



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
CAMPUS DE ARARAQUARA



RODRIGO ALVES DE SOUZA

Potencialidades biológicas e aspectos estruturais de compostos contendo paládio(II) e isonicotinamida

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

Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro

Co-orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

ARARAQUARA-SP
2008

FICHA CATALOGRÁFICA

S729p	Souza, Rodrigo Alves de Potencialidades biológicas e aspectos estruturais de compostos contendo paládio(II) e isonicotinamida / Rodrigo Alves de Souza. - Araraquara: [s.n], 2008 75 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Antonio Eduardo Mauro Co-orientador : Adelino Vieira de Godoy Netto 1. Química inorgânica. 2. Complexos de paládio. 3. Antitumorais. 4. Atividade antituberculose. I. Título.
-------	--

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DADOS CURRICULARES

Rodrigo Alves de Souza

29 anos, solteiro

Nascido e residente em Araraquara-SP

e-mail: rodrigoalves@iq.unesp.br

Link currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6571262888707098>

FORMAÇÃO ACADÊMICA

03/2007 – 08/2008 Mestrado em Química (Inorgânica)
UNESP, Instituto de Química de Araraquara

03/2000 – 01/2005 Graduação em Química (Licenciatura)
UNESP, Instituto de Química de Araraquara

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

1. Frente organizada para a temática étnica – ONG FONTE
03/2005 – 12/2006 Professor de Física e Química em curso pré-vestibular.
2. Rede pública de ensino do estado de São Paulo
03/2004 – 06/2004 Professor eventual de Ciências, Física e Química.
07/2004 – 02/2006 Professor de Física e Química em escolas da Rede e antiga FEBEM.
3. Assentamento rural Monte Alegre. Projeto da prefeitura de Araraquara
03/2004 – 12/2004 Professor de Química em curso pré-vestibular.

ATIVIDADES ACADÊMICAS – UNESP, INSTITUTO DE QUÍMICA

03/2000 – 09/2000 Química Júnior Projetos & Consultorias
Trainee em marketing

04/2000 – 12/2001 Centro de Ciências de Araraquara
Estágio, extensão universitária

03/2002 – 08/2003 Departamento de Físico-Química
Iniciação científica. Orientador: Prof. Dr. Miguel Jafelicci Júnior

06/2001 – 03/2003 Membro da Comissão Interna de Conservação de Energia
Representante discente - Titular

08/2001 Extensão Universitária
Dia de alerta sobre o uso excessivo de álcool

10/2001 – 03/2003 Membro da Comissão Interna de Uso Racional de Água Potável
Representante discente - Titular

07/2002 Extensão Universitária
V FEP - Feira de Profissões da UNESP

- 08/2002 – 10/2002** Extensão Universitária
Monitoria no "Programa de Visitas à Universidade"
- 09/2002 – 09/2003** Membro da Comissão de Biblioteca
Representante discente - Suplente
- 09/2002 – 09/2003** Membro do Conselho do Departamento de Físico-Química
Representante discente - Titular
- 10/2002** Extensão Universitária
Dia de alerta sobre o uso excessivo de álcool
- 07/2003** Extensão Universitária
VI FEP - Feira de Profissões da UNESP
- 09/2003 – 02/2004** Cuca/ Prefeitura de Araraquara
Professor de Química
- 11/2003 – 11/2004** Membro do Diretório Acadêmico "Professor Waldemar Saffioti"
Coordenador do departamento de representação discente
- 11/2003 – 09/2004** Membro do Conselho de Curso de Graduação
Representante discente – Titular
- 03/2004 – 12/2004** Monitoria
Monitor nas disciplinas de Química Inorgânica Estrutural e Química Inorgânica I

PRÊMIAÇÃO

- 2003** **Menção Honrosa** no 11º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP.
Obtenção de nanopartículas de hematita via decomposição térmica de oleato férrico.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1. TREU-FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; SOUZA, R. A. de.; KONDO, R. T.; FERREIRA, R. D. P.; FIGUEIREDO, A. F.; MAURO, A. E. Molecular structures and vibrational frequencies for *cis*-[PdCl₂(tmen)] and *cis*-[Pd(N₃)₂(tmen)]: A DFT study. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 10, p. 1501-1504, 2007.
2. TREU FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; COSTA, E. B. da.; FERREIRA, J. E. V.; FIGUEIREDO, A. F.; KONDO, R. T.; LUCCA NETO, V. A.; SOUZA, R. A. de.; LEGENDRE, A. O.; MAURO, A. E. Experimental and theoretical study of the compound [Pd(dmba)(NCO)(imz)]. **Journal of Molecular Structure**, v. 829, p. 195-201, 2007.
3. TREU FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; COSTA, E. B. da.; KONDO, R. T.; SOUZA, R. A. de.; NOGUEIRA, V. M.; MAURO, A. E. Theoretical and experimental study of the infrared spectrum of isonicotinamide. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 763, p. 175-179, 2006.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumos)

1. MORO, A. C.; STEVANATO, A.; SOUZA, R. A. de.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.; ANANIAS, S. R.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. Complexos de paládio(II) e suas potenciais aplicações no tratamento da tuberculose. In: 31ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2008.
2. SOUZA, R. A. de.; MAURO, A. E.; TAKAHASHI, P. M.; TREU-FILHO, O.; GODOY NETTO, A. V.; MATOS, J. R. Preparação de complexos de paládio(II) e isonicotinamida com possíveis aplicações biológicas. In: 30ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2007.

3. FRANCISCO JÚNIOR, W. E.; DOCHI, R. S.; SOUZA, R. A. de. Condutividade elétrica: uma prática interdisciplinar entre Química e Física. In: XII ENEQ, III ECOQ, XIII ECODEQ, V Semana do Químico, Goiânia, 2004.
4. INFORZATO, T.; OLIVEIRA, J. K.; SOUZA, R. A. de.; MELO, L. P. Demonstrações experimentais como ação motivadora para os alunos do ensino médio. In: XVI Congresso de iniciação científica da UNESP, Ilha Solteira, 2004.
5. SOUZA, R. A. de.; OLIVEIRA, J. K.; INFORZATO, T.; MELO, L. P. Pesquisa e ensino na escola pública: parcerias possíveis e desejadas com a Universidade. In: XVI Congresso de iniciação científica da UNESP, Ilha Solteira, 2004.
6. SOUZA, R. A. de.; FRANCISCO JÚNIOR, W. E.; DOCHI, R. S. Uma alternativa na abordagem temática das aulas tradicionais de Química e Física para cursos pré-vestibulares. In: Evento de Educação em Química - EVEQ, Araraquara, 2004.
7. FRANCISCO JÚNIOR, W. E.; DOCHI, R. S.; SOUZA, R. A. de. Uma estratégia alternativa para as aulas de Química e Física em cursinhos populares. In: Congresso Brasileiro de Química, Fortaleza, 2004.
8. SOUZA, R. A. de.; VARANDA, L. C.; JAFELICCI JÚNIOR, M. Obtenção de nanopartículas de hematita via decomposição térmica de oleato férrico. In: 11º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, São Carlos, 2003.
9. SOUZA, R. A. de.; VARANDA, L. C.; JAFELICCI JÚNIOR, M. Obtenção de partículas nanométricas de hematita via decomposição térmica de ácido oleico funcionalizado. In: XV Congresso de Iniciação Científica de UNESP, Marília, 2003.
10. RUIZ, M.; MARCHETTI, C. N.; PEREZ, C. C.; HIRAMATSU, C. Y.; ALVES, E. C.; GASPARETO, L.; SOUZA, R. A. de. Reformulação da exposição do Museu de Minerais e Rochas do Instituto de Química de Araraquara. In: Segundo Congresso de Extensão Universitária da UNESP, Bauru, 2002.
11. SOUZA, R. A. de.; OLIVEIRA, L. A. A. A divulgação científica e tecnológica e o Centro de Ciências de Araraquara (CCA). In: VI Congresso Ibero-Americano de extensão universitária, Embu, 2001.

ORGANIZAÇÃO DE EVENTO

XXXIV Semana da Química: Recursos naturais e energia, 2004.

BANCA

Participação em banca de trabalho de conclusão de curso de graduação de

Camila Silveira da Silva

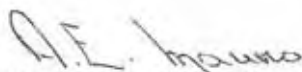
Análise da formação inicial de professores: reflexões, expectativas e resistências dos licenciados em química do IQAr-UNESP, (Licenciatura em Química) Instituto de Química de Araraquara-UNESP, 2006.

RODRIGO ALVES DE SOUZA

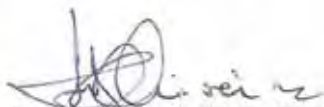
Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química.

Araraquara, 15 de agosto de 2008.

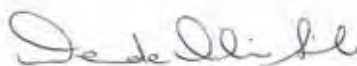
BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Luiz Antônio Andrade de Oliveira
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Denise de Oliveira Silva
Instituto de Química – USP, São Paulo

A conclusão deste Mestrado não se traduz apenas no trabalho individual daquele que esboça estas palavras e, muito menos, na orientação e no respaldo institucional. Antes de tudo isso, afirmo que a motivação foi precursora do resultado apresentado nesta dissertação.

Essa motivação se iniciou em meados de 2003, pela frustração científica adquirida numa iniciação científica pouco orientada, desgastante, árdua e, concomitantemente, devido à paixão crescente pela Química Inorgânica.

Lidervan, Antonio Carlos Moro e Picachu (Fábio Watanabe), na época amigos de sala e alunos de iniciação do grupo de Química de Coordenação e Organometálicos, resumiram as atividades realizadas de forma que despertou meu interesse em compor esse grupo.

Minha satisfação pessoal se fortaleceu em 2004, último ano de graduação, com minha carreira docente se afirmando e me apaixonando. Contudo, senti uma lacuna pelo não envolvimento científico nos laboratórios. Foi então que Oswaldo Treu Filho, que conheci nos tempos da tortuosa iniciação científica relatada, aconselhou-me a procurar o grupo de Organometálicos, no qual recentemente também iniciava uma nova etapa de seus projetos. A “porta de entrada” foi o doutorando Congo, hoje Prof. Dr. Anderson Martinez Santana, que em apenas um diálogo convenceu-me de fazer parte da equipe. Na recepção, o Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro mostrou-me o quão sábio, elegante e educado é, e não me deixou dúvidas em fazer parte do grupo.

Boa parte de 2004 valeu-me pelo contato inicial com a nova área, com leituras e perspectivas. No ano seguinte, minha ausência foi quase total, devido ao exclusivo exercício docente. Fora do perímetro universitário tive outras vivências importantes, boas, e inúmeras experiências que frutificaram muitas idéias. Algumas delas, desenvolvidas em conjunto com Oswaldo Treu Filho, resultaram em artigos científicos. Destes momentos, ainda recordo-me do incentivo de Sueli Máximo, Carina, Zilma, Eurides, Ana Cláudia, Alessandro Eleutério e Alessandro Gianini, colegas professores e grandes amigos.

O ano de 2006 marcou meu ingresso na Pós-Graduação. O retorno ao mundo acadêmico em detrimento das aulas fervilhou conflitos em minha mente, e uma seqüência de problemas pessoais corroboraram momentos negativamente marcantes. Em conjunto, senti-me prejudicado por um docente (e não fui o único) sem postura ética e detentor de outras condutas didáticas inadequadas, que se coloca como Doutor para desrespeitar pessoas e desconstruir a sensatez acadêmica. O mesmo, incapaz de receber críticas, sabe apenas impor arbitrariamente suas vontades.

Diante das adversidades pessoais e do insucesso tido com (ou promovido por) esse professor, centrei-me e readaptei-me ao meio acadêmico. Desprezei essa fase e reingressei em 2007 no Mestrado, com outras motivações, auto-cobrança, e com a constante sensação de ter que provar algo, para superar a imagem marcada no ano anterior.

A única pessoa que certamente compreendeu esses momentos e pôde cooperar com a minha reerguida foi Camila Molena. Namorada, amiga e companheira (até nos momentos ruins), além de

parceira nas melhores fases ou nas mais decisivas, dentro da universidade e na vida. A ela, o agradecimento ultrapassa muito o termo especial.

Agradeço também aos familiares pela compreensão (não da Química, mas da minha pessoa pouco presente durante esse tempo), em especial minha prima e quase irmã Carina A. da Silva Darcoletto e seu namorado Marcelo Martins. Aos amigos de fora: Alex, Areta e Rafael, Everson, Josiane, Lilão, Pérsia, Robson e Tiago; os mencionados colegas professores e outros não listados, como os professores e membros da ONG FONTE, pelos agradáveis momentos de trabalho conjunto, lazer ou pela confiança depositada.

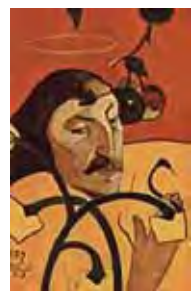
Agradeço aos colegas e amigos do Instituto de Química e da UNESP Araraquara, em geral, da época do DAWS (2003-2004), pelo convívio e elevado aprendizado no movimento estudantil; e amigos e colegas anteriores ou posteriores ao momento DAWS, dentre eles: André (Mormaço), Aroldo, Babú, Camila Higa e Kitassato, Camila Nogueira e Piruca, Carenina e Graziela, Caracol, Carla, Cebinho e turma Curva de Rio, Douglas, Edson (Araketu), Fernando Bandeli, Hernane, Isabelão, Isabele, Jataí, Jú e Quick, Lorenzetti, Maria Carla, Marcos (da Paraíba), Marcos Matine, Maruyama e Camilinha, Massaro, Mateus Fernandes, Matheus (DAWS), Putz, Ricardo Galdino, Selminha, Tatiane Inforzato, Tonholi e toda a galera Atecubanos, Vanessa, Vegner e Lucina, Vítor e Eduardo Pena, Wilmo e Zé Tiago.

Aos funcionários do IQ, pelos serviços prestados: Irene (IV), Nivaldo e Silvia (RMN), Ricardo (DRX), Angélica, Cristina, Kátia e Valéria (biblioteca), Gaspar (painéis), Ricardo (portaria).

Ao Márcio Belvedere, pelo auxílio na tradução do resumo; ao Dr. Pedro Takahashi (Kitassato) e Prof. Jivaldo, pelas medidas TG/DSC; Prof. Eduardo Castellano, pela determinação estrutural do monocristal; Fernando Pavan e Profa. Queico, testes antituberculose; Profa. Iracilda, pela receptividade e permissão na execução dos testes antiproliferativos e imunológicos, e ao seu grupo de Imunologia Clínica, pela convivência, muito trabalho e aprendizado; professores Stanlei e Marisa (banca de qualificação), pelas sugestões; aos membros da banca de defesa, professores Denise de Oliveira (IQ-USP São Paulo) e Luiz Antonio (IQ-UNESP Araraquara), pelas importantes correções e sugestões. Ao professor Luiz, em especial, por ser meu primeiro orientador durante a graduação (Centro de Ciências) e por ter me transmitido muitos ensinamentos, já que é um exemplo positivo de postura e dedicação docente, e possui um profundo conhecimento científico e cultural. E também aos amigos e colegas de laboratório: Adriana, Adriano, Alessandra, Alexandre, Ana Carolina, Antonio, Carol Barra e Filipe, Cristiana, Douglas (Mineiro), Francisco, Gislaine, João, Juliana, Katinha, Kita, Patrícia e Rafael, pelo apoio prestado, companheirismo ou bons risos. Ao Prof. Adelino, pela co-orientação e grande ajuda, e ao Prof. Mauro, pelo respeito, pela orientação presente, sábia e eficaz.

Para finalizar, agradeço, é claro, aos órgãos de fomento CNPq e CAPES, pelas bolsas concedidas.

"Quando a tua mão direita estiver hábil,
pinta com a esquerda; quando a esquerda
ficar hábil, pinta com os pés."



Eugène-Henri-Paul Gauguin

(1848-1903)

RESUMO

O presente trabalho trata da síntese, caracterização estrutural e aplicações biológicas de quatro complexos de paládio(II), de fórmula *trans*-[PdX₂(isn)₂], X = Cl (**1**), N₃ (**2**), SCN (**3**) e NCO (**4**), isn= isonicotinamida. Os compostos foram preparados em mistura de CHCl₃/ CH₃OH (1:1), partindo-se do precursor [PdCl₂(CH₃CN)₂] que reagiu com a isn e sais de pseudo-haletos: NaN₃, KNCO e NaSCN. A caracterização destes complexos, no estado sólido, se deu pelas técnicas de análise elementar, espectroscopia de absorção no infravermelho, análise térmica e difração de raios X de monocristal do composto **2**, possibilitando sugerir estruturas monoméricas, com a isn coordenada ao Pd pelo nitrogênio piridínico. Cloro e os pseudo-haletos acham-se coordenados de modo terminal, via nitrogênio em **2** e em **4** e pelo átomo de enxofre em **3**. As curvas TG substanciaram as propostas estequiométricas e permitiram estabelecer, com base na temperatura inicial de decomposição, a seguinte ordem de estabilidade térmica para esta série: *trans*-[PdCl₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]. A estrutura do complexo **2** foi resolvida por difração de raios X de monocristal, e apresenta uma geometria quadrado-planar ao redor do Pd e estereoquímica *trans*. Nota-se ainda, que a estrutura se estende por ligações intermoleculares de hidrogênios, formando arranjos supramoleculares bidimensionais via N–H···O e arranjos tridimensionais, decorrentes de interações C–H···N_{azida}. Os dados de RMN em solução confirmam a formação dos complexos, constatando-se, além disso, a presença de outras espécies químicas em solução. A ação antiproliferativa dos compostos contra células tumorais de mama, LM3, e pulmão, LP07, foi investigada. A atividade da isn foi desprezível e os valores de IC₅₀ dos complexos foram maiores que os apresentados pela cisplatina. No entanto, os complexos demonstraram-se mais seletivos que a mesma quando testados em macrófagos peritoneais, com destaque aos complexos **2** e **4**, mais eficazes que a cisplatina, principalmente contra células tumorais pulmonares. Todos estes compostos foram avaliados também frente à inibição do crescimento de bactérias causadoras da tuberculose. Verificou-se que o ligante isn livre é pouco eficaz contra os bacilos da tuberculose. Já os valores das concentrações dos complexos testados foram menores que os valores da pirazinamida, uma droga empregada no tratamento da doença. Cabe destaque para o complexo *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (**2**), que apresentou-se no mínimo 11 vezes mais potente que a pirazinamida.

Palavras-chave: paládio(II); isonicotinamida; ação antiproliferativa; macrófagos peritoneais; atividade antituberculose.

ABSTRACT

The present work deals with the synthesis, structural characterization and biological applications of four palladium(II) complexes, of formula *trans*-[PdX₂(isn)₂], X = Cl (**1**), N₃ (**2**), SCN (**3**), and NCO (**4**), isn = isonicotinamide. The compounds were prepared in mixture of CHCl₃/ CH₃OH (1:1), from precursor [PdCl₂(CH₃CN)₂] that reacted with isn and pseudohalide salts: NaN₃, KNCO e NaSCN. The characterization of these complexes, in solid state, occurred by techniques of elemental analysis, infrared spectroscopy absorption, thermal analysis, and X-rays diffraction of single crystal of the compound **2**, making possible to suggest monomeric structures containing the isn coordinated to Pd by pyridinic nitrogen. Chlorine and pseudohalides are coordinated of terminal way, by nitrogen in **2** and **4**, and by sulphur atom in **3**. The TG curves substantiated the stoichiometric proposals and made possible to establish, based on initial temperature of decomposition, the following order of thermal stability to this series: *trans*-[PdCl₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]. The structure of the complex **2** was solved by X-rays diffraction of single crystal, and shows a square-planar geometry around Pd and *trans* stereochemistry. It is even noticed that the structure is prolonged to hydrogen intermolecular bonds, forming bidimensional supramolecular arrays by N–H···O and tridimensional arrays, resulting from C–H···N_{azide} interactions. NMR data in solution confirm the formation of the complexes, noticing as well as the presence of other chemical species. It was investigated the antiproliferative action of compounds against breast tumor cells, LM3, and lung tumor cells, LP07. The activity of isn was irrelevant and IC₅₀ values of the complexes were higher than the ones showed by cisplatin. However, the complexes showed to be more selective than cisplatin when tested on peritoneal macrophages, highlighting the complexes **2** and **4**, more efficient than cisplatin, mainly against lung tumor cells. All these compounds were also evaluated to inhibit growth of bacteria that cause tuberculosis. It was verified that the free ligand isn is not very effective against tuberculosis bacillus. The values of concentrations complexes tested were lower than the pyrazinamide values, a drug employed on treatment of the disease. It is appropriate to highlight the complex *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (**2**), which showed to be 11 times more powerful than pyrazinamide.

Key-words: palladium(II); isonicotinamide; antiproliferative action; peritoneal macrophages; antituberculosis activity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação da formação do anel ciclopaladado. $M = \text{Pd}$, $X = \text{haletos}$ e $Y =$ elemento do grupo 15 ou 16 da tabela periódica. 20
- Figura 2.** Polímero de coordenação de Pd(II) que inclui, de forma seletiva, moléculas orgânicas. 20
- Figura 3.** Ilustração estrutural da cisplatina **(a)** e da transplatina **(b)**. 21
- Figura 4.** Exemplos de complexos antitumorais com níquel **(a)**, paládio **(b)**, ouro **(c)**, rutênio **(d)**, bismuto **(e)** e ródio **(f)**. 21
- Figura 5.** Exemplos de complexos *trans* com maior atividade anticancerígena do que a cisplatina. 22
- Figura 6.** Potencialidades biológicas envolvendo complexos de paládio(II): antibacteriana **(a)**, antichagásica **(b)**, antifúngica **(c)**, anti-herpética **(d)** e vermífuga **(e)**. 23
- Figura 7.** Vítimas famosas acometidas pela tuberculose. Frédéric Chopin **(a)**, Franz Kafka **(b)** e Noel Rosa **(c)**. 24
- Figura 8.** Exemplos de compostos envolvendo ligantes piridínicos e suas propriedades: transporte molecular **(a)**, catálise **(b)** e estrutura que apresenta propriedades óticas e magnéticas **(c)**. 25
- Figura 9.** Exemplos de compostos envolvendo ligantes piridínicos e suas propriedades – continuação: sensores vapocrômicos **(a)** e nanotecnologia – nanotubos **(b)**. 26
- Figura 10.** Possibilidades de ligações de hidrogênio envolvendo o ligante isonicotinamida. 27
- Figura 11.** Representação estrutural da isoniazida **(a)**, isonicotinamida **(b)** e da pirazinamida **(c)**. 27
- Figura 12.** Espectro vibracional na região do infravermelho do precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$. 33
- Figura 13.** Espectros no IV do ligante livre e dos complexos sintetizados: isonicotinamida (**isn**), $[\text{PdCl}_2(\text{isn})_2]$ **(1)**, $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$ **(2)**, $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{isn})_2]$ **(3)** e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\text{isn})_2]$ **(4)**. 35

Figura 14. Estrutura ORTEP do complexo 2 , <i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂].	37
Figura 15. Representação supramolecular do complexo 2 ao longo do eixo <i>a</i> (entrando no plano).	39
Figura 16. Representação das interações supramoleculares do tipo C–H···N _{azida} entre moléculas de planos distintos, resultando em espécies $R_2^2(14)$.	40
Figura 17. Curvas TG (a) e DSC (b) dos complexos sintetizados. [PdCl ₂ (isn) ₂] 1 (m _i = 3,23 mg), [Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] 2 (m _i = 1,89 mg), [Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] 3 (m _i = 1,51 mg) e [Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] 4 (m _i = 1,61 mg).	41
Figura 18. DRX do resíduo final da termodecomposição do complexo 1 . Ficha cristalográfica usada como padrão comparativo (a) e (b) DRX obtido.	42
Figura 19. Proposta estrutural para os complexos [PdX ₂ (isn) ₂], X= Cl ⁻ (1), N ₃ ⁻ (2), SCN ⁻ (3) e NCO ⁻ (4).	43
Figura 20. Numeração dos núcleos de ¹ H e ¹³ C{ ¹ H} presentes no ligante isn, empregada para a atribuição dos sinais de RMN.	44
Figura 21. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) da isn livre em DMSO- <i>d</i> ₆ . Deslocamentos químicos, δ, em ppm.	45
Figura 22. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) do complexo [PdCl ₂ (isn) ₂] em DMSO- <i>d</i> ₆ . Deslocamentos químicos, δ, em ppm.	46
Figura 23. Espectros de RMN de ¹ H (a) e ¹³ C{ ¹ H} (b) do complexo [Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] em DMSO- <i>d</i> ₆ . Deslocamentos químicos, δ, em ppm.	47
Figura 24. Espectros de RMN de ¹ H (a) e ¹³ C{ ¹ H} (b) do complexo [Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] em DMSO- <i>d</i> ₆ . Deslocamentos químicos, δ, em ppm.	48
Figura 25. Espectros de RMN de ¹ H (a) e ¹³ C{ ¹ H} (b) do complexo [Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] em DMSO- <i>d</i> ₆ . Deslocamentos químicos, δ, em ppm.	49
Figura 26. Formas canônicas de ressonância de amidas.	51
Figura 27. Equilíbrio entre formas quimicamente não-distinguíveis – permuta intramolecular.	51
Figura 28. Topômeros.	51

- Figura 29.** Preparação das linhagens celulares. Cultivo das células em frascos plásticos e o repique **(a)**. Transferência para tubos cônicos para posterior contagem **(b)**. 53
- Figura 30.** Câmara de Neubauer **(a)** e uma ampliação dos quadrantes (40 x) onde ocorrem as contagens celulares **(b)**. Microfotografia representativa das células (LP07), com ampliação de 320 vezes **(c)** e, em **(d)**, uma ampliação destas células (800 x). 54
- Figura 31.** Células adicionadas em placas de 96 orifícios **(a)**, estufa de incubação das células **(b)** e o equipamento onde ocorreram as leituras para a determinação das atividades dos compostos, frente às linhagens tumorais **(c)**. 55
- Figura 32.** Índices de citotoxicidade para os experimentos envolvendo a linhagem tumoral LM3 **(a)** e LP07 **(b)**, onde **1, 2, 3 e 4** representam os complexos, e a cisplatina foi usada como padrão. 56
- Figura 33.** Índices de citotoxicidade para os experimentos envolvendo o ligante isonicotinamida livre, frente a linhagem LM3 e LP07. 57
- Figura 34.** Extração dos macrófagos dos camundongos. Posição decúbito dorsal **(a)**, para a abertura do peritônio **(b)**. Injeção de PBS **(c)** e massagem **(d)** para a homogeneização deste veículo, e a posterior retirada do exsudado peritoneal **(e)**. Transferência do exsudado para tubos cônicos **(f)**, que, após lavagens e centrifugações **(g)**, foram destinados para a contagem dos macrófagos (em detalhe na microfotografia) **(h)**. 59
- Figura 35.** Índices de citotoxicidade para os experimentos de viabilidade celular de macrófagos, onde **(a)** representa os complexos **1 - 4** e a cisplatina, e em **(b)** representa-se a isonicotinamida livre. 61
- Figura 36.** Relação envolvendo os índices de seletividade (IS) dos compostos com a cisplatina, demonstrando a ação efetiva dos mesmos. 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes e solventes utilizados nas preparações dos compostos.	29
Tabela 2. Atribuição das principais frequências vibracionais presentes no espectro IV do $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$.	33
Tabela 3. Principais frequências vibracionais, em cm^{-1} , observadas nos espectros no IV de pseudo-haletos em complexos.	34
Tabela 4. Atribuição das principais frequências presentes nos espectros IV dos compostos $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, X= Cl (1), N_3 (2), SCN (3) e NCO (4).	36
Tabela 5. Dados cristalográficos e dos refinamentos obtidos para o complexo <i>trans</i> - $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$.	38
Tabela 6. Principais distâncias de ligações (Å) e ângulos (°) do composto <i>trans</i> - $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$.	38
Tabela 7. Interações supramoleculares presentes no complexo <i>trans</i> - $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$.	41
Tabela 8. Dados referentes à análise térmica dos complexos de fórmula $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, X= Cl (1), N_3 (2), SCN (3) e NCO (4).	42
Tabela 9. Atribuição dos deslocamentos químicos, δ (em ppm), presentes na isn livre e nos complexos obtidos.	50
Tabela 10. IC_{50} dos complexos e da isn livre frente às linhagens de células tumorais.	57
Tabela 11. IC_{50} dos compostos frente aos macrófagos peritoneais.	61
Tabela 12. Relação $\text{IC}_{50(\text{macrófago})}$ e $\text{IC}_{50(\text{composto})}$ para a avaliação da seletividade dos mesmos.	62
Tabela 13. CIM dos complexos e da isn livre frente a <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	64

LISTA DE ABREVIATURAS

isn – isonicotinamida;

DMSO- d_6 – Dimetil-sulfóxido deuterado;

MEM – Meio essencial mínimo (mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular);

PBS – Tampão salino fosfato;

MEM-C – Meio essencial mínimo completo;

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

IC₅₀ – Índice de citotoxicidade 50%;

LM3 – Linhagem tumoral de adenocarcionama mamário;

LP07 – Linhagem tumoral de adenocarcionama pulmonar;

CEMIB – Centro multidisciplinar para a investigação biológica;

rpm – Rotação por minuto;

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

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

IS – Índice de seletividade;

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

CIM – Concentração inibitória mínima.

LISTA DE SIMBOLOS

ν_s – estiramento simétrico;

ν_{as} – estiramento assimétrico;

ν – estiramento;

δ – deformação (no infravermelho) e deslocamento químico (no RMN);

δ_{as} – deformação assimétrica;

δ_s – deformação simétrica;

ρ_r – rocking;

Φ – respiração do anel;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVO	28
3 EXPERIMENTAL	29
3.1 Reagentes e solventes	29
3.2 Caracterizações	29
Análise elementar	29
Análise térmica	29
Difração de raios X	30
Difração de raios X de monocristal do complexo 2, <i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂]	30
Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	30
Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	30
Medidas das temperaturas de decomposição	31
3.3 Síntese do composto precursor	31
3.4 Preparação dos complexos de Pd(II) contendo isonicotinamida (isn)	31
Síntese do [PdCl ₂ (isn) ₂] (1)	31
Síntese do [Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (2)	32
Síntese do [Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (3)	32
Síntese do [Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Caracterização do composto precursor	33
4.2 Caracterização dos complexos de Pd(II) contendo isn: [PdX₂(isn)₂], X= Cl, N₃, SCN, NCO	34
Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	34
Difração de raios X de monocristal do complexo <i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂]	37
Análise térmica dos complexos [PdX ₂ (isn) ₂], X= Cl (1), N ₃ (2), SCN (3) e NCO (4)	41
Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} da série <i>trans</i> -[PdX ₂ (isn) ₂], X= Cl (1), N ₃ (2), SCN (3) e NCO (4)	44

5 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS	53
5.1 Linhagens celulares tumorais utilizadas	53
5.2 Determinação da atividade antiproliferativa	54
5.3 Viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos	58
Animais	58
Extração dos macrófagos	58
Determinação dos índices de citotoxicidade para macrófagos	60
5.4 Atividade antituberculose dos complexos	63
 6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	 65
 REFERÊNCIAS	 67

1 INTRODUÇÃO

O paládio pertence ao grupo da platina e possui configuração eletrônica $[\text{Kr}] 4d^8$ nos compostos inorgânicos mais comuns dos quais faz parte. Nestes, seu estado de oxidação formal é +2, assumindo número de coordenação quatro e geometria quadrado-planar na quase totalidade dos casos.

Muitos artigos contemplam o envolvimento desse metal na composição de espécies organometálicas¹ denominadas ciclopaladados. Essas espécies caracterizam-se por apresentar uma ligação Pd–C e uma outra ligação de coordenação envolvendo um átomo doador de elétrons, pertencente ao grupo 15 ou 16 da tabela periódica. O ligante orgânico coordenado ao centro metálico forma, então, um anel quelato², como representado na figura 1.

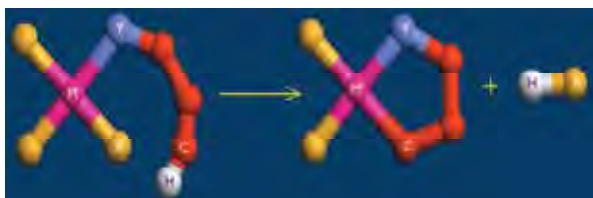


Figura 1. Representação da formação do anel ciclopaladado. M = Pd, X = haleto e Y= elemento do grupo 15 ou 16 da tabela periódica².

As possíveis aplicações dos ciclopaladados incidem, por exemplo, em catálise³, materiais líquido-cristalinos⁴, nanotecnologia⁵ e na área médica⁶.

Outra gama de trabalhos refere-se aos complexos de coordenação de paládio(II). Nesse caso, destacam-se os polímeros supramoleculares^{7, 8}, formados pelas interações de hidrogênio, e os polímeros de coordenação, que dentre as várias aplicabilidades podem atuar na oclusão de moléculas orgânicas⁹, figura 2.

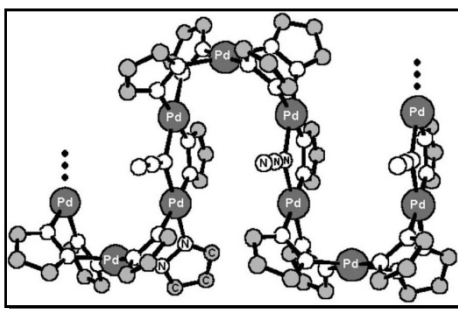


Figura 2. Polímero de coordenação de Pd(II) que oclui, de forma seletiva, moléculas orgânicas⁹.

Cabe salientar que a similaridade geométrica com Pt^{2+} – geometria quadrado-planar ao redor do centro metálico – motivou pesquisadores nas últimas duas décadas¹⁰⁻¹⁷ a utilizarem o

íon Pd^{2+} na tentativa de obtenção de novos compostos anticancerígenos, mais eficazes e menos agressivos aos pacientes.

A premissa inicial, para a aplicação desses complexos de paládio(II), é pautada na analogia químico-estrutural com a cisplatina – complexo consagrado pela sua eficácia contra vários tumores, especialmente de cabeça, pescoço, ovariano e testicular¹⁸, figura 3a.

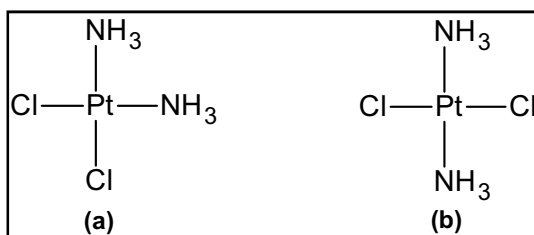


Figura 3. Ilustração estrutural da cisplatina (a) e da transplatina (b).

Os químicos sintéticos pressupunham que os novos complexos deveriam assumir configuração *cis*, contendo dois bons grupos abandonadores (ânions estáveis como o Cl^-), e que os ligantes neutros deveriam ser cineticamente inertes, a exemplo das moléculas NH_3 , ligadas à platina¹⁹.

Assim, os primeiros complexos contendo paládio(II), preparados com o intento de combater o câncer, datam do final da década de 1970²⁰. No final dos anos 1990, um artigo com autoria de A.G. Quiroga e colaboradores²¹ relatou a ação de ciclopaladados com atividade mais elevada que a cisplatina contra linhagens tumorais resistentes.

Em trabalhos científicos mais recentes²²⁻²³, paládio e outros metais, figura 4, fazem parte de complexos que se destacam por serem mais potentes que a cisplatina, deixando claro que a relação estrutura-atividade formulada inicialmente não impera.

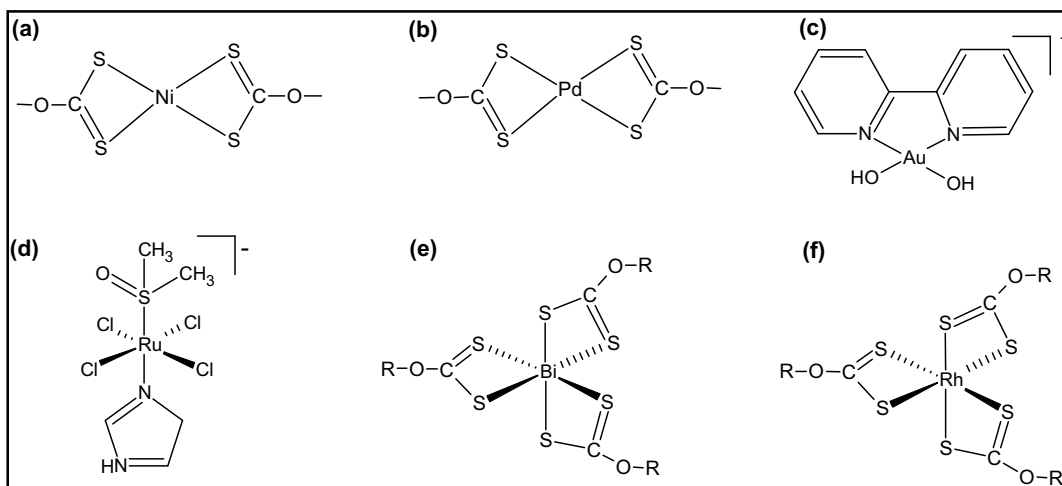


Figura 4. Exemplos de complexos antitumorais com níquel (a), paládio (b), ouro (c), rutênio (d), bismuto (e) e ródio (f).

Nessa via, a estereoquímica *cis*, um dos quesitos mais fortes para a ação antitumoral evidenciado por Rosenberg e co-autores²⁴, poderia também ser reavaliada. Segundo esses autores, a transplatina (figura 3b) – isômero *trans* da cisplatina – não possuía atividade contra tumores e qualquer outro complexo *trans* estaria fadado à inatividade biológica desta natureza.

Contudo, há pelo menos uma década, os primeiros complexos *trans* de Pd(II) começaram a ser investigados. Alguns destes foram apontados como mais promissores no combate a alguns tipos de cânceres, quando comparados a cisplatina^{14, 25-31}. Parte desses complexos é exemplificada na figura 5.

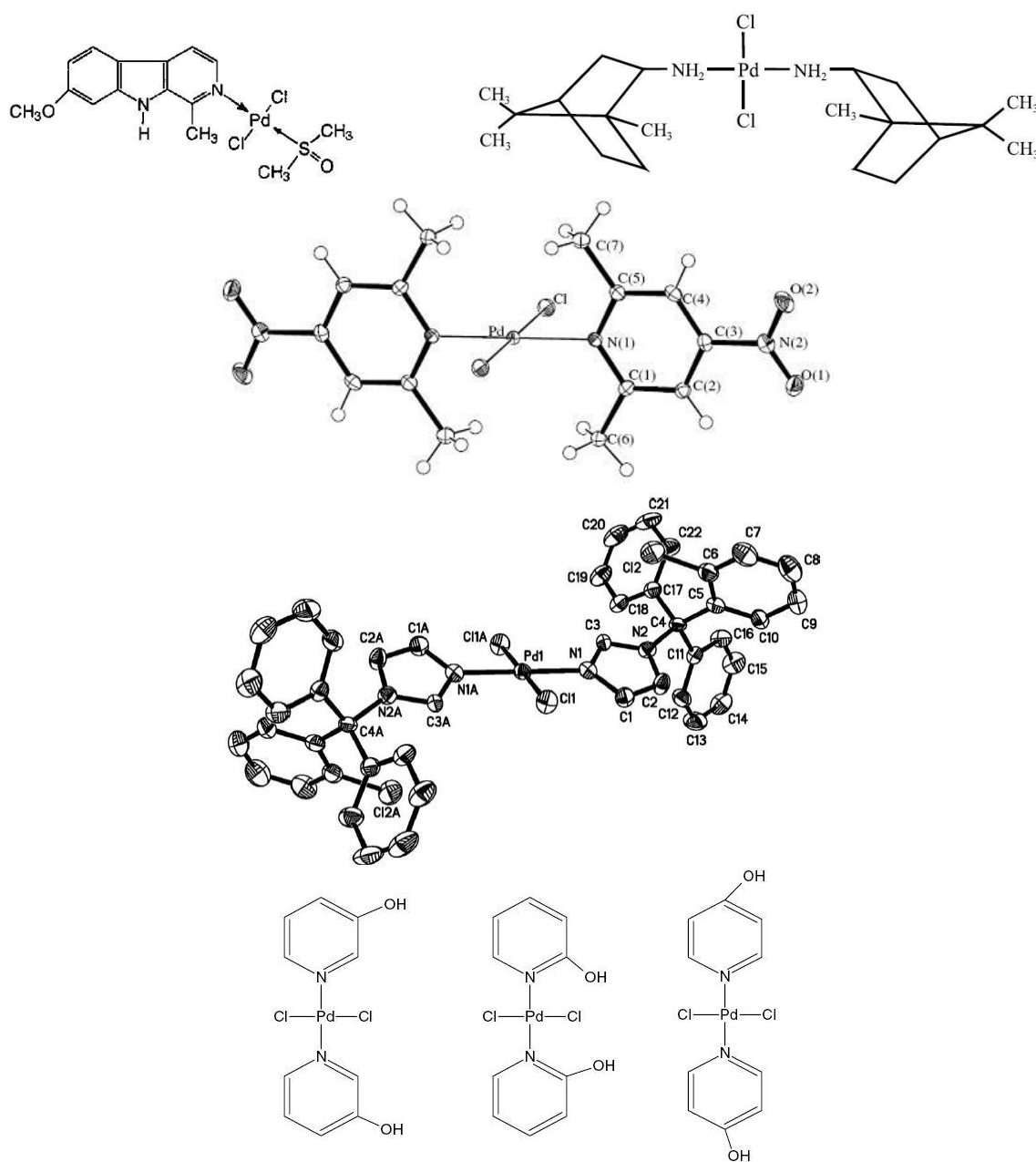


Figura 5. Exemplos de complexos *trans* com maior atividade anticancerígena do que a cisplatina.

No contexto biológico, outras potencialidades foram constatadas para os complexos de paládio(II), como: antibacteriana³²⁻³³, antichagásica³⁴, antifúngica³⁵⁻³⁶, anti-herpética³⁷, antiinflamatória³⁸ e vermícida³⁹⁻⁴¹. A figura 6 exemplifica estruturas e as respectivas ações biológicas.

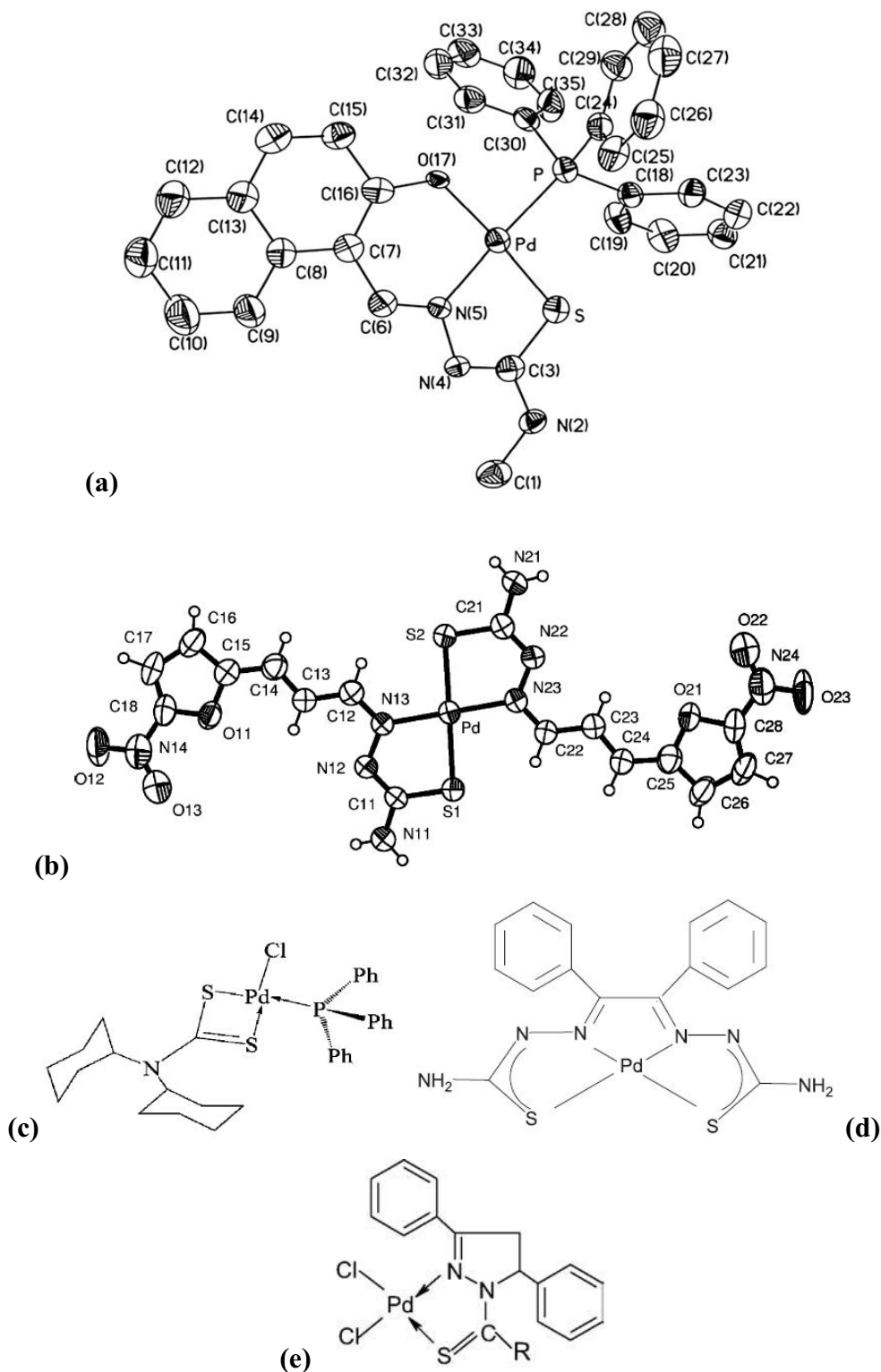


Figura 6. Potencialidades biológicas envolvendo complexos de paládio(II): antibacteriana (a), antichagásica (b), antifúngica (c), anti-herpética (d) e vermícida (e).

Mesmo atuando positivamente frente outras ações biológicas, não houve, até o momento, menção de testes envolvendo complexos de paládio contra os bacilos causadores da tuberculose.

Esta doença, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, foi responsável pela morte de aproximadamente um quarto dos europeus na metade do século XIX⁴²; além de vitimar muitos cidadãos e personalidades famosas em outras partes do mundo⁴³.



Figura 7. Vítimas famosas acometidas pela tuberculose. Frédéric Chopin (a), Franz Kafka (b) e Noel Rosa (c).

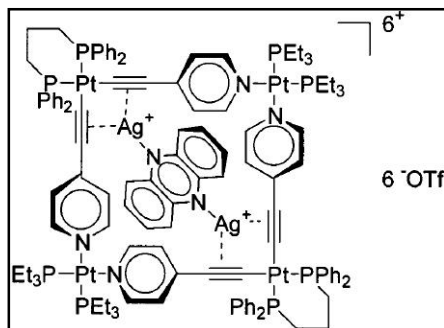
Drogas como a isoniazida e a pirazinamida surgiram em meados do século passado e responderam fortemente contra a tuberculose. No entanto, a mobilidade humana no globo terrestre, o aumento da urbanização nos países em desenvolvimento e as contrastantes realidades econômicas e sociais, aliados ao surgimento e à rápida disseminação do vírus HIV, fizeram ressurgir tal doença⁴⁴.

Estima-se, atualmente, que um terço da população mundial esteja infectada pela tuberculose. As mortes ocorridas no ano de 2006, por exemplo, foram de 1,5 milhões⁴⁵. Para agravar a situação, variedades resistentes às drogas (multirresistentes) se proliferam, atingindo maciçamente os países mais populosos, como China e Índia, segundo o destaque de uma recente edição da revista Pesquisa FAPESP⁴⁶, que também expõe a negligência dos setores governamentais e a extrema necessidade de se formular novas drogas.

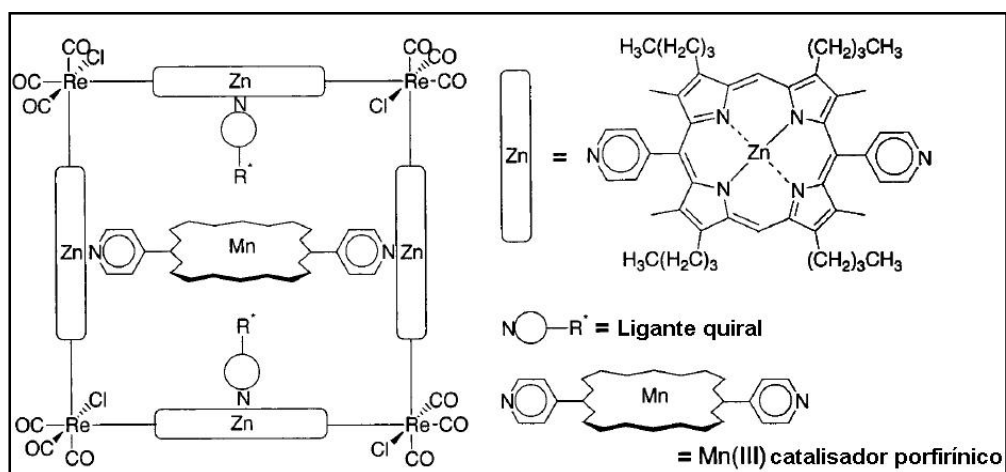
Seria, portanto, oportuno avaliar o comportamento antituberculostático de compostos contendo Pd^{2+} , vide a eficácia de complexos contendo o referido metal contra variedades tumorais resistentes a cisplatina, principalmente os complexos contendo piridina ou os seus derivados^{12-14, 20, 22, 28}.

Núcleos piridínicos também se destacam em outras vertentes, compondo macrociclos supramoleculares⁴⁷, polímeros de coordenação⁴⁸, entidades nanoscópicas envolvidas em transportes moleculares e catálise⁴⁹, compostos com propriedades óticas e magnéticas⁵⁰,

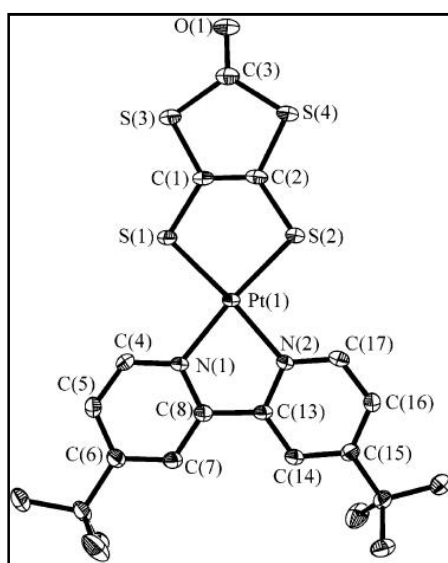
sensores vapocrômicos⁵¹ e nanotubos⁵². Alguns compostos contendo ligantes piridínicos apresentando essas propriedades são exemplificados pelas figuras 8 e 9.



(a)



(b)



(c)

Figura 8. Exemplos de compostos envolvendo ligantes piridínicos e suas propriedades: transporte molecular (a), catálise (b) e estrutura que apresenta propriedades óticas e magnéticas (c).

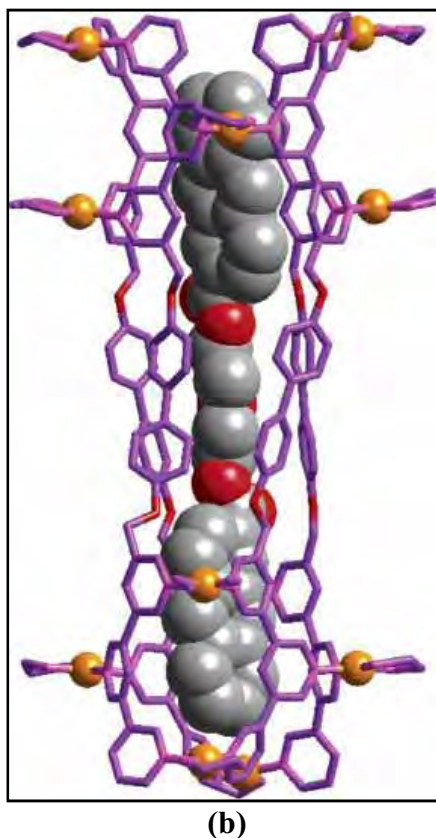
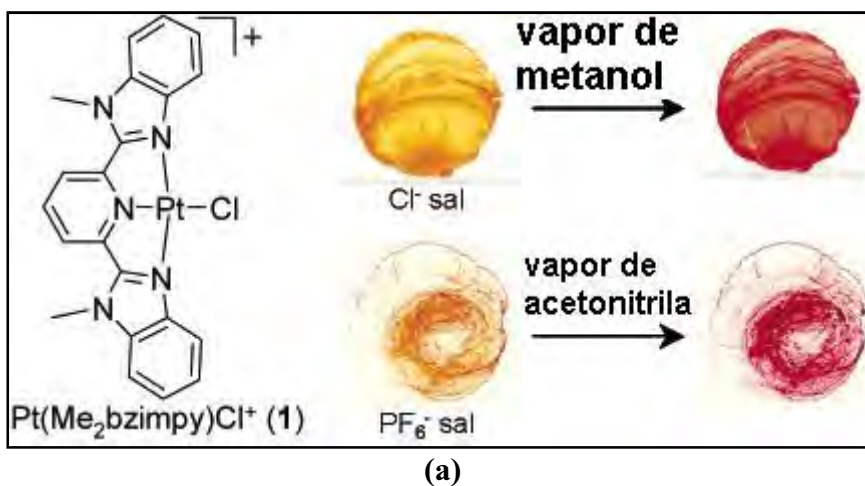


Figura 9. Exemplos de compostos envolvendo ligantes piridínicos e suas propriedades – continuação: sensores vapocrômicos (a) e nanotecnologia – nanotubos (b).

Neste rol de ligantes piridínicos, merece destaque a isonicotinamida, uma piridina substituída na posição quatro do anel aromático por um grupo amida, que lhe confere propriedades para gerar arranjos supramoleculares mediante formação de ligações de hidrogênio^{7, 53-54}, figura 10. Isoladamente, esta molécula apresenta atividade antipirética, antibacteriana e anticoagulante⁵⁵, além de possuir similaridade estrutural com as moléculas

isoniazida e pirazinamida, empregadas no tratamento da tuberculose. A figura 11 ilustra estes compostos.

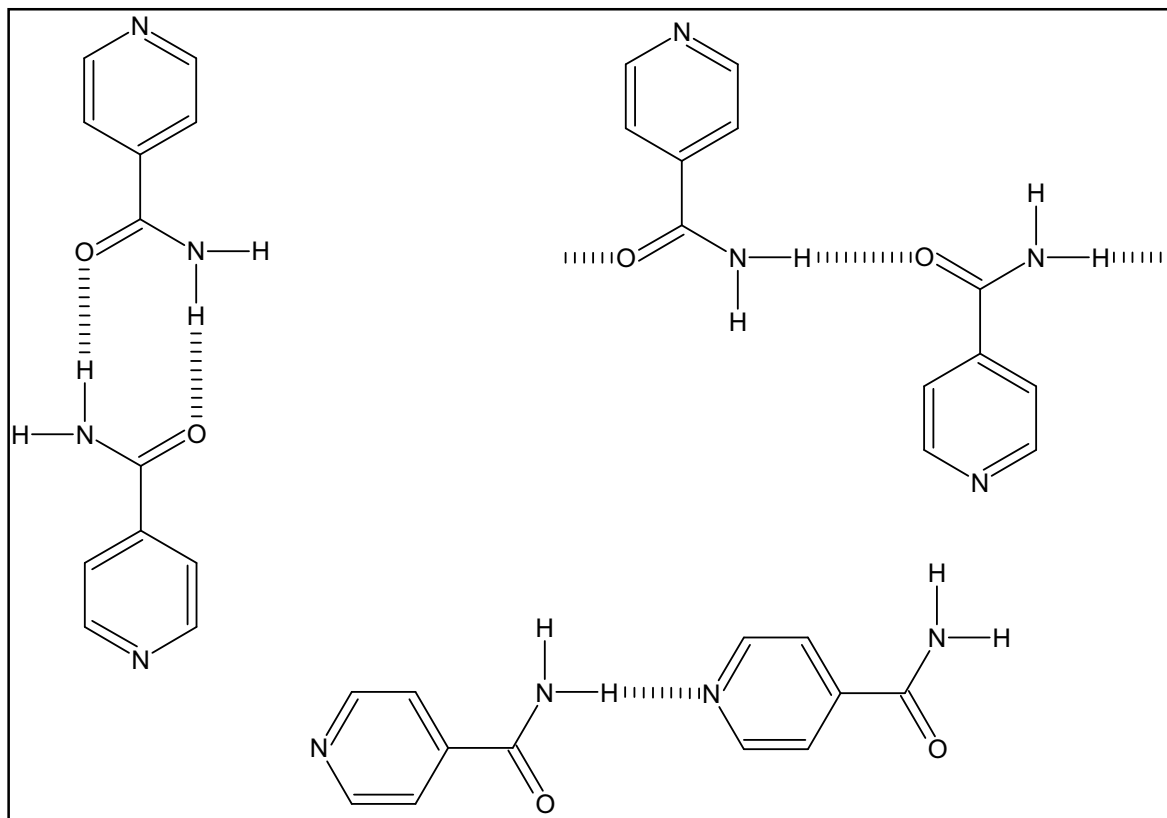


Figura 10. Possibilidades de ligações de hidrogênio envolvendo o ligante isonicotinamida.

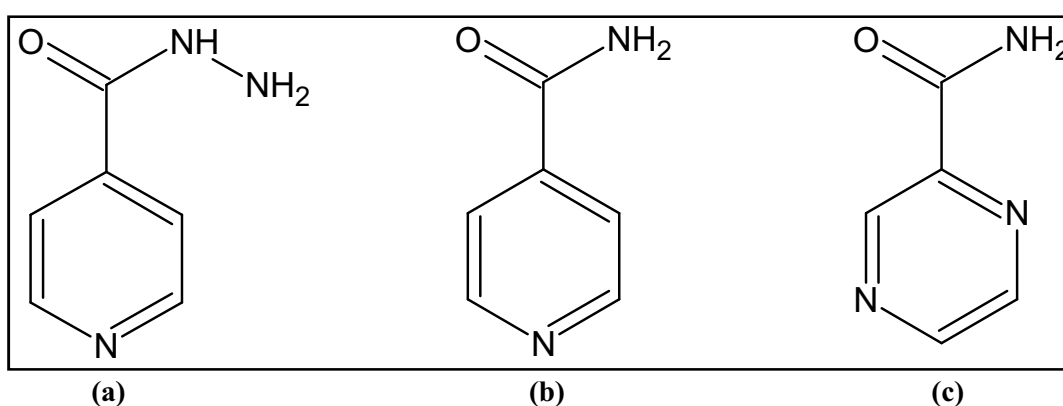


Figura 11. Representação estrutural da isoniazida **(a)**, isonicotinamida **(b)** e da pirazinamida **(c)**.

Poucos compostos envolvendo Pd^{2+} e isonicotinamida são descritos na literatura^{7, 53}, e nenhuma investigação considerando a ação biológica foi realizada, pelo que se conhece. Assim, é pertinente a preparação e a caracterização de tais complexos para uma avaliação das potencialidades medicinais dos mesmos.

2 OBJETIVO

Preparar complexos de paládio(II) contendo o ligante isonicotinamida, caracterizá-los mediante técnicas espectroscópicas e submetê-los a ensaios biológicos contra linhagens de células tumorais e contra os bacilos causadores da tuberculose.

3 EXPERIMENTAL

Exceto para a preparação do complexo precursor, efetuada sob aquecimento, as demais reações se processaram a temperatura ambiente em frascos do tipo erlenmeyer, com tampa esmerilhada. Não foi necessário trabalhar sob fluxo de atmosfera inerte e tampouco os frascos foram protegidos da luz durante as sínteses. O complexo precursor e os demais compostos obtidos são estáveis ao ar e não-higroscópicos. Os mesmos foram acondicionados em pequenos frascos, devidamente rotulados, e armazenados sob pressão reduzida, em dessecador contendo cloreto de cálcio como agente secante.

3.1 Reagentes e solventes

Os reagentes sólidos utilizados apresentam elevada pureza e os solventes, com pureza analítica, não foram submetidos à purificação prévia. Todos são listados na tabela 1, assim como suas respectivas fórmulas moleculares, estados físicos e procedências.

Tabela 1. Reagentes e solventes utilizados nas preparações dos compostos.

Reagente/ solvente	Fórmula molecular	Estado físico	Procedência
Acetonitrila	CH ₃ CN	Líquido	Mallinkrodt
Água	H ₂ O	Líquido	*
Azida de sódio	NaN ₃	Sólido	Riedel-de Haën
Cianato de potássio	KNCO	Sólido	Riedel-de Haën
Cloreto de paládio(II)	PdCl ₂	Sólido	Degussa S.A.
Diclorometano	CH ₂ Cl ₂	Líquido	Merck
Dietil-éter	C ₄ H ₁₀ O	Líquido	Mallinkrodt
Isonicotinamida	C ₆ H ₆ N ₂ O	Sólido	Aldrich
Metanol	CH ₃ OH	Líquido	Merck
Pentano	C ₅ H ₁₂	Líquido	Merck
Tiocianato de sódio	NaSCN	Sólido	Riedel-de Haën
Triclorometano [†]	CHCl ₃	Líquido	Merck

* Deionizada no laboratório; [†] comumente denominado clorofórmio.

3.2 Caracterizações

Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no analisador Elemental analyser 2400 CHN da Perkin Elmer, pertencente a Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo (IQ-USP).

Análise térmica

As curvas termogravimétricas, TG, foram obtidas empregando-se o equipamento da Shimadzu TGA-50. Cada amostra, com cerca de 1,5 - 3,2 mg, foi disposta em cadinho de platina, o qual foi submetido a um aquecimento desde a temperatura ambiente até 900°C, com

taxa de $20^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, sob atmosfera de ar sintético e fluxo de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Para efetuar as análises de calorimetria exploratória diferencial, DSC, empregou-se o equipamento DSC-50 da Shimadzu. Cadinhos de alumínio para amostra e referência foram aquecidos desde a temperatura ambiente até 500°C , obedecendo uma taxa de $20^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, sob fluxo de N_2 e com vazão de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Ambos os equipamentos pertencem ao grupo do Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos, do IQ-USP, São Paulo.

Difração de raios X

Os difratogramas de raios X, DRX, dos resíduos oriundos das decomposições térmicas, foram caracterizados em um difratômetro SIEMENS modelo D-5000, que operou utilizando radiação de $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) monocromatizada por cristal de grafite, num intervalo de $4 < 2\theta < 70$, com passo de $0,05^{\circ} \cdot \text{s}^{-1}$. Os resíduos foram compactados em porta-amostra de vidro para o procedimento de análise.

Difração de raios X de monocristal do complexo 2, *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]

A estrutura cristalina e molecular do complexo 2, *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂], foi resolvida pelo Prof. Dr Eduardo E. Castellano, do Instituto de Física de São Carlos - USP. Os dados foram obtidos em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD, utilizando-se radiação de $\text{Mo K}\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) monocromatizada por cristal de grafite.

Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho, IV, foram registrados no espectrofotômetro Nicolet Impact 400, que opera na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, com resolução de 4 cm^{-1} . As amostras foram preparadas pela maceração em almofariz de ágata com brometo de potássio e posterior pastilhamento em prensa hidráulica.

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear, RMN, foram coletados em espectrômetro multinuclear modelo INOVA 500. A padronização interna foi efetuada com tetrametilsilano e a frequência empregada para os núcleos de ^1H foi de 500 MHz e para ^{13}C , com desacomplamento de ^1H , foi de 126 MHz . As amostras foram preparadas com a prévia solubilização em dimetilsulfóxido deuterado, DMSO-*d*₆.

Medidas das temperaturas de decomposição

As temperaturas de decomposição foram medidas em um aparelho digital MQAPF-302 da Microquímica, utilizando-o até a temperatura de 300°C.

3.3 Síntese do composto precursor

A preparação do complexo precursor bis(acetonitrila)dicloropaládio(II), $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$, segue a metodologia presente na literatura⁵⁶, com algumas modificações.

Em um erlenmeyer com capacidade para 250 mL foi introduzido um volume de 30 mL de CH_3CN . Manteve-se este solvente sob agitação magnética e aquecimento até próximo de sua ebulição (por volta de 80°C). Nesta condição, adicionou-se 2,00 g ($1,13 \cdot 10^{-2}$ mol) de PdCl_2 em pequenas porções, para garantir a dissolução total do sólido. No transcorrer da adição, a solução marrom mudou gradativamente seu aspecto, apresentando-se no final com coloração amarela. O conteúdo reacional foi então mantido sob forte agitação magnética durante 15 min. Decorrido este tempo, reservou-se o erlenmeyer para resfriá-lo até 40°C, quando houve a precipitação de um sólido cristalino. Promoveu-se então a filtração do produto, que foi lavado repetidas vezes com a própria solução-mãe, com pequenas alíquotas de CH_3CN e dietil-éter, foi recristalizado em CH_2Cl_2 , lavado novamente com dietil-éter, seco sob pressão reduzida e armazenado em dessecador. A massa obtida foi de 2,23 g, equivalente a 75% de rendimento. Temperatura de decomposição $\geq 132,0^\circ\text{C}$.

3.4 Preparação dos complexos de Pd(II) contendo isonicotinamida (isn)

Síntese do $[\text{PdCl}_2(\text{isn})_2]$ (1)

Em um erlenmeyer com capacidade para 125 mL foram dissolvidos 0,100 g ($3,85 \cdot 10^{-4}$ mol) de $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ em 20 mL de CHCl_3 , dando origem a uma solução marrom-avermelhada. Posteriormente foram adicionados 0,098 g ($8,09 \cdot 10^{-4}$ mol) de isn, previamente solubilizados em 5 mL de CH_3OH . No decorrer desta adição houve uma mudança acentuada no aspecto visual do meio reacional, o qual tornou-se uma suspensão com coloração amarela. A reação foi então mantida sob vigorosa agitação magnética durante 1 h. Na sequência isolou-se um precipitado amarelo, através de filtração, lavagem com pequenas e repetidas porções de CH_3OH e pentano e secagem sob pressão reduzida. A massa obtida foi igual a 0,13 g, correspondendo a 80% de rendimento. Análise elementar – % calculada (% encontrada) para $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}_2\text{Pd}$. C: 34,2 (33,2); H: 2,9 (2,7); N: 13,3 (12, 9). Temperatura de decomposição $> 300,0^\circ\text{C}$.

Síntese do $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$ (2)

Em um erlenmeyer de 125 mL contendo 0,100 g ($3,85 \cdot 10^{-4}$ mol) de $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ dissolvidos em 20 mL de CHCl_3 , foram adicionados 0,098 g ($8,09 \cdot 10^{-4}$ mol) de isn solubilizados em 5 mL de CH_3OH . Até esta etapa as alterações ocorridas são semelhantes àquelas observadas em **1**. Em seguida adicionou-se, gota-a-gota, 2 mL de uma solução $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1 contendo 0,053 g ($8,09 \cdot 10^{-4}$ mol) de NaN_3 . Após a adição notou-se que a suspensão apresentou um ligeiro aumento na intensidade da coloração. A reação permaneceu sob agitação magnética durante 1 h. Ocorreu a formação de um precipitado amarelo-escuro que foi filtrado, lavado com H_2O , CH_3OH e pentano, seco sob pressão reduzida e então isolado. A massa obtida foi de 0,14 g, correspondendo a 85% de rendimento. Análise elementar – % calculada (% encontrada) para $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_{10}\text{O}_2\text{Pd}$. C: 33,2 (33,2); H: 2,8 (2,7); N: 32,2 (32,0). Temperatura de decomposição $\geq 220,5^\circ\text{C}$.

Síntese do $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{isn})_2]$ (3)

Em um erlenmeyer de 125 mL com uma solução de 0,100 g ($3,85 \cdot 10^{-4}$ mol) de $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ em 20 mL de CHCl_3 , adicionou-se isn conforme descrito em **1**. Em etapa posterior, 2 mL de uma solução $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1 contendo 0,066 g ($8,09 \cdot 10^{-4}$ mol) de NaSCN foram transferidos vagarosamente ao meio reacional que, gradativamente, passou a exibir uma suspensão com coloração laranja. A reação foi mantida sob agitação magnética durante 1 h. Um precipitado laranja formado foi filtrado, lavado com H_2O , CH_3OH e pentano e seco sob pressão reduzida. Obteve-se a massa de 0,16 g, correspondente a 90% de rendimento. Análise elementar – % calculada (% encontrada) para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Pd}$. C: 36,0 (35,4); H: 2,6 (2,4); N: 18,0 (17,9). Temperatura de decomposição $> 300,0^\circ\text{C}$.

Síntese do $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\text{isn})_2]$ (4)

Em um erlenmeyer de 125 mL contendo 0,100 g ($3,85 \cdot 10^{-4}$ mol) de $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ solubilizados em 20 mL de CHCl_3 , adicionou-se isn segundo os procedimentos descritos em **1**. Na seqüência, foram adicionados 0,066 g ($8,09 \cdot 10^{-4}$ mol) de KNCO dissolvidos em 2 mL de $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1, gerando uma suspensão amarelo-clara. Após 1 h sob agitação magnética, isolou-se um precipitado amarelo-palha que foi filtrado, lavado com H_2O , CH_3OH e pentano e seco sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 0,15 g, correspondendo a um rendimento de 90%. Análise elementar – % calculada (% encontrada) para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_4\text{Pd}$. C: 38,7 (38,3); H: 2,8 (2,6); N: 19,3 (19,7). Temperatura de decomposição $\geq 288,2^\circ\text{C}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do composto precursor

O espectro de absorção no IV do composto $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ é apresentado na figura 12.

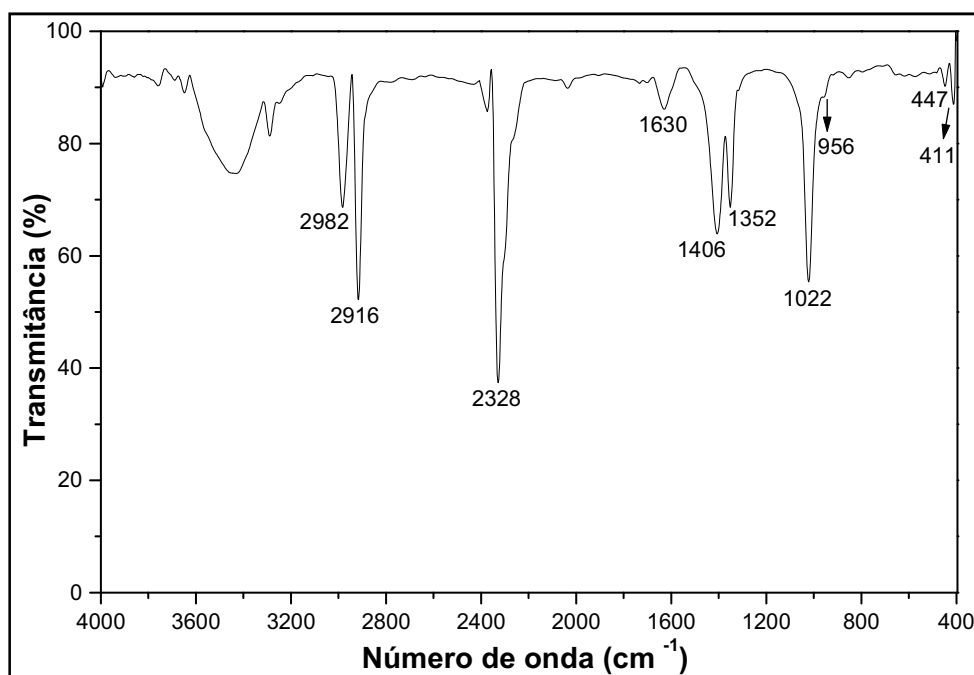


Figura 12. Espectro vibracional na região do infravermelho do precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$.

As frequências vibracionais indicadas são características do produto formado⁵⁷⁻⁵⁸, sendo atribuídas na tabela 2.

Tabela 2. Atribuição das principais frequências vibracionais presentes no espectro IV do $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$.

Frequência/ cm^{-1}	Atribuição	Frequência/ cm^{-1}	Atribuição
* 3620-3300 <i>m</i>	$\nu_s(\text{O-H})$	1352 <i>m</i>	$\delta_s(\text{CH}_3)$
2982 <i>m</i>	$\nu_{as}(\text{CH}_3)$	1022 <i>F</i>	$\rho_r(\text{CH}_3)$
2916 <i>F</i>	$\nu_s(\text{CH}_3)$	956 <i>ob</i>	$\nu(\text{C-C})$
2328 <i>F</i>	$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	447 <i>f</i>	$\delta(\text{C-C}\equiv\text{N})$
* 1630 <i>f</i>	$\delta(\text{H-O-H})$	411 <i>f</i>	$\delta(\text{C-C}\equiv\text{N})$
1406 <i>m</i>	$\delta_{as}(\text{CH}_3)$		

* Água adsorvida pelo KBr. Intensidades: *f* = fraco, *m* = médio, *F* = forte, *ob* = ombro.

A formação do complexo é reforçada pela variação da frequência $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$, que na acetonitrila livre ocorre em 2266 cm^{-1} e no produto obtido em 2328 cm^{-1} . Um aumento significativo de 36 cm^{-1} no modo $\nu(\text{C-C})$, que no ligante livre ocorre em 920 cm^{-1} , também contribui para confirmar a formação do complexo.

4.2 Caracterização dos complexos de Pd(II) contendo isn: $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, X= Cl, N₃, SCN, NCO

Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Recentemente foi publicado um artigo tratando da comparação teórico-experimental dos modos normais de vibração da molécula de isonicotinamida⁵⁵. Algumas das frequências vibracionais apresentadas neste artigo destacam-se: $\nu(\text{N-H})$, 3371-3188; $\nu(\text{C=O}) + \delta(\text{NH}_2)$, 1666 e 1632; $\nu(\text{C-C})_{\text{anel}}$, 1547; $\nu(\text{C-NH}_2)$, 1404; $\nu(\text{C-CONH}_2)$, 1124; ϕ (respiração do anel), 993; $\delta(\text{C-H})_{\text{fora do plano}}$, 852 e $\delta(\text{O-C-N})$, 631 cm^{-1} . Estes modos estão presentes nos compostos preparados, portanto, servem como referências.

Os pseudo-haletos, também presentes nos complexos investigados neste trabalho, apresentam vibrações bem características nos espectros IV, o que possibilita inferir os seus modos de coordenação ao centro metálico.

O íon azida, N₃⁻, se coordena aos metais de maneira terminal, via um átomo de nitrogênio ou em ponte *end-on* – um átomo de nitrogênio coordenado a dois centros metálicos – e *end-to-end* – via nitrogênios das extremidades. A coordenação do grupo tiocianato, SCN⁻, caracteriza-se pela presença dos modos $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$, $\nu_{\text{s}}(\text{SCN})$ e $\delta(\text{SCN})$. As coordenações M–NCS, M–SCN ou em ponte M–NCS–M, podem ser inferidas pelas posições espectrais em que se encontram suas bandas. O íon cianato, NCO⁻, pode se coordenar aos metais através do átomo de nitrogênio, oxigênio ou por ambos, sendo, porém, predominante a coordenação via nitrogênio. A tabela 3 mostra os intervalos das frequências referentes aos modos vibracionais dos pseudo-haletos livres ou coordenados em complexos metálicos⁵⁹⁻⁶⁸.

Tabela 3. Principais frequências vibracionais, em cm^{-1} , observadas nos espectros no IV de pseudo-haletos em complexos.

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

O conhecimento prévio dos modos de coordenação dos pseudo-haletos e das faixas espectrais de seus modos vibracionais é de suma importância, para indicar como os mesmos se encontram coordenados nos complexos sintetizados. A figura 12 ilustra os espectros no IV da isn livre e dos complexos preparados nesta dissertação.

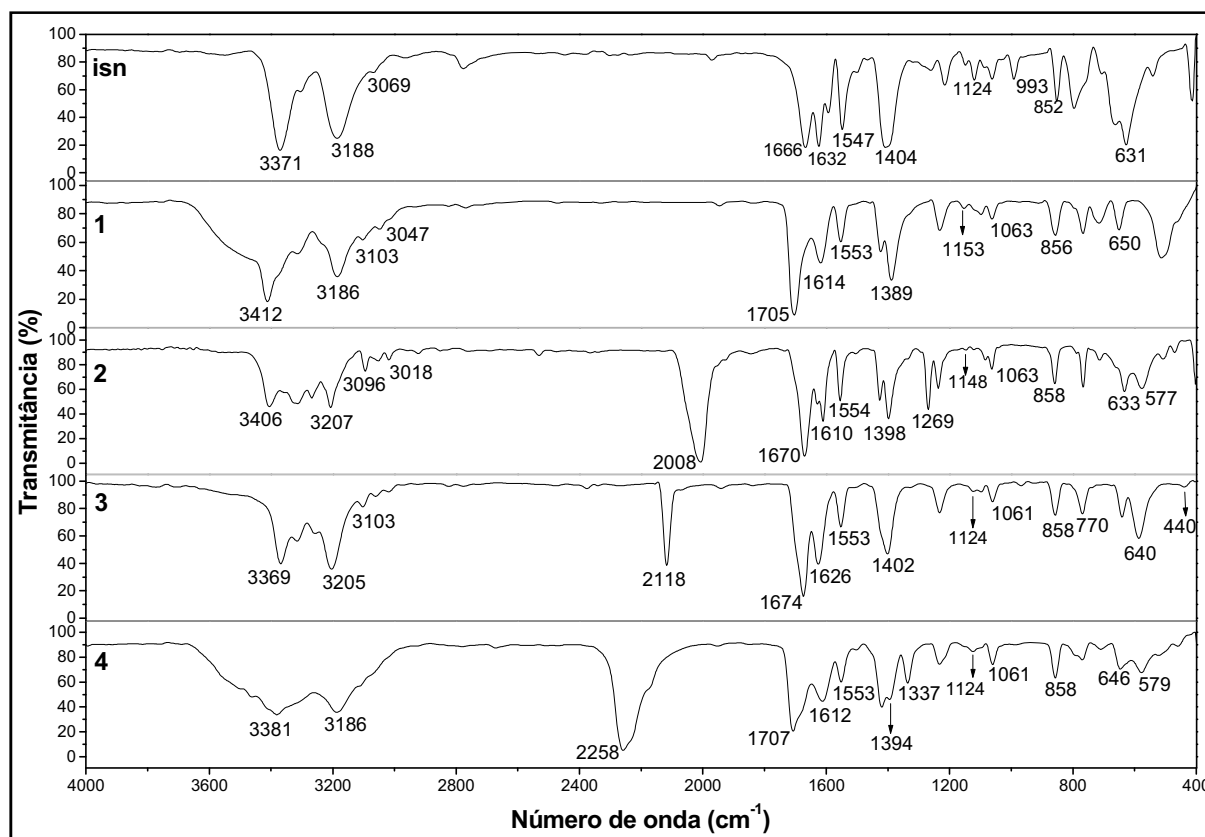


Figura 13. Espectros no IV do ligante livre e dos complexos sintetizados: isonicotinamida (**isn**), $[\text{PdCl}_2(\text{isn})_2]$ (**1**), $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$ (**2**), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{isn})_2]$ (**3**) e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\text{isn})_2]$ (**4**).

Inicialmente nota-se o desaparecimento das bandas características do ligante CH_3CN presentes no precursor, ou seja, os estiramentos $\nu(\text{C-H})$ das metilas e do $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$, que ocorrerem em 2982, 2916 e 2328 cm^{-1} , respectivamente. Observam-se, também, novas bandas, oriundas do ligante isn e dos pseudo-haletos.

Para facilitar o entendimento dos espectros, as atribuições das frequências vibracionais presentes na isn e nesses complexos são mostradas na tabela 4.

Tabela 4. Atribuição das principais frequências presentes nos espectros IV dos compostos $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, X= Cl (**1**), N₃ (**2**), SCN (**3**) e NCO (**4**).

Frequência/ cm^{-1}					Atribuição
isn	1	2	3	4	
3371-3188 <i>mF</i>	3412-3186 <i>F</i>	3406-3207 <i>F</i>	3369-3205 <i>F</i>	3381-3186 <i>F, l</i>	$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2) + \nu_{\text{s}}(\text{NH}_2)$
3069 <i>f</i>	3103 <i>f</i> , 3047 <i>f</i>	3096 <i>f</i> , 3018 <i>f</i>	3103 <i>f</i>	—	$\nu(\text{C-H})_{\text{anel}}$
—	—	—	—	2258 <i>mF</i>	$\nu_{\text{as}}(\text{NCO})$
—	—	—	2118 <i>F</i>	—	$\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$
—	—	2008 <i>mF</i>	—	—	$\nu_{\text{as}}(\text{NNN})$
1666 <i>F</i>	1705 <i>mF</i>	1670 <i>F</i>	1674 <i>mF</i>	1707 <i>F</i>	$\nu(\text{C=O}) + \delta(\text{NH}_2)_{\text{tesoura}}$
1632 <i>F</i>	1614 <i>m</i>	1610 <i>F</i>	1626 <i>F</i>	1612 <i>m</i>	$\nu(\text{C=O}) + \delta(\text{NH}_2)_{\text{fora do plano}}$
1547 <i>F</i>	1553 <i>m</i>	1554 <i>m</i>	1553 <i>m</i>	1553 <i>m</i>	$\nu(\text{C-C})_{\text{aromático}}$
1404 <i>mF</i>	1389 <i>F</i>	1398 <i>F</i>	1402 <i>F</i>	1394 <i>m</i>	$\nu(\text{C-NH}_2)$
—	—	—	—	1337 <i>m</i>	$\nu_{\text{s}}(\text{NCO})$
—	—	1269 <i>m</i>	—	—	$\nu_{\text{s}}(\text{NNN})$
1124 <i>f</i>	1153 <i>mf</i>	1148 <i>mf</i>	1124 <i>mf</i>	1124 <i>mf</i>	$\nu(\text{C-CONH}_2)$
993 <i>f</i>	1063 <i>f</i>	1063 <i>f</i>	1061 <i>f</i>	1061 <i>f</i>	$\phi(\text{respiração do anel})$
852 <i>m</i>	856 <i>m</i>	858 <i>m</i>	858 <i>m</i>	858 <i>m</i>	$\delta(\text{CH})_{\text{fora do plano}}$
—	—	—	770 <i>m</i>	—	$\nu_{\text{s}}(\text{SCN})$
631 <i>F</i>	650 <i>m</i>	633 <i>m</i>	640 <i>f</i>	646 <i>f</i>	$\delta(\text{O=C-NH}_2)$
—	—	—	—	579 <i>f</i>	$\delta(\text{NCO})$
—	—	577 <i>f</i>	—	—	$\delta(\text{NNN})$
—	—	—	440 <i>mf</i>	—	$\delta(\text{SCN})$

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

Confirma-se a presença da isn nos complexos pelas bandas observadas entre 3400-3100 cm^{-1} , aproximadamente, decorrentes dos estiramentos assimétrico e simétrico $\nu(\text{N-H})$. Percebe-se, também, bandas na região de 1700 - 1600 cm^{-1} , atribuídas às deformações $\delta(\text{H-N-H})$ e aos estiramentos $\nu(\text{C=O})$ do grupo amida da isn. A intensidade e a largura das bandas $\nu(\text{N-H})$ evidenciam a ocorrência de ligações de hidrogênio no estado sólido. Tais interações intermoleculares promovem o deslocamento das frequências associadas aos modos vibracionais $\nu(\text{C=O}) + \delta(\text{NH}_2)_{\text{tesoura}}$ para valores maiores e dos modos $\nu(\text{C=O}) + \delta(\text{H-N-H})$ para energias menores.

A coordenação da isn ocorre pelo nitrogênio piridínico, constatada pelo deslocamento de 68-70 cm^{-1} , para frequências mais elevadas, do modo $\phi(\text{respiração do anel})$, em relação ao ligante livre (993 cm^{-1})¹². Deslocamentos resultantes em frequências inferiores a 1666 cm^{-1}

(isn livre) sugeririam coordenação dos grupos C=O e/ou NH₂⁶⁹, fato não observado nos espectros IV dos complexos preparados.

Os pseudo-haletos apresentam bandas correspondentes aos modos normais de vibração nos compostos em 2008 $\nu_{as}N_3$, 2118 $\nu_{as}SCN$ e em 2258 $\nu_{as}NCO$, cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos assimétricos, que podem ser facilmente distinguidas nos espectros da figura 13. Os estiramentos simétricos ocorrem em 1269 ν_sN_3 , 770 ν_sSCN e em 1337 ν_sNCO , cm^{-1} , e as deformações são observadas em 577 δNNN , 440 δSCN e em 579 δNCO , cm^{-1} , para os complexos **2**, **3** e **4**, respectivamente. Sugere-se, de acordo com os dados comparativos da literatura, que a coordenação dos pseudo-haletos ao Pd²⁺ é estabelecida de maneira terminal, via átomo de nitrogênio em **2** e em **4** e via enxofre em **3**.

Cabe salientar que as bandas largas e centradas em 2008 e 2258 cm^{-1} , respectivamente dos complexos **2** e **4**, e correspondentes aos $\nu_{as}N_3$ e $\nu_{as}NCO$, sugerem o envolvimento destes pseudo-haletos em ligações de hidrogênio com o ligante isn.

Difração de raios X de monocristal do complexo *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]

Monocristais adequados à difração de raios X foram obtidos solubilizando-se uma amostra do complexo [Pd(N₃)₂(isn)₂] em um béquer de vidro com capacidade para 10 mL, contendo DMSO como solvente. Após três semanas observou-se a formação dos cristais pela evaporação lenta deste solvente.

A resolução estrutural foi realizada pelo Prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano, do Instituto de Física de São Carlos - USP. Os dados foram coletados utilizando-se o *software* COLLECT⁷⁰. A estrutura foi resolvida por métodos diretos, envolvendo o programa SHELXS-97⁷¹. A figura 14 ilustra a estrutura obtida, elaborada com o programa ORTEP-III *for windows*⁷².

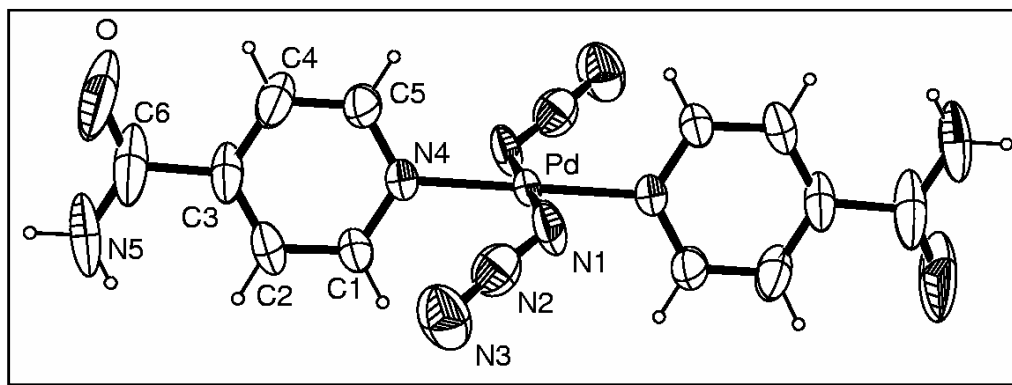


Figura 14. Estrutura ORTEP do complexo **2**, *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂].

Os detalhes referentes aos dados coletados são apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Dados cristalográficos e dos refinamentos obtidos para o complexo *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂].

Fórmula empírica	C ₁₂ H ₁₂ N ₁₀ O ₂ Pd
Massa molecular	434,72
Temperatura da coleta	296(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	C2/c
Dimensões da cela unitária	a = 8,3829(4) Å b = 9,8649(5) Å β = 92,763(3)° c = 18,9459(8) Å
Volume	1564,94(13) Å ³
Z	4
Densidade (calculada)	1,845 g/cm ³
Tamanho do cristal	0,182 x 0,150 x 0,115 mm ³
Intervalo de θ	3,19 - 26,00°
Intervalo dos índices hkl	-10 ≤ h ≤ 10, -12 ≤ k ≤ 10, -22 ≤ l ≤ 23
Reflexões coletadas	5046
Reflexões independentes	1514 [R(int) = 0,0284]
Totalidade para θ = 26,00°	99,1%
Método de refinamento	Mínimos-quadrados
Dados / restrições / parâmetros	1514 / 0 / 116
GOF	1,071
Índices R final [I > 2σ(I)]	R1 = 0,0369, wR2 = 0,0924
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0480; wR2 = 0,1014
Coefficiente de extinção	0,0032(7)
Densidade residual máx. e mín.	0,876 e -0,706 e ⁻ Å ⁻³

A tabela 6 destaca algumas das distâncias de ligações e alguns ângulos presentes na estrutura resolvida.

Tabela 6. Principais distâncias de ligações (Å) e ângulos (°) do composto *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂].

Pd–N4	2,016(3)	N4–Pd–N4'	180,0(3)
Pd–N4'	2,016(3)	N1–Pd–N1'	180,0(3)
Pd–N1	2,105(5)	N4–Pd–N1	92,25(15)
Pd–N1'	2,105(5)	N4'–Pd–N1'	92,25(15)
O–C6	1,211(11)	N4–Pd–N1'	87,75(15)
N1–N2	1,130(6)	N4'–Pd–N1	87,75(15)
N2–N3	1,180(6)	N2–N1–Pd	115,3(3)
C3–C6	1,512(7)	N1–N2–N3	174,6(5)

A estrutura do complexo apresenta-se com estereoquímica *trans*, com um centro cristalográfico de inversão sobre o átomo de paládio, o que torna a molécula simétrica. Constata-se que a geometria ao redor deste metal é quadrado-planar, já que os ângulos entre

$N_{\text{isn}}\text{-Pd-}N_{\text{isn}}$ e $N_{\text{azida}}\text{-Pd-}N_{\text{azida}}$ são de $180,0(3)^\circ$, bem como os ângulos $N_{\text{isn}}\text{-Pd-}N_{\text{azida}}$ [$92,25(15)^\circ$ e $87,75(15)^\circ$] são muito próximos de 90° .

As distâncias $\text{Pd-}N_{\text{isn}}$ $2,016(3)^\circ$ são ligeiramente menores que os valores relatados na literatura entre piridina ou os seus derivados coordenados ao Pd(II) ($2,022 - 2,042 \text{ \AA}$)⁷³⁻⁷⁴. As ligações envolvendo os átomos N_{azida} e Pd ($2,105 \text{ \AA}$) são consideravelmente maiores que as de complexos *trans* contendo azida com piridina e azida com trifenilfosfina⁷³⁻⁷⁴, *trans*- $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{py})_2]$ e *trans*- $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{PPh}_3)_2]$, respectivamente, ou azida com quinolina⁷⁵, *trans*- $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{quinolina})_2]$ ($2,03 - 2,04 \text{ \AA}$).

Outro ponto relevante da estrutura elucidada é a sua natureza supramolecular. A figura 15, gerada pelo *software* Mercury 1.4.2 (disponível na internet em: http://www.ccdc.cam.ac.uk/free_services/free_downloads/), ilustra alguns aspectos das interações desta natureza existentes.

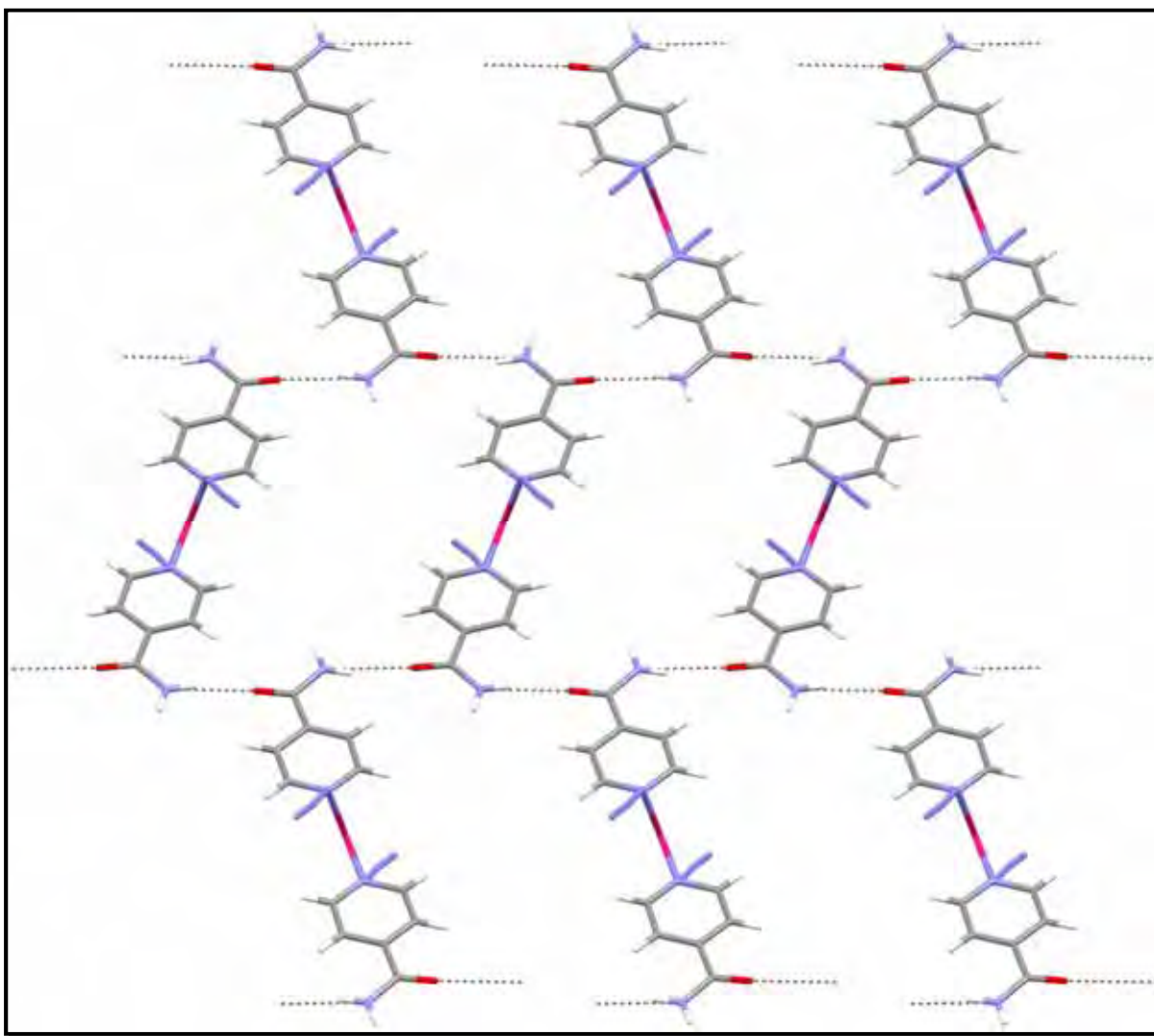


Figura 15. Representação supramolecular do complexo **2** ao longo do eixo *a* (entrando no plano).

A figura evidencia a ocorrência de ligações de hidrogênio do tipo $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$, gerando um arranjo supramolecular bidimensional.

A Química Supramolecular, definida como a “química além da molécula”, está relacionada a entidades organizadas de alta complexidade, resultantes da associação de duas ou mais espécies químicas, moléculas e/ou íons, unidos por ligações metal-ligante e/ou interações intermoleculares não-covalentes, tais como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e forças de van der Waals⁷⁶.

As ligações de hidrogênio, dentro da Química Supramolecular, são interações que direcionam a associação de um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a um ou mais átomos, grupos de átomos ou moléculas em uma estrutura agregada estável o suficiente a ponto de ser considerada como uma espécie química independente. Nesse sentido, K. R. Seddon e C. B. Aakeröy⁷⁷ propuseram codificações aos arranjos formados por estas ligações intra e intermoleculares, adotando a seguinte simbologia: $G_d^a(n)$, onde G é o designador de padrão, que descreve o tipo de ligação de hidrogênio (S para ligações intramoleculares, C para cadeias infinitas, R para anéis intermoleculares e D para dímeros acíclicos e outras estruturas finitas); o sobrescrito a indica o número de átomos aceitadores de ligação de hidrogênio; o subscrito d aponta o número de átomos doadores de ligação de hidrogênio; e o termo n , indica o número de átomos no anel ou a unidade de repetição da cadeia.

O arranjo bidimensional em questão, figura 15, envolve cadeias infinitas $C(4)$ e espécies $R_4^4(36)$. Uma automontagem dessas espécies, decorrente de interações $\text{C}-\text{H}\cdots\text{N}_{\text{azida}}$, estende tridimensionalmente as supramoléculas, resultando a espécie $R_2^2(14)$, também gerada pelo *software* Mercury 1.4.2 na figura 16.

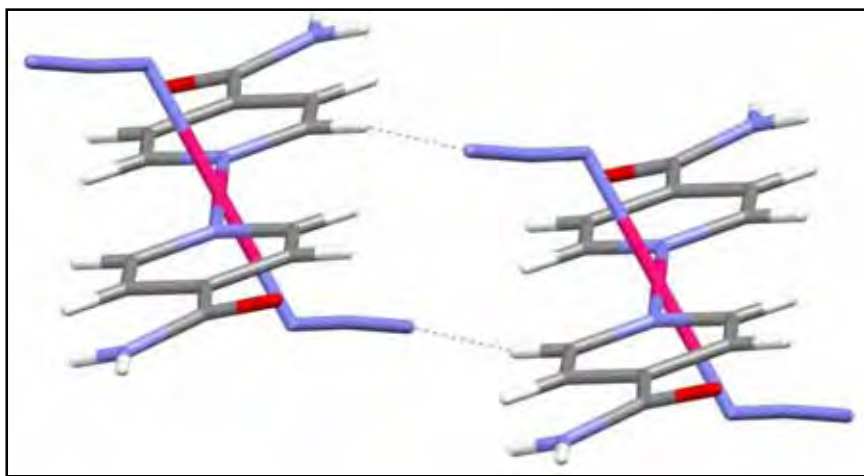


Figura 16. Representação das interações supramoleculares do tipo $\text{C}-\text{H}\cdots\text{N}_{\text{azida}}$ entre moléculas de planos distintos, resultando em espécies $R_2^2(14)$.

As distâncias envolvendo as interações $\text{N}\cdots\text{O}$ e $\text{C}\cdots\text{N}_{\text{azida}}$, que geram os arranjos supramoleculares descritos, são dadas na tabela 7.

Tabela 7. Interações supramoleculares presentes no complexo *trans*- $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$.

D–H $\cdots$ A	H $\cdots$ A (Å)	D $\cdots$ A (Å)	D–H $\cdots$ A (°)
N–H $\cdots$ O	2,038	2,885	167,98
C–H $\cdots$ N	2,685	3,560	157,15

D= átomo doador na ligação de hidrogênio e A= átomo aceitador na ligação de hidrogênio.

A distância H $\cdots$ O de 2,038 Å no grupo N–H $\cdots$ O está dentro do intervalo envolvendo as ligações de hidrogênio em compostos descritos na literatura⁷⁶, contudo, o ângulo N–H $\cdots$ O apresenta-se um pouco maior do que aqueles presentes nesses compostos (150-160°)⁷⁶.

Análise térmica dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, X= Cl (1), N_3 (2), SCN (3) e NCO (4)

Com o intuito de se obter dados referentes ao comportamento térmico dos compostos, bem como subsidiar as propostas estequiométricas, foram obtidas as curvas TG desta série de compostos, e os mesmos também foram submetidos à investigação por DSC. A seguir são tecidos alguns comentários sobre cada uma das termodecomposições ilustradas na figura 17 e compiladas na tabela 8.

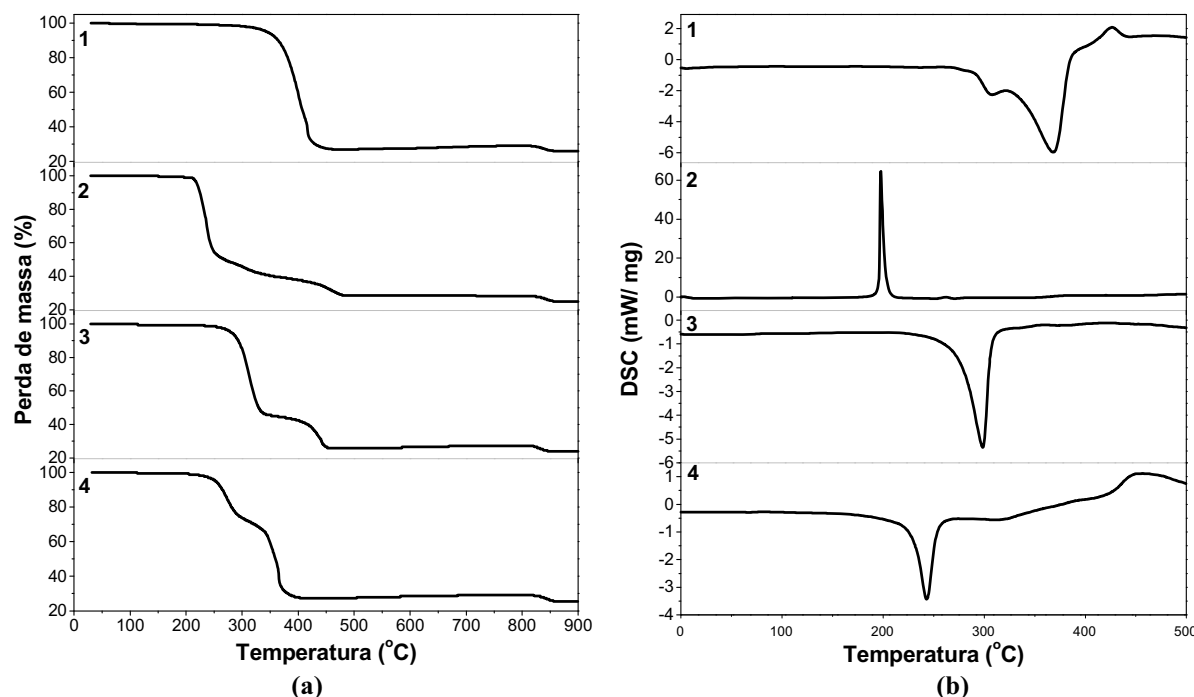


Figura 17. Curvas TG (a) e DSC (b) dos complexos sintetizados. $[\text{PdCl}_2(\text{isn})_2]$ **1** ($m_i = 3,23$ mg), $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$ **2** ($m_i = 1,89$ mg), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{isn})_2]$ **3** ($m_i = 1,51$ mg) e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\text{isn})_2]$ **4** ($m_i = 1,61$ mg).

Tabela 8. Dados referentes à análise térmica dos complexos de fórmula $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, X= Cl (**1**), N_3 (**2**), SCN (**3**) e NCO (**4**).

Complexo	Etapa	$\Delta T/ ^\circ\text{C}$	$\Delta m/ \%$		DSC/ $^\circ\text{C}$		Atribuição
			Obt.	Calc.	endo	exo	
1	1	320 – 457	-74,61	-74,76	322, 377	431	-2 isn, -2 Cl^-
	2	457 – 821	+2,17	+2,28			+0,3 O_2
	3	821 – 848	-2,17	-2,28			-0,3 O_2
	resíduo		25,39	25,24			Pd
2	1	220 – 825	-71,43	-71,84		219	-2 isn, -2 N_3^- , +0,5 O_2
	2	825 – 874	-3,70	-3,68			-0,5 O_2
	resíduo		24,87	24,48			Pd
3	1	281 – 446	-74,17	-75,14	305		-2 isn, -2 SCN^- , +0,3 O_2
	2	446 – 824	+1,32	+1,37			+0,2 O_2
	3	824 – 842	-3,31	-3,43			-0,5 O_2
	resíduo		23,84	22,80			Pd
4	1	255 – 401	-73,91	-73,68	255		-2 isn, -2 NCO^- , +0,25 O_2
	2	401 – 831	+1,86	+1,84		457	+0,25 O_2
	3	831 – 849	-3,73	-3,68			-0,50 O_2
	resíduo		24,22	24,48			Pd

A curva referente ao complexo **1** mostra que o mesmo se decompõe em três etapas. Na primeira ocorre a perda de duas moléculas de isonicotinamida e de dois grupos Cl^- . Percebe-se a ocorrência de um ganho de massa numa segunda etapa, atribuído à incorporação de O_2 . Na sequência, esta mesma massa é perdida, dando origem a paládio metálico, o que é confirmado pela análise de DRX do resíduo⁷⁸, como ilustrado na figura 18 Esta figura é representativa também para os demais resíduos finais formados.

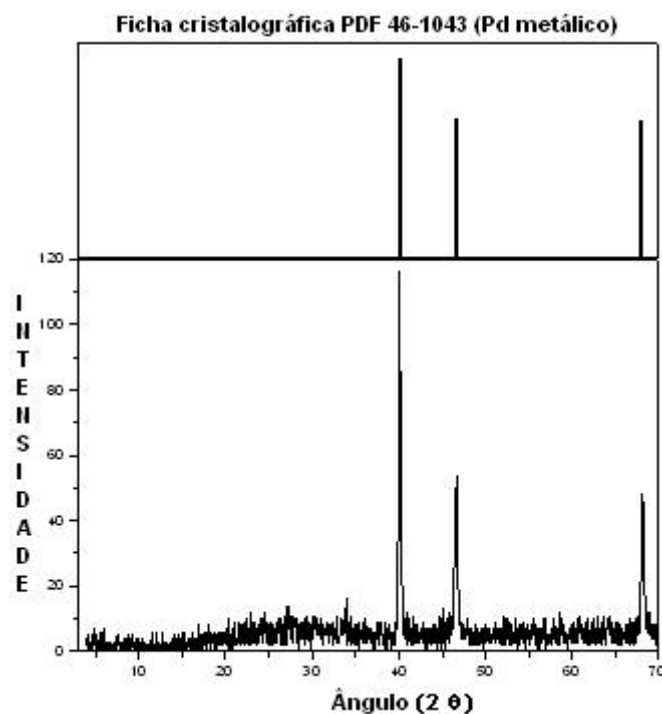


Figura 18. DRX do resíduo final da termodecomposição do complexo **1**. Ficha cristalográfica usada como padrão comparativo (a) e (b) DRX obtido.

Para o complexo **2** a saída dos ligantes seguida da formação de PdO ocorre em única etapa e, em seguida, forma-se Pd mediante decomposição do PdO.

O composto **3** apresenta a perda de seus ligantes em uma etapa, originando, posteriormente, uma possível mistura de Pd e PdO. Na segunda etapa o ganho de massa refere-se a formação de PdO. A perda de massa, atribuída à saída de O₂ na terceira etapa, conduz à formação de Pd.

Uma etapa de perda de massa é indicativa da saída dos ligantes no complexo **4**. Numa etapa seguinte ocorre a formação de PdO e por fim, a última etapa é condizente com a formação de paládio metálico.

Os picos endotérmicos presentes nas curvas DSC, referentes aos complexos **1**, **3** e **4**, podem também sugerir a liberação de matéria orgânica, estando de acordo com a saída dos ligantes na decomposição térmica exibida pelas curvas TG. O pico exotérmico em **2** pode indicar uma abrupta liberação de N₂, decorrente da decomposição dos ligantes azida presentes no complexo.

A estabilidade térmica é proposta referindo-se ao início de cada termodecomposição. Segundo as curvas TG, o complexo **1** sofre decomposição em temperatura mais elevada que os demais complexos. Em ordem, o complexo **3** é o segundo mais estável, seguido do **4** e do **2**. Coincidentemente o início das termodecomposições também pode ser observado pelas curvas DSC, que indicam uma mesma ordem de estabilidade: [PdCl₂(isn)₂] > [Pd(SCN)₂(isn)₂] > [Pd(NCO)₂(isn)₂] > [Pd(N₃)₂(isn)₂].

De posse das informações de microanálises, dos modos de coordenação propostos com base na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, da concordância estequiométrica fornecida pelas curvas termogravimétricas e pela analogia estrutural da série com o complexo **2** (estrutura resolvida por DRX de monocristal), sugere-se que as estruturas dos complexos sejam, no estado sólido, monômeros com configuração *trans*, como ilustrado na figura 19.

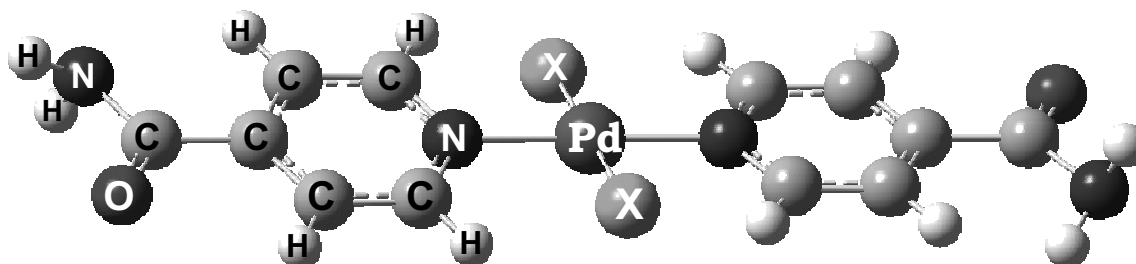


Figura 19. Proposta estrutural para os complexos *trans*-[PdX₂(isn)₂], X= Cl (**1**), N₃ (**2**), SCN (**3**) e NCO (**4**).

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da série *trans*- $[\text{PdX}_2(\text{isn})_2]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (1), N_3 (2), SCN (3) e NCO (4)

Esta série de complexos apresenta-se insolúvel na maioria dos solventes convencionais como água, etanol, metanol, propan-2-ol, diclorometano, clorofórmio e dietil-éter, tanto em temperatura ambiente quanto em temperaturas próximas da ebulição destes solventes. São pouco solúveis somente em dimetilformamida e em dimetilsulfóxido.

Sendo assim, o comportamento em solução destes complexos foi investigado com a obtenção de espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ empregando-se $\text{DMSO}-d_6$ como solvente e a temperatura ambiente. Para facilitar a atribuição dos deslocamentos químicos, presentes na tabela 9, seqüenciou-se numericamente os núcleos observados como indicado na figura 20.

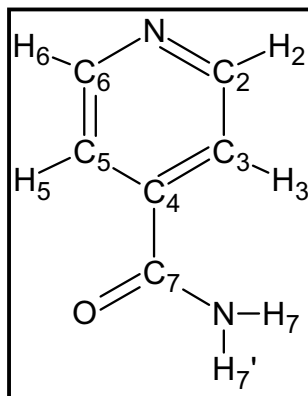
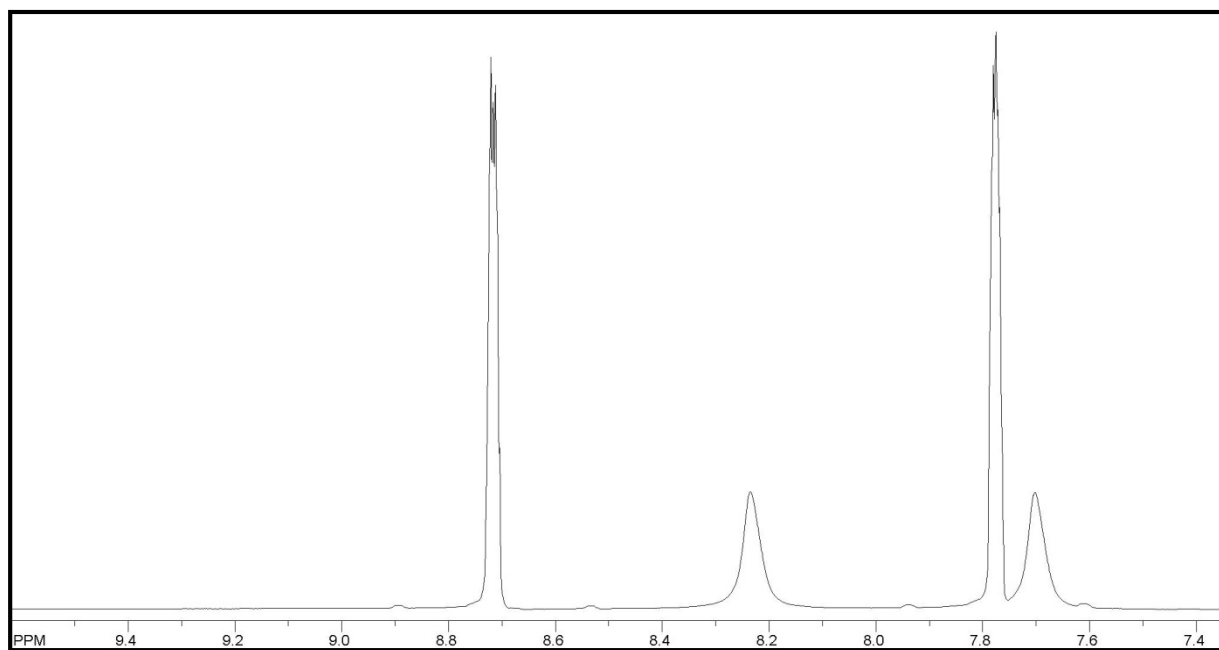
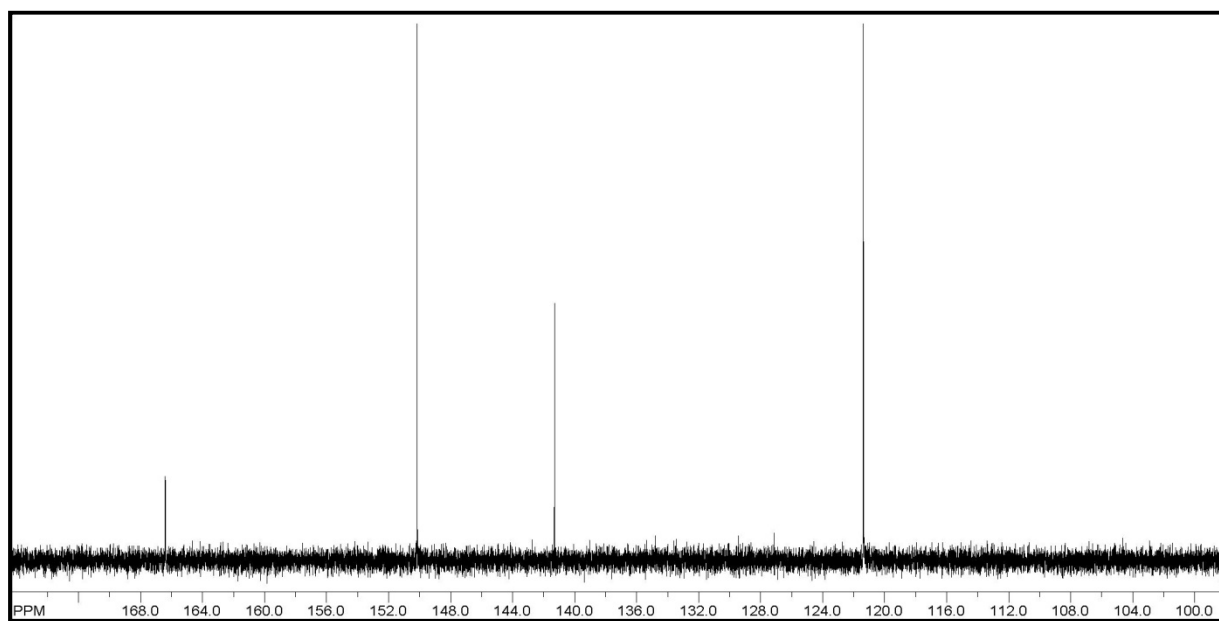


Figura 20. Numeração dos núcleos de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ presentes no ligante isn, empregada para a atribuição dos sinais de RMN.

Os espectros de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da isn livre e dos complexos desta série são apresentados nas figuras 21-25.

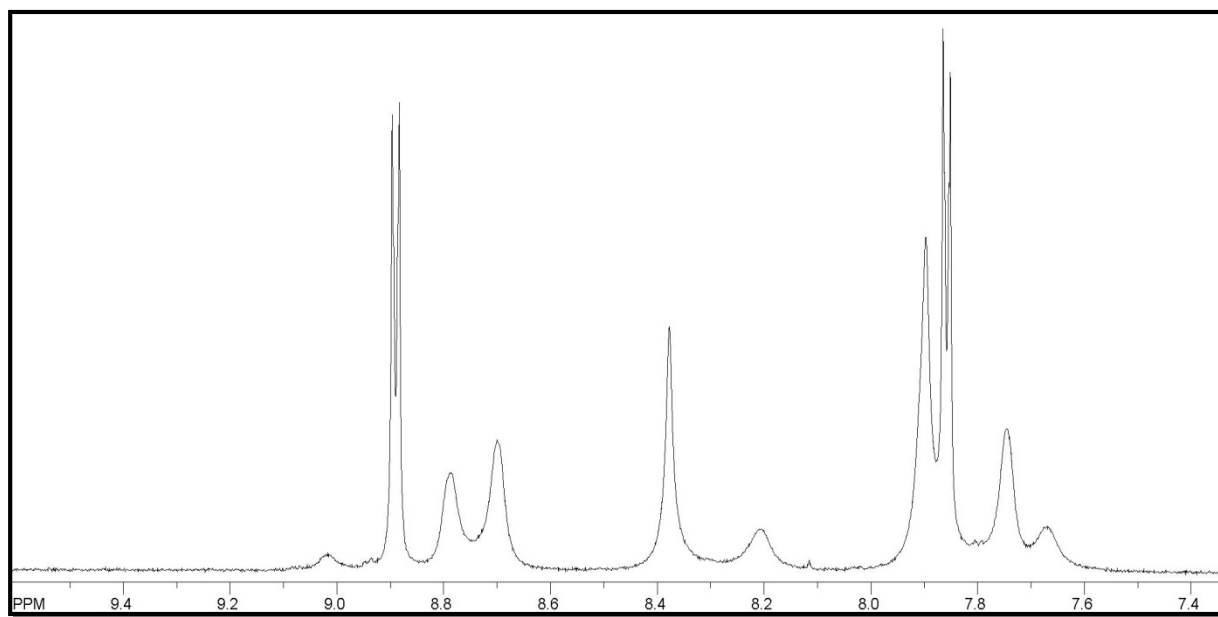


(a)

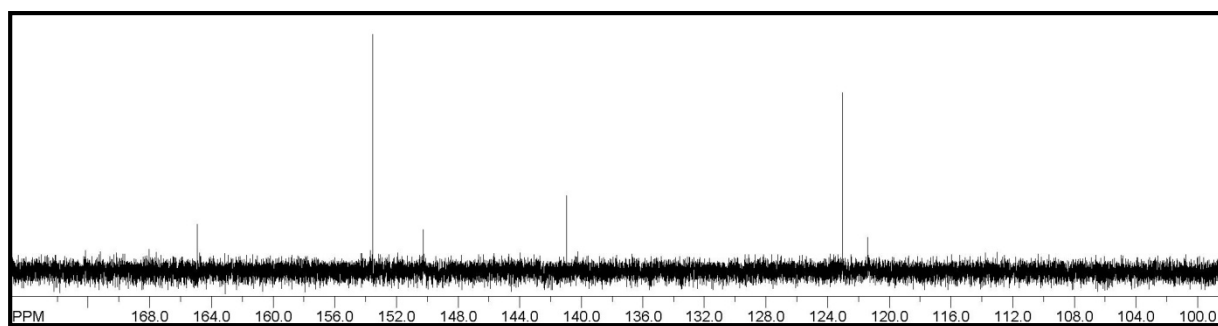


(b)

Figura 21. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) da isn livre em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos, δ , em ppm.

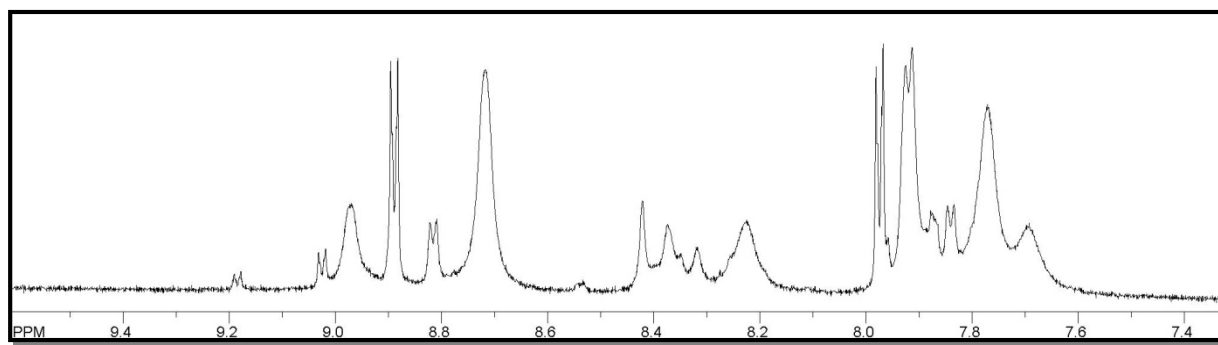


(a)

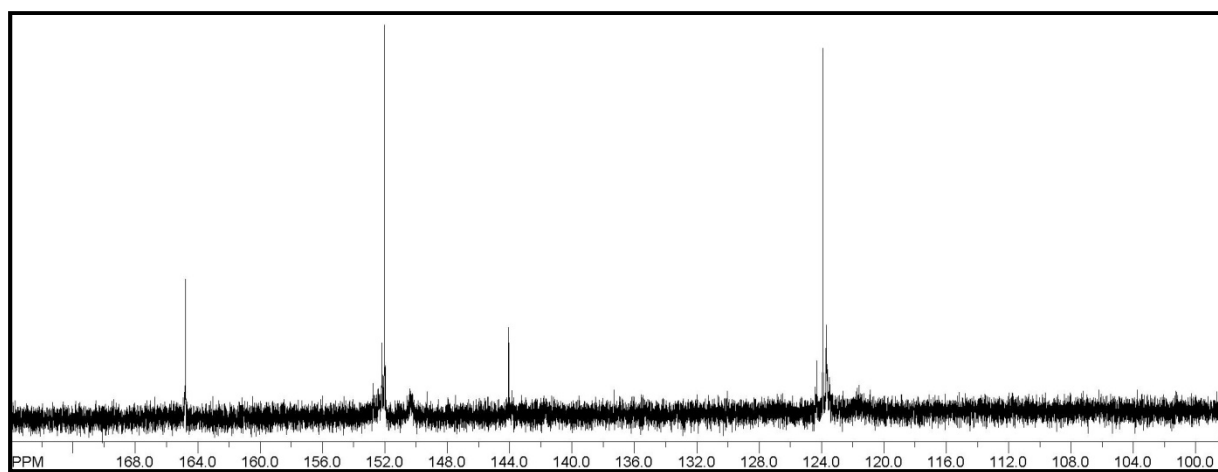


(b)

Figura 22. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo *trans*- $[\text{PdCl}_2(\text{isn})_2]$ em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos, δ , em ppm.

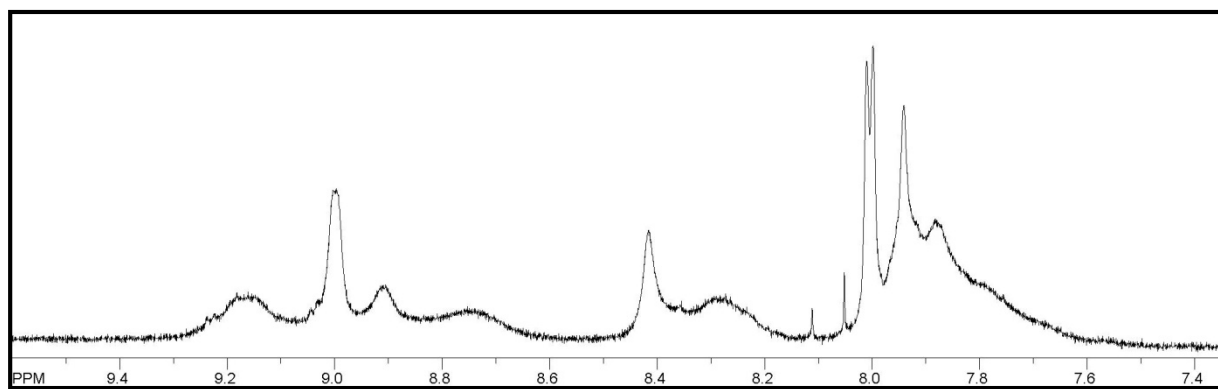


(a)

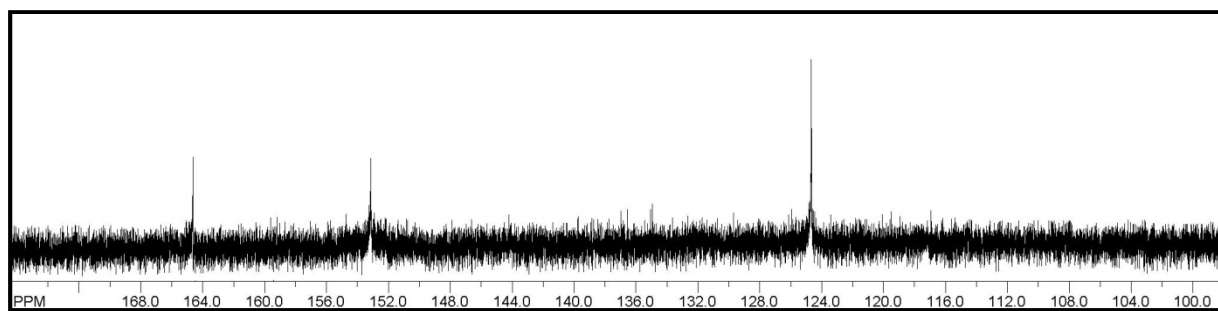


(b)

Figura 23. Espectros de RMN de ^1H (a) e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo *trans*- $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{isn})_2]$ em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos, δ , em ppm.

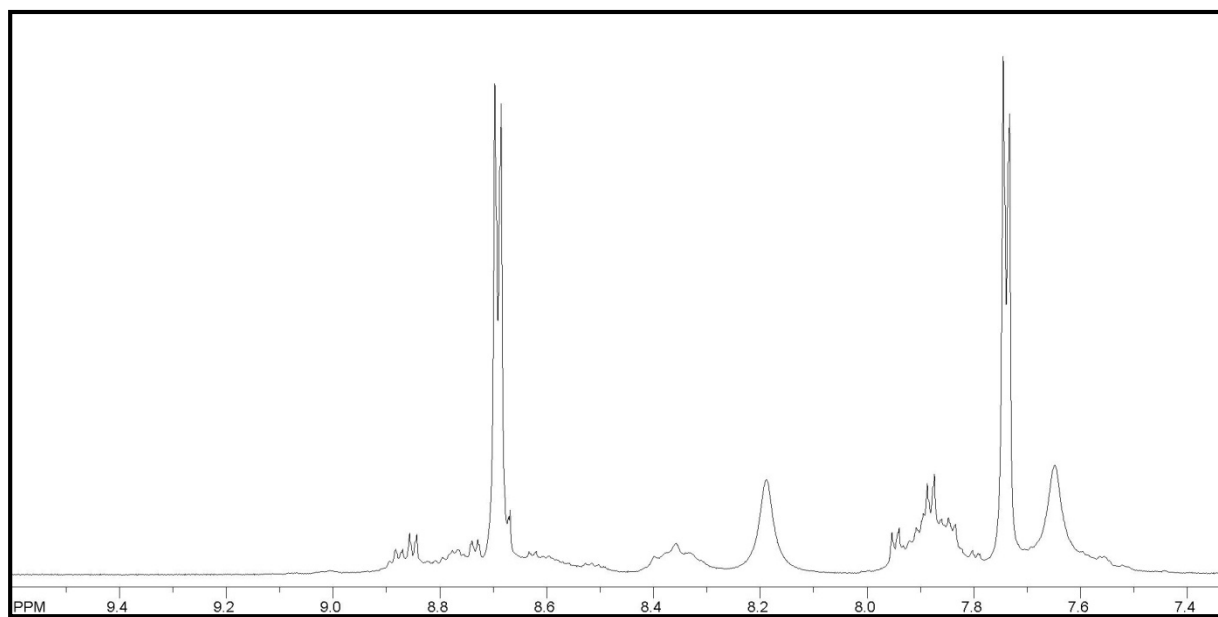


(a)

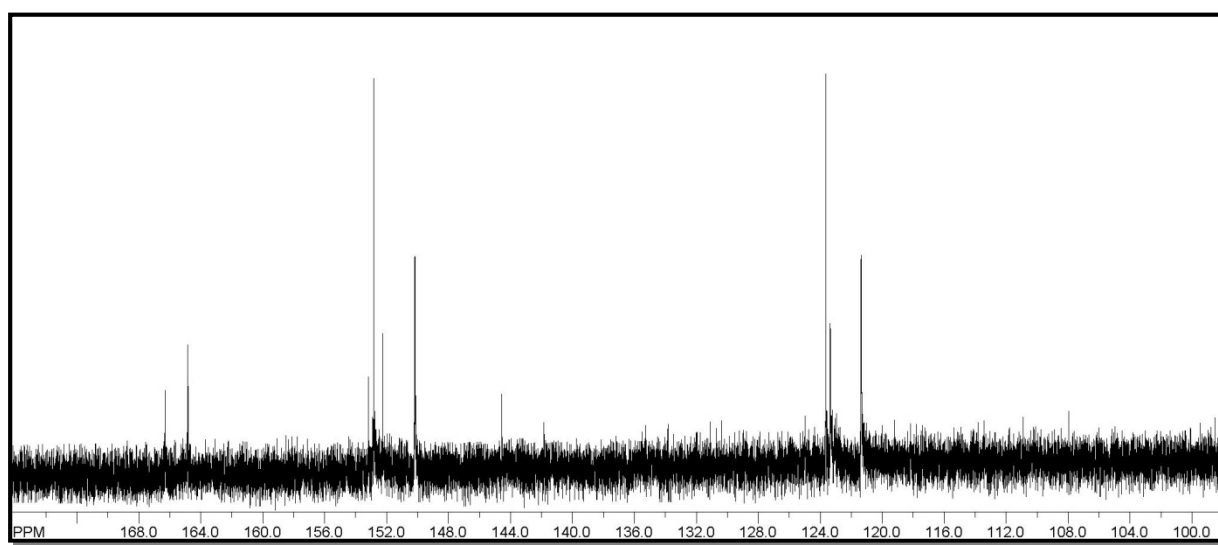


(b)

Figura 24. Espectros de RMN de ^1H (a) e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] em DMSO-*d*₆. Deslocamentos químicos, δ , em ppm.



(a)



(b)

Figura 25. Espectros de RMN de ^1H (a) e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo *trans*- $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\text{isn})_2]$ em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos, δ , em ppm.

Tabela 9. Atribuição dos deslocamentos químicos, δ (em ppm), presentes na isn livre e nos complexos obtidos.

Composto	Espécie	¹ H			
		H7'	H7	H6/ H2	H5/ H3
isn	—	8,23sl	7,70sl	8,71d (³ J = 5,97 Hz)	7,76d (³ J = 5,97 Hz)
[PdCl ₂ (isn) ₂]	1	8,38s	7,90s	8,89d (³ J = 6,67 Hz)	7,86d (³ J = 6,67 Hz)
	2	8,12s	7,67sl	8,79sl	7,75sl
[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂]	1	8,43s	7,77s	8,89d (³ J = 6,67 Hz)	7,97d (³ J = 6,67 Hz)
[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂]	1	8,40s	7,92s	9,00s	7,96d (³ J = 6,67 Hz)
[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂]	1	8,19s	7,65s	8,69d (³ J = 5,94 Hz)	7,74d (³ J = 5,95 Hz)
¹³ C{ ¹ H}					
		C7	C6/ C2	C5/ C3	C4
isn	—	166,39	150,16	121,38	141,30
[PdCl ₂ (isn) ₂]	1	164,93	153,53	123,02	141,00
	2	NO	150,22	121,36	NO
[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂]	1	164,77	152,03	123,91	144,06
[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂]	1	164,64	153,13	124,66	NO
[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂]	1	164,95	153,14	123,30	144,23

Multiplicidade: d= dublete, s= singlete, sl= singlete largo. Espécies: 1= correspondente à majoritária (complexo *trans*), 2= provável espécie na forma *cis*. NO= sinal não observado.

A maioria dos estudos de RMN envolvendo as amidas está relacionada ao caráter parcial da dupla ligação O=C–N do grupo amida. O caráter de ligação dupla surge da contribuição da forma canônica (a), figura 26, ao estado fundamental das amidas e responde pela (i) não equivalência magnética e geométrica dos grupos substituintes ligados ao átomo de nitrogênio; (ii) planaridade do grupo amida, o qual é um aspecto chave deste grupo funcional orgânico na determinação de muitas propriedades estruturais e (iii) grande barreira de rotação ao longo da ligação CN da amida⁷⁹.

A ocorrência de conjuntos de sinais separados em amidas do tipo R–C(O)NR₁R₂, R₁ = R₂, sob condições nas quais a rotação ao redor da ligação CN é lenta na escala temporal do RMN, é devido à anisotropia de susceptibilidade diamagnética da carbonila. Existe um diamagnetismo intenso (proteção) em regiões cônicas que se estendem acima e abaixo do plano do grupo amida, enquanto que regiões no plano deste grupo são paramagnéticas (desprotegidas).

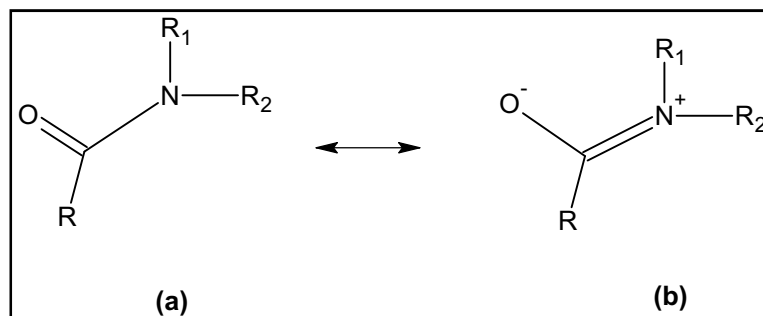


Figura 26. Formas canônicas de ressonância de amidas.

A isonicotinamida mostra um processo de permuta intramolecular mútua – troca entre duas formas quimicamente não-distinguíveis por intermédio de uma rotação da ligação CN, figura 27.

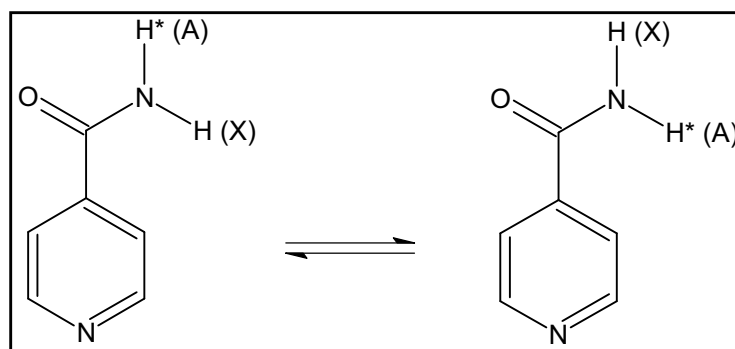


Figura 27. Equilíbrio entre formas quimicamente não-distinguíveis – permuta intramolecular.

Os dois isômeros interconvertidos por rotação em torno da ligação CN, com certo caráter π , são quimicamente idênticos (topômeros), figura 28.

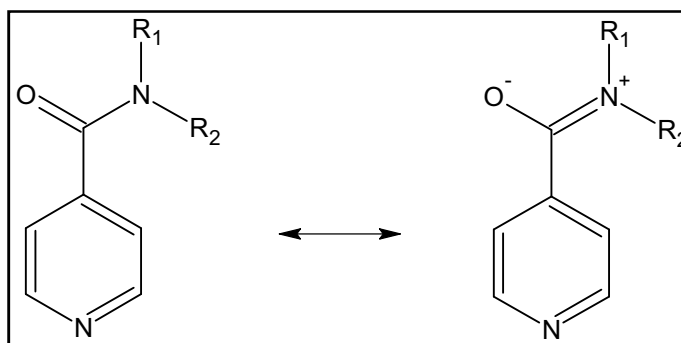


Figura 28. Topômeros.

À temperatura ambiente, o espectro de RMN de ^1H da isonicotinamida apresenta quatro sinais, dois dubletes em 8,71 e 7,76 ppm, associados aos átomos H-aromáticos, e dois sinais alargados em 8,23 e 7,70 ppm, correspondentes aos núcleos de ^1H das posições X e A, respectivamente.

A complexidade dos espectros de RMN de prótons dos derivados de fórmula geral *trans*-[PdX₂(isn)₂] depende da natureza do ligante aniônico X. No espectro do composto **1** (X = Cl), verifica-se a presença de dois conjuntos de sinais relacionados ao ligante isn, que podem ser atribuídos à presença de duas espécies em solução, provavelmente aos isômeros *trans* (espécie 1) e *cis* (espécie 2), em uma proporção 3:2, respectivamente. Espécie 1: 8,89d, 8,38sl, 7,90sl, 7,86d; espécie 2: 8,79sl, 8,12s, 7,75sl, 7,67sl, ppm.

Para o complexo **4** (X = NCO), observa-se apenas a presença de um conjunto de sinais (8,69d, 8,19s, 7,74d, 7,65sl, ppm), o que caracteriza a presença de uma espécie majoritária em solução.

Por outro lado, os compostos *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] e *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] apresentaram espectros de RMN muito mais complexos do que os de seus análogos *trans*-[PdCl₂(isn)₂] e *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂]. Nestes espectros, a maioria dos sinais encontra-se bastante alargada, o que se deve provavelmente a ocorrência de fenômenos de troca rápida.

Esta diferença espectral entre os complexos é melhor compreendida considerando algumas informações da espectroscopia no IV, referente ao modo νC=O. Os espectros no IV dos complexos *trans*-[PdCl₂(isn)₂] e *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂], possuem as bandas νC=O localizadas em 1705 e 1707 cm⁻¹, respectivamente. Já para os compostos *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] e *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂], este modo vibracional ocorre em frequências mais baixas, 1670 e 1674 cm⁻¹, respectivamente. Estes dados sugerem que o estado fundamental dos complexos *trans*-[PdCl₂(isn)₂] e *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] apresentam uma contribuição significativa da forma canônica (a), figura 26, enquanto que a forma canônica (b) deve estar mais relacionada aos compostos *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] e *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂].

Dependendo da forma canônica que apresenta a maior contribuição, a barreira de rotação ao longo da ligação CN entre outras podem ser influenciadas drasticamente, afetando assim a forma do sinal de RMN. Experimentos de RMN à baixa temperatura poderiam trazer informações importantes a respeito do processo dinâmico, em solução, associado a esses complexos. Contudo, esta série de compostos é pouco solúvel apenas em DMSO e, com isso, o abaixamento da temperatura para este tipo de experimento é inviável, visto que este solvente congelaria.

5 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

Os ensaios envolvendo os compostos frente à atividade antiproliferativa de células tumorais e a viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos, foram realizados no laboratório de Imunologia Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP, sob a supervisão da Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos.

A atividade antituberculostática dos compostos foi investigada pelo mestrando Fernando Rogério Pavan e pela Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite, ambos do laboratório de Micobacteriologia “Prof. Dr. Hugo David”, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP.

5.1 Linhagens celulares tumorais utilizadas

A atividade antiproliferativa dos complexos e da isonicotinamida foi investigada para duas linhagens: LM3 e LP07 – adenocarcinoma mamário e adenocarcinoma pulmonar, respectivamente; ambas cedidas pela Dra. Elisa Bal de Kier Joffé e pelo Dr. Lucas Colombo, professores do Instituto de Oncologia Angel H. Roffo da Universidade de Buenos Aires, Argentina.

O cultivo celular deu-se em meio *Eagle* modificado, MEM, mantido em frascos plásticos estéreis (Corning). Após o repique, determinou-se o número de células em câmara hemocitométrica tipo Neubauer, utilizando corante azul de Tripan a 0,04% em PBS – tampão fosfato, pH= 7,2 –, e ajustou-se a uma concentração de $5 \cdot 10^4$ células/ mL de MEM. Transferiu-se então um volume celular que mantivesse tal concentração para tubos cônicos estéreis (Corning), contendo 100 mL de meio MEM previamente suplementado com 50 μ L de gamicina (80 mg/ mL) e 10 mL de soro fetal bovino, que passou a ser denominado MEM-completo, MEM-C. As figuras 29 e 30 ilustram algumas das passagens envolvendo a preparação das linhagens celulares testadas.

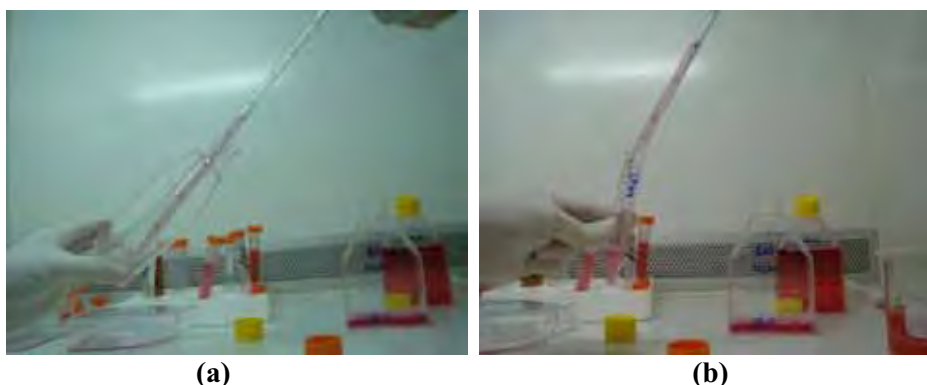


Figura 29. Preparação das linhagens celulares. Cultivo das células em frascos plásticos e o repique (a). Transferência para tubos cônicos para posterior contagem (b).

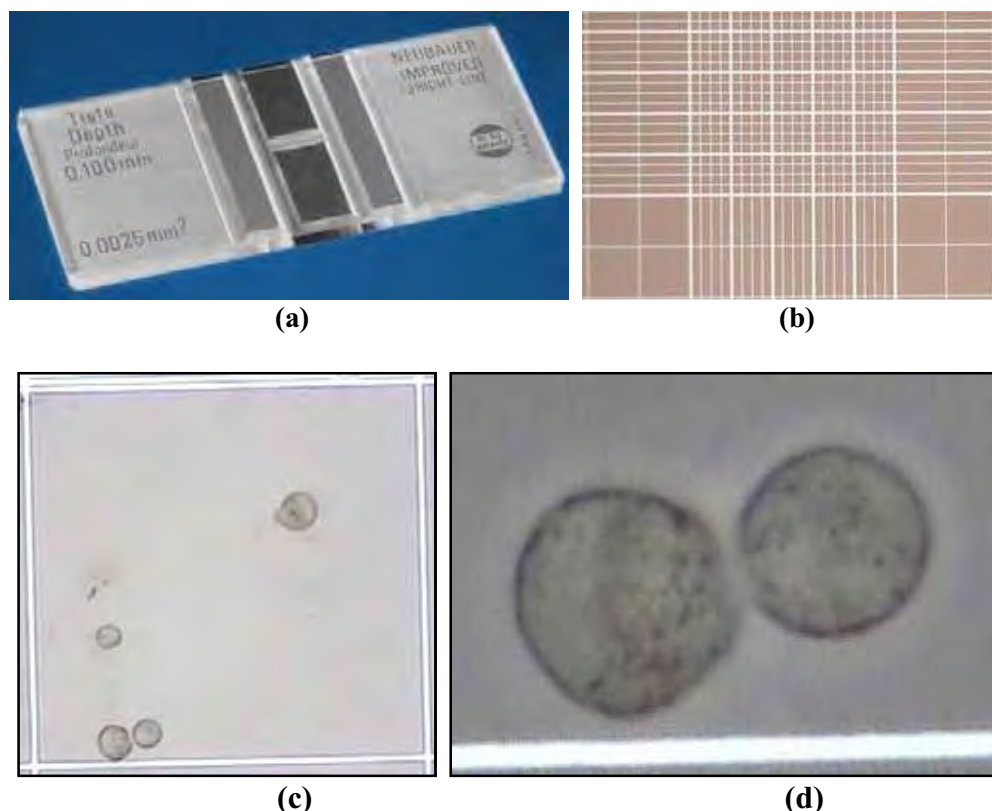


Figura 30. Câmara de Neubauer (a) e uma ampliação dos quadrantes (40 x) onde ocorrem as contagens celulares (b). Microfotografia representativa das células (LP07), com ampliação de 320 vezes (c) e, em (d), uma ampliação destas células (800 x).

5.2 Determinação da atividade antiproliferativa

O crescimento tumoral, na presença do composto testado, foi quantificado pela capacidade das células vivas reduzirem quimicamente o sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,4-difeniltetrazólio, MTT⁸⁰ (Across Organics). As células foram adicionadas em placas (Corning) contendo noventa e seis poços (200 μ L em cada poço) e mantidas incubadas a 37°C, por 24 h, em estufas com atmosfera controlada a 5% de CO₂, para a formação de “tapetes” celulares. Transcorrido este tempo, descartou-se a solução sobrenadante e adicionou-se os compostos a serem testados (200 μ L em cada poço), exceto nas cavidades estabelecidas para o controle, preenchidas com 200 μ L de MEM-C. As concentrações variaram de 500-200 μ mol/ L para os complexos, de 6000-600 μ mol/ L para a isonicotinamida livre e de 100-10 μ mol/ L para a cisplatina, aproximadamente. As várias concentrações foram derivadas de soluções-mães, preparadas pela solubilização das amostras em DMSO, de tal modo que cada solução-mãe contivesse 4% deste solvente numa relação volume/ volume para o meio de cultura MEM-C. Conseqüentemente, a diluição mais concentrada de cada amostra testada apresentava no máximo 1% de DMSO, o que não foi significativo para induzir a morte das células tumorais.

Posteriormente à adição dos compostos, manteve-se as placas em estufa por mais 24 h, sob as mesmas condições. Ao término deste período, descartou-se o sobrenadante de cada placa e 100 μ L de uma solução de MTT foi acrescida a cada poço. Após 3 h, o conteúdo sobrenadante foi novamente desprezado e 100 μ L de propan-2-ol (Mallinkrodt) foram adicionados em cada cavidade para dissolver os sais de formazana formados (a partir da redução do MTT). Efetuou-se, em seguida, a leitura das absorbâncias das microdiluições obtidas, que se correlacionam com as concentrações do sal de formazana obtido. Essas leituras foram realizadas em um espectrofotômetro UV/visível Multiskan Ascent da Labsystems, em comprimento de onda de 540 nm e filtro de referência 620 nm. Na figura 31 são ilustrados os passos envolvendo os testes das atividades antiproliferativas das células tumorais.



(a)



(b)



(c)

Figura 31. Células adicionadas em placas de 96 orifícios (a), estufa de incubação das células (b) e o equipamento onde ocorreram as leituras para a determinação das atividades dos compostos, frente às linhagens tumorais (c).

A concentração de cada composto capaz de matar ou manter 50% das células tumorais vivas – índice de citotoxicidade 50%, IC_{50} – foi determinada pela capacidade das células de reduzirem quimicamente o MTT.

Os resultados são representativos de três experimentos independentes e estão apresentados, na tabela 10, como valores médios $\pm$ o desvio padrão de triplicatas. Estes dados foram estatisticamente analisados por regressão linear, com limite de confiança de 95%, empregando-se equações de reta obtidas pelo programa computacional Microcal Origin 5.0TM, figuras 32 e 33.

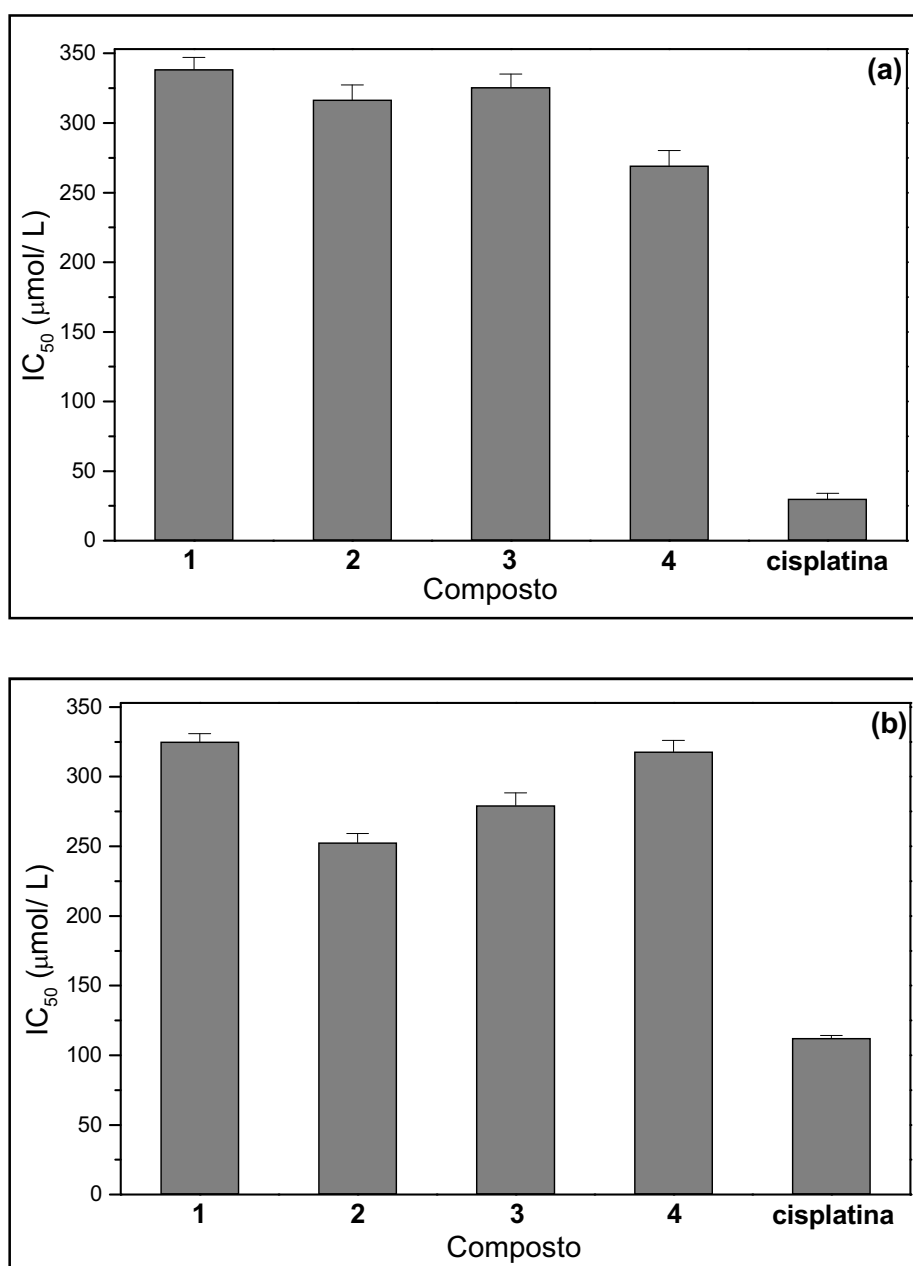


Figura 32. Índices de citotoxicidade para os experimentos envolvendo a linhagem tumoral LM3 (a) e LP07 (b), onde 1, 2, 3 e 4 representam os complexos, e a cisplatina foi usada como padrão.

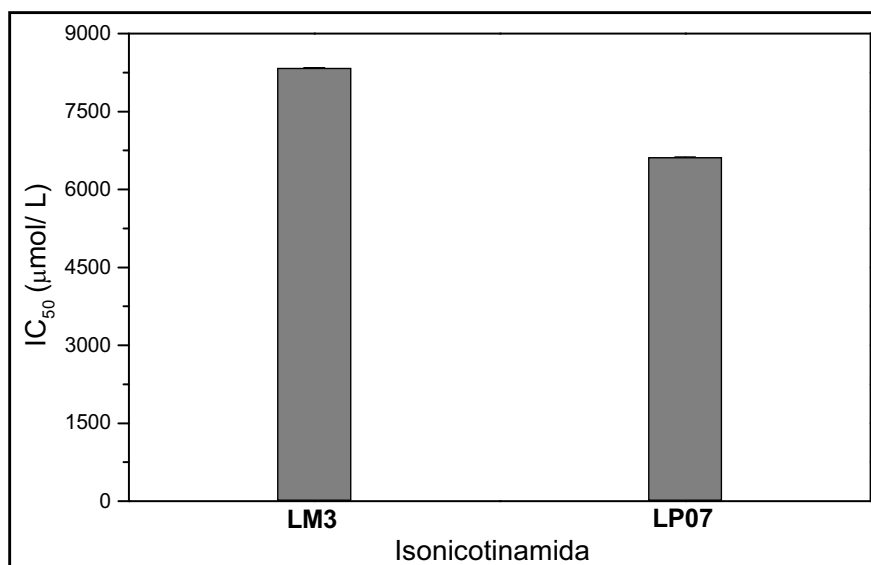


Figura 33. Índices de citotoxicidade para os experimentos envolvendo o ligante isonicotinamida livre, frente a linhagem LM3 e LP07.

Tabela 10. IC₅₀ dos complexos e da isn livre frente às linhagens de células tumorais.

Composto	IC ₅₀ (μmol/ L)	
	LM3	LP07
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (1)	338,58 ± 8,60	325,06 ± 5,89
<i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (2)	316,71 ± 10,52	252,81 ± 6,33
<i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (3)	325,73 ± 9,47	279,51 ± 8,88
<i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	269,48 ± 10,74	317,93 ± 8,14
Isonicotinamida	8341,02 ± 5,89	6624,97 ± 2,06
* Cisplatina	30,26 ± 3,72	112,45 ± 1,89

* Droga padrão.

Todos os índices de citotoxicidade apresentados pelos compostos estiveram acima dos valores obtidos para a cisplatina – droga padrão. No caso das células LM3, os valores encontrados para os complexos mostram-se de nove a onze vezes, aproximadamente, mais elevados do que a cisplatina. Para as células tumorais LP07, os valores de IC₅₀ apresentam-se de duas a três vezes maiores que a cisplatina, aproximadamente, sendo, portanto, um pouco mais eficazes contra esta segunda linhagem. Já o ligante livre, praticamente não possui atividade contra as duas linhagens testadas.

Apesar da citotoxicidade destes compostos serem inferiores a da cisplatina, verifica-se que o comportamento dos complexos se difere para cada tipo de carcinoma. Diante disto, a ação dos mesmos pode ser avaliada com outros grupos celulares, podendo exibir resultados mais satisfatórios.

Ainda, no emprego de uma substância química contra algum tipo de câncer, não basta que a mesma seja extremamente citotóxica. Ela deve ser seletiva, ou seja, ser letal contra as

células cancerosas e pouco agressiva contra as sadias. Por isso, avaliar os compostos frente a células de defesa de mamíferos, como os macrófagos, é pertinente para saber da existência ou não de seletividade.

5.3 Viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos

Animais

Foram utilizados lotes de camundongos isogênicos Balb/c fêmeas com 4-6 semanas de vida, pesando entre 18 e 25 g cada, adquiridos do biotério do Centro Multidisciplinar para a Investigação Biológica - CEMIB, UNICAMP.

Estes foram mantidos em gaiolas de policarbonato, com água e ração abundantes, em local climatizado ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $56 \pm 2\%$ de umidade relativa do ar) e controle de claro e escuro a cada 12 h. Água, ração e maravalha foram sempre autoclavadas antes do uso. Todos os procedimentos envolvendo estes animais foram conduzidos em acordo com o parecer do Comitê de Ética local da FCF.

Extração dos macrófagos

Os camundongos foram estimulados a produzir os macrófagos – um dos tipos de células de defesa – pela inoculação intraperitoneal de 3,0 mL de tioglicolato de sódio a 3%, três ou quatro dias antes de serem sacrificados.

O sacrifício ocorreu por asfixia sob clorofórmio. Os animais foram então deitados em decúbito dorsal, tendo a pele da região abdominal retirada. Em seguida, inoculou-se 5 mL de PBS intraperitonealmente, massageou-se todo o peritônio para a homogeneização interna desta solução e, por fim, o líquido peritoneal foi coletado com a mesma seringa e agulha empregadas na injeção de PBS. O líquido foi então transferido para um tubo cônico estéril e centrifugado a 2000 rpm por 5 min. O sedimento celular obtido foi lavado com três alíquotas de 3 mL de PBS. Ao final desta etapa, as células de defesa obtidas foram ressuspensas em meio de RPMI-1640-completo, RPMI-C [RPMI-1640 (Aldrich), estreptomicina (100 U/ mL), glutamina (2 mmol/ L), mercaptoetanol (50 mmol/ L), penicilina (100 U/ mL) e 5% de soro fetal bovino], e contadas em câmara de Neubauer, utilizando-se corante de Lázarus.

As culturas celulares obtidas de cada camundongo foram então ajustadas para uma concentração de $5 \cdot 10^6$ células/ mL de RPMI-C. A coleta e a forma de contagem das células são mostradas na figura 34.

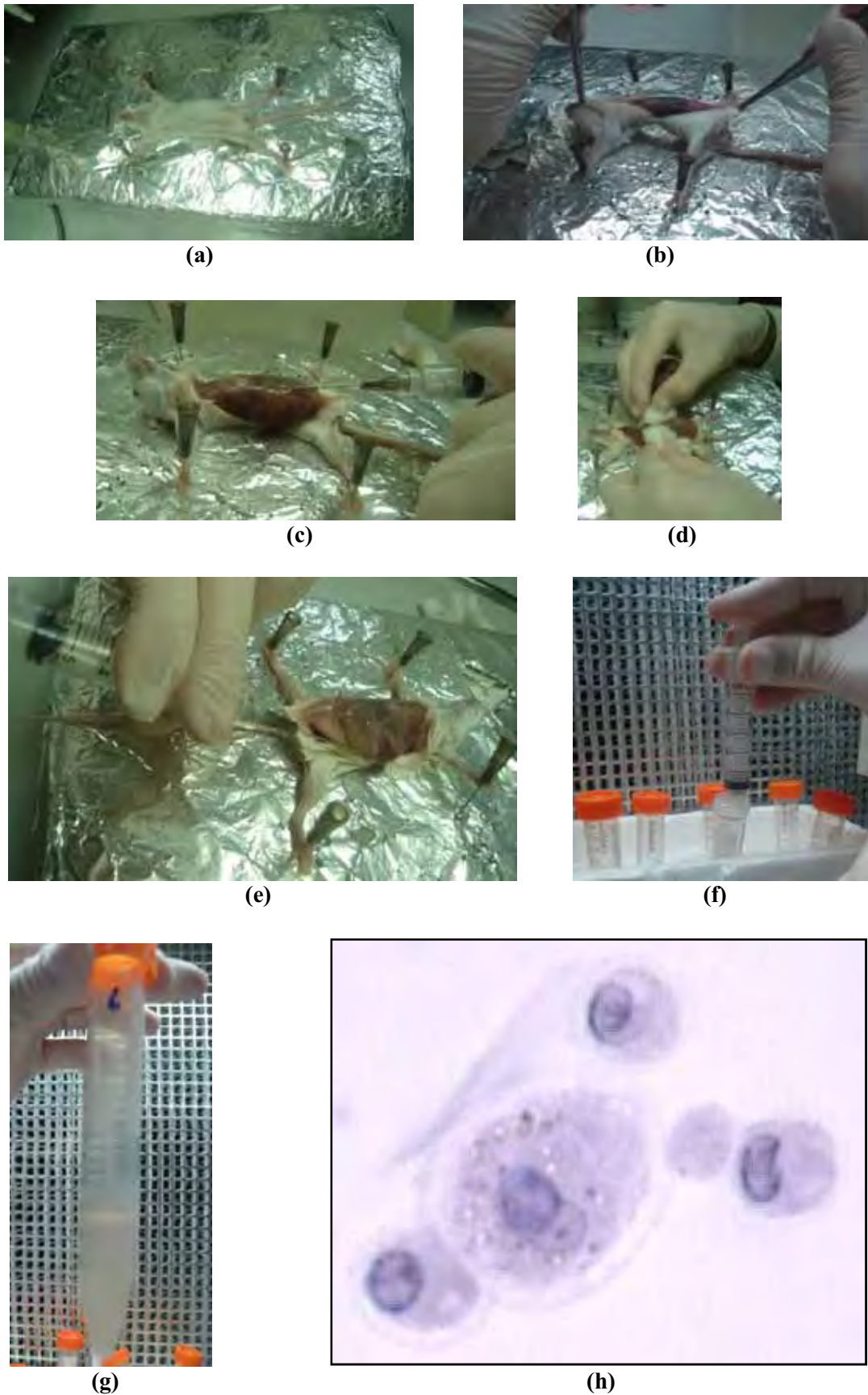


Figura 34. Extração dos macrófagos dos camundongos. Posição decúbito dorsal (a), para a abertura do peritônio (b). Injeção de PBS (c) e massagem (d) para a homogeneização deste veículo, e a posterior retirada do exsudado peritoneal (e). Transferência do exsudado para tubos cônicos (f), que, após lavagens e centrifugações (g), foram destinados para a contagem dos macrófagos (em detalhe na microfotografia) (h).

As diluições das amostras testadas frente aos macrófagos apresentavam concentrações de 500-200 $\mu\text{mol/L}$ para os complexos, de 6000-600 $\mu\text{mol/L}$ para a isonicotinamida livre e de 100-10 $\mu\text{mol/L}$ para a cisplatina, aproximadamente. As soluções-mães foram preparadas similarmente àquelas empregadas frente as linhagens tumorais, exceto pela adição do meio RPMI-C. As diluições mais concentradas das amostras testadas apresentavam no máximo 1% de DMSO, o que também não foi significativo para induzir a morte das células de defesa.

Determinação dos índices de citotoxicidade para macrófagos

100 μL das diluições a serem testadas e o mesmo volume das suspensões celulares foram introduzidos em cada poço de placas (Corning) contendo noventa e seis orifícios. Numa seqüência destes poços, adicionou-se somente 200 μL de células em meio RPMI-C (controle negativo). Mantiveram-se as placas incubadas a 37°C, por 24 h, em estufas com atmosfera controlada a 5% de CO_2 , para a formação de “tapetes” celulares. Transcorrido este tempo, desprezou-se as soluções sobrenadantes e adicionou-se 100 μL de solução MTT, diluída em tampão PBS 5 mg/mL, em cada cavidade. Após 3 h, o conteúdo sobrenadante foi novamente descartado e 100 μL de propan-2-ol foram adicionados em cada cavidade para dissolver os sais de formazana formados.

Efetuuou-se então a leitura das absorbâncias das soluções em espectrofotômetro UV/visível com comprimento de onda de 540 nm e filtro de referência 620 nm. A partir das absorbâncias foram calculadas as concentrações dos compostos, que atuaram na redução do sal de MTT.

Os resultados obtidos correspondem a ensaios realizados em três dias diferentes e são exibidos, na tabela 11, como a média de triplicata $\pm$ o desvio padrão.

O tratamento destes dados envolveu um limite estatístico de confiança de 95%, por meio de equações de reta geradas pelo software Microcal Origin 5.0TM, figura 35.

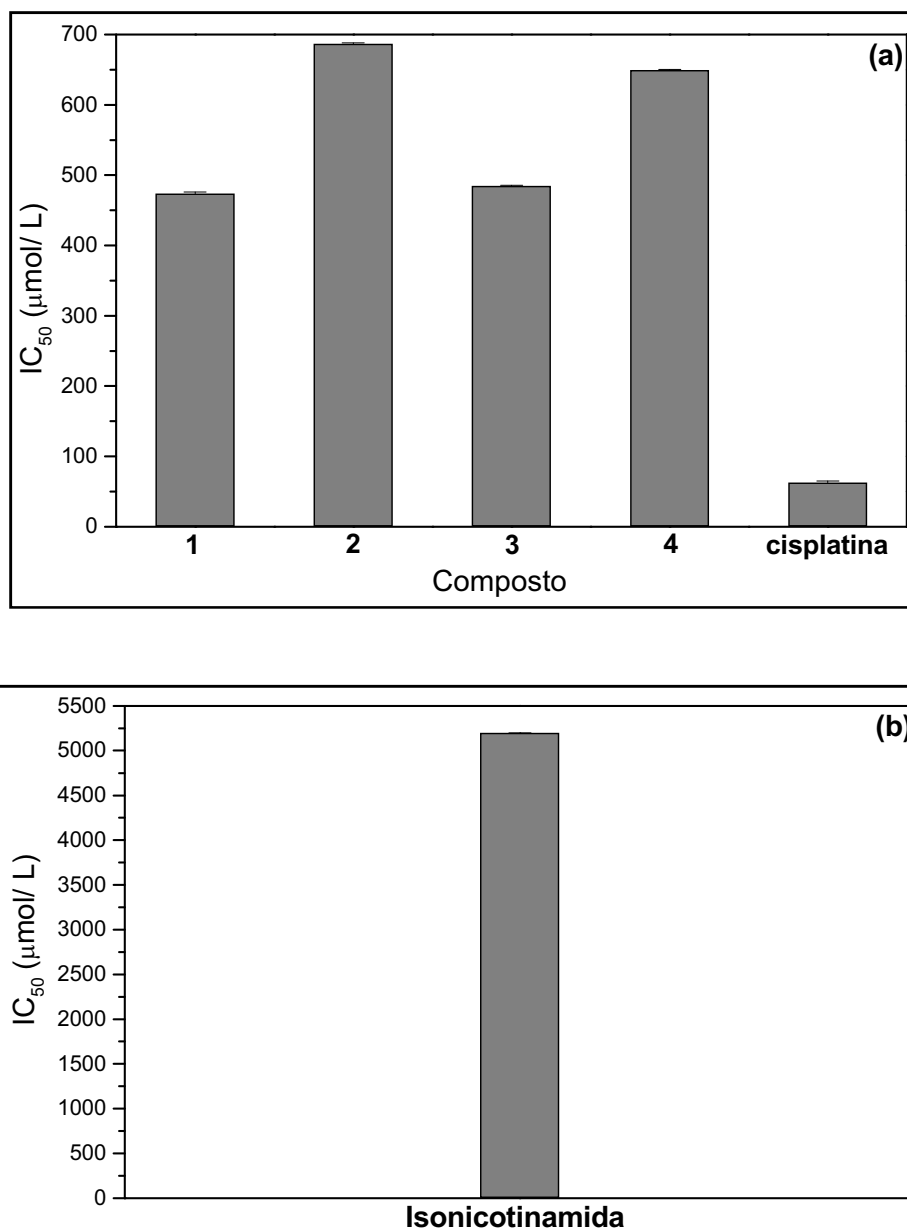


Figura 35. Índices de citotoxicidade para os experimentos de viabilidade celular de macrófagos, onde (a) representa os complexos 1 - 4 e a cisplatina, e em (b) representa-se a isonicotinamida livre.

Tabela 11. IC₅₀ dos compostos frente aos macrófagos peritoneais.

Composto	IC ₅₀ (μmol/ L)
	Macrófago
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (1)	473,49 ± 2,31
<i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (2)	686,77 ± 1,11
<i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (3)	484,63 ± 0,96
<i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	649,39 ± 0,80
Isonicotinamida	5197,80 ± 1,57
* Cisplatina	62,88 ± 2,14

* Droga padrão.

De acordo com os dados obtidos frente aos macrófagos, todos os compostos testados apresentam-se menos agressivos para estas células de defesa, quando comparados à cisplatina. Os complexos são, aproximadamente, 7,5-11 vezes menos tóxicos aos macrófagos. Dentre os complexos, os mais viáveis seriam o **2** e o **4**, que contém, respectivamente, os pseudo-haletos azida e cianato. Estes são cerca de 11 e 10 vezes menos letais às células de defesa.

Considerando a relação IC_{50} dos macrófagos e IC_{50} das linhagens, pôde-se estabelecer o índice de seletividade, IS, dos compostos avaliados. A tabela 12 aponta esses índices.

Tabela 12. Relação $IC_{50}(\text{macrófago})$ e $IC_{50}(\text{composto})$ para a avaliação da seletividade dos mesmos.

Composto	IS ($IC_{50}(\text{macrófago}) / IC_{50}(\text{composto})$)	
	LM3	LP07
1	1,40	1,46
2	2,17	2,72
3	1,49	1,73
4	2,41	2,04
isn	0,62	0,78
cisplatina	2,08	0,56

Levando em consideração os IS, todos os complexos mostraram-se minimamente seletivos, destacando-se novamente o **2** e o **4**, por exibirem maior seletividade contra as duas linhagens avaliadas. Percebe-se também que a seletividade da cisplatina é muito baixa para a linhagem LP07. Isto é concordante com a literatura, na qual se menciona a resistência de cânceres pulmonares ao tratamento com a cisplatina⁸¹.

Ao se estabelecer, ainda, uma relação entre os IS dos compostos e os IS da cisplatina, pudemos encontrar a potencialidade efetiva destes compostos frente aos adenocarcinomas testados. Estas relações seguem inseridas no gráfico da figura 36.

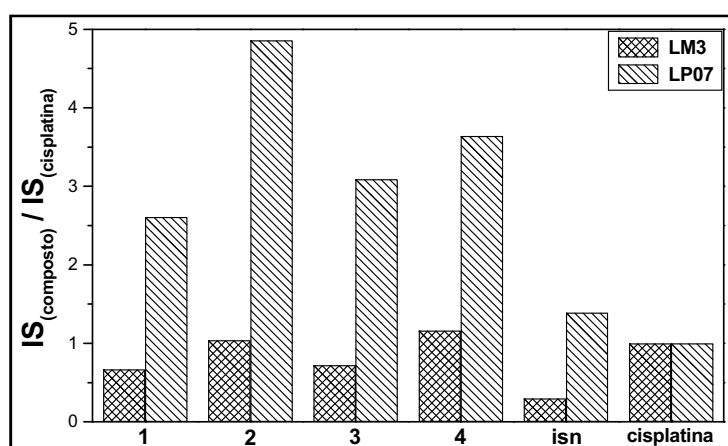


Figura 36. Relação envolvendo os índices de seletividade (IS) dos compostos com a cisplatina, demonstrando a ação efetiva dos mesmos.

Nota-se, segundo o gráfico da figura 33, que somente os compostos **2** e **4** foram mais seletivos contra a linhagem de mama LM3. Para a linhagem pulmonar LP07, todos os complexos inclusive o ligante livre superam a seletividade da cisplatina. Cabe destacar que para essa segunda linhagem os complexos **2** e **4** são também os mais efetivos, e mostram-se de 3,5 a 5 vezes, aproximadamente, mais seletivos que a cisplatina contra o adenocarcinoma pulmonar avaliado.

5.4 Atividade antituberculose dos complexos

O tratamento da tuberculose é longo e leva de seis meses – casos novos – até um ano e meio – para casos reincidentes. O paciente ingere diariamente um coquetel de drogas, dentre as quais, isoniazida e pirazinamida. O coquetel, no entanto, provoca inúmeros efeitos colaterais⁸², por isso, buscam-se drogas sintéticas menos tóxicas e mais eficazes contra a tuberculose.

Motivados pelas aplicações biológicas dos complexos de paládio(II) já relatadas e por alguns testes envolvendo complexos contendo outros centros metálicos⁸³⁻⁸⁵, buscou-se, neste trabalho, avaliar as potencialidades dos complexos preparados para a inibição das micobactérias causadoras da tuberculose.

Os complexos foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento do bacilo *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC-27194. Os testes foram realizados em triplicata, com as amostras solubilizadas em dimetilsulfóxido e testadas segundo os procedimentos de MABA (*Microplate Alamar Blue Assay*)⁸⁶. Os valores encontrados para a concentração inibitória mínima, CIM, foram obtidos por medidas de luminescência, relacionados à variações de intensidade de cor do revelador resazurina, em microfluorímetro SpectraFluor Plus da TECAN®, e são apresentados na tabela 13. Eles representam a menor concentração da amostra capaz de impedir a multiplicação das micobactérias, eliminando, no mínimo, 90% das mesmas.

Tabela 13. CIM dos complexos, dos sais de pseudo-haletos e da isn livre frente a *Mycobacterium tuberculosis*.

Composto	CIM ($\mu\text{mol/L}$)
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (1)	296,5
<i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (2)	35,89
<i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (3)	267,8
<i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	287,5
NaN ₃	599,9
NaSCN	1542
KNCO	1541
Isonicotinamida	> 2047
* Pirazinamida	406,1-812,2

* Droga padrão⁸⁷.

Nota-se que os valores de CIM para os complexos são bem menores quando comparados ao valor da isonicotinamida livre e os sais dos pseudo-haletos.

Não se sabe os mecanismos de atuação destes compostos isoestruturais, mas percebe-se que a junção entre os ligantes e o paládio confere aos complexos uma ação considerável contra as bactérias. Todos os complexos possuem CIM menor que o da droga padrão, a pirazinamida, porém cabe destacar o composto **2**, *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂], que mostrou-se muito eficaz na inibição da *Mycobacterium tuberculosis*.

Dos valores encontrados para os pseudo-haletos, o sal NaN₃ apresenta um valor de CIM aproximadamente 2,5 vezes menor que o dos outros. Pela grande diferença de CIM entre os complexos pode-se, pelo menos, afirmar que a espécie química nociva aos bacilos da tuberculose, gerada a partir do complexo **2**, é distinta das espécies derivadas dos demais complexos.

Seria relevante estudar de modo mais profundo o comportamento em solução do complexo **2**, para se confirmar a presença ou não de outras espécies, bem como conhecer a estrutura eletrônica (densidade de cargas, ocupação dos orbitais HOMO e LUMO) deste e dos demais complexos, para se estabelecer alguma relação estrutura-atividade.

Diante de tudo isto, abre-se uma nova vertente de possíveis aplicações biológicas de complexos de paládio(II), uma vez que testes antituberculosos envolvendo complexos contendo o referido metal não foram descritos até então na literatura e os valores encontrados neste trabalho são relativamente promissores.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

São apresentados neste trabalho quatro complexos de paládio(II): *trans*-[PdX₂(isn)₂], X= Cl (**1**), N₃ (**2**), SCN (**3**) e NCO (**4**), isn = isonicotinamida. A caracterização destes por análise elementar, IV, termogravimetria e difração de raios X de monocristal (**2**), foram imprescindíveis para se propor as estruturas moleculares e elucidar a coordenação dos ligantes ao centro metálico, no estado sólido. As curvas TG reforçaram as propostas sugeridas pelas microanálises e IV, indicando também as etapas das termodecomposições. Para o complexo **2** houve duas etapas de decomposição e para os demais complexos três. Em todos os casos foi gerado Pd como resíduo final. Ainda, estabeleceu-se a ordem de estabilidade térmica desta série: *trans*-[PdCl₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] > *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂].

A conexão destas técnicas direcionou propor a formação de monômeros, nos quais o átomo de paládio encontra-se coordenado com as moléculas de isonicotinamida (*trans*) mediante os nitrogênios piridínicos. Os ligantes cloro e pseudo-haletos se coordenam ao Pd²⁺ de modo terminal; azida e cianato via nitrogênio e o tiocianato pelo átomo de enxofre.

A estrutura resolvida por difração de raios X de monocristal do complexo **2** é centrossimétrica, possui a estereoquímica *trans* e a geometria ao redor do paládio é quadrado-planar. Destaca-se a presença de arranjos bidimensionais em relação às ligações de hidrogênio do tipo N-H...O, gerando espécies supramoleculares C(4) e R₄⁴(36). A arquitetura também se estende tridimensionalmente pelas interações C-H...N_{azida}, dando origem a espécies do tipo R₂²(14).

Os dados de ressonância magnética nuclear de ¹H e de ¹³C{¹H}, em solução de DMSO-*d*₆, confirmam a formação dos complexos, segundo os deslocamentos químicos comparados ao ligante isn livre. Notou-se que o complexo **1** apresenta, possivelmente, as formas *trans* e *cis* em solução, enquanto que os demais apresentaram majoritariamente a forma *trans*. Relacionou-se ainda a espectroscopia no IV com o comportamento em solução destes compostos, associando-se as formas canônicas dos grupos amidas, presentes no ligante isn, com os complexos. Assim, **1** e **4** se relacionam numa das formas canônicas enquanto que **2** e **3** estariam vinculados a segunda forma.

Algumas propriedades biológicas envolvendo o ligante isn e a série de complexos sintetizados foram investigadas.

Primeiramente, a ação antiproliferativa dos compostos foi testada, envolvendo linhagens celulares tumorais de mama, LM3, e de pulmão, LP07. Os índices de citotoxicidade

foram determinados e todos estiveram acima dos valores apresentado pela cisplatina – usada como padrão comparativo –, sendo 9-11 vezes mais elevados, para a linhagem LM3 e 2-3 vezes maiores para a linhagem LP07, aproximadamente.

Contudo, nos testes envolvendo macrófagos peritoneais de camundongos, todos os compostos testados mostraram citotoxicidade bem inferior à cisplatina. Assim, pôde-se estimar a seletividade dos mesmos e, nestes termos, os complexos **2** e **4** foram mais seletivos que a cisplatina, frente às linhagens LM3. Para as linhagens LP07, todos os complexos apresentaram esta característica mais pronunciada. Relacionando-se a seletividade dos compostos com a da cisplatina, concluiu-se que os complexos **2** e **4** são os que possuem maior potencialidade contra a linhagem de células de mama. Já para as células tumorais pulmonar, todos os compostos mostraram-se mais seletivos que a cisplatina, com destaque aos complexos **2** e **4** novamente.

Outra propriedade biológica avaliada, foi a ação antituberculostática dos compostos contra o bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, principal causador da tuberculose. Constatou-se que o ligante isn livre e os sais dos pseudo-haletos não apresenta atividade apreciável, porém, os valores das concentrações inibitórias mínimas – que inibem, no mínimo, 90% destas bactérias –, obtidas para os complexos, são inferiores ao apresentado pela pirazinamida, droga padrão. Dentre todos, destaca-se o complexo *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (**2**), no mínimo onze vezes mais potente contra as micobactérias quando comparado à pirazinamida.

Cabe salientar que ensaios envolvendo a atividade antituberculose de complexos de paládio(II) não são mencionados, até então, na literatura. Isso reforça o emprego crescente de paládio na composição de metalo-drogas com possíveis e variadas aplicações biológicas. Como expectativas futuras espera-se obter novos complexos de Pd(II) contendo a isonicotinamida e outros ligantes, avaliar a ação destes compostos frente linhagens tumorais humanas, contra as bactérias causadoras da tuberculose e até, cogitar parcerias com a indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS

- 1 DUPONT, J.; CONSORTI, C. S.; SPENCER, J. The potential of palladacycles: more than just precatalysts. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 6, p. 2527-2571, 2005.

- 2 ANANIAS, S. R.; SANTANA, A. M.; MAURO, A. E.; LUCCA NETO, V. A. de; ALMEIDA, E. T. de. Reação de bis-inserção de 1,2-difenilacetileno na ligação Pd–C de ciclometalados. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 53-55, 2003.

- 3 HERRMANN, W. A.; BÖHM, V. P. W.; REISINGER, C. P. Application of palladacycles in Heck type reactions. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 576, p. 23-41, 1999.

- 4 ESPINET, P.; ESTERUELAS, M. A.; ORO, L. A.; SERRANO, J. L.; SOLA, E. Transition metal liquid crystals: advanced materials within the reach of the coordination chemist. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 117, p. 215-274, 1992.

- 5 LEININGER, S.; OLENYUK, B.; STANG, P. J. Self assembly of discrete cyclic nanostructures mediated by transition metals. **Chemical Reviews**, v. 100, n. 3, p. 853-908, 2000.

- 6 ALMEIDA, E. T. de; MAURO, A. E.; SANTANA, A. M.; CARLOS, I. Z. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio(II) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 405-408, 2005.

- 7 QIN, Z.; JENNINGS, M. C.; PUDDEPHATT, R. J. Self assembly of polymer and sheet structures from palladium(II) complexes by hydrogen bonding between carboxamide substituents. **Inorganic Chemistry**, v. 40, n. 24, p. 6220-6228, 2001.

- 8 MORO, A. C.; WATANABE, F. W.; ANANIAS, S. R.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.; LIMA, A. P. R.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. Supramolecular assemblies of *cis*-palladium complexes dominated by C–H...Cl interactions. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 9, p. 493-496, 2006.

- 9 GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E. Low-weight coordination polymers derived from the self-assembly reactions of Pd(II) pyrazolyl compounds and azide ion. **Polyhedron**, v. 24, p. 1086-1092, 2005.

- 10 CAIRES, A. C. F.; ALMEIDA, E. T. de; MAURO, A. E.; HEMERLY, J. P.; VALENTINI, S. R. Síntese e atividade citotóxica de alguns azido-ciclopalladados estabilizados com ligantes bifosfínicos. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 329-334, 1999.

11 RODRIGUES, E. G.; SILVA, L. S.; FAUSTO, D. M.; HAYASHI, M. S.; DREHER, S.; SANTOS, E. L.; PESQUERO, J. B.; TRAVASSOS, L. R.; CAIRES, A. C. F. Cyclopalladated compounds as chemotherapeutic agents antitumor activity against a murine melanoma cell line. **International Journal of Cancer**, v. 107, p. 498-504, 2003.

12 ZHAO, G.; LIN, H.; YU, P.; SUN, H.; ZHU, S.; SU, X.; CHEN, Y. Ethylenediamine-palladium(II) complexes with pyridine and its derivatives: synthesis, molecular structure and initial antitumor studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 73, p. 145-149, 1999.

13 FEDOROV, B. S.; GOLOVINA, N. I.; FADEEV, M. A.; STRUKOV, G. V.; KEDROV, V. V.; SHILOV, G. V.; BOIKO, G. N.; ATOVMYAM, L. O. Synthesis and the crystal structure of *N*-(2-nitroxyethyl)isonicotinamide and its complexes with PdCl₂ and PtCl₂ as potential antitumor medicines. **Russian Chemical Bulletin**, v. 50, n. 3, p. 520-524, 2001.

14 KUDUK-JAWORSKA, J.; PUSZKO, A.; KUBIAK, M.; PELCZYŃSKA, M. Synthesis, structural, physico-chemical and biological properties of new palladium(II) complexes with 2,6-dimethyl-4-nitropyridine. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, p. 1447-1456, 2004.

15 REBOLLEDO, A. P.; VIEITES, M.; GAMBINO, D.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; ZANI, C. L.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; TEIXEIRA, L. R.; BATISTA, A. A.; BERALDO, H. Palladium(II) complexes of 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones: spectral characterization, structural studies and cytotoxic activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, p. 698-706, 2005.

16 MA, Y.; DAY, C. S.; BIERBACH, U. Synthesis, structure, and reactivity of monofunctional platinum(II) and palladium(II) complexes containing the sterically hindered ligand 6-(methylpyridin-2-yl)acetate. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, p. 2013-2023, 2005.

17 GARCÍA-FRIAZA, G.; FERNÁNDEZ-BOTELLO, A.; PÉREZ, J. M.; PRIETO, M. J.; MORENO, V. Synthesis and characterization of palladium(II) and platinum(II) complexes with Schiff bases derivatives of 2-pyridinecarboxyaldehyde. Study of their interactions with DNA. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 1368-1377, 2006.

18 COWAN, J. A. **Inorganic biochemistry: an introduction**. 2nd ed. New York: Wiley-VCH, 1997. p. 342.

19 FARREL, N. **Transition metal complexes as drugs and chemotherapeutic agents**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1989. 291 p.

- 20 BAHNER, C. T.; PATTERSON, T. C.; RIVES, L. M.; HARMON, H. D. Platinum and palladium derivatives for chemotherapy studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 575-577, 1979.
- 21 QUIROGA, A. G.; PÉREZ, J. M.; MONTERO, E. I.; WEST, D. X.; ALONSO, C.; NAVARRO-RANNINGER, C. Synthesis and characterization of Pd(II) and Pt(II) complexes of *p*-isopropylbenzaldehyde N-protected thiosemicarbazones. Cytotoxic activity against *ras*-transformed cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 75, p. 293-301, 1999.
- 22 ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. J. New metal complexes as potential therapeutics. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.7, p. 481-489, 2003.
- 23 FRIEBOLIN, W.; SCHILLING, G.; ZÖLLER, M.; AMTMANN, E. Antitumoral activity of non-platinum xanthate complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 25, p. 7925-7931, 2005.
- 24 ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. **Nature**, v. 222, n. 2, p. 385-386, 1969.
- 25 AL-ALLAF, T. A. K.; RASHAN, L. J. Synthesis and cytotoxic evaluation of the first *trans*-palladium(II) complex with naturally occurring alkaloid harmine. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, p. 817-820, 1998.
- 26 ABU-SURRAH, A. S.; AL-ALLAF, T. A. K.; RASHAN, L. J.; KLINGA, M.; LESKELÄ, M. Synthesis, crystal structure and initial biological evaluation of the new enantiomerically pure chiral palladium(II) complex *trans*-bis{endo-(1*R*)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]-heptan-2-amino}palladium(II)dichloride. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 919-922, 2002.
- 27 NAVARRO, M.; PEÑA, N. P.; COLMENARES, I.; GONZÁLEZ, T.; ARSENAK, M.; TAYLOR, P. Synthesis and characterization of new palladium–clotrimazole and palladium–chloroquine complexes showing cytotoxicity for tumor cell lines in vitro. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 152-157, 2006.
- 28 HUQ, F.; TAYYEM, H.; BEALE, P.; YU, J. Q. Studies on the activity of three palladium(II) compounds of the form: *Trans*-PdL₂Cl₂ where L = 2-hydroxypyridine, 3-hydroxypyridine, and 4-hydroxypyridine. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, p. 30-35, 2007.

29 TRÁVNÍČEK, Z.; SZŮČOVÁ, L.; POPA, I. Synthesis, characterization and assessment of the cytotoxic properties of *cis* and *trans*-[Pd(L)₂Cl₂] complexes involving 6-benzylamino-9-isopropylpurine derivatives. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, p. 477-492, 2007.

30 RAY, S.; MOHAN, R.; SINGH, J. K.; SAMANTARAY, M. K.; SHAIKH, M. M.; PANDA, D.; GHOSH, P. Anticancer and antimicrobial metallopharmaceutical agents based on palladium, gold, and silver N-heterocyclic carbene complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 48, p. 15042-15053, 2007.

31 CASAS, J. S.; CASTELLANO, E. E.; ELLENA, J.; GARCÍA-TASENDE, M. S.; PÉREZ-PARALLÉ, M. L.; SÁNCHEZ, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, A.; SORDO, J.; TOUCEDA, Á. New Pd(II) and Pt(II) complexes with N,S-chelated pyrazolonate ligands: molecular and supramolecular structure and preliminary study of their *in vitro* antitumoral activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 33-45, 2008.

32 KOVALA-DEMERTZI, D.; DEMERTZIS, M. A.; FILIOU, E.; TAZAKI, A. A.; YADAV, P. N.; MILLER, J. R.; ZHENG, Y.; KYRIAKIDIS, D. A. Platinum(II) and palladium(II) complexes with 2-Acetyl pyridine 4N-ethylthiosemicarbazone able to overcome the *cis*-platin resistance. Structure, antibacterial activity and DNA strand breakage. **BioMetals**, v. 16, p. 411-418, 2003.

33 PRABHAKARAN, R.; RENUKADEVI, S. V.; KARVEMBU, R.; HUANG, R.; MAUTZ, J.; HUTTNER, G.; SUBASHKUMAR, R.; NATARAJAN, K. Structural and biological studies of mononuclear palladium(II) complexes containing *N*-substituted thiosemicarbazones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 268-273, 2008.

34 OTERO, L.; VIEITES, M.; BOIANI, L.; DENICOLA, A.; RIGOL, C.; OPAZO, L.; OLEA-AZAR, C.; MAYA, J. D.; MORELLO, A.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; GONZÁLEZ, M.; GAMBINO, D.; CERECETTO, H. Novel antitrypanosomal agents based on palladium nitrofurylthiosemicarbazone complexes: DNA and redox metabolism as potential therapeutic targets. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 3322-3331, 2006.

35 KOVALA-DEMERTZI, D.; DOMOPOULOU, A.; DEMERTZIS, M. A.; PAPAGEORGIOUB, A.; WEST, D. X. Palladium(II) complexes of 2-acetylpyridineN(4)-propyl, N(4)-dipropyl- and 3-hexamethyleneiminylthiosemicarbazones with potentially interesting biological activity. Synthesis, spectral properties, antifungal and *in vitro* antitumor activity. **Polyhedron**, v. 16, n. 20, p. 3625-3633, 1997.

36 SHAHEEN, F.; BADSHAH, A.; GIELEN, M.; GIECK, C.; VOS, D. de. Synthesis, characterization and *in vitro* cytotoxicity of palladium(II) complexes with mixed ligands. X-ray diffraction study of C₃₁H₃₆ClNPPdS₂. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 21, p. 633-640, 2007.

- 37 GENOVA, P.; VARADINOVA, T.; MATESANZ, A. I.; MARINOVA, D.; SOUZA, P. Toxic effects of bis(thiosemicarbazone) compounds and its palladium(II) complexes on herpes simplex virus growth. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 197, p. 107-112, 2004.
- 38 KONSTANDINIDOU, M.; KOUROUNAKIS, A.; YIANGOU, M.; HADJIPETROU, L.; KOVALA-DEMERTZI, D.; HADJIKAKOU, S.; DEMERTZIS, M. Anti-inflammatory properties of diclofenac transition metalloelement complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 70, p. 63-69, 1998.
- 39 BUDAKOTI, A.; ABID, M.; AZAM, A. Synthesis and antiamoebic activity of new 1-*N*-substituted thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-2-pyrazoline derivatives and their Pd(II) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 63-70, 2006.
- 40 BUDAKOTI, A.; ABID, M.; AZAM, A. Syntheses, characterization and *in vitro* antiamoebic activity of new Pd(II) complexes with 1-*N*-substituted thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-2-pyrazoline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 544-551, 2007.
- 41 HUSAIN, K.; ABID, M.; AZAM, A. Novel Pd(II) complexes of 1-*N*-substituted 3-phenyl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of antiamoebic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 393-403, 2008.
- 42 MANCHESTER, K. Tuberculosis and leprosy in antiquity: an interpretation. **Medical History**, v. 28, p. 162-173, 1984.
- 43 PIVETTA, M. Ferro na tuberculose. **Pesquisa FAPESP**, n. 97, p. 32-37, 2004.
- 44 BLOOM, B. R. Back to a frightening future. **Nature**, v. 358, p. 538-539, 1992.
- 45 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Tuberculosis**. Geneva. Disponível em: <<http://www.who.int/tb/en/>>. Acesso em: 15 ago. 2008.
- 46 FIORANTI, C. Drama mortal. **Pesquisa FAPESP**, n. 146, p. 18-23, 2008.
- 47 GIANNESCHI, N. C.; TIEKINK, E. R. T.; RENDINA, L. M. Dinuclear platinum complexes with hydrogen-bonding functionality: noncovalent assembly of nanoscale cyclic arrays. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 35, p. 8474-8479, 2000.

48 BARNETT, S. A.; CHAMNESS, N. R. Structural diversity of building-blocks in coordination framework synthesis-combining $M(NO_3)_2$ junctions and bipyridyl ligands. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 246, p. 145-168, 2003.

49 DINOLFO, P. H.; HUPP, J. T. Supramolecular coordination chemistry and functional microporous molecular materials. **Chemistry of Materials**, v. 13, n. 10, p. 3113-3125, 2001.

50 SMUCKER, B. W.; HUDSON, J. M.; OMARY, M. A.; DUNBAR, K. R. Structural, magnetic, and optoelectronic properties of (Diimine)(dithiolato)platinum(II) and -palladium (II) complexes and their charge-transfer adducts with nitrile acceptors. **Inorganic Chemistry**, v. 42, n. 15, p. 4714-4723, 2003.

51 GROVE, L. J.; RENNEKAMP, J. M.; JUDE, H.; CONNICK, W. B. A new class of platinum(II) vapo-chromic salts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 6, p. 1594-1595, 2004.

52 YAMAGUCHI, T.; TASHIRO, S.; TOMINAGA, M.; KAWANO, M.; OZEKI, T.; FUJITA, M. A 3.5-nm coordination nanotube. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 35, p. 10818-10819, 2004.

53 FUJIMURA, T.; SEINO, H.; HIDAI, M.; MIZOBE, Y. One- or two-dimensional organometallic arrays containing $PdIr_2(\mu_3-S)_2$ mixed-metal sulfide cluster units connected via the nicotinamide or isonicotinamide ligands on their Pd sites through hydrogen-bonding interactions. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 689, p. 738-743, 2004.

54 KUEHL, C. J.; TABELLION, F. M.; ARIF, A. M.; STANG, P. J. Single- and double-stranded chains assembled via concomitant metal coordination and hydrogen bonding. **Organometallics**, v. 20, n. 10, p. 1956-1959, 2001.

55 TREU FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; COSTA, E. B. da; KONDO, R. T.; SOUZA, R. A. de; NOGUEIRA, V. M.; MAURO, A. E. Theoretical and experimental study of the infrared spectrum of isonicotinamide. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 763, p. 175-179, 2006.

56 HOSSAIN, A. G. M. M.; NAGAOKA, T.; OGURA, K. Electrocatalytic reduction of carbon dioxide by substituted pyridine and pyrazole complexes of palladium. **Electrochimica Acta**, v. 41, n. 17, p. 2773-2780, 1996.

57 WALTON, R. A. Complexes of alkyl and aryl cyanides. Part VI. The vibrational spectra of $MX_2 \cdot 2RCN$, where $M = Pd$ or Pt , $X = Cl$ or Br , and $R = Me$ or Ph , and assignment of the metal-nitrogen stretching frequency. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 46, n. 14, p. 2347-2352, 1968.

58 WAYLAND, B. B.; SCHRAMM, R. F. Cationic and neutral chloride complexes of palladium(II) with the nonaqueous solvent donors acetonitrile, dimethyl sulfoxide, and a series of amides. Mixed sulfur and oxygen coordination sites in a dimethyl sulfoxide complex. **Inorganic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 971-976, 1969.

59 GOLUB, A. M.; KÖHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides**. New York: Elsevier, 1986. 479 p.

60 NAKAMOTO, K. **Infrared spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: Wiley Interscience, 1986. 486 p.

61 BERTINI, I.; SABATINI, A. Infrared spectra of substituted thiocyanate complexes. The effect of the substituent on bond type. II. **Inorganic Chemistry**, v. 5, n. 6, p. 1025-1028, 1966.

62 SCHMIDTKE, H-H.; GARTHOFF, D. The electronic spectra of some noble metal azide complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 89, n. 6, p. 1317-1321, 1967.

63 BURMEISTER, J. L.; HASSEL, R. L.; PHELAN, R. J. Solvent-induced linkage isomerizations. **Inorganic Chemistry**, v. 10, n. 9, p. 2032-2038, 1971.

64 FEHLHAMMER, W. P.; DAHK, L. F. Structural characterization of the di- μ -azido-bis(diazidopalladate(II)) anion, $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_6]^{2-}$. Stereochemical similarity between stable bridging azide ligands of the *N*-diazonium type and terminal azide ligands. **Journal of the American Chemical Society**, v. 94, n. 10, p. 3377-3382, 1972.

65 ANANIAS, S. R.; MAURO, A. E.; LUCCA NETO, V. A. de. Cleavage of the dimeric cyclopalladated $[\text{Pd}(\text{N},\text{C-dmba})(\mu\text{-X})_2]$, (dmba = *N,N*-dimethylbenzylamine; X = SCN and NCO) by diphosphines. Palladium(II) compounds with distinct structures in the solid-state and in solution. **Transition Metal Chemistry**, v. 26, p. 570-573, 2001.

66 GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; ZOIA, J. R. Crystallographic and spectroscopic studies on palladium(II) complexes containing pyrazole and thiocyanate ligands. **Transition Metal Chemistry**, v. 27, p. 279-283, 2002.

67 GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; ALMEIDA, E. T. de; SANTANA, A. M.; SOUZA JUNIOR, J. de; SANTOS, R. H. A. Self-assembly of Pd(II) pyrazolyl complexes to 1-D hydrogen-bonded coordination polymers. **Inorganica Chimica Acta**, v. 350, p. 252-258, 2003.

68 ANANIAS, S. R.; MAURO, A. E.; ZUTIN, K.; PICCHI, C. M. C.; SANTOS, R. H. A. Mono- and dinuclear palladium(II) compounds containing nitrogen ligands. Crystal and molecular structure of $[\text{Pd}(\text{N},\text{C-dmba})(\text{NCO})(2,3\text{-lut})]$ and $[\text{Pd}(\text{H}_2\text{CCOMe})\text{Cl}(2,2'\text{-bipy})]$. **Transition Metal Chemistry**, v. 29, p. 284-290, 2004.

69 ATAÇ, A.; YURDAKUL, Ş.; İDE, S. Synthesis and vibrational spectroscopic studies of isonicotinamide metal(II) halide complexes. **Journal of the Molecular Structure**, v. 783, n. 1-3, p. 79-87, 2006.

70 ENRAF-NONIUS. **COLLECT**. Nonius BV. Delft, 1997-2000.

71 SHELDRICK, G. M. **SHELXS-97**: program for crystal structure resolution. Göttingen: Universit of Göttingen, 1997.

72 FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). **Journal of Applied Crystallographic**, v. 30, p. 565, 1997.

73 BECK, W.; KLAPÖTKE, T. M.; KNIZEK, J.; NÖTH, H.; SCHÜTT, T. Characterization of palladium(II) azide and crystal structure of bis(azido)bis(pyridine)palladium(II) and tetramminepalladium tetraazidopalladate(II). **European Journal of Inorganic Chemistry**, n. 3, p. 523-526, 1999.

74 BECK, W.; FEHLHAMMER, W. P.; FELDL, K.; KLAPÖTKE, T. M.; KRAMER, G.; MAYER, P.; PIOTROWSKI, H.; PÖLLMANN, P.; PONIKWAR, W.; SCHÜTT, T.; SCHUIERER, E.; VOGT, M. Crystal structures of $(\text{PPh}_3)_2\text{Pd}(\text{N}_3)_2$, $[(\text{AsPh}_4)_2][\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4\text{Cl}_2]$, $[(\text{PNP})_2][\text{Pd}(\text{N}_3)_4]$, $[(\text{AsPh}_4)_2][\text{Pt}(\text{N}_3)_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, and $[(\text{AsPh}_4)_2][\text{Pt}(\text{N}_3)_6]$. **Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie**, v. 627, p. 1751-1758, 2001.

75 KLAPÖTKE, T. M.; POLBORN, K.; SCHÜTT, T. Synthesis and characterization of bis(azido)bis(2-chloropyridine)palladium(II), bis(azido)bis(3-chloropyridine)palladium(II), bis(azido)bis(quinoline)palladium(II), and the crystal structure of bis(azido)bis(quinoline)palladium(II). **Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie**, v. 626, p. 1444-1447, 2000.

76 LEHN, J-M. **Supramolecular chemistry**: concepts and perspectives. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1995. 271 p.

77 AAKERÖY, C. B.; SEDDON, K. R. The hydrogen bonding and crystal engineering. **Chemical Society Review**, v. 22, p. 397-407, 1993.

78 INTERNATIONAL CENTER FOR DIFFRACTION DATA. **Powder diffraction file:** Release 1999. Newtown Square, 1999. 1 CD-ROM. PDF n. 46-1043.

79 GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância magnética nuclear:** fundamentos, métodos e aplicações. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. p. 501-514.

80 MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

81 TAKAGAKI, T. Y. Avanços no tratamento do câncer pulmonar. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 6, p. iii-v, 2005.

82 PALMIERI, J. A. **Tuberculose a peste branca.** Lavras: UNILAVRAS. Disponível em: <<http://www.unilavras.edu.br/~palmieri/Tuberculose.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2008.

83 BOTTARI, B.; MACCARI, R.; MONFORTE, F.; OTTANÀ, R.; ROTONDO, E.; VIGORITA, M. G. Isoniazid-related copper(II) and nickel(II) complexes with antimycobacterial *in vitro* activity. Part 9. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, n. 7, p. 657-660, 2000.

84 OLIVEIRA, J. S.; SOUSA, E. H. S.; BASSO, L. A.; PALACI, M.; DIETZE, R.; SANTOS, D. S.; MOREIRA, I. C. An inorganic iron complex that inhibits wild-type and an isoniazid-resistant mutant 2-*trans*-enoyl-ACP (CoA) reductase from *Mycobacterium tuberculosis*. **Chemical Communications**, n. 3, p. 312-313, 2004.

85 NASCIMENTO, F. B. do; POELHSITZ, G. V.; PAVAN, F. R.; SATO, D. N.; LEITE, C. Q. F.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A. Synthesis, characterization, X-ray structure and *in vitro* antimycobacterial and antitumoral activities of Ru(II) phosphine/diimine complexes containing the “SpymMe₂” ligand, SpymMe₂ = 4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 1783-1789, 2008.

86 PALOMINO, J-C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Mechanisms of resistance - Resazurin Microtiter Assay Plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, p. 2720-2722, 2002.

87 SOMOSKOVI, A.; WADE, M. M.; SUN, Z.; ZHANG, Y. Iron enhances the antituberculous activity of pyrazinamide. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, n. 2, p.192-196, 2004.