + RT	CR + DOX + CICLO + PTX + TTZ + RT + TMX /5 anos (caso de RH positivos)	CR + TTZ + PTZ + DTX + RT + ATZ /5 anos
Triplo Negativo	CR + DTX + CICLO + PTX + RT	CR + TTZ + PTZ + DTX + RT	CR + TTZ + PTZ + DTX + RT	CR + PTX + CARBOPLATINA + RT

CR = cirurgia, RT = radioterapia; DOX = doxorubicina, CICLO = ciclofosfamida, TMX = Tamoxifeno, PTX = paclitaxel, DTX = docetaxel, ATZ = anastrozol, TTZ = Trastuzumabe, PTZ = Pertuzumabe, RH = receptores hormonais

Fonte: Adaptado de Observatório de oncologia

Além disso, o ritmo de aumento da mortalidade entre as mulheres jovens (menos de 40 anos) cresceu na média 1,8% ao ano, no período de 2000 a 2021. Os desafios na identificação e tratamento do câncer em mulheres jovens é complexo não somente em função de políticas públicas de rastreamento para esta faixa etária, mas também pelas dificuldades encontradas na visualização de lesões na mamografia. Infelizmente, o câncer de mama que acomete essa faixa da população feminina é

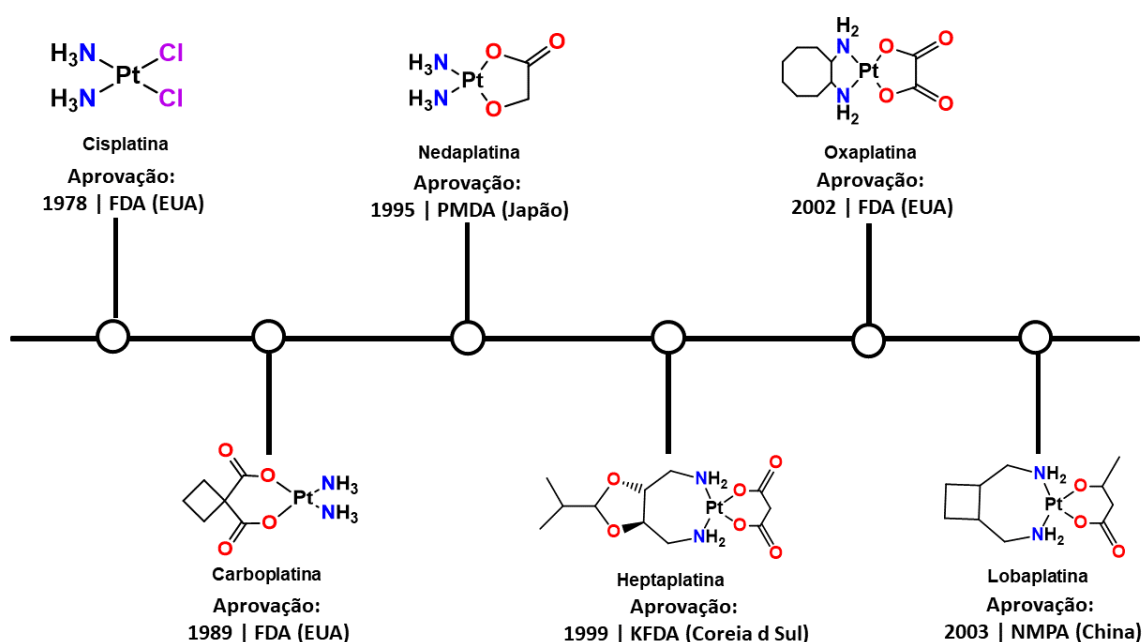
frequentemente mais agressivo e evoluem muito rapidamente. Apesar dos riscos, a quimioterapia permanece sendo um tratamento essencial para o câncer de mama, particularmente para os casos de estágios avançados, metastáticos ou TNBC.^{31,32}

Embora os pacientes com câncer de mama ER+ e/ou PR+ possam se beneficiar da terapia endócrina, modalidades de tratamento alternativas prescrevem a quimioterapia em razão de riscos elevados de recidiva pós-terapia.³³ Dentre os fármacos de platina usados no tratamento do câncer de mama, o SUS adota a carboplatina combinada com paclitaxel para casos de triplo-negativo em estadiamento IV.²⁹ A compreensão do papel desses tratamentos exige uma análise detalhada dos complexos de coordenação utilizados na oncologia. Atualmente, a carboplatina, a cisplatina e a oxaliplatina compõem o grupo principal de fármacos que atuam como agentes alquilantes.

1.3 Quimioterapia com antineoplásicos a base de Platina

Os complexos metálicos carboplatina, cisplatina e oxaliplatina fazem parte de um grupo de fármacos anticâncer que atuam como agentes alquilantes. Outros fármacos antineoplásicos de platina encontram-se aprovados para uso clínico em outros países, como a nedaplatina, lobaplatina e a heptaplatina. (Figura 2).

Figura 2: Cronologia e evolução estrutural de metalofármacos de platina (II). Destacam-se os fármacos de uso global (Cisplatina, Carboplatina e Oxaliplatina) e de uso regional no mercado asiático (Nedaplatina, Heptaplatina e Lobaplatina).



Fonte: Autor.

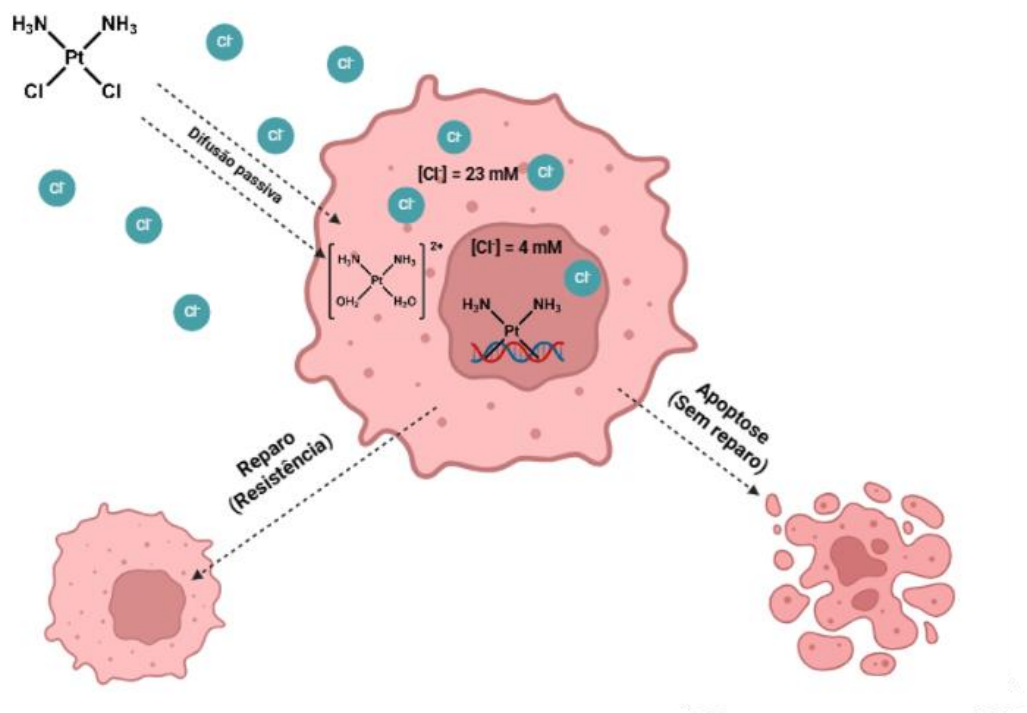
A cisplatina consolidou-se como o protótipo dos fármacos antineoplásicos metálicos, sendo classificada como um agente de primeira geração. Contudo, suas limitações clínicas (que incluem toxicidade sistêmica acentuada, nefrotoxicidade e o desenvolvimento de resistência tumoral) impulsionaram a busca por análogos mais seletivos e menos deletérios. Nesse contexto, surgiram os fármacos de segunda e terceira geração, cujas modificações estruturais residem, essencialmente, na substituição dos grupos abandonadores Cl^- (ligantes lábeis) ou na modulação da esfera de coordenação das aminas (ligantes inertes), visando otimizar o perfil farmacocinético e farmacodinâmico do complexo.³⁴

Nos agentes de segunda geração, como a Carboplatina ou a Nedaplatina, tem-se a variação dos grupos de saída ou das aminas. Já nos compostos presentes na terceira geração, como a Oxaliplatina, Lobaplatina a Heptaplatina, tanto o grupo de saída como as aminas são diferentes do composto da primeira geração.³⁴

A cisplatina foi descoberta em 1845 por Michele Peyrone. Contudo, apenas em 1965, o Dr. Barnett Rosenberg descobriu seu potencial inibitório de divisão celular.³⁵ A cisplatina é administrada por via intravenosa como uma solução salina estéril.³⁶ Como na corrente sanguínea a concentração de cloreto é relativamente alta, cerca de 100 mmol. L^{-1} , a cisplatina permanece inalterada e neutra, assim podendo fluir por todo o corpo através da corrente sanguínea. Porém, na corrente sanguínea, estão presentes as proteínas do plasma, como albumina, transferrina e aminoácidos, como a cisteína, elas podem se ligar fortemente a cisplatina desativando-a.³⁷ Cerca de 65-95% da cisplatina administrada pode se ligar a essas proteínas nas primeiras 24h de administração.³⁸

A cisplatina restante entra nas células através de difusão passiva.³⁸ No entanto, evidências recentes indicam que a internalização da cisplatina é um processo multifatorial, envolvendo também mecanismos de transporte ativo e difusão facilitada. Uma vez dentro das células ela se torna ativada pela substituição de um dos cloretos por uma molécula de água. Isso ocorre pois, no meio celular, a concentração de Cl^- é bem mais baixa do que no meio sanguíneo, cerca de $4\text{-}20 \text{ mmol. L}^{-1}$. Assim, os aquo-complexos de platina podem reagir com uma série de nucleófilos, como a as sulfidrilas de proteínas e átomos doadores de nitrogênio presentes no DNA,³⁹ já que a água é um grupo de saída melhor do que os ligantes cloridos.⁴⁰ Figura 3

Figura 3: Mecanismo de ativação e citotoxicidade da cisplatina. O complexo ingressa na célula majoritariamente por difusão passiva, sofrendo aquação devido aos baixos níveis citosólicos de $[Cl^-]$ e formando adutos com o DNA que induzem à apoptose.



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

O DNA é considerado o alvo principal da cisplatina. Após ser hidrolisada, a cisplatina se torna reativa o suficiente para interagir com as bases presentes no DNA.⁴¹⁻⁴³ Lippard et.al. provaram que o sítio de ligação preferido da cisplatina é a guanina, com base na forte ligação de hidrogênio entre o hidrogênio do grupo amino da cisplatina com o oxigênio presente no C6, pois estabiliza o aduto Pt-guanina, em comparação ao aduto Pt-adenina.⁴³

A primeira etapa da alquilação do DNA envolve a ligação da cisplatina monoaquada com bases do DNA, geralmente guanina. O fechamento do anel para formar um adutos bifuncional pode ocorrer diretamente do aduto monofuncional já formado ou da equação do segundo ligante clorido, os principais adutos bifuncionais formados são guanina-guanina e adenina guanina.^{37,44,45} A formação de ligações cruzadas, tanto intra como inter fitas das duplas hélices cria uma torção no DNA, que poderá culminar na morte da célula.³⁹

Apesar de apresentar resultados animadores, a cisplatina apresenta alguns problemas, como o caso de resistência por parte das células tumorais. A resistência intrínseca ocorre quando a célula já é insensível aos efeitos da cisplatina. Já a

adquirida, inicialmente o fármaco apresenta atividade, porém ao longo do tempo torna-se inativo. Essa resistência pode ser causada pela diminuição da absorção celular do fármaco, pela redução do influxo ou aumento do efluxo do medicamento, alteração do alvo do fármaco, pela desintoxicação do fármaco por tióis celulares e pelo reparo do DNA.³⁴

Outro problema que a cisplatina enfrenta é a toxicidade, ela pode induzir uma série de efeitos colaterais, como nefrotoxicidade, ototoxicidade, hepatotoxicidade, toxicidade gastrointestinal, entre outras.³⁴

Como a cisplatina pode apresentar alguns problemas, existem alguns métodos para tentar contornar essas situações, muitas vezes a terapia combinada pode vir a ser utilizada, que consiste na utilização de dois ou mais medicamentos com diferentes mecanismos de ação,³⁴ isso é feito para que haja ataque de formas diferentes e superar as resistências que as células podem vir a apresentar e também reduzir os efeitos colaterais, pois a quantidade de cada medicamento que serão utilizados, serão menores.

Frente ao exposto, diversos grupos de pesquisa direcionaram seus esforços para a busca de novos complexos com platina ou não que fossem capazes de eliminar células tumorais com mecanismos distintos da cisplatina, assim não apresentando as mesmas intercorrências. Dentre as alternativas metálicas exploradas, destaca-se o paládio como um dos substitutos mais promissores devido as suas propriedades estruturais.^{59,65,66,80}

1.4 Paládio

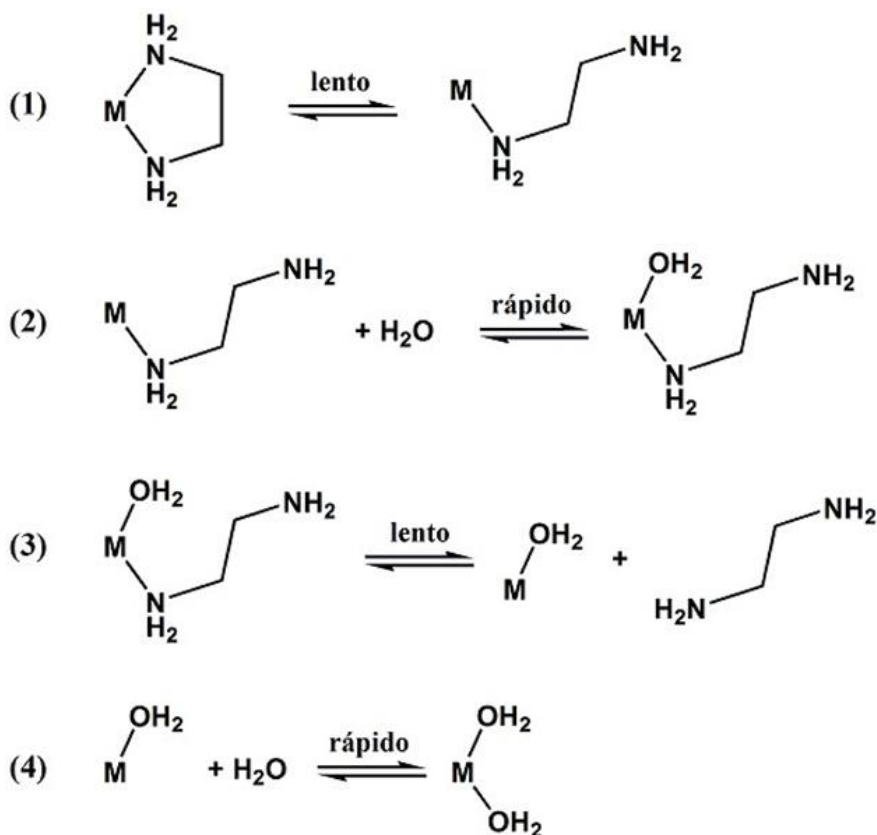
Embora o sucesso clínico da cisplatina seja indiscutível, sua eficácia é indissociável da toxicidade sistêmica severa e do desenvolvimento de resistência pelas células tumorais.⁴⁶ A busca para superar as limitações presentes na quimioterapia baseada na platina levou vários pesquisadores a investigar novos complexos de metais de transição, contendo platina ou não. Dentre os candidatos está o paládio, por apresentar diversas semelhanças químicas com a platina. Ambos os metais são membros do mesmo grupo na tabela periódica. Seus íons M^{2+} possuem raios iônico próximos e compartilham da mesma configuração eletrônica d^8 , o que resulta numa preferência pela geometria quadrática-planar e uma química de coordenação similar.⁴⁷

Apesar das semelhanças, existem diferenças importantes. Os complexos de paládio são mais lábeis do que seus análogos de platina, reagindo cerca de 10^4 - 10^5 vezes mais rápido em comparação aos de platina, isso ocorre, pois, os orbitais 5d são mais difusos e expandidos, com isso possuem melhor sobreposição com os orbitais dos ligantes, formando ligações covalentes mais fortes. Em contrapartida, os orbitais 4d, por serem menos difusos comparativamente, resultam em ligações metal-ligante com menor energia de dissociação. Consequentemente, a velocidade de troca de ligante nos complexos de paládio é maior em relação aos complexos de platina. Logo, os compostos de paládio(II) reagem mais rapidamente com nucleófilos biológicos, impedindo-os de permanecer intactos na corrente sanguínea por mais tempo e alcançar seu alvo terapêutico. No entanto, a maior reatividade dos complexos de paládio pode significar a interação com alvos biológicos que antes eram inacessíveis. Portanto, o desafio se torna não em alcançar a estabilidade dos complexos de platina, mas sim modular a reatividade dos complexos de paládio (II).⁴⁷⁻⁴⁹

A chave para modular a labilidade de complexos de Pd (II) está na escolha dos ligantes.^{47,49,50} A utilização de ligantes quelantes é uma estratégia muito utilizada para modular a estabilidade termodinâmica e a labilidade dos complexos de paládio (II). O efeito quelato termodinâmico faz com que os complexos contendo ligantes quelantes sejam mais estáveis do que seus correspondentes monodentados. A reação de quelação resulta em um aumento no número de moléculas independentes em solução, enquanto a reação envolvendo ligantes monodentados não aumenta. Logo, observa-se que a reação de quelação tem uma entropia mais positiva e consequentemente é o processo termodinamicamente mais favorável.^{51,52}

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 de um ligante quelato e a probabilidade da reversão dessa primeira etapa. A Figura 4 representa as etapas de uma reação hipotética envolvendo a substituição da etilenodiamina (en) por moléculas de água. Nessa reação de aquação, são esperadas duas etapas de dissociação, uma para cada átomo coordenado do ligante en (a adição de água nas etapas 2 e 4 deve ser provavelmente rápida, devido a sua alta concentração no meio).⁵²

Figura 4: Reação hipotética envolvendo a aquação de um complexo contendo o ligante quelante etilenodiamina (en).

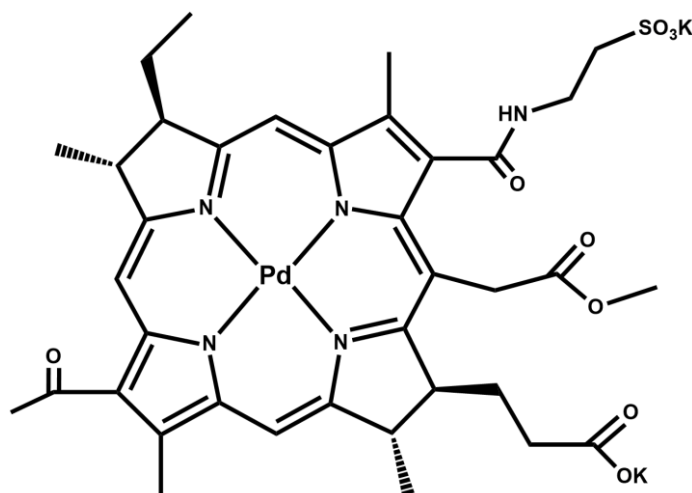


Fonte: Adaptado de MIESSLER; FISCHER; TARR; 2014

A variação de entalpia associada à descoordenação do primeiro grupo NH_2 coordenado (etapa 1) é maior do que para um ligante monodentado relacionado (ex. NH_3). Se esse átomo de N realmente se descoordenar, sua barreira cinética para religação subsequente é menor do que para um ligante monodentado correspondente, uma vez que o átomo descoordenado na etapa 1 permanece muito próximo do centro metálico. A primeira etapa de dissociação (1) da etilenodiamina é esperada ser mais lenta que a etapa correspondente para a amônia, pois o ligante deve se dobrar e girar para afastar do metal o grupo NH_2 livre. A segunda etapa de dissociação (3) também deve ser lenta por dois motivos: i) a concentração desse intermediário é baixa e ii) a etapa de dissociação 1 pode ocorrer facilmente no sentido inverso. O nitrogênio descoordenado encontra-se próximo do metal, fazendo com que a sua religação seja muito provável. No geral, esse efeito quelato cinético reduz as velocidades de reações de aquação por fatores de 20 a 10^5 .⁵²

Um exemplo do uso do efeito quelato no planejamento de complexos de paládio (II) para fins medicinais trata-se do Padeliporfirina⁵³ (Fig. 5).

Figura 5: Estrutura molecular da Padeliporfirina (WST09). Complexo de paládio (II) de aplicação clínica em Terapia Fotodinâmica (PDT) vascular-dirigida para o tratamento de câncer de próstata.



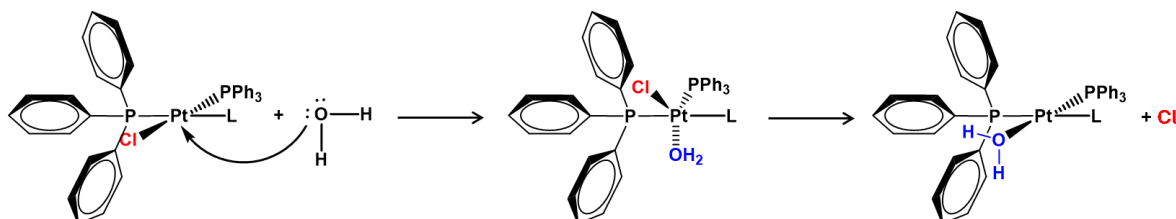
Fonte: Autor.

Em 10 de novembro de 2017 foi aprovado pela European Medicines Agency (EMA) o uso e comércio do Tookad®, Padeliporfirina (Fig 5) para o tratamento de câncer de próstata de baixo risco por terapia fotodinâmica.⁵³

O uso de ligantes volumosos para saturar a esfera de coordenação fornece um meio de retardar reações de troca de ligantes por mecanismos associativos. É bem estabelecido que compostos quadrático planares d^8 sofrem reações de substituição de ligantes pelo mecanismo associativo, recebendo o ataque do grupo de entrada por uma das faces do plano formado pela sua geometria de coordenação, com o grupo de entrada fornecendo densidade eletrônica ao orbital d_{z^2} vazio do M^{II} ($M = Pd, Pt$). O ataque bem sucedido irá gerar um rearranjo entre os ligantes na esfera de coordenação, passando por uma etapa de transição onde o íon M^I possui cinco ligantes em um arranjo bipirâmide-trigonal, com o grupo de entrada, o ligante *trans* e o grupo abandonador no mesmo plano.⁵⁵ Por exemplo, os anéis aromáticos da trifenilfosfina podem dificultar o acesso ao orbital d_{z^2} vazio, impedindo a aproximação do solvente ou outras moléculas reagentes ao íon metálico. Em complexos quadrático-planares de $Pd(II)$ e $Pt(II)$, o processo de substituição de ligantes ocorre predominantemente por um mecanismo associativo, cujo estado de transição envolve a formação de um intermediário penta-coordenado. Nesse contexto, a presença de um ligante espectador volumoso, como a trifenilfosfina (PPh_3), impõe um impedimento estérico significativo que dificulta a entrada de um novo ligante (como a molécula de água). Esse volume dificulta a acomodação dos ligantes na geometria bipirâmide trigonal do intermediário, elevando a energia de ativação do processo e,

consequentemente, reduzindo a velocidade da reação de aquação. Portanto, o uso desses ligantes atua como uma ferramenta estratégica para modular a cinética de substituição, conferindo maior estabilidade ao complexo frente à hidrólise prematura, como ilustra a Figura 6.^{54,56}

Figura 6: Ilustração da reação de aquação envolvendo um complexo $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{PPh}_3)\text{Cl}(\text{L})]$



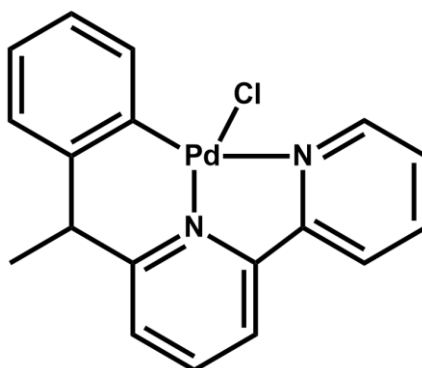
Fonte: Adaptado de JONES & THORNBAC, 2007.

Dada a importância da incorporação de ligantes quelatos e volumosos, no planejamento de complexos de paládio com chances de atingir seu alvo terapêutico, nosso grupo de pesquisa vem utilizando a estratégia de combinação destes ligantes em complexos. O planejamento de complexos de paládio com ligantes quelatos e volumosos visa não apenas mimetizar o sucesso dos análogos de platina, mas superar seus efeitos colaterais através da manipulação do ângulo de mordida (*bite angle*). Como destacado na literatura, a escolha criteriosa desses ligantes é fundamental para ditar a reatividade e a estabilidade do centro metálico em sistemas biológicos. Essa estratégia busca garantir que o complexo mantenha sua integridade estrutural até atingir o alvo, explorando mecanismos de ação citotóxica que, diferentemente da cisplatina, não dependam exclusivamente da interação direta com o DNA.

1.5 Compostos ciclopaladados contendo difosfinas

Os ciclopaladados (Fig. 7) são uma classe específica de compostos organometálicos, e são assim designados por possuírem em sua estrutura um anel, com uma ligação de coordenação entre o paládio e um átomo doador de elétrons (Y) pertencente aos grupos V ou VI da tabela periódica, e uma ligação intramolecular covalente Paládio-carbono.⁵⁷

Figura 7: Estrutura molecular de um complexo ciclopaladado de paládio (II). A imagem destaca a formação do anel quelato através da ligação covalente carbono-metal (Pd-C), que confere alta estabilidade termodinâmica ao composto em comparação aos complexos de coordenação convencionais.



Fonte: Adaptado de CAIRES, A.C.F e MAURO, A.E

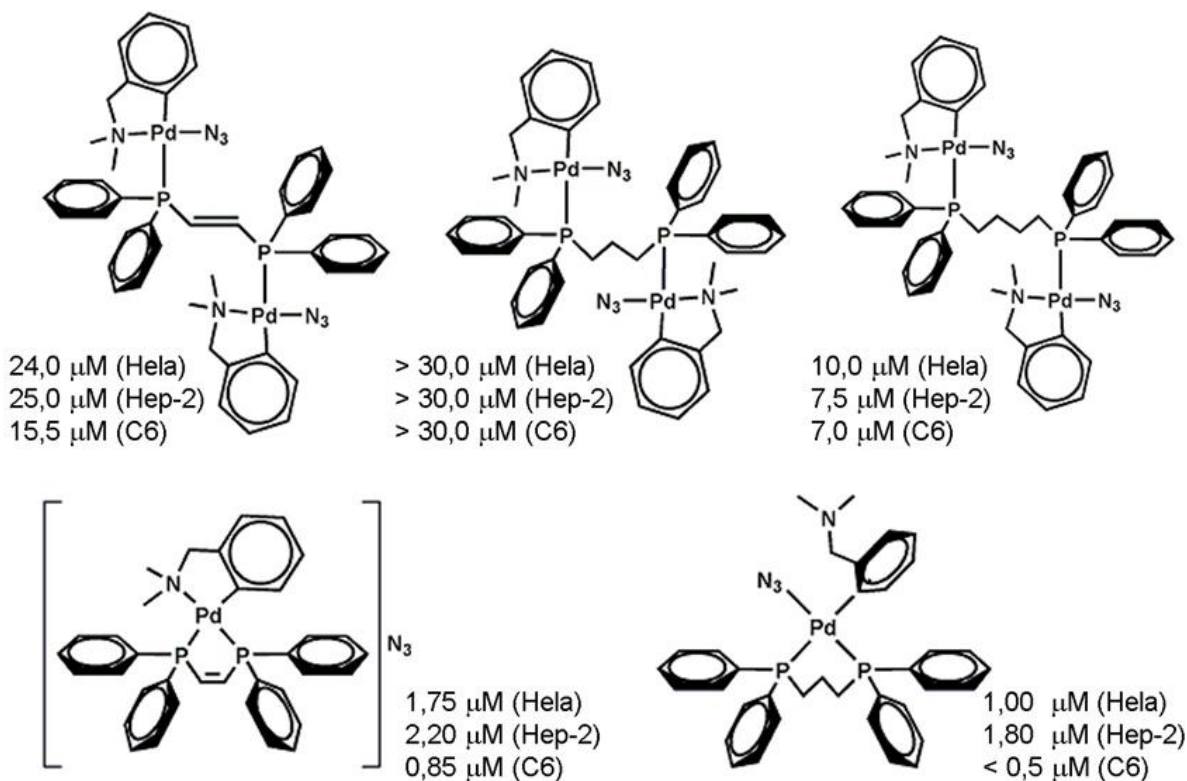
As potencialidades terapêuticas dos ciclopaladados vêm sendo constantemente investigadas pela comunidade científica.^{49,50,59-61} A presença de um anel ciclometalado “(C,N)Pd” contendo uma forte ligação C-Pd aumenta a estabilidade do composto organometálico,⁶² permitindo que sua estrutura seja mantida intacta no meio biológico tempo o suficiente até interagir com o alvo farmacológico.^{60,61} A escolha de fosfinas como coligantes em compostos ciclopaladados é fundamentada nos alicerces da química de coordenação, onde a estabilidade, reatividade e a lipofilicidade podem ser controladas. De acordo com Pearson, a estabilidade do complexo será afetada com a compatibilidade da dureza entre o metal e seu ligante. Como o íon paládio (II) é um ácido mole, por possuir um raio iônico relativamente grande e orbitais d difusos e polarizáveis, e a fosfina atua como uma base mole, a interação Pd-P é termodinamicamente favorecida, pois existe uma sobreposição orbital considerável e um caráter covalente significativo, ocorrendo formação de ligações estáveis e relativamente inertes frente a substituição por bases duras, como a água.⁶³

As fosfinas ainda podem apresentar contribuição para a farmacocinética da molécula, pois podem apresentar grupos orgânicos volumosos, como o fenil, aumentando drasticamente a lipofilicidade da molécula, que não apenas ajuda na entrada passiva na célula, mas também permite que o complexo interaja com membranas mitocondriais e do retículo endoplasmático.

O artigo de Caires e colaboradores intitulado “Síntese e atividade citotóxica de alguns azido-ciclopaladados estabilizados com ligantes bisfosfinicos” foi o primeiro estudo em âmbito nacional sobre o potencial citotóxico dessa classe de complexos. Os resultados reportados foram bem promissores frente às linhagens de células

tumorais humanas C6 (glioma cerebral), Hep-2 (carcinoma de laringe) e HeLa (colo do útero).⁵⁹ Como mostra a figura 8.

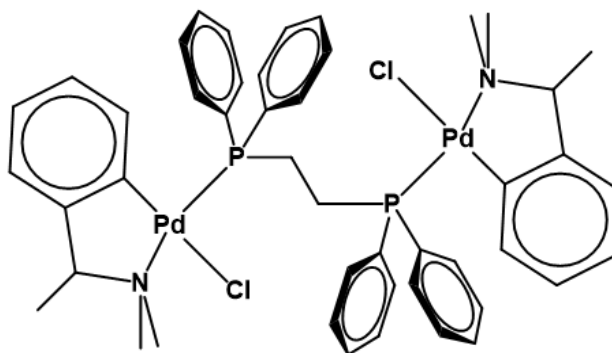
Figura 8: Valores de IC50 de compostos organometálicos mono e binucleares de Pd(II) contendo difosfinas frente às linhagens de células tumorais humanas C6 (glioma cerebral), Hep-2 (orofaringe) e HeLa (côlon de útero).



Fonte: Autor

RODRIGUES et al. (2003), mostraram que o complexo binuclear $[\text{Pd}_2(\text{S}_{(-)}\text{-C}^2\text{N-dmpa})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$ {dmpa = N,N-dimetil-1-feniletilamina; dppe = 1,2-etanobis(difenilfosfina)} (Fig. 9) induziu a morte de 100% das células de melanoma murino (B16F10-Nex2) a uma concentração inferior a 1,25 mmol L⁻¹. Ensaios *in vivo* indicaram que esse composto não foi tóxico aos ratos quando injetado três vezes na dose 60 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ /animal/semana, e foi capaz de retardar o crescimento do tumor e prolongar a sobrevivência animal.⁶⁴

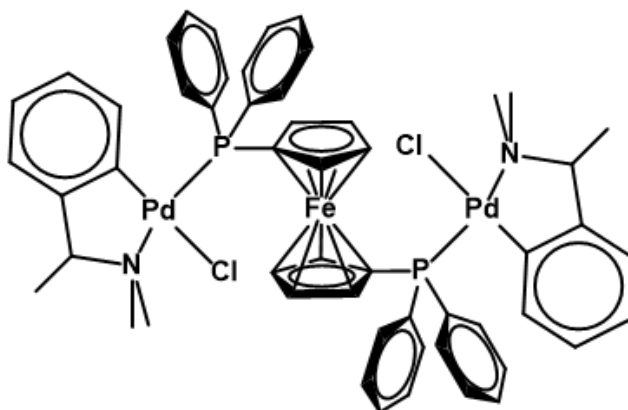
Figura 9: Representação do $[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-S}(-)\text{dmpa})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$. Representação estrutural do complexo binuclear de paládio (II) $[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-S}(-)\text{dmpa})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$. A estrutura ilustra o núcleo bimetálico unido pela ponte da difosfina 1,2-bis(difenilfosfina)etano ($\mu\text{-dppe}$), mantendo as unidades ciclopaladadas derivadas da N,N-dimetil-1-feniletilamina (dmpa) em coordenação quelato.



Fonte: Adaptado de RODRIGUES et al. (2003)

Em 2005, Bincoletto et. al descreveram o ciclopaladado binuclear ($[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-S}(-)\text{dmpa})_2(\mu\text{-dppf})\text{Cl}_2]$) (fig.10), o qual capaz de induzir 90% da inibição do crescimento do tumor em ratos com tumor de Walker. Estudos toxicológicos mostraram que não houve alterações morfológicas nos glóbulos vermelhos e brancos, resultados semelhantes foram obtidos nos tecidos hepático, renal e do baço. Além disso, esse ciclopaladado foi capaz de se ligar a catepsina livre B, com constante de dissociação $K_H = (12 \pm 1) \mu\text{M}$ e ao sistema enzima/substrato com $\alpha K_H = (2,4 \pm 0,3) \mu\text{M}$.⁶⁵

Figura 10: Representação estrutural do complexo binuclear de paládio (II) $[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-S}(-)\text{dmpa})_2(\mu\text{-dppf})\text{Cl}_2]$. A estrutura ilustra o núcleo bimetálico unido pela ponte da difosfina 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno ($\mu\text{-dppf}$), mantendo as unidades ciclopaladadas derivadas da N,N-dimetil-1-feniletilamina (dmpa) em coordenação quelato.

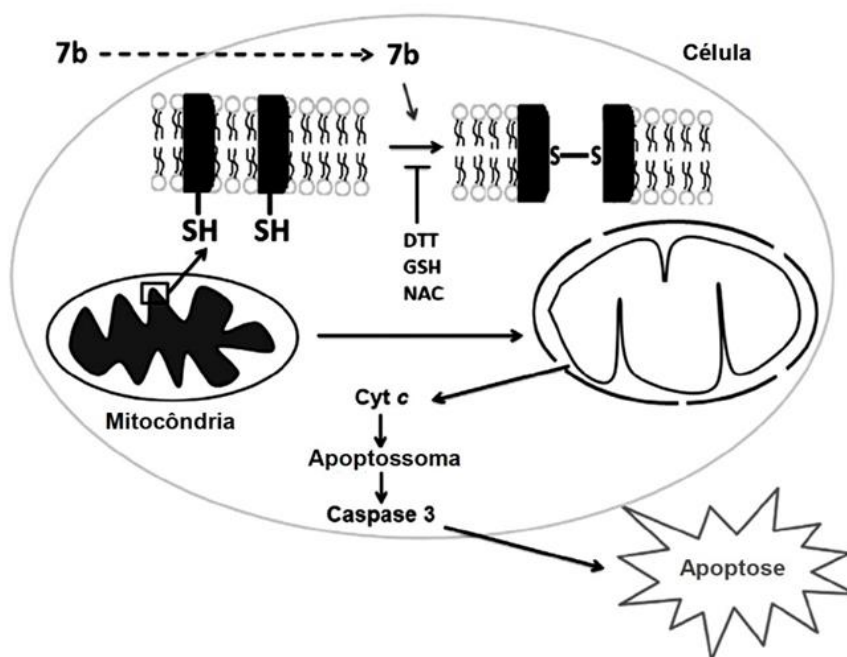


Fonte: Adaptado de Bincoletto et. al (2005)

MORAES et. al. (2013) demonstraram que o ciclopaladado $[\text{Pd}_2(\text{R}(+)\text{-C}^2, \text{N-dmpa})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$ (**7b**), foi capaz de promover a morte das células de leucemia humana K562 a uma concentração inferior a $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$, sem apresentar toxicidade

para células sanguíneas. Ensaios posteriores evidenciaram que a atividade citotóxica *in vitro* deste ciclopaladado está associada à oxidação de grupos -SH de proteínas embebidas na membrana mitocondrial. A oxidação dessas proteínas resulta na abertura de poros que promovem a perda dos componentes da matriz mitocondrial, o aumento na produção de ROS, o inchaço e a ruptura da membrana, levando a liberação do citocromo C e a ativação da Caspase 3, e consequentemente, a morte celular por apoptose. A presença de redutores de tiol, tais como ditioneitol (DTT), glutathiona (GSH) e *N*-acetilcisteína (NAC) inibiram a ação do composto **7b**, comprovando que a morte celular foi desencadeada pela oxidação de grupos tióis de proteínas presentes na membrana mitocondrial das células.⁶⁶ A Figura 11 representa um esquema geral deste mecanismo proposto.

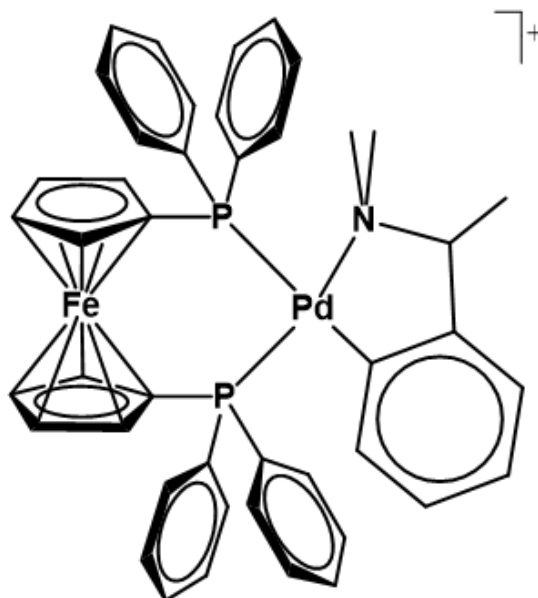
Figura 11: Proposta do mecanismo de ação citotóxica do complexo **7b** em células K562. O composto promove a oxidação de grupamentos tióis (-SH) proteicos em pontes dissulfeto (-S-S-) na mitocôndria, processo revertido por agentes redutores (DTT, GSH e NAC). Esta interação desencadeia disfunção mitocondrial, liberação de citocromo c e ativação da cascata de caspases, culminando em morte por apoptose.



Fonte: Adaptado de MORAES et. al., 2013

Bechara et. al (2014) avaliou a atividade *in vitro* do ciclopaladado mononuclear $[Pd(S_{(-)}-C^2,N-dmpa)(dppf)]Cl$ (Fig. 12) em células de osteossarcoma humano (Saos-2), uma linhagem conhecida por não apresentar a proteína p53 (p53-nula).⁶⁷

Figura 12: Representação estrutural do complexo catiônico $[\text{Pd}(\text{S}(-)\text{-C}^2, \text{N-dmpa})(\text{dppf})]\text{Cl}$. A imagem destaca a coordenação bidentada do ligante 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (**dppf**) ao centro de paládio(II) estabilizado pela unidade ciclopaladada quelato.



Fonte: Autor

A perda dessa proteína é um dos meios mais comuns de resistência à cisplatina, já que ela depende de uma via p53 funcional para induzir a apoptose. A toxicidade do $[\text{Pd}(\text{S}(-)\text{-C}^2, \text{N-dmpa})(\text{dppf})]\text{Cl}$ em células p53-nulo sugere um mecanismo de ação independente da proteína. Os resultados mostraram que, além do aumento da indução de apoptose das células de osteosarcoma, houve também uma segunda via de morte celular a necrose, indicando que houve mais de um caminho para a morte celular induzida pelo ciclopaladado. O mecanismo de indução da morte celular se mostrou diferente ao da cisplatina, pois não envolveu interação com o DNA, mas sim induzir uma cascata de eventos. O evento principal foi um rápido aumento na concentração de cálcio citosólico (Ca^{2+}), sendo liberado de compartimentos intracelulares. Para medir esse aumento de Ca^{2+} na célula, foi utilizado BAPTA-AM, um quelante de Ca^{2+} . Quando incubado na presença do ciclopaladado, o BAPTA-AM quela o Ca^{2+} e foi possível observar uma queda significativa na citotoxicidade do ciclopaladado, sugerindo que o Ca^{2+} é um importante fator na morte celular. O fluxo descontrolado de Ca^{2+} e o ciclopaladado tem como alvo o lisossomo, que contém enzimas digestivas. O estresse causado pela quantidade excessiva de Ca^{2+} causa a permeabilização da membrana lisossomal (LPM), resultando no rompimento da membrana e liberação de todo seu conteúdo para o

citossol, sendo um evento catastrófico para a célula. A catepsina B é uma das enzimas que agora está no citossol, junto com a concentração excessiva de cálcio na célula ativam a via mitocondrial da apoptose, que ativa a caspase-3, levando a fragmentação do DNA e a morte celular.⁶⁷

Houve também estudo de atividade *in vivo*, utilizando um modelo de melanoma murino metastático, B16F10-Nex2 inoculadas em camundongos, o qual mostrou que há significativa proteção contra a metástase, já que houve diminuição da metástase nos pulmões dos camundongos, podendo sugerir que a BPC também é ativa *in vivo*.^{67,68}

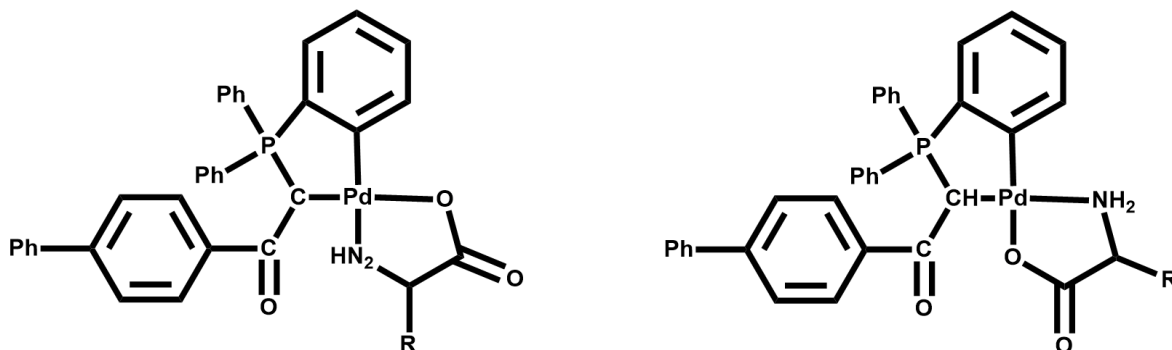
Esses e outros trabalhos exemplificam o motivo pelo qual os ciclopalladados contendo difosfinas são tão promissores, pois apresentam plataforma química versátil que pode ser ajustada para atacar células tumorais utilizando diferentes mecanismos.

1.6 Complexos de Paládio com Aminoácidos

Há um crescente interesse na síntese, reatividade e aplicações de complexos organometálicos com ligantes biologicamente ativos, como α -aminoácidos ou aminas biogênicas.⁷⁰ O termo química bioorganometálica é usado para descrever este campo de pesquisa na fronteira entre a bioquímica e a química organometálica. Os α -aminoácidos são ligantes altamente versáteis e podem originar diversas classes de compostos. As principais classes são as dos complexos nos quais o aminoácido é coordenado a um fragmento organometálico por meio de seus átomos doadores (amino, carboxilato ou outros grupos básicos) e complexos nos quais o aminoácido é coordenado ao metal por meio de uma ligação metal-carbono, sendo esta última classe comparativamente rara.⁷¹⁻⁷³

Em 2020, Abedanzadeh e colaboradores estabeleceram uma relação estrutura atividade dos complexos contendo aminoácidos quelantes. As moléculas consistem em um ciclopalladado de cinco membros C,C e um anel quelato N,O proveniente de um α - aminoácido (alanina, valina, leucina, isoleucina e fenilalanina)(Fig 13). As geometrias apresentadas pelos organometálicos são quadrados planares distorcidos, que foram confirmadas por DRX.⁷⁴

Figura 13: Estruturas de complexos ciclopaladados contendo α -aminoácidos como ligantes auxiliares. A imagem ilustra a coordenação bidentada do aminoácido ao centro de paládio (II) via grupamentos amina (-NH) e carboxilato (-COO⁻), formando anéis quelatos estáveis.



Fonte: Adaptado de ABEDANZADEH et.al (2020)

A citotoxicidade da série Pd - aminoácido foi avaliada nas linhagens tumorais K562 (Leucemia), então apenas para o complexo contendo α - Fenilalanina as linhagens HepG2 (Hepatocelular), SKBR - 3 (Mama), A2780 (ovário) e HUVEC (Tabela 3). O composto mais ativo foi o derivado da Fenilalanina, a citotoxicidade sendo correlacionada com a cadeia lateral. O trabalho também avaliou a atividade dos complexos contra a linhagem A2780cisR (resistente à cisplatina), sendo observado que essa classe de complexos apresentou alta atividade, exibindo fatores de resistência baixos. Tal fato sugere que a série de ciclometalados possui um mecanismo de ação diferente da cisplatina para contornar essas vias comuns de resistência.⁷⁴

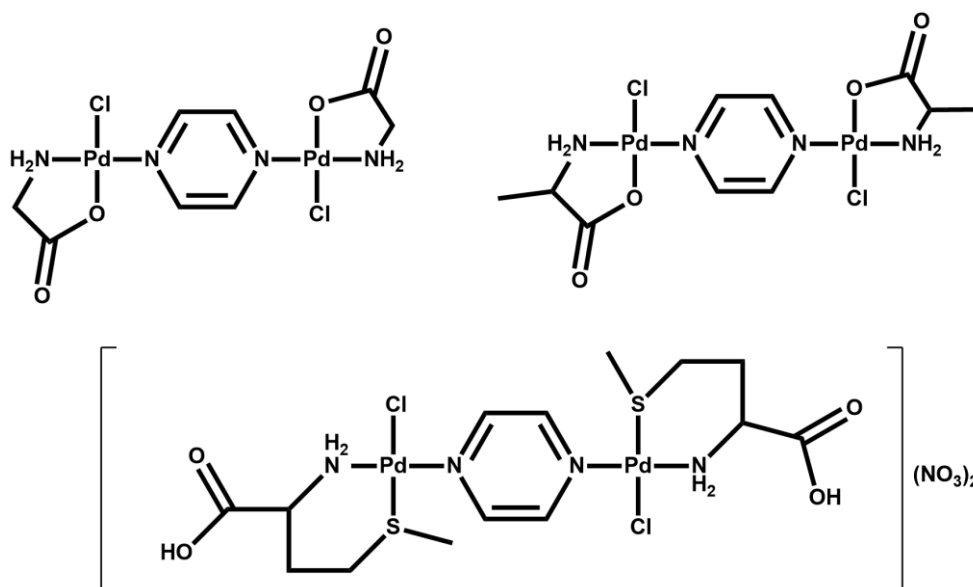
Tabela 3: Valores de IC₅₀ (μmol. L⁻¹) para a série Pd-aminoácido em linhagens tumorais e não-tumorais (HUVEC). Os dados demonstram a potência citotóxica comparativa frente à cisplatina, destacando a seletividade e eficácia dos complexos de paládio (II) em diferentes fenótipos celulares.

Linhagem Celular	Pd-F	Cisplatina
K562	15,1 ± 3,1	19,4 ± 0,9
HepG2	5,02	11,1
SKBR-3	20,2	13,5
A2780-R	21,5	7,7
A2780-S	18,4	8,4
HUVEC	39,7	9,4

Fonte: Adaptado de ABEDANZADEH et.al (2020)

Jakovljevic e companheiros realizaram estudos voltados a complexos dinucleares de Pd (II) contendo aminoácidos. A série de complexos estudada foi Pd1 com Glicina, Pd2 com Alanina, que formam anéis quelatos de cinco membros de forma bidentada ao paládio através da ligação com o NH₂ e o grupo carboxílico desprotonado. Os complexos são neutros, e Pd3 com metionina, formando um anel de seis membros na forma bidentada através dos átomos de enxofre e Nitrogênio presentes na molécula, devido a presença de íons NO₃⁻ na esfera de coordenação o complexo está na forma cationica (+2), e a pirazina como ligante ponte. (fig 14).⁷⁵

Figura 14: Representação estrutural dos complexos binucleares **Pd1**, **Pd2** e **Pd3**. A série ilustra centros de paládio(II) unidos pela ponte nitrogenada 4,4'-bipiridina, coordenados a diferentes α -aminoácidos (glicina, alanina e metionina) via anéis quelatos estáveis.



Fonte: Adaptado de Jakovljevic et. al (2025)

A citotoxicidade da série de Jakovljevic et. al foi avaliada frente às linhagens tumorais humanas MCF-7 (mama) e MDA-MB-231 (mama), também foi avaliada a toxicidade frente a fibroblastos humanos não tumorais, a MRC-5. Todos os complexos mostraram efeitos dose-dependentes contra as células tumorais, ao comparar os três complexos, o Pd3 (Met) destaca-se por apresentar os menores valores em $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ para as linhagens tumorais. Os resultados foram comparados com os da cisplatina, onde o Pd3 foi mais eficaz frente à linhagem tumoral MDA-MB-231 (tabela 4).⁷⁵

Tabela 4: Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol. L}^{-1}$) para os complexos Pd1, Pd2 e Pd3 em diferentes tempos de incubação (24, 48 e 72 h). Os dados comparativos com a cisplatina (CP) em linhagens MCF-7, MDA-MB-231 e MRC-5 indicam perfis de citotoxicidade tempo-dependentes e seletividade variável entre células tumorais e não-tumorais.

Linhagem Celular	t(h)	Pd1	Pd2	Pd3	CP
MCF-7	24	220,2 $\pm$ 22,8	>250	58,2 $\pm$ 4,8	52,5 $\pm$ 5,9
	48	129,1 $\pm$ 14,8	72,7 $\pm$ 7,9	28,3 $\pm$ 2,6	12,4 $\pm$ 1,1
	72	86,2 $\pm$ 7,3	54,7 $\pm$ 5,1	16,1 $\pm$ 1,8	5,8 $\pm$ 0,5
MDA-MB-231	24	119,2 $\pm$ 12,8	103,7 $\pm$ 8,5	98,7 $\pm$ 7,9	28,3 $\pm$ 3,1
	48	83,1 $\pm$ 7,5	90,4 $\pm$ 7,7	29,4 $\pm$ 2,7	24,8 $\pm$ 2,1
	72	21,9 $\pm$ 2,4	27,6 $\pm$ 3,2	8,9 $\pm$ 0,7	20,1 $\pm$ 1,9
MRC-5	24	>250	>250	48,4 $\pm$ 4,2	183,7 $\pm$ 21,9
	48	210,4 $\pm$ 19,1	179,3 $\pm$ 19,6	93,7 $\pm$ 11,2	43,1 $\pm$ 3,6
	72	117,9 $\pm$ 12,1	110,1 $\pm$ 11,6	43,1 $\pm$ 3,6	19,7 $\pm$ 2,1

Fonte: Adaptado de Jakovljevic et. al (2025)

Os mecanismos de ação envolvem interações com biomoléculas essenciais, levando a apoptose das células cancerosas. Estudos de espectroscopia UV-vis e de fluorescência mostraram que os complexos interagem com o DNA por meio da intercalação, que pode ser confirmado com pelo ensaio de competição usando sondas fluorescentes. Foi observado que os complexos deslocavam a sonda brometo de etídio do aduto. Já no Pd3, por ter uma carga catiônica +2, pode interagir também de forma eletrostática com a cadeia principal eletronegativamente carregada do DNA. Essas interações com o DNA irão resultar na perturbação estrutural da dupla fita, que contribui para os efeitos citotóxicos e antiproliferativos esperados.⁷⁵

Embora o DNA seja o alvo comum, a distinção fundamental frente à cisplatina reside na natureza química dessa interação. Enquanto a cisplatina forma adutos covalentes irreversíveis que causam dobras acentuadas na hélice, os complexos de

paládio com aminoácidos, como discutido por Jakovljevic et al. (2025), apresentam uma afinidade baseada em forças de intercalação e atrações eletrostáticas.⁷⁵

O principal mecanismo de ação será a indução a apoptose, utilizando da via apoptótica dependente da capa. Primeiramente ocorre a regulação da bcl-2, diminuição da proteína anti-apoptose e da BAX, aumento da concentração da proteína pró-apoptótica, em seguida ocorre a ativação da caspase-3, principal executor da apoptose na via que foi ativada. Houve também evidências de efeito antiproliferativo de curto e longo prazo, reduzindo significativamente o crescimento celular, a migração e adesão e ainda induziu alterações morfológicas, como o encolhimento das células.⁷⁵

Apesar de raros, complexos nos quais o aminoácido é coordenado ao metal por meio de uma ligação metal-carbono têm atraído considerável interesse. Ligantes biologicamente ativos ortopaladados são interessantes devido a seu potencial atividade citotóxica. Além disso, esses compostos organometálicos podem ser precursores úteis para preparar derivados funcionalizados que potencialmente podem apresentar efeitos biológicos importantes e que não são facilmente preparados por outros métodos.^{76,77}

A presença de os múltiplos sítios de coordenação que um aminoácido pode apresentar representa um importante desafio na síntese dessa aminoácidos ciclopaladados, uma vez que quelatos N,O podem ser formados ao invés dos quelatos C,N desejados. Utilizando-se ésteres metílicos de aminoácidos, a função carboxilato é bloqueada, forçando a coordenação primária através do grupo amina. A rigidez conformacional da amina da fenilalanina, por exemplo, posiciona o anel fenil em distância ideal para o centro metálico, o que facilita as ligações C,N.⁷⁸ Em 2011, Vicente e colaboradores descreveram um novo método para obtenção de ciclopaladados contendo aminas primárias e secundárias, apresentando alto rendimento, fazendo uso de sais de triflato de amônio dos aminoácidos de interesse.⁷⁸

O mecanismo apresentado utiliza da reação direta do acetato de Paládio com o equivalente triflato de amônio da amina utilizada, na presença de um excesso de um sal de Haleto, podendo ser NaX ou KX (X = Cl, Br ou I), resultando em dímeros contendo pontes de haleto. As vantagens que o mecanismo com triflato de amônio são: i) modulação da basicidade da amina, que previne a saturação prematura da esfera de coordenação do paládio, o que facilita a formação de espécies bis amino inativas, pois aminas com maior basicidade atuam como π doadoras (base de lewis forte), fortalecendo a ligação Pd-N e trazendo estabilidade para o complexo

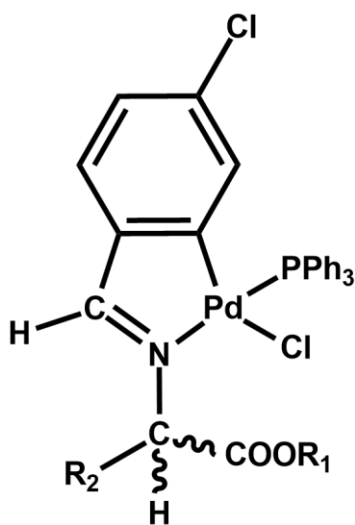
$\text{Pd}(\text{OAc})_2(\text{amina})_2$. A formação dessa espécie estável cria um poço energético o qual é difícil para o sistema sair para realizar a ativação da C-H; ii) Economia e segurança, pois o processo elimina a utilização de reagentes alquil-lítio ou reagentes de Grignard e também não há presença do intermediário instável ao ar. E por fim a versatilidade dos haletos, que podem ser facilmente ajustados apenas trocando o sal na reação, permitindo o ajuste fino das propriedades eletrônicas e estéricas.⁷⁸

1.7 Ciclopaladados de Aminoácidos e co-ligantes de Fosfinas

Mostrado todas as vantagens de se ter aminoácidos ou seus derivados em ciclopaladados e as propriedades positivas que as fosfinas podem trazer para a molécula, a junção dessas duas classes em uma só molécula trazem propriedades que podem ajudar no desenvolvimento de novos ciclopaladados ativos contra linhagens tumorais.

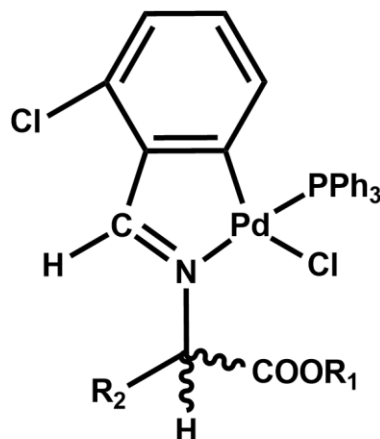
Em 2002, Albert e seus companheiros investigaram ciclopaladados derivados de bases de schiff formadas a partir de aminoácidos, sendo eles a fenilalanina e a fenilglicina. O estudo foca na análise estrutural desse tipo de ciclopaladado onde dímeros $[\text{PdCl}(\text{C-N})]_2$ são clivados com PPh_3 formando complexos mononucleares do tipo $[\text{PdCl}(\text{C-N})(\text{PPh}_3)]$ (Fig 15).⁷⁹

Figura 15: Representação estrutural de complexos mononucleares de paládio (II) do tipo $[\text{PdCl}(\text{C}-\text{N})(\text{PPh}_3)]$. A série destaca a coordenação de ligantes bidentados ciclopaladados (C-N), estabilizados pela presença da trifenilfosfina (PPh_3) e um ligante cloreto terminal, apresentando variações nos substituintes R_1 , R_2 e na isomeria (endo/exo).



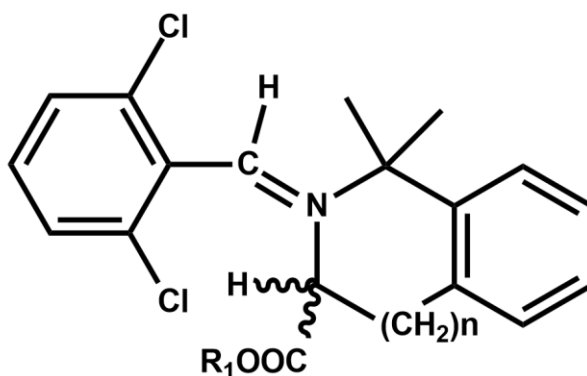
1b, $\text{R}_1=\text{Me}$, $\text{R}_2=\text{Ph}$

2b, $\text{R}_1=\text{Et}$, $\text{R}_2=\text{CH}_2\text{Ph}$



3b (ENDO), $\text{R}_1=\text{Me}$, $\text{R}_2 = \text{Ph}$

3b (ENDO), $\text{R}_1=\text{Me}$, $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{Ph}$



3b (EXO), $\text{R}_1=\text{Me}$, $n = 0$

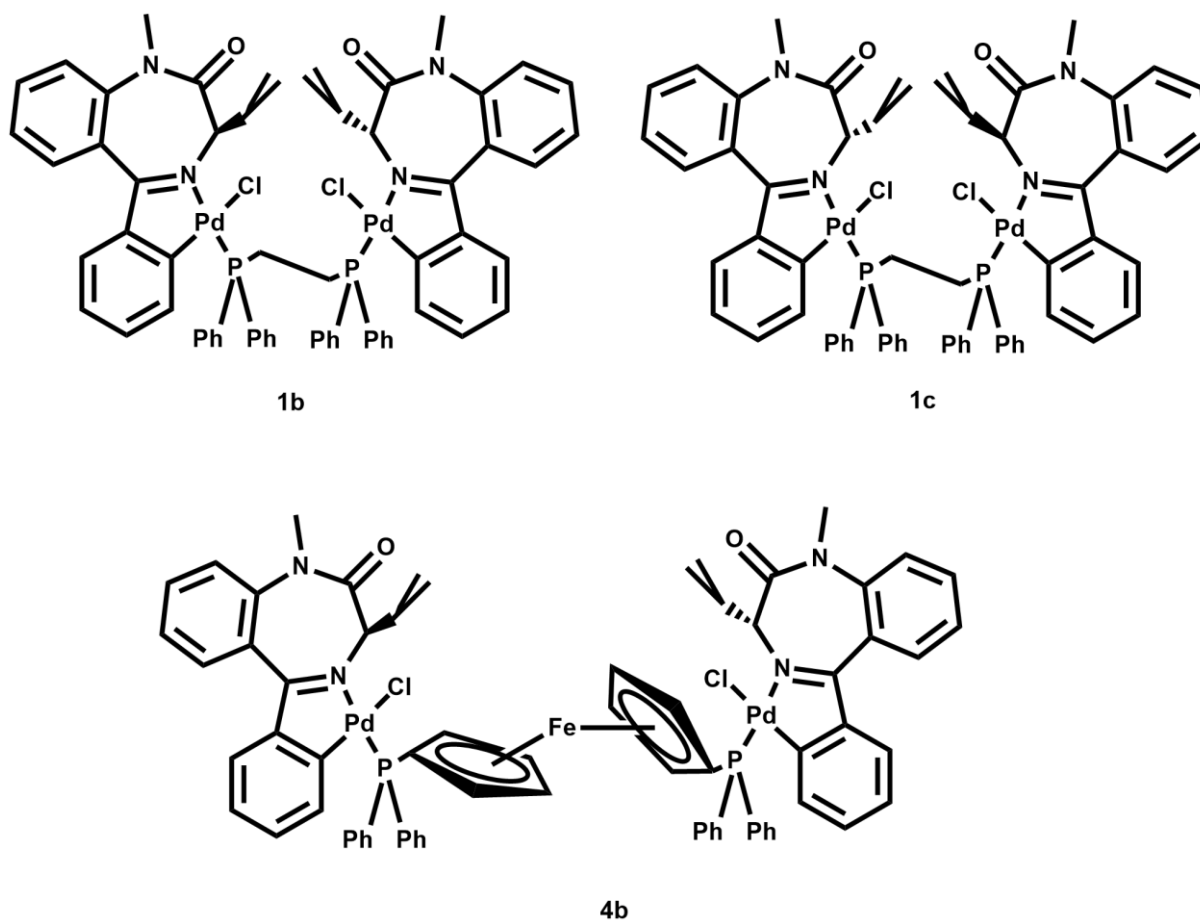
4b (EXO), $\text{R}_1=\text{Me}$, $n = 1$

Fonte: Adaptado de ALBERT et. al (2002).

Em 2009, Spencer et. al desenvolveu uma análise estrutural e citotóxica de uma série de complexos, onde comparava os efeitos da inibição da enzima catepsina B frente a ciclopaladados com fosfinas mono e bidentadas. A catepsina B é um alvo de interesse para os pesquisadores, pois está envolvida no metabolismo celular e diretamente ligada a fatores como a progressão tumoral e a angiogênese, a inibição dessa enzima pode levar células tumorais à apoptose. Apenas três moléculas dessa série foram sintetizadas utilizando derivados do aminoácido Valina, foram elas a 1b, 1c e 4b (Fig 16), todas elas têm fosfinas bidentadas em sua composição. Em

comparação com os resultados biológicos obtidos, as moléculas com fosfinas bidentadas se sobressaíram, tendo como melhores resultados a 1a, 1b e 1c, que contêm a fosfina dppe, os complexos 4a e 4b, que apresentam dppf em sua composição, também apresentaram bons resultados toxicológicos. A análise foi feita frente a linhagem A2780S e Catepsina B (Tabela 5).⁸⁰

Figura 16: Representação estrutural dos complexos binucleares de paládio (II) derivados da valina. A série ilustra as variações nas pontes de difosfina, destacando a conectividade via ligantes alquílicos (**1b** e **1c**) e a ponte organometálica de ferroceno (**4b**) unindo as unidades ciclopaladadas.



Fonte: Adaptado de SPENCER et. al (2009)

Tabela 5: Valores de IC₅₀ (μmol. L⁻¹) para ciclometalados de paládio (II) frente à enzima catepsina B e linhagem tumoral A2780S. Os dados correlacionam a potência de inibição enzimática com a atividade citotóxica, destacando o perfil de eficácia dos complexos 1a, 1b e 1c.

Linhagem	1a	1b	1c	4a	4b	5	6a	6b	7
Cat B	23 ± 3	9,5 ± 1,1	12 ± 1,5	30 ± 3	38 ± 2	>200	70 ± 5	>150	>200
A2780S	< 2	< 2	< 2	24	14	27	≥ 50	8	> 50

Fonte: Adaptado de Spencer et. al (2009).

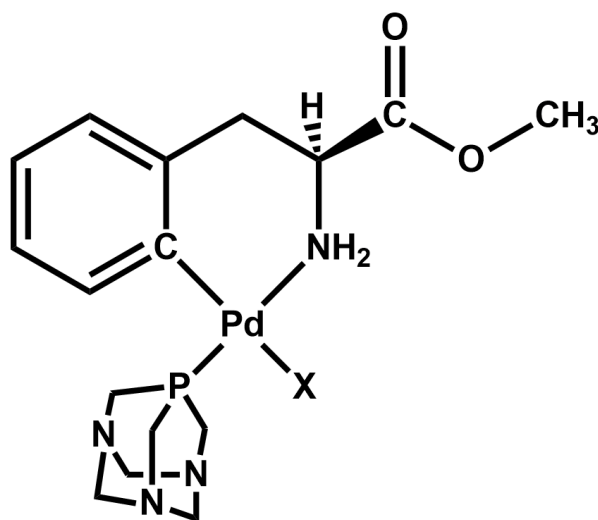
Os efeitos observados podem ser explicado pela inserção do grupo lipofílico, como nos derivados da valina, que demonstrou um efeito benéfico na inibição da

catepsina B, resultando em bons valores de IC_{50} , a natureza das fosfinas bidentadas envolvidas nos complexos, que conferem rigidez estrutural e tamanho definido ao complexo, permitindo um encaixe induzido ou bloqueio alostérico da enzima, feito que monômeros pequenos não conseguem realizar, provando que a engenharia supramolecular supera a simples presença do metal.⁸⁰

1.8 Hipótese

O nosso grupo tem investigado compostos contendo aminoácidos ciclopaladados. Por exemplo, Feitoza obteve sucesso na síntese do complexo $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(Br)(PTA)]$ (Phe-OMe = metil éster da L-Fenilalanina; PTA = 1,3,5-Triaza-7-fosfaadamantano) a partir da clivagem do dímero $[PdX(C^2,N\text{-PheOMe})]_2$ pela fosfina (Fig. 17).⁸¹

Figura 17: Representação estrutural do complexo $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(PTA)(Br)]$. A estrutura destaca o centro de paládio (II) em geometria quadrática plana, coordenado ao ligante ciclometalado fenilalanina metil éster (LFME) e a fosfina terciária PTA (1,3,5-triaza-7-fosfa-adamantano).



Fonte: Adaptado de FEITOZA, B.R.S. (2023)

Dentre os seis complexos sintetizados ao longo do doutorado de Feitoza, $[Pd(C^2,N\text{-PheOMe})(Br)(PTA)]$, nomeado como Pd-Br-PTA, foi o escolhido por apresentar o resultado mais promissor para os ensaios biológicos. Os resultados cristalográficos mostram que a ciclopaladação da L-fenilalanina metil ester leva a formação de um anel de 6 membros em conformação de barco, o que projeta os substituintes do aminoácido para fora do plano. Os ensaios de viabilidade celular

foram realizados frente às linhagens tumorais A549 (pulmão), MDA-MB-231 (mama) e A2780 (ovário) e a linhagem não tumoral MCR-5. (tabela 6).⁸¹

Tabela 6: Valores de IC₅₀ (μmol. L⁻¹) para o complexo [Pd(C²,N-PheOMe)(PTA)(Br)] em linhagens tumorais e não-tumorais (MCR-5). Os resultados demonstram a eficácia citotóxica seletiva do composto.

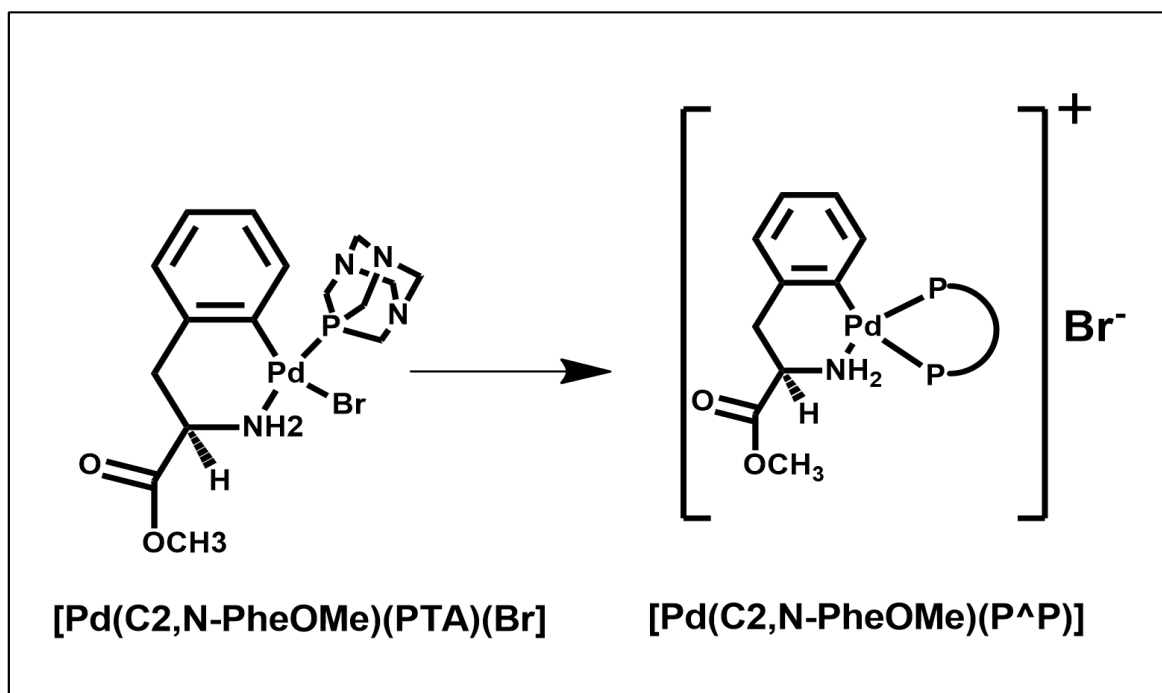
Linhagem	Pd-Br-PTA	Cisplatina
MCR-5	>50	29,09 ± 0,78
A549	>50	14,40 ± 1,40
MDA-MB-231	30,26 ± 0,87	2,40 ± 0,20
A2780	9,37 ± 1,07	11,17 ± 0,15

Fonte: Adaptado de FEITOZA, B.R.S. (2023)

Os resultados indicaram que o Pd-Br-PTA não é tóxico para células saudáveis e apresenta atividade intermediária em células de ovário A2780. Estudos posteriores mostram que o ciclopaladado possui baixa afinidade pelo DNA, ao contrário da cisplatina.⁸¹

Baseando nos resultados anteriores envolvendo o complexo do tipo [Pd(C²,N-PheOMe)(Br)(PTA)], nós pressupomos que a substituição da fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamandano (PTA) por difosfinas {P[^]P = cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (cis-dppv), trans-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (trans-dppv), 1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf)} (figura 23), pode gerar compostos não somente interessantes do ponto de vista da bioatividade, como também pode ser usado como plataforma para a preparação de novos compostos ciclopaladados contendo cadeias complexas de peptídeos. Nesse sentido, espera-se que essa modificação estrutural, mediante a introdução das difosfinas quelantes, preserve ou até acentue a baixa afinidade pelo DNA observada para o complexo precursor Pd-Br-PTA, reforçando um mecanismo de ação citotóxica distinto do apresentado pela cisplatina.

Figura 18: Representação da hipótese de substituição do ligante PTA por difosfinas bidentadas (P[^]P). O esquema ilustra a conversão do complexo neutro [Pd(C²,N-PheOMe)(PTA)(Br)] em uma espécie catiônica quelato, visando modular a estabilidade e a reatividade biológica do centro metálico.



Fonte: Autor.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho consiste na síntese, caracterização, investigação da atividade biológica de complexos inéditos de Paládio (II) de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{P}^{\wedge}\text{P})]\text{Br}$; contendo ligante L-Fenillanina e difosfinas $\{\text{P}^{\wedge}\text{P} = \text{cis-1,2-bis}(\text{difenilfosfino})\text{etileno (cis-dppv), trans-1,2-bis}(\text{difenilfosfino})\text{etileno (trans-dppv), 1,2-bis}(\text{difenilfosfino})\text{etano (dppe), 1,1'-bis}(\text{difenilfosfino})\text{ferroceno (dppf)}\}$ como co-ligantes.

2.1 Objetivos específicos

I. Síntese e caracterização do complexo inéditos de Paládio (II) do tipo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{P}^{\wedge}\text{P})]\text{Br}$;

II. Avaliar o comportamento químico do complexo em solução;

III. Avaliar a atividade citotóxica in vitro do complexo de Pd (II) frente às células tumorais de ovário (A2780) e de mama (MDA-MB-231 e SKBR-3) e não tumorais de mama (MCF-10A);

IV. Investigar se há interação do complexo com o DNA.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Procedência dos solventes e reagentes

Os reagentes L-fenilalanina-metil-éster (Aldrich), Ácido Triflico (Aldrich), Acetato de Paládio (Aldrich), Brometo de Potássio (Synth) e cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (Aldrich), cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (cis-dppv), trans-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (trans-dppv), 1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf) foram utilizados sem purificação prévia. Os solventes Diclorometano, Acetonitrila, Acetona, n-Pentano e Éter etílico foram adquiridos da Merck.

3.2 Instrumentação

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados no espectrofotômetro NICOLET, modelo SX-FT Impact 400, na região de 4000-400 cm^{-1} , em KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e ^{31}P desacoplado foram registrados em espectrômetro multi nuclear BRUKER, modelo AVANCE III HD 600, operando a 600 MHz para hidrogênio. Clorofórmio deuterado (Aldrich) foi utilizado para dissolução dos complexos enquanto que dimetilsulfóxido deuterado (Aldrich) para a teste de estabilidade em solução. Os espectros de massas foram registrados no espectrômetro 3200 QTRAP (quadrupolo – ion trap linear), AB SCIEX e a ionização por electrospray (Turbo Ion Spray) no modo positivo. O padrão foi dissolvido em 1 mL de acetonitrila e diluído vinte vezes.

3.3 Síntese dos precursores

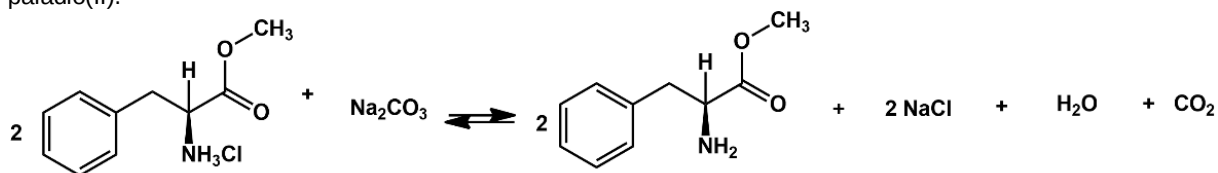
As sínteses do ligante **L1** (Phe-OMe) e do complexo dímero **D1** ($[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{Br})_2]_2$) foram relatadas no trabalho de Vicente et al. (2011), no qual foi

apresentada uma nova metodologia sintética para a ciclometalação de aminas primárias e secundárias a partir de sais triflatos dos aminoácidos desejados.

3.3.1 Síntese do ligante L1:

Em um béquer de 250 mL, reagiu-se 1,000 g (4,64 mmol) de cloridrato de éster metílico de L-Fenilalanina com 0,6000 g (5,66 mmol) carbonato de sódio em excesso, Figura 19, em 30,00 mL água e sob agitação magnética por quinze minutos. A solução aquosa foi colocada em um funil de separação. Adicionou-se 15,00 mL de diclorometano e agitou-se o funil suavemente. Após a agitação, o funil foi deixado em repouso para as fases líquidas se separarem. Após a separação, a fase mais densa (diclorometano) foi extraída, repetiu-se o processo de lavagem da fase orgânica por mais duas vezes.

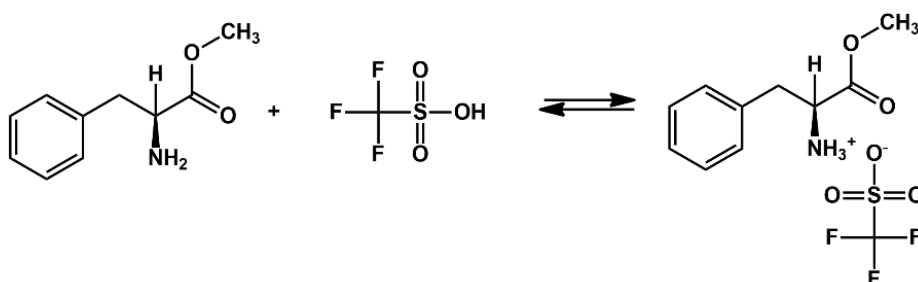
Figura 19: Reação de neutralização do cloridrato de fenilalanina metil éster com Na_2CO_3 . O processo promove a desprotonação do grupamento amônio (NH_3^+), viabilizando sua coordenação como ligante ao centro de paládio(II).



Fonte: Autor.

Em seguida, adicionou-se na fase orgânica sulfato de sódio anidro, com a finalidade de remover resíduo de água. Realizou-se uma filtração simples, separando a mistura formada após a adição de NaSO_4 . Posteriormente, a fase orgânica foi concentrada no rota-evaporador, sob baixa pressão, até um volume de 5,00 mL. A solução concentrada foi transferida para um balão de 50 mL e, em seguida, adicionou-se lentamente 0,51 mL (5,65 mmol) de ácido trifílico com o auxílio de uma pipeta, sob agitação magnética. Após a adição do ácido, notou-se a formação de um sólido branco, indicando a formação do triflato do metil-éster da L-fenilalanina, figura 20.

Figura 20: Reação de síntese do sal de triflato de fenilalanina metil éster (PheOMe-OTf). O esquema ilustra a protonação da amina livre pelo ácido trifluorometanossulfônico, resultando na formação do par iônico amônio/triflato estável.

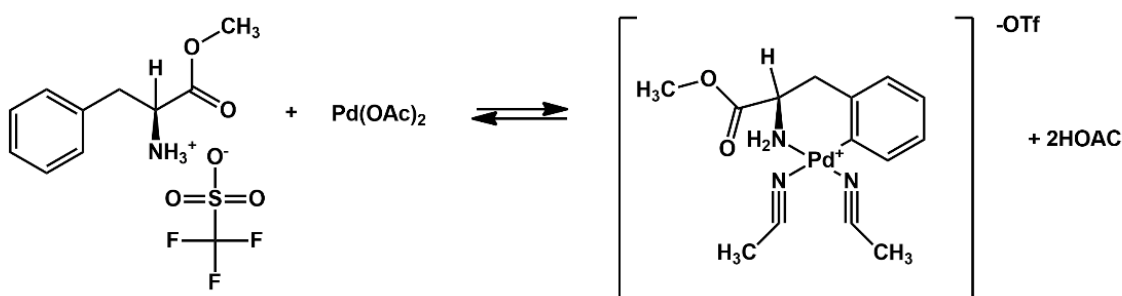


Fonte: Autor.

3.3.2 Síntese do dímero D1:

Adicionou-se em um balão de fundo redondo de 50 mL, 0,1023 g (0,456 mmol) de acetato de paládio (II) em 20,00 mL de acetonitrila (CH₃CN) e, em seguida, adicionou-se lentamente, durante a primeira etapa de aquecimento, o ligante L1 (0,1500 g, 0,456 mmol), figura 20, sob agitação magnética constante e refluxo. O aquecimento foi mantido a 65 °C nas primeiras 2h de reação e 78°C durante 4h finais. Ao término da reação, figura 21, a suspensão foi filtrada utilizando-se uma mistura de celite e carbonato de sódio. O filtrado foi rota-evaporado, formando-se um material oleoso/sólido com um odor de ácido acético.

Figura 21: Reação de formação do precursor catiônico de paládio (II) em acetonitrila. O esquema ilustra a ciclo-paladação do aminoácido, resultando na espécie estável com o contra-íon triflato (OTf⁻).

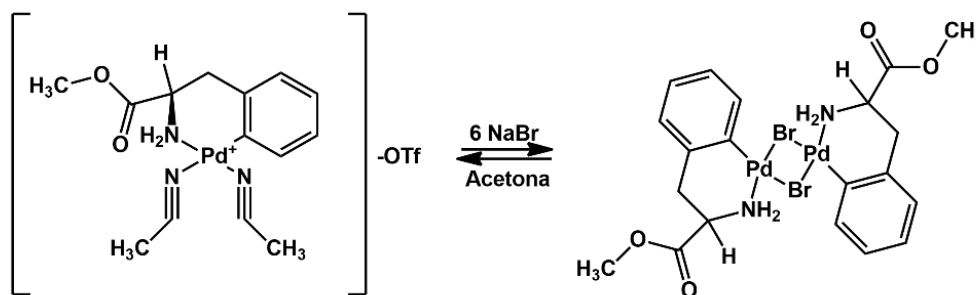


Fonte: Autor.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, o produto da síntese anterior foi solubilizado em 30,00 mL de acetona, em seguida, adicionou-se excesso de brometo de sódio (0,2005 g; 2,76 mmol), deixando reagir por 12 horas sob agitação magnética, figura 22. Ao término da reação, o solvente foi removido no rota-evaporador, gerando um sólido de coloração verde-marrom. Em seguida, adicionou-se diclorometano ao

produto e a suspensão de cor alaranjada resultante foi filtrada em um filtro com celite. O filtrado foi concentrado para um volume de 5,00 mL no rota-evaporador. Adicionou-se pentano à solução concentrada que resultou na precipitação do composto. O sólido foi isolado por filtração e seco sob vácuo com rendimento de 80%.

Figura 22: Reação de síntese do dímero D1 via metátese de sais em acetona. O esquema ilustra a conversão do precursor catiônico na espécie neutra $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe}(\mu\text{-Br}))_2]$ através da substituição dos ligantes acetonitrila por pontes de brometo.



Fonte: Autor.

3.4 Síntese dos complexos de paládio (II)

3.4.1 Estudo da interação entre o $[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})]_2$ e cis-dppv (reação 1)

Em um béquer de 25 mL, adicionou-se 108,7 mg (0,274 mmol) de cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (cis-dppv). Em um tubo de Schlenk para reação e armazenamento de 150 mL, preparou-se 20 ml de acetona, onde foi feita a purga de argônio, para então a adição de 100 mg (0,137 mmol) de $[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})]_2$, em atmosfera inerte. Em seguida, adicionou-se lentamente os 108,7 mg de cis-dppv sob a solução contendo o dímero. A mistura foi mantida sob agitação magnética durante 30 minutos, figura 7, em temperatura ambiente, resultando em uma solução de coloração castanha. A solução foi concentrada e, após adição de pentano, observou-se a formação de um precipitado. O sólido foi isolado por filtração e seco sob vácuo com rendimento de 72%.

3.4.2 Síntese do Complexo [Pd(C²,N-Phe)(cis-dppv)] (2)

Em um béquer de 25 mL, adicionou-se 67,1 mg (98,5 mmol) de [Pd(C²,N-Phe)(cis-dppv)] em 15 mL de diclorometano. Em seguida, transferiu-se a solução para um funil de separação, adicionou-se 15 mL de uma solução 10% de KOH e agitou-se o funil suavemente. Após a agitação, o funil foi deixado em repouso para que as fases líquidas se separem. Após a separação, a fase mais densa (diclorometano) foi extraída, repetiu-se o processo mais duas vezes, ocasionando a remoção da metoxila.

3.4.3 Estudo da interação entre o [PdBr(C²,N-PheOMe)]₂ e outras difosfinas

Em um tubo de Schlenk para reação e armazenamento de 150 mL, foi adicionado 20 mL de acetona, feita a purga com argônio, para então adição do precursor [PdBr(C²,N-PheOMe)]₂ (0,137 mmol) em atmosfera inerte, posteriormente adicionou-se 0,274 mmol da difosfina apropriada (trans-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (trans-dppv), 1,2-bis(difenilfosfino)etano) (dppe) ou (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno) (dppf)). A mistura foi mantida sob agitação magnética durante 30 minutos, em temperatura ambiente, resultando em uma solução de coloração amarelada para a dppe e t-dppv e para a dppf uma solução castanha escura. A solução foi concentrada e, após adição de pentano, observou-se a formação de uma suspensão. O sólido foi isolado por filtração, lavado com porções de éter e pentano e seco sob vácuo.

3.5 Ensaio de comportamento em solução

A avaliação do comportamento do complexo em solução foi feita solubilizando a amostra em DMSO-d₆ e registrando seus respectivos espectros de 0, 24 e 48h no espectrômetro BRUKER Avance III HD (14, 1T a 298 K)

3.6 Atividade citotóxica *in vitro*

3.6.1 Diluição do complexo

A solução estoque do complexo de paládio (**2**) foi preparada em DMSO. Para todos os ensaios, o composto foi diluído em meio de cultura e a concentração final de DMSO foi inferior a 0,5%.

3.6.2 Linhagens celulares

Os testes foram realizados com a utilização de duas linhagens tumorais de mama humana, MDA-MB-231 e SKBr-3, uma linhagem tumoral de ovário humano, A2780, e uma linhagem não tumoral de mama humana, MCF-10A. A linhagem MDA-MB-231 foi cultivada em meio DMEM com 10% de soro fetal bovino (FBS), as linhagens SKBr-3 e A2780 foram cultivadas em meio RPMI com 10% de FBS e a linhagem MCF-10A em meio DMEM/F12 contendo 5% de soro fetal equino. O cultivo foi realizado em garrafas de plástico armazenadas em estufa a 37° C com atmosfera de 5% de CO₂

3.6.3 Viabilidade celular - Ensaio MTT

A atividade citotóxica do complexo frente às linhagens apresentadas anteriormente foi medida pelo ensaio MTT ((brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difeniltetrazólio)). Após contagem da suspensão celular, foram adicionadas em 96 (1x10⁴ células/100 µL) poços estéreis e mantidas durante 24 horas a 37° C e 5% de CO₂. Em seguida o meio foi removido e diferentes concentrações do composto aos poços e as placas foram incubadas por 48 horas.

Após o período, o meio foi removido e uma solução de MTT foi adicionada aos poços (50 µL/poço). placas voltaram a ser incubadas, por 3 horas, o excesso do MTT foi removido e os cristais de formazan foram dissolvidos em isopropanol (100 µL/poço).

As leituras de absorbância foram realizadas em um leitor de microplacas (Synergy HTX Multimode Reader - Agilent) em 570 nm. O valor de IC₅₀ foi determinado

a partir da curva dose-resposta utilizando o software Graphpad Prism 8.0 e todos os ensaios foram realizados em duplicata.

3.7 Ensaio de competição com Hoechst 33258 e Laranja de Tiazol

Para a realização dos ensaios de competição uma solução estoque de ctDNA foi preparada adicionando aproximadamente 8 mg de ctDNA (Sigma) em 4,0 ml de tampão Tris-HCl. A solução preparada foi armazenada e mantida sob refrigeração a 6°C por 48 horas para garantir completa solubilização.

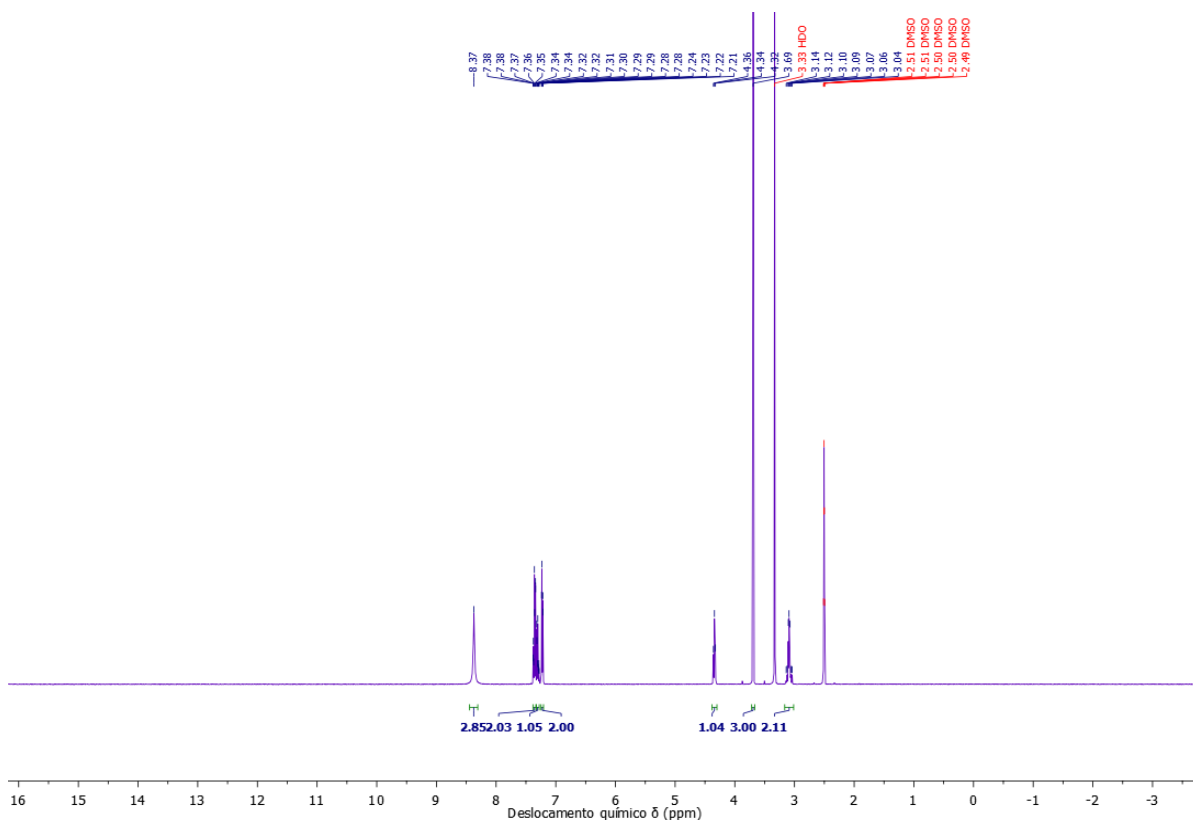
Os ensaios de competição pelo DNA foram realizados com as sondas Hoechst 33258 e Laranja de Tiazol (TO). Os espectros de emissão foram registrados no equipamento Horiba Jobin Yvon, modelo Fluorolog-3 FL3-122, utilizando o comprimento de onda de excitação 338 nm, em uma faixa de 358 nm a 660 nm para o Hoechst. Para o Laranja de Tiazol, o comprimento de onda de excitação foi de 480 nm, em uma faixa de 500 nm a 680 nm. Para isso preparou-se uma solução de ctDNA (60µM) em tampão tris HCl (pH 7,4), a qual foi tratada individualmente com Hoechst 33258 (6µM) e TO (6µM). Diferentes concentrações do complexo **2** em DMSO (2×10^{-3} M) foram adicionadas à solução Hoechst 33258-DNA e TO-DNA. A concentração do complexo foi variada de 0 a 60 µM e as medidas foram realizadas após 5 minutos de repouso entre cada adição.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Para a discussão da caracterização dos complexos de paládio (II), é importante realizar uma discussão prévia da caracterização do sal precursor Phe-OMe·OTf e do seu dímero D1, para que seja possível observar as mudanças espectrais ocorridas nesta molécula. Para isso foi realizado o espectro de RMN do sal Phe-OMe·OTf (Figura 23).

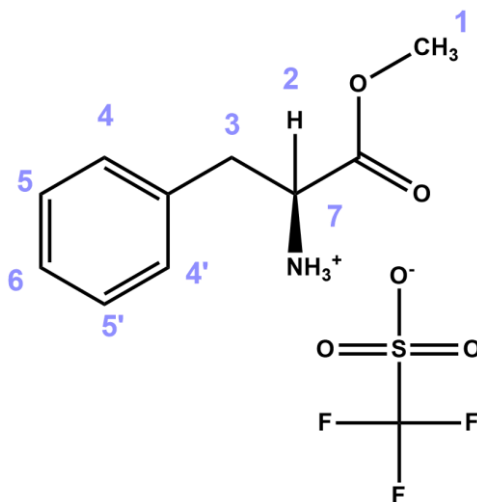
Figura 23: Espectro de RMN de ^1H em solução de DMSO- d_6 do sal Phe-OMe-OTf. Os sinais confirmam a integridade do aminoácido protonado, destacando o singlete dos hidrogênios metoxílicos em 3,69 ppm e o padrão de deslocamentos na região aromática (7,21–7,38 ppm)



Fonte, Autor

Seguindo o esquema numérico proposto para a identificação dos prótons presentes no sal triflato Phe-OMe (figura 24), é possível observar no espectro na região dos alifáticos um singlete de alta intensidade em 3,69 ppm, com uma integral igual a três, o qual é atribuído a metila do éster, o H1.

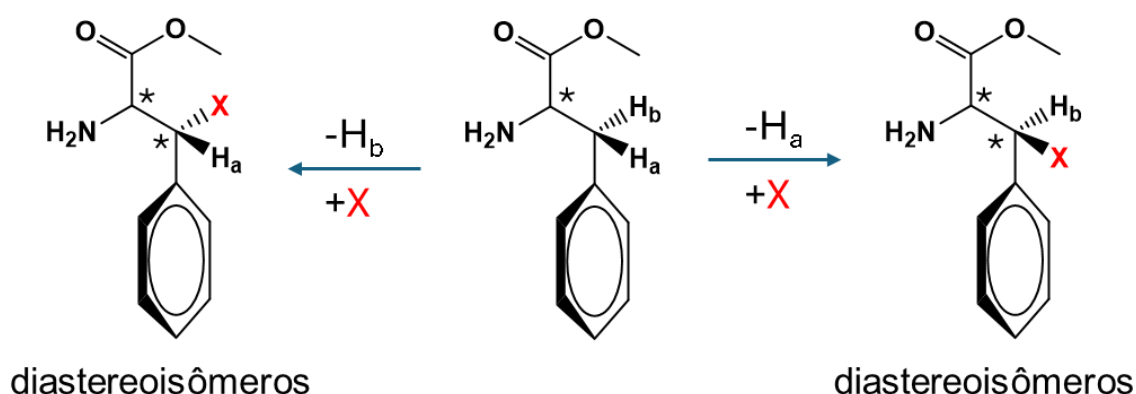
Figura 24: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio para o sal Phe-OMe-OTf. A atribuição numérica orienta a interpretação dos sinais nos espectros de RMN, correlacionando os deslocamentos químicos à estrutura do aminoácido.



Fonte: Autor.

A presença do grupo éster gera um efeito de desblindagem na metila, isso faz aumentar o deslocamento para regiões de menor blindagem. O tripleto em 4,33 ppm ($J = 6,6$ Hz) é atribuído para o H2, pois existem 2 hidrogênios na vizinhança (os hidrogênios do grupo $-CH_2-$ da posição 3). Os prótons do grupo CH_2 são diastereotópicos, pois a substituição de cada um resulta em um par de diastereoisômeros (Figura 25).

Figura 25: Esquema representativo dos prótons diastereotópicos do grupo CH_2 benzílico. A formação do centro quiral adjacente torna os hidrogênios H_a e H_b quimicamente não equivalentes, resultando em padrões de acoplamento distintos observáveis no espectro de RMN de 1H .

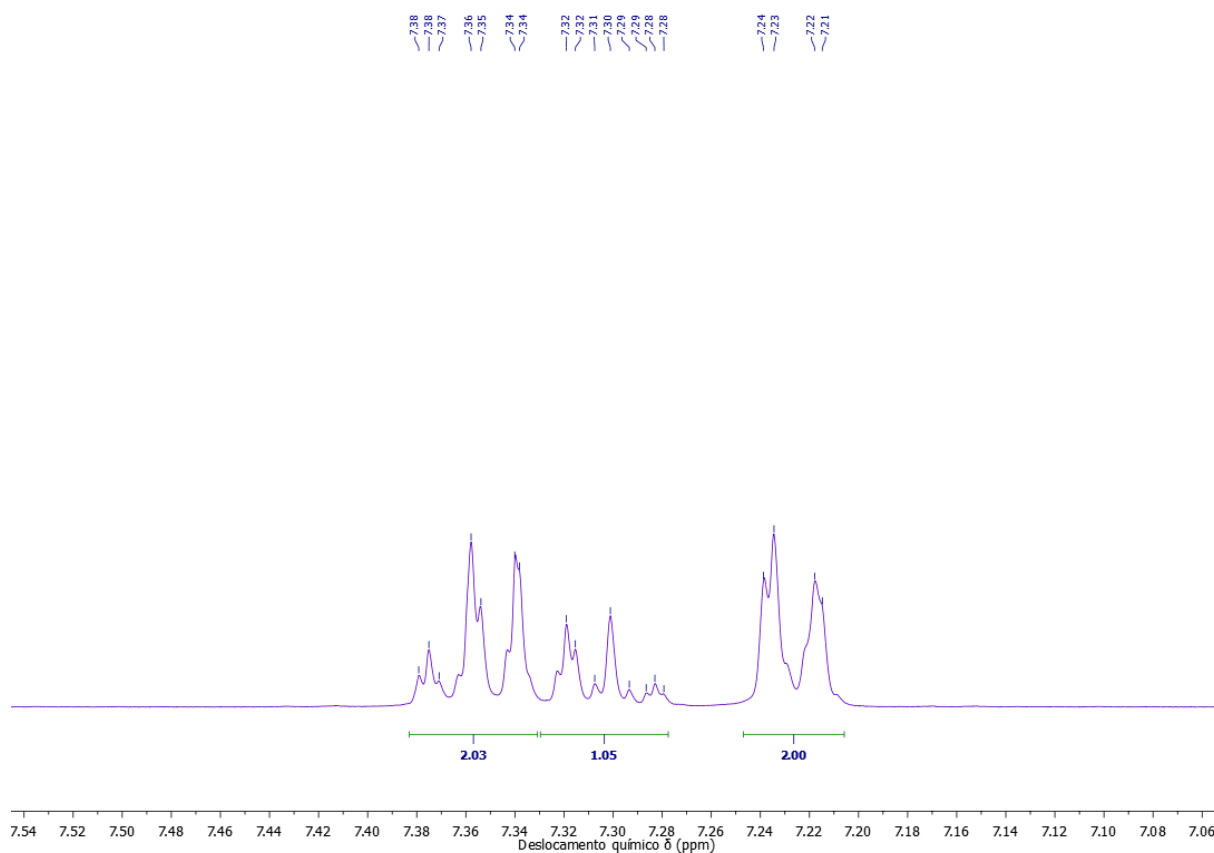


Fonte: Autor.

Os prótons diastereotópicos não são quimicamente equivalentes e produzem dois sinais. No caso do sal triflato Phe-OMe, os 2 hidrogênios diastereotópicos do grupo $-CH_2-$ não são equivalentes e dão origem a dois sinais com deslocamentos químicos bem próximos, originando um multipletto em 3,04 - 3,14 ppm.

Ao analisar a região dos prótons aromáticos, foi possível observar um multipletto em 7,21 - 7,24 ppm com integral igual a dois, sendo referente aos prótons H_4/H_4' . Outros dois multipletos aparecem em 7,33 - 7,38 ppm, sendo um deles atribuído aos prótons H_5/H_5' . O multipletto em 7,28 - 7,33 ppm, com integral de 1 Hidrogênio, é atribuído ao próton H_6 , o qual sofre acoplamento com os dois hidrogênios H_5/H_5' , que se encontram em regiões quimicamente idênticas. (fig. 26)

Figura 26: Ampliação da região aromática (7,00–7,55 ppm) do espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6) do sal Phe-OMe-OTf. O padrão de multipletos e as integrações (2:1:2) confirmam a presença dos cinco núcleos de hidrogênio do anel fenila.

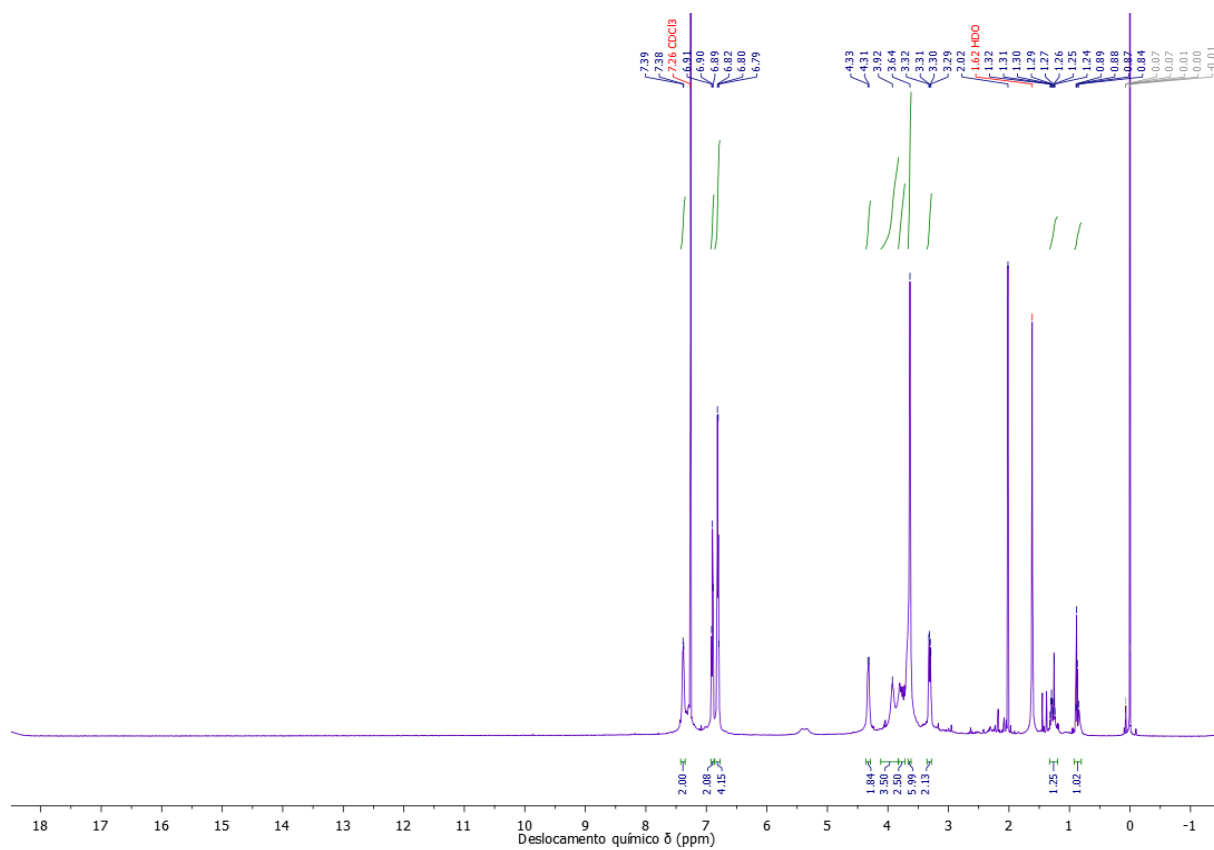


Fonte: Autor.

Já o próton H7 foi atribuído ao singlete em 8,37 ppm com integral igual a 3H, pois seriam os três hidrogênios ligados ao nitrogênio (grupo $-\text{NH}_3^+$).

Com base nas atribuições do ligante Phe-OMe, foi realizada a caracterização do dímero D1 por espectroscopia de RMN- ^1H em clorofórmio- d (CDCl_3), cujo espectro encontra-se representado pela figura 27.

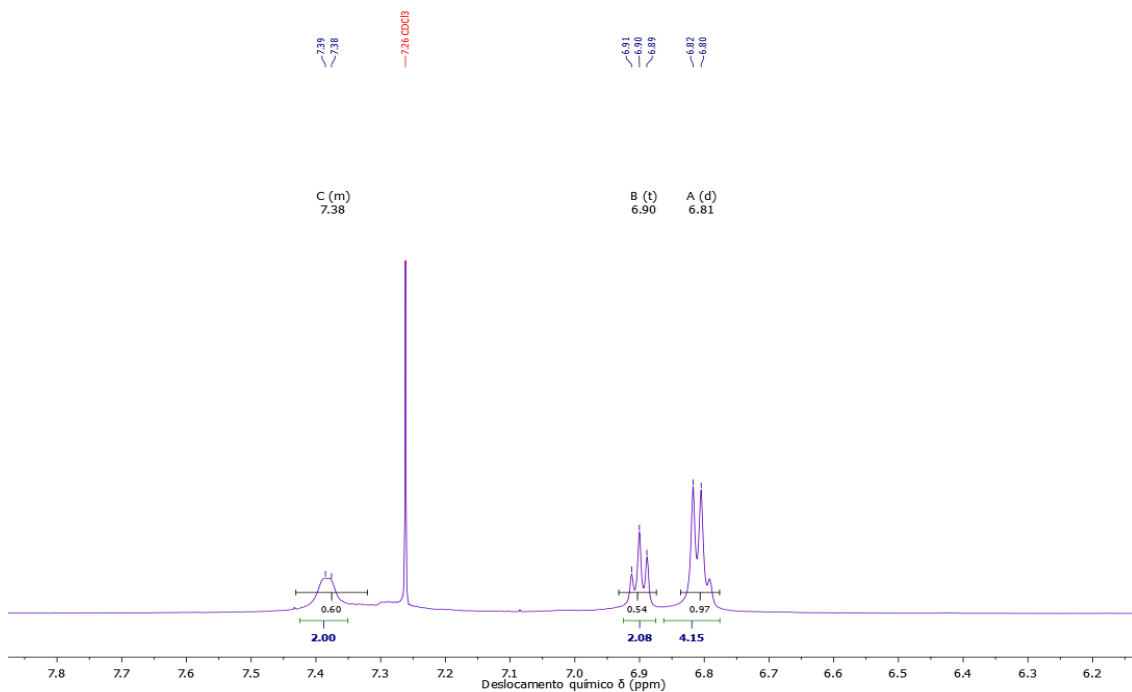
Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero **D1**. Os sinais confirmam a formação da unidade ciclopaladada, destacando a diferenciação química dos prótons aromáticos e a manutenção do grupo éster metílico em 3,64 ppm após a coordenação ao centro de paládio (II).



Fonte: Autor.

A figura 28 ilustra o espectro de RMN- ^1H do D1 ampliado na região de 6,5 - 8,00 ppm.

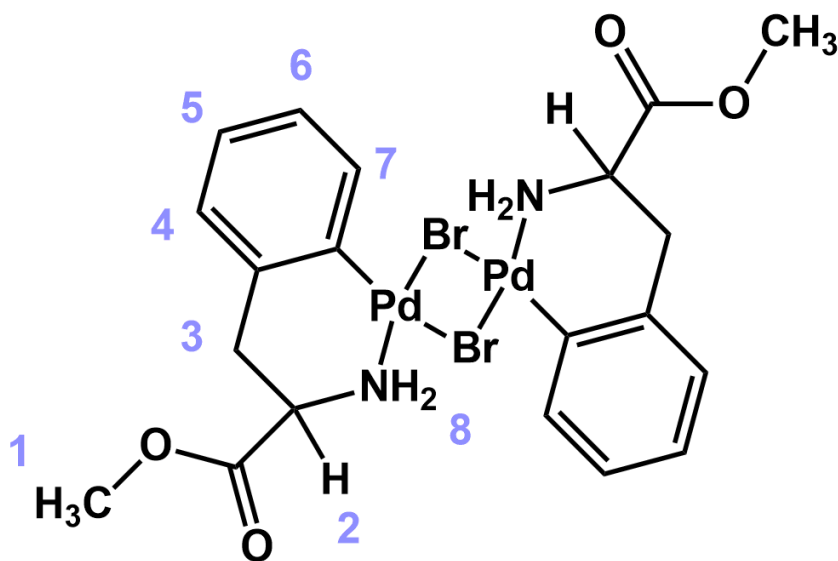
Figura 28: Ampliação da região aromática (6,75–7,45 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero **D1**. O padrão de desblindagem confirmam a orto-metalatação do anel fenila, evidenciando a formação da ligação covalente (Pd-C).



Fonte: Autor.

As atribuições foram feitas seguindo o esquema de numeração da molécula da figura 29.

Figura 29: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio para o dímero **D1**. A atribuição numérica permite correlacionar os sinais observados no espectro de RMN à estrutura binuclear.



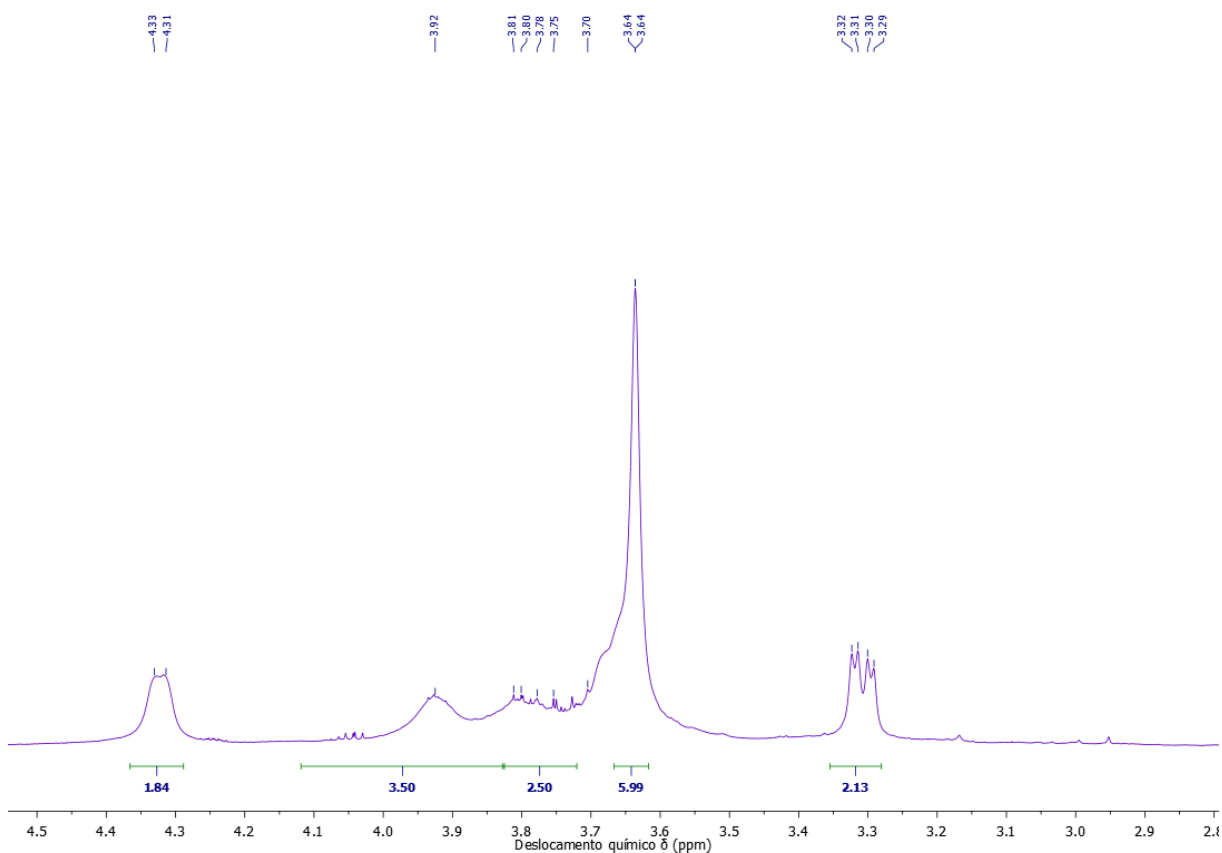
Fonte: Autor.

Na porção alifática, observou-se a duplicação dos valores das integrais em comparação com os valores do precursor Phe-OMe, isso acontece tanto na parte

aromática quanto na alifática, pois a molécula apresenta equivalência química ocasionada por sua simetria. O singlete presente em 3,64 ppm é atribuído ao próton H1, com uma integral igual a seis. O sinal referente ao próton H2, que está ligado ao carbono quiral, é atribuído ao dubleto presente em 4,32 ppm com $J = 8,6$ Hz. Os 2 prótons diastereotópicos do grupo $-CH_2-$ (posição 3) dão origem a um duplo dubleto em 3,3 ppm. A formação do anel ciclometalado permite que as ligações químicas de do anel ciclometalado adquiram uma certa rigidez, permitindo que aos hidrogênios metilênicos experimentem diferentes ambientes magnéticos manifestados na separação dos sinais.

Ainda na região dos alifáticos é possível observar o pico referente aos prótons H8, um singlete largo em 3,92 ppm, com integral de 4. Esse deslocamento significativo para a região de maior blindagem em relação ao ligante livre mostra que houve a desprotonação e posterior coordenação da amina, formando a ligação Pd-N.

Figura 30: Ampliação da região alifática (2,80–4,55 ppm) do espectro de RMN de 1H ($CDCl_3$) do dímero D1. Os sinais confirmam a presença do grupo éster metílico em 3,64 ppm e a não equivalência química dos prótons do sistema benzílico e do carbono alfa.



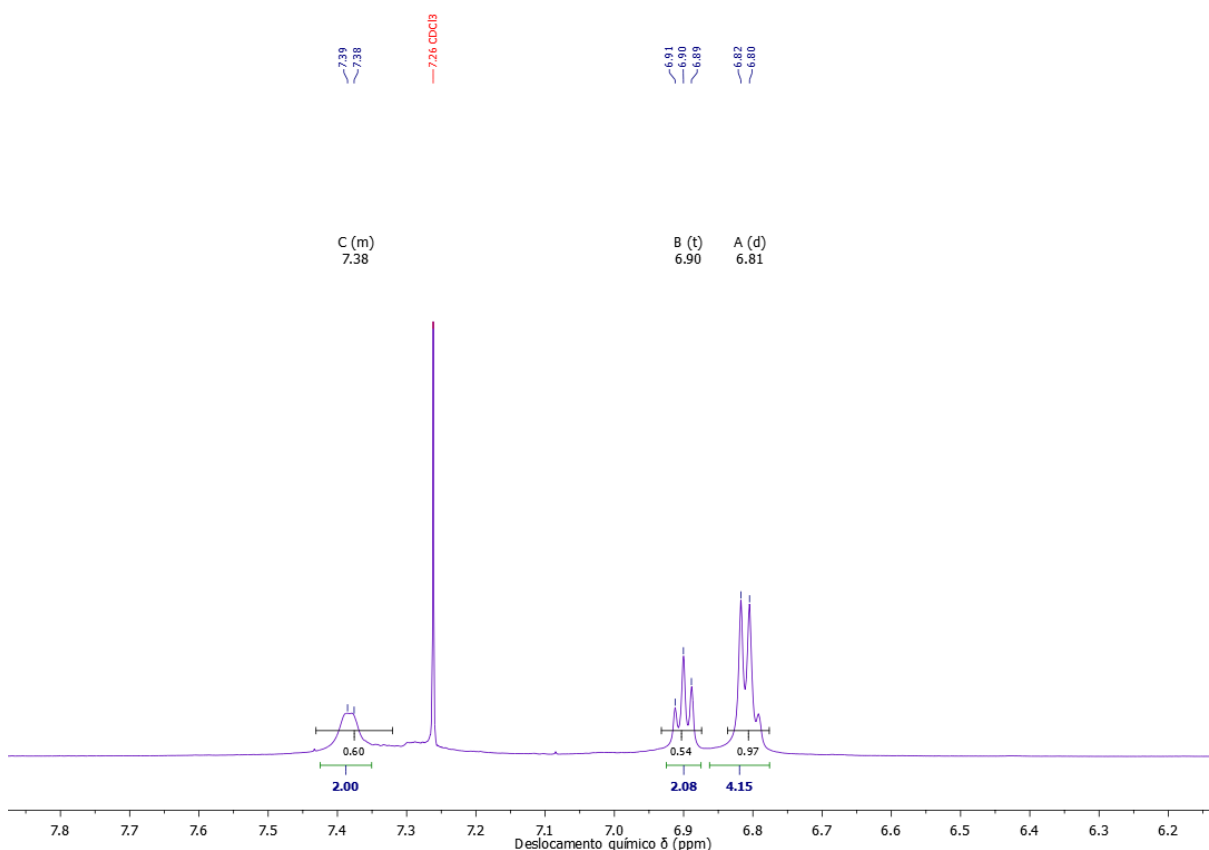
Fonte: Autor.

Na região dos aromáticos, utilizando o precursor Phe-OMe como referência, pode-se observar a alteração do padrão dos sinais presentes no anel aromático, sendo observado agora sinais para 4 átomos de H aromáticos (H4, H5, H6 e H8), ambos com integração igual a 2H, condizente com a formação do dímero ortometalado (figura 30).

Com a ciclometalação, um dos hidrogênios do par H4/H4' (posição orto) deixou de existir na molécula. Observa-se o deslocamento do sinal em 7,21 - 7,24 ppm associado ao par H4/H4' (ligante livre) para 7,38 ppm (H4). Esse fato é condizente com o evento da ciclometalação, ou seja, o paládio ligou-se ao carbono *orto* do anel aromático do precursor Phe-OMe, formando a ligação Pd-C_{arom}.

Na figura 31, observa-se um dubleto em 6,81 ppm, com $J = 7,7$ Hz atribuído aos hidrogênios H6 e H7, que absorvem praticamente a mesma frequência. Um tripleto em 6,90 ppm ($J = 6,8$ Hz) é atribuído ao hidrogênio H5.

Figura 31: Ampliação da região aromática (6,10–7,90 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do dímero D1.



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

A tabela 7 contempla as atribuições dos sinais presentes no espectro RMN de ^1H do dímero D1

Tabela 7: Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (CDCl_3) para o dímero D1. A tabela correlaciona os deslocamentos químicos (δ), constantes de acoplamento (J), integrais e multiplicidades aos respectivos núcleos de hidrogênio, confirmando a estrutura binuclear e a orto-metalação do sistema.

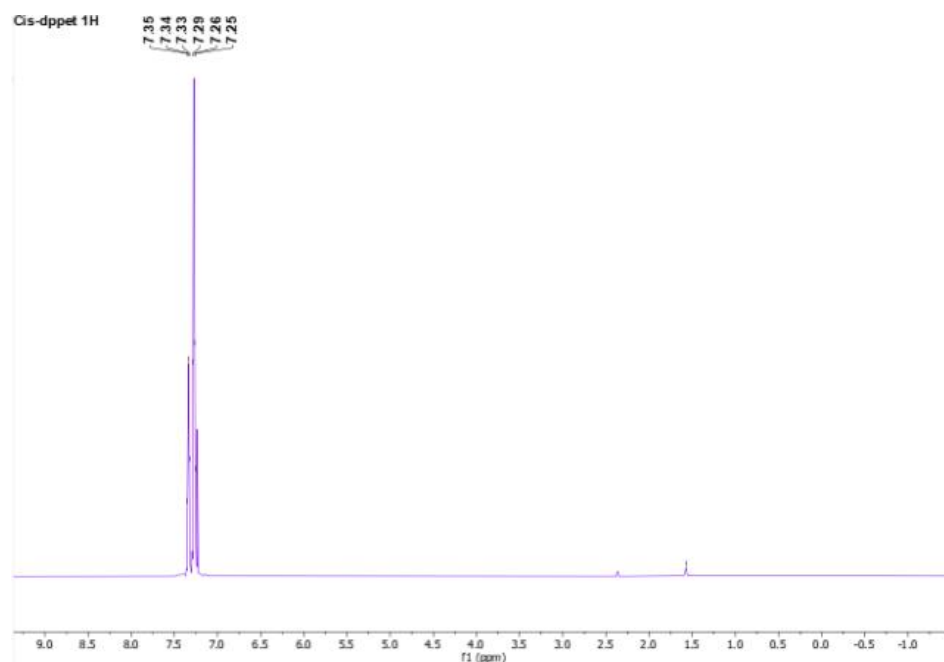
Atribuição	^1H	J(Hz)	Integral	Multiplicidade
1	3,64	-	6	s
2	4,32	8,6	2	d
3	3,33	5,0	2	dd
4	7,36 - 7,42	-	2	m
5	6,90	6,8	2	t
6	6,81	7,7	2	d
7	6,81	7,7	2	d
8	3,92	-	4	s

s= singleto; d=dubleto; t=tripleto; m=multipleteo

Fonte: Autor.

O espectro de RMN de ^1H do ligante *cis*-dppv livre é apresentado na Fig. 9.

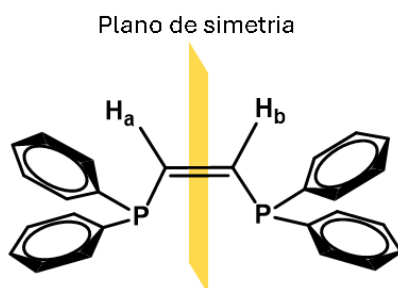
Figura 32: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do ligante livre *cis*-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (*cis*-dppv). Os sinais concentrados na região de 7,25–7,35 ppm confirmam a equivalência química dos núcleos de hidrogênio dos anéis fenila.



Fonte: Autor.

A molécula de *cis*-dppv tem um plano de simetria atravessando a ligação $\text{C}=\text{C}$. Logo, os prótons vinílicos H_a e H_b , que são *cis* entre si, são química e magneticamente equivalentes (Figura 33).

Figura 33: Representação do plano de simetria no ligante livre cis-dppv. A simetria molecular torna os núcleos de hidrogênio H_a e H_b e de fósforo quimicamente equivalentes, resultando na simplificação dos sinais observados nos espectros de RMN do ligante não coordenado.

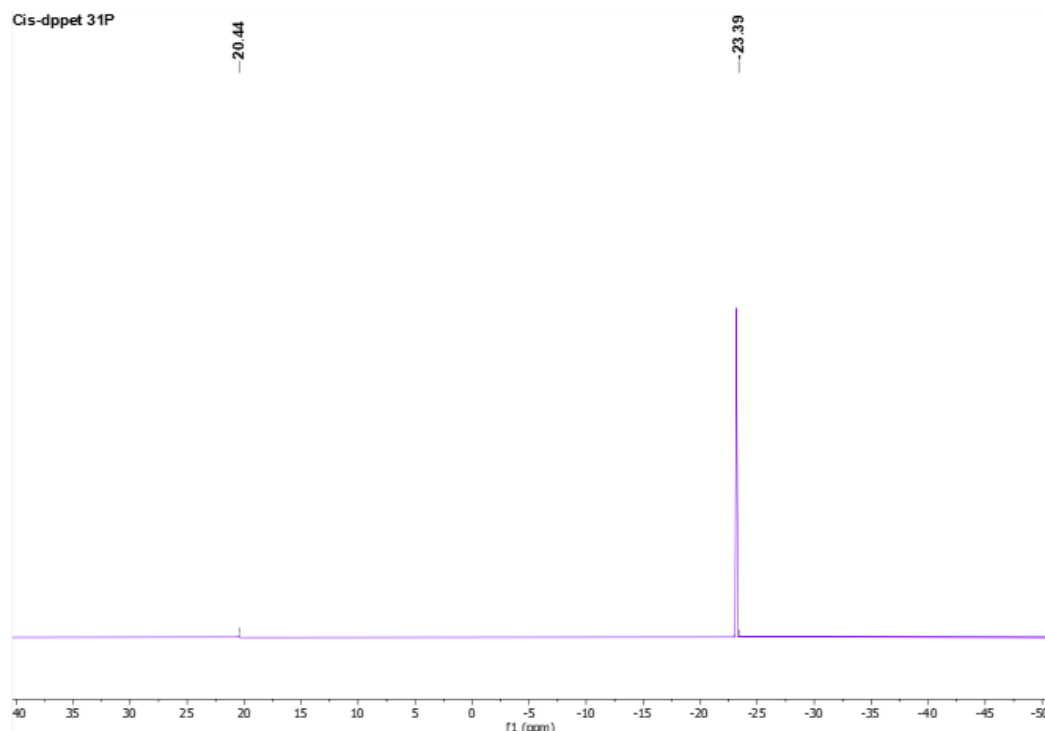


Fonte: Autor.

Logo, os dois prótons vinílicos H_a e H_b geram apenas um único sinal de ressonância não separado (não se separam-se em dois dubletos com 3J no intervalo de 6 a 15 Hz).⁸² No espectro de RMN de 1H do cis-dppv (Fig. 32), são observados dois multipletos na região de 7,36-7,32 ppm e 7,30-7,23 ppm referentes aos átomos de hidrogênio dos anéis aromáticos e dos prótons vinílicos H_a e H_b . O sinal dos prótons vinílicos encontra-se encoberto pelos sinais dos hidrogênios aromáticos.

O espectro de ^{31}P da cis-dppv (Fig. 34) apresenta um sinal em -23,88 ppm, atribuído aos núcleos equivalentes dos átomos de fósforo do ligante. Observa-se um sinal de baixa intensidade em 20,49 ppm atribuído a presença de traços de cis-dppv oxidada (fosfinóxido)

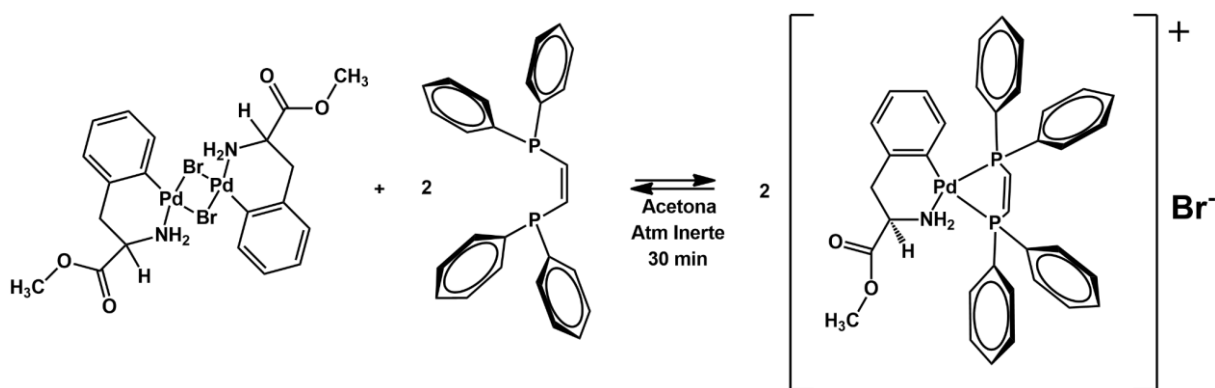
Figura 34: Espectro de RMN de ^{31}P (CDCl_3) do ligante livre cis-dppv. A presença de um sinal único e intenso em -23,39 ppm confirma a equivalência química e magnética dos dois núcleos de fósforo na estrutura.



Fonte: Autor.

A reação entre o dímero **D1** e a cis-dppv conduziu a formação de um sólido branco (composto **1**) conforme descrito na equação abaixo (fig. 35)

Figure 35: Reação de clivagem do dímero D1 pelo ligante difosfina cis-dppv em acetona. O esquema ilustra a formação do complexo catiônico monometalado $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{cis-dppv})]\text{Br}^+$, resultante da substituição das pontes de brometo pelo ligante quelato sob atmosfera inerte.



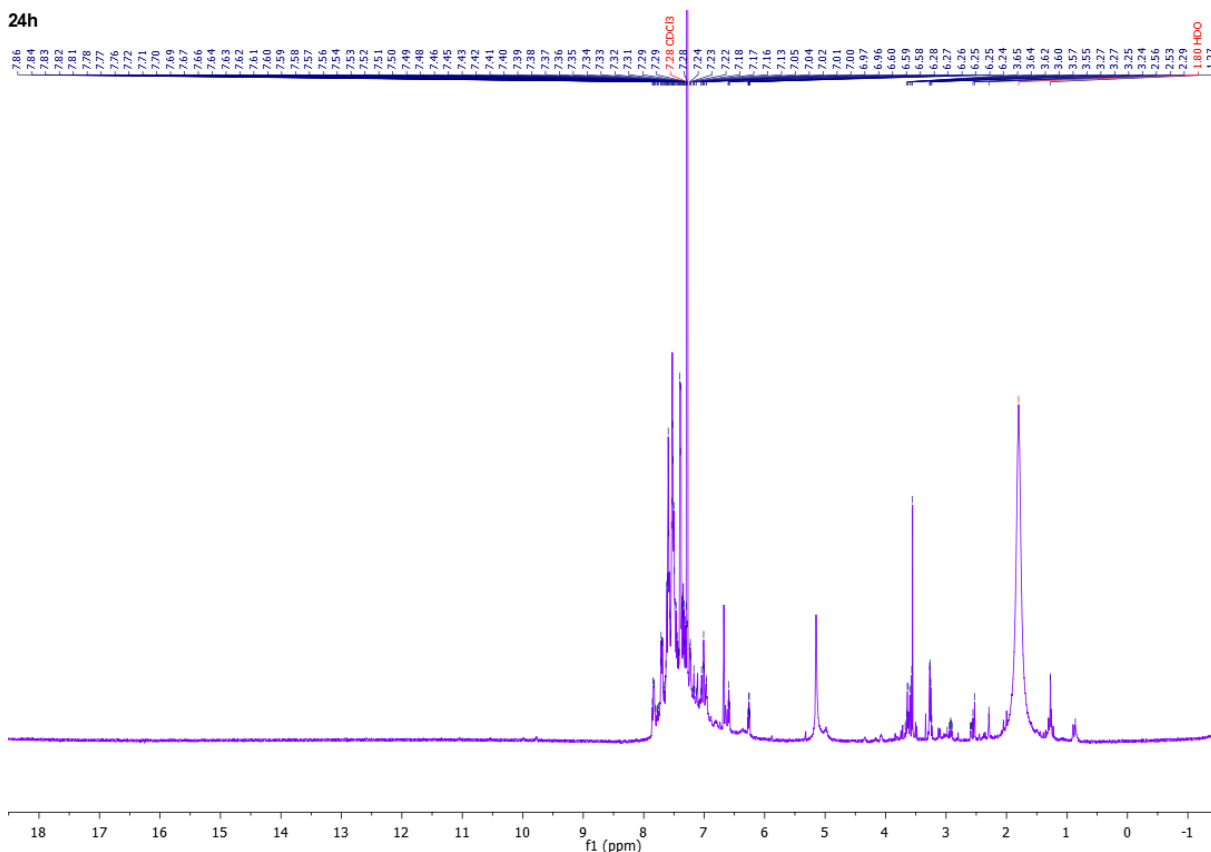
Fonte: Autor.

Como o rendimento da reação com composto **1** purificado foi baixo (15%), não havia massa suficiente para posteriores estudos de viabilidade celular. O composto **1** foi caracterizado via espectroscopia vibracional na região infravermelho (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN).

Sínteses posteriores não resultaram em amostras com pureza suficiente para conduzir os testes biológicos. O espectro de RMN de hidrogênio do complexo **1**

formado da reação entre o dimero D1 e a cis-dppv (fig 36) mostra o aparecimento uma série de novos sinais na região dos aromáticos associados ao ligante difosfínico, evidenciando sua coordenação.

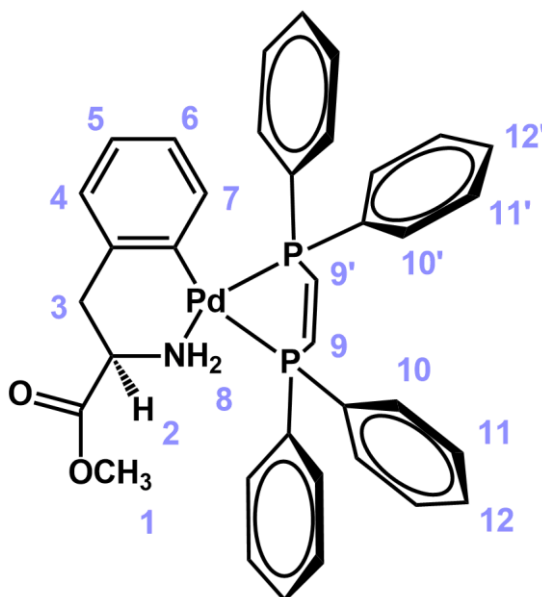
Figura 36: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do sólido 1. A sobreposição e o desdobramento dos sinais na região aromática (7,00–7,86 ppm) confirmam a coordenação do ligante cis-dppv ao centro de paládio (II).



Fonte: Autor.

No espectro de RMN de ^1H do complexo **1** observa-se a presença de uma espécie majoritária em solução caracterizada pelo conjunto de sinais típicos da L-fenilalanina-metil-éster ciclopaladada e da cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno coordenada. As atribuições foram feitas com base no esquema de numeração presente na figura 37.

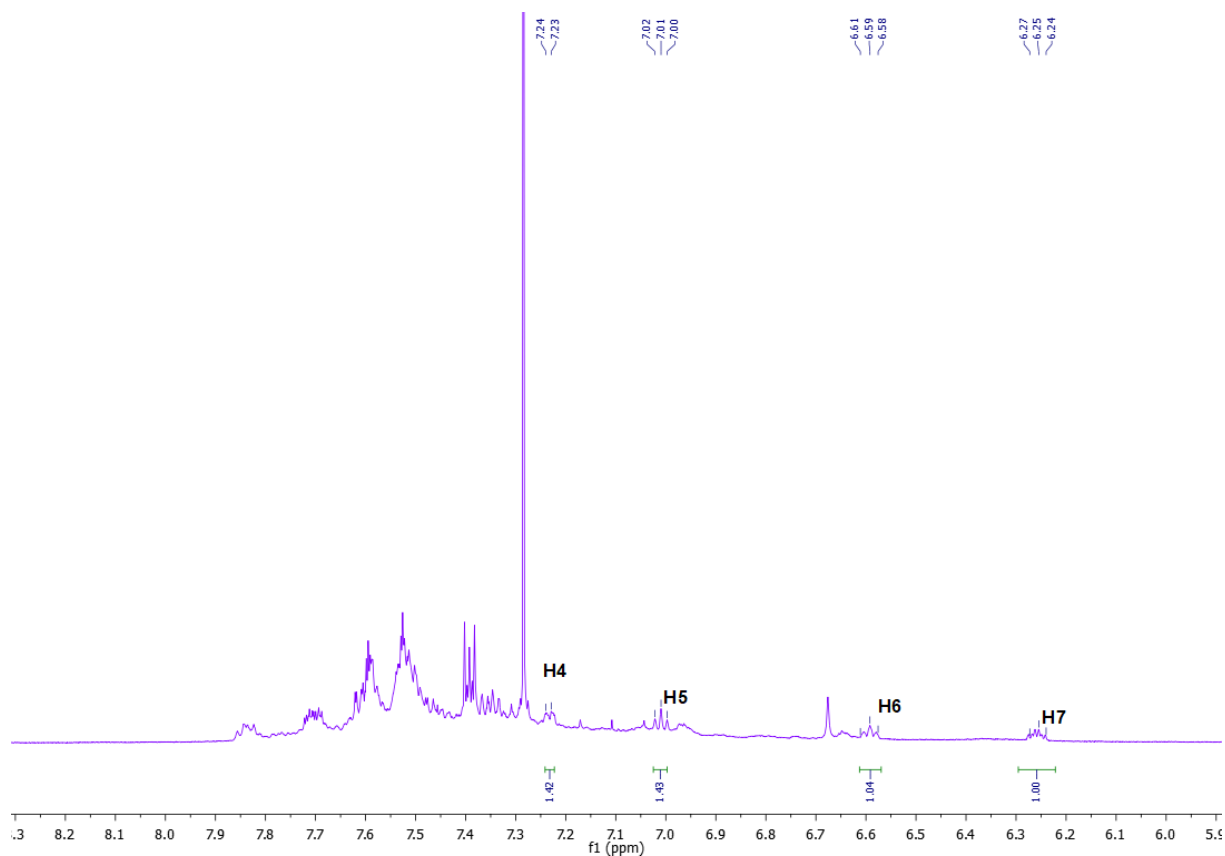
Figura 37: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio e carbono para o sólido **1**. A atribuição numérica permite a correlação sistemática dos sinais observados nos espectros de RMN de ^1H à estrutura do metalociclo quelato e aos grupos fenila dos ligantes coordenados.



Fonte: Autor.

Com relação ao fragmento da PheOMe ciclopaladada, observou-se o singlete em 3,55 ppm é atribuído ao grupo metílico do éster. Os sinais referentes aos prótons diastereotópicos do grupo -CH₂- (posição 3) são atribuídos aos multipletos 3,65 e 3,28 ppm. Já o sinal referente ao grupo -NH₂ e ao próton H₂ não foram observados. Observa-se na ampliação do espectro de RMN de hidrogênio do composto **1** (fig 38), mais precisamente na região dos aromáticos, um dubleto em 7,23 ppm, atribuído ao H₄ presente no anel aromático do fragmento aminoácido, em 7,01 ppm e 6,45 ppm estão dois tripletos que são referentes aos hidrogênios H₅ e H₆ respectivamente e por fim, um multiplete presente em 6,24-6,27 ppm.

Figura 38: Ampliação da região aromática (5,90–8,30 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do sólido 1. A atribuição dos sinais de **H4** a **H7** confirma a manutenção da unidade ciclopaladada.



Fonte: Autor.

A Tabela 8 resume todos os sinais importantes da espécie majoritária encontrada a partir da reação entre o dímero e o ligante cis-dppv.

Tabela 8: Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (CDCl_3) para o sólido 1. A tabela correlaciona os deslocamentos químicos (δ), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) aos núcleos de hidrogênio.

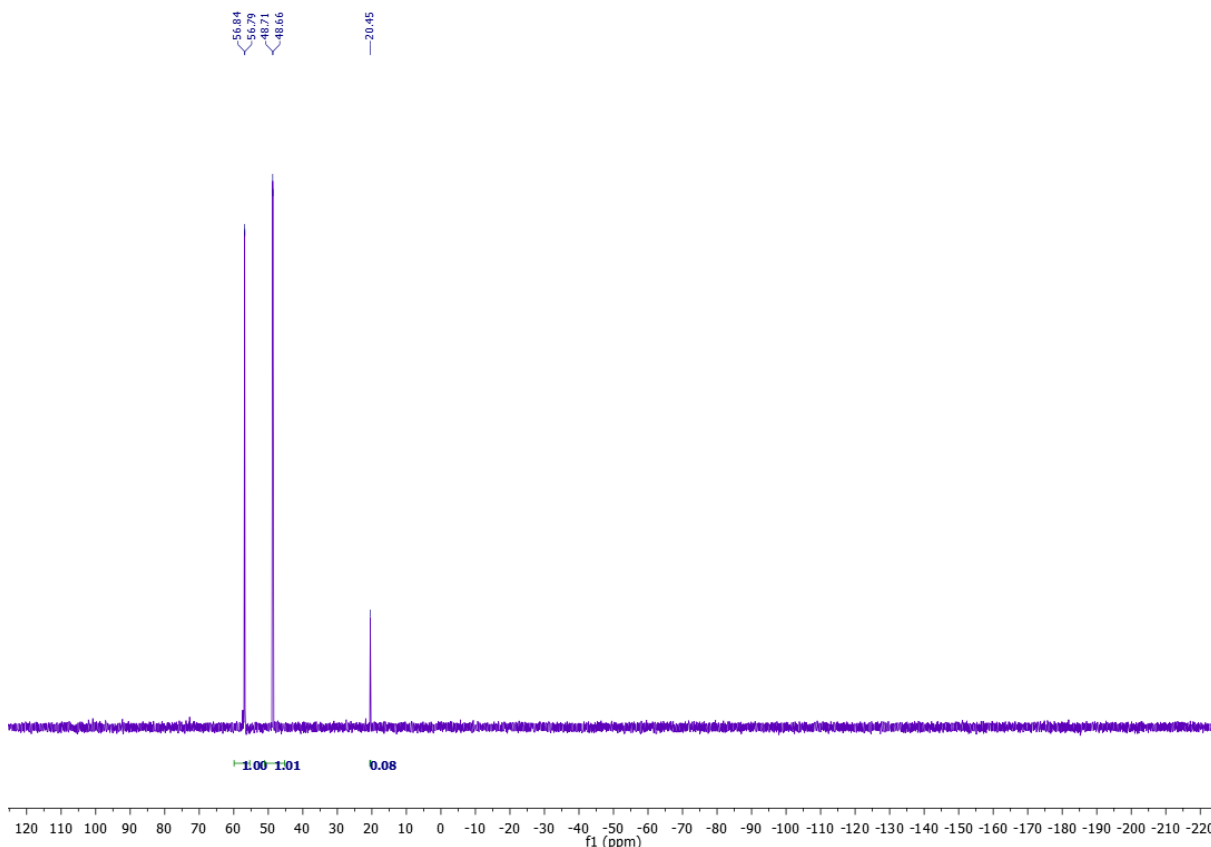
Atribuição	^1H	$J(\text{Hz})$	$J(\text{Hz})$	Multiplicidade
1	4,05 ^{br}	-	-	s
2	3,05	9,45	-	dd
3	2,83-2,86	-	-	m
4	7,23	8,54	-	s
5	7,01	6,83	14,95	t
6	6,54	6,83	14,95	t
7	6,24-6,27	-	-	m
8	-	-	-	-
9+9'	7,26 - 7,32	-	-	m
10+10'	7,33 - 7,45	-	-	m
11+11'	7,46 - 7,52	-	-	m
12'	7,67	-	-	m
12	7,81	-	-	m

d=dubleteo; t=tripleteo; m=multipleteo; br = broad

Fonte: Autor.

O espectro de rmn de ^{31}P do sólido formado da reação entre o dímero e a cis-dppv está ilustrado na figura 39.

Figura 39: Espectro de RMN de ^{31}P (CDCl_3) do sólido 1. A observação de dois dubletos em 48,71 e 56,84 ppm confirma a coordenação bidentada do ligante cis-dppv e a quebra do plano de simetria molecular, resultando em dois ambientes químicos de fósforo não equivalentes.



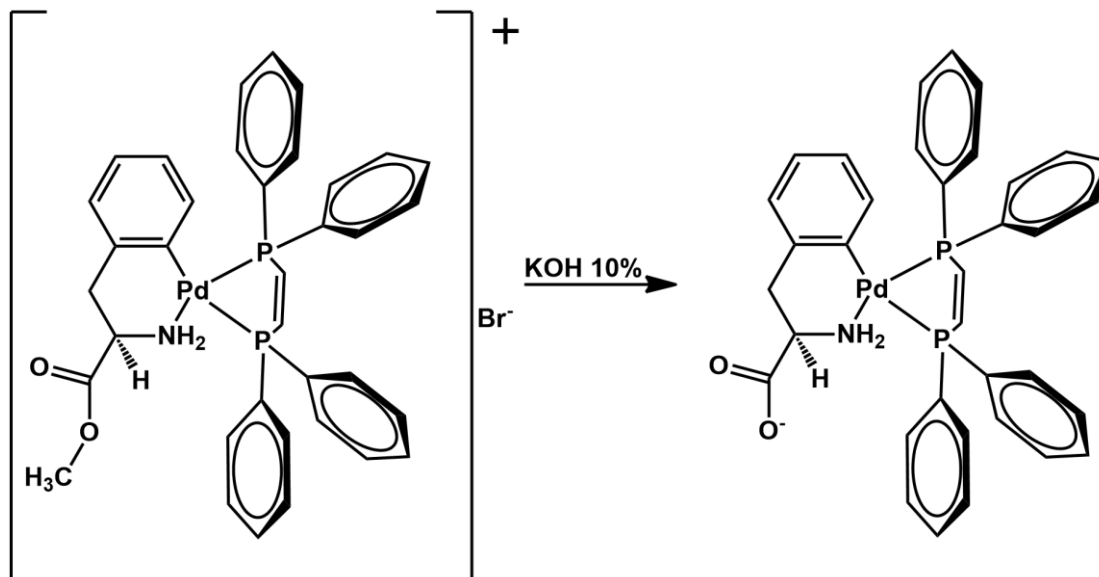
Fonte: Autor.

Ao comparar os sinais do difosfina livre (-23,88 ppm) com os dois dubletos presentes em 56,82 ppm e 48,69 ppm, cada um com sua integral igual a um, observou-se o deslocamento dos sinais para um campo mais desblindado, esse efeito é ocasionado pela coordenação bidentada do cis dppv na qual os átomos de fósforo encontram-se em ambientes químicos diferentes. Ainda no espectro de fósforo (fig.39) é possível observar um singleto em 20,45 ppm o qual pode ser atribuído a traços de fosfina óxido, provenientes da rápida oxidação que bisfosfinas sofrem.⁸²

Apesar dos esforços, o sólido obtido a partir da reação entre dímero **D1** e a cis-dppv ainda estava impuro. Durante os procedimentos de purificação deste sólido, foi proposta uma lavagem com uma solução de KOH 10 % para remoção da eventual presença do aminoácido não ciclometalado. O sólido obtido após o tratamento com KOH foi isolado em bom rendimento e pureza. Durante a caracterização desse sólido,

observou-se que se trata de um novo complexo (**2**), conforme será descrito nas próximas páginas. (Fig. 40)

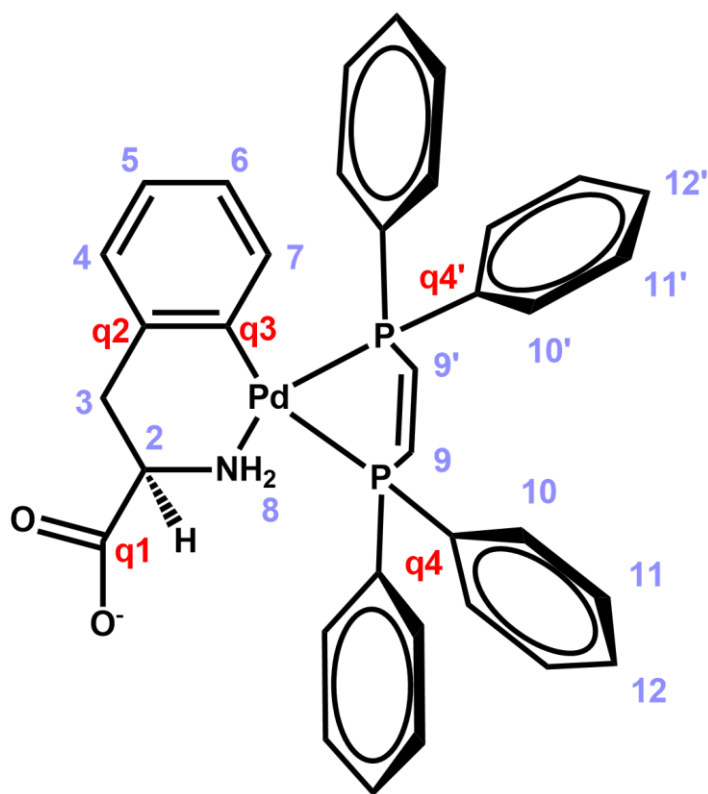
Figura 40: Reação de hidrólise básica do sólido 1 para a obtenção do complexo 2. O esquema ilustra a conversão do éster metílico em grupamento carboxilato ($-\text{COO}^-$) via tratamento com solução de KOH 10%, resultando em uma espécie molecular neutra.



Fonte: Autor.

A atribuição dos sinais encontrados nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do complexo **2** foi conduzida utilizando o esquema de numeração estabelecido a seguir, de acordo com a figura 41.

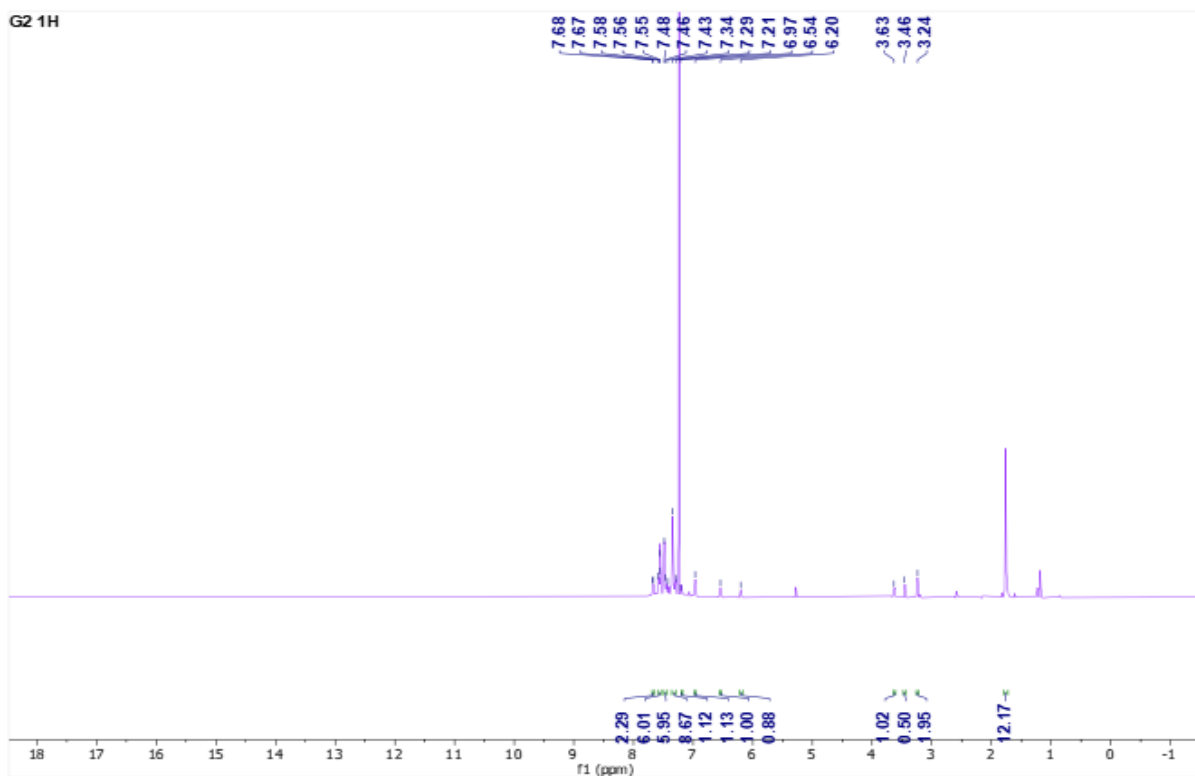
Figura 41: Esquema de numeração dos núcleos de hidrogênio e carbono para o complexo **2**. A atribuição numérica, incluindo os novos centros quaternários identificados em vermelho (**q1** a **q4'**), permite a correlação sistemática dos sinais de RMN à estrutura neutra após a hidrólise do éster.



Fonte: Autor.

A presença de um único conjunto de sinais nos espectros de RMN de ^1H do complexo sugere a existência de uma única espécie em solução. O espectro de RMN ^1H (Fig. 42) concorda com a estrutura do complexo **2** (Fig. 41), sendo observado os sinais típicos da L-fenilalanina-metil-éster ciclopaladada e da cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno coordenada. As integrais dos sinais estão de acordo com a composição esperada para o complexo conforme proposto anteriormente.

Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do complexo **2**. O desaparecimento do sinal intenso em $\sim 4,05$ ppm e a manutenção dos multipletos aromáticos e alifáticos confirmam a hidrólise do grupo éster para carboxilato.



Fonte. Autor.

A Tabela 9 contempla os deslocamentos químicos e as atribuições para o complexo **2**, contendo as multiplicidades, integrais e constantes de acoplamento (J).

Tabela 9: Atribuição dos sinais de RMN de ^1H (CDCl_3) para o complexo **2**. A tabela correlaciona os deslocamentos químicos (δ), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) aos núcleos de hidrogênio.

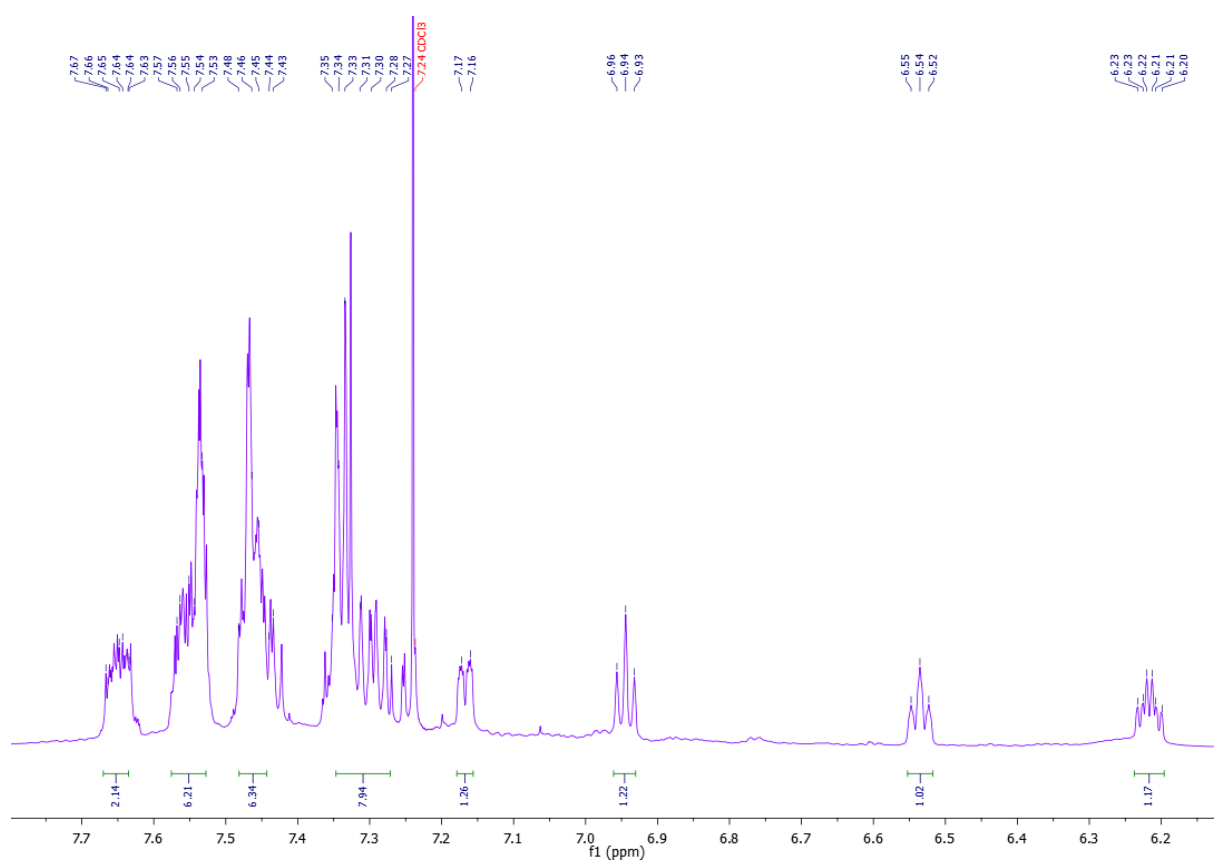
Atribuição	^1H	J(Hz)	J(Hz)	Multiplicidade
1	-	-	-	-
2	3,6	9,45	-	d
3	3,63 e 3,24	-	-	m
4	7,21	7,25	-	d
5	6,97	13,28	6,04	t
6	6,55	14,25	8,21	t
7	6,25	-	-	m
8	-	-	-	-
9+9'	7,32 - 7,37	-	-	m
10+10'	7,64 - 7,69	-	-	m
11+11'	7,46 - 7,52	-	-	m
12'	7,30	-	-	m
12	7,50	-	-	m

d=dubleteo; t=tripleto; m=multipleteo

Fonte. Autor

Com relação ao L-fenilalanina-metil-éster ciclopalladada, o hidrogênio 4 é observado como um dubleto em 7,21 ppm, sendo o menos blindado dentre os 4 hidrogênios aromáticos da fenilalanina. Os tripletos em 6,97 ppm e 6,54 ppm são atribuídos aos hidrogênios 5 e 6, respectivamente, enquanto o núcleo H7 está associado ao multipeto em 6,20 ppm. Particularmente, os sinais dos átomos H6 e H7 encontram-se em regiões de campo mais protegido.

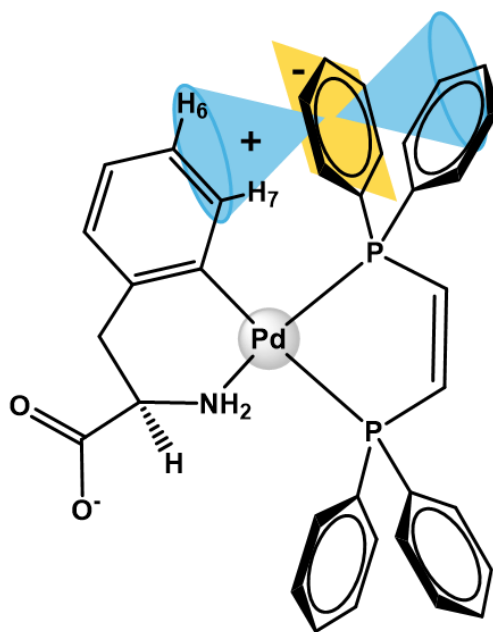
Figura 43: Ampliação do Espectro de RMN de ^1H na região de 6,10 – 7,80 ppm do composto 2 em solução de CHCl_3 -d. Ampliação da região aromática (6,10–7,80 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do complexo 2. Os sinais confirmam a preservação da ligação (Pd-C) após a hidrólise, destacando os prótons do anel metalocíclico (H4-H7).



Fonte: Autor.

Tal deslocamento pode estar associado à blindagem realizada por grupos magneticamente anisotrópicos, neste caso, pelos anéis aromáticos da cis-dppv (Fig. 44).

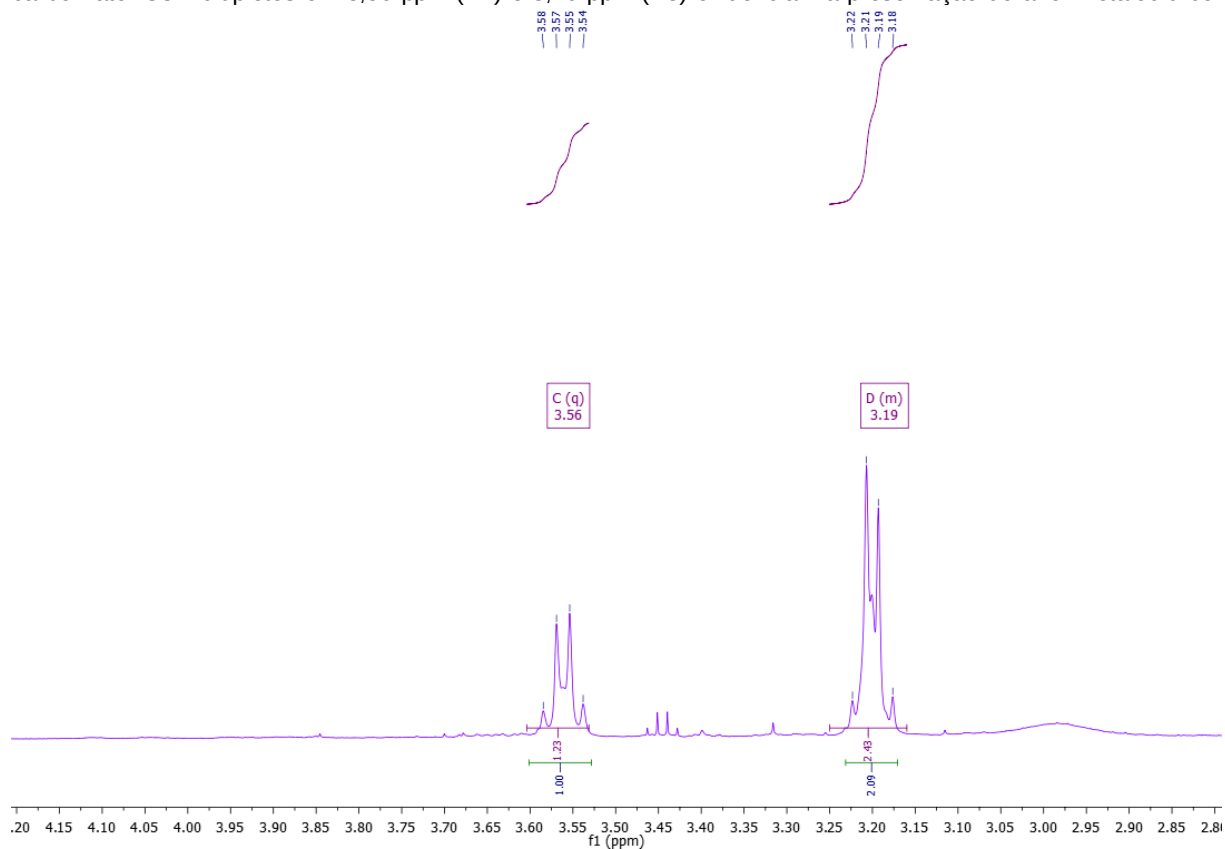
Figura 44: Representação do efeito de anisotropia magnética exercido pelos anéis fenila do ligante *cis*-dppv sobre os prótons do aminoácido. O esquema ilustra como os cones de blindagem (–) e desblindagem (+) influenciam os deslocamentos químicos observados, justificando o sinal de **H7** em campo mais alto (6,23 ppm) devido à sua proximidade com a nuvem eletrônica π das fosfinas.



Fonte: Autor.

Na presença de um campo magnético, os elétrons π do anel benzênico são induzidos a circular ao redor do anel (corrente de anel). O campo magnético cobre um volume espacial grande o suficiente para influenciar a blindagem dos átomos de H hidrogênio do anel benzênico. Além disso, essa corrente de anel gera campos anisotrópicos secundários, originando regiões de blindagem e desblindagem. Os átomos de H que ficam nas áreas cônicas (azul) são blindados, e os fora das áreas cônicas, desblindados (laranja). A magnitude do campo anisotrópico diminui com a distância, e, após certa distância, não há, essencialmente, um campo anisotrópico.⁸² É importante destacar que o sinal característico de OCH_3 , que estaria presente no ligante Phe-OMe (3,23 ppm), não aparece no espectro do complexo, sugerindo a ausência do grupo metila da porção éster. Dois multipletos complexos detectados em 3,63 ppm e 3,24 ppm (Figura 45), cuja integração é 1H e 2H, respectivamente. Esses multipletos estão associados aos dois hidrogênios diastereotópicos do grupo $-\text{CH}_2-$ (posição 3). Contudo, a integração de 2H para o multipeto em 3,24 ppm revela que existe um hidrogênio que absorve na mesma frequência de um dos prótons metilênicos. Logo, sugere-se que o sinal do núcleo H1 esteja sobreposto pelo multipeto em 3,24 ppm.

Figura 45: Ampliação da região alifática (2,80–4,20 ppm) do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) do complexo 2. O desaparecimento do singlete intenso em $\sim 4,05$ ppm confirma a hidrólise completa do grupo éster para carboxilato. Os multipletos em 3,56 ppm (H2) e 3,19 ppm (H3) evidenciam a preservação do anel metalocíclico.



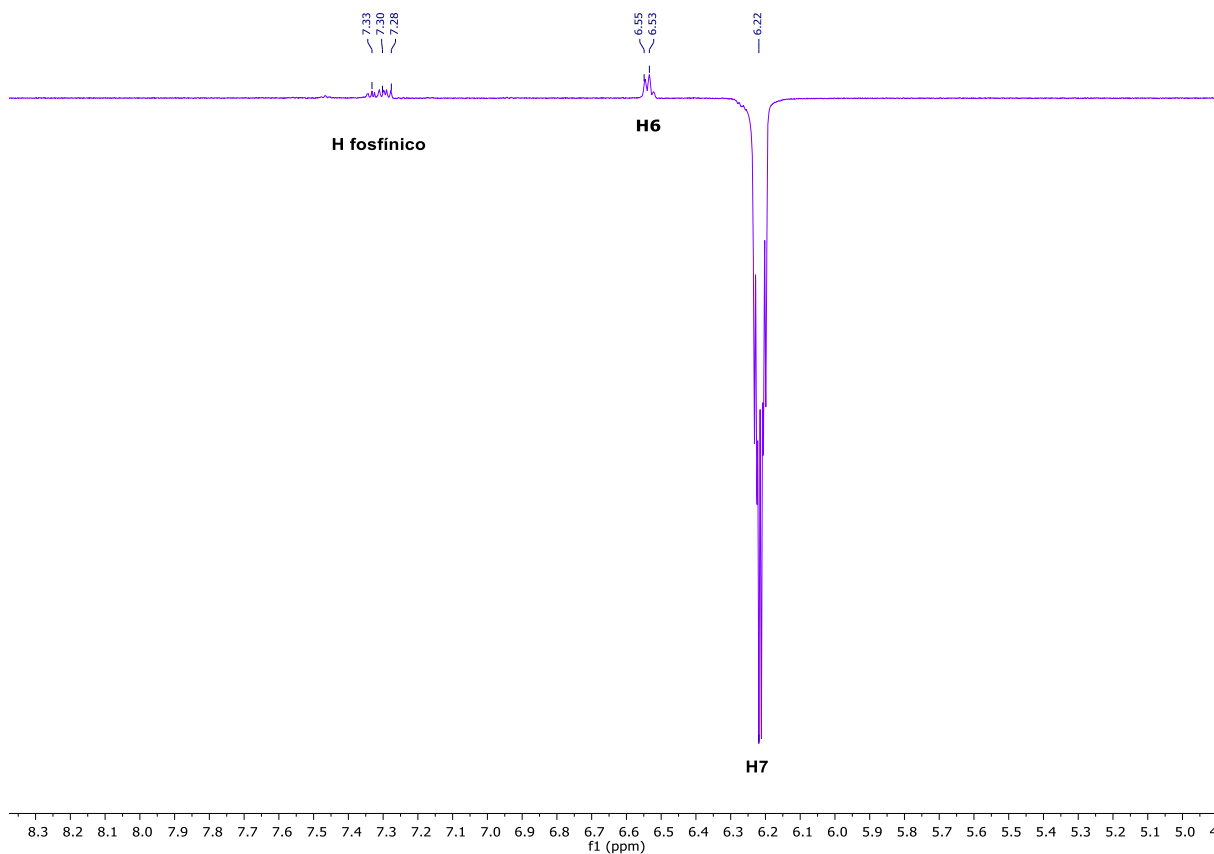
Fonte: Autor.

Com relação aos sinais dos hidrogênios da *cis*-dppv coordenada, são observados multipletos no intervalo de 7,32 - 7,41 ppm (H9 e 9'), 7,67 - 7,71 ppm (H10 e 10') e 7,46 - a 7,52 ppm (H11 e 11'). Os hidrogênios em para (H12 e 12') estão associados ao multiplete em 7,5 - 7,37 ppm (Fig.44).

Para auxiliar na diferenciação dos hidrogênios aromáticos presentes no fragmento de fenilalanina presente no complexo 2, foram realizados experimentos noesy, possibilitando a observação de interações com hidrogênios próximos.

Para o hidrogênio 7, foi irradiado energia em 6,25 ppm, onde foi possível observar a interação do H7 com hidrogênios presentes nos anéis aromáticos da fosfina, pois há uma perturbação no sinal em 7,33 ppm, nos possibilitando afirmar que o H7 sofre influência do campo anisotrópico do anel aromático da *cis*-dppv. (Fig. 46)

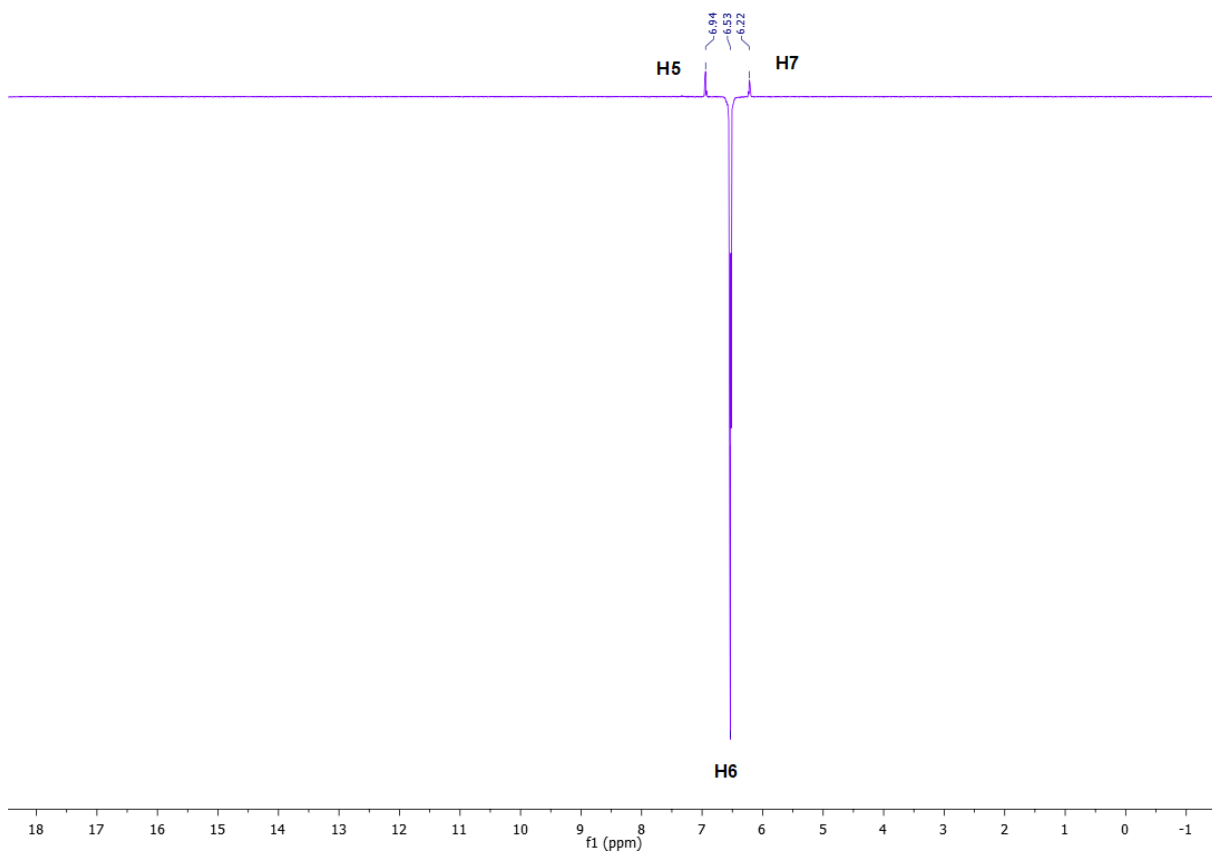
Figura 46: Espectro de RMN 1D NOESY do complexo 2 (CDCl_3) com irradiação no sinal de H7 (6,22 ppm). A observação de correlações espaciais com o próton H6 (6,55 ppm) e com os hidrogênios das fenilas da fosfina (~7,30 ppm) comprova a vizinhança espacial entre a unidade ciclopaladada e o ligante *cis*-dppv.



Fonte: Autor.

Para a atribuição dos demais hidrogênios presentes no anel aromático do fragmento de fenilalanina, foi irradiado o sinal em 6,55 ppm (H6), onde foi possível observar a interação com o H5 em 6,94 ppm e o H7 em 6,22 ppm Figura 47.

Figura 47: Espectro de RMN 1D NOESY do complexo 2 (CDCl_3) com irradiação no sinal de H6 (6,55 ppm). A observação de correlações espaciais positivas com os prótons vizinhos H5 (6,94 ppm) e H7 (6,22 ppm) confirma a atribuição sequencial dos núcleos de hidrogênio no anel aromático do aminoácido.

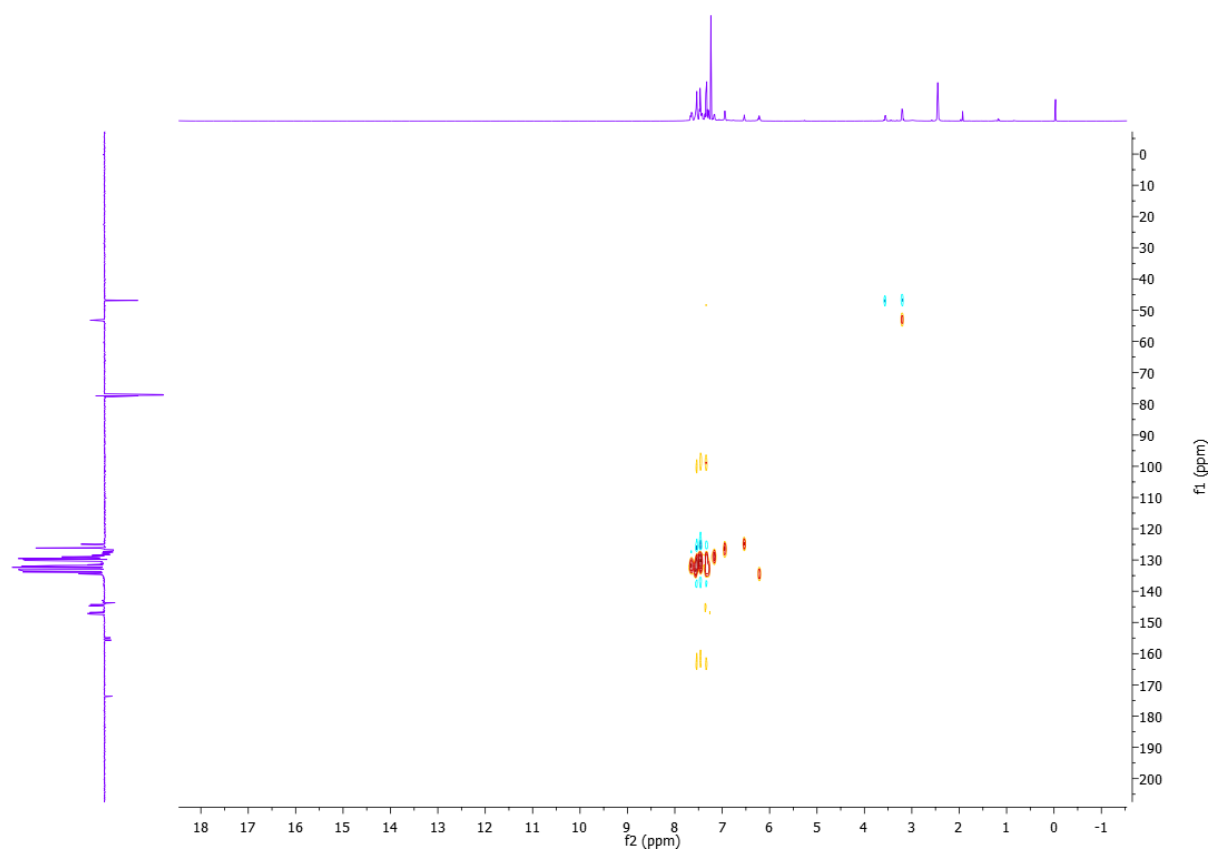


Fonte: Autor.

Assim pode-se atribuir o sinal em 7,2 ppm ao núcleo H4, sendo o último dos hidrogênios presentes no anel aromático a ser atribuído.

A figura 48 mostra o mapa de contorno de HSQC para o composto **2**, no qual é possível observar as correlações diretas entre ^1H e ^{13}C .

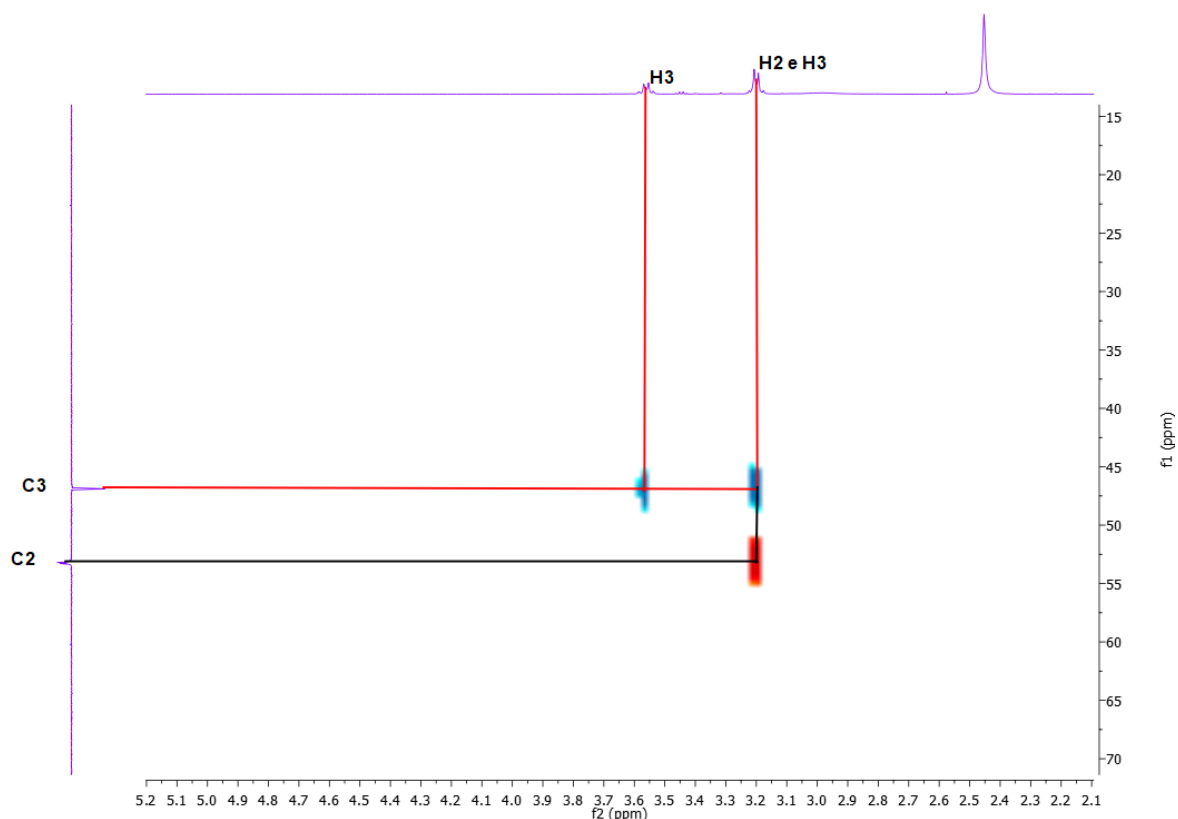
Figura 48: Mapa de contorno de HSQC ^1H - ^{13}C para o complexo 2. O espectro correlaciona os deslocamentos químicos dos prótons aos respectivos carbonos, permitindo a atribuição inequívoca dos centros CH, CH₂ e CH₃ da estrutura organometálica.



Fonte: Autor.

A partir do ^{13}C - ^1H -HSQC mostrado na figura 48 é possível correlacionar cada hidrogênio ao seu respectivo carbono, especialmente os núcleos pertencentes ao aminoácido ortometalado. O esquema de numeração utilizado está representado pela figura 49.

Figura 50: Ampliação da região alifática do mapa de contorno HSQC (CDCl_3) do complexo 2. O espectro evidencia as correlações diretas entre o carbono alfa ($\text{C}2$) e seu respectivo hidrogênio ($\text{H}2$), bem como as correlações dos prótons diastereotópicos ($\text{H}3$) com o carbono benzílico ($\text{C}3$).

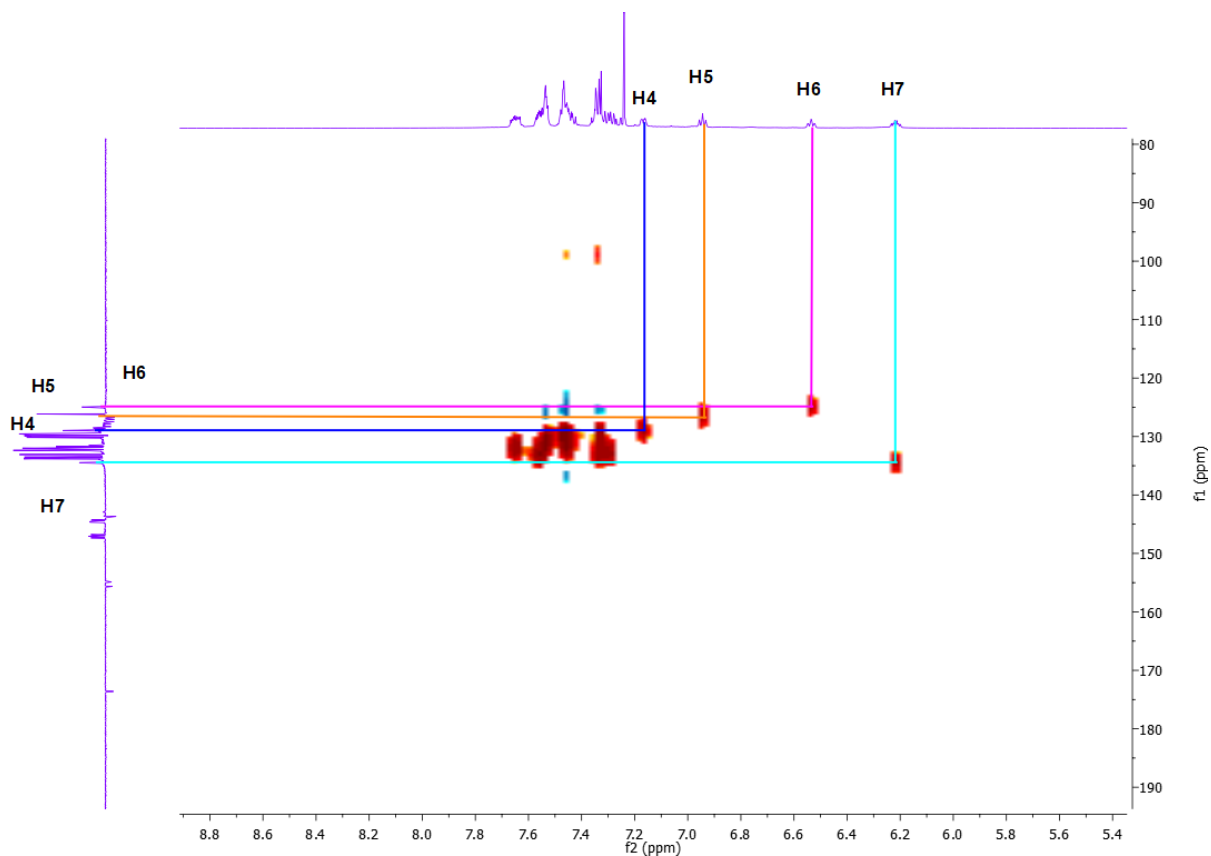


Fonte: Autor.

O mapa de contorno do composto 2 revela também quatro sinais negativos de carbono que não apresentam correlação direta com hidrogênios, os sinais em 173,3; 143,66; 126,96; 155,50 e 154,80 ppm, a inexistência da correlação permite prever que os quatro carbonos são quaternários (Fig 48). Porém, a utilização da técnica HMBC será capaz de dizer qual sinal é atribuído a cada carbono.

Em outra região do mapa de contorno HSQC do composto 2, observou-se correlações na região dos aromáticos do fragmento de aminoácido. A primeira correlação possível de se observar está entre o hidrogênio em 6,20 ppm ($\text{H}7$) e seu correspondente carbono em 134,40 ppm ($\text{C}7$). É possível observar a correlação dos tripletos presentes em 6,54 ($\text{H}5$) e 6,97 ($\text{H}6$) ppm com os sinais de ^{13}C em 126,74 ($\text{C}5$) e 124,85 ($\text{C}6$) ppm, respectivamente. Já o sinal de ^{13}C presente em 128,93 ppm ($\text{C}4$) correlaciona-se ao dubleto presente em 7,21 ppm, que foi atribuído ao próton $\text{H}4$. (Fig. 51)

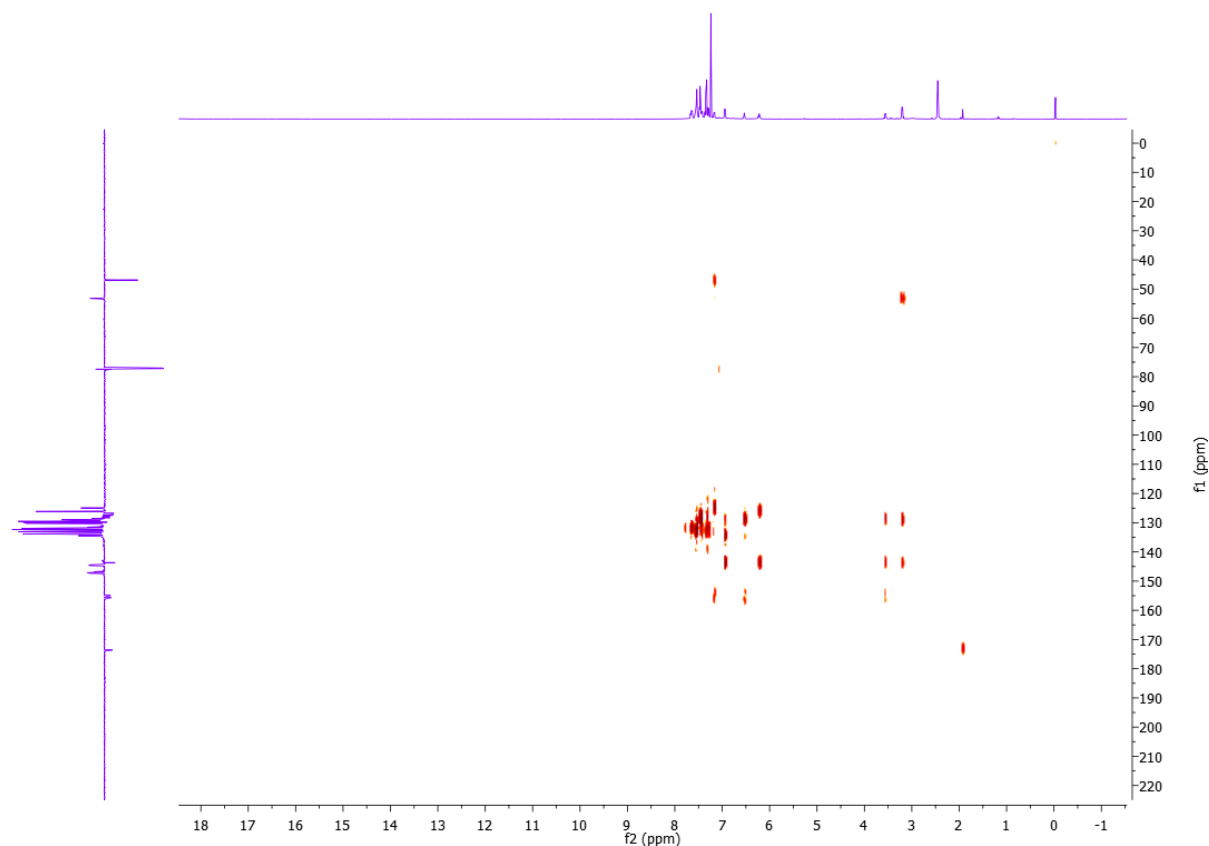
Figura 51: Ampliação da região aromática do mapa de contorno HSQC (CDCl_3) do complexo **2**. O espectro permite a correlação inequívoca dos sinais de H4 a H7 aos seus respectivos carbonos no anel orto-metalado, além de mapear a densa região de correlações das fenilas do ligante difosfina.



Fonte: Autor.

O mapa de contorno HMBC do composto **2** foi realizado com o intuito de identificar as correlações indiretas entre hidrogênios e carbonos, ou seja, correlações a três, duas e, às vezes, em sistemas conjugados, a quatro ligações.⁸³ O mapa de contorno de HMBC e as correlações entre ^1H e ^{13}C encontram-se na Figura 52

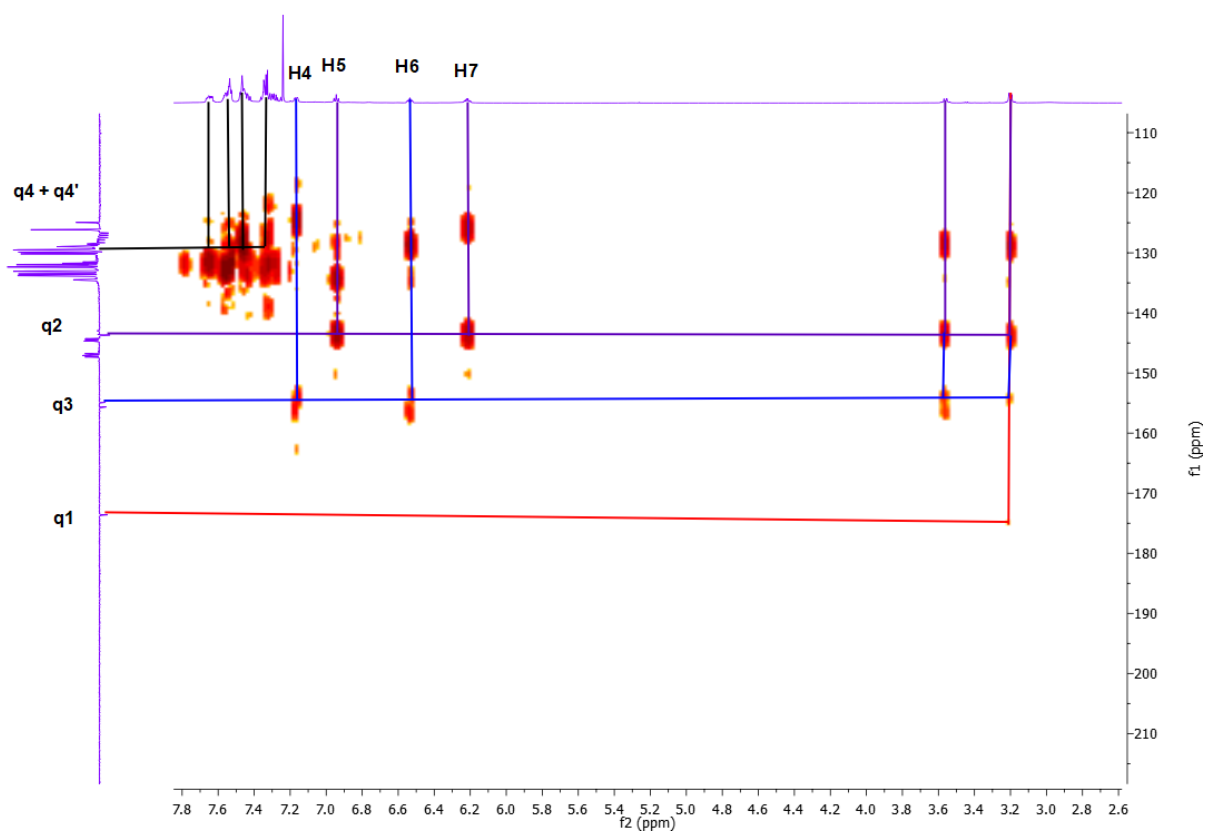
Figura 52: Mapa de contorno HMBC (CDCl_3) para o complexo 2. O espectro revela correlações a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$), permitindo a atribuição inequívoca dos carbonos quaternários, que não são observados no mapa HSQC.



Fonte. Autor.

A análise do mapa de contorno HMBC para o complexo **2** mostrou a correlação do sinal de carbono em 173,3 ppm com o multipletto em 3,24 ppm associado ao H1 (2J) e um dos prótons metilênicos da posição 3 (3J), sendo atribuído ao **q1** (carbono do grupo carboxilato). O carbono quaternário presente em 143,9 ppm se correlaciona com os sinais do H1 (3,24 ppm) (3J), H2 (3,24 ppm) e 3,60 ppm (2J), H6 6,20 ppm (3J) e H4 6,97 ppm (3J), sendo possível atribuir as correlações ao carbono **q2**. O sinal em 154,75 ppm é atribuído ao carbono quaternário **q3** (carbono ortometalado), pois há correlação com os sinais do H1 (3,24 ppm, 4J), $-\text{CH}_2-$ (3,24 e 3,60 ppm, 3J), H5 (6,54 ppm, 3J) e H3 (7,21 ppm, 3J). O sinal em 129,90 ppm está correlacionado com sinais presentes nas fosfinas, sendo possível atribuí-los a q4 e q4' (fig 53).

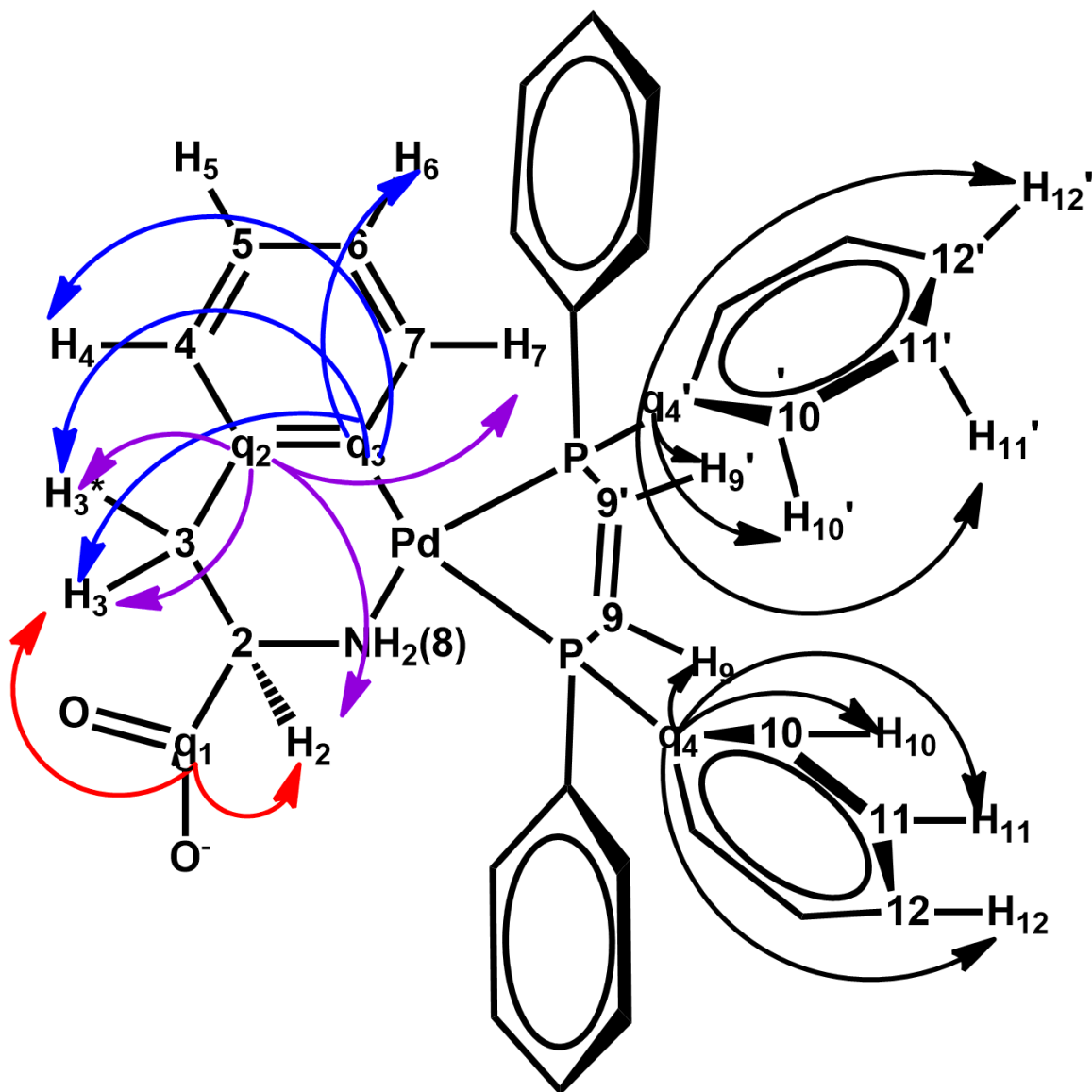
Figura 53: Ampliação do mapa de contorno HMBC (^1H - ^{13}C) δ (CDCl_3) do complexo 2. O espectro destaca as correlações a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) que permitem a atribuição inequívoca dos carbonos quaternários q1, q2, q3, q4 e q4'.



Fonte: Autor.

A figura 54 mostra a representação das correlações entre os carbonos quaternários e os hidrogênios nas proximidades dos mesmos.

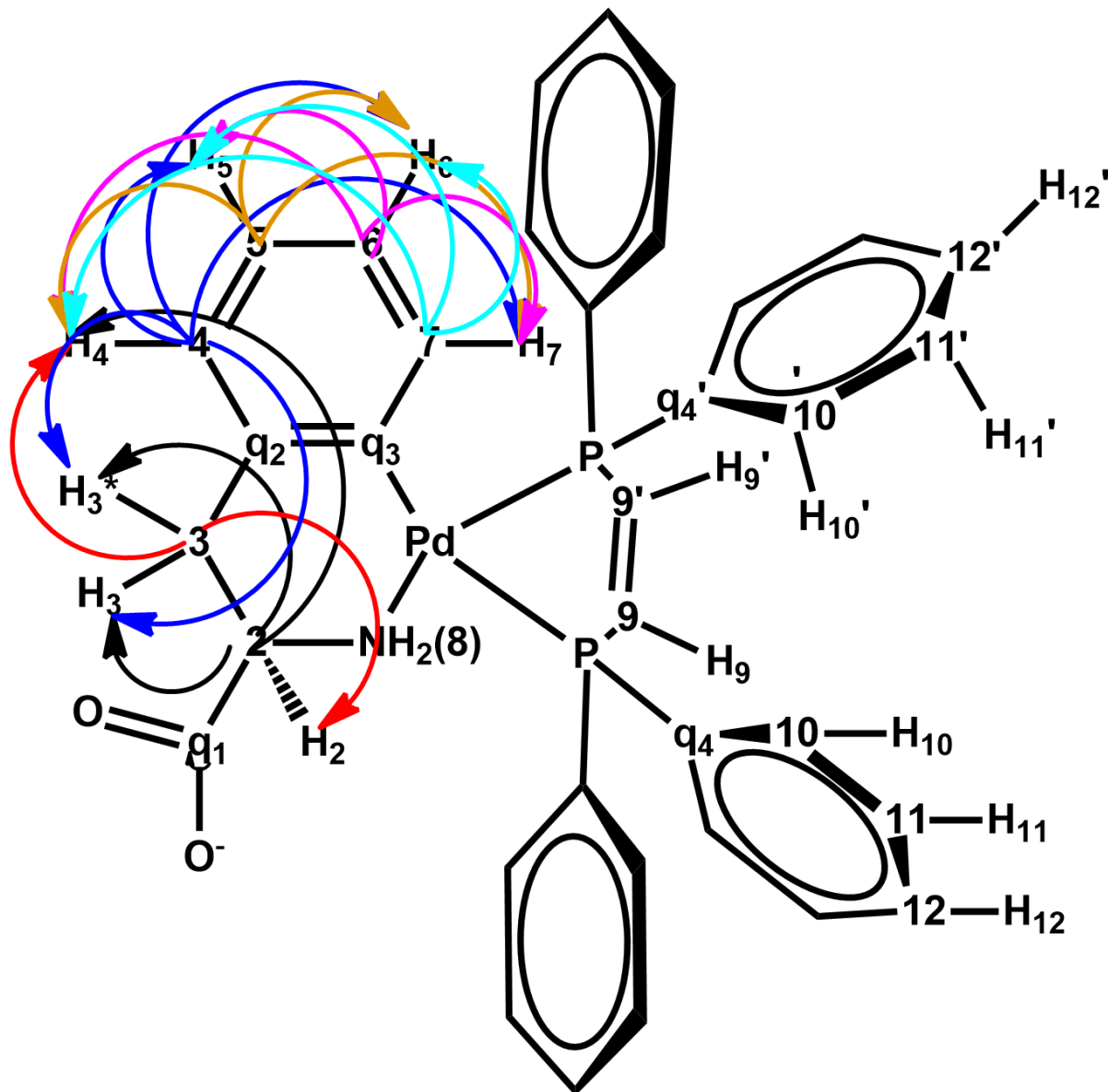
Figura 54: Representação das correlações heteronucleares a longa distância ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$) observadas no mapa HMBC para o complexo 2. As setas coloridas ilustram as conectividades entre os hidrogênios e os carbonos quaternários, permitindo o mapeamento completo do esqueleto molecular, desde o grupo carboxilato (q1) até os centros *ipso* das fenilas da fosfina (q4 e q4').



Fonte: Autor.

Ainda utilizando o mapa de contorno HMBC é possível observar a correlação entre o Carbono 2 em 53,19 ppm com os hidrogênios 3 em 3,24 ppm (2J) e 4 em 7,21 ppm (4J). O Singleto em 47,36 ppm, atribuído ao C3, possui correlação também com o hidrogênio 4 em 7,21 ppm (3J) e com H2 em 3,24 ppm (2J). Na porção aromática do fragmento de aminoácido, os carbonos 4,5,6 e 7 tem correlação com os hidrogênios dos seus vizinhos aromáticos como representado na figura 5.

Figura 55: Representação das correlações heteronucleares a longa distância ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$) observadas no mapa HMBC para os carbonos aromáticos do fragmento do aminoácido no complexo 2. O esquema detalha as conectividades entre os carbonos e seus respectivos hidrogênios vizinhos, permitindo o mapeamento inequívoco da unidade ciclopaladada.



Fonte: Autor.

A tabela 10 contempla os valores do deslocamento químico do complexo.

Tabela 10: Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3) para o composto 2. A atribuição correlaciona os deslocamentos químicos (δ), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) aos respectivos núcleos de carbono, integrando as evidências obtidas por experimentos bidimensionais (HSQC e HMBC).

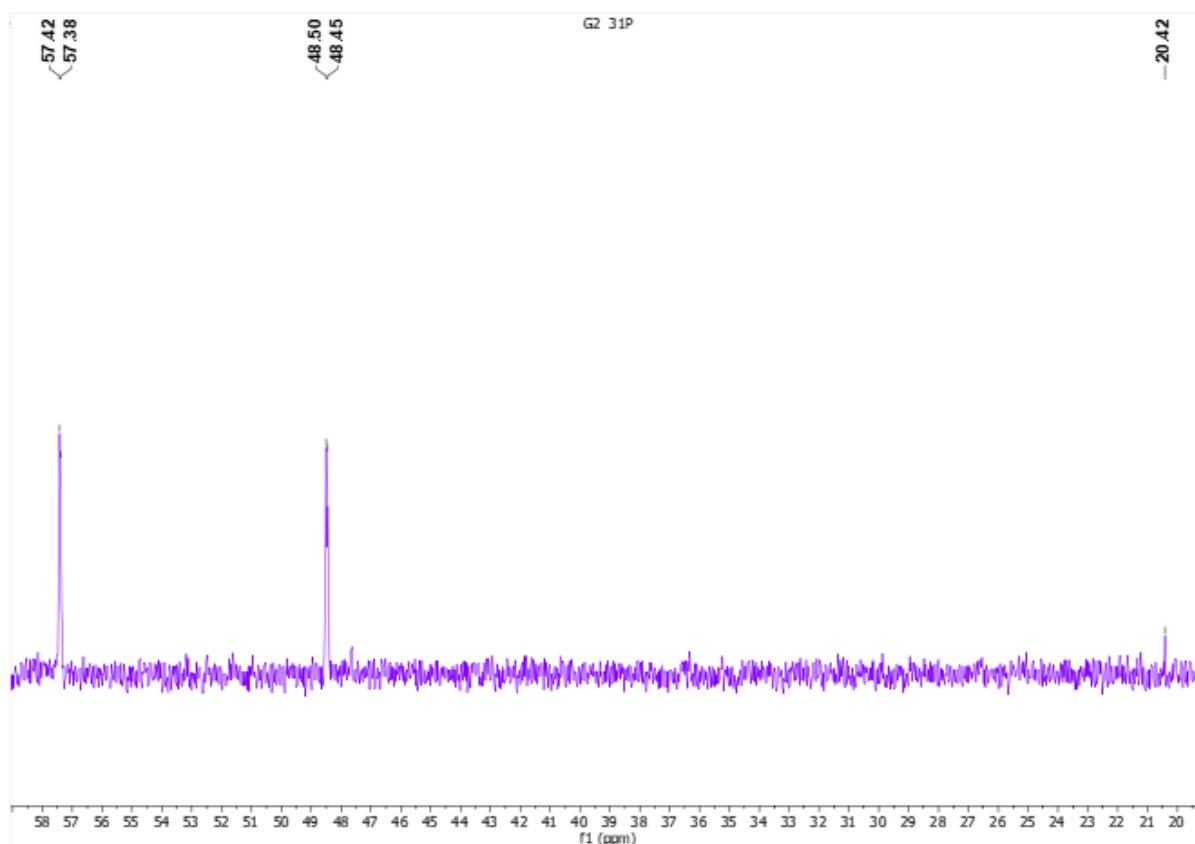
Atribuições	^{13}C	J(Hz)	Multiplicidade
1	-	-	-
2	53,19	-	s
3	47,36	-	s
4	128,93	10,48	d
5	126,76	-	s
6	124,85	-	s
7	134,40	10,18	d
q1	173,30	-	s
q2	143,97	-	s
q3	126,63	-	s
q4+q4'	127,73 e 127,35	-	s e s
Car*	124 - 135	-	m

s= singleto; d=dubleto; Car =referente aos substituintes da fosfina

Fonte: Autor.

O espectro de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo (Figura 56) apresenta dois dubletos, o primeiro sendo em 57,40 e o segundo em 48,48 ppm, atribuído aos núcleos não-equivalentes dos átomos de fósforo coordenados ao complexo. O sinal de baixa intensidade em 20,42 ppm é atribuído à presença de traços do fosfinóxido.

Figura 56: Espectro de $^{31}\text{P} \{^1\text{H}\}$ (CDCl_3) do complexo 2. A presença de dois dubletos em 48,47 e 57,40 ppm confirma a coordenação bidentada do ligante *cis*-dppv a um centro metálico assimétrico, mantendo o perfil observado no precursor catiônico 1.



Fonte: Autor.

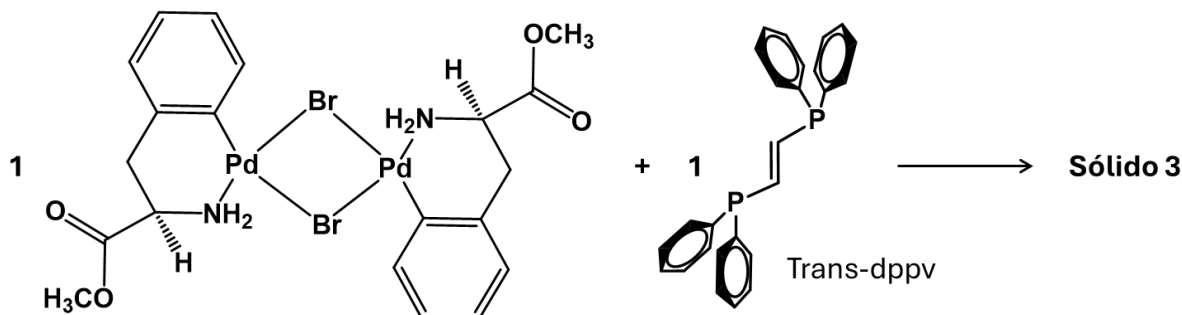
O dubleto de menor frequência (48,48 ppm) é atribuído ao núcleo de fósforo *trans* ao carbono do anel ciclometalato e o de maior frequência (57,40 ppm), ao núcleo em posição *trans* ao nitrogênio.⁸⁵ Isso se baseia na suposição de que um ligante de maior influência de *trans* desloca a ressonância ^{31}P do núcleo de fósforo para uma frequência mais baixa.⁸⁹

Quando comparado ao ligante livre (-23,88 ppm), observou-se que a coordenação produziu um deslocamento dos sinais para campos mais desblindados. Esse deslocamento pronunciado do sinal de ^{31}P já foi observado em outros complexos contendo fosfinas⁸⁵ e tem sido atribuído ao aumento da tensão nos ângulos ao redor do fósforo e átomos de carbono no anel quelato de cinco membros. Esse efeito foi observado pela primeira vez em carbonilos de níquel, sendo evidenciado uma diferença de 28 ppm entre o deslocamento químico do ligante livre e o da difosfina coordenada.⁸⁷ Logo, difosfinas em anéis quelatos de cinco membros apresentam sinais deslocados para regiões mais desblindadas quando comparados ao ligante livre e análogos não-quelatos. Esse deslocamento foi atribuído a uma possível relação

entre os ângulos de ligação C-P-C e Ni-P-C nos complexos quelatos. Os complexos $[\text{PdCl}_2(\text{dppp})]$, ($\text{dppp} = 1,3\text{-bis}(\text{difenilfosfino})\text{propano}$), e $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$, ($\text{dppf} = 1,1'\text{-bis}(\text{difenilfosfino})\text{ferroceno}$) mostraram um deslocamento de -17.3 and -16.9 ppm (ligantes livres) para 32,8 e 34,8 ppm nos complexos, respectivamente em THF deuterado,⁸⁸ consideravelmente menor que aquele observado no complexo **2**. Tal fato reforça a ideia da participação da *cis*-dppv na formação de um anel quelato de 5 membros na estrutura do complexo **2**.

Outros três complexos contendo fosfinas foram propostos no presente trabalho. A reação entre o dímero e a *trans*-dppv resultou em um sólido que foi nomeado como sólido **3**. (fig. 57)

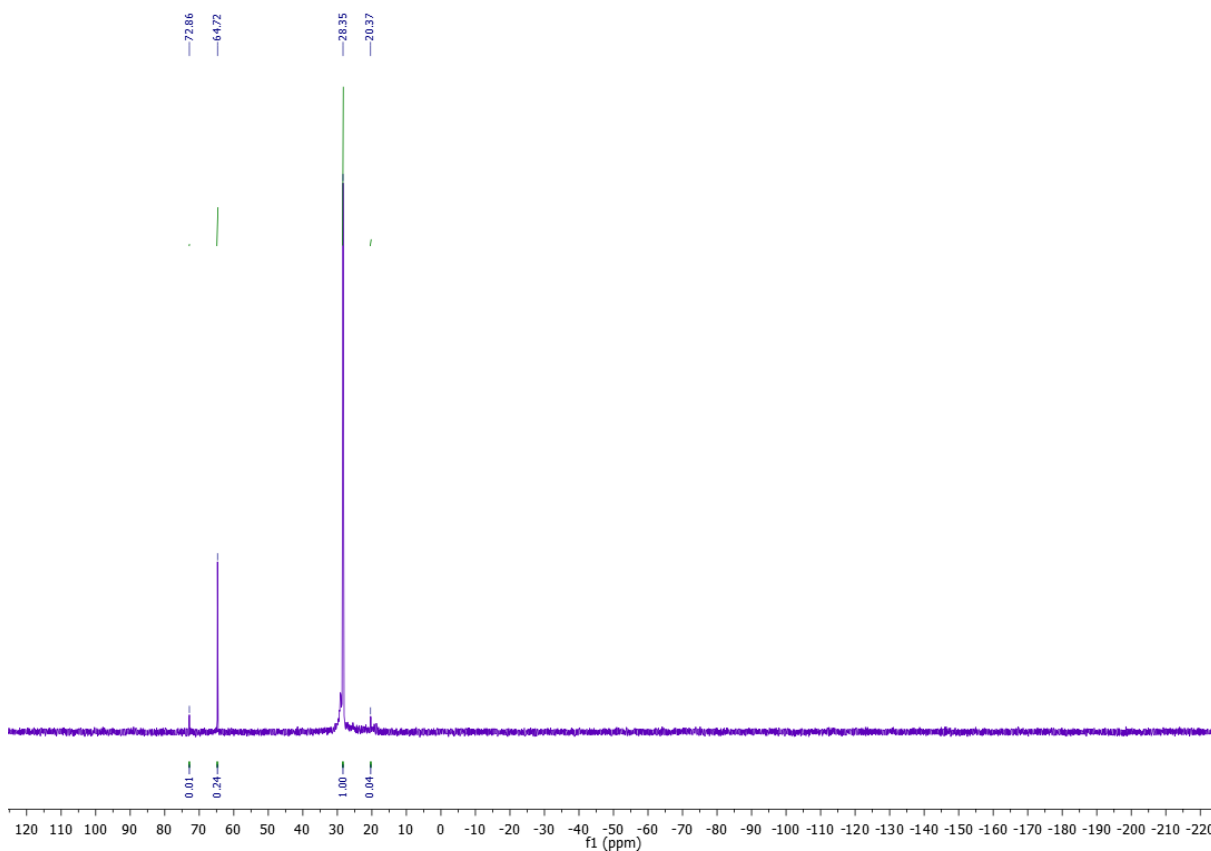
Figura 57: Esquema reacional para a síntese do Sólido 3. A reação envolve o precursor dimérico bimetalúco com o ligante bidentado *trans*-1,2-bis(difenilfosfina)etileno (*trans*-dppv), visando a obtenção de uma nova espécie organometálica de paládio(II).



Fonte: Autor.

O espectro de $\text{rmn-}^{31}\text{P}$ (fig. 58) do sólido **3** mostra um sinal intenso em 29,95 ppm e outros sinais de baixa intensidade em 64,72 e 72 ppm.

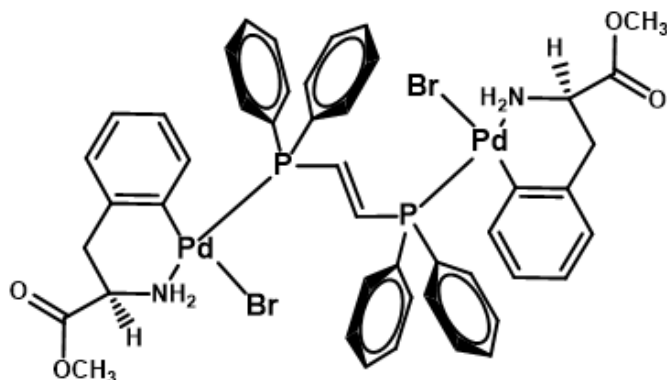
Figura 58: Espectro de RMN ^{31}P (CDCl_3) do sólido 3. A predominância de um singlete intenso em 28,35 ppm sugere uma simetria superior ou uma dinâmica molecular distinta em comparação aos dubletos observados para os complexos com a difosfina cis.



Fonte: Autor.

Pode-se atribuir o sinal mais intenso à formação da espécie binuclear $[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})_2(\mu\text{-trans-dppv})\text{Br}_2]$ (Fig 59), cuja estrutura é caracterizada pela presença de dois átomos de fósforo equivalentes. Contudo, o aparecimento de sinais adicionais indica que o sólido ainda pode estar impuro ou um equilíbrio de duas ou mais espécies se estabeleceu em solução. O espectro de ^1H do sólido **3** (Fig. 59) encontra-se no anexo.

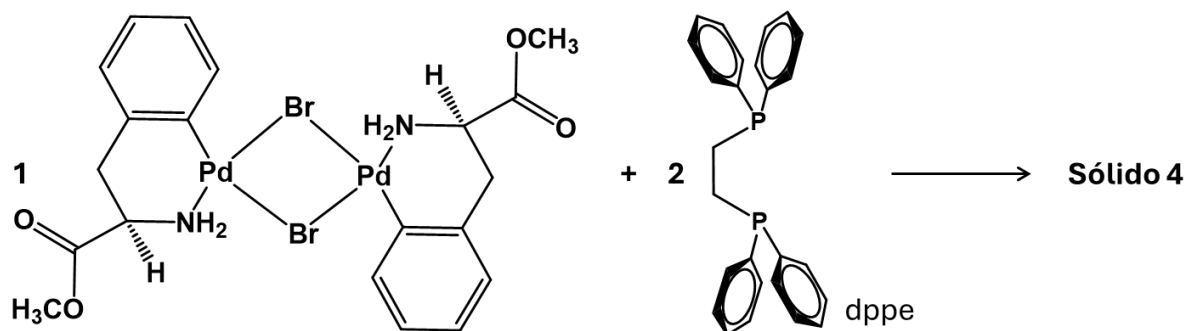
Figura 59: Representação estrutural do sólido 3. A estrutura sugere a formação de uma espécie onde o ligante trans-1,2-bis(difenilfosfina)eteno (trans-dppv) atua como uma ponte entre dois centros de paládio (II) ciclopaladados, mantendo a coordenação do aminoácido e preservando os átomos de bromo em cada centro metálico.



Fonte: Autor.

A reação entre o dímero e a dppe resultou em um sólido que foi nomeado como sólido 4. (Fig. 60)

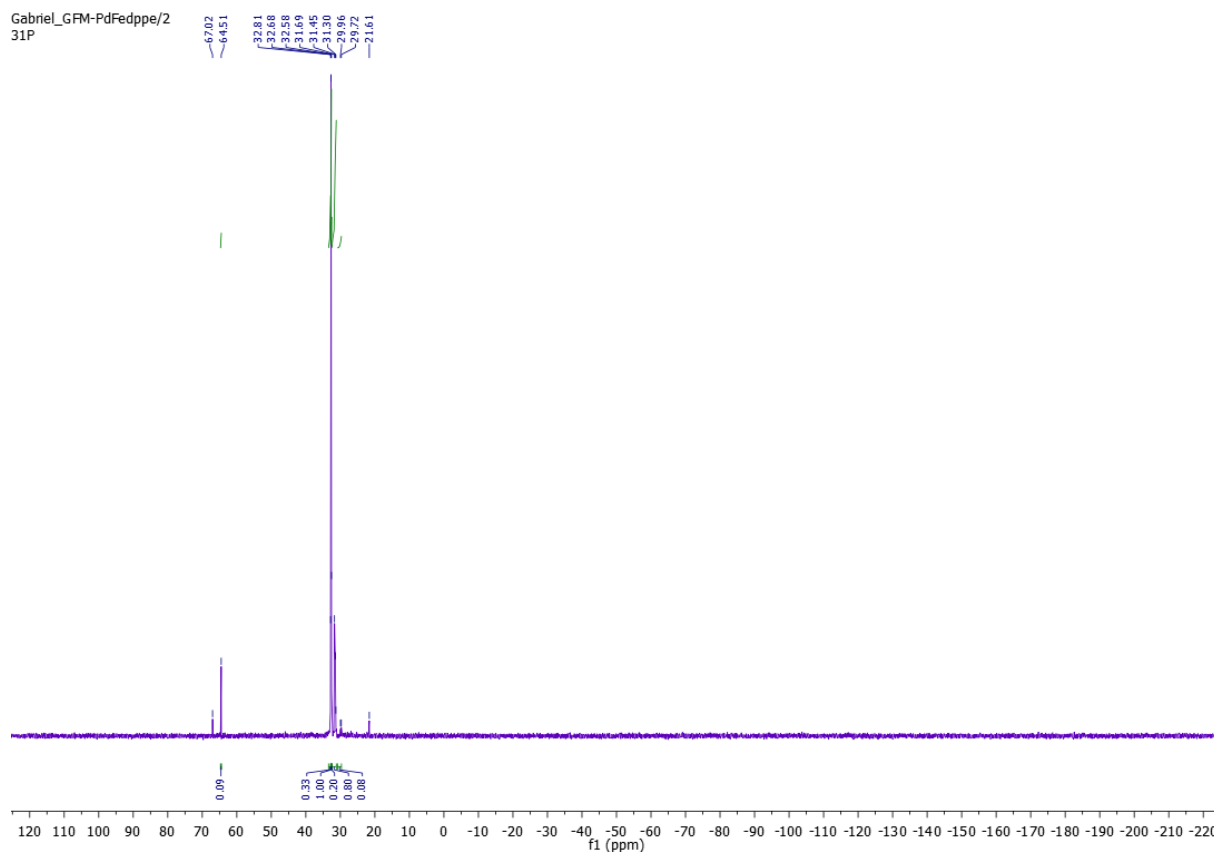
Figura 60: Esquema reacional para a síntese do Sólido 4. A reação envolve o tratamento do precursor dimérico com o ligante bidentado 1,2-bis(difenilfosfina)etano (dppe), visando a obtenção de uma nova espécie organometálica de paládio (II).



Fonte: Autor.

O espectro de $\text{rmn-}^{31}\text{P}$ (fig. 61) do sólido 4 mostra um sinal intenso em 31,45 ppm e outros sinais de baixa intensidade em 64,72 e 72 ppm.

Figura 61: Espectro de RMN ^{31}P (CDCl_3) do sólido 4. A observação de um sinal majoritário em 31,30 ppm sugere a formação de um complexo onde os núcleos de fósforo do ligante dppe encontram-se em ambientes magnéticos muito próximos ou equivalentes, perfil distinto dos dubletos observados para os complexos com a difosfina cis-dppv.

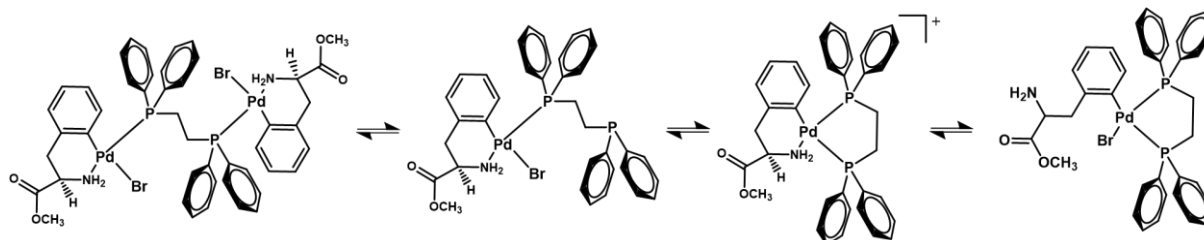


Fonte: Autor.

No espectro de $\text{rmn-}^{31}\text{P}$ (fig. 61) do sólido 4 é possível observar um sinal intenso em 31,45 ppm, que pode estar associado à formação da espécie binuclear $[\text{Pd}_2(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})_2(\mu\text{-dppe})\text{Br}_2]$, caracterizada pela presença de dois átomos de fósforo equivalentes. Porém, o aparecimento de vários sinais sugere um equilíbrio químico entre duas ou mais espécies em solução. Esse comportamento tem sido reportado em ciclopaladados com ligantes difosfínicos.⁸⁹

Ao contrário do composto 2, o complexo formado com a dppe possui uma difosfina consideravelmente menos rígida em relação à cis-dppv. Logo, tal flexibilidade pode resultar em um equilíbrio em solução. As prováveis outras espécies que se formam no equilíbrio químico consistem de uma alteração do modo de coordenação da dppe e eventual descoordenação da ligação Pd-N (fig. 62).

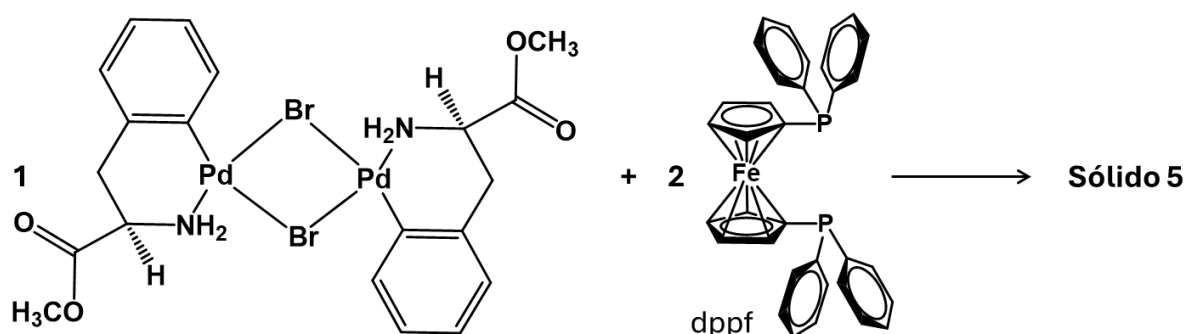
Figura 62: Esquema representativo do equilíbrio químico dinâmico sugerido para as espécies formadas na reação entre o precursor dimérico e o ligante dppe em solução. A representação ilustra a interconversão entre espécies mononucleares, bimetálicas e possíveis isômeros de coordenação, justificando a multiplicidade de sinais observada no espectro de RMN de ^{31}P



Fonte: Autor.

A reação entre o dímero e a dppf resultou em um sólido que foi nomeado como sólido 5. (Fig. 63)

Figura 63: Esquema reacional para a síntese do Sólido 5. A reação envolve o tratamento do precursor dimérico o ligante bidentado 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), visando a obtenção de uma nova espécie organometálica de paládio(II).



Fonte: Autor.

O espectro de $\text{rmn-}^{31}\text{P}$ do sólido 5 não foi possível registrar pois não foi possível obter o shimming no equipamento para a aquisição do experimento.

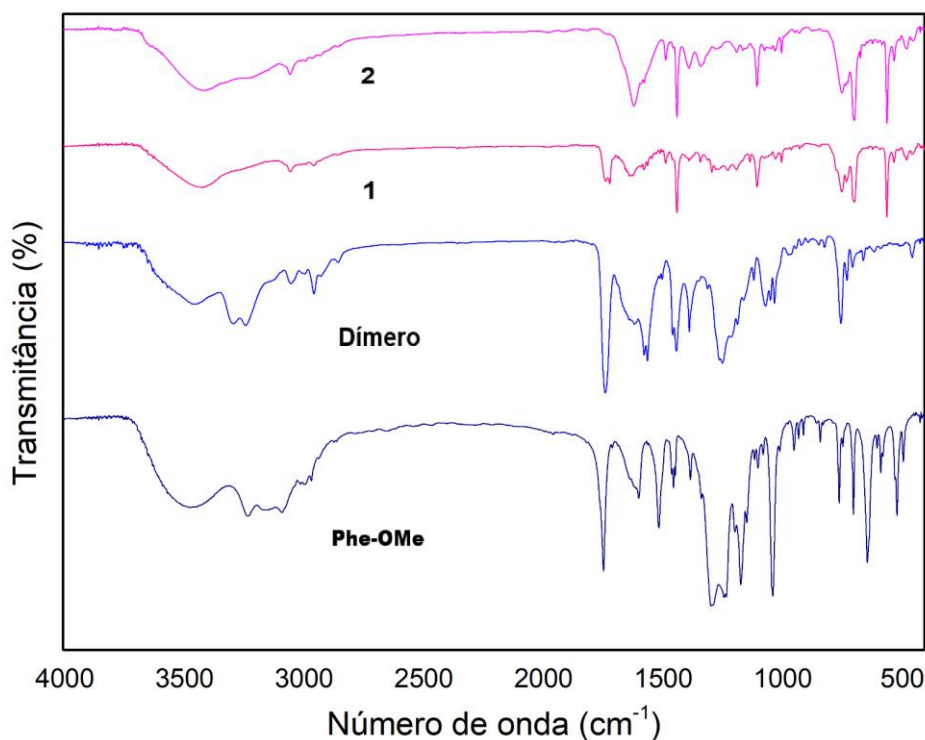
Vale destacar que a lavagem com KOH 10% também foi utilizada para a purificação dos sólidos 3-5. Porém, essa etapa resultou na degradação das moléculas.

4.2 Espectroscopia vibracional na região infravermelho

Considerando que somente o composto $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ foi obtido com considerável grau de pureza, o mesmo foi caracterizado via espectroscopia no IV. As frequências vibracionais no infravermelho trazem informações importantes sobre o

modo de coordenação dos ligantes ao centro metálico no complexo (Fig. 64). A tabela 1 apresenta as principais absorções observadas no espectro do ligante **L1** (Phe-OMe), precursor **D1** ($[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{Br})_2]$) e dos complexos **1** e **2**.

Figura 64: Espectros de absorção na região do infravermelho ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) para o ligante livre (Phe-OMe), o precursor dimérico (Dímero), o sólido **1** e o complexo **2**. A análise comparativa evidencia a coordenação do aminoácido ao centro de paládio e a subsequente hidrólise do grupo éster.



Fonte: Autor

Para o Ligante **L1** (Phe-OMe), observa-se a presença de bandas de estiramento antissimétrico ($\nu_{\text{a}}\text{N-H}$) em 3228 cm^{-1} e simétrico ($\nu_{\text{s}}\text{N-H}$) em 3156 cm^{-1} . As bandas associadas à deformação angular antissimétrica ($\delta_{\text{a}}\text{NH}_2$) e simétrica ($\delta_{\text{s}}\text{NH}_2$) ocorrem em 1596 cm^{-1} e 1509 cm^{-1} . Existem duas bandas de deformação angular fora do plano de C-H ($\gamma\text{C-H}$) aromático em 758 e 701 cm^{-1} referente a monossustituição do anel aromático. É possível observar a banda do estiramento da carbonila ($\nu\text{C=O}$) do grupo éster em 1741 cm^{-1} .^{82, 83}

Ainda no espectro do Ligante **L1**, observa-se a presença das bandas do íon triflato em 1293 cm^{-1} ($\nu_{\text{a}}\text{S=O}$), e 1170 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{S=O}$) e ($\nu\text{S-O}$) em 640 cm^{-1} . A presença do grupo CF_3 do sal triflato, é evidenciada pelas bandas ($\nu\text{C-F}$) em 1193 e 1035 cm^{-1} .^{82, 83}

Para o espectro do Dímero precursor **D1** ($[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{Br})]_2$), observa-se as bandas típicas do éster metílico da *L*-Fenilalanina em 3228 ($\nu_{\text{a}}\text{NH}$), 3243 ($\nu_{\text{s}}\text{NH}$), 1617 ($\delta_{\text{a}}\text{NH}$), 1560 ($\delta_{\text{s}}\text{NH}$) e 1246 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-N}}$). A ausência das bandas do íon triflato suportam a formulação esperada. As bandas do grupo éster são observadas em 1733 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1068 ($\nu_{\text{a}}\text{C-O}$) e 1047 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-O}$). Pode-se observar a presença de uma banda $\gamma\text{C-H}$ intensa em 750 cm^{-1} referente ao anel aromático dissustituído na posição orto (1,2), sendo uma evidência de que houve a formação de um anel ciclometalado.^{83, 86}

No espectro de infravermelho do complexo **1** é possível observar as bandas características do grupo éster da porção fenilalanina ciclometalada ($\nu_{\text{C=O}}$) em 1623 e 1385 cm^{-1} , 1100 ($\nu_{\text{a}}\text{C-O}$) e 1069 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-O}$), as bandas de estiramento antissimétrico ($\nu_{\text{a}}\text{N-H}$) em 3257 cm^{-1} e simétrico ($\nu_{\text{s}}\text{N-H}$) e 3053 cm^{-1} e para a banda de estiramento da ligação carbono com o nitrogênio ($\nu_{\text{C-N}}$) 1289 cm^{-1} . As bandas associadas à deformação angular antissimétrica ($\delta_{\text{a}}\text{NH}_2$) e simétrica ($\delta_{\text{s}}\text{NH}_2$) ocorrem em 1584 cm^{-1} e 1574 cm^{-1} . A banda associada com a ortometalação do anel aromático ($\gamma\text{C-H}$) está presente em 748 cm^{-1} . Por fim é possível observar as bandas típicas da *cis*-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (*cis*-dppv) coordenada em 1485 cm^{-1} (δCH), 726 e 691 cm^{-1} ($\gamma\text{C-H da P}$).^{82, 85}

No espectro de infravermelho do complexo **2** é possível observar as bandas características do ânion carboxilato de fenilalanina ciclometalado ($\nu_{\text{C=O}}$) em 1617 e 1386 cm^{-1} , as bandas de estiramento antissimétrico ($\nu_{\text{a}}\text{N-H}$) em 3228 cm^{-1} e simétrico ($\nu_{\text{s}}\text{N-H}$) e 3054 cm^{-1} e para a banda de estiramento da ligação carbono com o nitrogênio ($\nu_{\text{C-N}}$) 1271 cm^{-1} . As bandas associadas à deformação angular antissimétrica ($\delta_{\text{a}}\text{NH}_2$) e simétrica ($\delta_{\text{s}}\text{NH}_2$) ocorrem em 1584 cm^{-1} e 1572 cm^{-1} . A banda associada com a ortometalação do anel aromático ($\gamma\text{C-H}$) está presente em 701 cm^{-1} . Por fim é possível observar as bandas típicas da *cis*-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (*cis*-dppv) coordenada em 1482 cm^{-1} (δCH), 730 e 695 cm^{-1} ($\gamma\text{C-H da P}$).^{82, 85}

Tabela 11: Dados de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) para o ligante Phe-OMe, precursor dimérico e complexos organometálicos

Atribuição	Número de onda (cm^{-1})			
	L1	D1	1	2
$\square_a$ N-H	3228	3293	3257	3228
$\square_s$ N-H	3156	3243	3053	3054
δ_a NH_2	1596	1617	1584	1584
δ_s NH_2	1509	1560	1574	1572
$\square$ C-N	-	1246	1289	1271
$\square$ C=O	1741	1733	1623 e 1385	1617 e 1386
$\square_a$ C-O	-	1068	1100	-
$\square_s$ C-O	-	1047	1069	-
γ C-H	758 e 701	750	748	701
δ CH	-	-	1485	1482
γ C-H da P	-	-	726 e 691	730 e 695
$\square_a$ S=O	1293	-	-	-
$\square_s$ S=O	1170	-	-	-
$\square$ S-O	640	-	-	-
$\square$ C-F	1993 e 1035	-	-	-

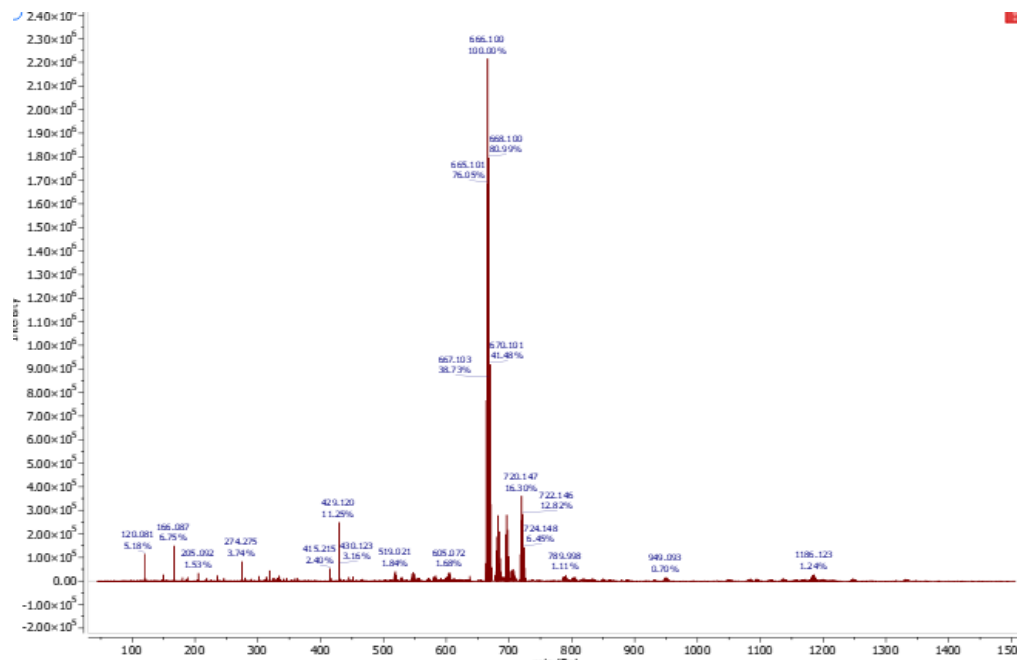
Fonte: Autor.

4.3 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) é uma poderosa técnica para a determinação da composição atômica e molecular de novos compostos. Em geral, a técnica permite que a massa molecular do composto estudado seja determinada através de um processo de ionização da amostra com posterior detecção da razão massa/carga (m/z), tanto da molécula inteira – também chamado de íon molecular – como de seus fragmentos.

O paládio possui distribuição isotópica de aproximadamente 27% entre seus isótopos de massas 106,108,105, 110,104 e 102, portanto uma série de sinais aparece junto ao sinal principal, indicando que seus isótopos também estão presentes. O espectro de massas do **2** é mostrado na figura 65.

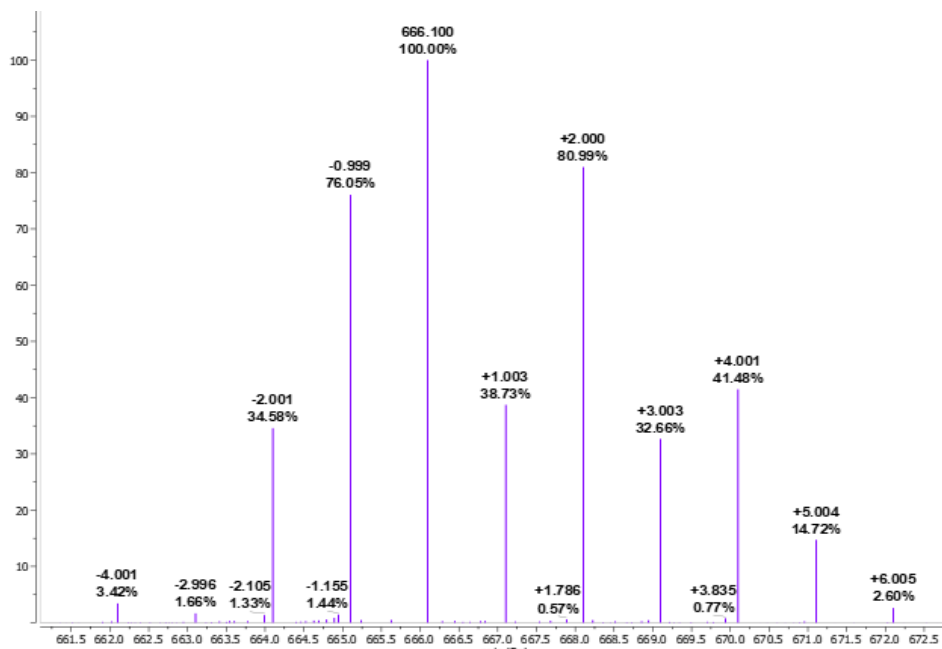
Figura 65: Espectro de massas (ESI-MS) do complexo 2. O pico majoritário em m/z 666,10 (100%) corresponde ao íon molecular $[M+H]^+$, sendo consistente com a fórmula molecular proposta para a espécie ($C_{35}H_{31}NO_2P_2Pd$). O perfil isotópico observado é característico para complexos contendo um átomo de paládio.



Fonte: Autor.

O sinal positivo em $m/z = 666,100$ refere-se ao íon molecular $[Pd(C^2,N-Phe)(cdppv)]^+$, concordando com a estrutura proposta neste trabalho. As principais fragmentações encontradas são referentes a +2,000 (668.100), -0,999 (665.101), +4,001 (670,101), +1,003 (667.103), -2,001 (664,099) e +3,003 (669.103). Além disso, na figura 66 é apresentado o espectro do íon molecular $[Pd(C^2,N-Phe)(cis-dppv)]^+$, o qual mostra-se de acordo com o espectro teórico (fig. 24).

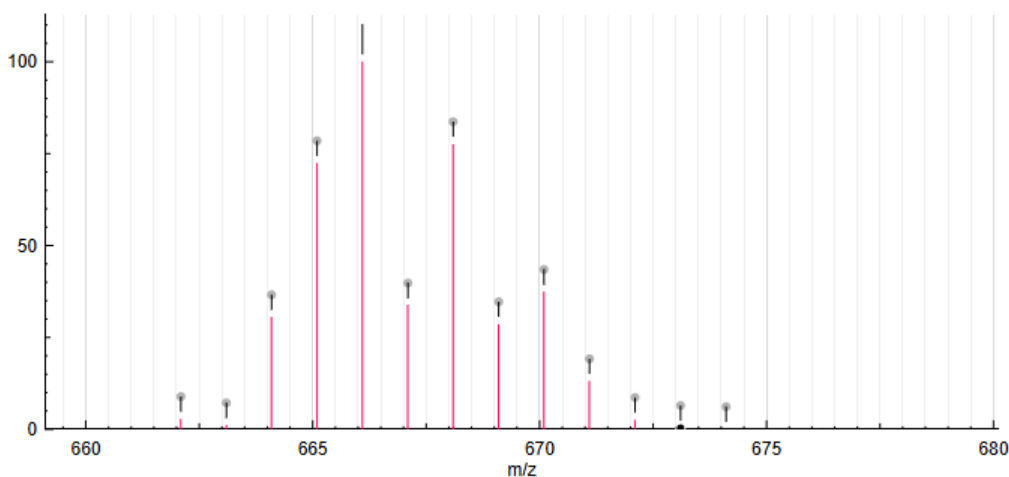
Figura 66: Espectro de massas (ESI-MS) do complexo 2 obtido em modo positivo. O pico base em m/z 666,10 (100%) corresponde ao íon molecular $[M+H]^+$, sendo consistente com a fórmula molecular proposta ($C_{35}H_{31}NO_2P_2Pd$).



Fonte: Autor.

De acordo com o espectro simulado (Fig. 67), obtido em <https://mstools.epfl.ch/info/>, é na porção do espectro entre m/z 660 e m/z 675 que deve estar localizado o íon molecular. O pico do íon molecular $[M+H]^+$ aparece em m/z 666,100.

Figura 67: Espectro de massas simulado para o complexo 2 ($C_{35}H_{31}NO_2P_2Pd$). O padrão de distribuição isotópica teórico para o íon molecular $[M+H]^+$ é apresentado para fins de comparação com os dados experimentais obtidos por ESI-MS.



Fonte: Obtido em <https://mstools.epfl.ch/info/>

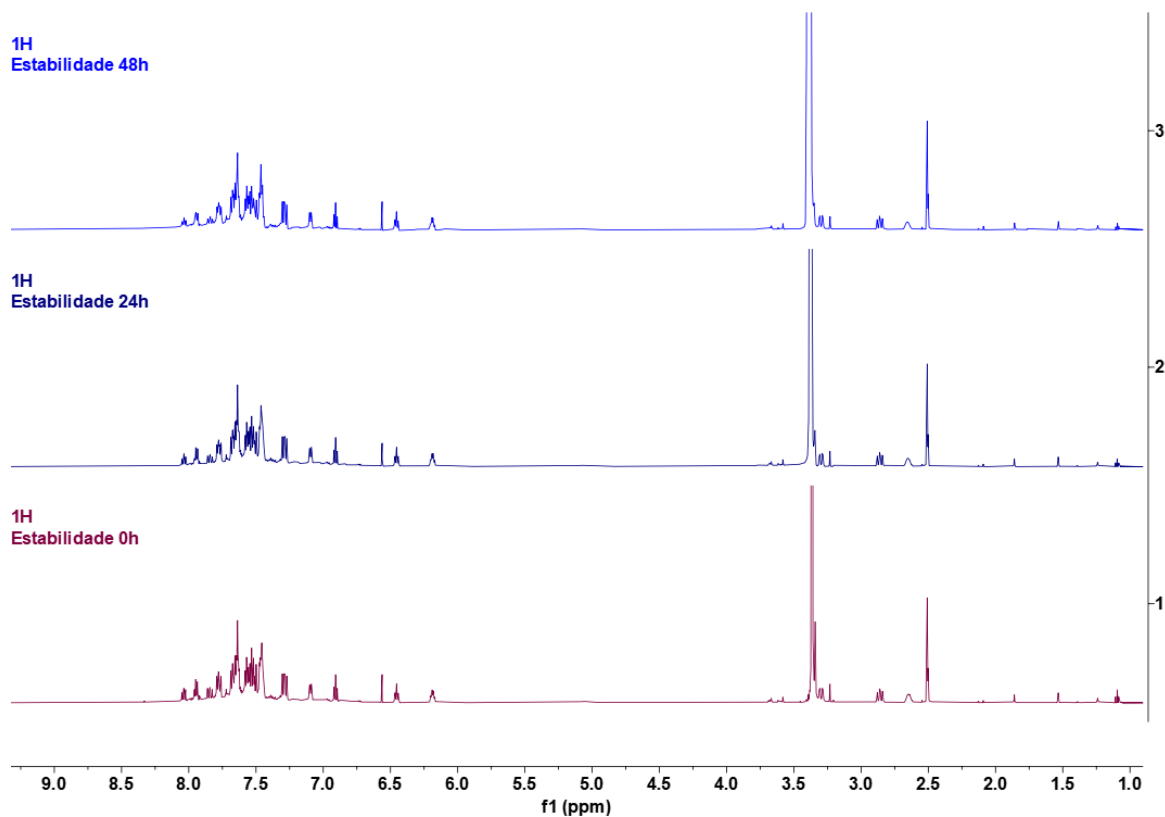
4.4 Comportamento em solução

Para realizar os testes *in vitro*, é necessária a investigação da integridade do composto metálico em solução, o qual é avaliado quando não houve substituições de seus ligantes ou quebras de suas ligações, sob as condições fornecidas pelo experimento.

Devido à baixa solubilidade do complexo em água, o solvente dimetilsulfóxido (DMSO-6d) é empregado, assim os compostos tornam-se viáveis para os ensaios de avaliação da viabilidade celular. Porém, o DMSO possui uma natureza coordenante, o que pode resultar em substituição de ligantes quando o complexo é solubilizado.

O objetivo é investigar a estabilidade do composto $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**) em solução, portanto, foram adquiridos espectros de RMN de ^1H e ^{31}P nos intervalos de 0 (inicial), 24 e 48 horas após o preparo da solução. O período é selecionado, pois é o mesmo período de incubação utilizado nos ensaios de viabilidade celular. Os espectros do experimento de estabilidade da molécula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**) estão apresentados nas figuras 68 e 69:

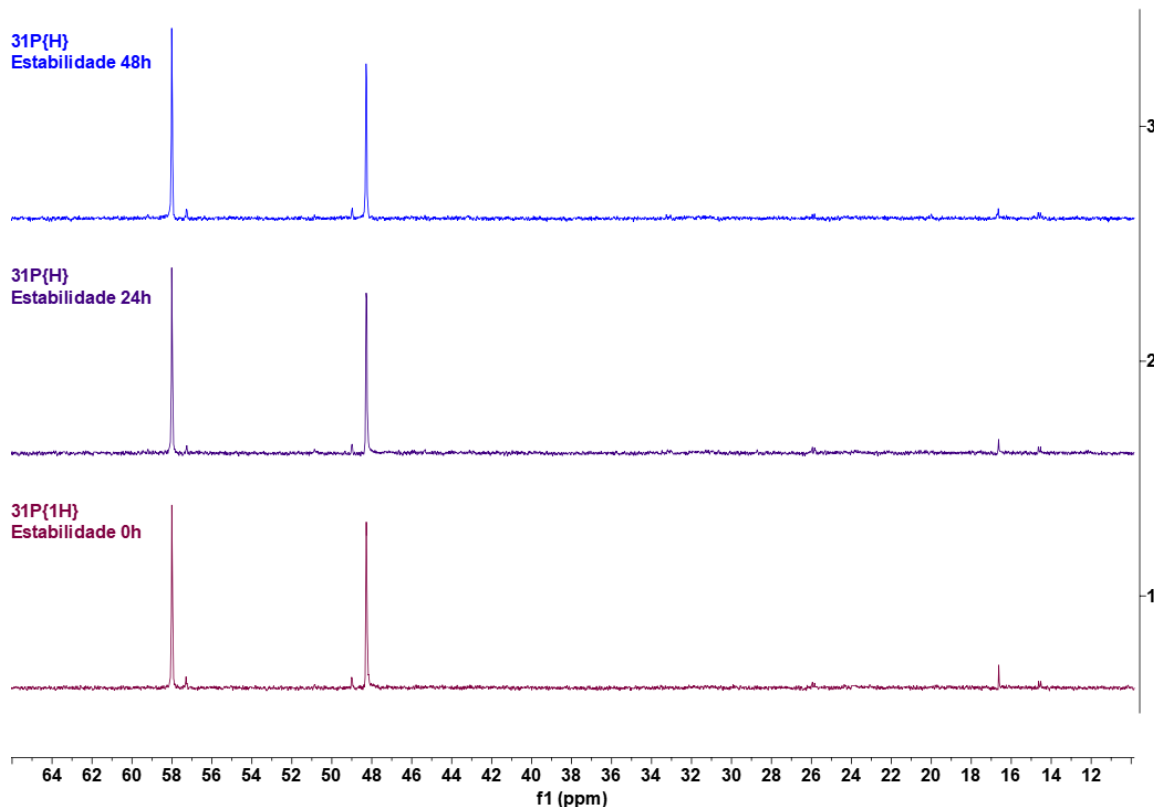
Figura 68: Espectros de RMN de ^1H (DMSO- d_6) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.



Fonte: Autor.

Conforme ilustrado na figura 68, nos experimentos de RMN dependentes do tempo, não foram identificadas alterações no deslocamento ou multiplicidades dos sinais de ressonância dos prótons durante ao tempo de análise, indicando que não houve a troca de ligante com o solvente DMSO- d_6 e decomposição do complexo.

Figura 69: Espectros de RMN de ^{31}P (DMSO- d_6) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.



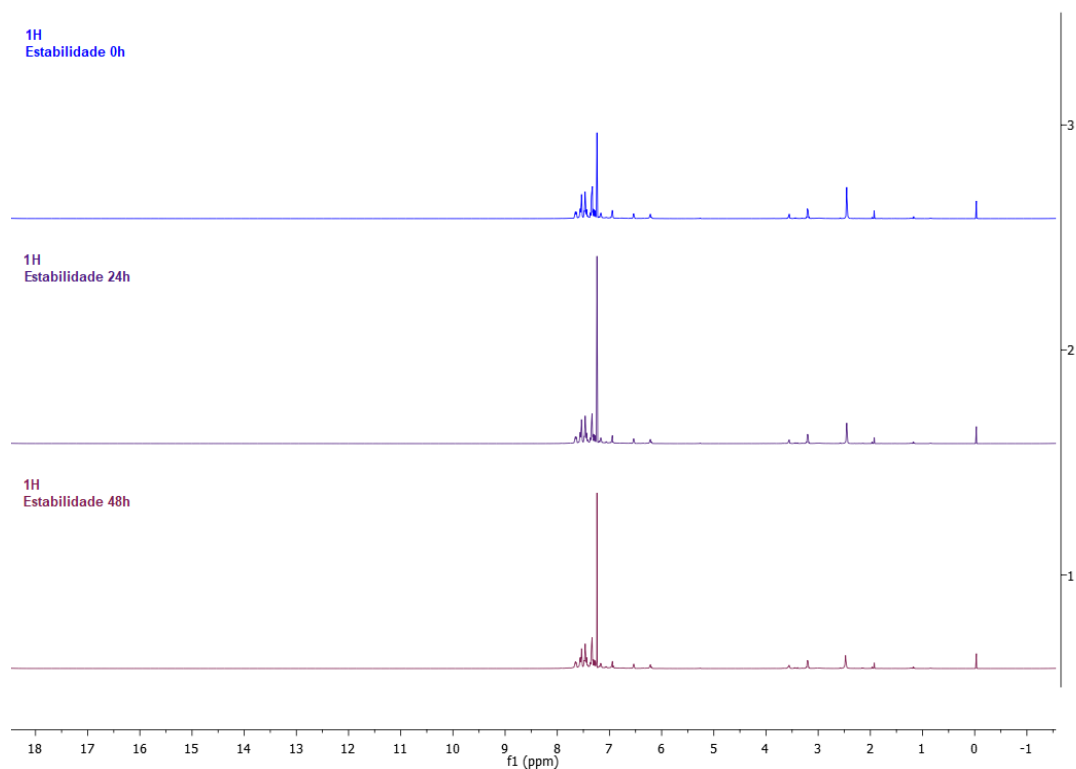
Fonte: Autor.

Conforme ilustrado na figura 69, nos experimentos de RMN dependentes do tempo, não foram identificadas alterações no deslocamento ou multiplicidades dos sinais de ressonância dos fósforos durante ao tempo de análise, indicando que não houve a troca de ligante com o solvente DMSO- d_6 e decomposição do complexo.

Adicionalmente ao estudo de estabilidade em DMSO, conduziu-se a investigação do comportamento do complexo 2 em clorofórmio deuterado (CDCl_3). A escolha deste solvente justifica-se por sua natureza fracamente coordenante, o que permite observar a integridade da estrutura molecular sem a interferência de processos de solvólise ou troca de ligantes, comuns em solventes mais nucleofílicos. Além disso, o monitoramento em CDCl_3 é fundamental por ser este o solvente utilizado nas tentativas de obtenção de monocristais para difração de raios X. Dessa forma, foram adquiridos espectros de RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nos intervalos de 0, 24 e 48 horas

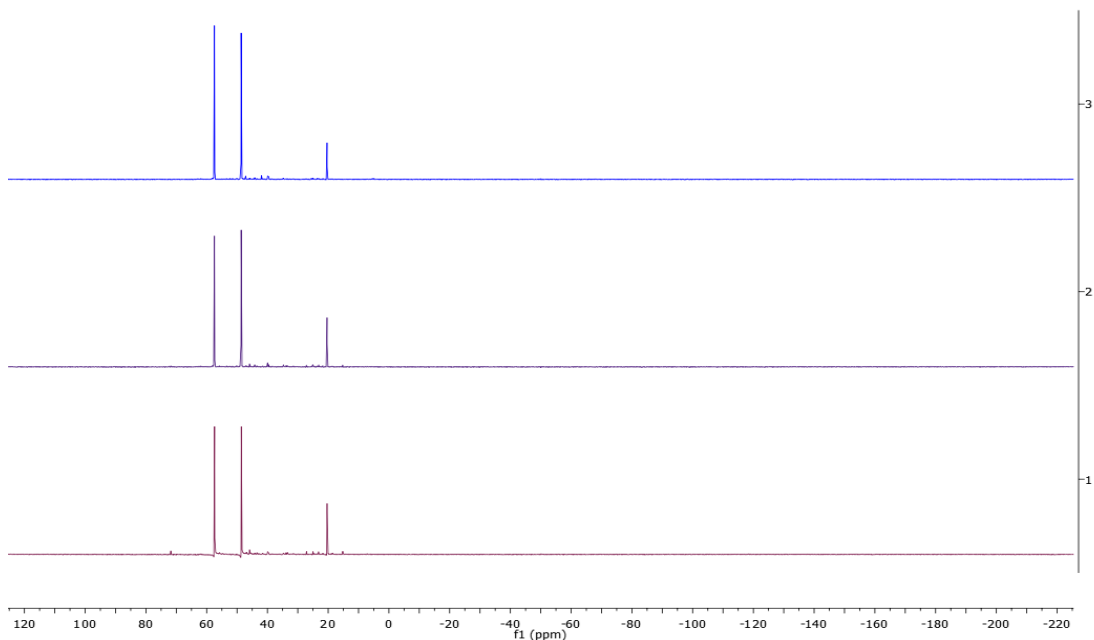
após o preparo, visando garantir que a espécie cristalizada seja representativa da estrutura mantida em solução

Figura 70: Espectros de RMN de ^1H ($\text{CHCl}_3\text{-d}$) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.



Fonte: Autor.

Figura 71: Espectros de RMN de ^{31}P ($\text{CHCl}_3\text{-d}$) do complexo 2 obtidos em diferentes intervalos de tempo (0h, 24h e 48h). A manutenção do perfil espectroscópico, sem o surgimento de novos sinais ou degradação dos multipletos aromáticos e alifáticos, comprova a elevada estabilidade da espécie em solvente orgânico por até 48 horas.



Fonte: Autor.

Conforme ilustrado nos espectros das figuras 70 e 71, os experimentos de RMN dependentes do tempo, não foram identificadas alterações no deslocamento ou multiplicidades dos sinais de ressonância dos fósforos durante o tempo de análise, indicando que há a troca de ligante com o solvente. Indicando que o solvente pode ser utilizado para a obtenção de cristais.

Considerando que o complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**) demonstrou ser estável frente a decomposição em solução de DMSO-d_6 , o mesmo foi submetido aos ensaios de viabilidade celular.

4.5 Ensaios Biológicos

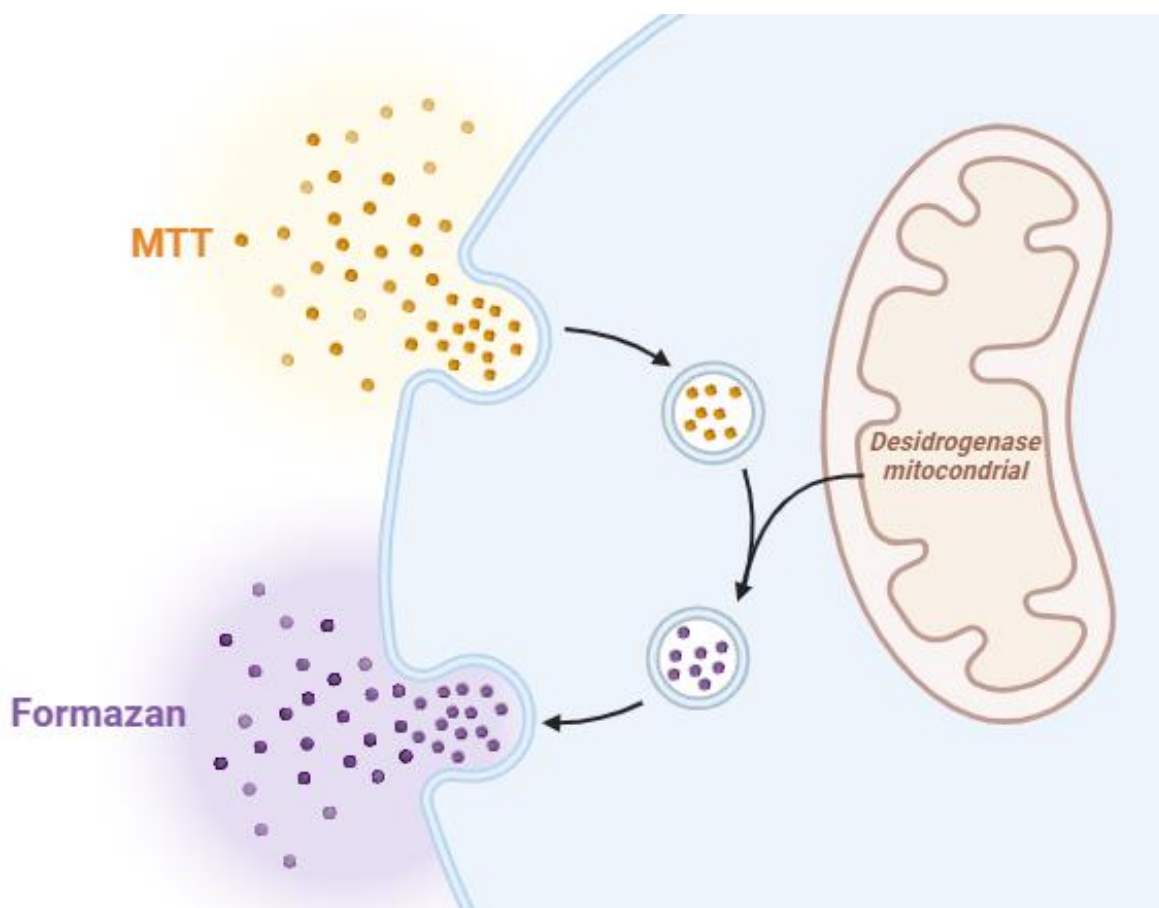
4.5.1 Ensaio da atividade antiproliferativa

A atividade antiproliferativa in vitro do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**) foi expresso em valores de concentração mínima inibitória (IC_{50}), concentração mínima necessária para poder inibir 50% do crescimento das células. Os valores de IC_{50}

foram obtidos com a utilização do método colorimétrico MTT ((brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólio)).⁹¹

O método MTT consiste em reduzir os cristais de MTT, sal solúvel em água que possui coloração amarela, em cristais de formazan, cristais de coloração violeta insolúveis em água, por células metabolicamente ativas. As células viáveis contêm enzimas dependentes de NADH que reduzem o MTT, que por sua vez serão dissolvidos em solvente orgânico, cuja concentração pode ser medida por métodos espectrofotométricos, sendo a concentração diretamente proporcional à viabilidade celular. (Fig. 72).⁹¹

Figura 72: Representação esquemática do ensaio colorimétrico de viabilidade celular por MTT. O MTT(amarelo) é internalizado pelas células via endocitose e reduzido a cristais de formazan (roxo) pela ação das enzimas desidrogenases mitocondriais em células metabolicamente ativas.



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

Os ensaios de viabilidade celular foram realizados com as seguintes linhagens de células, sendo tumorais (A2780, MDA-MB-231, SKBr-3) e não tumoral (MCF-10A). Os valores de IC₅₀ obtidos nos ensaios foram comparados com resultados da cisplatina nas mesmas condições experimentais, os resultados estão apresentados na Tabela 4

Tabela 12: Valores de IC_{50} (μmolL^{-1}) obtidos para o complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**), $[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{PTA})]$ e cisplatina após 48h de incubação

Linhagem	2	$[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{PTA})]$⁸¹	Cisplatina
MDA-MB-231	$6,58 \pm 0,53$	$30,26 \pm 0,87$	$18,93 \pm 1,97$
A2780	$2,73 \pm 0,84$	$9,37 \pm 1,07$	$4,78 \pm 0,87$
SKBr-3	$5,15 \pm 0,91$	-	$13,98 \pm 0,49$
MCF-10A	$5,71 \pm 0,93$	-	$53,34 \pm 1,56$

Fonte: Autor.

Os resultados descritos na Tabela 12 demonstram que o complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**) é ativo frente à todas as linhagens tumorais testadas. O complexo de paládio foi 2 vezes mais ativo que a cisplatina frente a linhagem A2780 e 6 vezes mais potente em relação ao fármaco de referência contra a linhagem de câncer de mama triplo-negativo MDA-MB-231 (uma linhagem conhecida pela sua resistência aos fármacos). Com relação a linhagem de câncer de mama Her2 positivo, o complexo **2** foi cerca de duas vezes mais ativo que a cisplatina. Entretanto, o complexo de paládio foi bem mais tóxico que a cisplatina frente a linhagem celular MCF-10A, linhagem de células saudáveis. O complexo **2** também demonstrou ser mais ativo que a cisplatina frente à linhagem de câncer de ovário A2780. Entretanto, o complexo **2** foi consideravelmente mais tóxico que a cisplatina frente às células não tumorais de mama MCF-10A.

Ao analisar os resultados obtidos do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{dppv})]$ (**2**) e comparar com os resultados de IC_{50} obtidos previamente por Feitoza com sua molécula $[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})(\text{PTA})]$, mostram que a mudança da fosfina monodentada PTA, para uma bidentada, melhoram a atividade frente as linhagens MDA-MB-231 e A2780. plexos de paládio, o composto **2** foi comparado também com a cisplatina.

4.5.2 Ensaio de competição com as sondas Hoechst 33258 e TO

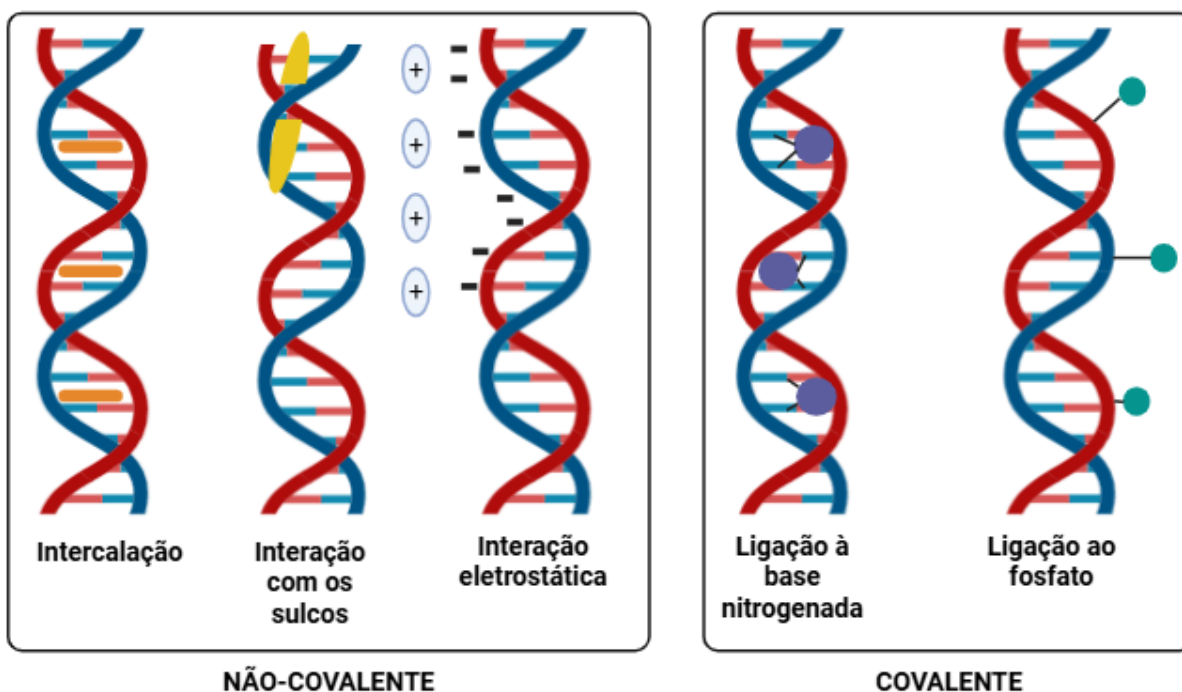
O DNA é o principal alvo farmacológico de diversos fármacos utilizados em terapias medicinais. A lógica por trás do alvo é a regulação das funções celulares a partir da modulação da expressão gênica ou da interferência na respiração celular.^{31,32}

O DNA é uma molécula que armazena e transmite informações genéticas nas células. Tratam-se de biopolímeros lineares constituídos por nucleotídeos unidos por

ligações fosfodiéster, sendo capaz de armazenar e transmitir informações genéticas dentro da célula. A cadeia de açúcar fosfato, que é carregada negativamente, é hidrofílica e se encontra exposta a solução aquosa do meio intracelular, enquanto na porção lipofílica, as bases nitrogenadas orientam-se para o interior da dupla-hélice. A orientação das ligações no DNA faz com que se formem dois sulcos (cavidades), ditos como sulco maior e sulco menor. A estrutura supramolecular da hélice dupla é mantida por várias forças não-covalentes, tais como, interações π - π entre os anéis aromáticos, ligações de hidrogênio entre as bases, atração eletrostática entre as cadeias açúcar-fosfato (negativas) e os cátions em solução.^{92,93}

A complexidade estrutural da biomolécula permite diversos modos de interação com outras moléculas pequenas, podendo ser divididas em dois grupos: as interações covalentes, que podem ser através da ligação direta do complexo ao DNA por suas bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato, ou as interações não-covalentes, que são interações eletrostáticas, hidrofóbicas no sulco menor do DNA, ou através da intercalação. A figura 73 ilustra os modos de interação.^{92,93}

Figura 73: Representação esquemática dos modos de interação entre moléculas e a dupla hélice do DNA. As interações são classificadas em não-covalentes (intercalação, interação com sulcos e eletrostática) e covalentes (ligação às bases nitrogenadas ou ao grupo fosfato).



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

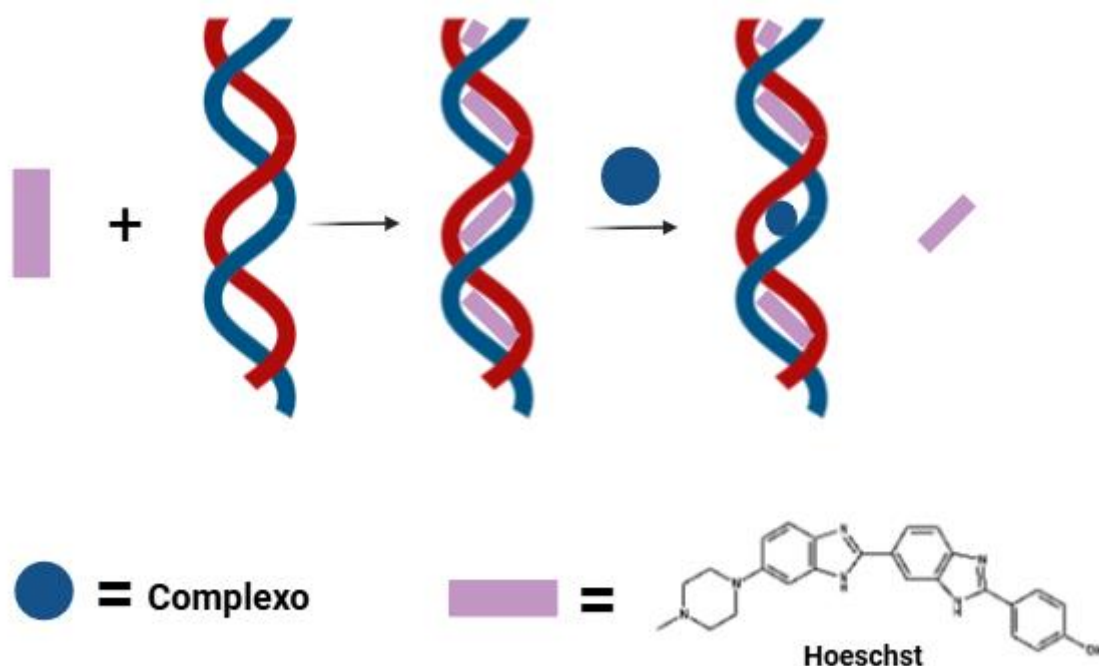
Diversas metodologias podem ser utilizadas para investigar interações covalentes e não-covalentes entre as moléculas pequenas e o DNA. Dentre as mais conhecidas, a espectroscopia de fluorescência destaca-se por fornecer informações

do modo de interação de um determinado composto com o DNA. O experimento de competição utiliza uma sonda intercaladora que aumenta a fluorescência em presença do DNA, consequência da forte interação ocorrida. A presença de outro composto intercalador reduz a fluorescência emitida pelo sistema DNA-sonda, em função da competição pelos sulcos do biopolímero. Deste modo a fluorescência do sistema DNA-sonda é medido na presença e na ausência do complexo estudado.^{92,93}

A supressão da fluorescência em um determinado sistema pode se dar por um processo dinâmico ou estático. A supressão dinâmica é um processo colisionante, e isso requer o contato entre as espécies envolvidas. Em consequência, ela é proporcional à concentração do agente supressor e da sua capacidade de difusão no meio. O processo estático é resultado da formação de um complexo não-fluorescente entre o fluoróforo e o supressor e, portanto, o grau de supressão está relacionado à extensão da formação deste complexo.^{92,93}

Um dos corantes mais utilizados nas análises é o Hoechst 33258 (Fig), que interage por meio de interações eletrostáticas com o sulco menor do DNA, aumentando sua fluorescência cerca de 30 vezes em comparação com corante livre, esse aumento é resultante do relaxamento rotacional e da hidratação após a interação com o DNA.^{94,95}

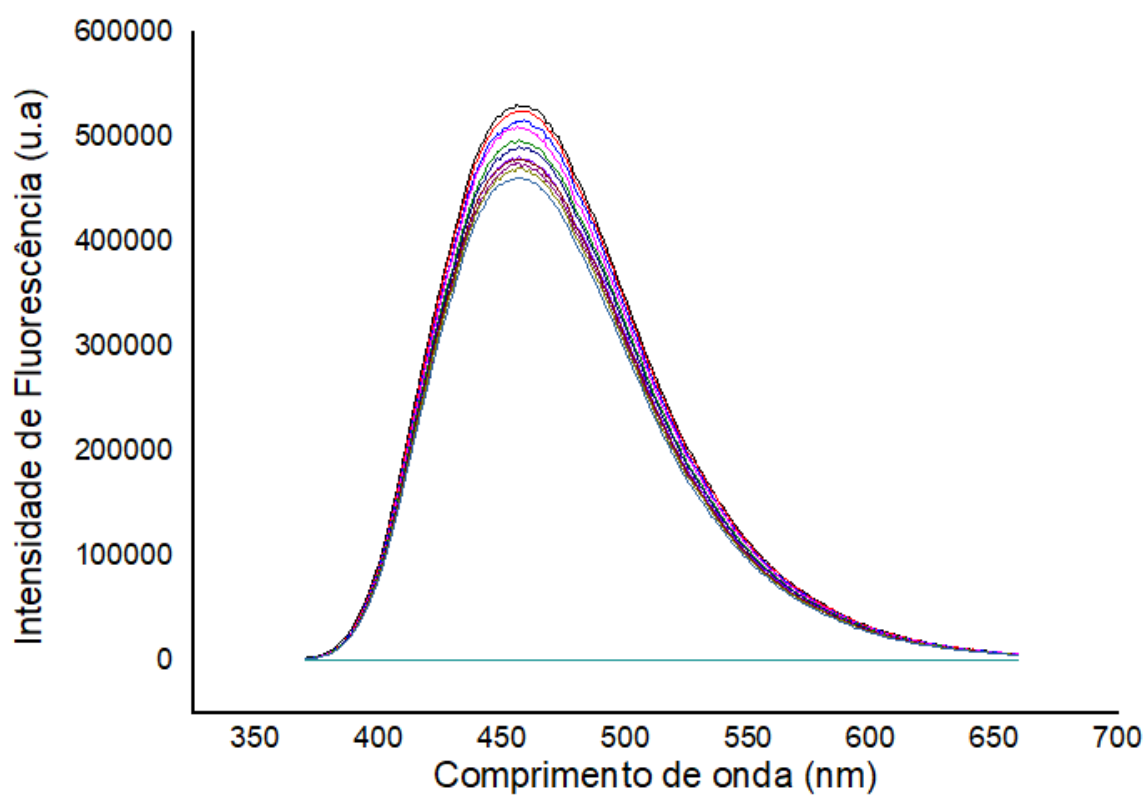
Figura 74: Representação esquemática do ensaio de competição por fluorescência utilizando o corante Hoechst 33258. O experimento monitora a capacidade do complexo de deslocar o corante do sulco menor da dupla hélice do DNA, resultando em uma diminuição progressiva da intensidade de emissão de fluorescência.



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

Após as adições de alíquotas do complexo a solução contendo o aduto Hoechst 33258-DNA, foi observado uma leve supressão da fluorescência (cerca de 13%), Figura 76, indicando que o complexo 2 não é capaz de interagir com o DNA e deslocar o Hoechst do sulco menor.

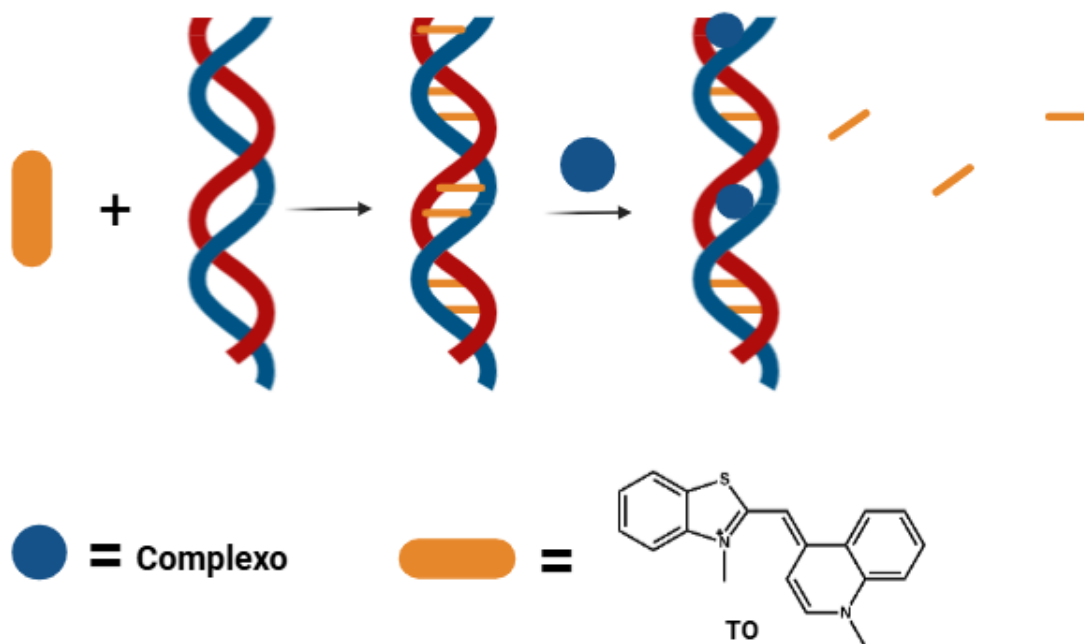
Figura 75: Espectro de emissão do aduto Hoechst 33258-DNA na presença de crescentes quantidades do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-L-Phe})(\text{cis-dppv})] 2$. ($0 - 60 \mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão tris HCl. $[\text{ct-DNA}] = 60 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $[\text{Hoechst}] = 6 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor.

Já para o Laranja de Tiazol é um corante citanina assimétrico, que quando está em solução não apresenta fluorescência, porém quando interage com o DNA, intercalando entre os pares de bases, gera uma torção do corante dentro dos sulcos menores do DNA, isso resulta em um aumento significativo da fluorescência.^{96,97}

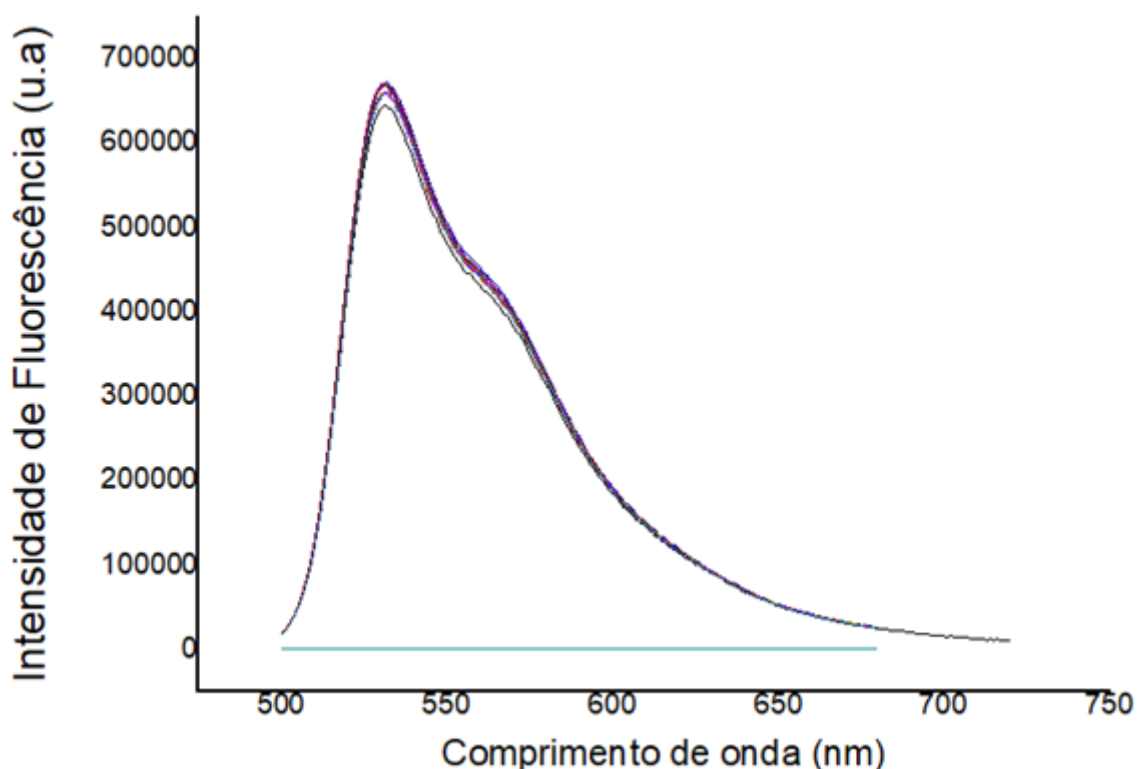
Figura 76: Representação esquemática do ensaio competitivo de fluorescência utilizando o corante Thiazole Orange (TO). O experimento avalia a capacidade do complexo de paládio em deslocar o TO, um intercalador clássico, dos pares de bases da dupla hélice do DNA.



Fonte: Autor. Criado com biorender.com.

Após as adições de alíquotas do complexo a solução contendo o aduto TO-DNA, também foi observada uma leve supressão da fluorescência em cerca 4%, Figura 77, indicando que o complexo 2, não possui a capacidade de deslocar a sonda, sugerindo que 2 não interage com o DNA por meio da intercalação

Figura 77: Espectro de emissão do aduto TO-DNA na presença de crescentes quantidades do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-L-F})(\text{cis-dppv})]$ 2. (0 – 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão tris HCl. $[\text{ct-DNA}] = 60 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{TO}] = 6 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor.

Em face dos resultados preliminares de interação com o ct-DNA, é possível sugerir que o DNA não deve ser o alvo principal deste ciclopaladado. Conforme foi observado em outros ciclopaladados contendo difosfinas indicam que um dos seus alvos preferenciais é a mitocôndria. A maioria das moléculas que se direcionam às mitocôndrias são catiônicas e/ou lipofílicas em razão do elevado potencial negativo e da lipofilicidade da membrana externa das mitocôndrias. A elevada lipoficlicidade conferida pelas difosfinas a esses ciclopaladados os tornam candidatos a alcançar as mitocôndrias.

As mitocôndrias são indispensáveis para a produção de energia e, portanto, para a sobrevivência das células eucarióticas. Por outro lado, são reguladoras cruciais da via intrínseca da apoptose. Como as mitocôndrias são reguladoras-chave da morte celular e como as funções mitocondriais são frequentemente alteradas nas células tumorais, os compostos direcionados às mitocôndrias representam uma abordagem promissora para erradicar células tumorais resistentes à quimioterapia.⁹⁸

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho investigou a reatividade do dímero $[\text{PdBr}(\text{C}^2, \text{N-PheOMe})]_2$ frente a diversas difosfinas $\{\text{P}^{\wedge}\text{P} = \text{cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (cis-dppv)}$, $\text{trans-1,2-bis(difenilfosfino)etileno (trans-dppv)}$, $\text{1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe)}$, $\text{1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf)}\}$. Dentes as reações estudadas, o tratamento com KOH do produto obtido a partir da reação entre o dímero precursor e a $\text{cis-1,2-bis(difenilfosfino)etileno}$ gerou um composto puro e estável em solução de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-Phe})(\text{cis-dppv})]$ (**2**), no qual o grupo metílico da porção éster da L-fenilalanina foi eliminado. O composto **2** foi devidamente caracterizado utilizando técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia vibracional na região Infravermelho, FTIR, espectroscopia de ressonância magnética, RMN e espectrofotometria de massas, ESI-MS, sendo possível coletar informações importantes a respeito de sua estrutura.

Estudos de comportamento em solução de DMSO- d_6 e CDCl_3 no período de 48h, indicaram que é possível o complexo se manter com sua estrutura essencialmente intacta, indicando que é uma espécie estável em solução, o que possibilita os estudos biofísicos e bioquímicos.

A citotoxicidade *in vitro* do complexo foi avaliada pelo método MTT, frente às linhagens celulares tumorais A2780, MDA-MB-231, SKBr-3 e não tumoral MCF-10A, destacando sua maior citotoxicidade frente às células tumorais de mama de MDA-MB-231 ($6,58 \pm 0,53 \mu\text{mol L}^{-1}$) em relação ao fármaco padrão cisplatina ($18,93 \pm 1,97 \mu\text{mol L}^{-1}$). O complexo **2**, também demonstrou ser mais citotóxico do que a cisplatina nas linhagens tumorais A2780 ($2,73 \pm 0,84 \mu\text{mol L}^{-1}$) e SKBr-3 ($5,15 \pm 0,91 \mu\text{mol L}^{-1}$). A partir desses resultados, nota-se que o centro metálico, bem como os ligantes e seus substituintes, desempenharam papéis significativos na atividade antitumoral dos complexos sintetizados.

Frente a hipótese apresentada no trabalho, o complexo **2**, mostrou-se mais ativo contra as linhagens tumorais A2780 e MDA-MB-231 do que o ciclopalado **Pd-Br-PTA**, estudado por Feitoza, comprovam a hipótese de que a mudança do ligante fosfina monodentado para um ligante fosfina bidentado, aumenta a atividade da molécula.

Ensaio de competição com o Hoechst 33258 e o Laranja de Tiazol (TO) revelaram que o composto **2** não foi capaz de deslocar as sondas dos seus

respectivos sítios de ligação. Através desses resultados é possível afirmar que o DNA não é o alvo principal para atividade do complexo, mas sim outros alvos celulares como, por exemplo, as mitocôndrias.

REFERÊNCIAS

1. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **O que é câncer?** Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>. Acesso em: 06 jan. 2026.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. Geneva: WHO. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. Acesso em: 06 jan. 2026.
3. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Como surge o câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer>. Acesso em: 06 jan. 2026.
4. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Estatísticas de câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>. Acesso em: 06 jan. 2026.
5. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Câncer**. Washington, D.C.: OPAS. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>. Acesso em: 06 jan. 2026.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Breast cancer**. Geneva: WHO, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>. Acesso em: 06 jan. 2026.
7. ROSATO, V. *et al.* Reproductive and hormonal factors, family history, and breast cancer according to the hormonal receptor status. **European Journal of Cancer Prevention** Prev. 2014; 23: 412-417.
8. ENDOGENOUS HORMONES AND BREAST CANCER COLLABORATIVE GROUP. Sex hormones and risk of breast cancer in premenopausal women: a collaborative reanalysis of individual participant data from seven prospective studies. **The Lancet Oncology** v. 14, n. 10, p. 1009-1019, 2013.
9. WASHBROOK, E. Risk factors and epidemiology of breast cancer. **Women's Health Medicine**, v. 3, n. 1, p. 8-14, 2006.
10. BERAL, V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. **The Lancet**, v. 362, n. 9382, p. 419-427, 2003.
11. HAMAJIMA, N. *et al.* Alcohol, tobacco and breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515

- women with breast cancer and 95,067 women without the disease. **British Journal of Cancer**, v. 87, n. 11, p. 1234-1245, 2002.
12. JUNG, S. *et al.* Alcohol consumption and breast cancer risk by estrogen receptor status: in a pooled analysis of 20 studies. **International Journal of Epidemiology**, v. 45, n. 3, p. 916-928, 2016.
 13. MAKAREM, N. *et al.* Dietary fat in breast cancer survival. **Annual Review of Nutrition**, v. 33, p. 319-348, 2013.
 14. COELHO, A. S. *et al.* Predisposição hereditária ao câncer de mama e sua relação com os genes BRCA1 e BRCA2: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 1, p. 17-21, 2018.
 15. TAO, Z. *et al.* Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 72, n. 2, p. 333–338, 2014.
 16. ORRANTIA-BORUNDA, E. *et al.* Subtypes of Breast Cancer. In: MAYROVITZ, H. N. (ed.). **Breast Cancer**. Brisbane: Exon Publications, 2022. cap. 3.
 17. HIGGINS, M. J.; STEARNS, V. Understanding Resistance to Tamoxifen in Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. **Clinical Chemistry**, v. 55, n. 8, p. 1453–1455, 2009.
 18. MATRO, J. M. *et al.* Inflammatory Breast Cancer Management in the National Comprehensive Cancer Network: The Disease, Recurrence Pattern, and Outcome. **Clinical Breast Cancer**, v. 15, n. 1, p. 1–7, 2015.
 19. INIC, Z. *et al.* Difference between luminal A and luminal B subtypes according to Ki-67, tumor size, and progesterone receptor negativity providing prognostic information. **Clinical Medicine Insights: Oncology**, v. 8, p. 107-111, 2014.
 20. LAFICI, O. *et al.* DCE-MRI Radiomics Analysis in Differentiating Luminal A and Luminal B Breast Cancer Molecular Subtypes. **Academic Radiology**, v. 30, n. 2, p. 231-239, 2022.
 21. USMAN, A. The Survival of Patients with Triple Negative Breast Cancer with Chemotherapy Along with Lifestyle Change Interventions in Survivors. **Archives of Cancer Research**, v. 10, n. 1, 2022
 22. PARK, S. *et al.* Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. **The Breast**, v. 21, n. 1, p. 50–57, 2012.
 23. KRISHNAMURTI, U.; SILVERMAN, J. F. HER2 in breast cancer: a review and update. **Advances in Anatomic Pathology**, v. 21, n. 2, p. 100–107, 2014.

24. FIGUEROA-MAGALHÃES, M. C. *et al.* Treatment of HER2-positive breast cancer. **The Breast**, v. 23, n. 2, p. 128–136, 2014.
25. PULIDO, C. *et al.* Bone metastasis risk factors in breast cancer. **Ecancermedicalscience**, v. 11, art. 715, 2017.
26. GRASSINI, D. *et al.* Unusual Patterns of HER2 Expression in Breast Cancer: Insights and Perspectives. **Pathobiology**, v. 89, p. 278–290, 2022.
27. KUMAR, P.; AGGARWAL, R. An overview of triple-negative breast cancer. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 293, n. 2, p. 247–269, 2016.
28. LOIBL, S.; GIANNI, L. HER2-positive breast cancer. **The Lancet**, v. 389, n. 10087, p. 2415–2429, 2017.
29. SIMÃO, F. **O custo do tratamento do câncer de mama por paciente no SUS.** Observatório de Oncologia, 3 jun. 2024. Disponível em: <https://observatoriodeoncologia.com.br/estudos/tratamento-em-oncologia/2024/o-custo-do-tratamento-do-cancer-de-mama-por-paciente-no-sus/>. Acesso em: 28 nov. 2025.
30. PICCART-GEBHART, M. J. *et al.* Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. **N. Engl. J. Med.**, v. 353, p. 1659–1672, 2005.
31. WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast Cancer Treatment: a review. **JAMA**, Chicago, v. 321, n. 3, p. 288-300, jan. 2019.
32. DA SILVA, J. L.; THULER, L. C. S.; DE MELO, A. C. Breast cancer patterns by age groups in Brazil: insights from population-based registries data. **BMC Cancer**, v. 25, n. 1, art. 18, 2025. DOI: 10.1186/s12885-024-13381-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12885-024-13381-5>. Acesso em: 06 jan. 2026.
33. EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. **The Lancet**, London, v. 365, n. 9472, p. 1687-1717, 2005
34. GHOSH, S. Cisplatin: the first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, art. 102925, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.102925. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>. Acesso em: 06 jan. 2026.

35. TRIMMER, E. E.; ESSIGMANN, J. M. Cisplatin. **Essays in Biochemistry**, London, v. 34, p. 191-211, 1999. DOI: 10.1042/bse0340191. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bse0340191>. Acesso em: 06 jan. 2026.
36. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Cisplatin injection**: prescribing information. Silver Spring: FDA, 2015. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/018057s083lbl.pdf. Acesso em: 15 out. 2018.
37. ALDERDEN, R. A.; HALL, M. D.; HAMBLEY, T. W. The discovery and development of cisplatin. **Journal of Chemical Education**, v. 83, n. 5, p. 728-734, 2006.
38. IVANOV, A. I. *et al.* Cisplatin binding sites on human albumin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 24, p. 14721–14730, 1998.
39. DASARI, S.; TCHOUNWOU, P. B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**, v. 740, p. 364-378, 2014.
40. FUERTES, M. A. *et al.* Novel concepts in the development of platinum antitumor drugs. **Current Medicinal Chemistry: Anticancer Agents**, v. 2, n. 4, p. 539–551, 2002.
41. FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. *et al.* Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) with DNA: formation, identification, and quantitation. **Biochemistry**, v. 24, n. 3, p. 707–713, 1985.
42. KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 8, p. 573–584, 2007.
43. LIPPARD, S. J.; BAIK, M.-H.; FRIESNER, R. A. Theoretical study of cisplatin binding to purine bases: why does cisplatin prefer guanine over adenine? **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 46, p. 14082–14092, 2003.
44. RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. Molecular mechanism of resistance and toxicity associated with platinating agents. **Cancer Treatment Reviews**, v. 33, n. 1, p. 9–23, 2007.
45. WOŹNIAK, K.; BŁASIAK, J. Recognition and repair of DNA-cisplatin adducts. **Acta Biochimica Polonica**, v. 49, n. 3, p. 583–596, 2002

46. NATH, S.; DATTA, A.; DAS, A.; ADHIKARI, S. Metal-Based Drugs in Cancer Therapy. **International Journal of Experimental Research and Review**, v. 37, n. Spl, p. 159-173, 2024.
47. JAHROMI, E. Z. *et al.* Palladium complexes: new candidates for anti-cancer drugs. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 13, n. 5, p. 967-989, 2016.
48. FELIX, R. J.; MUNRO-LEIGHTON, C.; GAGNÉ, M. R. Electrophilic Pt(II) complexes: precision instruments for the initiation of transformations mediated by the cation-olefin reaction. **Accounts of Chemical Research**, v. 47, n. 8, p. 2319-2331, 2014.
49. 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, n. 9-10, p. 1384-1397, 2009.
50. GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. The Use of Palladium Complexes in Medicine. In: GIELEN, M.; TIEKINK, E. R. T. (ed.). **Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2005. cap. 21, p. 399-419.
51. ATKINS, P. *et al.* **Shriver & Atkins' inorganic chemistry**. 5. ed. Oxford: Oxford University Press, 2009.
52. MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Química Inorgânica**. 5. ed. São Paulo: Pearson Education, 2014.
53. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Tookad**: EPAR - Summary for the public. [S.l.]: European Medicines Agency, 2022. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/tookad>. Acesso em: 6 nov. 2025.
54. JONES, C. J.; THORNBACK, J. R. **Medicinal Applications of Coordination Chemistry**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2007.
55. HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**. 4. ed. New York: HarperCollins College Publishers, 1993.

56. EDWARDS, B. K. *et al.* Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2002, featuring population-based trends in cancer treatment. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 19, p. 1407-1427, 2005.
57. CAIRES, A. C. F.; MAURO, A. E. Compostos ciclometalados de coordenação intramolecular. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 59-69, 1996.
58. CAIRES, A. C. F. Recent advances in the medicinal chemistry of cyclopalladated complexes. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 5, p. 484-511, 2007.
59. CAIRES, A. C. F. *et al.* Síntese e atividade citotóxica de alguns azido-ciclopalladados estabilizados com ligantes bifosfínicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 329-334, 1999.
60. CUTILLAS, N. *et al.* Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals: a review. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 19-20, p. 2784-2797, 2013.
61. OMAE, I. Three characteristic reactions of organometallic intramolecular-coordination five-membered ring compounds. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 751, p. 301-328, 2014.
62. CORTEZ-MAYA, S. *et al.* Anticancer activity and anti-inflammatory studies of 5-aryl-1,4-benzodiazepine derivatives. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 6, p. 619-626, 2012.
63. ICSEL, C. *et al.* Trans-Pd/Pt(II) saccharinate complexes with a phosphine ligand: synthesis, cytotoxicity and structure-activity relationship. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 30, n. 9, art. 127077, 2020.
64. RODRIGUES, E. G. *et al.* In vitro and in vivo antitumor effect of a binuclear palladium(II) complex on murine melanoma. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 36, n. 10, p. 1375-1383, 2003.
65. BINCOLETTTO, C. *et al.* Chiral cyclopalladated complexes derived from N,N-dimethyl-1-phenethylamine with bridging bis(diphenylphosphine)ferrocene ligand as inhibitors of the cathepsin B activity and as antitumoral agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 3047-3055, 2005.
66. MORAES, D. S. *et al.* Evaluation of the toxicity and antitumoral activity of a new cyclopalladated complex against melanoma skin cancer cells. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 81, n. 3, p. 346-355, 2013.

67. BECHARA, A. *et al.* Palladacycle (BPC) antitumour activity against resistant and metastatic cell lines: The relationship with cytosolic calcium mobilisation and cathepsin B activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 79, p. 24-33, 2014.
68. COUTO, G. K. *et al.* The melding of drug screening platforms for melanoma. **Frontiers in Oncology**, v. 9, art. 512, 2019.
69. JIA, W.-G. *et al.* Synthesis and characterization of enantiomerically pure ferrocene-based palladacycles: application in aza-Claisen rearrangement of allylic imidates. **Organometallics**, v. 29, n. 1, p. 195-203, 2010.
70. ALBERT, J. *et al.* Cyclopalladation of Schiff bases from methyl esters of α -amino acids: unexpected activation of the O-Me bond with formation of a bianionic tridentate metallacycle. **Organometallics**, v. 29, n. 1, p. 214-225, 2010.
71. HERRMANN, W. A.; REISINGER, C.-P.; SPIEGLER, M. Chelated N-heterocyclic carbene complexes of palladium(II). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 37, n. 12, p. 1634-1637, 1998.
72. RYABOV, A. D. Mechanisms of intramolecular activation of C-H bonds in transition-metal complexes. **Accounts of Chemical Research**, v. 26, n. 7, p. 361-367, 1993.
73. KUNZ, H.; RÜCK, K. Glycosylamines in synthesis: stereoselective synthesis of amino acids. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 30, n. 7, p. 931-1040, 1991.
74. ABEDANZADEH, S. *et al.* Synthesis, characterization, DNA/BSA binding and cytotoxicity of new palladium(II) complexes with amino acid moieties. **Journal of Molecular Structure**, v. 1204, art. 127529, 2020.
75. JAKOVLJEVIC, S. *et al.* DNA/BSA binding affinity and cytotoxicity of dinuclear palladium (II) complexes with amino acids as ligands. **Molecules**, v. 30, n. 7, art. 1534, 2025.
76. VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I. Ortho-palladation of phenethylamine derivatives: synthesis of new chiral palladacycles and their reactivity toward isocyanides. **Organometallics**, v. 28, n. 6, p. 1754–1761, 2009.
77. VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; BAUTISTA, D. Regiospecific functionalization of pharmaceuticals and other biologically active molecules through cyclopalladated compounds. 2-iodination of phentermine and L-tryptophan methyl ester. **Organometallics**, v. 24, n. 24, p. 6001–6004, 2005.

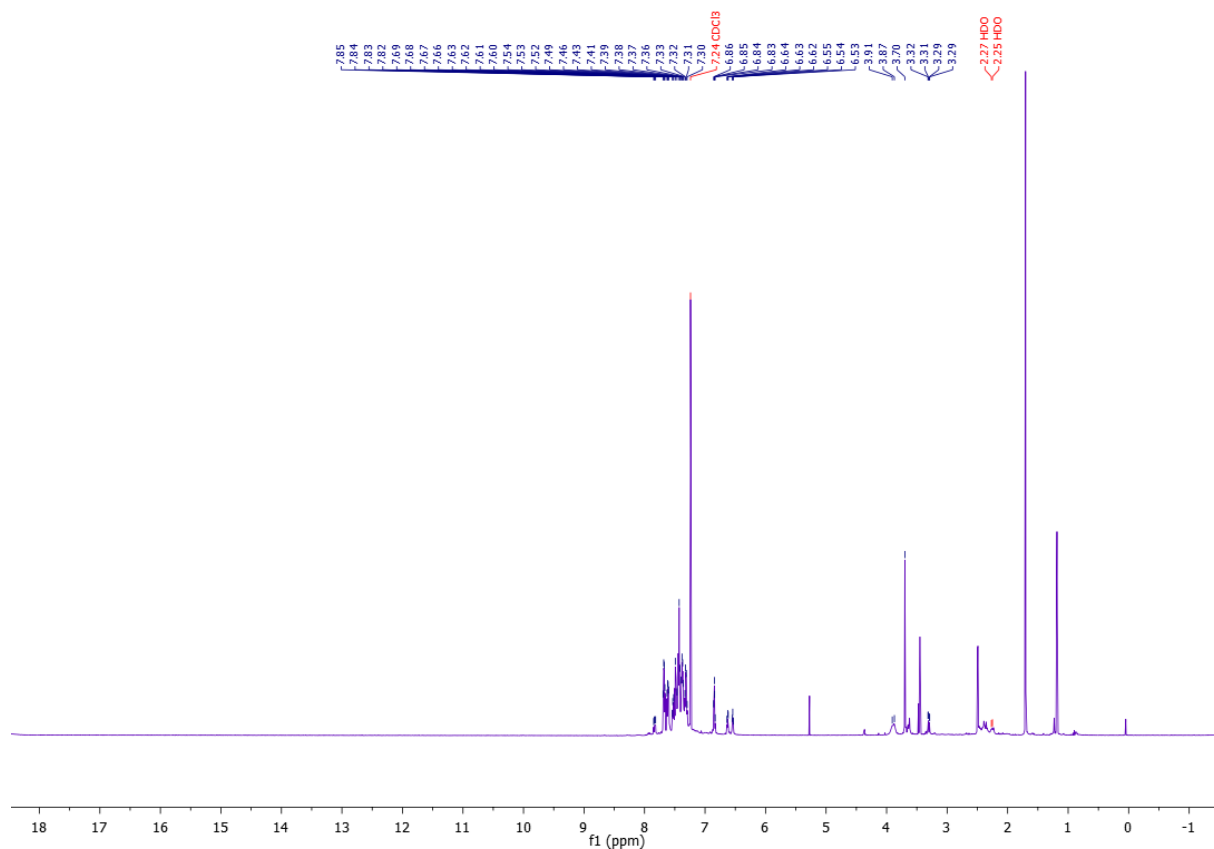
78. VICENTE, J. *et al.* A new method for high-yield cyclopalladation of primary and secondary amines: atom-efficient open-to-air inexpensive synthesis of Buchwald-type precatalysts. **Organometallics**, v. 30, n. 17, p. 4624–4631, 2011.
79. ALBERT, J. *et al.* Cyclopalladated complexes derived from Schiff base esters of α -amino acids. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 663, n. 1-2, p. 98-107, 2002.
80. SPENCER, J. *et al.* Cyclopalladated complexes derived from N,N-dimethylbenzylamine containing mono- and bidentate phosphine ligands: cathepsin B inhibition and cytotoxicity. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 694, n. 4, p. 540-545, 2009.
81. FEITOZA, Bárbara Regina Santos. **Ortopaladação da L-fenilalanina-metil-éster**: síntese, caracterização, reatividade e estudos biológicos. 2023. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2023.
82. PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 5ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2016.
83. DUNCAN, M.; GALLAGHER, M. J. The ^1H , ^{13}C and ^{31}P NMR Spectra of E/Z Pairs of some Phosphorus Substituted Alkenes. **Organic Magnetic Resonance**, v. 15, n. 1, p. 37–42, 1981.
84. SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.
85. VILA, J. M. *et al.* Cyclometallated complexes of palladium(II) and manganese(I) with N-benzylidene-2,6-diisopropylaniline. **Polyhedron**, v. 9, n. 22, p. 2741-2746, 1990.
86. GRIM, S. O.; BRIGGS, W. L.; BARTH, R. C.; TOLMAN, C. A.; JESSON, J. P. Unsymmetrical bis-phosphorus ligands. IV. Group VI metal carbonyl derivatives of diphenylphosphinomethyl and diphenylphosphinoethyl phosphinites, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{P}(\text{CH}_2)\text{OP}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$, $n = 1$ or 2 , and an unusual phosphorus chemical shift chelate effect. **Inorganic Chemistry**, v. 13, n. 5, p. 1095-1100, 1974.

87. GARROU, P. E. Δ -ring contributions to phosphorus-31 NMR parameters of transition-metal-phosphorus chelate complexes. **Chemical Reviews**, v. 81, n. 3, p. 229-266, 1981.
88. BROADWOOD-STRONG, G. T. L.; CHALONER, P. A.; HITCHCOCK, P. B. Mixed biphosphine complexes of palladium (0); the structure of "bis(diphenylphosphino)ethane"- "bis(dicyclohexylphosphino)ethane" palladium(0). **Polyhedron**, v. 12, n. 7, p. 721-729, 1993.
89. PREGOSIN, P. S.; KUNZ, R. W. ^{31}P and ^{13}C NMR of Transition Metal Phosphine Complexes. In: DIEHL, P.; FLUCK, E.; KOSFELD, R. (ed.). **NMR: Basic Principles and Progress**. Berlin: Springer, 1979. v. 16.
90. XU, W. *et al.* Interaction of hesperidin with DNA by spectroscopic methods. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 51, n. 6, p. 1259-1266, 2004.
91. GONÇALVES, J. C. R.; SOBRAL, M. V. (org.). **Cultivo de células**: da teoria à bancada. João Pessoa: Editora UFPB, 2020. E-book.
92. REHMAN, S. U.; SARWAR, M.; HUSAIN, M. A.; ISHQI, H. M.; KABIR, M. Studying non-covalent drug-DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 576, p. 49-60, 2015.
93. BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20150119>. Acesso em: 06 jan. 2026.
94. ALARCÓN, L. P. *et al.* Carrier in carrier: catanionic vesicles based on amphiphilic cyclodextrins complexed with DNA as nanocarriers of doxorubicin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 360, art. 119488, 2022.
95. BUCEVIČIUS, J.; LUKINAVIČIUS, G.; GERASIMAITĖ, R. The use of Hoechst dyes for DNA staining and beyond. **Chemosensors**, v. 6, n. 2, art. 18, 2018.
96. SUN, C. *et al.* Label-free fluorescent sensor based on aptamer and thiazole orange for the detection of tetracycline. **Dyes and Pigments**, v. 149, p. 867-875, 2018.
97. SUSS, O.; MOTIEI, L.; MARGULIES, D. Broad applications of thiazole orange in fluorescent sensing of biomolecules and ions. **Molecules**, v. 26, n. 9, art. 2828, 2021.

98. FULDA, S.; GALLUZZI, L.; KROEMER, G. Targeting mitochondria for cancer therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 6, p. 447-464, 2010

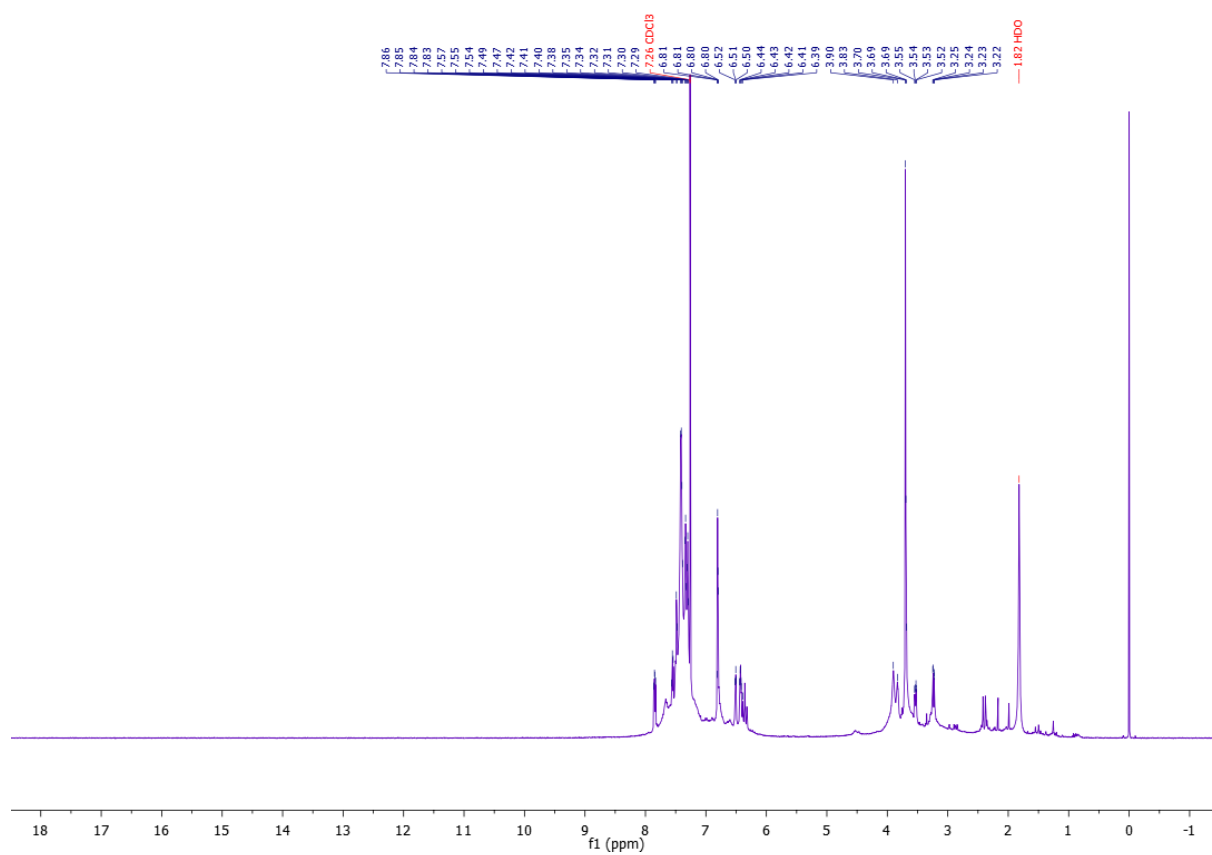
ANEXO

Figura a1: Espectro de RMN ^1H para o Solido 4 em $\text{CHCl}_3\text{-d}$.



Fonte: Autor.

Figura a2: Espectro de RMN ^1H para o Solido 3 em $\text{CHCl}_3\text{-d}$.



Fonte: Autor