

RODRIGO ALVES DE SOUZA

**Compostos de Pd(II) contendo ligantes piridínicos:
potencialidades biológicas e aspectos estruturais**

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

Orientador: **Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro**

FICHA CATALOGRÁFICA

S729c Souza, Rodrigo Alves de
Compostos de Pd(II) contendo ligantes piridínicos:
potencialidades biológicas e aspectos estruturais /
Rodrigo Alves de Souza. – Araraquara: [s.n], 2013
152 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química de Araraquara
Orientador: Antonio Eduardo Mauro

1. Química inorgânica. 2. Compostos de paládio(II).
3. Ligantes piridínicos. 4. Atividade biológica. I. Título.

RODRIGO ALVES DE SOUZA

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

Araraquara, 28 de junho de 2013.

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Roberto Santana da Silva
Faculdade Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto



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



Profª Drª Rose Maria Carlos
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCar, São Carlos



Profª Drª Heloisa de Oliveira Beraldo
Instituto de Ciências Exatas - UFMG, Belo Horizonte

Formação acadêmica/ titulação

Mar/2009 - jun/2013	Doutorado em Química – bolsista do CNPq Unesp, Instituto de Química de Araraquara Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro
Mar/2007 - ago/2008	Mestrado em Química – bolsista da CAPES Unesp, Instituto de Química de Araraquara Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro
Mar/2000 - jan/2005	Licenciatura em Química Unesp, Instituto de Química de Araraquara

Formação complementar

2012	Curso de curta duração em <i>Innovative Medicinal Chemistry in the Academic Laboratory</i> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
2012	Curso de curta duração em <i>Citometria de Fluxo</i> Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara.
2011	Extensão universitária em <i>Redação científica</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2010	Curso de curta duração em <i>Fontes informacionais da Systems Link</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2010	Curso de curta duração em <i>Noções básicas da base Reaxys</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2010	Extensão universitária em <i>Editoração com foco em redação e criação de revista</i> Unesp, Faculdade de Ciências e Letras de Araraquara.
2008	Curso de curta duração em <i>Materiais cerâmicos condutores iônicos para célula a combustível</i> Universidade Federal de São Carlos.
2006	Curso de curta duração em <i>Abordagem/ metodologias alternativas para o Ensino</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2004	Curso de curta duração em <i>Química e Meio Ambiente: construção de relações</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2004	Curso de curta duração em <i>Recuperação ambiental de mina de urânio</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2004	Curso de curta duração em <i>Química na cozinha</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2002	Curso de curta duração em <i>Políticas educacionais brasileiras e a realidade escolar</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2002	Curso de curta duração em <i>Noções de Microbiologia</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2001	Curso de curta duração em <i>Introdução à teoria Quântica utilizando computação</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2001	Curso de curta duração em <i>Introdução à Química Forense</i> Universidade Federal de São Carlos.
2001	Curso de curta duração em <i>Inovações tecnológicas em espectrometria de massas</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2001	Curso de curta duração em <i>Ensino de Química no segundo grau</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2001	Curso de curta duração em <i>Implementação da Gestão da Qualidade Ambiental</i> Universidade Federal de São Carlos.
2000	Curso de curta duração em <i>Didática no ensino médio</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.
2000	Curso de curta duração em <i>Biologia Molecular</i> Unesp, Instituto de Química de Araraquara.

Atuação profissional/ acadêmica

1. **Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial – SENAC**
Out/2008 - out/2008 **Professor**
Módulo de Tratamento de efluentes, ministrado para o curso de Técnico Ambiental (6 h/semana).
2. **Frente Organizada Para a Temática Étnica – ONG FONTE**
Mar/2005 - dez/2009 **Professor voluntário de Física e Química**
Em curso pré-vestibular, turmas de extensivo e de semiextensivo.
3. **Diretoria Regional de Ensino de Araraquara**
Mar/2004 - fev/2006 **Professor da rede pública estadual de ensino**
Abr/2013 - jun/2013 Lecionou Matemática (Ensino Fundamental), Física e Química (Ensino Médio) em escolas da cidade de Araraquara e região. Atuou no Ensino de Jovens e Adultos (EJA) e na antiga FEBEM (unidade de Araraquara).
4. **Assentamento rural Monte Alegre. Projeto da prefeitura de Araraquara**
Mar/2004 - dez/2004 **Professor de Química**
Em curso pré-vestibular, turmas de extensivo e de semiextensivo.
5. **Unesp, Instituto de Química de Araraquara**
Mar/2009 - jun/2013 **Aluno de Doutorado.**
Ago/2008 - fev/2009 **Treinamento técnico, Bolsista TT-4 FAPESP.**
Pesquisa e desenvolvimento de métodos para aplicações de materiais cerâmicos (40 h/semana).
Mar/2007 - ago/2008 **Aluno de Mestrado.**
Mar/2000 - jan/2005 **Aluno de graduação.**

Atividades

- | | |
|-------------------|---|
| 10/2011 - 10/2012 | Comissão Permanente de Ensino
Representante discente titular dos pós-graduandos |
| 11/2003 - 09/2004 | Conselho de Curso de Graduação
Representante discente titular dos graduandos |
| 11/2003 - 11/2004 | Diretório Acadêmico Professor Waldemar Saffioti
Coordenador do Departamento de representação discente |
| 09/2003 - 02/2004 | Curso Unificado do Campus de Araraquara (CUCA)
Professor de Química |
| 07/2003 - 07/2003 | Extensão Universitária
Monitoria na VI Feira de profissões da Unesp |
| 10/2002 - 10/2002 | Extensão Universitária
Monitoria no “Dia de alerta sobre o uso excessivo de álcool” |
| 09/2002 - 09/2003 | Conselho do Departamento de Físico Química
Representante discente titular dos graduandos |
| 09/2002 - 09/2003 | Comissão de Biblioteca
Representante discente suplente dos graduandos |
| 08/2002 - 10/2002 | Extensão Universitária
Monitoria no “Programa de visitas à Universidade” |
| 07/2002 - 07/2002 | Extensão Universitária
Monitoria na V Feira de profissões da Unesp |
| 03/2002 - 08/2003 | Departamento de Físico-Química
Iniciação científica |
| 10/2001 - 03/2003 | Comissão interna de uso racional de água potável
Representante discente titular dos graduandos |
| 08/2001 - 08/2001 | Extensão Universitária
Monitoria no “Dia de alerta sobre o uso excessivo de álcool” |
| 06/2001 - 03/2003 | Comissão interna de conservação de energia
Representante discente titular dos graduandos |
| 04/2000 - 12/2001 | Centro de Ciências de Araraquara
Atividades de extensão universitária |
| 03/2000 - 09/2000 | Química Júnior Projetos e Consultorias
Trainee na área de Marketing |

Áreas de atuação

1. Química
2. Química Inorgânica
3. Química Bioinorgânica
4. Educação

Idiomas

- Inglês** Compreende bem, fala razoavelmente, escreve razoavelmente, lê bem.
- Espanhol** Compreende bem, fala bem, escreve bem, lê bem.

Menção honrosa

- 2003** Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, Universidade de São Paulo.
Com apresentação do painel intitulado:
Obtenção de nanopartículas de hematita via decomposição térmica de oleato férrico

Produção – Artigos completos publicados em periódicos internacionais

1. [SOUZA, Rodrigo A. de.](#); MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.; CUNHA, G. A.; ALMEIDA, E. T. de. Synthesis, characterization, and thermal behavior of palladium(II) coordination compounds containing isonicotinamide. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.106, n. 2, p.375-378, 2011.
2. [SOUZA, Rodrigo A. de.](#), STEVANATO, A.; TREU-FILHO, O.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; CASTELLANO, E. E.; CARLOS, I. Z.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. Antimycobacterial and antitumor activities of palladium(II) complexes containing isonicotinamide (isn): X-ray structure of *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.45, n. 11, p.4863-4868, 2010.
3. TREU-FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; COSTA, E. B.; FERREIRA, J. E. V.; FIGUEIREDO, A. F.; KONDO, R. T.; LUCCA NETO, V. A. de.; [SOUZA, Rodrigo A. de.](#); LEGENDRE, A. O.; MAURO, A. E. Experimental and theoretical study of the compound [Pd(dmab)(NCO)(imz)]. **Journal of Molecular Structure**, v.829, n. 1/3, p.195-201, 2007.
4. TREU-FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; [SOUZA, Rodrigo 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, n. 12, p.1501-1504, 2007.
5. TREU-FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; COSTA, E. B. da.; KONDO, R. T.; [SOUZA, Rodrigo 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, n. 1/3, p.175-179, 2006.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. THOMAZELLA, N. A.; MAURO, A. E.; [SOUZA, R. A. de.](#) Síntese e caracterização de um novo ciclopalladado contendo NCO⁻ e 4-aminopiridina In: **XXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, 2011, Araraquara.
2. CUNHA, G. A.; MAURO, A. E.; [SOUZA, R. A. de.](#); PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. Avaliação tuberculostática de compostos de cobre(II) contendo isonicotinamida In: **XXII Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, 2010, Araraquara, p. 6347-6350.
3. [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.; CUNHA, G. A.; ALMEIDA, E. T. de. Síntese e comportamento térmico de compostos de coordenação de paládio(II) contendo isonicotinamida In: **VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria**, 2010, São Pedro.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. MORO, A. C.; [SOUZA, R. A. de.](#); SOUZA, P. C. de; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; CARLOS, I. Z.; GODOY NETTO, A.; MAURO, A. E. Avaliações tuberculostática e citotóxica de ciclometalados heterometálicos contendo Pd(II) e Fe(II) In: **36ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2013, Águas de Lindóia.
2. JARDIM, M. G. D.; RIBEIRO, L. C. A.; FERREIRA, L. S.; [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; CARLOS, I. Z. Citotoxicidade do composto de paládio(II) frente às linhagens tumorais In: **16º Farmapolis**, 2012, Florianópolis, p. n75.
3. CUNHA, G. A.; [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; LEGENDRE, A. O.; PARAGINSKI, G. L.; HÖRNER, M. Coordenações distintas do ânion tiocianato em complexos de cobre(II)-isonicotinamida In: **35ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2012, Águas de Lindóia.
4. [SOUZA, R. A. de.](#); MARTINEZ, I.; CASTELLANO, E. E.; Graminha, M. A. S.; MAURO, A. E. Leishmanicidal activity and structure of the novel [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] organometallic compound In: **6th Brazilian Medicinal Chemistry Symposium**, 2012, Canela.
5. [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; MARTINEZ, I.; ROSA, J. A. Preparação, caracterização e atividade anti-*T. cruzi* de ciclopalladados contendo derivados piridínicos In: **35ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2012, Águas de Lindóia.
6. ALAMINO, A. F.; [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E. Síntese e caracterização espectroscópica de compostos de cobre(II) contendo 4-aminopiridina e os pseudo-haletos azida e tiocianato In: **XXIV Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, 2012, Araraquara.
7. MARCATO, D. C.; [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E. Síntese e caracterização espectroscópica de um novo composto de Cu(I) contendo 4-aminopiridina In: **XXIV Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, 2012, Araraquara.
8. NETTO, A. V.G.; LEMOS, S. C.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; [SOUZA, R. A. de.](#); TREU-FILHO, O.; CARLOS, I. Z. Synthesis and cytotoxicity evaluation of palladacycles bearing benzaldehydeoxime In: **40 International Conference on Coordination Chemistry**, 2012, Valencia, Espanha, p. C395.
9. [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; MATOS, D. C. de.; CARLOS, I. Z. Atividade antitumoral e caracterização estrutural de ciclopalladados contendo piridinas *para*-substituídas In: **34ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011, Florianópolis.
10. [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. Atividade tuberculostática e caracterização estrutural de complexos dinucleares de Pd(II) e isonicotinamida In: **34ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011, Florianópolis.
11. FRANCHI, S. J. S.; GODOY NETTO, A. V.; [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; RIBEIRO, L. C. A.; CARLOS, I. Z.; ALMEIDA, E. T. de. Síntese, caracterização e atividade antitumoral de complexos de paládio(II) contendo o ligante 2,2'-bis(4,5-dimetilimidazol) In: **34ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011, Florianópolis.
12. [SOUZA, R. A. de.](#); MAURO, A. E.; MATOS, D. C. de.; CARLOS, I. Z. Structural description and antitumor activity of a new cyclopalladated compound containing thioisonicotinamide In: **8th International Congress of Pharmaceutical Sciences**, 2011, Ribeirão Preto.
13. FRANCHI, S. J. S.; [SOUZA, R. A. de.](#); GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; SILVA, P. B.; RIBEIRO, L. C. A.; CARLOS, I. Z.; ALMEIDA, E. T. de. Synthesis and antitumour properties of palladium(II) compounds containing 2,2'-bis(4,5-dimethylimidazole) In: **8th International Congress of Pharmaceutical Sciences**, 2011, Ribeirão Preto.
14. CUNHA, G. A.; [SOUZA, R. A. de.](#); LEGENDRE, A. O.; MAURO, A. E.; CASTELLANO, E. E. Aspectos estruturais do polímero de coordenação supramolecular [Cu(N₃)₂(isn)₂]_n·3H₂O isn= isonicotinamida In: **33ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010, Águas de Lindóia.

15. SOUZA, R. A. de; CUNHA, G. A.; TREU-FILHO, O.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Preparação, caracterização e estudo teórico dos complexos *trans*-[PdBr₂(isn)₂] e *trans*-[PdI₂(isn)₂] isn= isonicotinamida In: **33ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010, Águas de Lindóia.
16. SOUZA, R. A. de.; TREU-FILHO, O.; GODOY NETTO, A. V.; CASTELLANO, E. E.; MAURO, A. E. Considerações estruturais, supramoleculares e estudo teórico do complexo *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] In: **17º Encontro da SBQ – Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti/ Bioenergia**, 2009, Araraquara.
17. 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**, 2008, Águas de Lindóia.
18. STEVANATO, A.; GODOY NETTO, A. V.; SOUZA, R. A. de.; SANTANA, A. M.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; CARLOS, I. Z.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. Synthesis, characterization and evaluation of the antitumor activity of the cyclopalladated complexes of the type [Pd(bzan)(X)(dppp), X= SCN; NCO In: **XIV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry**, 2008, Foz do Iguaçu.
19. SOUZA, R. A. de.; TAKAHASHI, P. M.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; MATOS, J. R. *Trans*-palladium-complexes containing isonicotinamide In: **14th International Congress on Thermal Analysis and Calorimetry**, 2008, São Pedro.
20. 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**, 2007, Águas de Lindóia.
21. SANTOS, C. B. R.; PINHEIRO, J. C.; TREU-FILHO, O.; KONDO, R. T.; LUCCA NETO, V. A. de; SOUZA, R. A. de.; LEGENDRE, A. O.; MAURO, A. E. Estudo teórico do composto [Pd(dmba)(NCO)(imz)] In: **XIII Simpósio Brasileiro de Química Teórica**, 2005, São Pedro, p. 81.
22. COSTA, E. B.; PINHEIRO, J. C.; FARIAS, M. S.; GIL, F. S.; FERREIRA, R. D. P.; TREU-FILHO, O.; KONDO, R. T.; SOUZA, R. A. de.; NOGUEIRA, V. M.; MAURO, A. E. Estudo teórico do espectro infravermelho da isonicotinamida In: **XIII Simpósio Brasileiro de Química Teórica**, 2005, São Pedro, p. 110.
23. FERREIRA, J. E. V.; TREU-FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; FIGUEIREDO, A. F.; KONDO, R. T.; SOUZA, Rodrigo A. de.; SANTANA, A. M.; MAURO, A. E. Estudo teórico do espectro infravermelho do ácido 3,5-pyrazoledicarboxílico In: **XIII Simpósio Brasileiro de Química Teórica**, 2005, São Pedro, p. 62.
24. SANTOS, M. A. B.; PINHEIRO, J. C.; FARIAS, M. S.; CARDOSO, F. J.; LOBATO, M. S.; SOUZA, R. A. de.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; KONDO, R. T. Theoretical interpretation of the infrared spectrum of thioisonicotinamide In: **XIII Simpósio Brasileiro de Química Teórica**, 2005, São Pedro, p. 98.
25. 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**, 2004, Goiânia.
26. 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**, 2004, Ilha Solteira.
27. 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**, 2004, Ilha Solteira.
28. 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: **II Evento de Educação em Química**, 2004, Araraquara.

29. 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: **44º Congresso Brasileiro de Química**, 2004, Fortaleza.
30. [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**, 2003, São Carlos.
31. [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 da Unesp**, 2003, Marília.
32. 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: **2º Congresso de Extensão Universitária da UNESP**, 2002, Bauru.
33. [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**, 2001, Embu das Artes.
-

Apresentação de palestra

1. Síntese e caracterização de complexos de paládio para aplicação antitumoral

[Apresentada em 17 a 21 de maio de 2010, na XIII Jornada de Química “Química e Indústria”.](#)

Local: Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), Barretos-SP.

2. Química Inorgânica e suas potencialidades farmacêuticas

[Apresentada em 23/6/2009 aos alunos concluintes do Ensino Médio.](#)

Local: Centro Paula Souza – ETEC Profa. Anna de Oliveira Ferraz, Araraquara-SP. Evento: Conhecendo as profissões.

3. Química Inorgânica e suas potencialidades farmacêuticas: o uso da técnica de infravermelho

[Na I Feira Técnico-Científica Conhecer e Inovar, em 15 de junho de 2009.](#)

http://www.anchieta.br/escolas/tecnico/Feira/palestra_aquimicainorganica.htm

Local: Escolas Padre Anchieta, Jundiá-SP.

Carga de 8 h.

4. Compostos de paládio e algumas potencialidades farmacêuticas

[Proferida em 31/10/2008, aos alunos do Ensino Médio e integrantes da comunidade de Ribeirão Bonito-SP.](#)

Local: colégio Kuarup, Ribeirão Bonito. Evento: Feira Científica.

Curso de curta duração ministrado

Espectroscopia no Infravermelho

[Em 8 e 11 de maio de 2009, para alunos dos 3^{os} módulos do curso Técnico em Química.](#)

Local: Escolas Padre Anchieta, Jundiá-SP.

Carga de 4 h/dia.

Supervisões científicas (iniciação científica)

1. Danieli Camilo Marcato. **Preparação e caracterização de complexos de paládio(II) e cobre(I) e suas aplicações biológicas.** Unesp, Instituto de Química de Araraquara.

[Novembro/2011 a novembro/2012](#)

2. Andreza de França Alamino. **Design de espécies moleculares e supramoleculares contendo cobre(II) e paládio(II).** Unesp, Instituto de Química de Araraquara (bolsista CNPq).

[Outubro/2011 a outubro/2012](#)

3. Nathália Ariane Thomazella. **Design de espécies moleculares e supramoleculares contendo cobre(II) e paládio(II).** Unesp, Instituto de Química de Araraquara (bolsista CNPq).

[Novembro/2010 a julho/2011](#)

4. Gislaine Aparecida da Cunha. **Design e aplicações nas áreas médica e tecnológica de espécies moleculares e supramoleculares contendo metais de transição**. Unesp, Instituto de Química de Araraquara (bolsista CNPq).

Janeiro/2010 a julho/2010

5. Vinicius de Oliveira Leme. **Investigação de compostos de metais de transição com 2'-hidroxichalcona**. Unesp, Instituto de Química de Araraquara (bolsista BAAE/Unesp)

Agosto/2010 a fevereiro/2011

Organização de evento

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

Ocorrido na Unesp, Instituto de Química de Araraquara.

Membro de banca de trabalho de conclusão de curso de Especialização

1. Rede São Paulo de Formação Docente (REDEFOR), **Apresentações nos dias 26 e 27/1 e em 2/2/2013** (Especialização em Química). Unesp, Instituto de Química de Araraquara/ Secretária de Educação do Estado de São Paulo.

Membro de banca de trabalho de conclusão de curso de Graduação

1. Monise Frazão Marega Giardulo. **Avaliação de atividade de substâncias extraídas de *Casearia sylvestris* em formas promastigotas de *Leishmania spp***, 2012 (Farmácia-Bioquímica). Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara.

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

Membro de banca de comissão julgadora

1. Concurso Público n. 01/2008 FEA
Faculdade da Fundação Educacional de Araçatuba

http://www.feata.edu.br/concurso/2010/concurso_docentes2008_edital.htm

Banca examinadora (prova didática), no processo seletivo para a contratação de docente na área de Química, em 16/11/2008.

2. 1ª fase do XXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp
Unesp, Instituto de Química de Araraquara

Avaliador de trabalhos apresentados na área de Exatas (Química), nos dias 18 e 19 de outubro de 2011.

Outras informações relevantes

- **Aula ministrada em disciplina de Pós-Graduação**, em 23/11/2011.
Disciplina: **Compostos metalo-orgânicos moleculares e supramoleculares e suas aplicações biológicas e tecnológicas**.
Programa de Pós-Graduação em Química da UNESP, Instituto de Química de Araraquara.
Tema: *Ensaio antitumoral e de toxicidade de compostos de paládio(II)*. Carga de 3 h.
- **Colaboração em aula prática em disciplina de Pós-Graduação**, em 20/10/2009.
Disciplina: **Avaliação da atividade citotóxica e imunológica de complexos metálicos em macrófagos peritoneais e em linhagens de câncer mamário murino**.
Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia da UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara.
Atividade experimental: *síntese e caracterização de complexos metálicos*.
- **1º colocado no processo seletivo para ingresso no Doutorado em Química**, primeiro semestre de 2009.
No programa de Pós-Graduação em Química da UNESP, Instituto de Química de Araraquara.

AGRADECIMENTOS

A concretização do conhecimento é linda em sua plenitude, mas sua construção é ardua.

O tempo dedicado ao Doutorado significa mais que uma escala temporal. Trata de um investimento de vida e com consequências que certas vezes desagradam, tais como o nosso distanciamento de amigos, parentes e familiares; preocupações, cabelos brancos e quilos a mais, além de situações indescritíveis fisicamente, mas que surgem a partir de insucessos e frustrações relacionados com a pesquisa, com os trâmites acadêmicos ou consigo mesmo, por conta das próprias limitações. Fazer Ciência, segundo minha vivência até o momento, é um metafórico pêndulo transposto ao cotidiano, oscilante entre muitas dúvidas e poucas certezas.

Discorrer sobre o período do meu Doutorado é inevitavelmente apontar algumas comparações com a época de minha graduação, a citar a euforia inicial, pelo ingresso, e a incerteza no final, com a saída. Mas tal como a graduação, meu “universo de ideias”, de gente e de coisas boas também ampliou.

Pode ser agora um ciclo que finda meu vínculo com o Instituto de Química de Araraquara (IQ) – lugar de idas e vindas diárias por muito tempo (somando-se noites, fins de semanas e feriados) – ou, de agora em diante, o princípio de outros momentos e parcerias. Caberia aqui um agradecimento ao IQ, tido para mim como um segundo lar por muito tempo. Pela estranheza, mais adequado é expressar minha gratidão aos servidores públicos do presente e do passado que, no conjunto de suas funções, deram rumos ao IQ que se misturaram aos meus e me possibilitaram experiências inigualáveis, nessa instituição formadora de recursos humanos de alto gabarito, graças ao *status* de excelência que ela possui.

Ao professor Mauro, pessoa de invejável organização, seriedade e comprometimento com os seus afazeres acadêmicos, sou grato pelas broncas, conselhos, apoio e constante participação na minha formação e neste meu trabalho. Certamente um dos melhores exemplos de orientador.

Ao Departamento de Química Geral e Inorgânica e ao grupo de Química de Coordenação e Organometálicos agradeço, muito, pela convivência fácil e sempre agradável com as pessoas. Sem isso, as dificuldades inerentes de um doutoramento se multiplicariam e, para não ser desmedido com as menções, registro que cada qual deixará pelo menos uma boa qualidade em minha memória.

Alguns nomes do IQ, por outro lado, não podem deixar de ser mencionados, pois favoreceram diretamente a realização deste trabalho e facilitaram minhas atividades acadêmicas, como a Irene (funcionária técnica de nosso laboratório): figura essencial para o nosso cotidiano de trabalho, pelas medidas de IV e eleita (por mim) a “simpatia em pessoa” (hehe); o Nivaldo (funcionário do laboratório de RMN): profundo conhecedor de seu trabalho foi perspicaz com as sugestões experimentais dadas e contribuiu significativamente em meu exame de Qualificação; a Lucinéia (funcionária do laboratório de RMN): pelas várias medidas de RMN e também pelas sugestões experimentais; o Rafael e o Serginho (funcionários técnicos de nosso Departamento): pelas medidas de IV; os doutorandos Douglas e Lílian e a professora Marisa Spirandeli (Departamento de Química Analítica): pelas medidas de TG-DTA; o Ricardo (Departamento de Físico-Química): pelas medidas de DRX; o Oswaldo Treu Filho (pesquisador do nosso Departamento): pelos cálculos teóricos envolvendo os compostos que, apesar de não serem tratados na Tese, serão somados aos trabalhos futuros; o Gaspar (funcionário técnico-administrativo): pela impressão dos painéis apresentados em eventos científicos; a Marilda (diretora da biblioteca): pela homenagem prestada a mim em 2010, fato que aumentou meu apreço pela

biblioteca – local que considero o mais especial do IQ – e por dirigir muito bem uma equipe sempre prestativa e cuidadosa com o trabalho; a Cristina (bibliotecária): pelas correções das referências desta Tese e de projetos e relatórios anteriores, pelas várias dicas dadas e pelo alto profissionalismo desempenhado nos treinamentos ministrados; a Célia, Sandra e Wennia (funcionárias da Seção de Pós-Graduação): competentes e sempre bem empenhadas na execução dos procedimentos burocráticos que, implicitamente, tratamos como laboriosos.

Muito obrigado a todos!

Estendo também meus agradecimentos aos colaboradores científicos que, além de propiciarem a geração de boa parte do conteúdo desta Tese, contribuíram de algum modo para ampliar meus conhecimentos. O professor Eduardo E. Castellano (USP, IFSC), pela resolução estrutural de um dos compostos deste trabalho. O professor Fernando R. Pavan, sua aluna de iniciação científica Heloísa e a professora Clarice Queico F. Leite (todas da Unesp, FCF), pelos ensaios biológicos antituberculose realizados e pela acessível troca de ideias. A professora Iracilda Z. Carlos (Unesp, FCF), que disponibilizou sua estrutura laboratorial para eu efetuar os testes antitumorais e citotóxicos contra macrófagos de camundongos. No laboratório dela sempre contei com a competente funcionária Marisa e com o coleguismo dos pós-graduandos Lucas, Livia e Djamile. O professor João Aristeu (Unesp, FCF) facilitou a minha integração no laboratório de Parasitologia e deu condições para a execução dos ensaios antichagásicos. Além dele, a funcionária Dra. Isabel Martinez foi imprescindível para a realização de todos os experimentos ocorridos na Parasitologia. A dedicação pelo trabalho torna a “Bel”, em minha opinião, um dos melhores exemplos de funcionária pública. A professora Márcia A. S. Graminha (Unesp, FCF), no mesmo laboratório, permitiu os testes leishmanicidas e engajou-se constantemente para desenvolvermos um bom trabalho. Admiro a pró-atividade científica da professora Graminha e a consideração profissional prestada a mim. Do grupo dela, sou grato aos alunos Fábio, Mayara, Camila e Thaís, por terem me acolhido tão bem.

Obrigado aos alunos de Iniciação Científica Vínicius, Gislaine, Nathália, Andreza e Danieli, que estiveram em parte do meu Doutorado me propiciando muitas trocas e experiências satisfatórias.

Fica minha gratidão aos integrantes de minha banca examinadora pelos elogios, críticas e sugestões bem colocadas durante a arguição de minha Tese.

Fico muito agradecido ao CNPq pela bolsa.

Agradeço aos amigos, do IQ, que surgiram durante esses anos, como o Silmar, o Paca e a Patrícia, e aos amigos fora do contexto acadêmico que não “fugiram” mesmo com minhas constantes ausências. Valeu por ouvirem minhas reclamações, pela paciência, pelo apoio e palavras de estímulo.

Em especial, sou muito grato pela compreensão e apoio da minha namorada Carine, que acompanhou do início ao fim essa jornada suportando alguns dissabores, mas que soube colocar palavras duras ou animadoras em momentos oportunos.

Por fim, meus agradecimentos não menos especiais aos meus pais, corresponsáveis por essa conquista, graças ao esforço empreendido na minha formação pessoal. Apesar deles não terem cursado universidade e não terem custeado os meus estudos com mensalidades (sempre estudei em escolas públicas), me ofereceram valores morais e princípios que imbuíram em mim vontade de lutar por um futuro melhor sempre com dignidade.

*Não sei se a vida é curta ou longa para nós,
mas sei que nada do que vivemos tem sentido,
se não tocarmos o coração das pessoas.*

Muitas vezes basta ser:

*colô que acolhe,
braço que envolve,
palavra que conforta,
silêncio que respeita,
alegria que contagia,
lágrima que corre,
olhar que acaricia,
desejo que sacia,
amor que promove.*

E isso não é coisa de outro mundo,

é o que dá sentido à vida.

É o que faz com que ela não seja nem curta, nem longa demais,

*mas que seja intensa,
verdadeira,
pura enquanto durar.*

O sentido da vida – Cora Coralina

Devia ter amado mais

Ter chorado mais

Ter visto o sol nascer

Devia ter arriscado mais

E até errado mais

Ter feito o que eu queria
fazer...

Devia ter complicado menos

Trabalhado menos

Ter visto o sol se pôr

Devia ter me importado menos

Com problemas pequenos

Ter morrido de amor...

Epitáfio – Titãs

A melhor banda de
todos os tempos da
última semana

2001, *Abril Music*.

(composição: Sérgio Britto).

"[...] a sensação estética da descoberta que é uma emoção estética, digamos, paralela daquela que se pode ter quando se tem uma visão, de uma elaboração, de uma criação artística, de um nível musical [...]".

Luiz Hildebrando Pereira da Silva
(Médico e Parasitologista)

Trecho de entrevista concedida ao programa
televisivo Roda Viva, em 19/12/2012.

RESUMO

Este trabalho trata da síntese e caracterização de compostos de Pd(II) contendo ligantes piridínicos, e de suas atividades biológicas contra: células tumorais LM3, bacilos da tuberculose (TB) humana e protozoários causadores da doença de Chagas (*T. cruzi*) e da leishmaniose cutânea (*L. amazonensis*). Segundo os dados de IV, todas as piridinas *para*-substituídas se coordenaram via N-piridínico e as propostas moleculares estão condizentes com as análises elementares. Os compostos *trans*-[PdX₂(isn)₂], X= Cl (**2**), N₃ (**3**), NCO (**4**), SCN (**5**), Br (**6**) e I (**7**), e ISN= isonicotinamida, foram obtidos a partir do *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (**1**), mediante reações de substituição de ligantes; **2-5** foram investigados por TG-DTA, sendo que **2**, **3** e **5** apresentaram um perfil de degradação térmica gerando como resíduos Pd/PdO, já o **4** gerou Pd. A estabilidade térmica deles foi: **2** > **4** > **5** > **3**. Experimentos de RMN 2D em solução indicaram para **6** também a ISN livre e uma espécie contendo Pd-dmso. Nos compostos [Pd₂(N₃)₄(μ-teda)(isn)₂]·H₂O (**8**), [Pd₂(SCN)₄(μ-teda)(isn)₂] (**9**), [Pd₂(N₃)₄(μ-bipy)(isn)₂]·H₂O (**10**) e [Pd₂(SCN)₄(μ-bipy)(isn)₂] (**11**), TEDA= trietilenodiamina e BIPY= 4,4'-bipiridina, derivados de **1**, a coordenação dos pseudo-haletos foi terminal (N₃ via N e SCN via S). Segundo as curvas TG-DTA para **9** e **11**, resultaram como resíduos Pd (**9**) e Pd/PdO (**11**), sendo **9** > **11** em termos de estabilidade térmica. Os compostos [Pd(dmmba)X(isn)], X= Cl (**15**), N₃ (**16**), NCO (**17**), e DMBA= *N,N*-dimetilbenzilamina, foram obtidos de [Pd(dmmba)(μ-Cl)]₂ (**12**), [Pd(dmmba)(μ-N₃)]₂·H₂O (**13**) e [Pd(dmmba)(μ-NCO)]₂ (**14**), respectivamente. Dados de RMN em solução apontaram a integridade de **15**, mas para **16** e **17** notou-se também a ISN livre e os respectivos precursores diméricos. Os compostos *trans*-[PdCl₂L₂], L= 4-cianopiridina, 4CNPY (**18**), 4-aminopiridina, 4AMPY (**19**) e ácido isonicotínico, 4ACIDPY (**20**) foram preparados a partir de **1**. Em solução, os experimentos de RMN acusaram a espécie supramencionada e os respectivos ligantes livres para **18** e **20**, bem como uma espécie contendo a ligação Pd-dmso; o **19** manteve-se inalterado. Os compostos [Pd(dmmba)Cl(L)], L= 4CNPY (**21**), 4AMPY (**22**), 4ACIDPY (**23**), e o [{Pd(dmmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (**24**), TIOISN= tioisonicotinamida, foram preparados a partir de **12**. A estrutura de **21** foi determinada por DRX de monocristal e tem um poliedro quadrático-planar distorcido ao redor do Pd, com o Cl *trans* ao C-metalado da DMBA. Há uma disposição supramolecular entre os grupos CH₂ e CN, levando a uma topologia “zig-zag” 1D. O empilhamento dessas camadas via C–H···π, entre 4CNPY e DMBA, respectivamente, promove interações 2D. Para **23**, os resultados de RMN em solução indicaram também o 4ACIDPY livre e o precursor **12**. O **24** apresenta uma estrutura binuclear e os dados de RMN indicaram uma conformação espacial em “C” da estrutura. Apenas os ciclopaladados tiveram atividade frente à LM3, sendo **15**, **16** e **24** mais ativos que a cisplatina. Considerando os resultados anti-TB, os compostos **13** e **24** apresentaram atividade relevante (CIM= 37,7 e 17,2 μM, respectivamente), sendo mais potentes que a pirazinamida; estando o **24** entre os melhores compostos de Pd(II) descritos até então na literatura. Contra *T. cruzi* e *L. amazonensis*, os ciclopaladados foram ativos e o **24** foi o mais potente. Os índices de seletividade (IS) para a LM3 de **15**, **16** e **24** foram de 2,8 a 4,0 vezes superiores ao IS da cisplatina, sobressaindo-se o **24**. Quanto à ação anti-TB, o **24** teve IS= 5,18. Os dados de IS dos ciclopaladados relacionados aos tripanossomatídeos são muito bons; contra *T. cruzi* variou de 8,32 (**21**) a 44,02 (**15**) e contra a *L. amazonensis* foi de 4,05 (**17**) a 37,38 (**15**), sendo superiores ao da droga isotionato de pentamidina.

Palavras-chave: compostos de paládio(II); ligantes piridínicos; ação antitumoral; atividade antituberculose; atividade tripanocida; atividade leishmanicida.

ABSTRACT

This work deals with the synthesis and characterization of Pd(II) compounds containing pyridine ligands, and their biological activities against: LM3 tumor cells, bacilli of human tuberculosis (TB) and protozoan causing Chagas' disease (*T. cruzi*) and cutaneous leishmaniasis (*L. amazonensis*). According to IR data all *para*-substituted pyridines are coordinated via N-pyridine and molecular formulae are consistent with the elemental analyses data. The compounds *trans*-[PdX₂(isn)₂], X= Cl (**2**), N₃ (**3**), NCO (**4**), SCN (**5**), Br (**6**), I (**7**), and ISN= isonicotinamide, were obtained from *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (**1**) through ligand replacement reactions. Compounds **2-5** were investigated by TG-DTA, with **2**, **3** and **5** showing the same thermal degradation profile, generating Pd/PdO as final residues, while **4** generated Pd as final residue. The thermal stability order of these series was: **2** > **4** > **5** > **3**. From 2D NMR experiments in solution for **6** it was also noted ISN free and a species containing DMSO coordinated to Pd(II). For compounds [Pd₂(N₃)₄(μ-teda)(isn)₂]·H₂O (**8**), [Pd₂(SCN)₄(μ-teda)(isn)₂] (**9**), [Pd₂(N₃)₄(μ-bipy)(isn)₂]·H₂O (**10**) and [Pd₂(SCN)₄(μ-bipy)(isn)₂] (**11**), TEDA= triethylenediamine and BIPY= 4,4'-bipyridine, the coordination of pseudohalides was terminal (N₃ by N and SCN by the S atom). According to the TG-DTA curves of **9** and **11**, Pd (**9**) and Pd/PdO (**11**) were obtained as final residues, and **9** > **11** in terms of thermal stability. Compounds [Pd(dmmba)X(isn)], X= Cl, (**15**), N₃ (**16**), NCO (**17**), and DMBA= *N,N*-dimethylbenzylamine, were obtained from [Pd(dmmba)(μ-Cl)]₂ (**12**), [Pd(dmmba)(μ-N₃)]₂·H₂O (**13**) and [Pd(dmmba)(μ-NCO)]₂ (**14**), respectively. NMR data in solution indicated the integrity of **15**, but for **16** and **17** it was also noted ISN free, and their dimeric precursors. The compounds *trans*-[PdCl₂L₂], L= 4-cyanopyridine, 4CNPY (**18**), 4-aminopyridine, 4AMPY (**19**) and isonicotinic acid, 4ACIDPY (**20**), were prepared from **1**. In solution, the NMR experiments accused the species referred above along with their respective free ligands to **18** and **20** as well as a species containing a DMSO coordinated to Pd(II). Compound **19** remained unchanged. Compounds [Pd(dmmba)Cl(L)], L= 4CNPY (**21**), 4AMPY (**22**), 4ACIDPY (**23**), and [{Pd(dmmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0.5H₂O (**24**), TIOISN= thioisonicotinamide, were prepared from **12**. The structure of **21** was determined by single-crystal XRD and has a distorted square-planar polyhedron around Pd with Cl *trans* to the C-metalated of DMBA. There is a supramolecular arrangement involving the CN and CH₂ groups, leading to a 1D "zigzag" topology. The stacking of these layers via C–H···π between 4CNPY and DMBA, respectively, promoted 2D interactions. For **23**, the NMR results in solution also indicated free 4ACIDPY and the precursor **12**. Compound **24** showed a binuclear structure and the NMR data indicated a C-like spatial conformation. The cyclopalladated compounds showed activity against LM3, with **15**, **16** and **24** being more active than cisplatin. Compounds **13** and **24** showed significant anti-TB activity (MIC= 37.7 and 17.2 μM, respectively), being more potent than pyrazinamide. Compound **24** is one of the best Pd(II) compound described so far in the literature against TB. Cyclopalladated compounds were actives against *T. cruzi* and *L. amazonensis*, **24** being the most potent. The selectivity index (SI) for LM3 of the compounds **15**, **16** and **24** were 2.8 to 4.0 times higher than that cisplatin SI. As for an anti-TB, **24** had SI= 5.18. SI trypanosomatids data of the cyclopalladated compounds are very good as follows: against *T. cruzi* 8.32 (**21**) to 44.02 (**15**); against *L. amazonensis* 4.05 (**17**) to 37.38 (**15**). The SI data are better than drug pentamidine isethionate.

Key-words: palladium(II) compounds; pyridine ligands; antitumor action; antituberculosis activity; trypanocidal activity; leishmanicidal activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura molecular da cisplatina.	28
Figura 2 – Compostos antitumorais contendo metais de transição distintos da Pt(II) em fase II de testes clínicos.	28
Figura 3 – Exemplos de compostos de paládio(II) com atividade antitumoral superior à cisplatina.	29
Figura 4 – Modelo representativo da formação do anel ciclometalado.	30
Figura 5 – Estrutura molecular do <i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂].	31
Figura 6 – Estrutura da pirazinamida (à esquerda), da isonicotinamida (ao centro) e da isoniazida (à direita).	32
Figura 7 – Estruturas moleculares dos ligantes piridínicos, além da ISN, empregados nesta Tese.	32
Figura 8 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2012 por sexo, exceto pele não melanoma, no Brasil.	33
Figura 9 – Quadro histórico a respeito da descoberta e do uso de medicamentos contra a TB e seus regimes de tratamento.	36
Figura 10 – Modelo representativo da parede celular do <i>M. tuberculosis</i> .	37
Figura 11 – Esquema terapêutico brasileiro contra a TB.	37
Figura 12 – Exemplos de insetos hematófagos triatomíneos, vetores do <i>T. cruzi</i> .	39
Figura 13 – Esquema representativo do ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> .	40
Figura 14 – Estruturas moleculares do benzonidazol (a) e do nifurtimox (b).	41
Figura 15 – Exemplos de flebotomíneos, vetores das leishmanioses.	43
Figura 16 – Exemplos das manifestações das formas de leishmanioses.	44
Figura 17 – Representação genérica do ciclo de vida dos parasitos causadores das leishmanioses.	44
Figura 18 – Estruturas moleculares dos fármacos usados para o tratamento das leishmanioses.	46
Figura 19 – Espectro vibracional no IV do composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂] (1).	65
Figura 20 – Curvas TG (—) e DTA (---) dos compostos <i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (2), <i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (3), <i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4) e <i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (5).	66
Figura 21 – Difrátograma do resíduo da termodecomposição do composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (2).	67
Figura 22 – Difrátograma do resíduo da termodecomposição do composto <i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4).	67

Figura 23 – Espectros vibracionais no IV dos compostos <i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6) (a) e <i>trans</i> -[PdI ₂ (isn) ₂] (7) (b).	69
Figura 24 – Estrutura molecular da isonicotinamida.	69
Figura 25 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) do ligante ISN.	71
Figura 26 – Formas canônicas de ressonância do grupo amida da isonicotinamida.	72
Figura 27 – Espectro de RMN de ¹ H do composto <i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6).	73
Figura 28 – Estrutura molecular proposta para o composto <i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6), em a, e representação das outras espécies presentes em solução.	73
Figura 29 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do composto <i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6).	74
Figura 30 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) do composto <i>trans</i> -[PdI ₂ (isn) ₂] (7).	75
Figura 31 – Estrutura molecular proposta para o composto <i>trans</i> -[PdI ₂ (isn) ₂] (7).	76
Figura 32 – Espectros vibracionais no IV dos compostos [Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-teda)(isn) ₂]·H ₂ O (8) (a) e [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9) (b).	77
Figura 33 – Espectros vibracionais no IV dos compostos [Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂]·H ₂ O (10) (a) e [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11) (b).	78
Figura 34 – Curvas TG e DTA dos compostos [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9) e [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11).	80
Figura 35 – Proposições estruturais para os compostos [Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-teda)(isn) ₂]·H ₂ O (8), em a, [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9), em b, [Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂]·H ₂ O (10), em c, e [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11), em d.	81
Figura 36 – Espectro vibracional no IV do composto [Pd(dmba)(μ-Cl)] ₂ (12).	82
Figura 37 – Espectro vibracional no IV do composto [Pd(dmba)(μ-N ₃)] ₂ ·H ₂ O (13) (a) e do composto [Pd(dmba)(μ-NCO)] ₂ (14) (b).	83
Figura 38 – Espectro vibracional no IV do composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).	84
Figura 39 – Espectros de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).	85
Figura 40 – Representação numérico-estrutural para os compostos do tipo [Pd(dmba)X(4Rpy)].	85
Figura 41 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).	86
Figura 42 – Representação das correlações presentes no mapa de contorno gHMBC do composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).	87
Figura 43 – Representação das formas interconvertíveis do anel ciclopaladado formado pela ligação dmba–Pd.	88
Figura 44 – Estrutura proposta para o composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).	89

Figura 45 – Espectros vibracionais no IV dos compostos [Pd(dmba)(N ₃)(isn)] (16) e [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (17).	89
Figura 46 – Espectros de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do [Pd(dmba)(N ₃)(isn)] (16).	91
Figura 47 – Espectros de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (17).	93
Figura 48 – Espectros vibracionais no IV do 4CNPY (a) e do composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4cnpy) ₂] (18), em b .	94
Figura 49 – Espectros vibracionais no IV do 4AMPY (a) e do composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19), em b .	95
Figura 50 – Espectros vibracionais no IV do 4ACIDPY (a) e do composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4acidpy) ₂] (20), em b .	96
Figura 51 – Espectros de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} e mapas de contorno do <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4cnpy) ₂] (18).	97
Figura 52 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) do ligante 4CNPY.	98
Figura 53 – Estrutura molecular proposta para o composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4cnpy) ₂] (18) e representação das outras espécies em solução.	99
Figura 54 – Espectros de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} e mapas de contorno do <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19).	99
Figura 55 – Mapas de contorno gCOSY do <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19).	100
Figura 56 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) do ligante 4AMPY.	101
Figura 57 – Representação do efeito mesomérico na 4-aminopiridina.	101
Figura 58 – Estrutura molecular proposta para o composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19).	101
Figura 59 – Espectros de RMN ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} e mapas de contorno do <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4acidpy) ₂] (20).	102
Figura 60 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) do ligante 4ACIDPY.	103
Figura 61 – Estrutura molecular proposta para o composto <i>trans</i> -[PdCl ₂ (4acidpy) ₂] (20) e representação das demais espécies presentes em solução.	104
Figura 62 – Espectros vibracionais no IV dos compostos [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21), em a , [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22), em b , e [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23) em c .	105
Figura 63 – Estrutura molecular do [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21), resolvida por difração de raios X de monocristal.	106
Figura 64 – Arranjo supramolecular do [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21).	108
Figura 65 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) e mapas de contorno gCOSY (c) do [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21).	109
Figura 66 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21).	111
Figura 67 – Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ¹³ C{ ¹ H} (b) e mapas de contorno gCOSY (c) do [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22).	112
Figura 68 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22).	113

Figura 69 – Estrutura proposta para o composto [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22).	114
Figura 70 – Espectro de RMN de ^1H do [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23).	115
Figura 71 – Mapas de contorno gCOSY do [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23).	116
Figura 72 – Espectro de RMN de ^{13}C a partir do experimento DEPT 135 do [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23).	117
Figura 73 – Estrutura proposta para o composto [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23), no estado sólido e em maior proporção em solução.	117
Figura 74 – Espectros vibracionais no IV do ligante TIOISN (a) e do composto [Pd{(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24), em b .	118
Figura 75 – Formas canônicas de ressonância do grupo tioamida da tioisonicotinamida, e numeração dos átomos de H e de C, para a atribuição dos sinais de RMN.	119
Figura 76 – Espectro de RMN de ^1H do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24).	120
Figura 77 – Mapas de contorno gCOSY do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24).	120
Figura 78 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24).	121
Figura 79 – Mapas de contorno gHMQC do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24).	122
Figura 80 – Mapas de contorno gHMBC do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24).	122
Figura 81 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante TIOISN.	123
Figura 82 – NOESY 1D do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24), com irradiação do sinal em 5,95 ppm.	124
Figura 83 – Proposição estrutural do [{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5H $_2$ O (24).	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Reagentes e solventes utilizados nas preparações dos compostos.	49
Tabela 2 –	Dados de análise térmica (TG-DTA) dos compostos <i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (2), <i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (3), <i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4) e <i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (5).	68
Tabela 3 –	Principais frequências vibracionais observadas em espectros no IV de complexos contendo N ₃ e SCN.	76
Tabela 4 –	Dados de análise TG-DTA simultâneas dos compostos [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9) e [Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11).	80
Tabela 5 –	Dados de RMN para o composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).	87
Tabela 6 –	Principais distâncias de ligação (Å) e ângulos (°) para o composto [Pd(dmba)Cl(4CNpy)] (21).	107
Tabela 7 –	Ação antitumoral dos compostos frente à linhagem murina de adenocarcinoma mamário LM3.	125
Tabela 8 –	Ação antituberculose dos compostos frente ao <i>M. tuberculosis</i> .	127
Tabela 9 –	Ação tripanocida e leishmanicida dos compostos frente às formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> e promastigotas de <i>L. amazonensis</i> , respectivamente.	129
Tabela 10 –	Resultados de citotoxicidade frente aos macrófagos peritoneais murinos e os respectivos índices de seletividade (IS) diante das células tumorais ou dos micro-organismos investigados nesta Tese.	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HeLa: linhagem celular tumoral humana de colo do útero.

Hep-2: linhagem celular tumoral humana de orofaringe.

C6: linhagem celular tumoral humana de glioma cerebral.

B16F10: linhagem celular tumoral murina de melanoma.

SW707: linhagem celular tumoral humana de reto.

T47D: linhagem celular tumoral humana de mama.

HCV: linhagem celular tumoral humana de bexiga

A549: linhagem celular tumoral humana de carcinoma pulmonar

A2780: linhagem celular tumoral humana de ovário.

A2780^{cisR}: linhagem celular tumoral humana de ovário resistente à cisplatina.

A2780^{ZD0473R}: linhagem celular tumoral humana de ovário resistente à droga ZD0473 – composto *cis*-aminodicloro(2-metilpiridina)platina(II).

MCF-7: linhagem celular tumoral humana de adenocarcinoma mamário.

HCT 116: linhagem celular tumoral humana de adenocarcinoma do cólon

K562: linhagem celular tumoral humana de leucemia.

DMBA: ligante *N,N'*-dimetilbenzilamina, que compõe os fragmentos ciclopaladados. Quando coordenado ao Pd(II), este fragmento perde um hidrogênio aromático para estabelecer uma ligação C–Pd e, além disso, com a ligação do nitrogênio amínico, se estabelece uma quelação ao Pd(II), C[^]N, gerando um ciclo de cinco membros.

DPPP: ligante 1,3-bis(difenilfosfina)-propano.

S₍₋₎C²,*N*-DMPA: ligante enantiomérico *N,N'*-dimetil-1-fenetilamina, correspondente ao fragmento ciclometalado no composto [Pd₂(S₍₋₎C²,*N*-dmpa)₂(μ-dppe)Cl₂].

DPPE: ligante 1,2-bis(difenilfosfina)-etano.

DMNP: ligante 2,6-dimetil-4-nitro-piridina.

2OHPY: ligante 2-hidróxi-piridina, no composto *trans*-[PdCl₂(2OHpy)₂].

ISN: ligante isonicotinamida.

¹³C{¹H}: núcleo de carbono-13 desacoplado do hidrogênio-1, nas medidas de ressonância magnética nuclear.

TEDA: ligante nitrogenado espaçador trietilenodiamina.

BIPY: ligante nitrogenado espaçador 4,4'-bipiridina.

4CNPY: ligante piridínico 4-cianopiridina.

4AMPY: ligante piridínico 4-aminopiridina.

4ACIDPY: ligante piridínico ácido isonicotínico.

TIOISN: ligante piridínico tioisonicotinamida.

LM3: linhagem celular tumoral murina de adenocarcionoma mamário.

MEM: meio de cultura essencial mínimo (trad. Inglês), contendo sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular.

RPMI-1640: meio de cultura contendo uma mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular.

LIT: meio de cultura *Liver Infusion Tryptose*, adequado para o crescimento dos protozoários *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis*, empregados nesta Tese.

$\nu_{as}CH_3$: na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, modo vibracional atribuído aos estiramentos assimétricos envolvendo as ligações C–H do grupo metila.

ν_sCH_3 : na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, modo vibracional atribuído aos estiramentos simétricos envolvendo as ligações C–H do grupo metila.

ϕ : na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, modo vibracional atribuído aos estiramentos simétricos e concomitantes envolvendo as ligações C–C e C–N, aromáticas, dos anéis benzênicos ou piridínicos, que é convencionalmente denominado de respiração do anel.

ppm: na ressonância magnética nuclear, unidade convencional utilizada para demarcar os deslocamentos químicos, em partes por milhão.

gHMQC: na ressonância magnética nuclear, *heteronuclear multiple quantum coherence*, experimento que correlaciona os núcleos de hidrogênio-1 ligados diretamente aos núcleos de carbono-13.

gHMBC: na ressonância magnética nuclear, *heteronuclear multiple bond connectivity*, experimento que correlaciona os núcleos de hidrogênio-1 aos núcleos de carbono-13 mantidos entre duas e três ligações de distância.

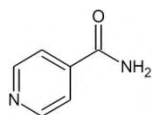
gCOSY: na ressonância magnética nuclear, *chemical shift correlation spectroscopy*, experimento que correlaciona os núcleos de hidrogênio-1 ligados mantidos entre três e quatro ligações de distância.

DEPT 135: na ressonância magnética nuclear, *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*, experimento que permite determinar a multiplicidade de substituição de átomos de carbono com hidrogênios. Nesse caso, os sinais do CH_2 serão negativos (apontados para baixo), enquanto os sinais de CH e de CH_3 serão positivos (apontados para cima).

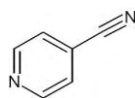
NOESY 1D: na ressonância magnética nuclear, correlação espectroscópica via efeito Overhauser nuclear, entre núcleos de hidrogênio-1 com até 3 Å de distância espacial entre si.

LISTA DE ESTRUTURAS

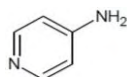
LIGANTES



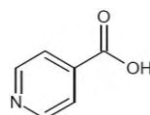
isonicotinamida



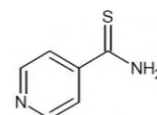
4-cianopiridina



4-aminopiridina



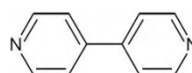
ácido isonicotínico



tioisonicotinamida

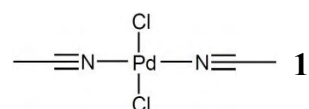


triétilenodiamina

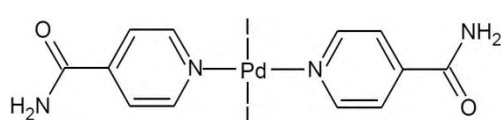
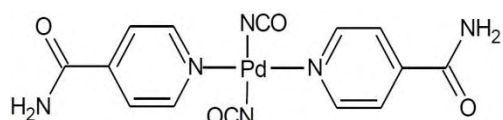
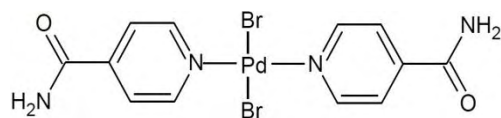
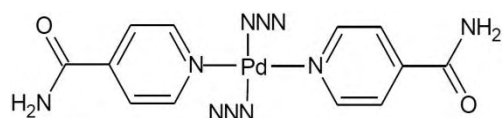
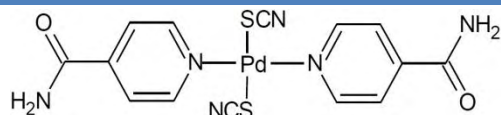
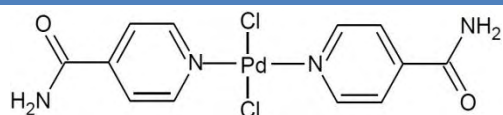


4,4'-bipiridina

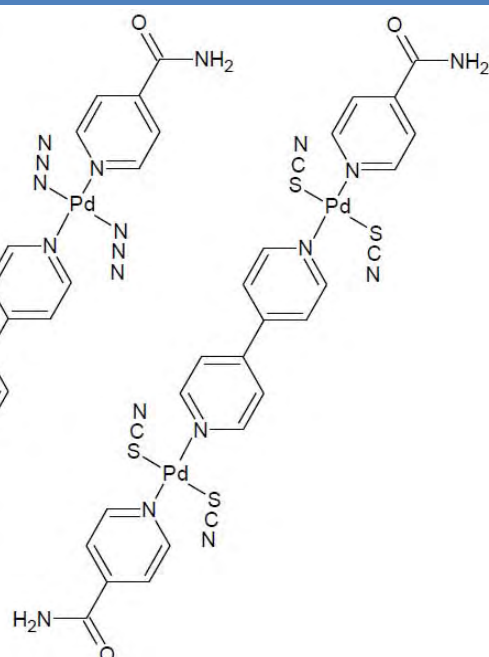
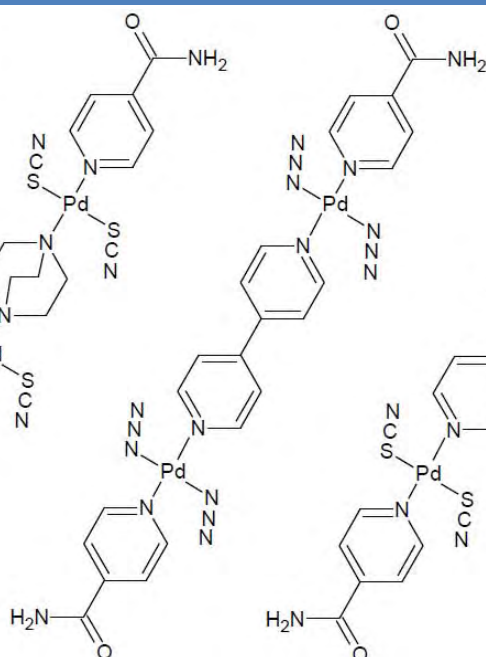
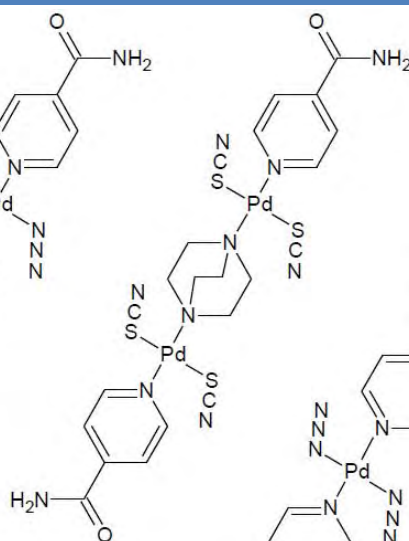
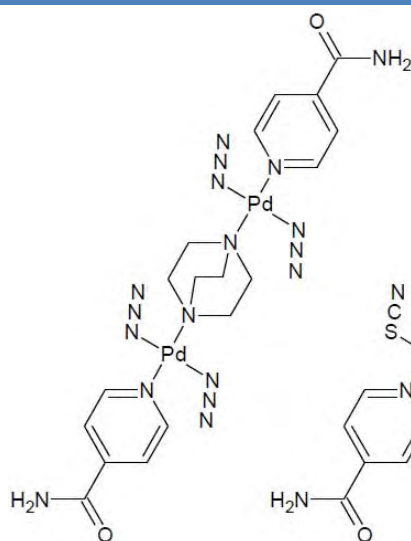
COMPOSTOS



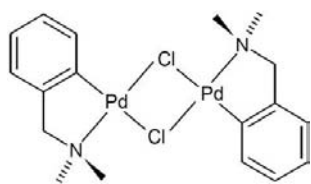
Série 1



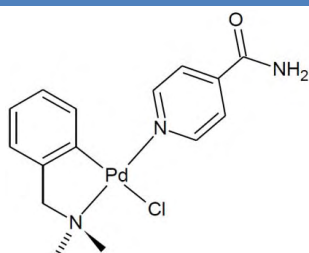
Série 2



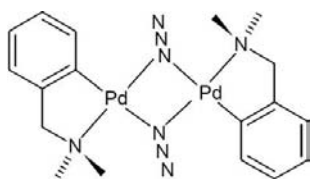
Série 3



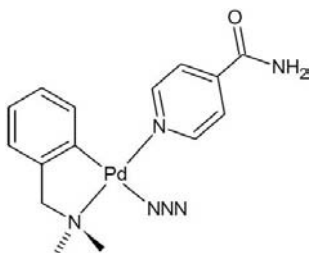
12



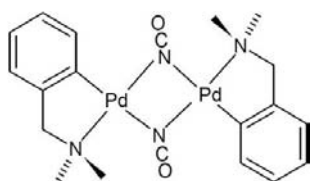
15



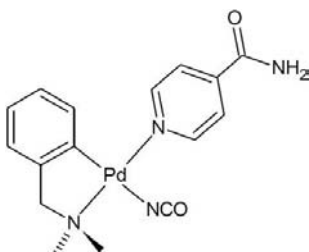
13



16

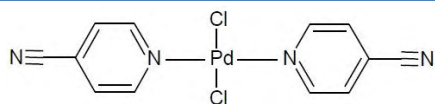


14

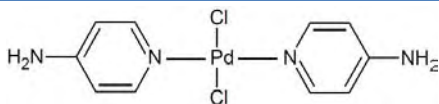


17

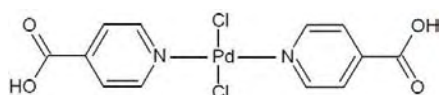
Série 4



18

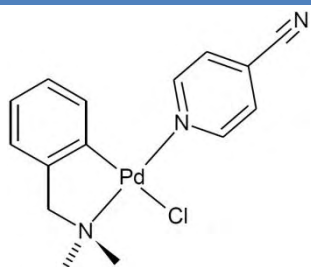


19

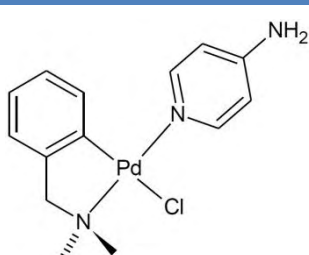


20

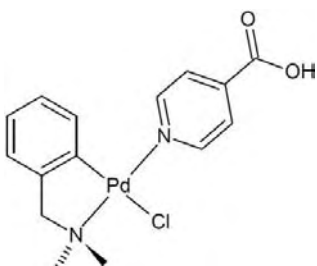
Série 5



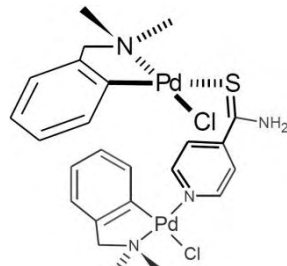
21



22



23



24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	28
1.1	COMPOSTOS DE PALÁDIO(II) E A PERSPECTIVA DE NOVOS ANTITUMORAIS	28
1.2	LIGANTES PIRIDÍNICOS	31
1.3	CÂNCER	33
1.4	DOENÇAS NEGLIGENCIADAS	34
	Tuberculose	35
	Doença de Chagas (tripanosomíase americana)	38
	Leishmanioses	42
1.5	MOTIVAÇÃO DO TRABALHO	47
2	OBJETIVO	48
3	EXPERIMENTAL	49
3.1	PARTE QUÍMICA	49
	Reagentes e solventes	49
3.2	CARACTERIZAÇÕES DOS COMPOSTOS	50
	Análise elementar	50
	Análise térmica	50
	Difração de raios X	50
	Difração de raios X de monocristal	50
	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	51
	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)	51
	Medidas das temperaturas de decomposição	51
3.3	PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS	51
	Síntese do precursor <i>trans</i> -[PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂] (1)	51
	Síntese dos compostos da série 1: <i>trans</i> -[PdX ₂ (isn) ₂]; X= Cl (2), N ₃ (3), NCO (4), SCN (5), Br (6) e I (7); ISN= isonicotinamida	52

Síntese dos compostos da série 2: $[\text{Pd}_2\text{X}_4(\mu\text{-L})(\text{isn})_2]$; X= N_3 e SCN; L= 4,4'-bipiridina e trietilenodiamina; ISN= isonicotinamida	52
Síntese do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ (12)	53
Síntese do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (13)	54
Síntese do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (14)	54
Síntese dos compostos da série 3: $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{isn})]$; X= Cl (15), N_3 (16) e NCO (17); ISN= isonicotinamida	54
Síntese dos compostos da série 4: <i>trans</i> - $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$; L= 4CNPY (18), 4AMPY (19) e 4ACIDPY (20)	55
Síntese dos compostos da série 5: $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{L})]$; L= 4CNPY (21), 4AMPY (22), 4ACIDPY (23) e $[\{\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (24); TIOISN= tioisonicotinamida	55
3.4 PARTE BIOLÓGICA	56
Atividade frente ao <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	56
Atividade frente ao adenocarcinoma mamário murino LM3	57
<u>Cultivo celular</u>	57
<u>Preparação das amostras testadas</u>	57
<u>Determinação da Cl_{50}</u>	58
Citotoxicidade frente aos macrófagos peritoneais	58
<u>Animais</u>	59
<u>Obtenção dos macrófagos</u>	59
<u>Preparação das amostras testadas</u>	60
<u>Determinação da Cl_{50}</u>	60
Atividade frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i>	60
<u>Cultivo do parasito</u>	61
<u>Preparação das amostras testadas</u>	61
<u>Determinação da Cl_{50} frente às formas epimastigotas</u>	61
Atividade frente ao <i>Leishmania amazonensis</i>	62
<u>Cultivo do parasito</u>	63

<u>Preparação das amostras testadas</u>	63
<u>Determinação da Cl_{50} frente às formas promastigotas</u>	63
<u>Análise estatística dos dados</u>	63
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS	64
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO PRECURSOR <i>trans</i>-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1)	65
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 1: <i>trans</i>-[PdX₂(isn)₂]; X= Cl (2), N₃ (3), NCO (4), SCN (5), Br (6) e I (7); ISN= isonicotinamida	65
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 2: [Pd₂X₄(μ-L)(isn)₂]; X= N₃ e SCN; L= 4,4'-bipiridina e trietilenodiamina; ISN= isonicotinamida	76
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS PRECURSORES [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (12), [Pd(dmba)(μ-N₃)]₂·H₂O (13) E [Pd(dmba)(μ-NCO)]₂ (14)	81
4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 3: [Pd(dmba)X(isn)]; X= Cl (15), N₃ (16) e NCO (17); ISN= isonicotinamida	83
4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 4: <i>trans</i>-[PdCl₂L₂]; L= 4CNPY (18), 4AMPY (19) e 4ACIDPY (20)	93
4.8 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 5: [Pd(dmba)Cl(L)]; L= 4CNPY (21), 4AMPY (22), 4ACIDPY (23) e [{Pd(dmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (24); TIOISN= tioisonicotinamida	104
4.9 ATIVIDADE BIOLÓGICA	125
Atividade frente ao adenocarcionoma mamário murino LM3	125
Atividade frente ao <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (H₃₇Rv ATCC 27194)	127
Atividade frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i> (cepa Y) e frente à <i>Leishmania amazonensis</i>	128
Citotoxicidade frente aos macrófagos peritoneais murinos	130
5 CONCLUSÃO	132
REFERÊNCIAS	137
APÊNDICE	147
ANEXO	150

1 INTRODUÇÃO

1.1 COMPOSTOS DE PALÁDIO(II) E A PERSPECTIVA DE NOVOS ANTITUMORAIS

Desde o uso clínico da cisplatina (figura 1), iniciado em 1979, a comunidade científica se esforça para encontrar um análogo desse composto que seja tão potente quanto ele, mas, principalmente, que apresente menos efeitos adversos. Observou-se, notadamente a partir dos anos 1990, o relato na literatura de muitos trabalhos voltados à síntese de compostos de coordenação sem relação estrutural com a cisplatina, objetivando aplicações antitumorais (ZHANG; LIPPARD, 2003).

Figura 1 – Estrutura molecular da cisplatina.

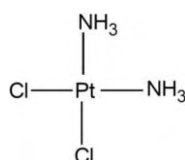
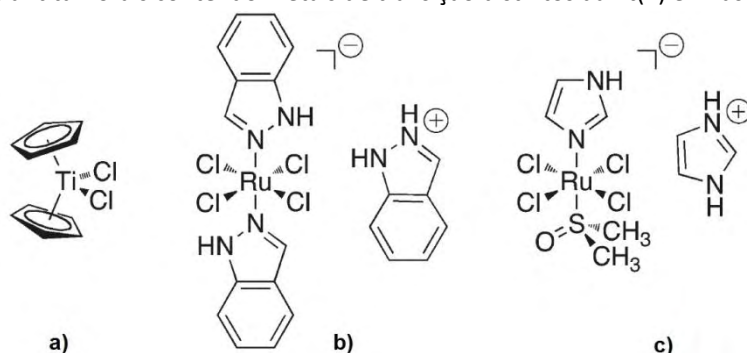


Figura elaborada pelo autor.

Entre as centenas de derivados inorgânicos e organometálicos sintetizados e testados contra o câncer até agora, apenas três compostos não contendo platina em suas constituições atingiram a fase II de ensaios clínicos, figura 2.

Figura 2 – Compostos antitumorais contendo metais de transição distintos da Pt(II) em fase II de testes clínicos.

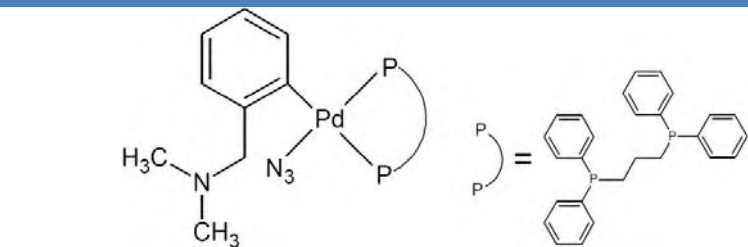
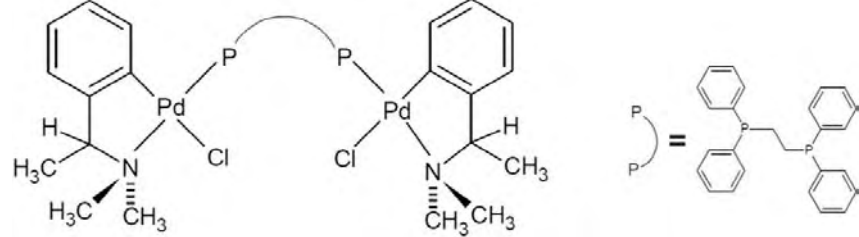
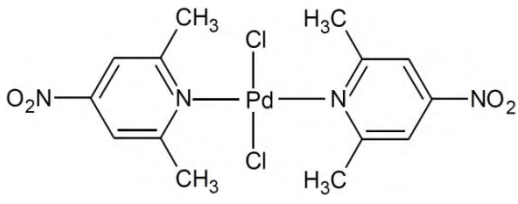
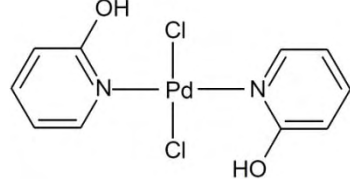
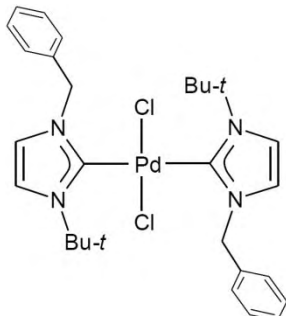
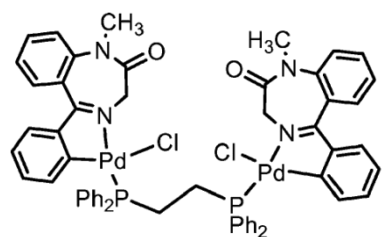


Bis(ciclopentanienil)diclortitanoceno(IV) (a), KP1019 (b) e NAMI-A (c). Os compostos em a e em c contém Ru(III). Wenzel et al. (2011).

Considerando a correspondente geometria quadrática-planar predominante ao redor de platina(II), o uso de Pd(II) na preparação de compostos visando melhores substitutos da cisplatina foi crescente nos últimos anos (ABU-SURRAH; AL-SA'DONI; ABDALLA, 2008; CASAS; et al., 2008; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009; GAO; et al., 2010; KROGUL; et al., 2012), e alguns exemplos podem ser apontados como mais

promissores no combate a certos tipos de câncer quando comparados à cisplatina, como ilustrado pela figura 3.

Figura 3 – Exemplos de compostos de paládio(II) com atividade antitumoral superior à cisplatina.

COMPOSTO	LINHAGEM	REFERÊNCIA
	HeLa Hep-2 C6	a
	B16F10	b
	SW707 T47D HCV A549	c
	A2780 A2780 ^{cisR} A2780 ^{ZD0473R}	d
	HeLa MCF-7 HCT 116	e
	K562	f

Compostos: **a**= $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{-dmba})(\text{N}_3)(\text{dppp})]$ (CAIRES; et al., 1999), **b**= $[\text{Pd}_2(\text{S-}\text{C}^2,\text{N-dmpa})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$ (RODRIGUES; et al., 2003), **c**= $\text{trans-}[\text{PdCl}_2(\text{dmnp})_2]$ (KUDUK-JAWORSKA; et al., 2004), **d**= $\text{trans-}[\text{PdCl}_2(2\text{OHpy})_2]$ (HUQ; et al., 2007), **e**= $\text{trans-}[\text{PdCl}_2(\text{L1})(\text{py})]$, L1= 1-benzil-3-t-butilimidazol-2-ilideno (RAY; et al., 2007), **f**= $[\text{Pd}_2(\text{L2})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$, L2= $\text{C}^2,\text{N-benzodiazepina}$ (SPENCER; et al., 2009). Figura elaborada pelo autor.

Tratando-se ainda da importância de substâncias contendo paládio(II) é imprescindível incluir os compostos ciclopaladados. Com a descoberta destas espécies na década de 1960, muitas aplicações foram investigadas. Inicialmente foram aplicadas em processos catalíticos homogêneos e, posteriormente, foram relatadas suas potencialidades líquido-cristalinas, fotoluminescentes e antitumorais (DUPONT; CONSORTI; SPENCER, 2005).

Os ciclometalados constituem uma classe distinta de organometálicos e derivam de reação com a formação de um anel quelato (ANANIAS; et al., 2003), como apresentado na figura 4.

Figura 4 – Modelo representativo da formação do anel ciclometalado.

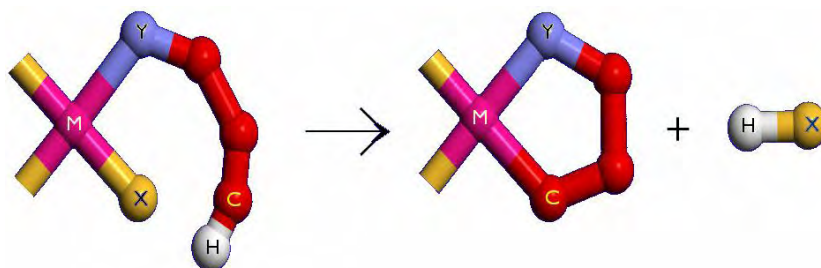


Figura extraída de Ananias et al. (2003).

O anel ciclometalado é constituído por uma ligação de coordenação entre um metal de transição M e um átomo doador de elétrons Y (pertencente aos grupos 15 ou 16 da Tabela Periódica), e uma ligação covalente M–carbono. A ligação M–carbono é formada pela ruptura intramolecular de uma ligação C–H de um composto de coordenação inicial, sendo X um halogênio ou um grupo alquil (ANANIAS; et al., 2003), conforme o mecanismo apresentado na figura 1 do APÊNDICE.

Um dos pontos interessantes envolvendo a ligação Pd–C nesta classe de compostos é a sua labilidade relativa, que suscita reações orgânicas distintas, como a inserção de CO com a consequente formação de ésteres ou de ureias (LUCCA NETO; et al., 2006), ou ainda, a formação de heterociclos orgânicos inusitados, via reações de adição 1,3-dipolar (MAURO; et al., 1999; SANTANA; et al., 2001).

A formação de ligação carbono–carbono é um dos temas centrais na Química e pré-requisito para toda a vida na Terra. No ano de 2010, o prêmio Nobel em Química agraciou pesquisas relacionadas à formação de ligações C–C catalisadas por compostos contendo paládio. Tal premiação destacou, entre outros avanços gerados dessas pesquisas, as condições catalíticas brandas em que tais ligações são estabelecidas. Mencionando os primeiros trabalhos de Heck (1968a, 1968b, 1968c, 1968d, 1968e), por exemplo, nos quais a adição de

metila ou de fenila à olefinas, à temperatura ambiente, ocorreu com o envolvimento catalítico de compostos contendo ligações Pd–C. Desde então, a reação de Heck é usada em muitas sínteses, inclusive em etapas reacionais determinantes na preparação de fármacos, como o taxol® (DANISHEFSKY; et al., 1996).

A maior estabilidade termodinâmica e cinética dos ciclopaladados, quando comparados aos complexos convencionais de paládio(II), devido à formação de um anel quelato estável contendo cinco ou seis membros, em geral (CAIRES; MAURO, 1996), não é somente um quesito favorável para a catálise mas também é para aplicações biológicas.

O trabalho de Caires e colaboradores (1999) exemplifica a ótima atividade antitumoral de uma série de ciclopaladados contendo os ligantes *N,N'*-dimetilbenzilamina (DMBA), azido e difosfinas. Todos da série apresentaram alta citotoxicidade *in vitro* contra linhagens celulares humanas de vários tumores.

O trabalho de Rocha e colaboradores (2007) contemplou a resposta imunológica e citotóxica do composto [Pd(C-dmba)(NCS)(dppp)], comparável à cisplatina. Porém, quando usado no tratamento de camundongos infectados com tumor de Erlich, o ciclopaladado em questão resultou em um aumento na expectativa de vida superior à cisplatina.

1.2 LIGANTES PIRIDÍNICOS

O uso de ligantes piridínicos foi determinado nesse trabalho por alguns fatores, a se iniciar pela elevada afinidade do Pd²⁺ – um ácido mole segundo o conceito de ácidos e bases de Pearson (1963) – por ligantes piridínicos, considerados como bases cuja maciez é modulada por substituintes presentes no anel.

Outra motivação para o emprego desses ligantes considerou a atividade antituberculose apresentada por uma série de complexos, em especial pelo *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] {ISN= isonicotinamida}, figura 5.

Figura 5 – Estrutura molecular do *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂].

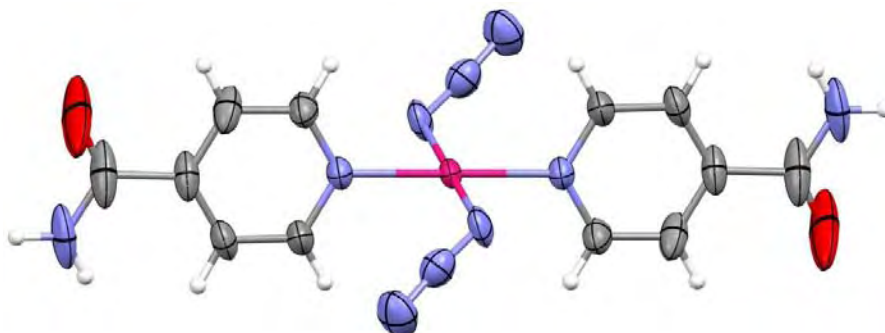
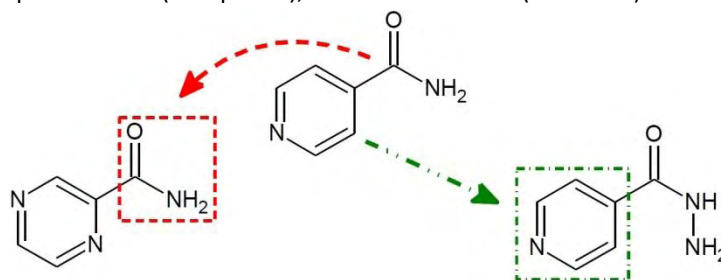


Figura extraída de Souza, R. et al. (2010).

A isonicotinamida é uma piridina *para*-substituída com uma amida e se assemelha estruturalmente às substâncias pirazinamida e isoniazida, usadas no tratamento da tuberculose (figura 6).

Figura 6 – Estrutura da pirazinamida (à esquerda), da isonicotinamida (ao centro) e da isoniazida (à direita).



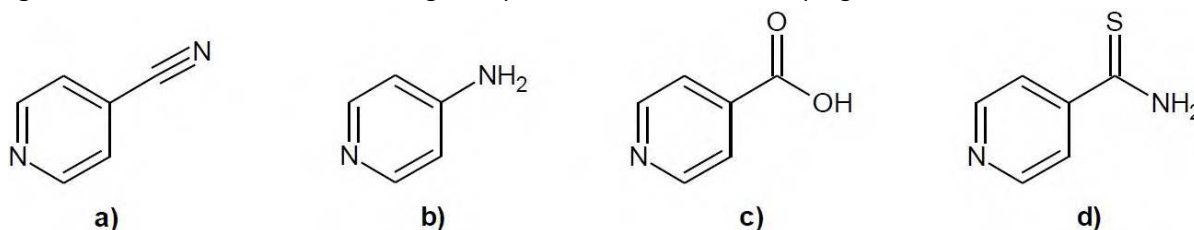
Em destaque as similaridades estruturais entre os compostos.

Figura elaborada pelo autor.

Algumas moléculas semelhantes à ISN são reativadores promissores de acetilcolinesterase, inibida por sarin (KUČA; et al., 2003) ou agentes tóxicos organofosforados (JEONG; et al., 2009). Outra propriedade relevante da ISN é a sua capacidade em reforçar a atividade da sirtuína 1 (Sirt1) desacetilase, para competir com a Sirt1 endógena inibidora de nicotinamida (SAUVE; et al., 2005). As sirtuínas são proteínas responsáveis pela regulação de uma variedade de funções celulares (MORRISON; MAJDZADEH; D'MELLO, 2007). Além disso, recentemente se relacionou a Sirt1 desacetilase com a repressão na produção de novos tumores e no crescimento do câncer (LI; et al., 2009).

Neste trabalho, além da isonicotinamida, outros ligantes piridínicos *para*-substituídos (figura 7) foram empregados na tentativa de se modular a densidade eletrônica distribuída ou retirada do sistema aromático pelos substituintes, visando, com isso, estabelecer uma relação estrutura atividade em função do grupo *para*-substituinte.

Figura 7 – Estruturas moleculares dos ligantes piridínicos, além da ISN, empregados nesta Tese.



Ligante 4-cianopiridina (a), 4-aminopiridina (b), ácido isonicotínico (c) e tioisonicotinamida (d). Figura elaborada pelo autor.

1.3 CÂNCER

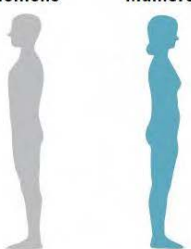
É um conjunto de doenças caracterizadas por células que crescem e se dividem de modo anormal, invadindo e destruindo tecidos adjacentes. Quando se encontram no processo de metástase, essas células podem se espalhar pelo corpo todo (AMERICAN..., 2013, p. 1).

O fator mais relevante para o surgimento do câncer está relacionado à anomalias genéticas, inerentes às próprias células (informação genética) ou decorrentes de processos envolvendo as replicações celulares, afetados por fatores externos, entre tantos como: tabagismo, consumo de drogas ou álcool, alimentação e radiação (AMERICAN..., 2013, p. 1).

De acordo com números mais recentes da Organização Mundial da Saúde, datados de 2007, o número de mortes por câncer no mundo deve aumentar de 7,9 milhões (em 2007) para 11,5 milhões de óbitos (em 2030), como consequência do aumento e do envelhecimento da população global. As estimativas também consideram que os novos casos, no mesmo período, saltarão de 11,3 milhões para 15,5 milhões (WORLD..., 2008).

O câncer da mama é o tipo de câncer que mais acomete as mulheres em todo o mundo e cerca de 1,4 milhões de casos novos dessa neoplasia foram esperados para o ano de 2008, representando 23% de todos os tipos de câncer. Em 2012, eram esperados, para o Brasil, 52.680 casos novos (BRASIL, 2011), como traz a figura 8.

Figura 8 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2012 por sexo, exceto pele não melanoma, no Brasil.

Localização primária	casos novos	percentual	Homens	Mulheres	Localização primária	casos novos	percentual
Próstata	60.180	30,8%			Mama Feminina	52.680	27,9%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.210	8,8%			Colo do Útero	17.540	9,3%
Cólon e Reto	14.180	7,3%			Cólon e Reto	15.960	8,4%
Estômago	12.670	6,5%			Glândula Tireoide	10.590	5,6%
Cavidade Oral	9.990	5,1%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.110	5,3%
Esôfago	7.770	4,0%			Estômago	7.420	3,9%
Bexiga	6.210	3,2%			Ovário	6.190	3,3%
Laringe	6.110	3,1%			Corpo do Útero	4.520	2,4%
Linfoma não Hodgkin	5.190	2,7%			Linfoma não Hodgkin	4.450	2,4%
Sistema Nervoso Central	4.820	2,5%			Sistema Nervoso Central	4.450	2,4%

BRASIL, 2011, p. 53.

A prevenção não é totalmente possível em razão da variação dos fatores de risco e das características genéticas que estão envolvidas na sua etiologia. A mamografia, para mulheres com idade entre 50 e 69 anos, é recomendada como método efetivo para detecção precoce. Contudo, as taxas de mortalidade são elevadas no Brasil, provavelmente porque o diagnóstico é tardio (BRASIL, 2011).

O tratamento varia de acordo com o estágio da doença, suas características biológicas, bem como das condições da paciente (idade, período ou não de menopausa, comorbidades e preferências), podendo ser dividido em tratamento local (cirurgia e radioterapia) e tratamento sistêmico (quimioterapia, hormonioterapia e terapia biológica) (BRASIL, 2012a).

Graças à Lei federal 12.401, de 2011, que define regras que garantem a proteção do cidadão quanto ao uso e eficácia de medicamentos de alto custo, o medicamento Trastuzumabe passa a ser fornecido pelo Sistema Único de Saúde e cria uma expectativa de se tornar mais efetivo o tratamento contra esse tipo de câncer (BRASIL, 2012b). Entretanto, esse medicamento também apresenta efeitos colaterais e pode ser contraindicado em certos casos. Dessa forma, ainda se faz necessário pesquisar e desenvolver novos fármacos para combater o câncer de mama.

1.4 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

Doenças negligenciadas é uma terminologia proposta na década de 1970 e hoje empregada para se referir a um conjunto de doenças causadas por agentes infecciosos e parasitários, que são endêmicas em populações de baixa renda vivendo, sobretudo, em países em desenvolvimento na África, Ásia e na América Latina. A adoção do adjetivo negligenciada pautou-se no fato de que tais enfermidades não despertam o interesse das grandes empresas farmacêuticas, que não enxergam compradores potenciais de novos medicamentos, e por outro lado, a pesquisa neste setor não conta com recursos suficientes das agências de fomento, o que gera a escassez dos métodos de diagnósticos e profilaxia disponíveis em todo o mundo (SOUZA, W., 2010).

São consideradas doenças negligenciadas as seguintes: ancilostomíase, ascaríase, dengue, doença de chagas (tripanossomíase americana), dracunculíase, esquistossomose, febre amarela, filariose, hanseníase, leishmanioses, malária, necatoríase, tracoma, tricuriase, tripanossomíase africana (doença do sono), tuberculose, e a úlcera de buruli. Mas hoje, levando em consideração apenas o nível de financiamento internacional para pesquisas, tuberculose e malária não são mais consideradas como negligenciadas (SOUZA, W., 2010).

Dentre as doenças mencionadas, a tuberculose e as leishmanioses são de caráter global, enquanto a tripanossomíase americana incide mais nas Américas Central e do Sul, mas todas apresentam em comum uma elevada complexidade envolvendo seus respectivos agentes etiológicos.

As dificuldades de se obter fármacos eficazes para essas doenças é um dos desafios do século XXI. Para se entender um pouco mais sobre elas segue uma breve descrição.

Tuberculose

A tuberculose (TB) é causada por bactérias dependentes de oxigênio (aeróbicas) da família *Mycobacteriaceae*, gênero *Mycobacterium*, compondo o chamado “complexo *Mycobacterium tuberculosis*”, que compreende as espécies *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae* e *M. microti* e a principal causadora da enfermidade em seres humanos a *M. tuberculosis* (PANDOLFI; et al., 2007). Ela se manifesta sob a forma pulmonar, na maior parte dos casos, e extrapulmonar principalmente quando co-infectada com HIV, atingindo, nessa última forma, os linfonodos, o sistema urogenital, os ossos, as articulações, o fígado, o baço, o sistema nervoso central e a pele (PANDOLFI; et al., 2007; REDE..., 2002).

A descrição do agente causador da doença, também chamado de bacilo de Koch, ocorreu em 1882, pelo bacteriologista Robert Koch (REDE..., 2002). Mediante datações por carbono-14, a evidência mais antiga da TB em humanos foi constatada em 44 múmias, entre 3700 a 1000 a.C., em Tebas, Egito (ROSEMBERG, 1999).

A bactéria com o formato bacilar normalmente é disseminada por exteriorização de material biológico contaminado através de fala, espirro ou tosse, provenientes do pulmão. A infecção ocorre a partir da inalação de gotículas contendo esses bacilos, expelidos do tuberculoso, em seu estado ativo nas vias respiratórias (REDE..., 2002). Os principais sintomas da TB são tosse com catarro por mais de 15 dias, febre vespertina, sudorese noturna, falta de apetite, emagrecimento, indisposição e mal-estar (REDE..., 2002).

É a segunda doença infecciosa que causa mais mortes no mundo, perdendo somente para o HIV. As últimas estimativas indicam quase 9 milhões de novos casos em 2011 e 1,4 milhões de mortes por TB, das quais 430.000 mortes associadas à co-infecção HIV/TB. No Brasil, também em 2011, houve 84.137 casos notificados (WORLD..., 2012). Soma-se, a esses dados, o fato de 1/3 da população mundial estar infectada com a *M. tuberculosis* em estado de latência (MA; et al. 2010).

O tratamento da TB é praticamente baseado na quimioterapia, que se iniciou em 1943 com a utilização da estreptomicina. Em 1952 foi adotado o primeiro regime de tratamento, envolvendo a combinação de estreptomicina, ácido aminosalicílico e isoniazida, aplicado ao paciente durante 24 meses (MA; et al. 2010). O tratamento dessa doença variou muito desde

então no que diz respeito aos componentes empregados e suas doses, além do período de medicação, como ilustrado pela figura 9.

Figura 9 – Quadro histórico a respeito da descoberta e do uso de medicamentos contra a TB e seus regimes de tratamento.

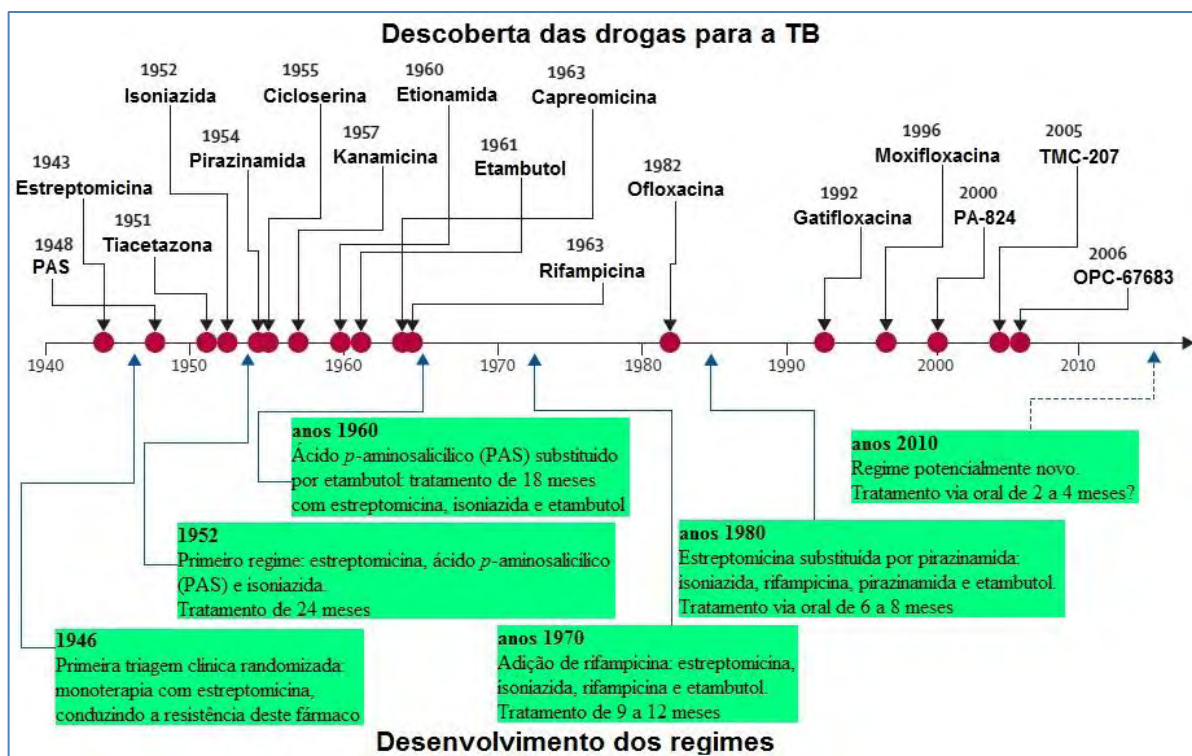


Figura adaptada de MA; et al., 2010.

A complexidade do ciclo de vida do *M. tuberculosis*, que possui multiplicação lenta e elevada proporção de mutantes resistentes (DALCOMO; ANDRADE; PICON. 2007), bem como sua intrigante morfologia, face à composição de sua parede celular (figura 10), parecem determinar o longo e desgastante tratamento ao indivíduo acometido pela doença.

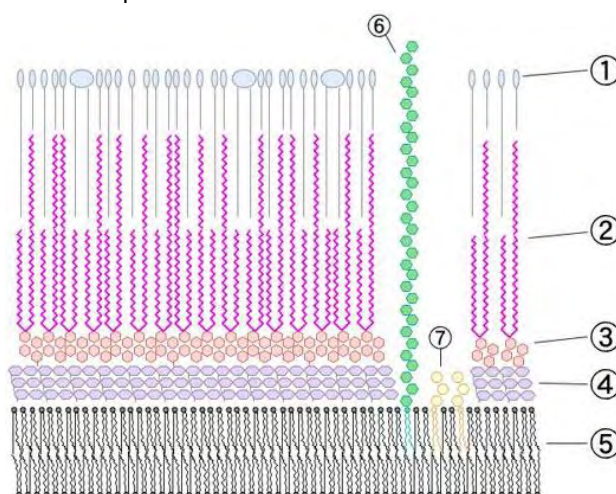
A terapêutica vigente no Brasil contra a TB preconiza três esquemas de tratamentos. O regime básico, o de multirresistência (MDR) e o extensivamente resistente, do inglês XDR – *extensively drug resistant* (BRASIL, 2009), como representado pela figura 11.

O regime básico é destinado aos casos novos para todas as formas de TB, exceto meningoencefalite, em pacientes infectados ou não pelo HIV. Considera-se um caso novo o paciente que nunca usou, ou usou por menos de 30 dias, medicamentos antituberculose. O regime MDR é destinado aos pacientes com infecção resistente à rifampicina e isoniazida, resistência a esses dois fármacos e outro(s) fármaco(s) de primeira linha, ou falência no esquema básico ou intolerância a fármacos do esquema básico. O regime XDR é destinado

aos pacientes com infecção resistente a isoniazida, rifampicina, qualquer fluoroquinolona e um dos seguintes injetáveis de segunda linha: ampicacina, kanamicina e capreomicina.

O regime básico e o MDR devem ser feitos diariamente sem interrupção. Porém, a longa duração deles e os vários efeitos colaterais induz o enfermo a abandonar o tratamento assim que ele nota uma aparente melhora. Consequentemente, a bactéria se torna resistente e, quando reincide com a doença no mesmo paciente, acaba sendo muitas vezes fatal.

Figura 10 – Modelo representativo da parede celular do *M. tuberculosis*.



Em 1= lipídeos externos, 2= ácido micólico, 3= polissacarídeos (arabinogalactanos), 4= peptidoglicano, 5= membrana plasmática, 6= lipoarabinomanano e 7= fosfatidilinositol manosídeo. Figura extraída de Paim (2008).

Figura 11 – Esquema terapêutico brasileiro contra a TB.

REGIME		FÁRMACOS	DOSE/ mg	TEMPO/ MÊS
BÁSICO	Fase intensiva	Rifampicina	150	2
		Isoniazida	75	
		Pirazinamida	400	
		Etambutol	275	
MDR	Fase intensiva (1ª etapa)	Rifampicina	200 ou 300	4
		Isoniazida	100 ou 150	
	Fase intensiva (1ª etapa)	Estreptomicina	300 a 1000	2
		Etambutol	400 a 1200	
		Levofloxacina	150 a 750	
		Pirazinamida	700 a 1500	
	Fase intensiva (1ª etapa)	Terizidona	300 a 1000	4
		Estreptomicina	300 a 1000	
		Etambutol	400 a 1200	
		Levofloxacina	150 a 750	
	Fase de manutenção	Pirazinamida	700 a 1500	12
		Terizidona	300 a 1000	
		Etambutol	400 a 1200	
		Levofloxacina	150 a 750	
XDR	Esquemas individualizados com fármacos de reserva avaliados por profissionais experientes no manejo deste tipo de paciente.	Terizidona	300 a 1000	Variável

Figura elaborada pelo autor a partir de dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2009).

Estimativas globais de 2011 apontaram 460.000 a 790.000 novos casos de TB-MDR e, até 2015, 13% a 26% dos casos uma vez tratados são estimados para ter MDR-TB no mundo (WORLD..., 2012). No caso da TB-XDR as opções de tratamento são menos eficazes, mais caras, têm mais efeitos colaterais e são mais preocupantes para as pessoas com infecção por HIV, além de oferecer um maior risco de morte aos que desenvolverem a doença (CENTERS..., 2013).

Além de tudo isso, o *M. tuberculosis* é capaz de se manter em estado de baixo metabolismo (latência) mesmo em tecidos com baixa concentração de oxigênio. Dessa forma, os tratamentos vigentes não se mostram efetivos (GOMEZ; McKINNEY, 2004) e isso torna premente a busca de novos fármacos.

Doença de Chagas (tripanosomíase americana)

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, foi descoberta pelo brasileiro Carlos Chagas, numa incursão sanitária contra a Malária no povoado mineiro de Lassance. Ele teve contato com o inseto vetor da doença em 1908 e, em 1909, promoveu uma brilhante divulgação científica que contemplou a biologia do parasito, seu ciclo de vida e o modo de transmissão, além de descrever clinicamente a nova doença (COUTINHO; DIAS, 1999).

Atualmente sabe-se que o agente etiológico *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado pertencente a ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, é transmitido por hematófagos hemípteros da família Reduviidae, sendo os gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* os mais importantes (ARGOLO; et al., 2008). Cerca de 140 espécies de triatomíneos distribuídas no continente Americano são vetores em potencial do *T. cruzi*. No Brasil há 52 espécies, mas somente cinco delas – *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *T. infestans*, *T. pseudomaculata* and *T. sordida* – são epidemiologicamente importantes, pelo fato de colonizarem as proximidades ou os próprios domicílios (RIMOLDI; et al, 2012). Alguns exemplos de triatomíneos são apresentados na figura 12.

A doença apresenta uma fase aguda de curta duração, quando o indivíduo é acometido por um quadro febril, por processos patológicos que afetam os nódulos linfáticos, aumento do volume do baço e inflamação no miocárdio, normalmente entre o sexto e o décimo dia após a infecção (RASSI Jr; RASSI; LITTLE, 2000). Em crianças e pessoas imunocomprometidas podem ocorrer quadros meníngeos graves ou insuficiência cardíaca que culminam em óbito

(SILVA; NAI; ROSA, 2006). Entretanto, é assintomática em cerca de 60 a 70% dos casos, e geralmente progride para uma fase crônica (RASSI Jr; RASSI; LITTLE, 2000).

Figura 12 – Exemplos de insetos hematófagos triatomíneos, vetores do *T. cruzi*.



Fotos cedidas gentilmente pelo Prof. Dr. João Aristeu da Rosa, de seu acervo pessoal.

Na fase crônica, 30% a 40% dos indivíduos infectados desenvolvem a forma digestiva e/ou cardíaca, enquanto cerca de 70% não apresentam sintomas durante anos ou até décadas. A forma digestiva provoca disfunções gastrointestinais severas, devido à destruição das fibras musculares do sistema digestivo, que acarreta perda da mobilidade autônoma do esôfago – gerando dificuldades e dores para engolir, regurgitação e hipersalivação – e do intestino, promovendo constipações. Já a forma cardíaca é mais grave, pois, com o aumento do coração, ocorre perda da função contrátil, arritmias e danos vasculares, entre outras consequências, que podem ocasionar morte súbita (RASSI Jr; RASSI; MARIN NETO, 2010).

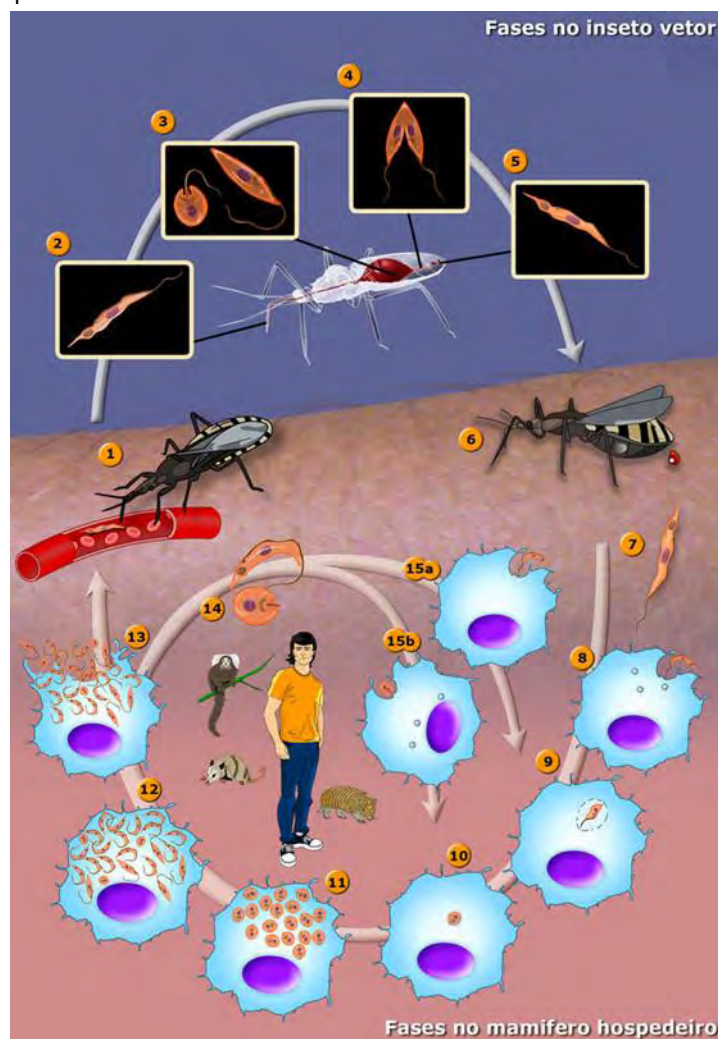
As formas de transmissão da moléstia estão ligadas ao vetor, à transfusão de sangue, à via congênita e pela ingestão de alimentos contaminados. Casos menos comuns envolvem acidentes de laboratório, manuseio de animais infectados, transplante de órgãos e pelo aleitamento materno (GONTIJO; SANTOS, 2012).

A partir de 2007 as atenções se voltaram principalmente para a região Norte do país, com a ocorrência de microepidemias associadas à veiculação do *T. cruzi* pela polpa de açaí – fruto muito consumido na região amazônica, sendo o principal suplemento alimentar dos paraenses e também importante fonte de renda para a população carente (PASSOS; et al., 2012). O trabalho de Passos e colaboradores (2012) reforça fortemente a tese de contaminação pelo consumo de açaí, já que em ensaios *in vitro* e *in vivo* foram demonstradas a presença e a infectividade do *T. cruzi*, que manteve sua virulência de 26 h (quando a polpa contendo o parasito permaneceu resfriada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) a 144 h (quando a polpa contendo o parasito permaneceu resfriada a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). Além disso, a inoculação do açaí contaminado em camundongos por via oral mostrou ser tão capaz de infectar os animais como em inoculações intraperitoneais (PASSOS; et al., 2012).

O *T. cruzi* apresenta muitas variações morfológicas, fisiológicas e ecológicas, além da sua variação quanto à infectividade e patogenicidade, o que leva a comunidade científica a tratá-lo não como uma espécie definida, mas sim como um “complexo *cruzi*”, pois mais de 60 linhagens ou cepas já foram descritas (REY, 2010).

O ciclo biológico do *T. cruzi* é muito complexo, apresentando basicamente três formas evolutivas distintas entre o inseto vetor e o hospedeiro vertebrado: epimastigota, tripomastigota e amastigota (REY, 2010), como ilustrado pela figura 13.

Figura 13 – Esquema representativo do ciclo de vida do *T. cruzi*.



A forma de reprodução do parasito no vetor ou em meio de cultura é a epimastigota. Essa forma flagelada se multiplica no intestino médio do inseto e se diferencia em tripomastigota metacíclica, que é a forma infectante para o ser humano.

A forma tripomastigota, fusiforme e alongada, não possui capacidade de se replicar, mas é dotada de grande motilidade, ocorrendo na corrente sanguínea do vertebrado e nas porções mais distais do tubo digestivo do vetor.

A forma amastigota é esférica ou ovalada, sem flagelos e desprovida de mobilidade, mas é replicante no hospedeiro vertebrado, se fazendo presente no interior de vários tipos de células, predominantemente nas fibras musculares e no sistema fagocítico.

Durante a picada do inseto, ocorre a deposição de fezes e urina do triatomíneo infectado sobre a pele danificada e mucosas do hospedeiro vertebrado. Dentro desse hospedeiro, os tripomastigotas se diferenciam em amastigotas, que se multiplicam por sucessivas divisões binárias no citoplasma celular. Após um período médio de quatro dias, os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas novamente, rompem as células infectadas e circulam no meio extracelular. Os tripomastigotas livres podem cair na corrente sanguínea e, durante a alimentação de um novo inseto, infectá-lo e fechar o ciclo; ou ainda se proliferar para células de outros tecidos do hospedeiro vertebrado (THE OPEN..., 2008).

As células infectadas com os amastigotas liberam os tripomastigotas para infectar outras células, mas também liberam produtos bioquímicos potenciais da inflamação, provocando variadas e complexas respostas do sistema imune do hospedeiro. O indivíduo, uma vez infectado, permanece como tal por toda a vida, embora dados clínicos, sorológicos e parasitológicos sugestivos de autocura, em humanos, já tenham sido apresentados; entretanto são raríssimos (ANDRADE et al., 2011).

A Tripanossomíase americana é a terceira doença tropical mais importante na América Latina, depois da malária e da esquistossomose. Estima-se que 7 a 8 milhões de indivíduos no planeta estão infectados com o *T. cruzi*, a maior parte vivendo na América Latina (WORLD..., 2013a).

O tratamento utiliza os fármacos benzonidazol e nifurtimox (produção comercial encerrada), apresentados na figura 14, efetivos na fase aguda da doença, se detectada no início, mas sem eficácia comprovada para a fase crônica (TONIN; et al., 2010).

Figura 14 – Estruturas moleculares do benzonidazol (a) e do nifurtimox (b).

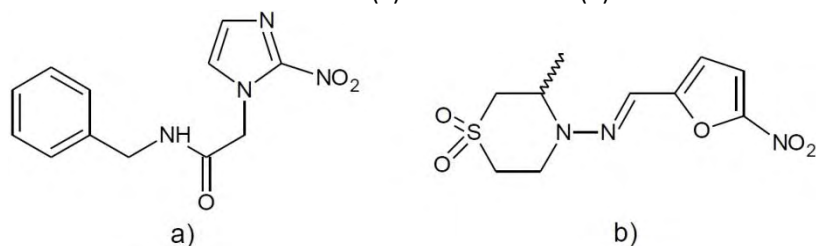


Figura elaborada pelo autor.

Esses fármacos, porém, apresentam toxicidade elevada, causando distúrbios gastrintestinais, anorexia e dermatites (TONIN; et al., 2010), além do que a utilização é relativamente longa. Um fator agravante é que a produção desses fármacos esta sendo gradativamente descontinuada pelas indústrias farmacêuticas, e recentemente temeu-se não tê-los no mundo. A Roche, por exemplo, concedeu os direitos de produção do benzonidazol ao Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco, que será o único a produzir esse medicamento (VARELLA, 2011).

Diante do quadro alarmante é imperativa a busca por novas drogas antichagásicas, e a opção de se testar os compostos dessa Tese, além do exposto, ganhou motivação ao se notar que compostos antitumorais como a cisplatina apresentaram também boa ação tripanocida (FARRELL; WILLIAMSON; McLAREN, 1984).

Leishmanioses

A *Leishmania* corresponde a um complexo de várias espécies que causam diferentes manifestações clínicas, incluindo a forma cutânea, a cutânea difusa, a mucocutânea e a visceral. A moléstia foi descrita pela primeira vez em 1903 pelo inglês William Leishman, no entanto, Pedro Pizarro em 1571 havia relatado que povos dos vales quentes do Peru eram dizimados por uma doença que desfigurava o nariz e que foi posteriormente caracterizada como leishmaniose (LAINSON, 2010).

O gênero *Leishmania* pertence à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e é classificado de acordo com a incidência geográfica. Na África, Ásia e Europa os protozoários são responsáveis por manifestações clínicas e epidemiológicas diferentes daquelas ocorridas nas Américas, causando a leishmaniose visceral e a leishmaniose tegumentar americana (cutânea e mucocutânea), respectivamente.

Os flebotomíneos envolvidos na transmissão das leishmanioses são agrupados nos gêneros *Phlebotomus* (transmissores na África, Ásia e Europa) e *Lutzomyia* (transmissores nas Américas) (REY, 2010). As espécies mais importantes de *Lutzomyia* no Brasil são: a *Lu. flaviscutellata*, transmissora da *Leishmania amazonensis*; a *Lu. welcomei*, *Lu. pessoai* e *Lu. migonei*, transmissoras da *Leishmania braziliensis*; *Lu. umbratilis*, transmissora da *Leishmania guyanensis* e a *Lu. longipalpis*, principal transmissora da forma visceral de leishmaniose, causada pela *Leishmania chagasi* (CAMARGO; BARCINSKI, 2003).

Exemplos de flebotomíneos são apresentados na figura 15.

Figura 15 – Exemplos de flebotomíneos, vetores das leishmanioses.



Fotos cedidas gentilmente pela Profa. Dra. Mara Cristina Pinto, de seu acervo pessoal.

As manifestações dos tipos de leishmaniose (WORLD..., 2013b), retratadas na figura 16, são as seguintes.

Forma cutânea: incluem úlceras de pele expostas em áreas como face, braços e pernas. Essas úlceras desaparecem dentro de alguns meses, deixando cicatrizes.

Forma cutânea difusa: gera lesões crônicas de pele semelhantes às da lepra, sendo difíceis de tratar.

Forma mucocutânea: as lesões destroem parcialmente ou totalmente as membranas mucosas das cavidades da boca, do nariz, da garganta e dos tecidos circundantes.

Forma visceral: também conhecida como kala-azar, é caracterizada por febre alta, perda de peso substancial, inchaço do baço e do fígado e anemia. Sem tratamento, a taxa de mortalidade pode chegar a 100% em dois anos.

Nas regiões tropicais, os insetos põem seus ovos no solo, em meio à matéria orgânica, e em locais úmidos de matas, plantações de café, de cacau e de banana (REY, 2010). Na área urbana, os cães são as principais fontes de infecção, servindo de reservatórios e precedendo a ocorrência em humanos. No ambiente silvestre, os reservatórios são as raposas e os marsupiais (BRASIL, 2013).

A principal forma de transmissão da moléstia está ligada a picada do vetor. Outras formas de transmissão já foram descritas, porém não existem estudos que revelem a magnitude e a importância epidemiológica na dinâmica dessas transmissões.

O ciclo de vida das diversas espécies de *Leishmania* é iniciado no trato digestivo de fêmeas hematófagas da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. O protozoário é ingerido durante o repasto sanguíneo na forma amastigota e logo sofre diferenciação para a forma promastigota procíclica, que se multiplica por divisão binária.

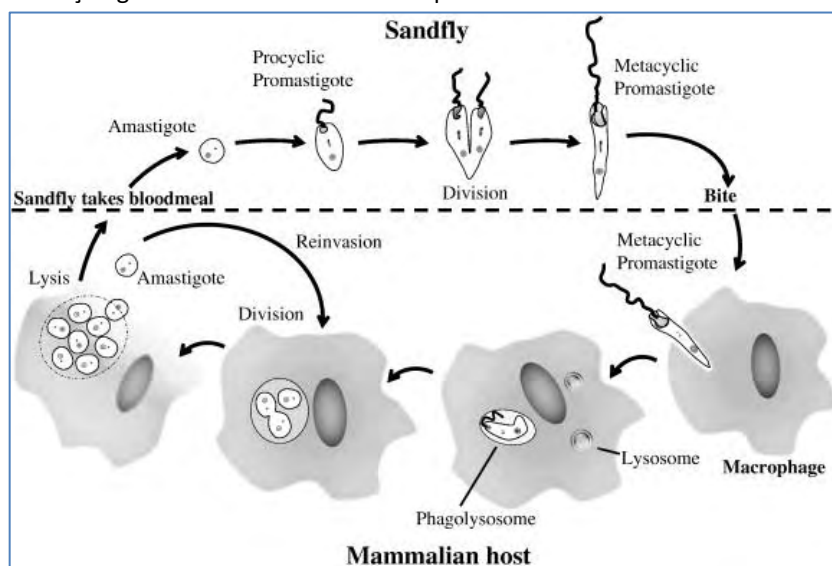
Figura 16 – Exemplos das manifestações das formas de leishmanioses.



Cutânea (a), mucocutânea (b), cutânea difusa (c) e visceral (d). BAÑULS; HIDE; PRUGNOLLE, 2007, p. 458.

Uma representação do ciclo de vida do parasito é apresentada na figura 17.

Figura 17 – Representação genérica do ciclo de vida dos parasitos causadores das leishmanioses.



ASSIS; et al., 2012.

Os promastigotas procíclicos não infectivos se aderem à membrana peritrófica, no trato digestivo do inseto vetor, e ali sofrem diferenciação para formas infectivas metacíclicas.

Nessa etapa perdem a capacidade de aderência, por modificação das moléculas de lipofosfoglicano da superfície do parasito, e assim migram para as glândulas salivares (PIMENTA; et al., 1992).

Os promastigotas metacíclicos são transferidos para a corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado através da picada do inseto que, ao mesmo tempo em que suga, injeta saliva, a qual contém várias substâncias farmacologicamente ativas que melhoram a captação do alimento por efeitos anticoagulante e de vasodilatação local, melhorando também o poder de infecção do parasito (CHARLAB; et al., 1999). No hospedeiro mamífero, formas promastigotas metacíclicas interagem com células fagocitárias, principalmente macrófagos, e são por eles fagocitados. Dentro dos vacúolos fagocíticos, ou fagolissomos, os promastigotas diferenciam-se em amastigotas novamente e multiplicam-se, resistindo aos ataques hidrolíticos e oxidativos. Após extensa multiplicação do protozoário, a célula parasitada rompe-se e os parasitos liberados são fagocitados por outras células fagocitárias. O ciclo de vida do parasito se completa quando um inseto torna-se vetor do protozoário, ao se alimentar do sangue de um vertebrado infectado (DESJEUX, 1996).

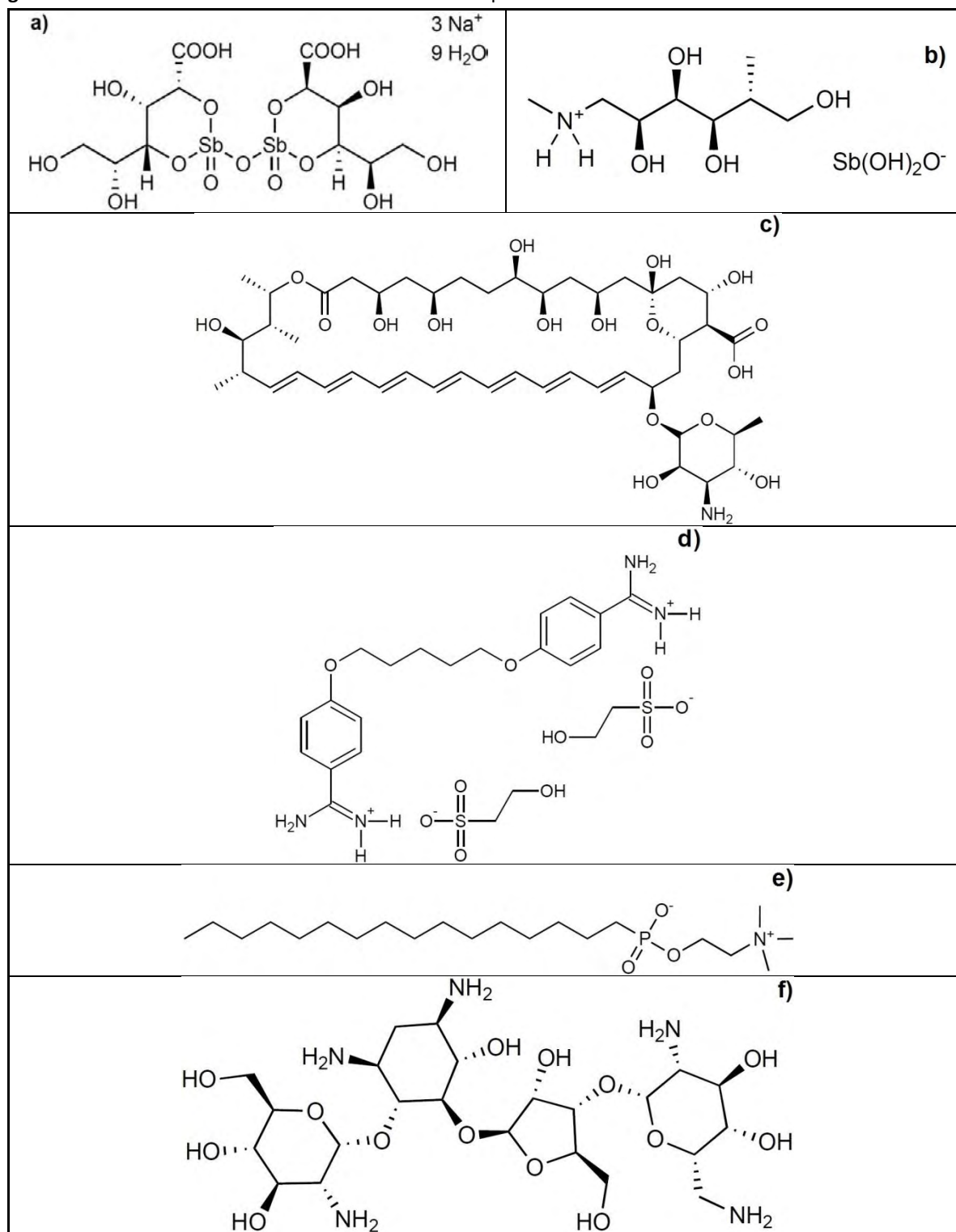
As leishmanioses são doenças mundialmente difundidas, afetando 12 milhões de pessoas no mundo e colocando 350 milhões em risco (ALVAR; et al., 2012), mas acometem, principalmente, populações pobres da África, América Latina e Ásia (SÜLSEN; et al., 2008). No Brasil, os casos de leishmaniose cutânea aumentaram de forma alarmante, totalizando 388.155 casos entre 1985 e 1999; apresentando 13.654 novos casos no ano de 1985 e 30.550 casos em 1999 (BRASIL, 2000). Já a leishmaniose visceral dobrou o número de casos por ano, comparando-se os períodos de 1985 a 1989 (1.601 casos) com 2000 a 2004 (3.630 casos) (WERNECK, 2010).

Fatores socioeconômicos das populações atingidas corroboram com os elevados índices de morbidade e mortalidade, além disso, a complexidade genética dos parasitos e as intrincadas relações parasito-hospedeiro – que garantem a sobrevivência dos protozoários por diversos mecanismos sofisticados –, dificultam o desenvolvimento de vacinas e fármacos eficazes para o tratamento dessas doenças (DAMASCENO; BEVERLEY; TOSI, 2010).

Sais de antimônio(V) foram introduzidos pela primeira vez em 1945 e ainda hoje são os fármacos de primeira escolha na terapia para as leishmanioses. Dentre eles, o estibogluconato de sódio (Pentostam®, GlaxoSmithKline) e o antimoniato de meglumina (Glucantime®, Sanofi-Aventis) são os rotineiramente usados contra as formas cutânea e visceral, respectivamente. Entretanto, a utilização desses fármacos é limitada por causa da resistência significativa que surge durante o tratamento (GRAEBIN; et al., 2009).

A figura 18 ilustra os fármacos usados contra as leishmanioses.

Figura 18 – Estruturas moleculares dos fármacos usados para o tratamento das leishmanioses.



Pentostam® (a), Glucantime® (b), anfotericina B (c), isotionato de pentamida (d), miltefosina (e) e paromomicina (f). [Figura elaborada pelo autor.](#)

O antibiótico anfotericina B foi empregado no início dos anos 1960 e é, atualmente, uma segunda escolha para os casos que não respondem aos antimoniais.

O isotionato de pentamidina também é um fármaco de segunda linha, preferencialmente utilizado quando o tratamento com antimoniais ou com a anfotericina B falha. Além disso, esse fármaco é usado em indivíduos co-infectados com *Leishmania*/ HIV (GRAEBIN; et al., 2009).

A miltefosina, recentemente aprovada para o tratamento da leishmaniose visceral na Índia (2002) e na Colômbia (2005), é a única droga ativa por via oral, mesmo em casos resistentes aos antimoniais. Os efeitos adversos são principalmente gastrointestinais, além de ser teratogênica (GRAEBIN; et al., 2009).

A paromomicina tem sido usada desde a década de 1960 em infecções bacterianas e na mesma década verificou-se ser um agente leishmanicida. No entanto, a falta de interesse em seu desenvolvimento atrasou sua investigação que só ocorreu no final da década de 1990, promovida pelo *Institute for One World Health* (entidade farmacêutica sem fins lucrativos), com doações de várias fontes. Foi então aprovada para o tratamento da leishmaniose visceral na Índia em 2006 (GRAEBIN; et al., 2009).

A busca por novas substâncias leishmanicidas é necessária porque os fármacos vigentes, assim como aqueles mencionados para o caso da doença de Chagas, se mostram ineficazes na fase crônica. O descaso das grandes corporações farmacêuticas e de muitos órgãos governamentais do mundo é outro fator que requer esforços do setor acadêmico para a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos para as leishmanioses.

1.5 MOTIVAÇÃO DO TRABALHO

Diante das promissoras atividades antitumorais dos compostos de paládio(II), novos compostos ainda devem ser preparados, pois a incessante busca por agentes quimioterápicos necessita, além de eficientes atividades anticancerígenas, considerável seletividade diante das células sadias, para com isso evitar ou minimizar drasticamente os efeitos colaterais advindos da quimioterapia convencional contra os vários tipos de câncer.

Por outro lado, o uso de compostos de paládio(II) na tentativa de se encontrar novos fármacos contra a tuberculose, doença de Chagas e leishmanioses justifica-se, diante dos graves desafios que representam essas doenças em saúde pública, seja pelos tratamentos longos e muito severos aos pacientes ou devido à complexidade desses micro-organismos que, muitas vezes, inibem ou criam resistências aos fármacos tipicamente orgânicos.

2 OBJETIVO

Preparação e caracterização estrutural de complexos de paládio(II) contendo ligantes piridínicos, visando avalia-los contra células murinas tumorais de mama (LM3), contra bactérias causadoras da tuberculose (*M. tuberculosis*) e contra protozoários causadores da doença de Chagas (*T. cruzi*) e da leishmaniose cutânea (*L. amazonensis*).

3 EXPERIMENTAL

3.1 PARTE QUÍMICA

Reagentes e solventes

As reações ocorreram em frascos do tipo erlenmeyer sem a necessidade de atmosfera inerte ou de proteção contra luz. Todos os compostos obtidos são estáveis ao ar e não higroscópicos. Os reagentes e os solventes, por apresentarem elevada pureza, foram utilizados como adquiridos. Todos são listados na tabela 1.

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

Reagente/ solvente	Fórmula molecular	Estado físico	Procedência
4-aminopiridina	C ₅ H ₆ N	Sólido	Aldrich
4,4'-bipiridina	C ₁₀ H ₈ N ₂	Sólido	Merck
4-cianopiridina	C ₆ H ₄ N ₂	Sólido	Aldrich
Ácido isonicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂	Sólido	Acros Organics
Acetona	C ₃ H ₆ O	Líquido	Mallinkrodt
Acetonitrila	CH ₃ CN	Líquido	Mallinkrodt
Água	H ₂ O	Líquido	Destilada
Azida de sódio	NaN ₃	Sólido	Riedel-de Haën
Brometo de potássio	KBr	Sólido	Sigma
Cianato de potássio	KNCO	Sólido	Riedel-de Haën
Cloreto de paládio(II)	PdCl ₂	Sólido	Degussa S.A.
Cloreto de lítio	LiCl	Sólido	Carlo Erba
Clorofórmio	CHCl ₃	Líquido	Merck
d ₁ -clorofórmio	CDCl ₃	Líquido	Cambridge isotope laboratories
Dietil-éter	C ₄ H ₁₀ O	Líquido	Mallinkrodt
d ₆ -dimetilsulfóxido	(CD ₃) ₂ SO	Líquido	Cambridge isotope laboratories
Etanol	C ₂ H ₆ O	Líquido	Mallinkrodt
Iodeto de sódio	NaI	Sólido	Sigma
Isonicotinamida	C ₆ H ₆ N ₂ O	Sólido	Aldrich
Metanol	CH ₃ OH	Líquido	Merck
N,N-dimetilbenzilamina	C ₉ H ₁₃ N	Líquido	Aldrich
Pentano	C ₅ H ₁₂	Líquido	Merck
Tiocianato de sódio	NaSCN	Sólido	Riedel-de Haën
Tioisonicotinamida	C ₆ H ₆ N ₂ S	Sólido	Aldrich
Trietilamina	C ₆ H ₁₅ N	Líquido	Carlo Erba
Trietilenodiamina	C ₆ H ₁₀ N ₂	Sólido	Merck

Tabela elaborada pelo autor.

3.2 CARACTERIZAÇÕES DOS COMPOSTOS

Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no analisador *Elemental Analyser 2400 CHN* da Perkin Elmer, pertencente à Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

Análise térmica

As curvas termogravimétricas (TG) e de análise térmica diferencial (DTA) foram obtidas simultaneamente, empregando-se o equipamento *TA Instruments SDT Q600*, da Universidade Federal de Alfenas e o equipamento da *TA Instruments*, SDT 2960, pertencente ao grupo de Análise Térmica de Materiais do Instituto de Química de Araraquara. Cada amostra foi disposta em cadinho de α -alumina, o qual foi submetido a um aquecimento da temperatura ambiente até 1000 °C (SDT Q600) ou até 900 °C (SDT 2960), com taxa de 20 °C min⁻¹, sob atmosfera de ar sintético e fluxo de 100 mL min⁻¹. A substância de referência para as medidas de DTA foi a α -alumina pura.

Difração de raios X

Os difratogramas de raios X dos resíduos oriundos das decomposições térmicas foram caracterizados em um difratômetro SIEMENS D-5000, que operou utilizando radiação de Cu K α ($\lambda = 1,5406$ Å) monocromatizada por cristal de grafite, num intervalo de $15 < 2\theta < 70$, com passo de 0,05 ° s⁻¹.

Difração de raios X de monocristal

A estrutura cristalina e molecular do composto [Pd(dmmba)Cl(4cnpy)] (**21**) foi resolvida pelo Prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano, da USP, Instituto de Física de São Carlos. Os dados foram obtidos em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD, utilizando-se radiação de Mo K α ($\lambda = 0,71073$ Å) monocromatizada por cristal de grafite. Os dados foram coletados utilizando-se o *software* COLLECT (ENRAF-NONIUS, 1997). A integração e o dimensionamento das reflexões foram realizados com os programas computacionais do sistema HKL Denzo-Scalepack (OTWINOWSKI; MINOR, 1997). As correções de absorção foram conduzidas com o método Gaussian (COPPENS; LEISEROWITZ; RABINOVICH, 1965). A estrutura foi resolvida por métodos diretos, envolvendo o *software* SHELXS-97

(SHELDRICK, 1997b). O modelo foi refinado pelo método dos mínimos-quadrados com o *software* SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997a). Todos os hidrogênios foram estereoquimicamente posicionados e refinados com o modelo de “desordem”. A lista de coordenadas atômicas e demais parâmetros de refinamento, bem como todas as distâncias de ligação e ângulos entre os átomos, estão depositados no *Cambridge Crystallographic Data Centre*, com o número de referência CCDC 842051.

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram coletados em espectrômetro multinuclear modelo INOVA 500, Varian. A padronização interna foi efetuada com $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ e o campo magnético aplicado foi de 11,7 T, ressoando os núcleos de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ em, respectivamente, 500 e 125 MHz.

Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros de transmitância na região do IV foram registrados no espectrofotômetro *Spectrum 2000*, Perkin Elmer, na faixa de 4000 a 370 cm^{-1} . A resolução das medidas foi de $\pm 4\text{ cm}^{-1}$ e as amostras foram preparadas em pastilhas de KBr.

Medidas das temperaturas de decomposição

Obtidas em um aparelho digital MQAPF-302, Microquímica, utilizando-o até a temperatura de $300\text{ }^\circ\text{C}$.

3.3 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS

Síntese do precursor *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1)

A preparação do *trans*-bis(acetonitrila)dicloropaládio(II), *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂], segue a metodologia presente na literatura (HOSSAIN; NAGAOKA; OGURA, 1996), porém com algumas modificações.

Em um erlenmeyer com capacidade para 250 mL, 30 mL de CH₃CN foram mantidos em agitação magnética e aquecimento. Quando se iniciou a ebulição da acetonitrila, adicionou-se, em pequenas porções, 2,00 g (11,3 mmol) de PdCl₂. No transcorrer da adição, a solução marrom mudou gradativamente seu aspecto, apresentando-se amarela no final. Com isso, manteve-se a agitação por mais 15 min. Decorrido este tempo, reservou-se o erlenmeyer

para resfriá-lo até 40 °C, então o sólido amarelo precipitado foi filtrado, lavado com CH₃CN e dietil-éter, e seco sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 2,23 g, equivalente a 75% de rendimento. Decomposição $\geq 132,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₄H₆N₂Cl₂Pd. C: 18,5 (17,4); H: 2,3 (2,2); N: 10,8 (11,1).

Síntese dos compostos da série 1: *trans*-[PdX₂(isn)₂]; X= Cl (2), N₃ (3), NCO (4), SCN (5), Br (6) e I (7); ISN= isonicotinamida

Exceto para 6 e 7, os demais compostos da série foram preparados conforme o trabalho de Souza, R. et al. (2010).

Para a obtenção do composto *trans*-[PdBr₂(isn)₂] (6) foram solubilizados 0,1000 g (0,38 mmol) de *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1) em 15 mL de clorofórmio, em um erlenmeyer, e mantidos sob agitação magnética. Posteriormente, foram adicionados 0,0928 g (0,76 mmol) de ISN, previamente solubilizados em 5 mL de etanol e, na sequência, 0,0904 g (0,76 mmol) de KBr, dissolvidos em 2 mL de H₂O/etanol (1:1), foram acrescidos lentamente à suspensão sob agitação. Após 1 h, isolou-se um sólido amarelo através de filtração, lavagens com água destilada, etanol e pentano, e secagem sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 0,1810 g, correspondendo a 92% de rendimento. Decomposição $>300,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₁₂H₁₂Br₂N₄O₂Pd. C: 28,2 (28,7); H: 2,4 (2,5); N: 11,0 (11,0).

Na preparação do *trans*-[PdI₂(isn)₂] (7) foram conduzidos os mesmos procedimentos de 6, exceto pela adição de 0,1139 g (0,76 mmol) de NaI no lugar de KBr. Um sólido marrom foi obtido (0,2170 g, 93% de rendimento). Decomposição $>300,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₁₂H₁₂I₂N₄O₂Pd. C: 23,8 (23,6); H: 2,0 (1,9); N: 9,3 (8,8).

Síntese dos compostos da série 2: [Pd₂X₄(μ-L)(isn)₂]; X= N₃ e SCN; L= 4,4'-bipiridina e trietilenodiamina; ISN= isonicotinamida

[Pd₂(N₃)₄(μ-teda)(isn)₂]·H₂O (8): em um erlenmeyer com 0,1000 g (0,38 mmol) de 1, solubilizados em 10 mL de acetona e mantidos sob agitação magnética, adicionou-se, simultaneamente, 0,0213 g (0,19 mmol) de trietilenodiamina (TEDA) e 0,0464 g (0,38 mmol) de ISN, previamente solubilizados em 8 mL de acetona. Em seguida, 0,0494 g (0,76 mmol) de NaN₃ dissolvidos em 2 mL de H₂O/acetona (1:1) foram acrescidos lentamente. Após 1 h, um sólido amarelo escuro foi filtrado, lavado com H₂O, acetona e pentano, e seco sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 0,1210 g (85% de rendimento). Decomposição $\geq 225,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₁₈H₂₄N₁₈O₂Pd₂·H₂O. C: 28,6 (27,3); H: 3,5 (3,6); N: 33,4 (33,0).

[Pd₂(SCN)₄(μ-teda)(isn)₂] (**9**): no lugar de NaN₃ utilizou-se 0,0616 g (0,76 mmol) de NaSCN, dissolvidos em 2 mL de H₂O/etanol (1:1). Um sólido amarelo foi filtrado, lavado com H₂O, etanol e pentano, e seco sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 0,1330 g (85% de rendimento). Decomposição >215,0 °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₂₂H₂₄N₁₀O₂Pd₂S₄. C: 33,0 (34,2); H: 3,0 (3,0); N: 16,3 (14,3).

[Pd₂(N₃)₄(μ-bipy)(isn)₂]·H₂O (**10**): foram executados os mesmos procedimentos de **8**, exceto pela adição de 0,0300 g (0,19 mmol) de 4,4'-bipiridina (BIPY) junto à ISN. Isolou-se um sólido amarelo escuro através de filtração, lavagens com H₂O, acetona e pentano, e secagem sob pressão reduzida. A massa isolada foi de 0,1220 g (80% de rendimento). Decomposição ≥230,0 °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₂₂H₂₀N₁₈O₂Pd₂·H₂O. C: 33,1 (33,4); H: 2,8 (2,7); N: 31,5 (29,3).

[Pd₂(SCN)₄(μ-bipy)(isn)₂] (**11**): foram executados os mesmos procedimentos de **10**, exceto pelo uso de 0,0616 g (0,76 mmol) de NaSCN, dissolvidos em 2 mL de H₂O/etanol (1:1). Isolou-se um sólido amarelo escuro por meio de filtração, lavagens com H₂O, etanol e pentano, e secagem sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 0,1430 g (88% de rendimento). Decomposição >200,0 °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₂₆H₂₀N₁₀O₂Pd₂S₄. C: 36,5 (35,7); H: 2,5 (2,6); N: 16,4 (15,3).

Síntese do precursor [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (**12**)

O composto [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (**12**) é conhecido desde o final dos anos 1960 (COPE; FRIEDRICH, 1968), mas neste trabalho seguiu-se um protocolo relativamente distinto, evitando, por exemplo, a recristalização do produto em benzeno/hexano (1:1, v/v) e utilizando-se a trietilamina para diminuir o tempo reacional (na condição original que apresentou o melhor rendimento o tempo de reação foi de 20 h).

A uma suspensão metanólica de 200 mL com 2,00 g (11,3 mmol) de PdCl₂, sob agitação magnética e aquecimento a 60 °C, adicionou-se 0,9581g (22,6 mmol) de LiCl. Depois que todo o LiCl foi solubilizado, a solução foi filtrada a quente e, após o seu resfriamento, adicionou-se, sob agitação, 1,7 mL (11,3 mmol) de *N,N*-dimetilbenzilamina (DMBA). Em seguida, 2 mL (14,4 mmol) de trietilamina, previamente solubilizados em 10 mL de metanol, foram adicionados lentamente, durante 6 h. Por fim, um sólido amarelo foi isolado por filtração, lavado com metanol e éter, e seco sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 2,8076 g (90% de rendimento). Decomposição ≥185,0 °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para C₁₈H₂₄N₂Cl₂Pd₂. C: 39,1 (39,4); H: 4,3 (4,2); N: 5,1 (5,0).

Síntese do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**13**)

Para o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**13**) seguiu-se a metodologia apresentada por Almeida et al. (2007), com pequenas modificações. Em um erlenmeyer, 0,6902 g (1,25 mmol) de $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ foram suspensos em 50 mL de acetona e mantidos sob agitação magnética. Logo depois, adicionou-se à suspensão 0,1625 g (2,5 mmol) de NaN_3 , previamente dissolvidos em 2 mL de H_2O . Após 1 h, um sólido amarelo esverdeado foi filtrado e lavado com H_2O e pentano, e seco sob pressão reduzida. A massa obtida foi de 0,6110 g (87% de rendimento). Decomposição $\geq 187,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_8\text{Pd}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. C: 37,1 (37,0); H: 4,5 (4,2); N: 19,2 (18,5).

Síntese do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (**14**)

Para o $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (**14**) seguiu-se procedimento igual ao de **13**, exceto pela adição de 0,2235 g (2,5 mmol) de KNCO no lugar de NaN_3 . Obteve-se 0,5580 g de um sólido amarelo claro (79% de rendimento). Ponto de decomposição $\geq 177,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2\text{Pd}_2$. C: 42,5 (42,3); H: 4,3 (4,3); N: 9,9 (9,4).

Síntese dos compostos da série 3: $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{isn})]$; X= Cl (**15**), N_3 (**16**) e NCO (**17**); ISN= isonicotinamida

Os derivados dos precursores binucleares **12** a **14**, contendo ISN foram preparados de modo ligeiramente distinto do trabalho de Stevanato, Mauro e Netto (2009).

Para o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (**15**), 0,1380 g (0,25 mmol) de **12**, suspensos em 10 mL de acetona e mantidos sob agitação magnética, reagiram com 0,0611 g (0,5 mmol) de ISN, previamente solubilizados em 5 mL de acetona. Após 1 h, foram isolados 0,1605 g (81% de rendimento) de um sólido branco acinzentado por filtração, lavagens com acetona e pentano. Decomposição $\geq 212,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{ClOPd}$. C: 45,2 (44,2); H: 4,6 (4,4); N: 10,6 (10,2).

Para o $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (**16**) seguiu-se procedimento igual a **15**, exceto pelo uso de 0,1458 g (0,25 mmol) de **13**. Foi isolado um sólido branco (0,2741 g, 94% de rendimento) por filtração, lavagens com acetona e pentano. Decomposição $\geq 196,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{OPd}$. C: 44,5 (44,0); H: 4,5 (4,3); N: 20,8 (20,5).

Para o $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**17**) seguiu-se procedimento igual a **15**, exceto pelo uso de 0,1413 g (0,25 mmol) de **14**. Foi isolado um sólido branco (0,1821 g, 90% de rendimento)

por filtração, lavagens com acetona e pentano. Decomposição $\geq 206,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{16}H_{18}N_4O_2Pd$. C: 47,5 (47,3); H: 4,5 (4,3); N: 13,8 (13,0).

Síntese dos compostos da série 4: *trans*-[PdCl₂L₂]; L= 4CNPY (18), 4AMPY (19) e 4ACIDPY (20)

O composto *trans*-[PdCl₂(4cnpy)₂] (18) teve sua estrutura determinada por Barnett et al. (2002), mas neste caso, o procedimento de síntese é muito distinto.

Em uma solução de 10 mL de acetona contendo 0,1297 g (0,5 mmol) de *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1), sob agitação magnética em erlenmeyer, foram adicionados 0,1041 g (1 mmol) de 4-cianopiridina (4CNPY) previamente solubilizados em 2 mL de acetona. Após 1 h, um sólido amarelo foi isolado (0,1734 g, 90% de rendimento) por filtração, lavagens com acetona e pentano, e secagem sob pressão reduzida. Decomposição $\geq 211,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{12}H_8N_4Cl_2Pd$. C: 37,4 (37,2); H: 2,1 (2,1); N: 14,5 (14,2).

O composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (19) é inédito na literatura até o presente momento, ao nosso conhecimento, e foi obtido de modo semelhante ao 18, exceto pela adição de 0,0941 g (1 mmol) de 4-aminopiridina (4AMPY), previamente solubilizados em 4 mL de acetona. Foi obtido um sólido amarelo (0,1682 g, 92% de rendimento). Decomposição $\geq 207,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{10}H_{12}N_4Cl_2Pd$. C: 32,9 (32,0); H: 3,3 (3,3); N: 15,3 (14,6).

O composto *trans*-[PdCl₂(4acidpy)₂] (20) teve sua estrutura determinada por Qin et al. (1999), mas aqui o procedimento de síntese é distinto.

A preparação se assemelha com a de 18, sendo adicionados 0,1231 g (1 mmol) de ácido isonicotínico (4ACIDPY) como ligante neutro, previamente solubilizados em 10 mL de H₂O quente. Um sólido amarelo foi isolado (0,1810 g, 85% de rendimento) por filtração, lavagens com H₂O quente, acetona e pentano, e secagem sob pressão reduzida. Decomposição $\geq 279,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{12}H_{10}N_2Cl_2O_4Pd$. C: 34,0 (34,0); H: 2,4 (2,5); N: 6,6 (6,4).

Síntese dos compostos da série 5: [Pd(dmba)Cl(L)]; L= 4CNPY (21), 4AMPY (22), 4ACIDPY (23) e [Pd(dmba)Cl]₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (24); TIOISN= tioisonicotinamida

[Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21): em uma suspensão de 10 mL de acetona contendo 0,1380 g (0,25 mmol) de [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (12), sob agitação magnética em erlenmeyer, adicionou-

se 0,0521 g (0,5 mmol) de 4CNPY, solubilizados previamente em 2 mL de acetona. Após 1 h, com a evaporação do solvente, lavagem com pentano e recristalização em acetona, um sólido branco (0,1863 g, 98% de rendimento) foi isolado. Decomposição $\geq 120,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{15}H_{16}N_3ClPd$. C: 47,4 (47,3); H: 4,2 (4,4); N: 11,1 (11,2).

[Pd(dmba)Cl(4ampy)] (**22**): semelhante ao procedimento de **21**, exceto pela adição de 0,0471 g (0,5 mmol) de 4AMPY, solubilizados previamente em 2 mL de acetona, no lugar de 4CNPY. Um sólido amarelo claro (0,1666 g, 98% de rendimento) foi isolado. Decomposição $\geq 190,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{14}H_{18}N_3ClPd$. C: 45,4 (45,4); H: 4,9 (4,9); N: 11,4 (11,3).

[Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (**23**): semelhante ao procedimento de preparação do **21**, exceto pela adição de 0,0616 g (0,5 mmol) de 4ACIDPY, solubilizados previamente em 5 mL de H_2O quente, no lugar de 4CNPY. Após 1 h, com a evaporação de $\frac{2}{3}$ dos solventes, filtração e lavagem com H_2O , acetona e pentano, um sólido amarelo (0,1916 g, 96% de rendimento) foi isolado. Decomposição $\geq 192,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{15}H_{17}N_2O_2ClPd$. C: 45,1 (45,0); H: 4,3 (4,4); N: 7,0 (7,2).

[{Pd(dmba)Cl} $_2$ (μ -tioisn)] $\cdot$ 0,5 H_2O (**24**): semelhante ao procedimento de preparação do **21**, porém, com a adição de 0,0345 g (0,25 mmol) de TIOISN, solubilizados previamente em 10 mL de acetona, no lugar de 4CNPY. Após 1 h, um sólido amarelo esverdeado (0,1665 g, 94% de rendimento) foi filtrado, lavado com H_2O , acetona e pentano, e seco sob pressão reduzida. Decomposição $\geq 149,0$ °C. Análise elementar – % calculada (% obtida) para $C_{24}H_{30}N_4Cl_2SPd\cdot 0,5H_2O$. C: 41,2 (41,2); H: 4,5 (4,5); N: 8,0 (7,9).

3.4 PARTE BIOLÓGICA

Atividade frente ao *Mycobacterium tuberculosis*

Os ensaios envolvendo o agente etiológico da tuberculose humana, linhagem H₃₇Rv ATCC 27194, para se determinar *in vitro* a concentração inibitória mínima (CIM) – concentração capaz de eliminar pelo menos 90% das micobactérias –, dos compostos desta Tese, foram realizados na Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. Os testes foram conduzidos pela graduanda Heloísa Barbosa de Barros e pelo Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan, no laboratório de Micobacteriologia “Prof. Dr. Hugo David”, coordenado pela Profª. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite. A descrição dos procedimentos para os testes segue no ANEXO.

Atividade frente ao adenocarcinoma mamário murino LM3

Os ensaios *in vitro* envolvendo a linhagem de adenocarcinoma mamário murino LM3, para se determinar a concentração inibitória mediana (CI_{50}) – concentração que inibe a proliferação de 50% dos micro-organismos ou das células, neste caso –, dos compostos desta Tese, e assim constatar suas ações antitumorais, foram realizados na Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. Os testes foram conduzidos pelo autor desta Tese, no laboratório de Imunologia Clínica, coordenado pela Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos.

Cultivo celular

A linhagem LM3 foi cultivada em *Minimum Essential Medium* (Sigma), MEM, mantida em frascos plásticos estéreis, incubados em estufa biológica (37 °C, 5% de CO_2). Com o repique, a suspensão celular foi transferida para um tubo cônico estéril por tripsinização¹. Promoveu-se lavagens (duas vezes) da suspensão celular presente no tubo com tampão PBS, por meio de centrifugação por 10 min (4 °C, 200 g), em cada lavagem.

Suspendeu-se o grumo celular com 1 mL de MEM e determinou-se o número de células em câmara hemocitométrica de Neubauer, utilizando-se corante azul de Tripan (Sigma). Ajustou-se, por fim, a uma concentração de 5×10^4 células mL^{-1} de MEM.

Transferiu-se, então, um volume celular que mantivesse tal concentração para um tubo cônico estéril, contendo meio MEM previamente suplementado com sulfato de gentamicina (Gibco) a $50 \mu g mL^{-1}$ e soro fetal bovino (Sigma-Aldrich) a 10 %. Assim, o meio de cultura passou a ser denominado MEM completo, MEM-C.

Em seguida, 200 μL da suspensão celular foram adicionados em cada poço de uma placa estéril de poliestireno contendo 96 cavidades. O passo seguinte foi incubar a placa em estufa (37 °C, 5 % de CO_2), por 24 h.

Preparação das amostras testadas

Todos os compostos bem como os ligantes envolvidos neste trabalho foram solubilizados em DMSO (Merck), de tal modo que a solução mais concentrada de cada amostra apresentasse, no máximo, 1% deste solvente numa relação volume/volume para o

¹ Solução de tampão PBS com 0,25% de tripsina (massa/volume) e 0,02% de EDTA ($1 mmol L^{-1}$) livre de Ca^{2+} e Mg^{2+} . PBS: tampão preparado em água milliQ e autoclavado, contendo $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ ($6,16 mmol L^{-1}$), NaH_2PO_4 ($2,28 mmol L^{-1}$) e NaCl ($14,5 mmol L^{-1}$), com pH= 7,2 e mantido a 4 °C.

meio de cultura MEM-C. Com essas concentrações limites de DMSO, não houve morte estatisticamente considerável das células tumorais.

As concentrações dos compostos e dos ligantes nos testes foram preparadas de forma seriada, de 100 até 1,5625 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Como padrão comparativo utilizou-se a cisplatina (SOUZA, R.; et al., 2010).

Determinação da CI_{50}

Transcorridas 24 h de incubação da placa com a suspensão celular, descartou-se a solução sobrenadante da placa e adicionaram-se 200 μL por poço de alíquotas das diluições das amostras (compostos ou ligantes), exceto nas cavidades estabelecidas para o controle, preenchidas com 200 μL de MEM-C apenas. Em seguida, manteve-se a placa incubada novamente por 24 h (37 °C, 5 % de CO_2) (SOUZA, R.; et al., 2010).

Após esse período de incubação da placa, preparou-se uma solução, instantes antes do uso, de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio (Across Organics), MTT, a 5 mg mL^{-1} de meio MEM, para se avaliar a citotoxicidade das amostras segundo o ensaio de MTT (MOSSMAN, 1983). Desta solução, 100 μL foram adicionados em cada poço, em ambiente desprovido de luz. A seguir, a placa foi incubada por mais 3 h nas mesmas condições apontadas anteriormente.

Depois desse período, o sobrenadante foi descartado e, em seguida, foram adicionados 100 μL de propan-2-ol (Mallinkrodt), a fim de se solubilizar os cristais de formazana formados (CARLOS; et al., 2009).

Por fim, a leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível (Multiskan Ascent, Labsystems), a 540 nm de filtro e 620 nm de referência. A intensidade da cor, obtida a partir da absorbância medida, é tida como proporcional ao percentual de células vivas.

Todo o procedimento, desde o preparo das diluições até as determinações das viabilidades celulares, foi repetido mais duas vezes, para outros dois repiques celulares distintos, a fim de se considerar uma triplicata experimental.

Citotoxicidade frente aos macrófagos peritoneais

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* envolvendo macrófagos peritoneais extraídos de murinos para se determinar a CI_{50} dos compostos **15 a 17** e **21 a 24**, desta Tese, e assim avaliar suas seletividades diante de células sadias de mamíferos, foram realizados na Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. Os testes foram conduzidos pelo autor

desta Tese, no laboratório de Imunologia Clínica, coordenado pela Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos, e foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de animais (parecer nº 43/2012, ANEXO).

Animais

Foram utilizados camundongos isogênicos Balb/c fêmeas, com quatro a seis semanas de vida, pesando entre 18 e 25 g cada, adquiridos do biotério da UNICAMP, no Centro Multidisciplinar para a Investigação Biológica (CEMIB).

Os animais foram mantidos na Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, no laboratório de manutenção de animais da Micologia, em gaiolas de policarbonato do tipo mini-isoladores, segundo as condições recomendadas pela literatura (CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007, p. 16).

Foram tratados com água e ração abundantes, em local climatizado (23 ± 2 °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 as normas estabelecidas pelo Comitê de Ética local.

Obtenção 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 meio tioglicolato de sódio (Difco) a 3%, para a migração de macrófagos à região peritoneal (PAIVA; MAFFILI; SANTOS, 2005, p. 11-12).

Três dias após a inoculação, os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂, segundo as recomendações da literatura (PAIVA; MAFFILI; SANTOS, 2005, p. 22).

Com base no trabalho de Bego et al. (2010), para se ter uma amostra estatisticamente confiável foram utilizados quatro animais eutanasiados para se testar cada composto.

Após a morte e exposição do peritônio – pele retirada com o auxílio de pinças e tesoura –, foram injetados 5 mL de tampão fosfato, PBS (estéril, gelado e com pH= 7,2), na cavidade peritoneal. Após uma leve massagem manual na região abdominal, retirou-se o PBS contendo o exsudado peritoneal, que foi transferido para um tubo cônico estéril e mantido em banho de gelo.

Finalmente, o protocolo experimental foi pautado no trabalho de Carlos et al. (2009). O conteúdo do tubo estéril foi centrifugado por pelo menos duas vezes (200 g, 5 min, 4 °C).

As células sedimentadas foram suspensas em meio de cultura RPMI-1640 (Sigma-Aldrich), contendo $23,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de bicarbonato de sódio (Sigma) e $2,38 \text{ g L}^{-1}$ de Hepes, suplementado com 5 % de soro fetal bovino (Sigma-Aldrich), 100 U mL^{-1} de penicilina G (Sigma), $100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de sulfato de estreptomicina (Sigma) e 50 mmol L^{-1} de 2-mercaptoetanol (Sigma) e desse modo denominado meio RPMI-1640 completo (RPMI-C).

Depois da contagem diferencial em câmara de Neubauer, utilizando-se corante de Lázarus, e ajuste dos macrófagos para 5×10^6 células por mililitro de meio RPMI-C, 200 μL da suspensão celular foram adicionados em cada poço de uma placa estéril de poliestireno contendo 96 cavidades. Em seguida, a placa foi incubada em estufa biológica (37°C , 5 % de CO_2) por 2 h, para se promover a aderência dos macrófagos no fundo de cada cavidade. Transcorrido esse tempo, os 96 poços foram lavados com PBS estéril gelado (duas vezes) para a remoção de macrófagos não aderidos, linfócitos e outras células que não eram de interesse. Por fim, adicionou-se novamente 200 μL de RPMI-C em cada poço e a placa contendo os macrófagos aderidos foi incubada por 24 h, nas mesmas condições supramencionadas.

Preparação das amostras testadas

Os compostos testados deste trabalho foram solubilizados em DMSO (Merck), de tal modo que a solução mais concentrada de cada amostra apresentasse, no máximo, 1% deste solvente numa relação volume/volume para o meio de cultura RPMI-C. Com essas concentrações limites de DMSO, não houve morte estatisticamente considerável dos macrófagos peritoneais.

A concentração dos compostos nos testes variou de 100 até $1,5625 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Como padrão comparativo utilizou-se a cisplatina (SOUZA, R.; et al., 2010).

Determinação da CI_{50}

Após incubação da placa por 24 h (última etapa do subitem obtenção dos macrófagos), foram desprezados os sobrenadantes das cavidades e adicionadas diluições, em RPMI-C, de cada composto de paládio(II) testado (200 μL /poço). Cada diluição foi disposta em três poços, como controle foi utilizado o mesmo volume de RPMI-C.

Posteriormente, seguiram-se os mesmos procedimentos executados para a determinação da CI_{50} , como descritos anteriormente, porém aplicados neste caso aos macrófagos peritoneais.

Atividade frente ao *Trypanosoma cruzi*

Os ensaios *in vitro* envolvendo formas epimastigotas da cepa Y de *Trypanosoma cruzi* para a determinação da CI_{50} dos compostos desta Tese, e assim avaliar suas ações tripanocidas frente aos parasitos, foram realizados na Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. Os testes foram conduzidos pela Dra Isabel Martinez e pelo autor desta Tese, no laboratório de Parasitologia, coordenado pelo Prof. Dr. João Aristeu da Rosa.

Cultivo do parasito

A cepa Y foi cultivada em meio *Liver Infusion Tryptose* (LIT) – preparado segundo a metodologia de Martinez (2004) –, em estufa biológica a 28 °C.

Preparação das amostras testadas

Todos os compostos bem como os ligantes envolvidos neste trabalho foram solubilizados em DMSO (Merck), de tal modo que a solução mais concentrada de cada amostra apresentasse, no máximo, 3% deste solvente numa relação volume/volume para o meio de cultura LIT. Com essas concentrações limites de DMSO, não houve morte estatisticamente considerável dos parasitos.

A faixa de concentração empregada para as amostras foi de 100 até 1,5625 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Como padrão comparativo utilizou-se o benzonidazol (Sigma-Aldrich), cujo valor de CI_{50} = 42,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (SANTOS; et al., 2012).

Determinação da CI_{50} frente às formas epimastigotas

A determinação da CI_{50} ocorreu na fase exponencial de crescimento dos parasitos, em conformidade com o trabalho de Muelas-Serrano, Nogal-Ruiz e Gómez-Barrio (2000), que emprega o método colorimétrico com MTT.

Em uma placa com 96 cavidades foram adicionados 97 μL por poço da suspensão contendo parasitos em meio LIT a 1×10^7 parasitos/mL de LIT. Três microlitros das alíquotas das diluições das amostras (compostos ou ligantes) foram adicionadas nos poços, exceto naqueles estabelecidos para o controle. Em seguida, manteve-se a placa incubada por 72 h (28 °C, 5 % de CO_2).

Após esse período de incubação da placa, adicionou-se em cada poço, na ausência de luz, 10 μL de uma solução aquosa contendo 0,22 mg mL^{-1} de metossulfato de fenazina

(Sigma-Aldrich), PMS, e 2,5 mg mL⁻¹ de MTT (Across Organics), mantendo-se a placa posteriormente por mais 75 min incubada em estufa (28 °C, 5 % de CO₂). Após esse período, 100 µL de uma solução acidificada de dodecil sulfato de sódio, SDS (solução aquosa de HCl 10 µmol L⁻¹ com 10% de SDS aquoso, volume/volume) foram adicionados em cada poço, e a placa mantida por 30 min no escuro, em temperatura ambiente, para a solubilização dos cristais de formazana formados.

Por fim, a leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível (Readwellplate, Robonik), a 595 nm. A intensidade da cor, a partir da absorbância medida, é tida como proporcional ao percentual de células vivas.

A porcentagem de parasitos mortos foi calculada segundo a equação proposta por Muelas-Serrano, Nogal-Ruiz e Gómez-Barrio (2000).

$$\%C = \left[\frac{(G_C - G_P)}{G_C} \right] \times 100$$

Sendo $G_C = A_C - A_M$ e $G_P = A_P - A_{PM}$.

G_C representa o número de parasitos/mL nos poços controles e G_P , o número de parasitos/mL detectados em diferentes concentrações das amostras. A_C corresponde ao valor de absorbância nos poços controle (na ausência de amostra) com parasitos; A_M representa o valor da absorbância nos poços controle (na ausência de amostra) sem parasitos; A_P o valor da absorbância nos testes e A_{PM} o valor da absorbância das diferentes concentrações das amostras na ausência do parasito.

Todo o procedimento, desde o preparo das diluições até as determinações das concentrações inibitórias, foi repetido mais duas vezes, a fim de se considerar uma triplicata experimental.

Atividade frente ao *Leishmania amazonensis*

Os ensaios *in vitro* envolvendo a linhagem MPRO/BR/1972/M1841-LV-79 de *Leishmania amazonensis* para a determinação da CI₅₀ dos compostos desta Tese, e assim avaliar suas ações leishmanicidas frente aos parasitos, foram realizados na Unesp, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. Os testes foram conduzidos pela Dra. Isabel Martinez e pelo autor desta Tese no laboratório de Parasitologia, sob supervisão da Profa. Dra. Márcia Aparecida Silva Graminha.

Cultivo do parasito

A linhagem de *L. amazonensis* foi cultivada em meio *Liver Infusion Tryptose* (LIT) – preparado segundo a metodologia de Martinez (2004) –, em estufa biológica a 28 °C.

Preparação das amostras testadas

Todos os compostos bem como os ligantes envolvidos neste trabalho foram solubilizadas em DMSO (Merck), de tal modo que a solução mais concentrada de cada amostra apresentasse, no máximo, 3% deste solvente numa relação volume/volume para o meio de cultura LIT. Com essas concentrações limites de DMSO, não houve morte estatisticamente considerável dos parasitos.

A faixa de concentração utilizada para as amostras foi de 100 até 1,5625 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Como padrão comparativo utilizou-se o isotionato de pentamidina (Sigma-Aldrich), com $\text{CI}_{50} = 7,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (SANTOS; et al., 2012).

Determinação da CI_{50} frente às formas promastigotas

A determinação da CI_{50} ocorreu na fase exponencial de crescimento dos parasitos, baseada na metodologia que emprega o método colorimétrico de MTT de Muelas-Serrano, Nogal-Ruiz e Gómez-Barrio (2000), sendo adaptada ao modelo da *Leishmania* (SANTOS; et al., 2012).

Nesta metodologia, que segue os passos aplicados aos ensaios envolvendo *T. cruzi*, as diferenças estão na concentração de 8×10^6 parasitos/mL de LIT, usados em cada poço das placas para os testes, e no comprimento de onda da leitura da placa, que foi de 490 nm.

Todo o procedimento, desde o preparo das diluições até as determinações das CI_{50} , foi repetido mais duas vezes, a fim de se considerar uma triplicata experimental.

Análise estatística dos dados

Os dados obtidos nos ensaios de CI_{50} foram expressos em ‘valor’ $\pm$ desvio padrão. Esses resultados foram tratados por análise de variância (ANOVA), com determinação de nível de significância $p < 0,05$ e por meio de comparações múltiplas pelo teste de Tukey.

Em todos os casos foram elaborados gráficos exprimindo curvas dose-resposta, obtidas a partir das diferentes concentrações das amostras testadas. Os valores de CI_{50} foram calculados por meio de ajustes lineares das curvas, empregando-se *softwares* como Microsoft Excel® e Origin™.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS

Em termos cinéticos, os compostos de Pd(II) análogos aos de Pt(II) reagem cerca de 10.000 vezes mais rápido, entretanto, ao se utilizar o PdCl₂ – cuja estrutura é polimérica –, deparou-se com a baixa solubilidade deste composto de partida, fato que dificulta os processos reacionais, tornando-os muito lentos e por vezes com baixos rendimentos. A opção de se utilizar o precursor *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (**1**) reside, portanto, na considerável redução do tempo reacional. Além disso, como os processos de sínteses envolvidos nesta Tese que partem de **1** tratam de reações de troca de ligantes, há ainda, como vantagem, a elevada labilidade do ligante acetonitrila presente na esfera de coordenação do Pd(II).

A preparação dos compostos **2** a **7** da série 1, partindo-se de **1**, envolveu reações de troca do ligante neutro acetonitrila por isonicotinamida. Por sua vez, a troca dos ligantes aniônicos ocorreu do mesmo modo, respeitando-se suas afinidades pelo Pd(II), ou seja, sempre deslocando-se cloro por bromo, por iodo ou por pseudo-haletos.

Os compostos da série 4 (**18** a **20**) foram obtidos também por reações de troca de ligantes neutros, porém, neste caso, a troca envolveu os ligantes piridínicos 4-cianopiridina (**18**), 4-aminopiridina (**19**) e ácido isonicotínico (**20**).

A obtenção dos compostos da série 2 (**8** a **11**) levou em conta os mesmos princípios adotados para a série 1, porém, o ajuste da estequiometria possibilitou a formação de uma série de compostos binucleares – contendo dois átomos de Pd(II).

A síntese do composto [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (**12**), por outro lado, envolveu um processo de *ortopaladiação* descrito mecanisticamente no APÊNDICE (figura 1). Seus derivados **13** e **14** foram obtidos a partir das trocas aniônicas do ligante cloro por azida e cianato respectivamente.

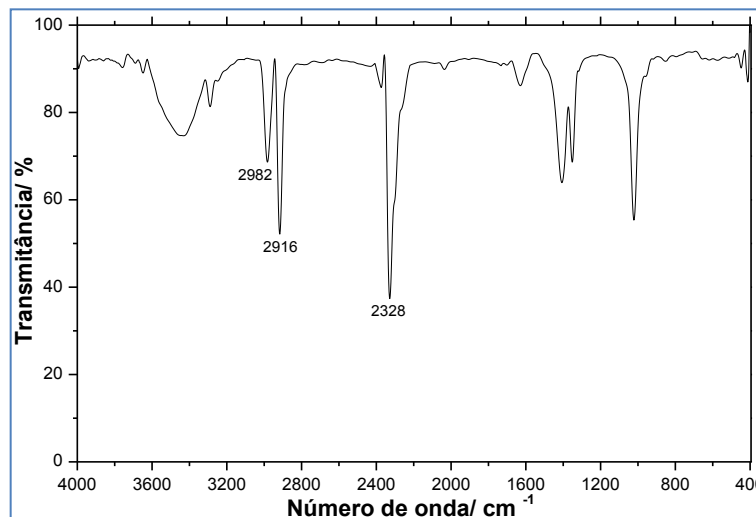
A formação dos compostos **15** a **17** (série 3) e **21** a **24** (série 5) sucedeu de reações de clivagem dos ligantes aniônicos em ponte por ligantes piridínicos, levando-se em conta a capacidade coordenante e a alta afinidade envolvendo o nitrogênio heteroaromático pelo Pd(II).

Os solventes empregados nos procedimentos reacionais desta Tese, sempre que possível, foram aqueles que solubilizaram os precursores e ligantes, se apresentaram mais voláteis a fim de eliminá-los mais facilmente após a obtenção dos produtos isolados e que tiveram pouca afinidade por Pd(II), em termos de coordenação.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO PRECURSOR *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1)

O espectro vibracional na região do infravermelho do complexo precursor *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1) é apresentado na figura 19.

Figura 19 – Espectro vibracional no IV do composto *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (1).



Espectro obtido em KBr. Figura elaborada pelo autor.

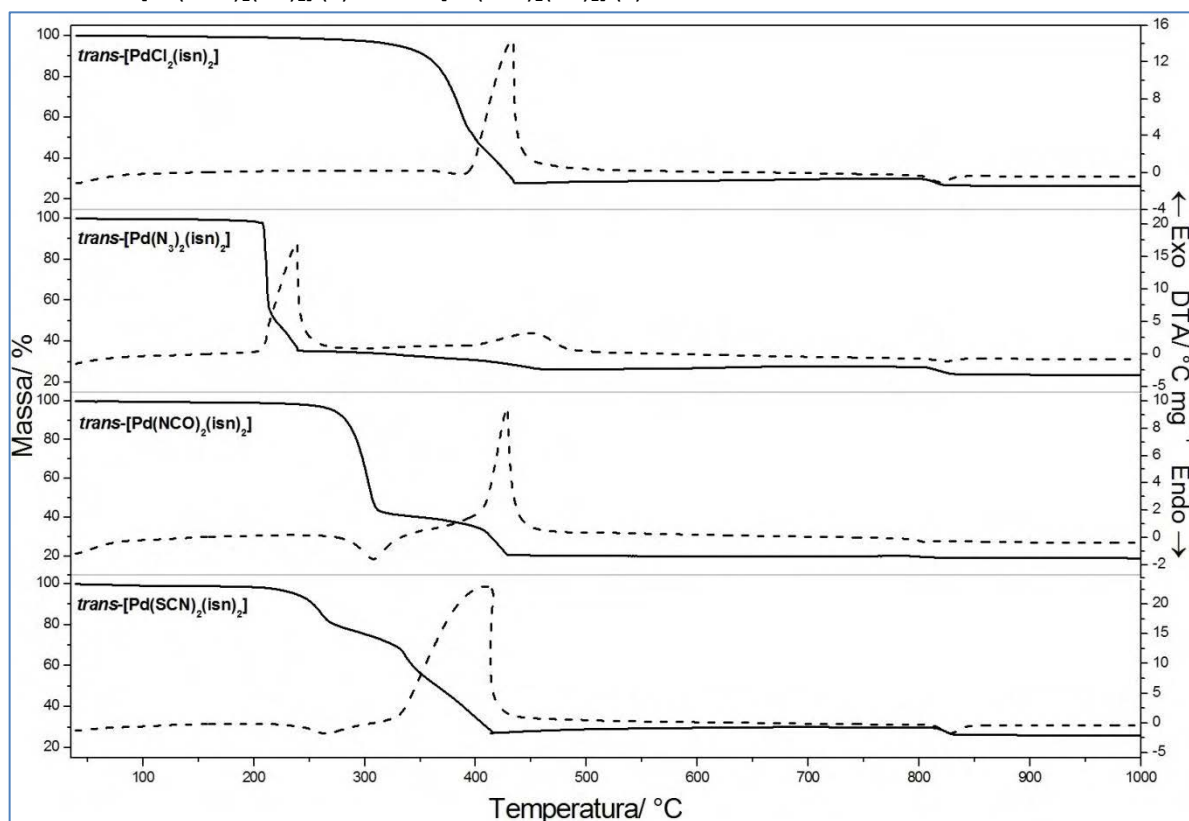
Os principais modos vibracionais referentes à acetonitrila coordenada ao paládio(II), em destaque, são os estiramentos assimétrico e simétrico do grupo metila ($\nu_{as}CH_3$ e ν_sCH_3) em 2982 e 2916 cm^{-1} , respectivamente, e o estiramento das nitrilas ($\nu C\equiv N$) em 2328 cm^{-1} .

Segundo a literatura (WALTON, 1968; WAYLAND; SCHRAMM, 1969), a formação do complexo é evidenciada pelo deslocamento do modo $\nu C\equiv N$ de 2266 cm^{-1} , na acetonitrila livre, para 2328 cm^{-1} no produto obtido.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 1: *trans*-[PdX₂(isn)₂]; X= Cl (2), N₃ (3), NCO (4), SCN (5), Br (6) e I (7); ISN= isonicotinamida

Os compostos *trans*-[PdCl₂(isn)₂] (2), *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (3), *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] (4) e *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] (5) foram investigados na Dissertação de Mestrado do autor da presente Tese (SOUZA, 2008). Os compostos preparados no Mestrado foram, no início deste Doutorado, analisados por termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA), com intuito de dar continuidade aos estudos usando-se a combinação dessas técnicas termoanalíticas. A figura 20 ilustra as curvas TG-DTA simultâneas desses compostos em que, para cada amostra, utilizou-se massa inicial de 10,5 a 15,5 mg nas medidas.

Figura 20 – Curvas TG (—) e DTA (---) dos compostos *trans*-[PdCl₂(isn)₂] (**2**), *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (**3**), *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] (**4**) e *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] (**5**).



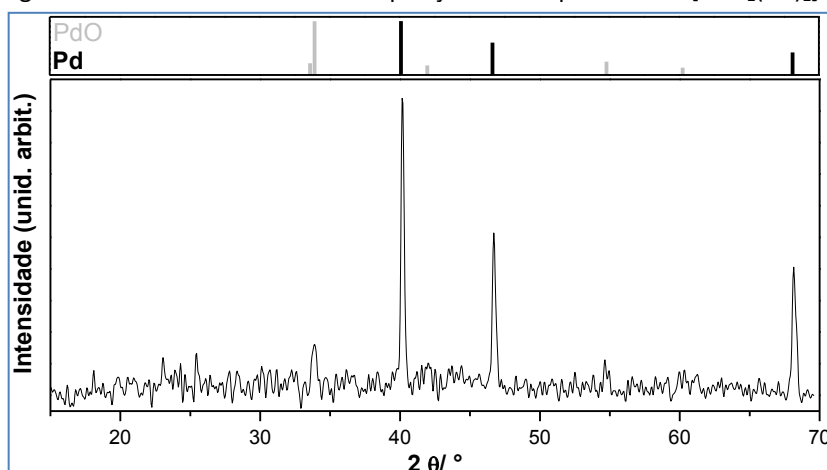
ISN= isonicotinamida. Figura elaborada pelo autor.

As curvas TG dos compostos **2**, **3** e **5** apresentam um perfil de degradação térmica semelhante, com a saída dos ligantes ocorrendo em uma ou duas etapas juntamente com ganho de O₂, gerando uma mistura de Pd e PdO identificada por difração de raios X dos resíduos – fichas 00-046-1043 e 00-043-1024, respectivamente (INTERNATIONAL..., 2009b; INTERNATIONAL..., 2009a). O pequeno incremento de massa até 700 °C se deve à oxidação de parte do Pd a PdO. Por fim, a decomposição parcial de PdO a Pd ocorre próximo de 825 °C, gerando os resíduos.

A respeito do comportamento térmico do composto **4**, PdO é formado após a eliminação dos ligantes, acima de 430 °C. Por volta de 815 °C, tem-se a última etapa de perda de massa, caracterizada pela decomposição de PdO a Pd (INTERNATIONAL..., 2009b).

A análise de DRX do resíduo gerado após a termodecomposição do composto **2** é ilustrada na figura 21, sendo representativa também para os compostos **3** e **5**, já que os difratogramas obtidos dos vários resíduos são idênticos.

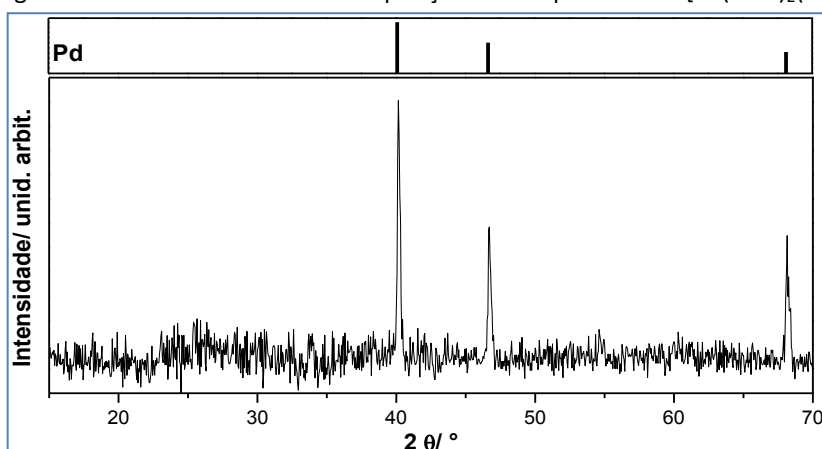
Figura 21 – Difrátograma do resíduo da termodecomposição do composto *trans*-[PdCl₂(isn)₂] (**2**).



Em destaque os padrões de difração do PdO, em cinza, e do Pd, em preto.
Figura elaborada pelo autor.

O difratograma de raios X do resíduo formado a partir da termodecomposição do composto **4** é ilustrado na figura 22.

Figura 22 – Difrátograma do resíduo da termodecomposição do composto *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] (**4**).



Em destaque o padrão de difração do Pd. Figura elaborada pelo autor.

Os dados dos eventos térmicos ocorridos estão presentes na tabela 2.

A partir das temperaturas iniciais de decomposição, pode-se dizer que a estabilidade térmica depende do grupo aniônico, seguindo a ordem: Cl > NCO > SCN > N₃.

O comportamento apresentado por essa série é comum à série de compostos do tipo *trans*-[PdX₂L₂], X= Cl, SCN, N₃; L= pirazois, investigada anteriormente pelo nosso grupo (NETTO; et al., 2004). Já a baixa estabilidade térmica do complexo de azida está provavelmente associada ao caráter explosivo de azidas inorgânicas.

As termodecomposições de **2**, **4** e **5** são caracterizadas também pela presença de picos endotérmicos, nas curvas DTA, no intervalo de 244 a 373 °C. Além disso, nota-se um sinal exotérmico por volta de 425 °C, nas curvas DTA de cada um desses compostos.

Nota-se para **3** um intenso pico exotérmico na curva DTA em 239 °C, atribuído à saída abrupta de N₂ gasoso, oriundo da decomposição dos grupos azida presentes nesse composto.

Tabela 2 – Dados de análise térmica (TG-DTA) dos compostos *trans*-[PdCl₂(isn)₂] (**2**), *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (**3**), *trans*-[Pd(NCO)₂(isn)₂] (**4**) e *trans*-[Pd(SCN)₂(isn)₂] (**5**).

Composto	Etapa	$\Delta T/ ^\circ\text{C}$	$\Delta m/ \%$		DTA/ $^\circ\text{C}$	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
2	1	305-442	-71,62		373	434
	2	442-729	+2,14			
	3	729-830	-3,70		825	
	Resíduo		26,82	27,05		
3	1	203-242	-64,68			239
	2	242-468	-9,17			450
	3	468-797	+1,28			
	4	797-835	-3,57		829	
4	Resíduo		23,86	24,48		
	1	267-319	-55,54		282	
	2	319-517	-21,36			428
	3	786-820	-0,77		793	
5	Resíduo		22,33	22,80		
	1	208-273	-20,19		265	
	2	273-415	-54,28			409
	3	415-804	+2,90			
5	4	804-845	-3,79		829	
	Resíduo		24,64	24,48		

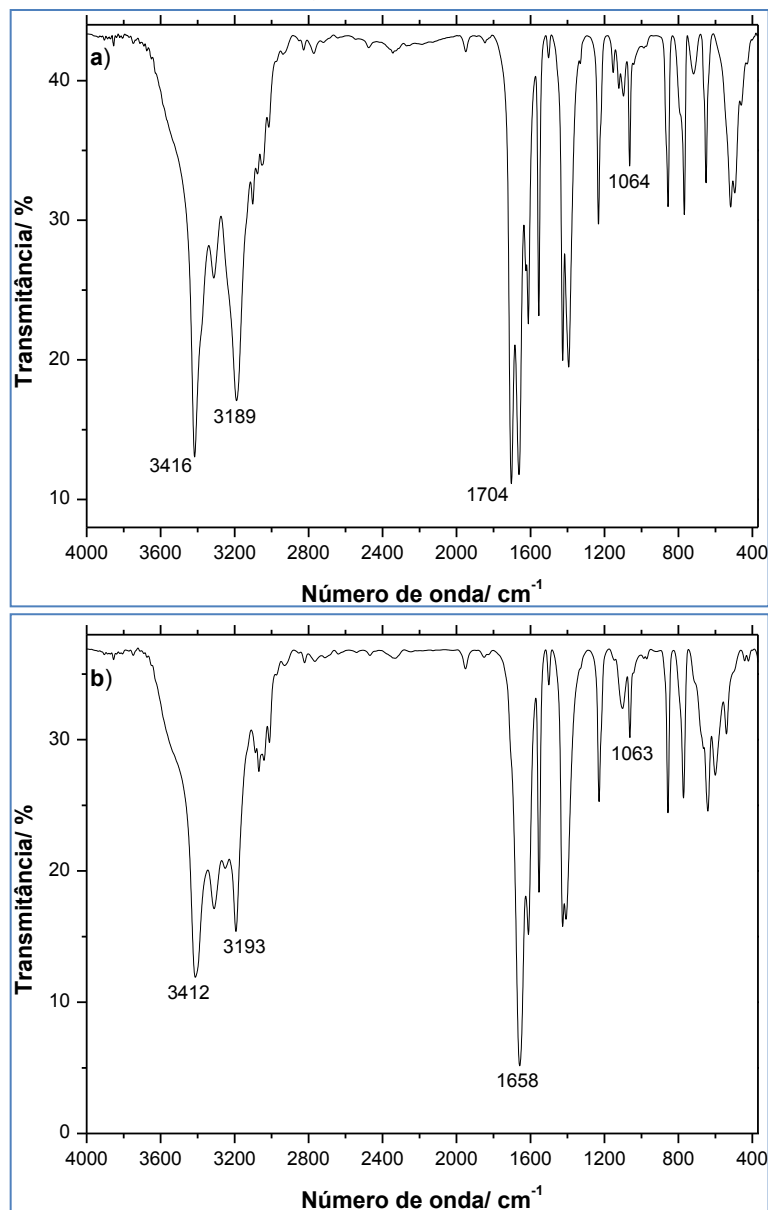
Tabela elaborada pelo autor.

Esse estudo envolvendo o comportamento térmico dos compostos **2** a **5** foi publicado no periódico *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (SOUZA; et al., 2011).

Quanto aos compostos *trans*-[PdBr₂(isn)₂] (**6**) e *trans*-[PdI₂(isn)₂] (**7**), inéditos até o momento, seus espectros no IV são ilustrados na figura 23.

A atribuição dos principais modos vibracionais considerou a publicação de Treu Filho e colaboradores (2006), que trata da comparação das frequências no vibracionais no infravermelho, calculadas e determinadas experimentalmente, da isonicotinamida. O espectro experimental no IV da ISN, considerado na referida publicação, é apresentado no APÊNDICE (figura 2) e a estrutura molecular dessa molécula orgânica segue na figura 24.

Figura 23 – Espectros vibracionais no IV dos compostos *trans*-[PdBr₂(isn)₂] (**6**) (a) e *trans*-[PdI₂(isn)₂] (**7**) (b).



Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Figura 24 – Estrutura molecular da isonicotinamida.

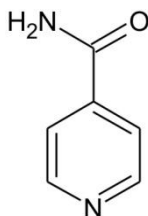


Figura elaborada pelo autor.

Três regiões no espectro IV experimental dessa molécula podem ser consideradas como as mais importantes, a fim de se considerar as possibilidades de coordenação. A

primeira situada entre $3370\text{--}3190\text{ cm}^{-1}$ é típica de estiramentos assimétricos e simétricos N–H (νNH); a segunda, associada ao grupo amida, apresenta o modo $\nu\text{C=O}$ em 1666 cm^{-1} ; e a terceira se refere ao anel piridínico, cujo modo respiração do anel (ϕ) ocorre em 993 cm^{-1} (TREU FILHO; et al., 2006).

Dos três possíveis átomos de coordenação da ISN, $\text{N}_{\text{piridínico}}$, N_{amida} e O_{amida} , exclui-se aquela pelos átomos do grupo amida, já que, com a ligação deles, ter-se-ia uma diminuição da energia associada às vibrações dos grupos C=O e N–H, favorecendo o deslocamento das bandas associadas às mesmas vibrações para menores números de onda, o que não ocorre no caso dos compostos **6** e **7**.

A faixa espectral no IV de **6** e **7** dos modos νNH , mantem-se a mesma quando comparanda aos valores relatados da ISN livre, ou deslocada para números de onda maiores. Além disso, constata-se que essas bandas são alargadas, indicando a ocorrência de interações intermoleculares por ligações de hidrogênio envolvendo o grupo NH_2 .

Quanto ao modo $\nu\text{C=O}$, ocorre em 1704 cm^{-1} para o *trans*- $[\text{PdBr}_2(\text{isn})_2]$ (**6**) e em 1658 cm^{-1} para o *trans*- $[\text{PdI}_2(\text{isn})_2]$ (**7**), sendo 38 cm^{-1} maior em relação a ISN livre, para **6**, e praticamente igual à ISN no caso de **7**. Provavelmente as diferentes eletronegatividades de Br e I e ligações de hidrogênio envolvendo o grupo CO modulam a densidade eletrônica das respectivas moléculas, reforçando ou enfraquecendo o caráter π da ligação C=O o que se reflete na posição espectral deste modo vibracional.

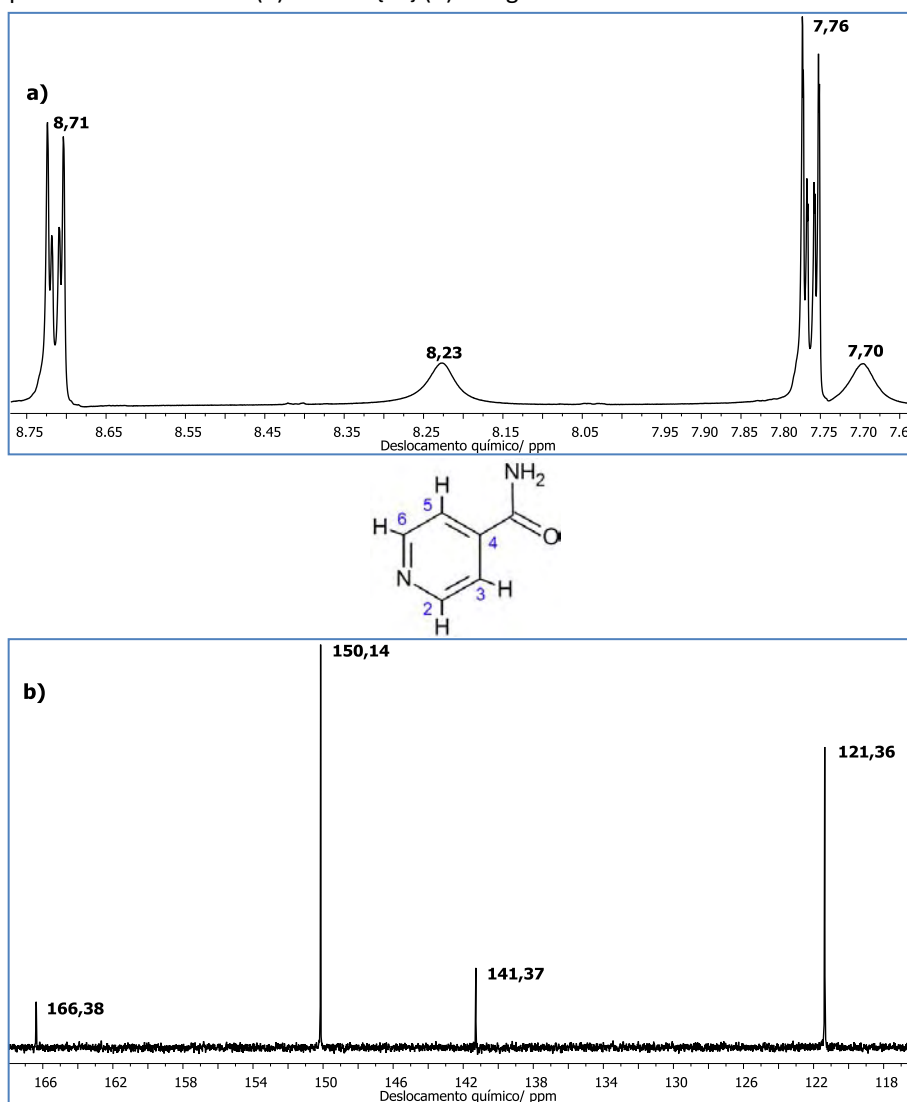
O acentuado deslocamento do modo ϕ para números de onda maiores em relação à ISN livre ($\Delta = +71$ e $+70\text{ cm}^{-1}$, respectivamente para **6** e **7**) é incisivo para se afirmar que a coordenação da isonicotinamida se dá pelo nitrogênio piridínico nesses compostos.

O modo ϕ é o mais sensível para se monitorar a coordenação de ligantes piridínicos via nitrogênio heteroaromático a metais (WU; et al., 2002), pois ligantes como a isonicotinamida se comportam como bases de caráter intermediário, segundo o conceito de ácidos e bases de Pearson (PEARSON, 1963; PARR; PEARSON, 1983). Sendo assim, atuam como σ -doadores e π -aceitadores, doando densidade eletrônica ao metal via par de elétrons do N, e recebendo densidade eletrônica de orbitais *d* cheios do metal – orbitais de simetria e energia apropriada do anel heteroaromático. O tamanho e a carga do metal levam a uma maior ou menor variação energética do modo ϕ , mas, particularmente, a diminuição da distância de ligação Metal–N(piridina ou derivados) intensifica a retrodoação (WU; et al., 2002).

Para auxiliar a caracterização dos compostos em solução, os espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da isonicotinamida são apresentados na figura 25.

O espectro de RMN de ^1H da ISN apresenta quatro sinais: dois duplo dupletos em 8,71 e em 7,76 ppm ($^{orto}J = 6,0\text{ Hz}$ / $^{meta}J = 2,7\text{ Hz}$ / $^{para}J = 1,7\text{ Hz}$), associados aos prótons aromáticos, e dois simpletos alargados em 8,23 e 7,70 ppm, correspondentes aos prótons do NH_2 .

Figura 25 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante ISN.



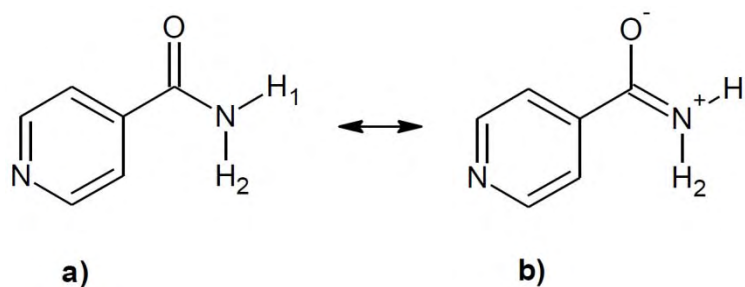
Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Em destaque, esquema estrutural para a atribuição numérica dos sinais. [Figura elaborada pelo autor.](#)

O movimento circular da densidade eletrônica no plano do anel piridínico gera linhas de forças magnéticas induzidas, perpendiculares a esse plano, ou seja, um campo magnético próprio. Tal campo se dispõe na mesma direção, mas em sentido oposto, ao campo magnético aplicado pelo equipamento, e isso gera um efeito diamagnético intenso nessa região espacial – cone diamagnético (vide figura 3 do APÊNDICE). Como consequência, os prótons aromáticos situados num plano intermediário dessa zona de blindagem estarão mais

desprotegidos da ação de um campo magnético externo aplicado, portanto, os sinais desses prótons apresentarão maiores valores numéricos do que o esperado, ou, serão deslocados para campo baixo (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Quanto ao sinal em 8,71 ppm, a presença do par de elétrons no N-piridínico gera o mesmo efeito magnético relatado e, por sua vez, uma maior desblindagem magnética dos prótons adjacentes, ou seja, dos H^{2,6}.

A ocorrência de sinais distintos e tão separados para os prótons do NH₂ está relacionada ao caráter parcial da dupla ligação C=O do grupo amida, em equilíbrio com a forma canônica C=N (figura 26b). Essa segunda forma canônica dificulta a rotação ao longo da ligação CN da amida e, com isso, há uma não equivalência magnética dos hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio (GIL; GERALDES, 1987).

Figura 26 – Formas canônicas de ressonância do grupo amida da isonicotinamida.



Forma C=O (a) e C=N (b). Figura elaborada pelo autor.

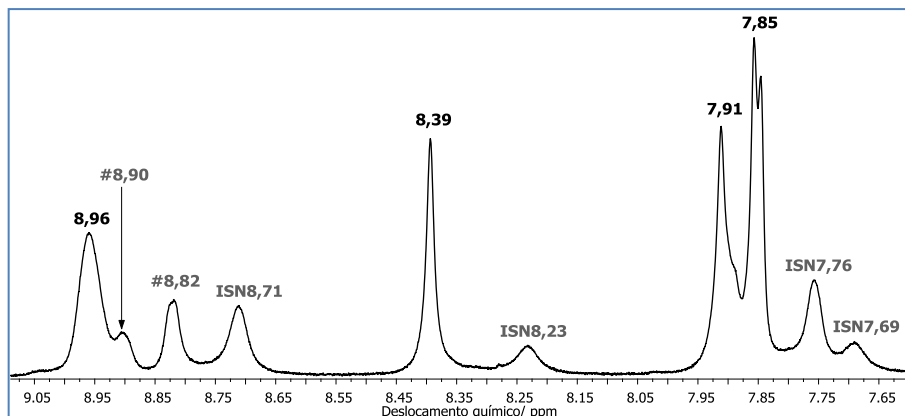
Além disso, a anisotropia diamagnética da carbonila faz com que o hidrogênio situado na região cônica que se estende acima e abaixo do plano do grupo amida sofra maior blindagem, portanto aparece com menor deslocamento químico (7,70 ppm). Já o hidrogênio na região do plano que corta os cones, menos blindado, possui sinal deslocado para campo mais baixo (8,23 ppm).

Quanto ao composto **6**, seu espectro de RMN de ¹H é apresentado na figura 27.

Notam-se, no espectro, três conjuntos de sinais. O conjunto de sinais mais intensos provavelmente se refere à espécie *trans*, para a qual os sinais em 8,96 ppm (simpleto alargado aparente) e em 7,85 ppm (duplete aparente, *J*= 3,3 Hz), referem-se aos H^{2,6} e H^{3,5}, respectivamente. Os simpletos alargados em 8,39 e 7,91 ppm correspondem aos prótons do grupo NH₂. Um segundo conjunto de sinais em destaque na figura 27, é atribuído à ISN livre em solução, com sinais alargados em 8,71 ppm (simpleto aparente, H^{2,6}), 7,76 ppm (simpleto aparente, H^{3,5}), 8,23 e 7,69 ppm (simpletos, NH₂). Consequentemente, outros dois sinais de um terceiro conjunto aparecem em 8,90 e 8,82 ppm e se referem à uma molécula de ISN coordenada ao Pd(II), que por sua vez estaria ligado também a uma molécula de DMSO. Seria

esperado ainda, com a coordenação do DMSO, um sinal na região espectral das metilas, porém, nenhum aparece. Certamente a baixa solubilidade da amostra em d_6 -DMSO e a própria influência desse solvente no alargamento dos sinais, gera um espectro com baixa resolução no qual não se notam claramente todos os sinais previstos para as espécies presentes em solução.

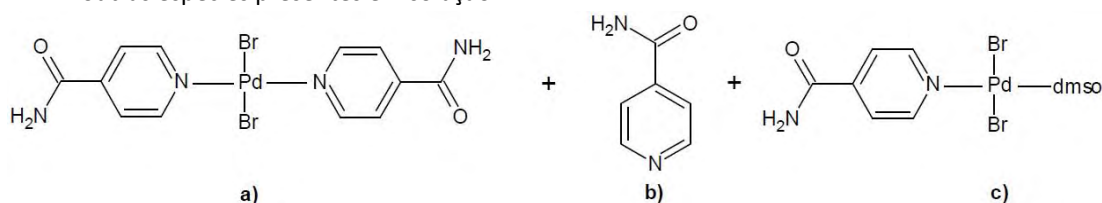
Figura 27 – Espectro de RMN de ^1H do composto $\text{trans}[\text{PdBr}_2(\text{isn})_2]$ (**6**).



Espectro obtido em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Em destaque, os sinais marcados com ISN se referem ao ligante livre em solução e os sinais marcados com # à espécie contendo DMSO coordenado ao paládio(II). *Figura elaborada pelo autor.*

Diante disso, levando-se em conta que a espécie *trans* é a mais estável termodinamicamente, sugere-se que a estrutura molecular para o composto seja aquela da figura 28a. No entanto, em solução há outras espécies representadas na figura 28.

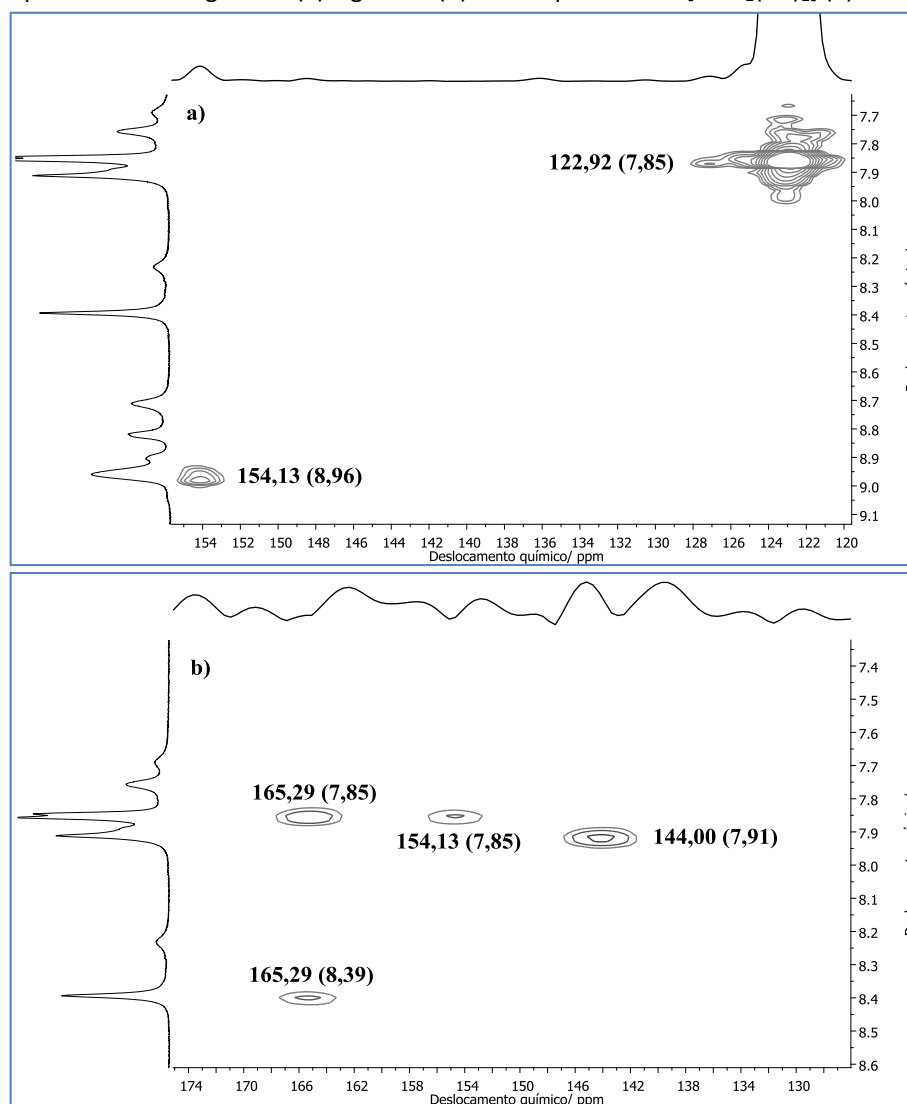
Figura 28 – Estrutura molecular proposta para o composto $\text{trans}[\text{PdBr}_2(\text{isn})_2]$ (**6**), em **a**, e representação das outras espécies presentes em solução.



A espécie **a**, majoritária em solução, corresponde à mesma do estado sólido, já as outras espécies em solução correspondem a ISN livre (**b**) e a espécie molecular contendo DMSO coordenado ao Pd(II) (**c**). *Figura elaborada pelo autor.*

Não foi possível obter um espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, devido à baixa solubilidade da amostra. Porém, experimentos bidimensionais de correlação ^1H - ^{13}C , como gHMQC e gHMBC, possibilitaram atribuir os sinais dos átomos de carbono para a espécie predominante em solução (figura 29).

Figura 29 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do composto *trans*-[PdBr₂(isn)₂] (**6**).



Mapas obtidos em *d*₆-DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Figura elaborada pelo autor.

O experimento gHMQC forneceu informações a respeito de correlações entre prótons ligados diretamente ao carbono. Com isso, a interseção gráfica num mesmo espectro de ¹H e de ¹³C{¹H} é possível – dessa forma, o experimento é chamado de bidimensional. Já que os sinais de ¹H foram atribuídos para o composto **6**, os sinais de carbono correlacionados serão, então, aqueles diretamente ligados aos respectivos prótons atribuídos.

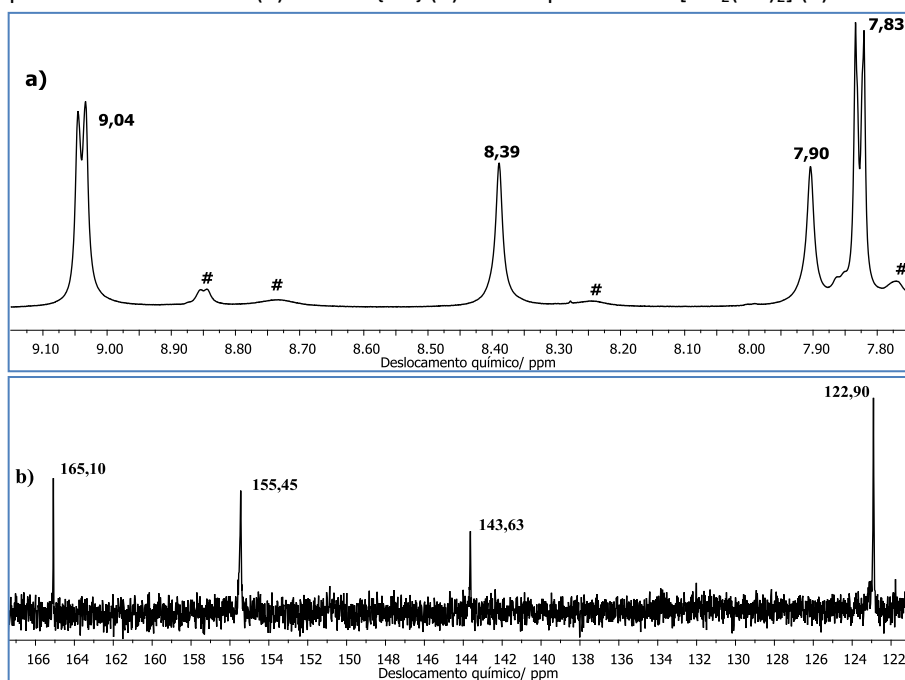
Na figura 29a, notam-se dois sinais de carbono decorrentes das interseções dos mapas de contorno. Há um sinal de ¹³C em 154,13 ppm, correlacionado ao próton com sinal em 8,96 ppm que, portanto, se refere aos carbonos C^{2,6}. A segunda interseção, ilustra as correlações ¹H/¹³C em 7,85 ppm/122,92 ppm; conseqüentemente o sinal se refere aos C^{3,5}.

Outro experimento bidimensional que também permite as correlações ¹H-¹³C, o gHMBC, por sua vez possibilita verificar correlações denominadas “a longa distância”, ou

seja, aquelas nas quais ^1H e ^{13}C distam entre duas a quatro ligações. Com as informações da figura 29b e considerando a representação da ISN, em destaque na figura 25, pode-se atribuir os sinais de ^{13}C em 165,29 e 144,00 ppm, como sendo, respectivamente, do C=O e do C⁴.

Quanto ao composto **7**, seus espectros de RMN são apresentados na figura 30.

Figura 30 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do composto *trans*-[PdI₂(isn)₂] (**7**).



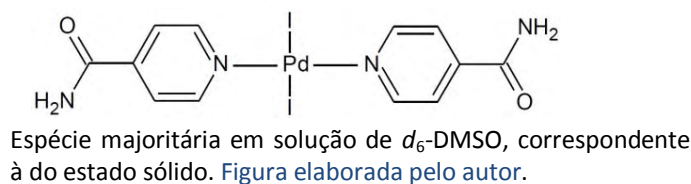
Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. *Figura elaborada pelo autor.*

Notam-se, no espectro de RMN de ^1H do composto **7** (figura 30a), dois conjuntos de sinais. O primeiro deles se refere provavelmente à espécie *trans*, no qual os sinais em 9,04 ppm (duplete aparente, $J = 3,3$ Hz) e em 7,83 ppm (duplete aparente, $J = 3,9$ Hz), são atribuídos aos H^{2,6} e H^{3,5}. Os simpletos em 8,39 e 7,90 ppm correspondem então aos ^1H do grupo NH₂. O segundo conjunto de sinais, indicado por # na figura 30a, parece proveniente do ligante ISN livre em solução, porém, os sinais apresentam baixa resolução e baixa intensidade, dificultando a elucidação. Experimentos bidimensionais gHMQC e gHMBC elucidaram apenas a espécie majoritária e, por isso, não são aqui apresentados, já que não agregam novas informações sobre a espécie secundária.

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do composto **7** (figura 30b) apresenta quatro sinais; quando comparados aos sinais do composto **6** e à ISN livre, eles podem ser atribuídos como: 165,10 ppm (C=O), 155,45 ppm (C^{2,6}), 143,63 ppm (C⁴) e 122,90 ppm (C^{3,5}).

De posse destas informações sugere-se que a espécie *trans* é predominante em solução e é compatível com a estrutura no estado sólido, conforme ilustrada pela figura 31.

Figura 31 – Estrutura molecular proposta para o composto *trans*-[PdI₂(isn)₂] (**7**).



4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 2: [Pd₂X₄(μ-L)(isn)₂]; X= N₃ e SCN; L= 4,4'-bipiridina e trietilenodiamina; ISN= isonicotinamida

Com o intuito de se estender as preparações e as investigações biológicas a compostos binucleares contendo isonicotinamida, empregou-se nessa série os ligantes espaçadores 4,4'-bipiridina (BIPY) e trietilenodiamina (TEDA).

Os dados de análise elementar são compatíveis com as propostas de estruturas moleculares contendo dois átomos de paládio(II), os respectivos pseudo-haletos e dois ligantes ISN, em cada caso. Os compostos, segundo o que nos consta, não estão relatados na literatura.

Cabem algumas considerações sobre os pseudo-haletos azida (N₃) e tiocianato (SCN), presentes nos complexos **8** a **11**. Principalmente no que tange à espectroscopia vibracional no IV, esses ligantes, quando coordenados, apresentam bandas bem características, o que possibilita inferir seus modos de coordenação ao(s) centro(s) metálico(s).

A azida pode se coordenar aos metais de maneira terminal por um átomo de nitrogênio ou em ponte, *end-on* – com um átomo de nitrogênio coordenado a dois centros metálicos –, ou *end-to-end* – via nitrogênios das extremidades. A coordenação do tiocianato pode ocorrer, comumente, via nitrogênio (Metal–NCS), enxofre (Metal–SCN) ou em ponte (Metal–NCS–Metal). A tabela 3 mostra os intervalos das frequências referentes aos modos vibracionais dos pseudo-haletos livres ou coordenados em complexos metálicos (GOLUB; KÖHLER; SKOPENKO, 1986).

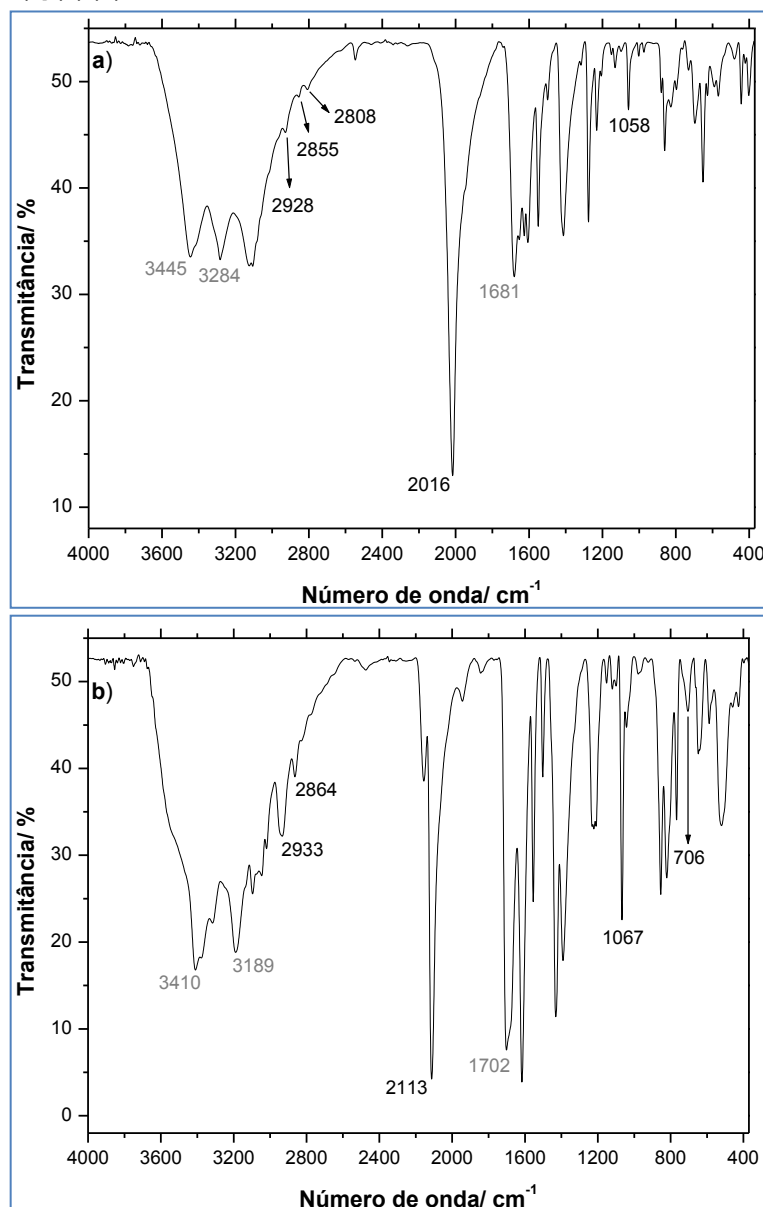
Tabela 3 – Principais frequências vibracionais observadas em espectros no IV de complexos contendo N₃ e SCN.

Modo de coordenação	$\nu_{as}(NNN)$	$\nu_s(NNN)$
N-terminal	2050-2000	1304-1285
Ponte <i>end-on</i>	2080-2050	1290-1200
Ponte <i>end-to-end</i>	2100-2080	1290-1200
Modo de coordenação	$\nu_{as}(SCN)$	$\nu_s(SCN)$
S-terminal	2125-2100	760-700
N-terminal	2100-2050	870-820
Ponte <i>end-to-end</i>	2165-2100	800-750

Valores expressos em cm⁻¹. *Tabela elaborada pelo autor.*

Os espectros no IV dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**8**) e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]$ (**9**) estão na figura 32; enquanto os dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**10**) e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]$ (**11**) são dados na figura 33.

Figura 32 – Espectros vibracionais no IV dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**8**) (a) e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]$ (**9**) (b).

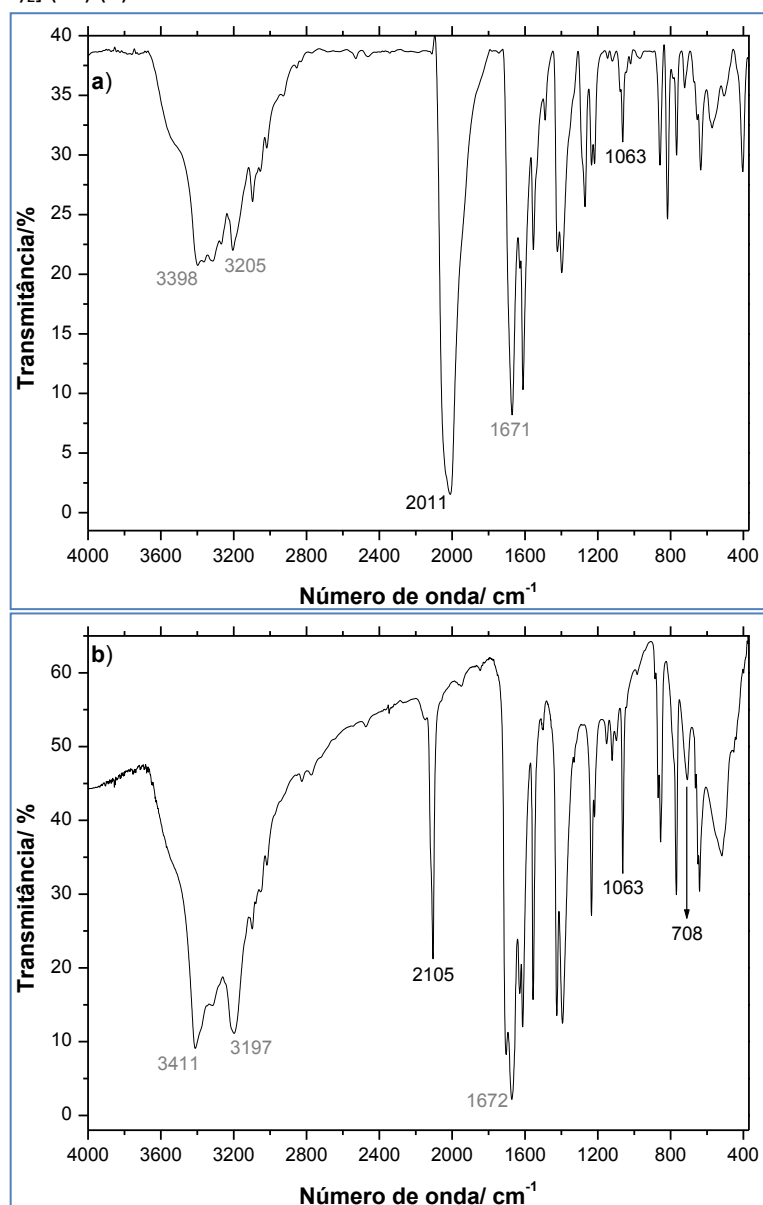


Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

A coordenação da ISN nos compostos **8** a **11** ocorre pelo nitrogênio piridínico constatada pelo deslocamento para frequências mais elevadas do modo $\phi_{\text{respiração}}$ do anel ($\Delta = +65$ a 74 cm^{-1}), em relação ao ligante livre (993 cm^{-1}). O alargamento das bandas na região dos modos νNH sugere a participação dos grupos amida da ISN em ligações de hidrogênio.

Nos compostos **8** e **10**, bandas correspondentes aos modos normais de estiramento assimétrico do grupo azida, $\nu_{as}NNN$, em 2016 e 2011 cm^{-1} , respectivamente, indicam seguramente a coordenação *N*-terminal da azida aos átomos de Pd(II).

Figura 33 – Espectros vibracionais no IV dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**10**) (a) e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]$ (**11**) (b).



Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Nos compostos **9** e **11**, o modo $\nu_{as}\text{SCN}$ aparece em 2113 e 2105 cm^{-1} respectivamente, excluindo-se então a possibilidade de ligação via *N*-terminal do SCN (vide tabela 3). Para distinguir com clareza as coordenações *S*-terminal e ponte *end-to-end*, nesse caso, considerou-se também as bandas atribuídas ao modo $\nu_s\text{SCN}$. Para **9** e **11**, as respectivas frequências vibracionais ocorrem em 706 e 708 cm^{-1} , respectivamente, o que, com base na

tabela 3, permite afirmar que a coordenação dos grupos tiocianato aos átomos de paládio(II) é S-terminal.

Tratando-se do ligante TEDA, sugere-se, com base nas análises elementares, que ele situa-se em ponte entre dois centros de Pd(II). Quanto à espectroscopia no IV, os modos ν_{as} e ν_s dos grupos CH_2 são os indícios mais claros da presença e da coordenação desse ligante. Segundo Messina e colaboradores (2000), a TEDA livre apresenta bandas intensas em 2965 e 2941 cm^{-1} (ν_{as}) e 2873 cm^{-1} (ν_s). Observou-se a ocorrência desses modos vibracionais, de baixa intensidade, em 2928 e 2855 cm^{-1} (ν_{as}) e em 2808 cm^{-1} (ν_s) para o composto **8** (figura 32a). Para **9** (figura 32b), bandas de baixa intensidade aparecem em 2933 e 2864 cm^{-1} (ν_{as} e ν_s , respectivamente).

A diminuição da intensidade das bandas e o deslocamento para menores números de onda evidenciam a coordenação do ligante TEDA ao Pd(II) em ambos os casos.

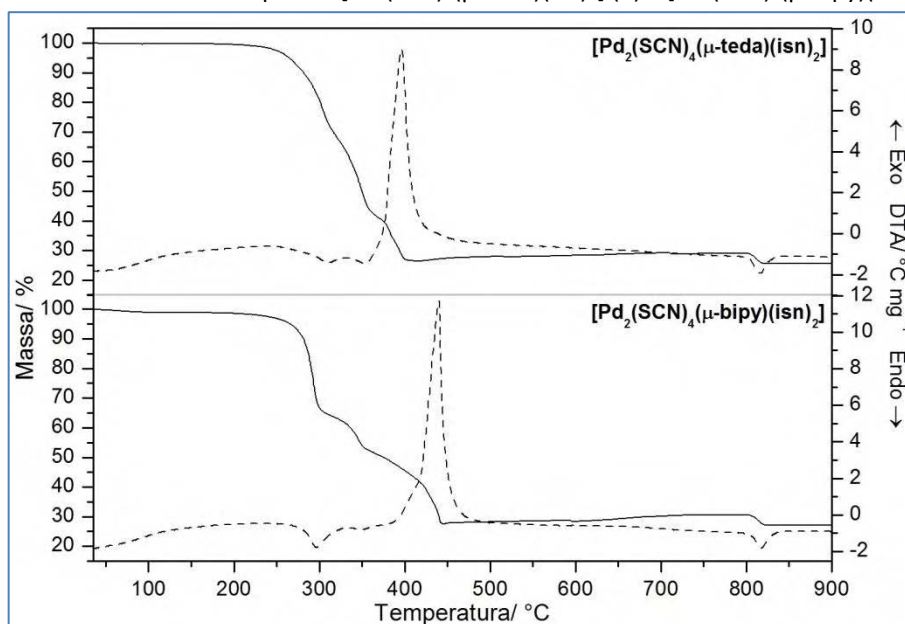
O ligante BIPY, tido como um ligante espaçador rígido, encontra-se em ponte entre dois átomos de paládio(II); fato confirmado pelas análises elementares dos compostos. Quanto ao espectro vibracional na região do IV dos compostos **10** e **11** (figura 33), esse ligante apresenta bandas em regiões que se sobrepõem às da ISN, o que dificulta uma discussão pormenorizada dos espectros.

Objetivando investigar o comportamento térmico dos compostos da série 2, bem como reforçar as propostas estequiométricas, foram obtidas curvas TG-DTA, simultâneas, dos compostos **9** e **11**. Os compostos **8** e **10**, contendo azida, apresentaram caráter explosivo e por isso suas medidas não foram realizadas. As termodecomposições seguem ilustradas na figura 34 e a descrição dos eventos termoanalíticos compilada na tabela 4.

As curvas TG dos compostos **9** e **11** apresentam um perfil de degradação térmica semelhante, com a eliminação dos ligantes ocorrendo em três etapas consecutivas de perda de massa, juntamente com ganho e a posterior perda de O_2 , gerando Pd (para o composto **9**) e uma mistura de Pd/ PdO (para **11**) como resíduos, segundo os cálculos.

Os picos endotérmicos na curva DTA em 311 e 356 °C (para **9**) e em 300 e 352 °C (para **11**) são compatíveis com eventos que envolvem a saída dos ligantes. A consequente liberação de matéria orgânica e sua queima relacionam-se ao único pico exotérmico, em cada curva DTA, em 396 °C para o composto **9** e em 442 °C para **11**. Os picos endotérmicos em 816 e 822 °C, respectivamente para **9** e **11** nas curvas DTA, são compatíveis com a redução do PdO a Pd.

Figura 34 – Curvas TG e DTA dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]$ (**9**) e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]$ (**11**).



Para as medidas utilizou-se massas de 5 mg. TG (linha sólida) e DTA (linha pontilhada). *Figura elaborada pelo autor.*

Tabela 4 – Dados de análise TG-DTA simultâneas dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]$ (**9**) e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]$ (**11**).

Composto	Etapa	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$		DTA/ $^\circ\text{C}$	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
9	1	212-406	-73,34		311, 356	396
	2	406-706	+2,90			
	3	806-821	-2,90		816	
	Resíduo		26,66	26,55		
11	1	198-450	-72,22		300, 352	442
	2	450-793	+2,75			
	3	793-832	-3,51		822	
	Resíduo		27,20	27,23		

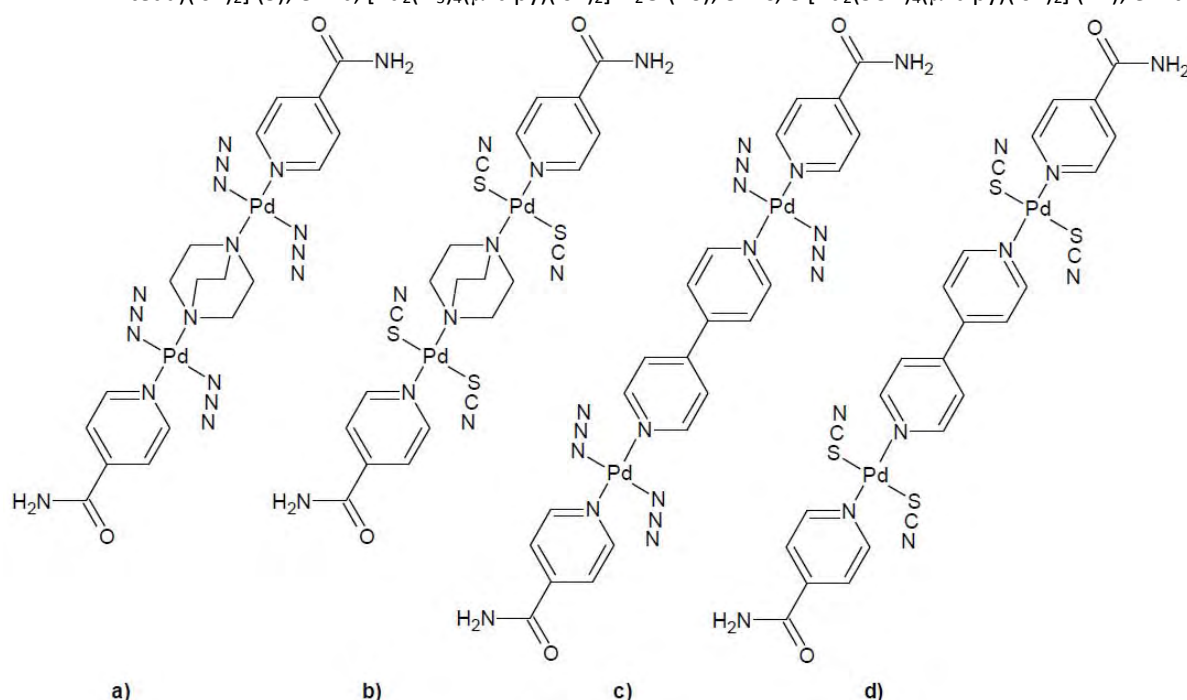
Tabela elaborada pelo autor.

A estabilidade térmica é proposta referindo-se ao início de cada termodecomposição. Segundo as curvas TG, o complexo **9** sofre decomposição em temperatura mais elevada que o complexo **11**, sendo portanto o mais estável.

Espectros de RMN de ^1H em solução para os compostos **8** a **10** (APÊNDICE, figura 4) apresentaram picos muito alargados e com pouca resolução, dificultando uma discussão adequada. A baixa solubilidade também impediu realizar experimentos de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e 2D.

Por fim, considerando os dados de análises elementares, de espectroscopia no IV e de TG-DTA, sugere-se que os compostos **8** a **11** apresentam estruturas representadas na figura 36.

Figura 35 – Proposições estruturais para os compostos $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**8**), em **a**, $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]$ (**9**), em **b**, $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**10**), em **c**, e $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]$ (**11**), em **d**.

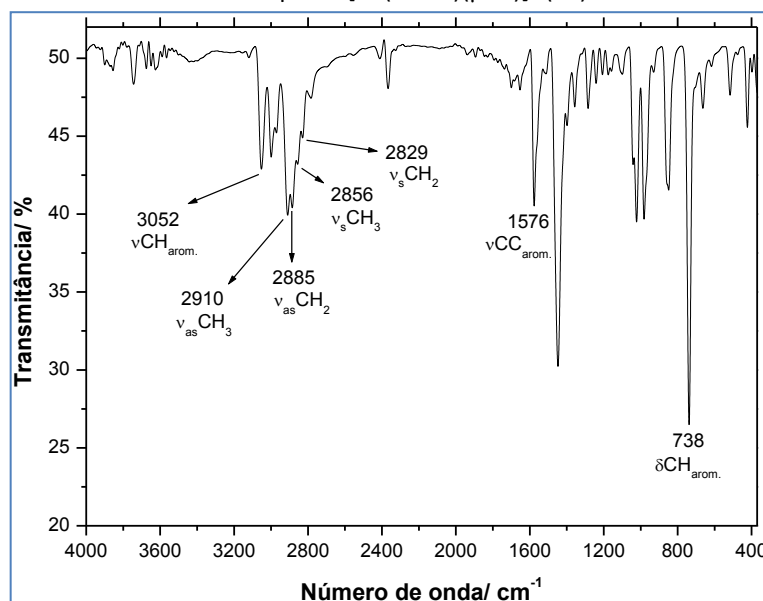


As moléculas de H_2O de **8** e **10** estão omitidas. *Figura elaborada pelo autor.*

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS PRECURSORES $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ (**12**), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**13**) E $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (**14**)

Inicialmente, é relevante mencionar os principais modos vibracionais da *N,N*-dimetilbenzilamina (DMBA), situados em: 3031 cm^{-1} ($\nu\text{CH}_{\text{aromático}}$), 2942 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$), 2772 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$), 1570 cm^{-1} ($\nu\text{CC}_{\text{aromático}}$) e 740 cm^{-1} ($\delta\text{CH}_{\text{aromático}}$). Quando o ligante DMBA coordena-se ao Pd(II), em **12**, ocorre um deslocamento significativo de alguns desses modos para números de ondas mais altos, como $\nu\text{CH}_{\text{aromático}}$ e $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$, para, respectivamente, 3052 e 2885 cm^{-1} (vide figura 36). Já as metilas, sofrem uma influência maior com a coordenação por estarem ligadas ao N-amínico que se liga ao Pd(II). Assim, há um deslocamento de -32 cm^{-1} do número de onda relacionado ao modo $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$.

Figura 36 – Espectro vibracional no IV do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$ (**12**).



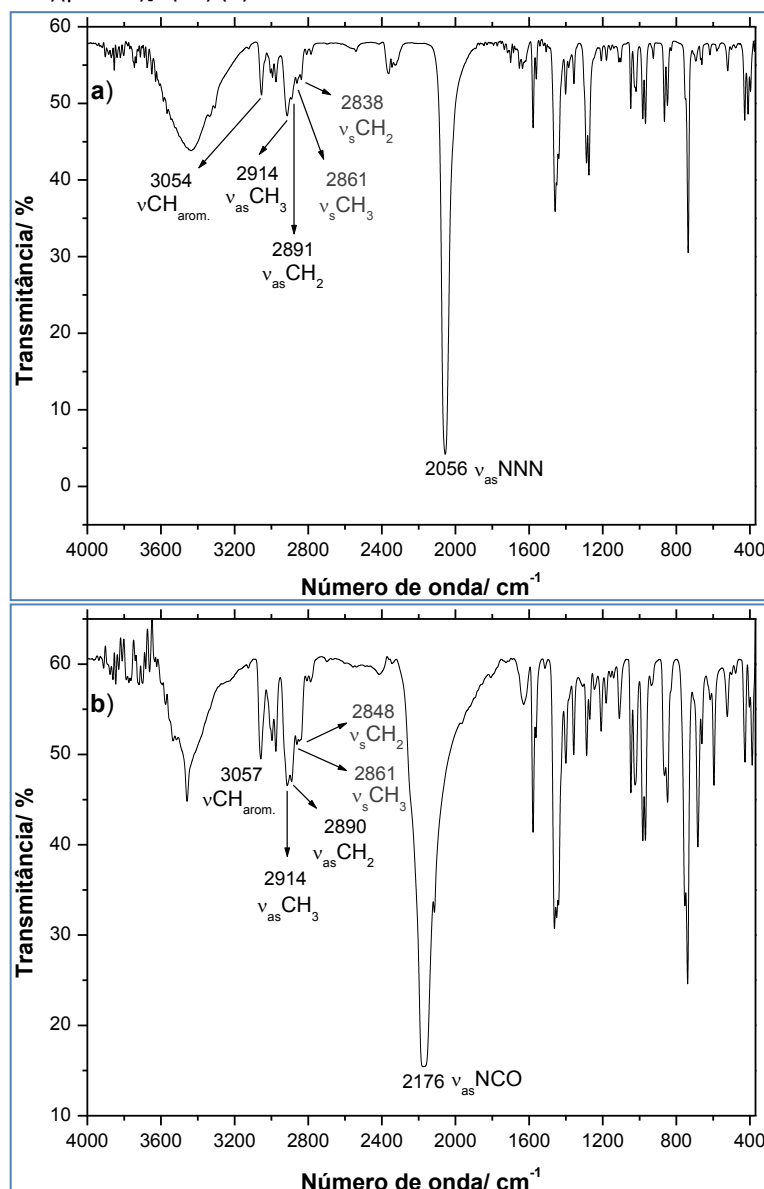
Espectro obtido em KBr. Figura elaborada pelo autor.

A análise do espectro no IV, a temperatura de decomposição e os valores de análise elemental são suficientes para confirmar a obtenção de **12**, conhecido há décadas na literatura e há muito tempo preparado como precursor nos laboratórios de nosso grupo de pesquisas.

Para o $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**13**), os dados espectroscópicos no IV e de temperatura de decomposição estão concordantes com a literatura (ALMEIDA; et al., 2007). Seus principais modos vibracionais são os estiramentos $\nu\text{CH}_{\text{aromático}}$, $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ e $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$, ocorrendo respectivamente em 3054, 2914 e 2891 cm^{-1} . Outra banda muito importante que aparece no espectro no IV (figura 37a) está centrada em 2056 cm^{-1} e se refere ao modo $\nu_{\text{as}}\text{NNN}$, indicando, indiscutivelmente, a coordenação da azida de modo *end-on* a dois átomos de Pd.

Para o $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (**14**), os dados espectroscópicos no IV e de temperatura de decomposição também estão em concordância com a literatura (LUCCA NETO; et al., 1999). Seus principais modos vibracionais são os estiramentos $\nu\text{CH}_{\text{aromático}}$, $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ e $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$, ocorrendo em 3057, 2914 e 2890 cm^{-1} , respectivamente. Outra banda muito importante está situada em 2176 cm^{-1} e se refere ao modo $\nu_{\text{as}}\text{NCO}$, indicando a coordenação do cianato de modo *end-on* aos átomos de paládio. O espectro é ilustrado na figura 37b.

Figura 37 – Espectro vibracional no IV do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**13**) (a) e do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (**14**) (b).



Espectros obtidos em KBr (figura elaborada pelo autor).

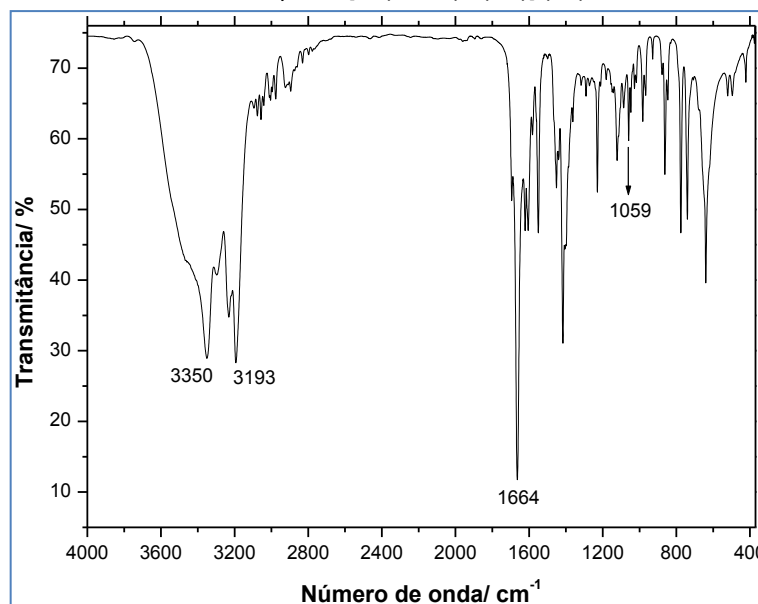
4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 3: $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{isn})]$; X= Cl (**15**), N_3 (**16**) e NCO (**17**); ISN= isonicotinamida

Tratando-se do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (**15**), derivado do precursor **12**, seu espectro vibracional no IV é apresentado na figura 38. Sua caracterização no estado sólido é compatível com a proposta da literatura (STEVANATO; MAURO; GODOY NETTO, 2009), levando em conta os dados de análise elementar, temperatura de decomposição e espectroscopia vibracional no IV.

A coordenação da ISN ocorre pelo nitrogênio piridínico, constatada pelo deslocamento para frequências mais elevadas do modo ϕ ($\Delta = +66 \text{ cm}^{-1}$), em relação à ISN livre (993 cm^{-1}).

As bandas decorrentes dos modos νNH , alargadas e intensas entre 3350 e 3193 cm^{-1} , deixam claro a presença de interações de hidrogênio entre os grupos carbamoi (O=C–NH₂). Por outro lado, o modo $\nu\text{C=O}$, atribuído à banda em 1664 cm^{-1} , não participa da coordenação, pois sua frequência vibracional não se alterou (ISN livre em 1666 cm^{-1}).

Figura 38 – Espectro vibracional no IV do composto [Pd(dmab)Cl(isn)] (**15**).



Espectro obtido em KBr. Figura elaborada pelo autor.

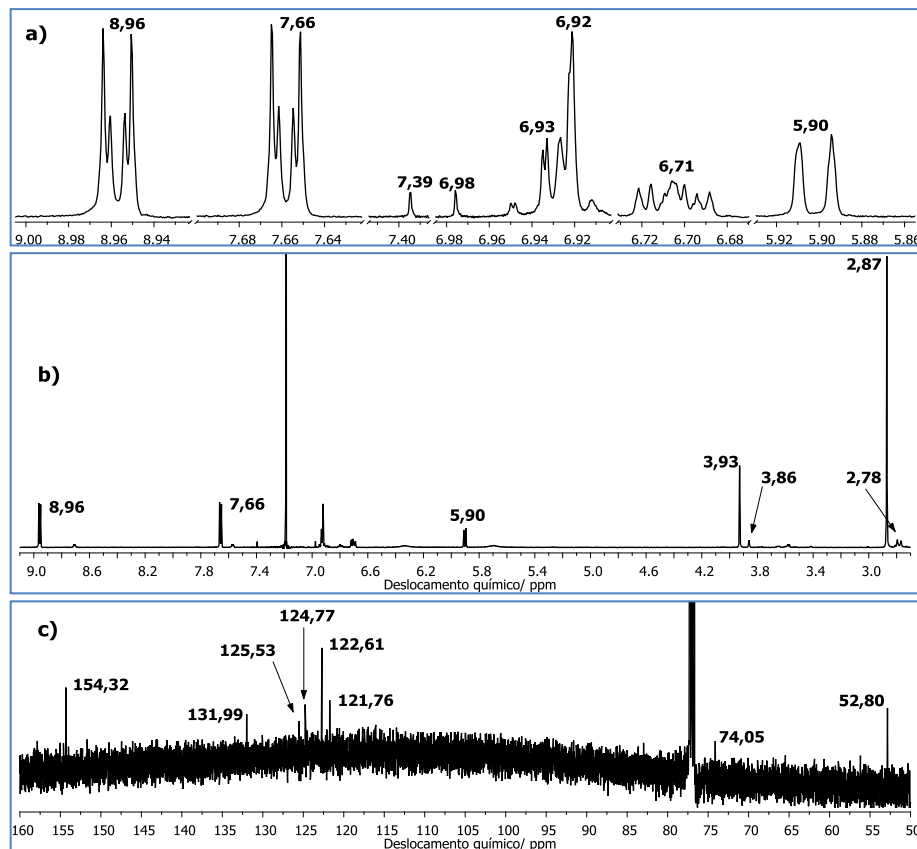
Como a publicação de Stevanato, Mauro e Godoy Netto (2009) não contemplou uma análise em solução dos compostos, julgou-se pertinente a caracterização por RMN dos compostos da série 3. Os dados de RMN de ¹H e de ¹³C do composto **15** são apresentados na figura 39.

Notam-se no espectro de RMN de ¹H do composto **15** (figura 39b) dois sinais (duplo dupletos) em 8,96 ppm (*orto* $J = 6,5\text{ Hz}$ /*meta* $J = 3,5\text{ Hz}$ /*para* $J = 1,5\text{ Hz}$) e em 7,66 ppm (*orto* $J = 7,0\text{ Hz}$ /*meta* $J = 3,0\text{ Hz}$ /*para* $J = 2,0\text{ Hz}$) associados, respectivamente, aos H^{2,6} e H^{3,5} do ligante ISN coordenado ao Pd(II). O deslocamento do sinal para campo mais baixo dos H^{2,6}, em relação ao ligante livre, reforça a coordenação via N-piridínico. Há, ainda, dois simpletos em 7,39 e 6,98 ppm, atribuídos aos hidrogênios do grupo amida da ISN.

Quanto ao ligante DMBA, o trabalho de Mendes e colaboradores (2004) indica que os sinais dos ¹H aromáticos situam-se entre 7,10 e 6,80 ppm, no caso do composto precursor [Pd(dmab)(μ-Cl)]₂. Para **15** (figura 39a), os sinais referentes à DMBA aparecem entre 6,93 e 6,71 ppm (multipletos aparentes) e, como forte evidência da formação da espécie mononuclear **15**, está o duplete ($J = 7,5\text{ Hz}$) em 5,90 ppm, atribuído ao H³ da DMBA (vide

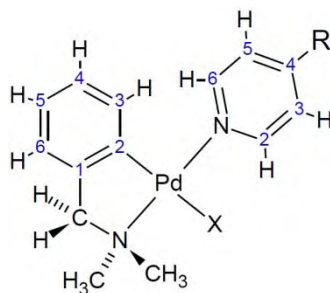
representação numérica na figura 40). Este sinal, por sua vez, se desloca para campo alto em função do efeito anisotrópico exercido pelo anel piridínico (vide figura 3 do APÊNDICE) da ISN, coordenada ao Pd(II) e *cis* em relação ao carbono metalado da DMBA. A coordenação da ISN influencia espacialmente o H³ da DMBA, que fica mais blindado graças ao efeito direto do cone diamagnético (DUNINA; et al., 2000).

Figura 39 – Espectros de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} do [Pd(dmba)Cl(isn)] (15).



Espectros obtidos em CDCl₃, a 11,7 T e 28 °C. Em **a**, destaque para a multiplicidade dos sinais em 8,96; 7,66 e 5,90 ppm, além de ampliação da região espectral entre 9,10 e 5,85 ppm do espectro de ¹H, para melhor visualização dos sinais. Em **b**, espectro de ¹H em sua totalidade e em **c** de ¹³C{¹H}. *Figura elaborada pelo autor.*

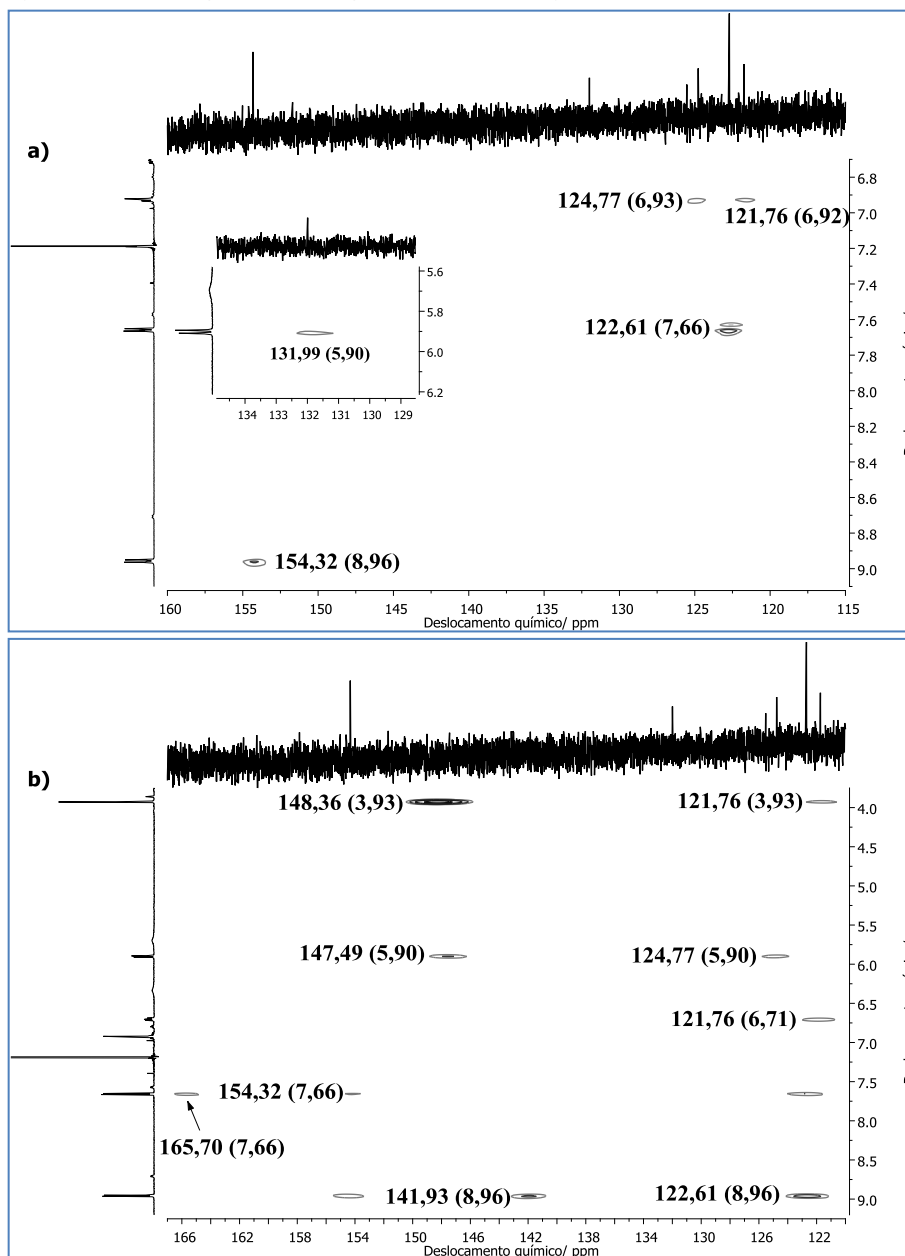
Figura 40 – Representação numérico-estrutural para os compostos do tipo [Pd(dmba)X(4Rpy)].



A representação numérica indica a sequência dos carbonos e dos hidrogênios. X= Cl, ou N₃, ou NCO e R= *para*-substituinte piridínico, sendo –CONH₂ (ISN), ou –CN (4CNPY), ou –NH₂ (4AMPY) ou –COOH (4ACIDPY). *Figura elaborada pelo autor.*

Para uma atribuição precisa dos sinais de ^{13}C , bem como para a possibilidade de se atribuir todos os sinais de ^1H de **15**, recorreu-se aos experimentos bidimensionais do tipo gHMQC e gHMBC, como ilustrado na figura 41.

Figura 41 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (**15**).



Mapas obtidos em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C. Em destaque (a), ampliação da região com correlação entre os sinais 5,90 ppm e 131,99 ppm. *Figura elaborada pelo autor.*

Segundo a figura 41a, notam-se correlações diretas ^1H – ^{13}C da ISN com os sinais de ^{13}C apresentando-se em 154,32 ppm (para $\text{H}^{2,6}$) e em 122,61 ppm (para $\text{H}^{3,5}$). Em destaque na figura 41a, o sinal em 5,90 ppm, referente ao H^3 da DMBA coordenada, indica seu sinal de ^{13}C correspondente em 131,99 ppm. Além disso, outros dois sinais do ligante DMBA

coordenado, na região espectral dos aromáticos, também são visíveis, entretanto, se faz necessário uma análise das correlações à “longa distância” (figura 41b) para propor uma atribuição adequada. Assim, partindo-se dos sinais já identificados é possível distinguir os demais a partir das relações mostradas na figura 42.

Figura 42 – Representação das correlações presentes no mapa de contorno gHMBC do composto [Pd(dmmba)Cl(isn)] (**15**).

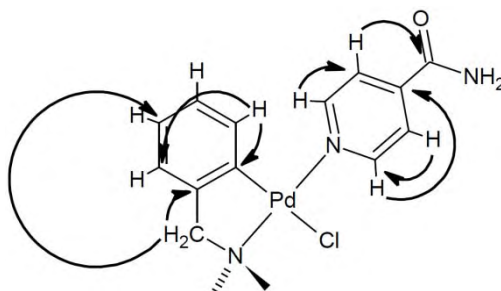


Figura elaborada pelo autor.

Portanto, a partir das correlações bidimensionais e dos espectros de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, a tabela 5 contempla as atribuições dos sinais de RMN em solução para o composto **15**.

Tabela 5 – Dados de RMN para o composto [Pd(dmmba)Cl(isn)] (**15**).

Fragmento	Atribuição	Deslocamento químico/ ppm			
		^1H	^{13}C	gHMQC	gHMBC
DMBA	C^1	—	148,36	—	
	C^2	—	147,49	—	
	C^3/H^3	5,90 (<i>d</i> , 7,5)	131,99	<i>O</i>	6,71→121,76
	C^4/H^4	6,71 (<i>m</i>)	125,33	<i>NO</i>	5,90→147,49
	C^5/H^5	6,92 (<i>m</i>)	121,76	<i>O</i>	5,90→124,77
	C^6/H^6	6,93 (<i>m</i>)	124,77	<i>O</i>	3,93→148,36
	$-\text{CH}_2-$	3,93 e 3,86 ($^{\text{geminal}}J=35$)	74,05	<i>NO</i>	3,93→121,76
	$-\text{CH}_3$	2,87 (<i>s</i>) e 2,78 (<i>s</i>)	52,80	<i>NO</i>	
ISN	$\text{C}^{2,6}/\text{H}^{2,6}$	8,96 (<i>dd</i> , $^oJ=6,5$; $^mJ=3,5$; $^pJ=1,5$)	154,32	<i>O</i>	8,96→141,93
	$\text{C}^{3,5}/\text{H}^{3,5}$	7,66(<i>dd</i> , $^oJ=7,0$; $^mJ=3,0$; $^pJ=2,0$)	122,61	<i>O</i>	8,96→122,61
	C^4	—	141,93	—	7,76→165,70
	CONH_2	7,39 (<i>s</i>) e 6,98 (<i>s</i>)	165,70	<i>NO</i>	7,76→154,32

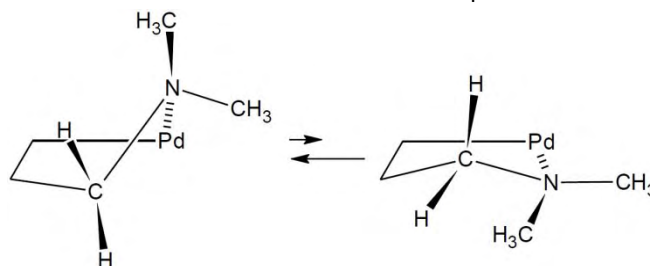
Multiplicidade (em Hz): *s*= simpleto, *d*= duplete, *dd*= duplo duplete e *m*= multipeto. $^{\text{geminal}}J$ = acoplamento geminal, ^oJ = acoplamento *orto*, ^mJ = acoplamento *meta* e ^pJ = acoplamento *para*. Notação de sinais: *O*= observado e *NO*= não observado. Tabela elaborada pelo autor.

Cabe destacar os sinais de ^{13}C em 148,36 ppm (C^1), do carbono diretamente ligado ao Pd em 147,49 ppm (C^2) e do sinal em 165,70 ppm ($\text{C}=\text{O}$), que somente foram detectados, nas condições experimentais, pelo mapa de contorno gHMBC.

Quanto ao ligante DMBA coordenado, ainda notam-se sinais desdobrados referentes ao grupo metileno, em 3,93 e 3,86 ppm (simpletos), e às metilas, em 2,87 e 2,78 ppm

(simpletos), na figura 39b. Estes sinais desdobrados se devem aos prótons desses grupos serem diastereotópicos, ou seja, não se podem interconverter por nenhuma operação de simetria e, portanto, são magneticamente distintos e com diferentes deslocamentos químicos (UNIVERSIDAD..., 2004). Entretanto, a observação de sinais com intensidades tão díspares entre os ^1H do mesmo grupo é consequência do equilíbrio dinâmico existente entre as formas *quasi-plana* e “envelope”, do anel ciclometalado de cinco membros existente, como exposto na figura 43.

Figura 43 – Representação das formas interconvertíveis do anel ciclopaladado formado pela ligação dmbs-Pd.



As formas representam situações aplicadas ao composto ciclopentano². Aqui há uma situação supostamente semelhante, dadas as devidas extrapolações como a presença dos átomos de nitrogênio e paládio, bem como a insaturação advinda do ligante DMBA. *Figura elaborada pelo autor.*

Nas condições experimentais da análise de RMN para **15** (28 °C), certamente há uma interconversão entre as formas do anel ciclometalado, o que leva a uma quase equivalência dos sinais. Possivelmente, o aumento de temperatura para a aquisição de um novo espectro de ^1H resultaria em sinais únicos, em função de suas médias, para cada grupo. Ao contrário, com o decréscimo da temperatura, se esperaria progressivamente a duplicação dos sinais de cada grupo, como resultantes de uma forma “congelada” do anel ciclopaladado.

Em relação ao espectro de RMN ^{13}C de **15** (figura 39c) nota-se apenas um sinal referente ao grupo metileno (74,05 ppm) e um para o grupo metila (52,80 ppm), o que seria previsto para a presença da única espécie em solução. Aqui as considerações dos anéis interconvertíveis e a distinção dos prótons diastereotópicos não se aplicam ao núcleo de ^{13}C .

Portanto, considerando as análises no estado sólido e em solução, a estrutura para **15** é ilustrada pela figura 44.

² Se a estrutura do ciclopentano fosse planar, os ângulos de ligação envolvendo os átomos de carbono seriam de 108 °, estando então muito próximo do ângulo tetraédrico ideal em hibridizações sp^3 (109,5 °) e, com isso, o anel estaria isento de tensões angulares. Contudo, cinco pares de hidrogênios estariam eclipsados e sujeitos a uma tensão torsional considerável, causada pela repulsão entre elétrons ligantes. Portanto, o ciclopentano assume uma forma “envelope”, lembrando um envelope retangular com a aba levantada. Nessa condição, a tensão angular adquirida compensa, em termos energéticos, a tensão torcional (BRUCE, 2006, p. 91-92).

Figura 44 – Estrutura proposta para o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (**15**).

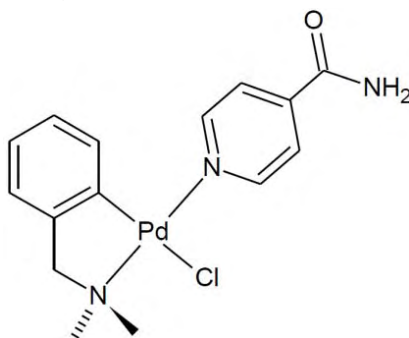
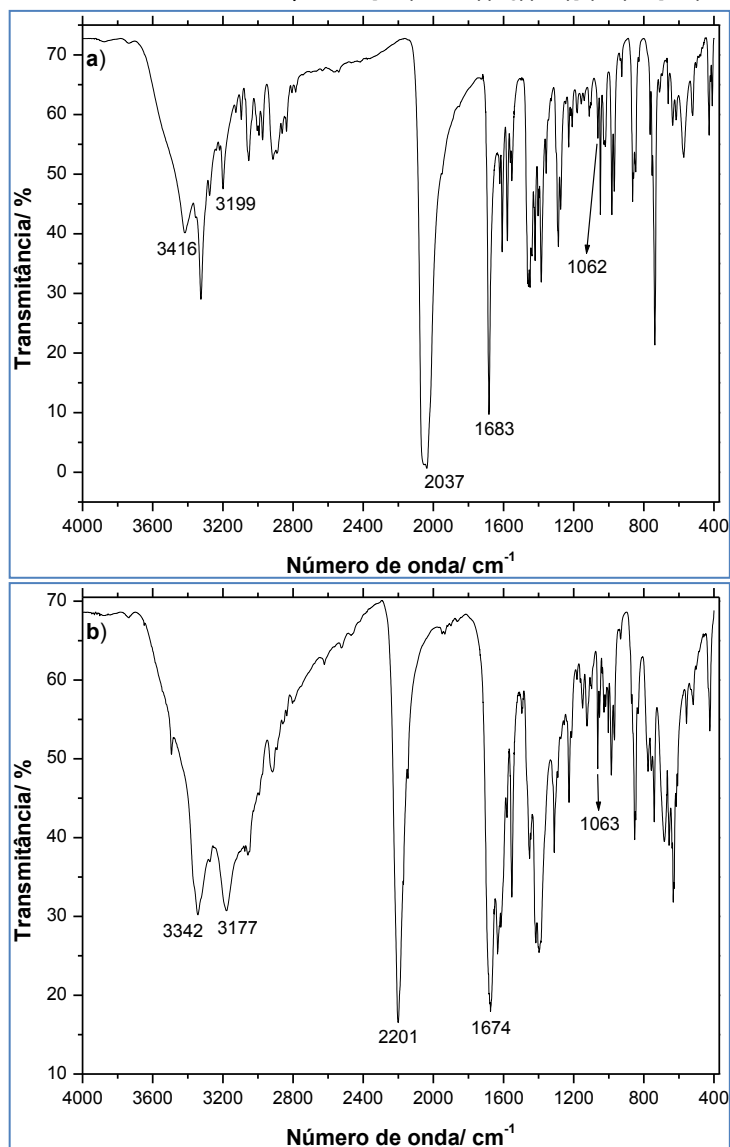


Figura elaborada pelo autor.

Os espectros no IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (**16**) e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**17**) são apresentados na figura 45.

Figura 45 – Espectros vibracionais no IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (**16**) e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**17**).



Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Bandas referentes aos modos νNH , intensas e alargadas, entre 3416 e 3199 cm^{-1} (**16**) e no intervalo de 3342 a 3177 cm^{-1} (**17**), evidenciam a presença do ligante ISN, havendo, no estado sólido, interações do tipo ligações de hidrogênio entre seus grupos carbamóil. A coordenação do ligante piridínico, em ambos os casos, se dá apenas pelo nitrogênio heterocíclico, já que ocorre um deslocamento para frequências mais elevadas do modo ϕ ($\Delta = +69$ e $+70\text{ cm}^{-1}$, respectivamente para **16** e **17**), em relação à ISN livre (993 cm^{-1}).

Outro ponto importante nos espectros no IV destes dois compostos é a presença de modos vibracionais associados aos pseudo-haletos coordenados. Em **16**, figura 45a, observa-se uma banda em 2037 cm^{-1} , característica da azida ligada terminalmente ao metal e referente ao modo $\nu_{\text{as}}\text{NNN}$. Em **17**, figura 45b, observa-se uma banda em 2201 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{NCO}$) típica de coordenação *N*-terminal do grupo cianato. Em ambos os casos, pode-se constatar um alargamento acentuado destas principais bandas envolvendo os pseudo-haletos, fato sugestivo do envolvimento destes ligantes em interações supramoleculares.

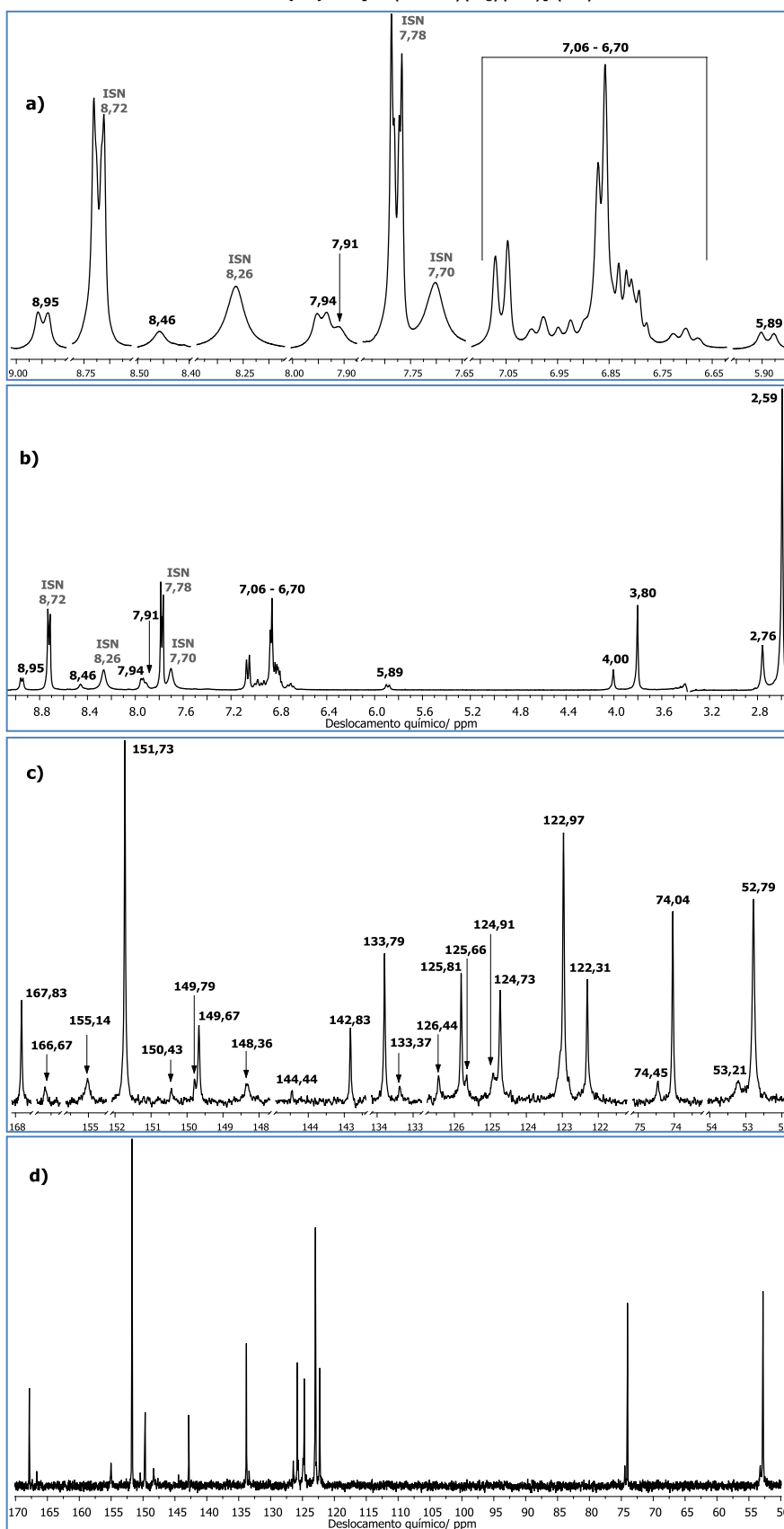
Levando em conta os dados de análise elementar, temperatura de decomposição e espectroscopia vibracional no IV, para os compostos **16** e **17**, sugere-se que as proposições estruturais de ambos sejam compatíveis com aquelas apresentadas na literatura, ou seja espécies mononucleares de Pd(II) contendo, cada uma, um ligante DMBA $\text{C}^{\wedge}\text{N}$ quelado, um ligante ISN ligado via *N*-heterociclo, e o pseudo-haleta *N*-terminal (STEVANATO; MAURO; GODOY NETTO, 2009).

Além disso, realizou-se uma análise em solução por RMN do composto **16**, cujos espectros são apresentados na figura 46.

Notam-se no espectro de RMN de ^1H de **16** (figura 46a) dois sinais (duplo dupletos) em $8,72$ e em $7,78\text{ ppm}$ ($^{\text{orto}}J = 6,0\text{ Hz}$ / $^{\text{meta}}J = 3,0\text{ Hz}$ / $^{\text{para}}J = 1,5\text{ Hz}$), associados, respectivamente, aos $\text{H}^{2,6}$ e $\text{H}^{3,5}$ do ligante ISN livre em solução. Os sinais referentes ao $-\text{NH}_2$ da ISN livre aparecem como simpletos alargados em $8,26$ e $7,70\text{ ppm}$.

Sinais condizentes com a ISN coordenada ocorrem em $8,95\text{ ppm}$ ($\text{H}^{2,6}$, duplete aparente, $J = 5,4\text{ Hz}$), $7,94\text{ ppm}$ ($\text{H}^{3,5}$, duplete aparente, $J = 5,4\text{ Hz}$), $8,46$ e $7,91\text{ ppm}$ ($-\text{NH}_2$, simpletos alargados).

Figura 46 – Espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (**16**).



Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Em **a**, ampliação da região espectral entre 9,10 e 5,80 ppm do espectro de ^1H , que é representado em **b**. Em **c**, ampliação do espectro de ^{13}C , apresentado na íntegra em **d**. *Figura elaborada pelo autor.*

Uma atribuição precisa dos prótons do ligante DMBA coordenado ao Pd(II) é dificultada, já que entre 7,06 e 6,70 ppm um conjunto de vários sinais se faz presente. No entanto, um indício consistente da espécie proposta no estado sólido também existir em solução é a presença do sinal em 5,89 ppm (H^3_{dmba} , duplete, $J = 7,5$ Hz). Para este sinal, se aplicam as considerações dadas ao composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (**15**), ou seja a influência anisotrópica da ISN ligada ao Pd(II) – *cis* ao carbono metalado da DMBA – promovendo um deslocamento para campo alto do sinal do H^3 da DMBA coordenada (DUNINA; et al., 2000).

O grande número de sinais no espectro de ^{13}C (figura 46d) assinala não só a presença da espécie esperada em solução e da ISN livre, mas também outra espécie ciclopaladada, já que sinais em 149,79 e 149,67 ppm (figura 46c), certamente associados a dois carbonos distintos ligados diretamente ao paládio, se fazem presentes. Levando em conta o número de sinais de ^{13}C e que não há indícios da coordenação do solvente DMSO, segundo os espectros de RMN, uma sugestão plausível para a segunda espécie ciclopaladada em solução seria o próprio precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2$. Reforçando essa ideia, a literatura menciona que ciclopaladados contendo piridina geram novamente a espécie binuclear precursora, em solução à temperatura ambiente (BLACK; DEACON; EDWARDS, 1994, p. 220), tais como foram as condições experimentais de RMN.

Tratando-se do composto **17**, seus espectros são apresentados na figura 47.

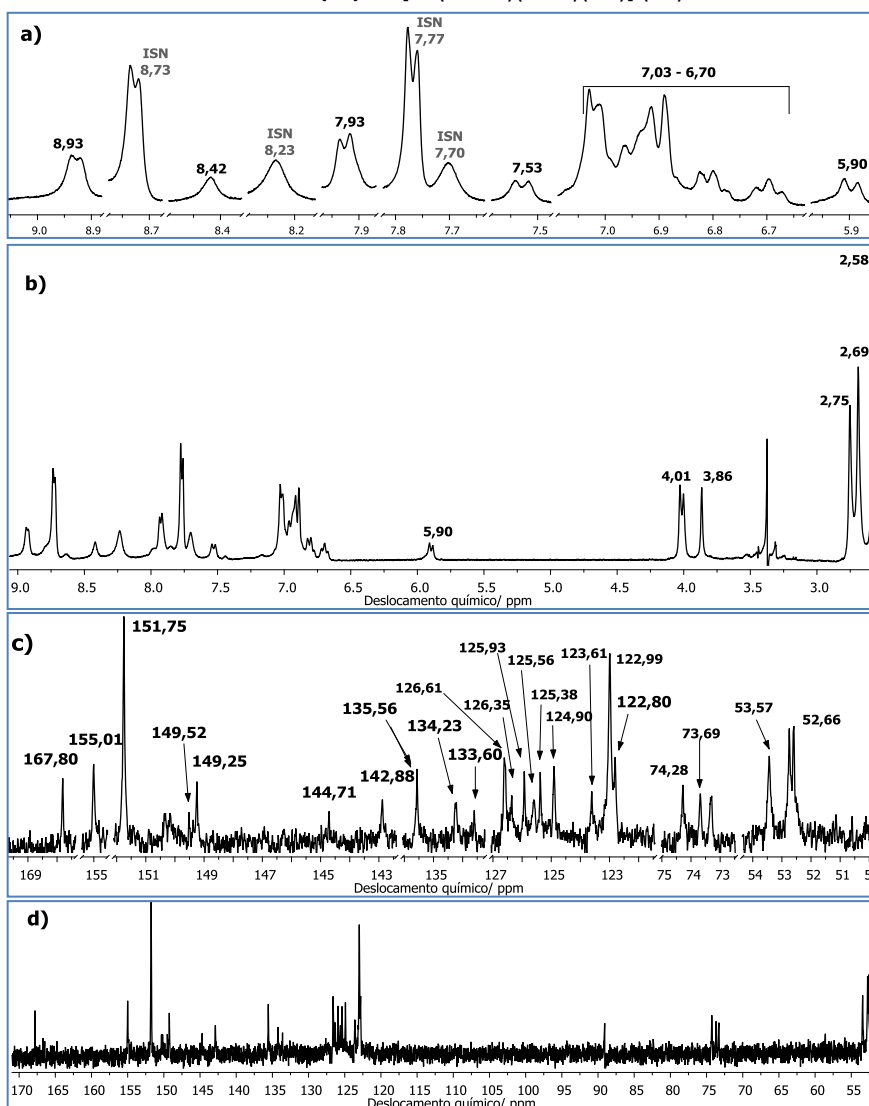
Notam-se no espectro de RMN de ^1H de **17** (figura 47a) quatro sinais associados ao ligante ISN livre em solução, em 8,73 ppm ($H^{2,6}$, duplete aparente, $J = 4,5$ Hz), 7,77 ppm ($H^{3,5}$, duplete aparente, $J = 5,1$ Hz), em 8,23 e 7,70 ppm (simpletos). Os prováveis sinais da ISN coordenada ocorrem em 8,93 e 7,93 ppm ($H^{2,6}$ e $H^{3,5}$, respectivamente, dupletos aparentes, $J = 5,4$ Hz) e em 8,42 ppm (NH_2 , simpleto).

O sinal em 5,90 (H^3_{dmba} , duplete, $J = 7,5$ Hz) é consequência do efeito anisotrópico do anel piridínico *cis* ao anel DMBA, e na região de 7,03 a 6,70 ppm há um conjunto de sinais (multipletos) pertencentes ao anel DMBA.

Sinais duplicados referentes ao grupo CH_2 em 4,01 ppm ($J^{\text{geminal}} = 7,8$ Hz) e 3,86 ppm (simpleto), e ao grupo CH_3 em 2,75 e 2,69 ppm (simpletos) e em 2,58 ppm (simpleto), indicam a presença de duas espécies ciclopaladadas em solução, além do ligante ISN livre.

O espectro de ^{13}C (figura 47d), com tantos sinais apresentados, sustenta a presença de várias espécies em solução. Como nos espectros de ^1H e de ^{13}C não são observados sinais que indicariam a formação de uma espécie em solução contendo DMSO coordenado ao Pd(II), se torna plausível sugerir que, junto com a espécie $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$, haja a presença do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ e da ISN livre, a exemplo do caso anterior (composto **16**).

Figura 47 – Espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**17**).



Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Em **a**, ampliação da região espectral entre 9,05-5,85 ppm do espectro de ^1H , apresentado na íntegra em **b**. Em **c**, ampliação do espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, representado em sua totalidade em **d**. *Figura elaborada pelo autor.*

4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 4: *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$; L= 4CNPY (**18**), 4AMPY (**19**) e 4ACIDPY (**20**)

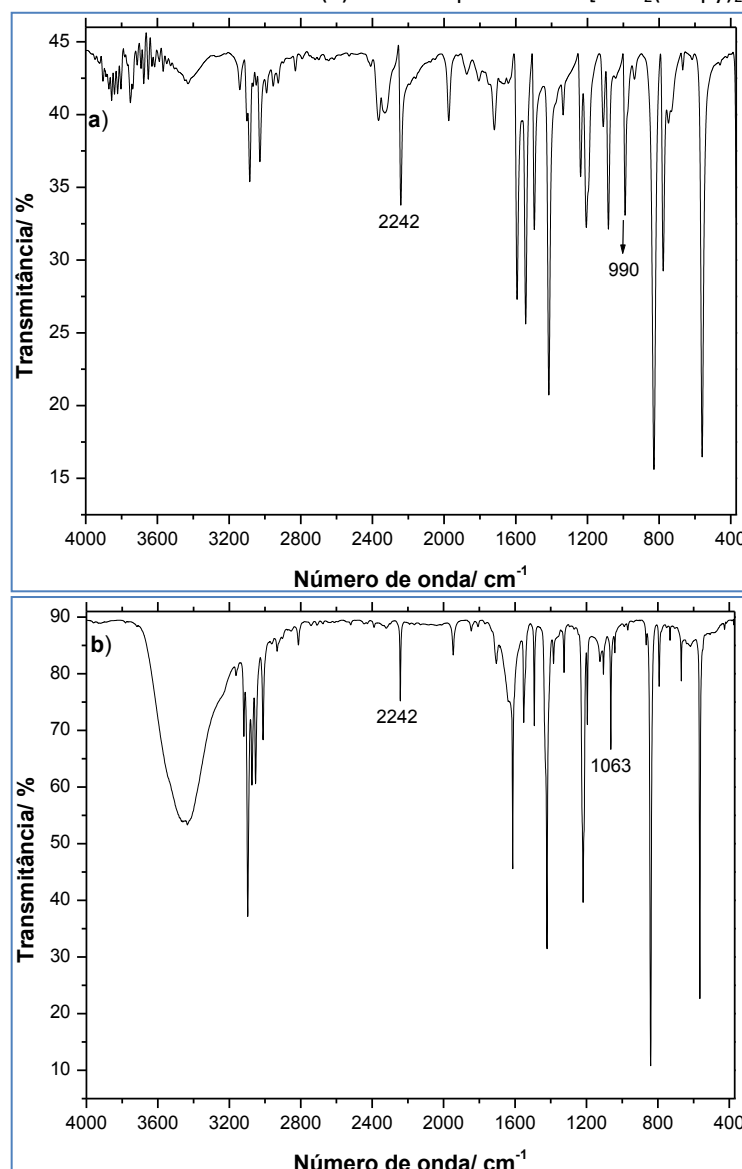
Com o intuito de se estender as preparações e, posteriormente, as investigações biológicas de compostos contendo outros derivados piridínicos – além da isonicotinamida –, empregou-se nesta série os ligantes 4-cianopiridina (4CNPY), 4-aminopiridina (4AMPY) e ácido isonicotínico (4ACIDPY).

As análises elementares são compatíveis com as propostas de estruturas moleculares contendo um átomo de paládio(II), dois ligantes cloro e dois ligantes piridínicos, em cada caso. Os compostos *trans*- $[\text{PdCl}_2(4\text{cnpy})_2]$ (**18**) e *trans*- $[\text{PdCl}_2(4\text{acidpy})_2]$ (**20**) apresentam

estruturas determinadas por difração de raios X de monocristal por Barnett et al. (2002) e Qin et al. (1999), respectivamente. Entretanto, não há na literatura detalhes de caracterização espectroscópica no IV e nenhum estudo desses compostos em solução. O composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**) até então não foi descrito. Além disso, nenhum dos compostos dessa série tinha sido investigado biologicamente.

A respeito da espectroscopia vibracional no IV, seguem algumas considerações sobre os compostos da série 4. Na figura 48 se encontram os espectros do ligante 4CNPY e do composto **18**. As duas principais bandas do ligante 4CNPY em 2242 e em 990 cm⁻¹, associadas aos modos νCN do grupo nitrila e φ do anel piridínico, indicam a sua coordenação ao metal.

Figura 48 – Espectros vibracionais no IV do 4CNPY (a) e do composto *trans*-[PdCl₂(4cnpy)₂] (**18**), em b.

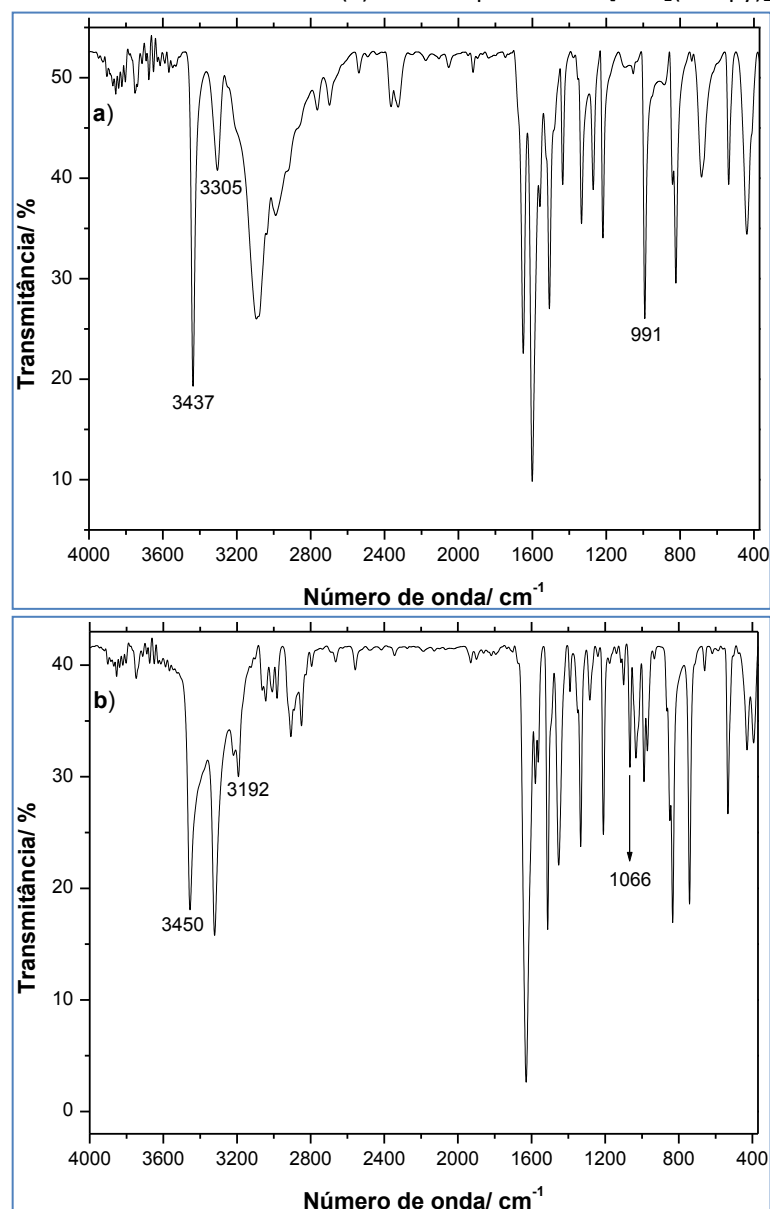


Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Pode-se notar que o modo ϕ do anel teve um deslocamento considerável para número de onda mais elevado ($\Delta = +73 \text{ cm}^{-1}$), indicando a coordenação do ligante 4CNPY via N-piridínico. Por outro lado, o grupo nitrila não apresentou alteração em sua banda situada em 2242 cm^{-1} .

Tratando-se do composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**), figura 49b, a mudança significativa e perceptível no espectro também ocorre no modo ϕ do anel piridínico, que se desloca 75 cm^{-1} para número de onda mais elevado em relação ao ligante 4AMPY (figura 49a). Devido a isso, sugere-se a coordenação do ligante nitrogenado via anel heteroaromático.

Figura 49 – Espectros vibracionais no IV do 4AMPY (a) e do composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**), em b.

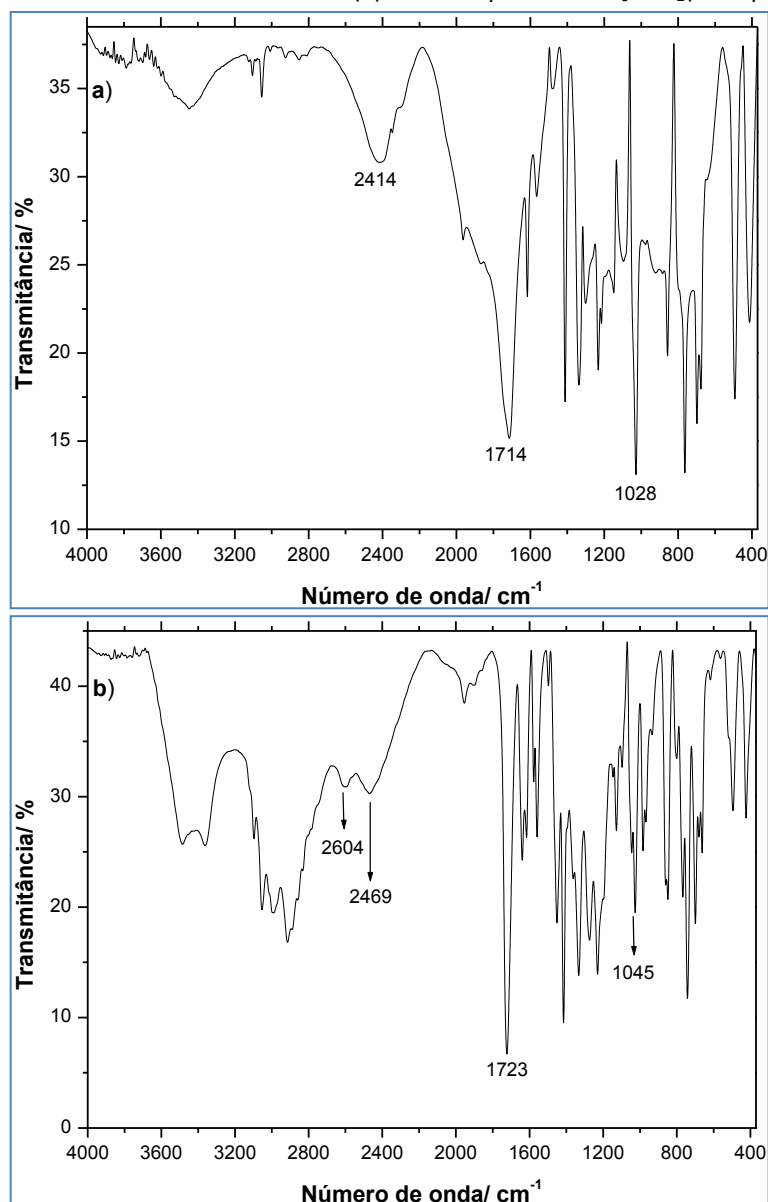


Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Para o ligante 4ACIDPY, no espectro da figura 50a, notam-se bandas muito alargadas, principalmente aquelas envolvendo os modos vibracionais do grupo ácido carboxílico. Uma banda que aparece muito deslocada para baixa energia é o estiramento O–H, centrado em 2414 cm^{-1} . Certamente tal fato se deve aos arranjos supramoleculares envolvendo moléculas de 4ACIDPY em ligações de hidrogênio muito fortes do tipo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$.

Tratando-se do composto *trans*-[PdCl₂(4acidpy)₂] (**20**), também notam-se bandas alargadas decorrentes de ligações de hidrogênio, porém, mais atenuadas em relação ao ligante livre. No espectro da figura 50b observa-se que a banda envolvendo o estiramento O–H se desdobra, situando-se em 2604 e 2469 cm^{-1} .

Figura 50 – Espectros vibracionais no IV do 4ACIDPY (a) e do composto *trans*-[PdCl₂(4acidpy)₂] (**20**), em b.

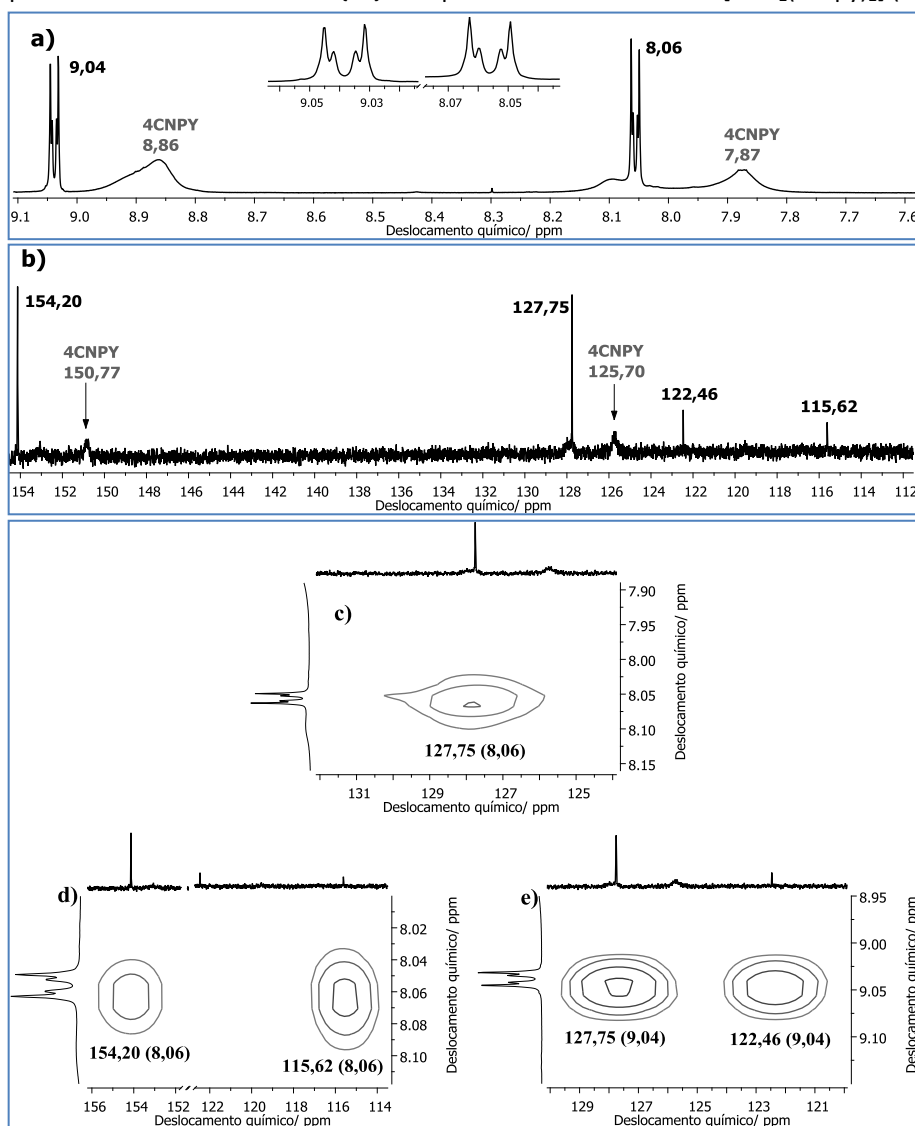


Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Quanto ao modo $\nu\text{C}=\text{O}$, atribuído à banda em 1723 cm^{-1} para o composto **20** (figura 50b), o aumento de 9 cm^{-1} em comparação ao 4ACIDPY livre não pode ser considerado um deslocamento significativo para a coordenação, já que houve um estreitamento considerável da banda, comparada à mesma no ligante livre. Atribui-se, por fim, a coordenação do ligante nitrogenado via N-piridiníco, já que o modo ϕ apresentou um deslocamento significativo para maior frequência vibracional ($\Delta = +17\text{ cm}^{-1}$ para **20**).

Análises de RMN foram feitas para os compostos dessa série 4. Na figura 51 são ilustrados os espectros do composto *trans*-[PdCl₂(4cnpy)₂] (**18**).

Figura 51 – Espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e mapas de contorno do *trans*-[PdCl₂(4cnpy)₂] (**18**).

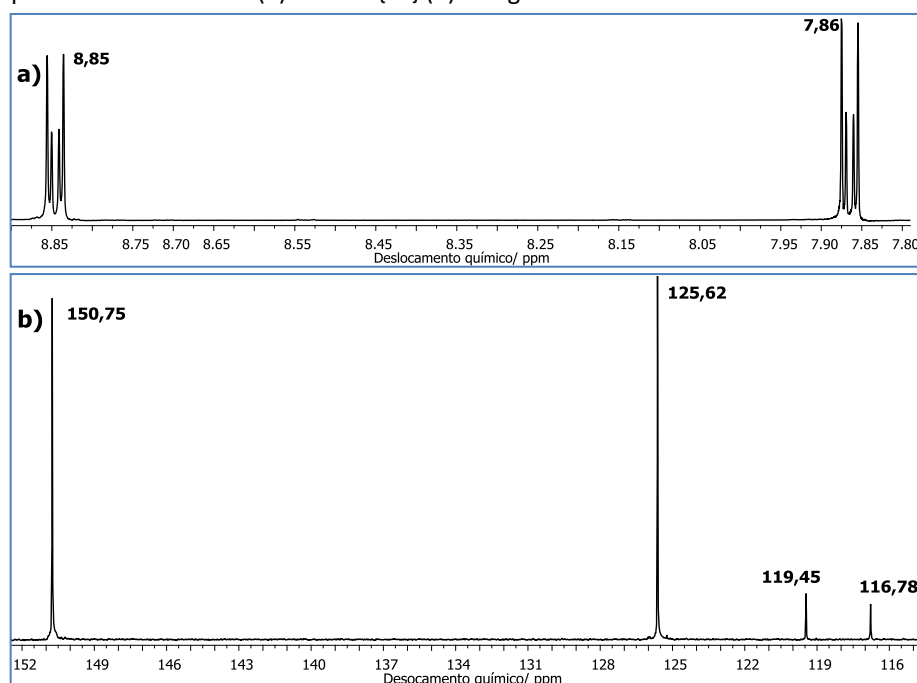


Experimentos obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Espectro de ^1H (a) e destaque para a multiplicidade dos sinais em 9,04 e em 8,06 ppm e para os sinais do ligante livre. Espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) com destaque aos sinais do ligante livre. Mapas de contorno gHMQC (c) e gHMBC (d e e). [Figura elaborada pelo autor.](#)

No espectro de ^1H (figura 51a), notam-se dois conjuntos de sinais. O primeiro em 9,04 ppm (duplo duplete, $^{\text{orto}}J = 6,5 \text{ Hz}$ / $^{\text{meta}}J = 3,5 \text{ Hz}$ / $^{\text{para}}J = 1,5 \text{ Hz}$) e em 8,06 ppm (duplo duplete, $^{\text{orto}}J = 7,0 \text{ Hz}$ / $^{\text{meta}}J = 4,0 \text{ Hz}$ / $^{\text{para}}J = 1,5 \text{ Hz}$), referentes aos $\text{H}^{2,6}$ e $\text{H}^{3,5}$, respectivamente do composto formado. O segundo conjunto de sinais alargados em 8,86 e 7,87 ppm, indica a presença do ligante livre em solução. A presença do ligante livre também é notada no espectro de ^{13}C (figura 51b), com sinais em 150,77 e 125,70 ppm. Os espectros de ^1H e ^{13}C do ligante 4CNPY são apresentados na figura 52.

Pelas correlações ^1H – ^{13}C da figura 51c-e, é possível atribuir precisamente todos os sinais de carbono: 154,20 ppm ($\text{C}^{2,6}$), 127,75 ppm ($\text{C}^{3,5}$), 122,46 (C^4) e 115,62 (CN).

Figura 52 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante 4CNPY.

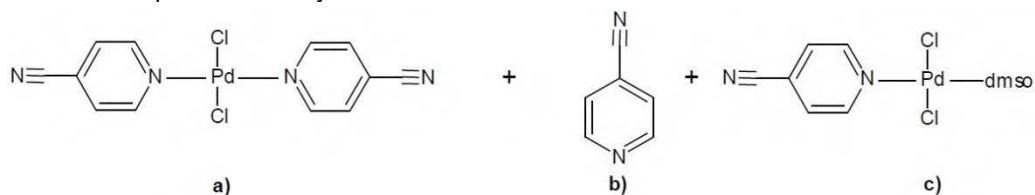


Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. *Figura elaborada pelo autor.*

Com a presença do ligante 4CNPY livre em solução, espera-se a ocorrência da coordenação do solvente DMSO. Consequentemente, outro conjunto de sinais do ligante piridínico coordenado concomitantemente com o DMSO seria esperado. No espectro de ^1H (figura 51a), em aproximadamente 8,1 ppm, há um sinal pouco intenso e alargado, suportando essa proposta. O outro sinal poderia estar próximo e englobado pelo sinal alargado do ligante livre. Na região espectral das metilas não se observa o sinal referente à coordenação do DMSO, possivelmente pela concentração proporcionalmente muito menor em solução dessa espécie 4cnpy–Pd–dmso, em relação à espécie *trans*-[PdCl₂(4cnpy)₂].

Sendo assim, em solução, sugere-se o conjunto de espécies mostrado pela figura 53.

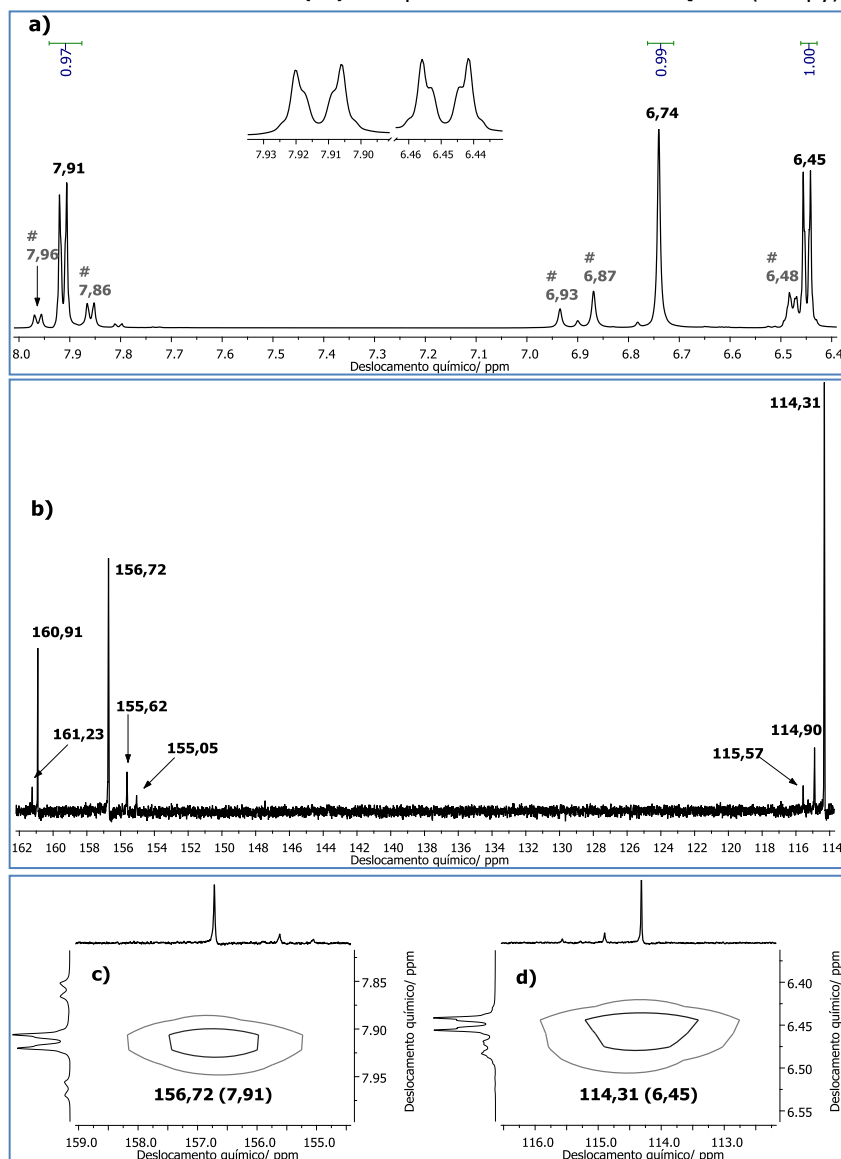
Figura 53 – Estrutura molecular proposta para o composto *trans*-[PdCl₂(4cnpy)₂] (**18**) e representação das outras espécies em solução.



A espécie **a**, majoritária em solução, corresponde à mesma do estado sólido já as outras espécies em solução correspondem ao 4CNPY livre (**b**) e a espécie molecular contendo DMSO coordenado ao Pd(II), em **c**. [Figura elaborada pelo autor](#).

Na figura 54 se encontram os espectros do composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**).

Figura 54 – Espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e mapas de contorno do *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**).



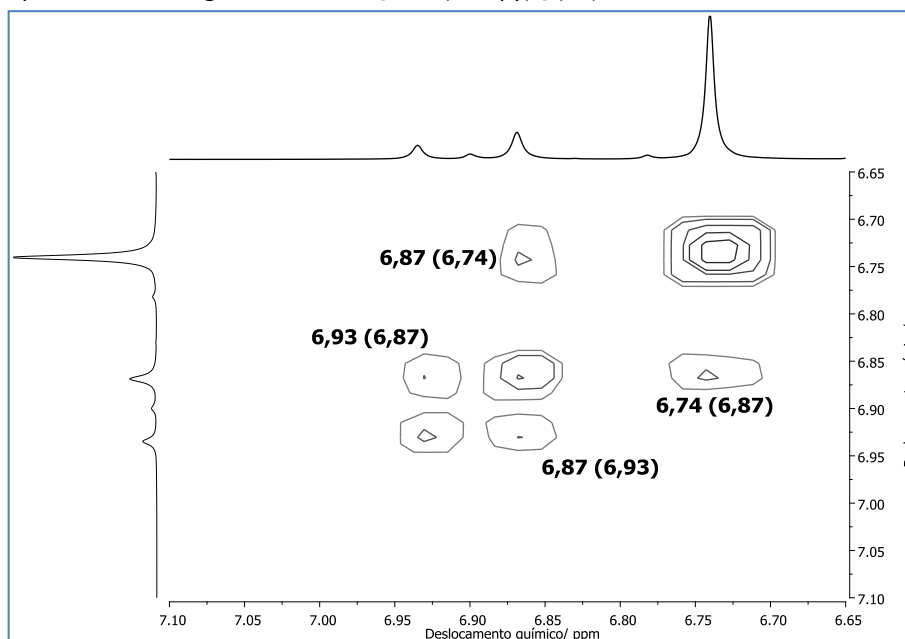
Experimentos obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Espectro de ^1H (a) e destaque para a multiplicidade dos sinais em 7,91 e em 6,45 ppm e para as integrações dos sinais mais intensos, tidos como os principais. Espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) e mapas de contorno gHMQC (c e d). *Figura elaborada pelo autor.*

No espectro de ^1H (figura 54a), além dos sinais mais intensos (espécie principal), nota-se mais de um conjunto de sinais (#), indicando a possibilidade de outras espécies em solução.

A integração dos picos do conjunto de sinais mais intensos nos mostra uma relação muito próxima de 1:1:1 ($\text{H}^{2,6}:\text{H}^{3,5}:\text{NH}_2$) com sinais em 7,91 e 6,45 ppm (duplo dupletos, $^{ortho}J=7,0\text{ Hz}$ / $^{meta}J=4,0\text{ Hz}$ / $^{para}J=1,5\text{ Hz}$), referentes aos $\text{H}^{2,6}$ e $\text{H}^{3,5}$, e um sinal em 6,74 ppm (simpleto, NH_2). A correlação gHMQC (figura 54c-d) indica que os sinais de ^{13}C em 156,72 e em 114,31 ppm são, respectivamente, dos $\text{C}^{2,6}$ e $\text{C}^{3,5}$.

O experimento gHMBC não contribuiu com outras informações além das que foram mencionadas, por isso os mapas de contorno não são apresentados. No entanto, o experimento gCOSY (figura 55) indica várias correlações dos sinais de NH entre 6,93 e 6,74 ppm.

Figura 55 – Mapas de contorno gCOSY do *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**).

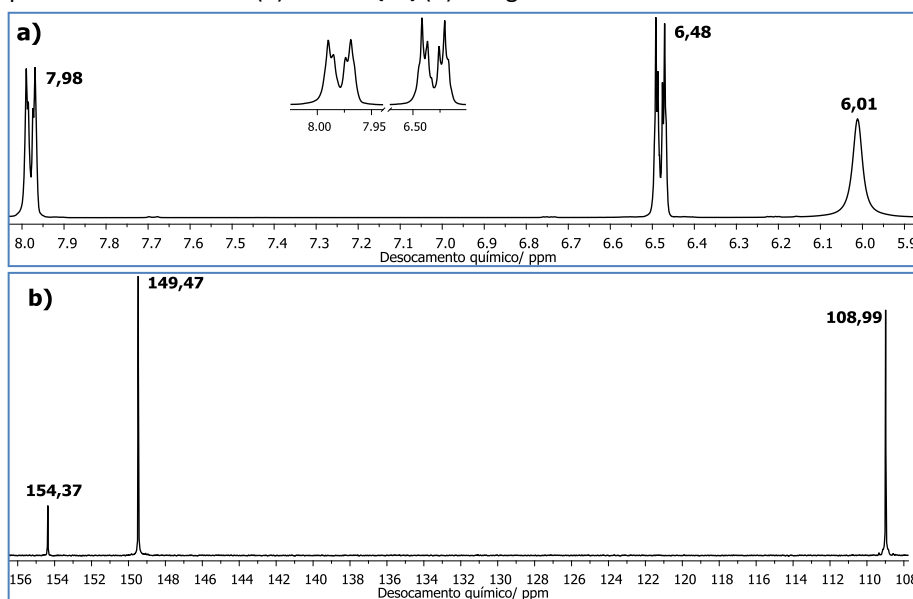


Mapas obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Figura elaborada pelo autor.

Com essas correlações entre os sinais de NH, descarta-se a possível presença do ligante livre em solução. Ademais, para o ligante livre, seria esperado um sinal de NH em 6,01 ppm e os sinais de ^{13}C em 154,37; 149,47 e 108,99 ppm. A figura 56 ilustra os espectros de RMN do 4AMPY livre.

Geralmente o par de elétrons não ligados do NH_2 gera um efeito mesomérico no sistema aromático, ou seja, esses elétrons migram para a porção aromática do sistema e participam da deslocalização eletrônica junto aos elétrons π (BALCI, 2005, p. 289), como representado pela figura 57.

Figura 56 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante 4AMPY.



Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Em destaque as multiplicidades dos sinais em 7,98 e 6,48 ppm (a). *Figura elaborada pelo autor.*

Figura 57 – Representação do efeito mesomérico na 4-aminopiridina.

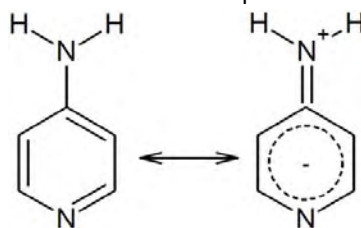


Figura elaborada pelo autor.

Além disso, o equilíbrio em solução explicaria os demais sinais de ^{13}C presentes no espectro da figura 54b e os três sinais de NH (figura 54a) – o mais intenso (6,74 ppm) para a espécie C–NH₂ e os outros dois sinais (6,93 e 6,87 ppm) para a espécie C=NH₂.

Portanto, diante das caracterizações no estado sólido (análise elementar e IV) e em solução (RMN), sugere-se que a estrutura do composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**) seja aquela da figura 58.

Figura 58 – Estrutura molecular proposta para o composto *trans*-[PdCl₂(4ampy)₂] (**19**).

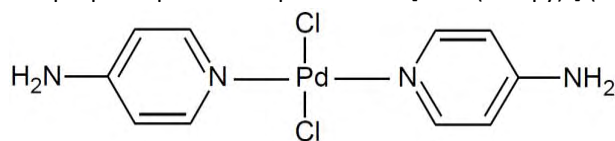
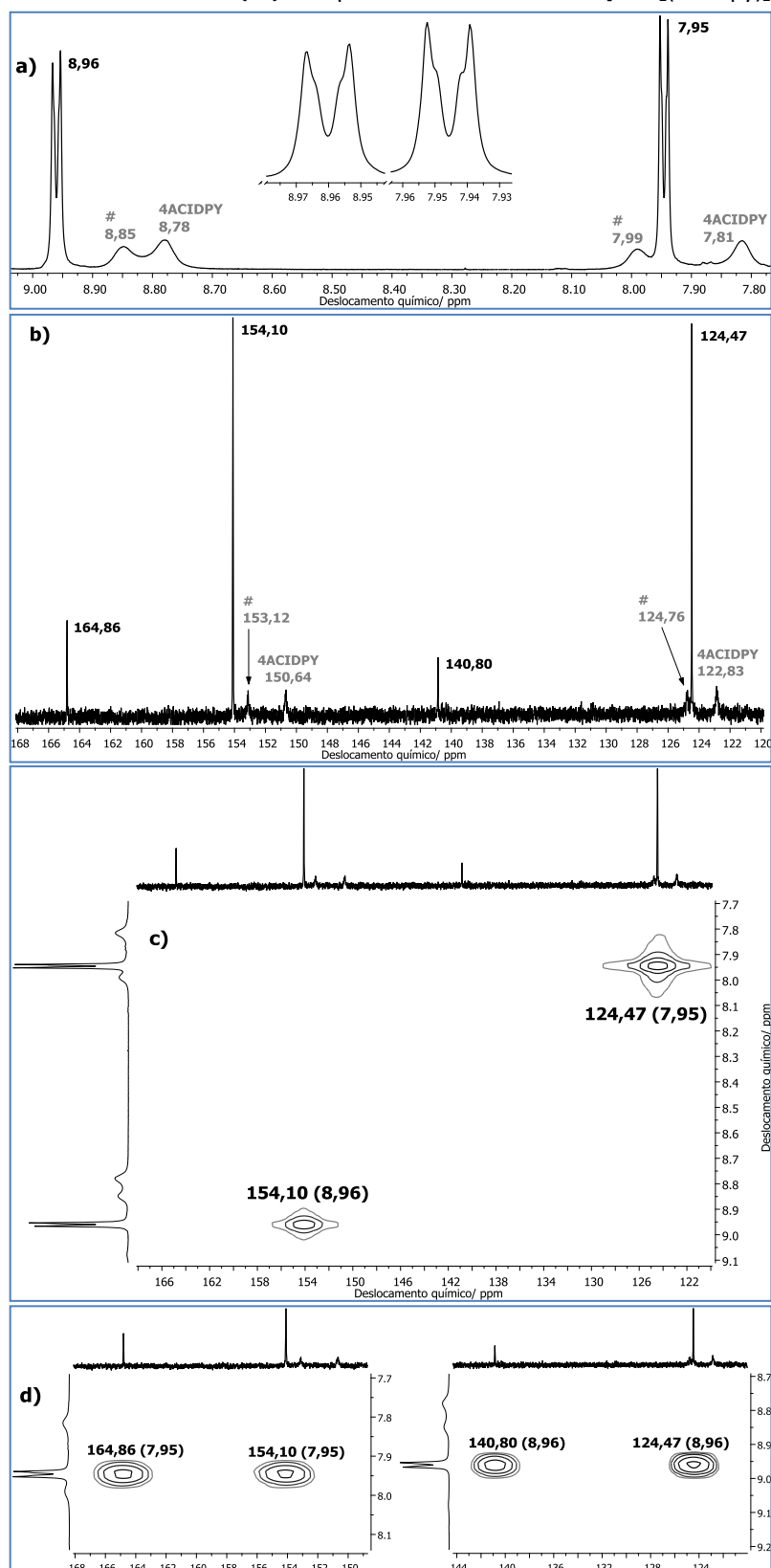


Figura elaborada pelo autor.

Para o composto *trans*-[PdCl₂(4acidpy)₂] (**20**), seus espectros de RMN estão na figura 59.

Figura 59 – Espectros de RMN ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e mapas de contorno do *trans*-[PdCl₂(4acidpy)₂] (20).



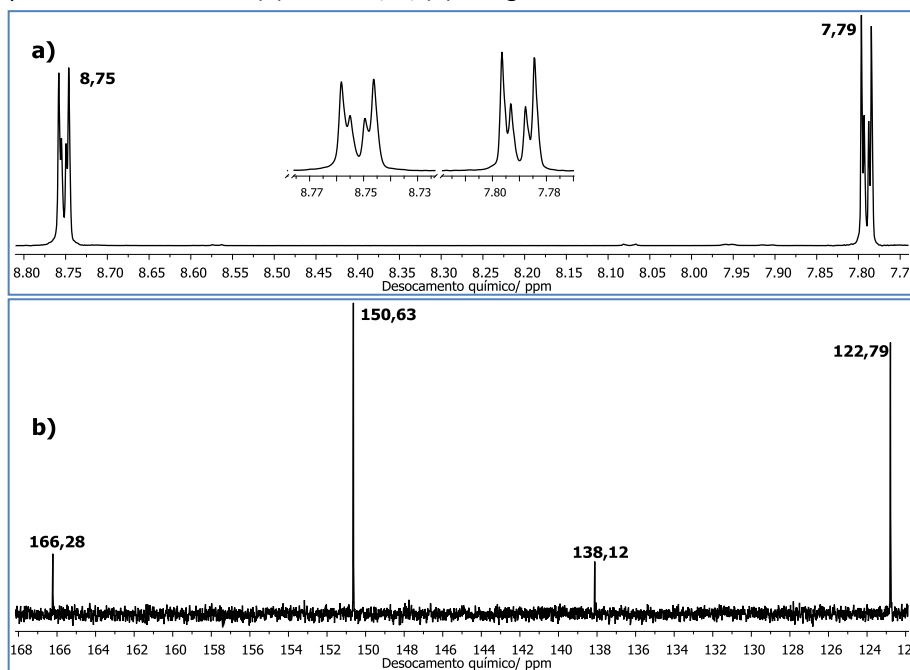
Experimentos obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Espectro de ^1H e destaque para a multiplicidade dos sinais em 8,96 e 7,95 ppm (a); espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b); mapas de contorno gHMQC (c) e ampliações dos mapas de contorno gHMBC (d), destacando as regiões espectrais com as correlações envolvendo os sinais de C=O e C⁴ do composto. *Figura elaborada pelo autor.*

No espectro de ^1H (figura 59a), notam-se três conjuntos de sinais. O primeiro conjunto, com picos mais intensos, com sinais em 8,96 e 7,95 ppm (duplo dupletos, $^{\text{orto}}J = 6,0$ Hz/ $^{\text{meta}}J = 3,0$ Hz/ $^{\text{para}}J = 1,5$ Hz), referentes aos $\text{H}^{2,6}$ e $\text{H}^{3,5}$.

Pelas correlações diretas $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, via experimento gHMQC (figura 59c), notam-se que os sinais de ^{13}C associados aos sinais de ^1H anteriormente mencionados são 154,10 ppm ($\text{C}^{2,6}$) e 124,47 ppm ($\text{C}^{3,5}$). Pelos mapas de contorno gHMBC (figura 59d) são observadas as correlações envolvendo o C^4 (140,80 ppm) e o $\text{C}=\text{O}$ (164,86 ppm).

É possível observar os sinais alargados de ^1H em 8,78 e 7,81 ppm (figura 59a), além de sinais de ^{13}C , ambos referentes ao ligante 4ACIDPY livre, em 150,64 e em 122,83 ppm (figura 59b). Os espectros de ^1H e ^{13}C do ligante 4ACIDPY são apresentados na figura 60.

Figura 60 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante 4ACIDPY.

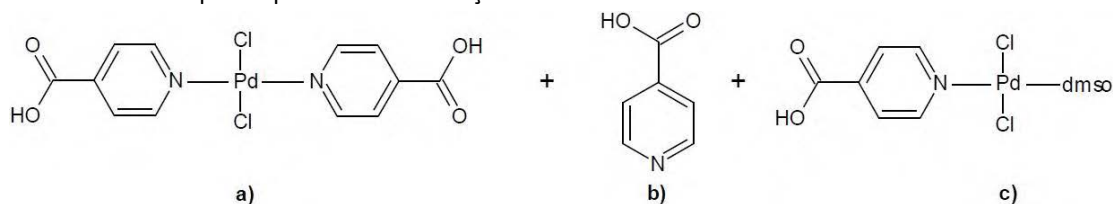


Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Destaque para a multiplicidade dos sinais em 8,75 e 7,79 ppm (a). *Figura elaborada pelo autor.*

Há um terceiro conjunto de sinais alargados no espectro de RMN de ^1H em 8,85 e 7,99 ppm, correspondendo à espécie contendo um ligante 4ACIDPY coordenado ao $\text{Pd}(\text{II})$, que concomitantemente estaria ligado a uma molécula de DMSO. No espectro de ^{13}C (figura 59b), os sinais referentes a esta espécie estariam situados em 153,12 e 124,76 ppm, correspondendo aos $\text{C}^{2,6}$ e $\text{C}^{3,5}$ respectivamente.

Diante do exposto há, em solução, as seguintes espécies apresentadas pela figura 61.

Figura 61 – Estrutura molecular proposta para o composto *trans*-[PdCl₂(4acidpy)₂] (**20**) e representação das demais espécies presentes em solução.



A espécie **a**, majoritária em solução, corresponde à mesma do estado sólido enquanto as outras espécies em solução corresponderiam ao 4ACIDPY livre (**b**) e a espécie molecular contendo DMSO coordenado ao Pd(II) (**c**). *Figura elaborada pelo autor.*

4.8 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DA SÉRIE 5: [Pd(dmba)Cl(L)]; L= 4CNPY (**21**), 4AMPY (**22**), 4ACIDPY (**23**) e [{Pd(dmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (**24**); TIOISN= tioisonicotinamida

Dando continuidade à ideia de se estender as preparações e, posteriormente, as investigações biológicas de compostos contendo outros derivados piridínicos, empregou-se nesta série os ligantes 4CNPY, 4AMPY, 4ACIDPY e tioisonicotinamida (TIOISN) para se obter espécies ciclopaladadas contendo esses ligantes.

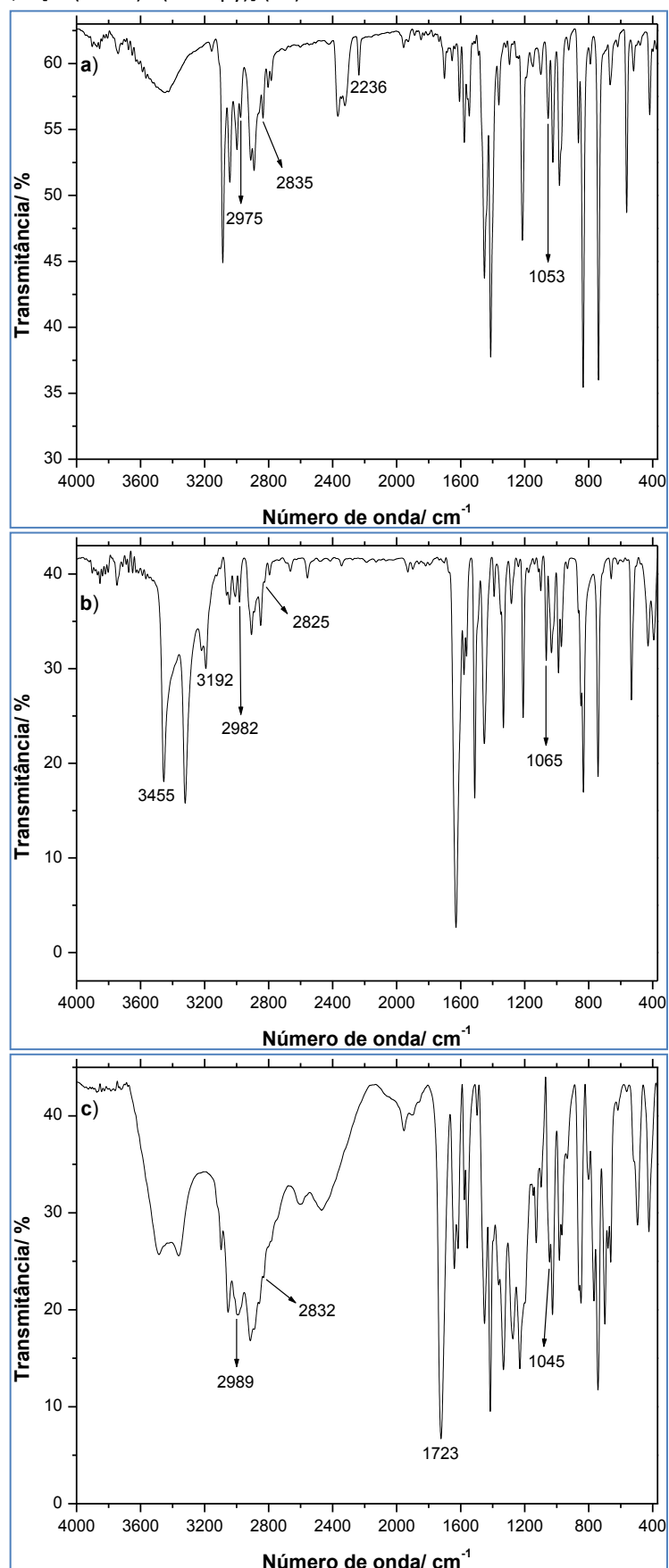
Os espectros no IV dos compostos [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (**21**), [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (**22**) e [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (**23**) acham-se na figura 62.

Modos vibracionais característicos do ligante DMBA envolvendo os grupos CH₃ e CH₂, tais como ν_{as} e ν_s, são sensíveis à presença de outros ligantes compondo a esfera de coordenação do Pd(II). Os espectros exibem bandas atribuídas aos modos ν_{as}CH₃ que se deslocam de 65 a 79 cm⁻¹ para números de onda maiores com a coordenação dos ligantes piridínicos, em relação ao precursor [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (**12**), cujo modo ν_{as}CH₃ apresenta banda em 2910 cm⁻¹.

A ruptura das ligações em ponte formadas pelos ligantes cloro e a coordenação dos derivados piridínicos alteram a densidade eletrônica sobre o paládio. Consequentemente, isso afeta as energias vibracionais envolvendo os grupos diretamente ligados ao N_{DMBA} – metilas – incorrendo em deslocamentos das frequências vibracionais.

Outro modo afetado pela clivagem do precursor binuclear **12** e a consequente coordenação do ligante piridínico é o ν_{as}CH₂ que apresenta valor centrado em 2885 cm⁻¹ para **12** (vide figura 36, página 82). Nos compostos **21**, **22** e **23**, a coordenação dos respectivos ligantes resulta num decréscimo dos números de onda do modo ν_{as}CH₂ em 50, 60 e 53 cm⁻¹, respectivamente, em relação ao precursor [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂ (**12**).

Figura 62 – Espectros vibracionais no IV dos compostos [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (**21**), em a, [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (**22**), em b, e [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (**23**) em c.



Espectros obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

Quanto aos derivados piridínicos, o modo ϕ é o mais sensível para indicar coordenações via N-heterociclo. Na figura 62 é possível notar um deslocamento significativo para números de onda mais elevados em relação aos ligantes livres. Em **21**, houve um aumento de 63 cm^{-1} quando comparado ao ligante 4CNPY livre (vide figura 48a, página 94); em **22**, o modo ϕ deslocou-se 74 cm^{-1} (991 cm^{-1} para 4AMPY livre, vide figura 49a, página 95); e para o composto **23**, cujo modo ϕ apresenta banda em 1045 cm^{-1} , houve um deslocamento de $+17\text{ cm}^{-1}$ em relação ao ligante 4ACIDPY livre (vide figura 50a, página 96).

Além disso, quanto aos grupos *para*-substituintes dessas piridinas, não houve deslocamento considerável em relação aos ligantes não coordenados, fato que atesta a coordenação dos ligantes nitrogenados para os compostos **21** a **23** apenas via N-piridínico.

Para $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4cnpy})]$ (**21**), monocristais incolores adequados para a difração de raios X foram obtidos com a recristalização, em temperatura ambiente, do composto em acetona. A estrutura resolvida é ilustrada pela figura 63 e os dados cristalográficos e de refinamentos seguem na tabela 1 do APÊNDICE.

Figura 63 – Estrutura molecular do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4cnpy})]$ (**21**), resolvida por difração de raios X de monocristal.

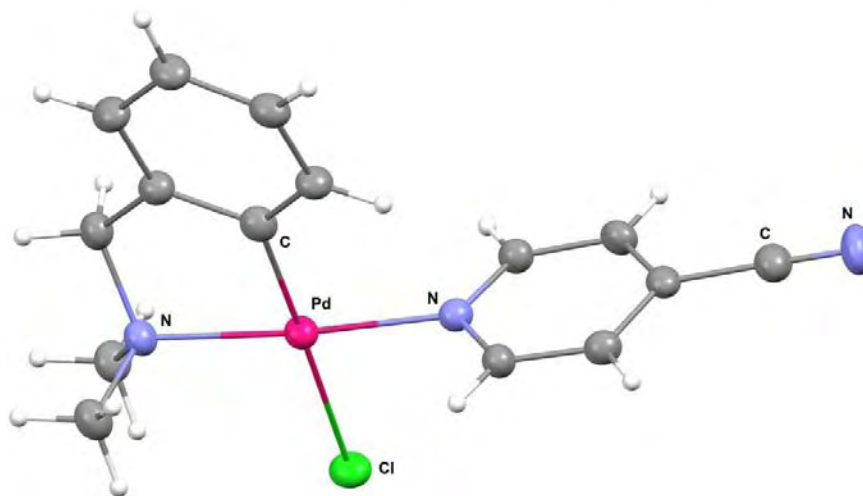


Figura elaborada pelo autor.

A tabela 6 traz as principais distâncias interatômicas e ângulos de ligação.

Os ângulos envolvidos nas ligações $\text{C}_{\text{dmmba}}\text{-Pd-N}_{4\text{cnpy}}$ ($92,4^\circ$), $\text{C}_{\text{dmmba}}\text{-Pd-Cl}$ ($178,1^\circ$) e $\text{N}_{4\text{cnpy}}\text{-Pd-Cl}$ ($88,4^\circ$) apontam um poliedro de coordenação ao redor do Pd(II) com geometria quadrática-planar. Uma maior distorção dessa geometria recai sobre os ângulos envolvendo o átomo de nitrogênio do ligante DMBA coordenado, a citar $\text{C}_{\text{dmmba}}\text{-Pd-N}_{\text{dmmba}}$ ($82,7^\circ$), $\text{N}_{4\text{cnpy}}\text{-Pd-N}_{\text{dmmba}}$ ($174,8^\circ$) e $\text{N}_{\text{dmmba}}\text{-Pd-Cl}$ ($96,6^\circ$). Supostamente isso ocorre devido a maior flexibilidade envolvendo a ligação $\text{H}_2\text{C-N}(\text{CH}_3)_2$, do anel ciclopaladado, fato que conferiria

uma estrutura tipo “envelope” como a mais estável para esse anel de cinco membros, conforme discutido para a figura 43 (página 88).

Tabela 6 – Principais distâncias de ligação (Å) e ângulos (°) para o composto [Pd(dmmba)Cl(4CNpy)] (**21**).

Pd–C _{dmmba}	1,979(8)
Pd–N _{4cnpy}	2,035(8)
Pd–N _{dmmba}	2,088(7)
Pd–Cl	2,416(2)
C _{dmmba} –Pd–N _{4cnpy}	92,4(3)
C _{dmmba} –Pd–N _{dmmba}	82,7(4)
N _{4cnpy} –Pd–N _{dmmba}	174,8(3)
C _{dmmba} –Pd–Cl	178,1(3)
N _{4cnpy} –Pd–Cl	88,40(19)
N _{dmmba} –Pd–Cl	96,6(2)

Tabela elaborada pelo autor.

As distâncias de ligação Pd–C_{dmmba} (1,98 Å), Pd–N_{dmmba} (2,09 Å) e Pd–Cl (2,42 Å) são praticamente idênticas às mesmas ligações que ocorrem no composto [Pd(dmmba)Cl(py)] (LU; NEVEROV; BROWN, 2005), respectivamente 1,99; 2,08 e 2,43 Å. Em relação à ligação Pd–N_{4cnpy} (2,03 Å), nenhuma influência do grupo nitrila na posição quatro do anel ocorreu sobre essa distância, pois a ligação análoga no composto [Pd(dmmba)Cl(py)] é aproximadamente igual (2,04 Å).

O átomo de nitrogênio da DMBA se dispõe *trans* ao nitrogênio do ligante 4CNPY e a ligação envolvendo Pd–C_{dmmba} é muito menor se comparada à ligação Pd–Cl.

Outro ponto relevante da estrutura elucidada é a sua natureza supramolecular. A figura 64 ilustra as interações dessa natureza existentes.

Nota-se, na estrutura supramolecular da figura 64, uma disposição unidimensional entre os metilenos e as nitrilas de moléculas adjacentes, cujas distâncias C–H···N são de 2,60 (H···N) e de 3,52 Å (C···N), com ângulo C–H···N de 133,2 °. Com esse ângulo, a topologia se assemelha a um “zig-zag” ao longo da cadeia unidimensional, sendo formada pelo grupo nitrila que atua como aceitador da densidade eletrônica proveniente do hidrogênio metilênico de caráter ácido. Interações intramoleculares do tipo C–H···N, envolvendo azida e o ligante DMBA no [Pd(dmmba)(μ-N₃)]₂, foram relatadas no trabalho de Almeida et al. (2007). As interações também se dispõem de modo angular, ocorrendo entre C–H e os nitrogênios 2 e 3 da azida – N1 é o átomo ligado em ponte de modo *end-on* a dois paládios –, sendo o ângulo C–H···N2 exatamente igual ao encontrado em **21**, na estrutura da figura 64 (133,2 °).

Além disso, as interações se estendem de forma bidimensional, promovendo um empilhamento das camadas moleculares unidimensionais via C–H···π, envolvendo átomos de

hidrogênio do 4CNPY e anel aromático do DMBA. No caso, as distâncias médias são de 2,79 ($\text{H}\cdots\pi$) e de 3,64 Å ($\text{C}\cdots\pi$). Essas interações se mostram muito importantes para o arranjo supramolecular, visto que as distâncias são tão próximas quanto àquelas das interações $\text{C}-\text{H}\cdots\text{N}$. Em comparação com a literatura (SANTANA; et al., 2011), as interações $\text{C}-\text{H}\cdots\pi$ no composto **21** são mais fortes que as interações de mesma natureza presentes no $[\text{Pd}(\text{bzán})(\mu\text{-N}_3)]_2$, entre $\text{C}-\text{H}_{\text{iminico}}\cdots\pi$, pois as distâncias são relativamente maiores nesse último composto: 3,09 ($\text{H}_{\text{iminico}}\cdots\pi$) e 3,75 Å ($\text{C}_{\text{iminico}}\cdots\pi$).

Figura 64 – Arranjo supramolecular do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4cnpy})]$ (**21**).

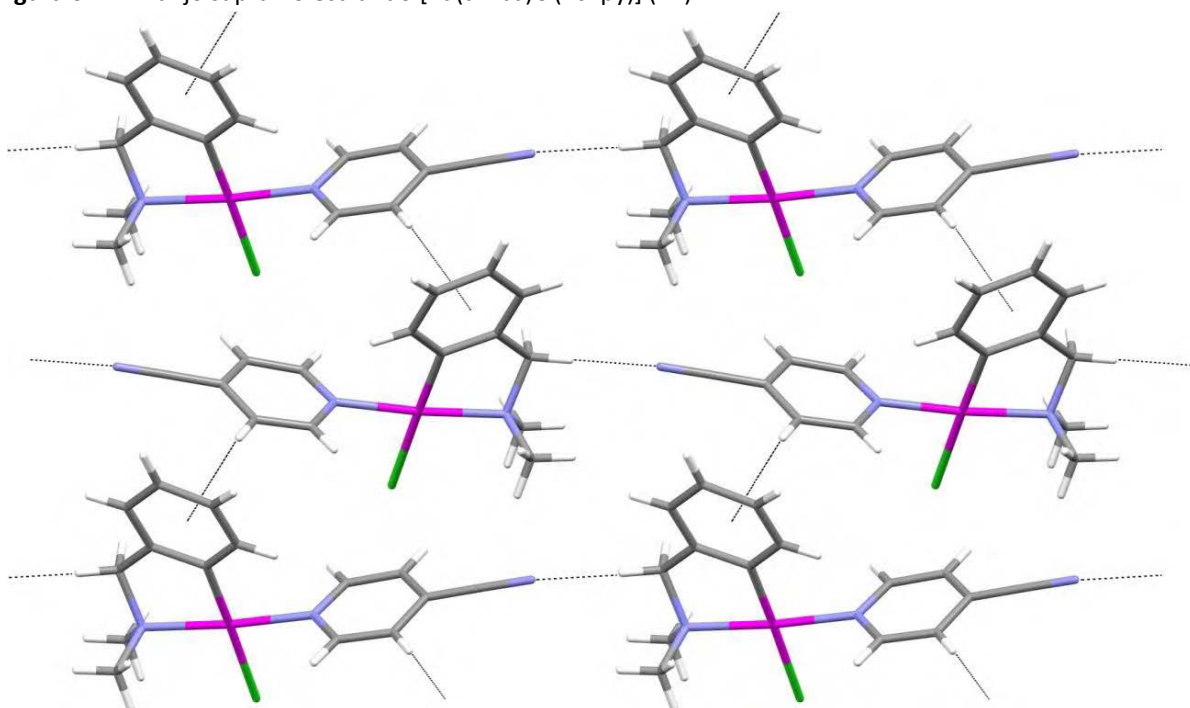


Figura elaborada pelo autor.

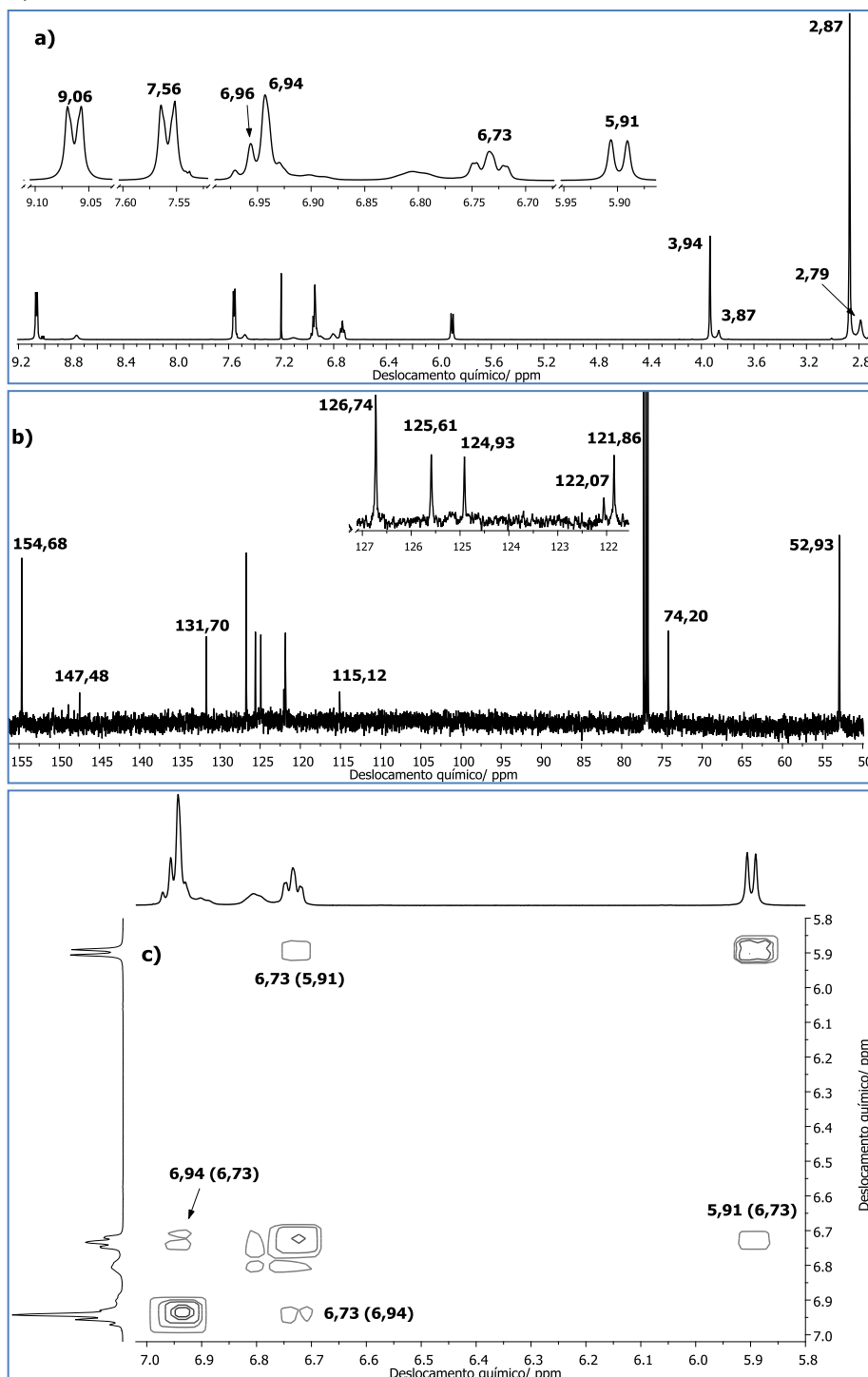
No que se refere às análises de RMN, os espectros de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e os mapas de contorno gCOSY do composto **21** são apresentados na figura 65.

Os sinais em 9,06 ppm (duplete aparente, $J = 6,5$ Hz) e em 7,56 ppm (duplete aparente, $J = 6,0$ Hz) referem-se aos $\text{H}^{2,6}$ e $\text{H}^{3,5}$, respectivamente, do ligante 4CNPY coordenado ao Pd(II). Um indício da coordenação do ligante é o deslocamento para campo baixo, em relação ao ligante livre (vide figura 52a, página 98), do sinal dos $\text{H}^{2,6}$.

A duplicação dos sinais do grupo metileno (simpletos, 3,94 e 3,87 ppm) e das metilas (simpletos, 2,87 e 2,79 ppm), se deve aos conformeros interconversíveis do anel ciclopaladado (vide figura 43, página 88), discutidos no caso do composto **15** – um análogo do composto **21**, contendo isonicotinamida no lugar do ligante 4-cianopiridina. Todavia, essas

espécies interconversíveis não afetam o espectro de ^{13}C (figura 65b), que só apresenta os sinais em 74,20 ppm ($-\text{CH}_2-$) e 52,93 ppm ($-\text{CH}_3$).

Figura 65 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) e mapas de contorno gCOSY (c) do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4cnpy})]$ (21).



Experimentos obtidos em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C. Destaque para as ampliações espectrais entre 9,20 e 5,87 ppm (a) e entre 127,00 a 121,50 ppm (c). As correlações gCOSY apresentadas compreendem apenas a região entre 7,20 a 5,80 ppm. *Figura elaborada pelo autor.*

Os sinais associados a prótons aromáticos situam-se entre 6,96 e 6,73 ppm (multipletos). Justamente pela influência exercida pela ligação $C_{\text{dmba}}-\text{Pd}$ e por influência anisotrópica do 4CNPY *cis* ao C_{dmba} , o H^3 do fragmento DMBA, em 5,91 ppm (duplete, $J=7,5$ Hz) se torna o próton magneticamente mais protegido, enquanto os demais, seguindo a ordem numérica da figura 40 (página 85), são gradativamente mais desprotegidos ao se distanciarem da ligação $C_{\text{dmba}}-\text{Pd}$.

De particular importância foi o experimento gCOSY, por possibilitar inferir grande parte dos sinais de ^1H na região aromática entre 6,96 a 5,91 ppm. Como ilustra a figura 65c, há uma correlação entre os sinais 5,91 ppm (H^3) e 6,73 ppm (H^4). Por sua vez, o sinal em 6,73 ppm se correlaciona com o sinal em 6,94 ppm, atribuído ao H^5 .

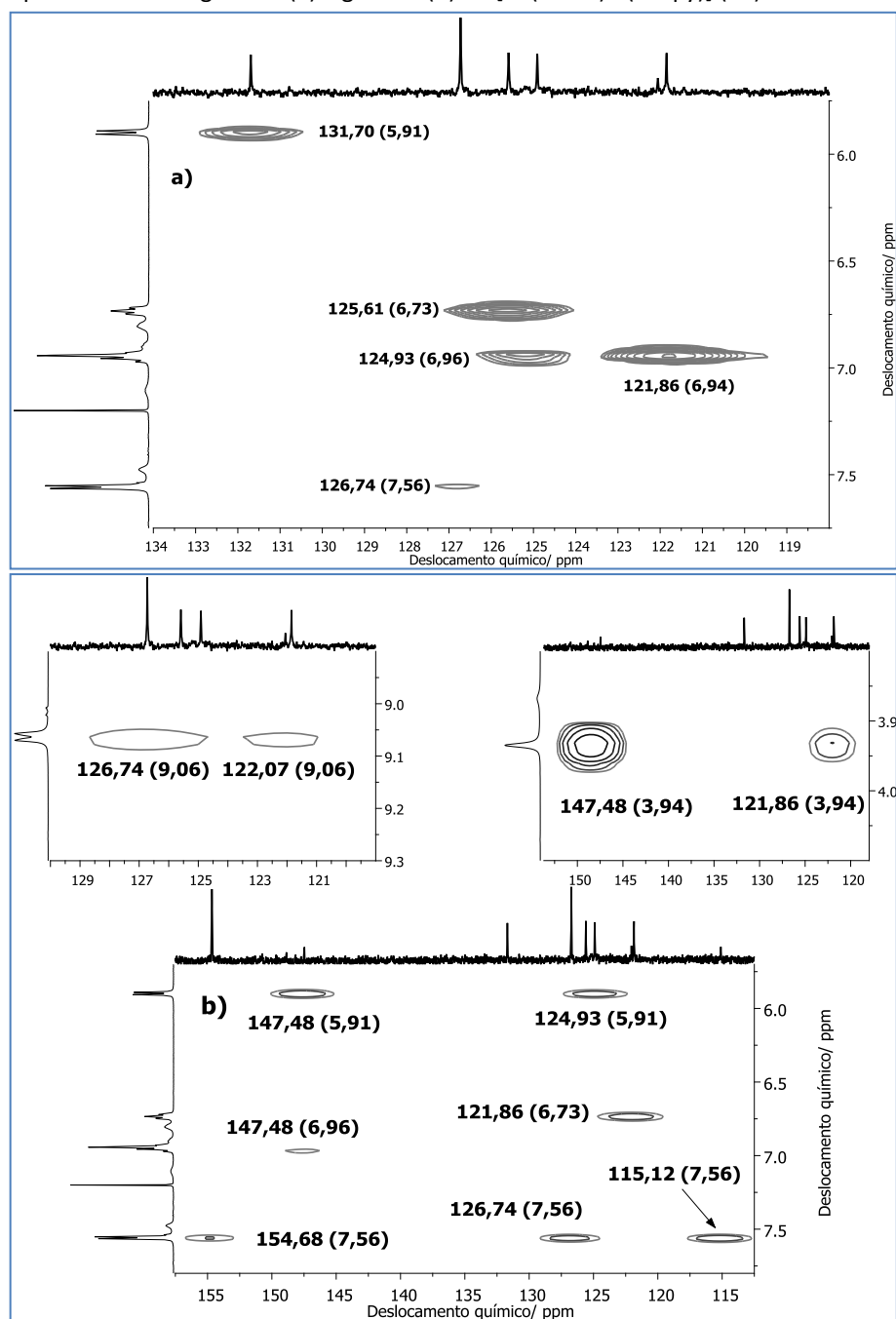
No espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **21** (figura 65b), o sinal em 154,68 ppm se refere aos $C^{2,6}$ e está deslocado para campo mais baixo, em comparação ao 4CNPY livre, por conta da coordenação do *N*-piridínico ao Pd(II). O sinal em 147,48 ppm é correspondente ao $C_{\text{dmba}}-\text{Pd}$ e o sinal em 115,12 ppm está associado ao grupo $-\text{CN}$ da piridina.

Para se certificar da correta atribuição desses sinais de ^{13}C , bem como assinalar com precisão os demais sinais, recorreu-se aos experimentos gHMQC e gHMBC, cujos mapas de contorno seguem na figura 66. Na figura 66a, notam-se as correlações diretas entre os prótons do DMBA e seus respectivos carbonos. Assim, tem-se a seguinte atribuição para os sinais, em ppm: 5,91/131,70 (H^3/C^3), 6,73/125,61 (H^4/C^4), 6,94/121,86 (H^5/C^5) e 6,96/124,93 (H^6/C^6). Além disso, o sinal em 7,56 ppm ($H^{3,5}_{4\text{cnpy}}$) está correlacionado diretamente ao sinal de ^{13}C em 126,74 ppm ($C^{3,5}_{4\text{cnpy}}$).

As correlações dos prótons do fragmento DMBA coordenado em 3,94 ppm ($-\text{CH}_2-$), 5,91 ppm (H^3) e 6,96 ppm (H^5) com o sinal de ^{13}C em 147,48 ppm, segundo o experimento gHMBC (figura 66b), indicam que este é o carbono ligado ao paládio.

De acordo com as análises em solução por RMN, conclui-se que a estrutura do composto **21** é mantida em solução, sendo igual àquela determinada por DRX de monocristal (figura 63).

Figura 66 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21).

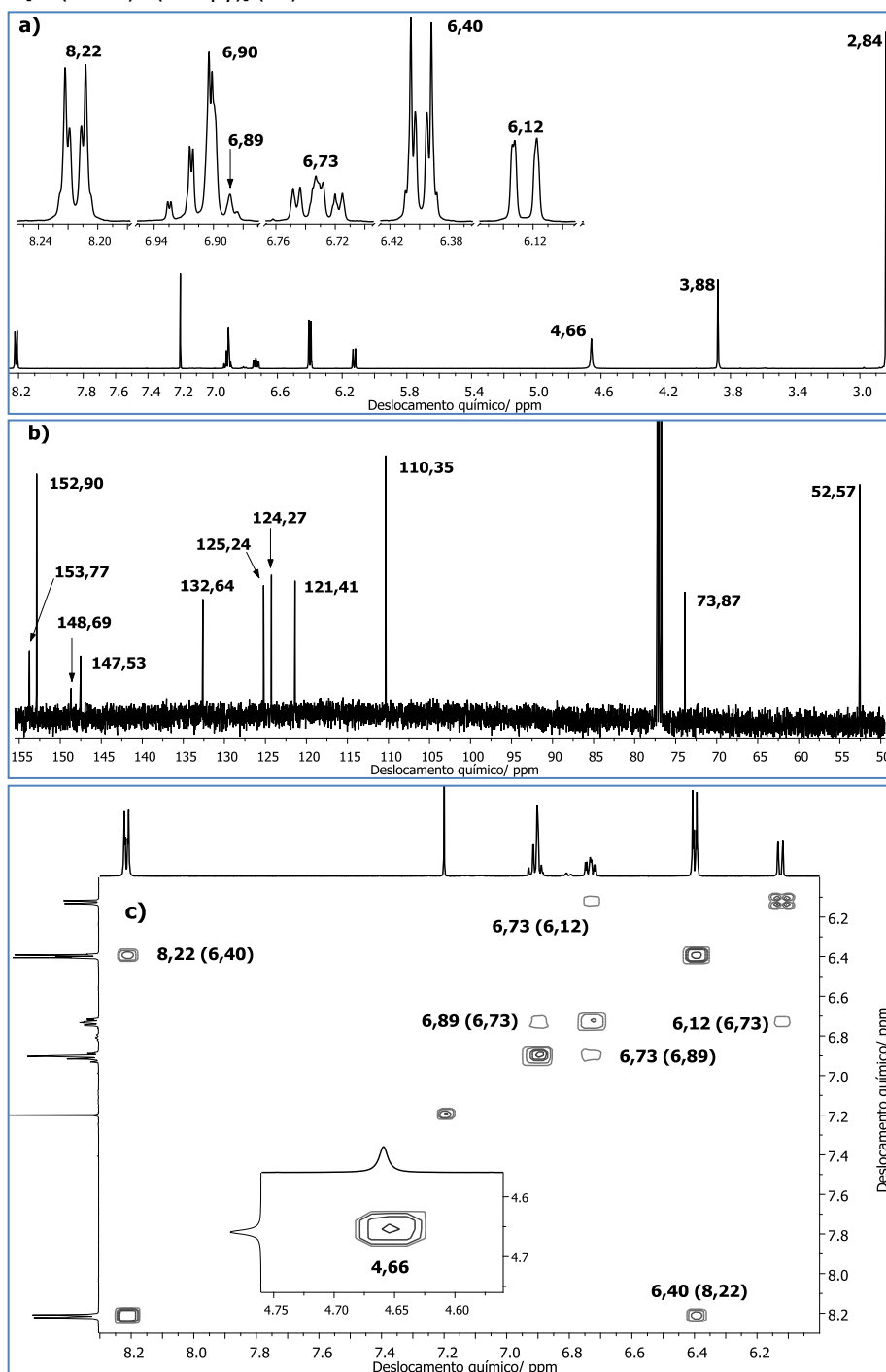


Mapas obtidos em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C. Destaque para as ampliações entre 130 e 119 ppm, e entre 158 e 119 ppm, nos mapas gHMBC (b). *Figura elaborada pelo autor.*

Quanto ao composto [Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22), os espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e os mapas de contorno gCOSY são apresentados na figura 67.

No espectro de RMN de ^1H , destaca-se na figura 67a dois sinais duplo dupletos em 8,22 e 6,40 ppm ($^{\text{orto}}J = 7,0 \text{ Hz}$ / $^{\text{orto}}J = 4,0 \text{ Hz}$ / $^{\text{orto}}J = 1,5 \text{ Hz}$), referentes aos $\text{H}^{2,6}$ e $\text{H}^{3,5}$ do ligante 4AMPY coordenado. Entre 6,90 e 6,73 ppm (multipletos) e em 6,12 ppm ($J = 7,5 \text{ Hz}$), encontram-se os sinais da DMBA coordenada.

Figura 67 – Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (b) e mapas de contorno gCOSY (c) do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4ampy})]$ (**22**).



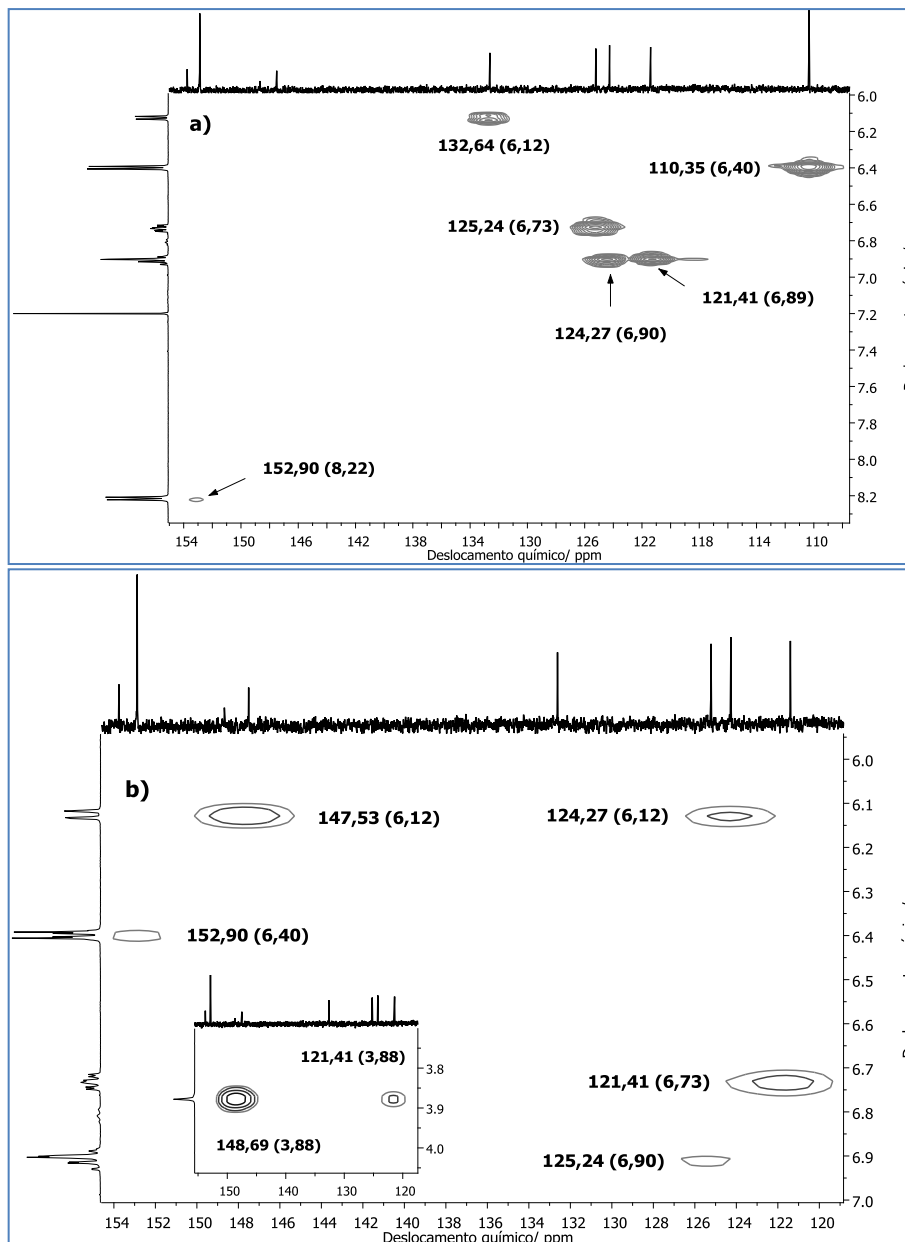
Experimentos obtidos em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C. Em destaque (*in set*), ampliação espectral entre 4,76 e 4,56 ppm, nos mapas gCOSY. *Figura elaborada pelo autor.*

Considerando o sinal em 6,12 ppm do H^3_{dmba} , as correlações gCOSY presentes na figura 67c indicam a seguinte atribuição aos demais prótons da DMBA coordenada, em ppm: 6,73 (H^4), 6,89 (H^5) e 6,90 (H^6). Ainda na figura 67c, o mapa de contorno em destaque indica apenas as correlações entre o próprio sinal em 4,66 ppm, sugerindo sua atribuição ao grupo NH_2 .

No espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, figura 67b, observam-se os sinais em 73,87 ($-\text{CH}_2-$) e 52,57 ppm ($-\text{CH}_3$) e todos os demais sinais esperados para um composto análogo ao **21**, figura 63, só que neste caso, contendo 4AMPY ligada ao Pd(II) no lugar de 4CNPY.

Para uma atribuição consistente dos sinais de ^{13}C , os experimentos de correlação gHMQC e gHMBC, apresentados na figura 68, foram de elevada importância.

Figura 68 – Mapas de contorno gHMQC (a) e gHMBC (b) do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4ampy})]$ (**22**).



Mapas obtidos em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C. Ampliação da região espectral dos sinais de ^1H e de ^{13}C aromáticos para o gHMQC (a). Nos mapas gHMBC (b), destaque para a ampliação (*in set*) dos contornos correlacionando o ^1H metilênico com os ^{13}C aromáticos. *Figura elaborada pelo autor.*

Com as correlações gHMQC (figura 68a), todos os sinais de ^{13}C aromáticos ligados a hidrogênio puderam ser atribuídos (em ppm): 152,90 ($\text{C}^{2,6}_{4\text{ampy}}$), 132,64 (C^3_{dmba}), 125,24 (C^4_{dmba}), 124,27 (C^6_{dmba}), 121,41 (C^5_{dmba}) e 110,35 ($\text{C}^{3,5}_{4\text{ampy}}$).

Pela análise do experimento gHMBC, há um forte indício de que o C^1_{dmba} seja aquele com sinal em 148,69 ppm, principalmente pela correlação com o sinal em 3,88 ppm ($-\text{CH}_2-$), em destaque na figura 68b. Consequentemente, o C^2_{dmba} , ligado diretamente ao Pd(II), é atribuído ao sinal em 147,53 ppm. O sinal em 153,77 ppm não aparece nas correlações, mas seria atribuído ao ($\text{C}^4_{4\text{ampy}}$), pois o par de elétrons no NH_2 propicia um efeito mesomérico ao sistema aromático. Nos compostos aromáticos, as blindagens magnéticas são determinadas principalmente pelos efeitos mesoméricos dos substituintes ligados ao anel (FRIEBOLIN, 2005, p. 56). O substituinte amino da 4-aminopiridina corrobora com a desblindagem do C^4 , promovendo uma alteração de densidade eletrônica sobre esse carbono e, consequentemente, uma mudança do seu deslocamento químico (BALCI, 2005, p. 289), fato que justifica o elevado deslocamento químico deste carbono quaternário.

Dessa maneira, por analogia ao composto **21** que teve sua estrutura determinada por DRX de monocristal e com todas as considerações espectroscópicas, sugere-se que a estrutura do composto **22** seja aquela da figura 69.

Figura 69 – Estrutura proposta para o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(4\text{ampy})]$ (**22**).

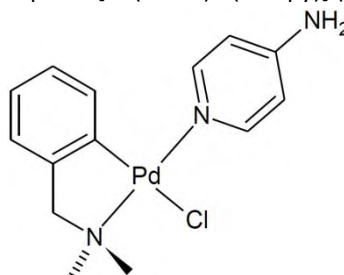


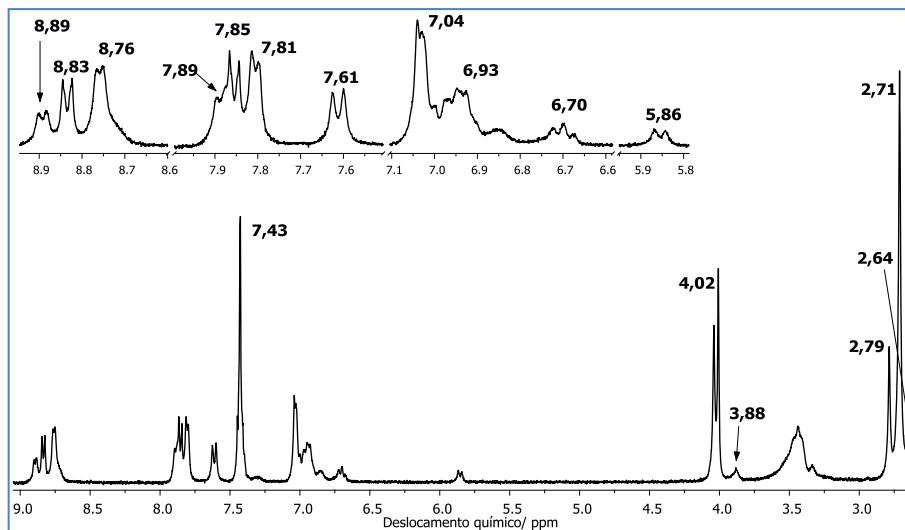
Figura elaborada pelo autor.

Para o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(4\text{acidpy})]$ (**23**), o espectro de RMN de ^1H é apresentado na figura 70.

O sinal observado em 5,86 ppm (duplete, $J = 7,8$ Hz) deixa evidente a presença da espécie $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(4\text{acidpy})]$, em solução, em que o ligante 4ACIDPY se coordena de modo *cis* ao C-metalado, assim como foi considerado para os análogos **21** e **22** desta série. Por outro lado, outras espécies secundárias também estão presentes. Examinando a região espectral entre 4,1 e 2,6 ppm, notam-se dois sinais referentes ao grupo metileno em 4,02 ppm ($J^{\text{geminal}} = 9,6$ Hz) e em 3,88 ppm (simpleto). Além disso, para as metilas aparecem os sinais em

2,79; 2,71 e 2,64 ppm (simpletos). Certamente, por conta dos prótons diastereotópicos do grupo CH₂, que apresentam um sinal em 4,02 ppm, tem-se também uma não equivalência das metilas e, portanto, os dois sinais em 2,79 e 2,71 ppm são atribuídos à espécie majoritária em solução. Uma espécie ciclopaladada secundária tem associada a ela os sinais em 3,88 ppm (CH₂) e 2,64 ppm (CH₃).

Figura 70 – Espectro de RMN de ¹H do [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (**23**).



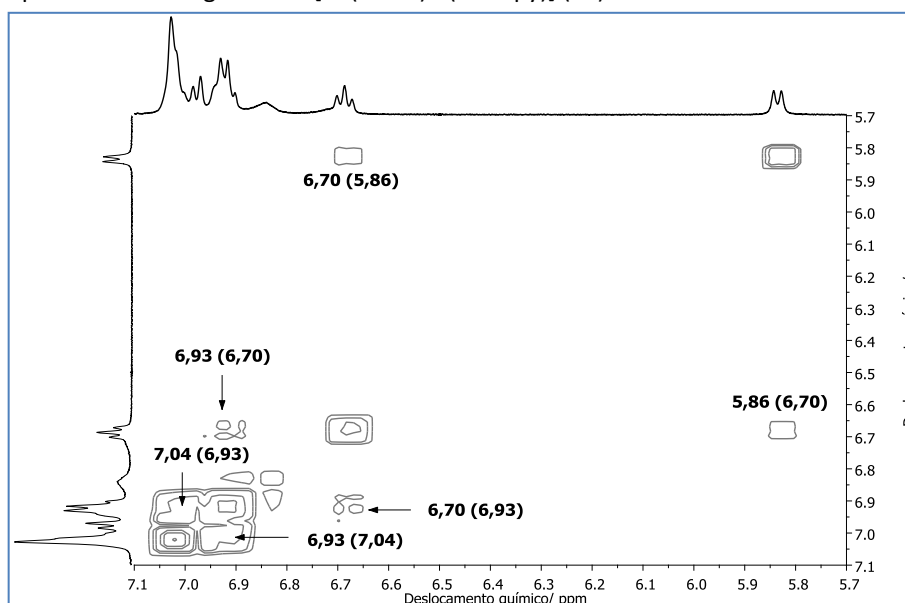
Espectro obtido em *d*₆-DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Ampliação da região espectral entre 8,95 e 5,80 ppm. *Figura elaborada pelo autor.*

Na região dos aromáticos notam-se três conjuntos de sinais para o ligante piridínico. Para H^{2,6}: 8,89 ppm (duplete aparente, *J* = 4,8 Hz), 8,83 ppm (duplete aparente, *J* = 6,3 Hz) e 8,76 ppm (duplete aparente, *J* = 3,3 Hz). Para H^{3,5}: 7,89 ppm (duplete aparente, *J* = 5,7 Hz), 7,85 ppm (duplete aparente, *J* = 6,6 Hz) e 7,81 ppm (duplete aparente, *J* = 5,1 Hz).

Os sinais em 8,76 ppm (H^{2,6}) e em 7,81 ppm (H^{3,5}) correspondem ao ligante 4ACIDPY livre em solução e os outros dois sinais, para cada conjunto dos prótons do ligante piridínico, parecem se relacionar à apenas uma espécie – aquela contendo o 4ACIDPY coordenado –, levando-se em consideração os indícios apresentados pelos sinais dos grupos metileno e metila.

Considerando o sinal em 5,86 ppm do H³_{dmba}, as correlações gCOSY presentes na figura 71 indicam a seguinte atribuição aos demais prótons da DMBA coordenada para a espécie principal em solução, [Pd(dmba)Cl(4acidpy)], multipletos: 6,70 ppm (H⁴), 6,93 ppm (H⁵) e 7,04 ppm (H⁶).

Figura 71 – Mapas de contorno gCOSY do [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (**23**).



Mapas obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Ampliação da região espectral entre 7,1 e 5,7 ppm. *Figura elaborada pelo autor.*

Devido à baixa solubilidade do composto, não se conseguiu um espectro de ^{13}C que apresentasse todos os sinais da amostra, por isso ele não é apresentado.

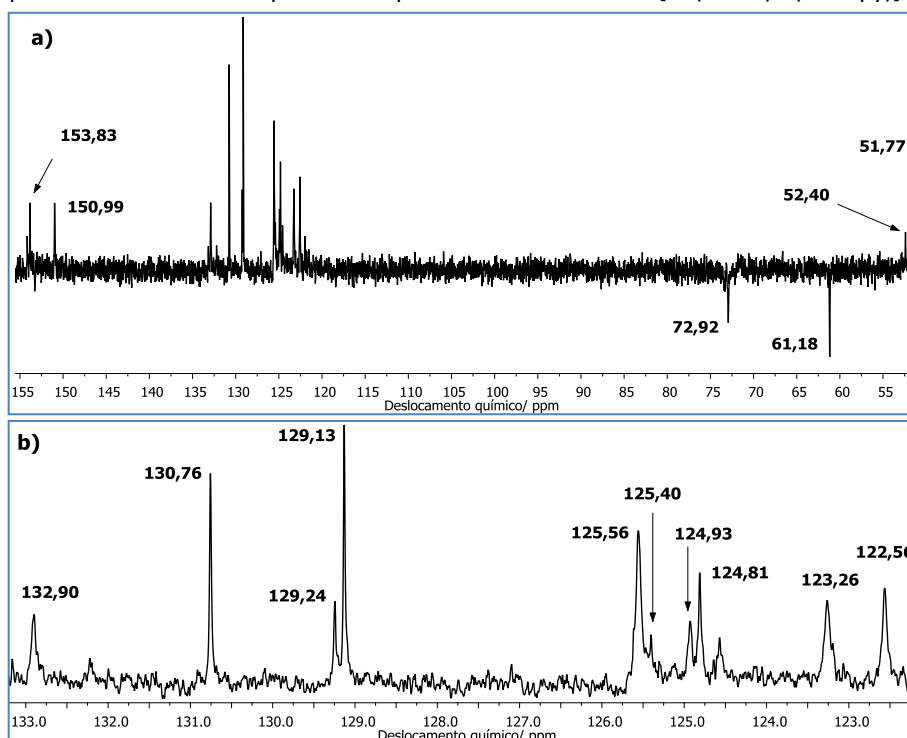
Por outro lado, o experimento DEPT 135 coleta os dados a partir da multiplicidade envolvendo carbono e hidrogênio e não diretamente dos núcleos de ^{13}C – com abundância isotópica de 1,1%. Assim, os mesmos sinais para CH, CH₂ e CH₃, presentes em um espectro convencional de carbono-13, são obtidos com esse experimento, porém em tempo muito menor. O experimento não se aplica aos carbonos quaternários (mas estes também não foram notados no espectro de ^{13}C convencional da amostra). Desse modo, o espectro de ^{13}C a partir do DEPT 135 é ilustrado na figura 72.

Os experimentos de correlação gHMQC e gHMBC não contribuíram para a atribuição dos sinais, por isso não são apresentados.

A partir da figura 72a percebe-se a presença de dois sinais associados ao CH₂, em 72,92 ppm (espécie ciclopaladada secundária) e em 61,18 ppm (espécie principal). Para o grupo CH₃, os sinais da espécie secundária e principal aparecem, respectivamente, em 52,40 e 51,77 ppm. Observa-se ainda (figura 72a) que os sinais dos C^{2,6} em 153,83 e 150,99 ppm estão associados ao 4ACIDPY coordenado e livre, respectivamente.

Pressupondo-se a existência de outra espécie ciclopaladada em solução, além da espécie principal [Pd(dmba)Cl(4acidpy)] e do ligante 4ACIDPY não coordenado, preve-se, sem contabilizar os sinais dos carbonos quaternários, exatamente 16 sinais, em acordo o número de sinais do espectro da figura 72a.

Figura 72 – Espectro de RMN de ^{13}C a partir do experimento DEPT 135 do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4acidpy})]$ (**23**).



Espectro obtido em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. O experimento diferencia os sinais de CH e CH_3 (numa mesma fase) dos sinais de CH_2 (em fase oposta). Espectro na íntegra (**a**) com ampliação da região entre 133,2 e 122,1 ppm, em **b**. *Figura elaborada pelo autor.*

Considerando as informações das análises de RMN dos compostos anteriores dessa série e notando-se, a partir do experimento de DEPT 135, que há duas espécies ciclopaladadas em solução além do ligante 4ACIDPY livre, é plausível sugerir a presença do precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$ (BLACK; DEACON; EDWARDS, 1994, p. 220), como mencionado para os compostos **16** e **17**. Diante disso, sugere-se a seguinte proposição estrutural para o composto **23** (figura 73).

Figura 73 – Estrutura proposta para o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{4acidpy})]$ (**23**), no estado sólido e em maior proporção em solução.

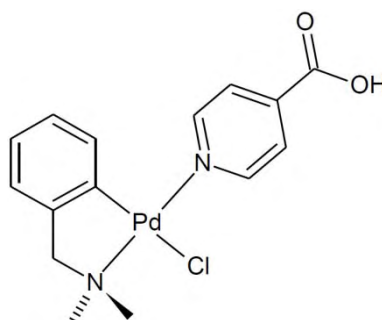
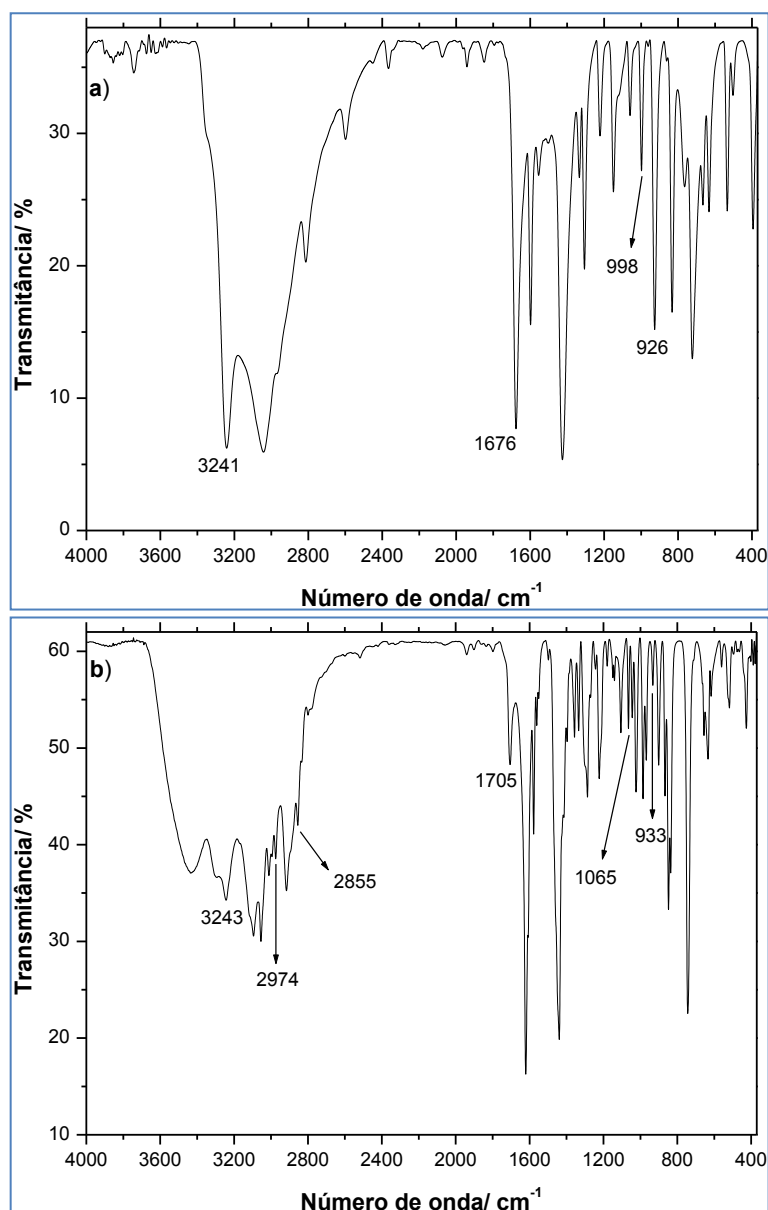


Figura elaborada pelo autor.

Ao contrário dos ciclopaladados discutidos até aqui, o composto $[\{\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**) apresenta, de acordo com a análise elementar, uma estrutura binuclear.

Os espectros no IV do TIOISN e do composto **24** são apresentados na figura 74.

Figura 74 – Espectros vibracionais no IV do ligante TIOISN (**a**) e do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}]_2(\mu\text{-tioisn})\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**), em b.



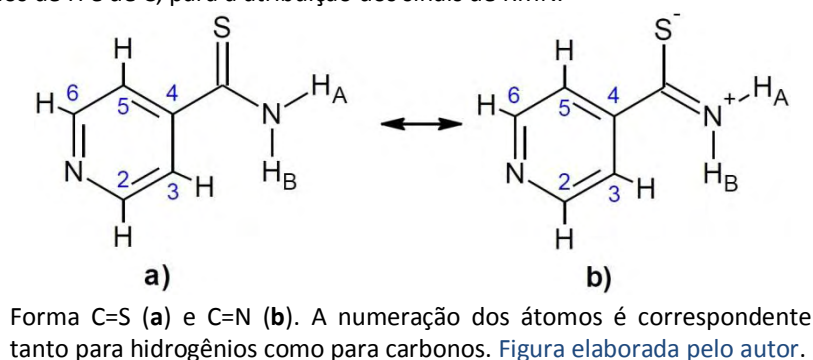
Espectro obtidos em KBr. Figura elaborada pelo autor.

O espectro de **24** exibe uma banda atribuída ao modo $\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ (2974 cm⁻¹) que se desloca 64 cm⁻¹ em relação ao precursor $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ (**12**), 2910 cm⁻¹, para número de onda maior com a coordenação do ligante TIOISN. Outro modo afetado pela clivagem do precursor binuclear **12** e a consequente coordenação do ligante piridínico é o $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$, que apresenta valor centrado em 2885 cm⁻¹ para **12** (vide figura 36, página 82). No composto **24**,

a coordenação resultou num decréscimo da frequência em 30 cm^{-1} em relação ao precursor **12**.

Quanto ao modo ϕ , notou-se um deslocamento significativo de 67 cm^{-1} para frequência mais elevada em relação ao ligante livre (998 cm^{-1}), indicando a coordenação do ligante TIOISN via N-heterociclo ao Pd(II). Além disso, o modo $\nu\text{C}=\text{S}$ apresentou um pequeno deslocamento do ligante livre (926 cm^{-1}) para coordenado (933 cm^{-1}), com uma significativa diminuição da intensidade da banda correspondente, fato indicativo da coordenação Pd-S (MURAOKA; et al., 1997), decorrente do caráter parcial da dupla ligação C=S do grupo tioamida, como ilustrado pela figura 75.

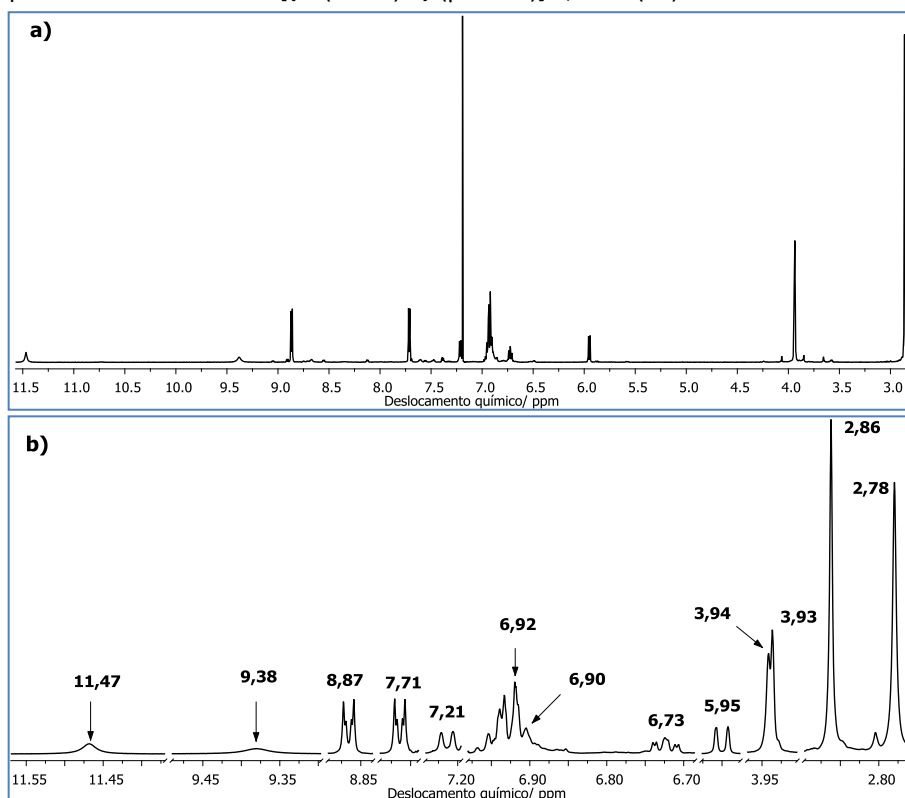
Figura 75 – Formas canônicas de ressonância do grupo tioamida da tioisonicotinamida, e numeração dos átomos de H e de C, para a atribuição dos sinais de RMN.



O espectro de RMN de ^1H do composto **24** é apresentado na figura 76 e nele são observados sinais referentes ao ligante TIOISN coordenado em 11,47 e 9,38 ppm (NH_2 , simpletos), em 8,87 ppm ($\text{H}^{2,6}$, duplo dubleto, $^{\text{orto}}J = 6,5\text{ Hz}$ / $^{\text{meta}}J = 3,5\text{ Hz}$ / $^{\text{para}}J = 1,5\text{ Hz}$) e em 7,71 ppm ($\text{H}^{3,5}$, duplo dubleto, $^{\text{orto}}J = 7,0\text{ Hz}$ / $^{\text{meta}}J = 3,5\text{ Hz}$ / $^{\text{para}}J = 1,5\text{ Hz}$). O sinal observado em 5,95 ppm (dubleto, $J = 7,5\text{ Hz}$), atribuído ao H^3 da DMBA coordenada ao Pd(II), deixa evidente a coordenação e a estereoquímica *cis*, em relação ao C-metalado, do ligante TIOISN, graças ao deslocamento para campo alto deste sinal, devido à blindagem exercida pelo anel piridínico da TIOISN coordenada.

A presença de dois conjuntos de sinais associados aos grupos metileno (3,94 e 3,93 ppm, simpletos) e metila (2,86 e 2,78 ppm, simpletos), por outro lado, são sugestivos da presença da espécie binuclear em solução. Além disso, o sinal em 7,21 ppm (dubleto, $J = 7,5\text{ Hz}$), possivelmente associado ao H^3 de um segundo fragmento DMBA, pode ser indicativo da coordenação Pd-S, já que, com a ocorrência dessa ligação, não haveria o mesmo efeito anisotrópico do anel piridínico sobre esse próton.

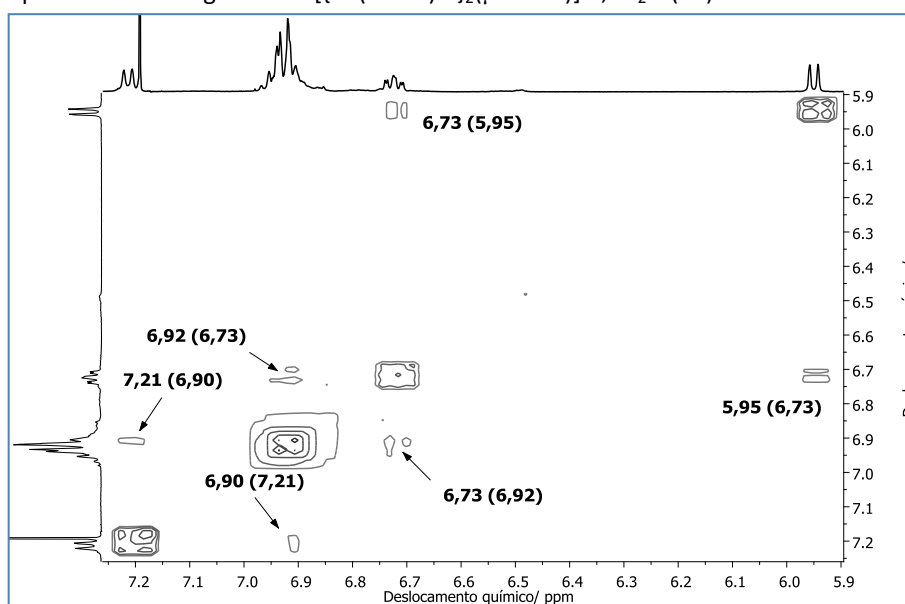
Figura 76 – Espectro de RMN de ^1H do $[\{\text{Pd}(\text{dm}ba)\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**).



Espectro obtido em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C, em **a**. Várias ampliações entre 11,6 e 2,7 ppm (**b**). *Figura elaborada pelo autor.*

Com a finalidade de se entender as correlações envolvendo os sinais situados em 5,95 e em 7,21 ppm, a figura 77 ilustra os mapas de contorno gCOSY.

Figura 77 – Mapas de contorno gCOSY do $[\{\text{Pd}(\text{dm}ba)\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**).



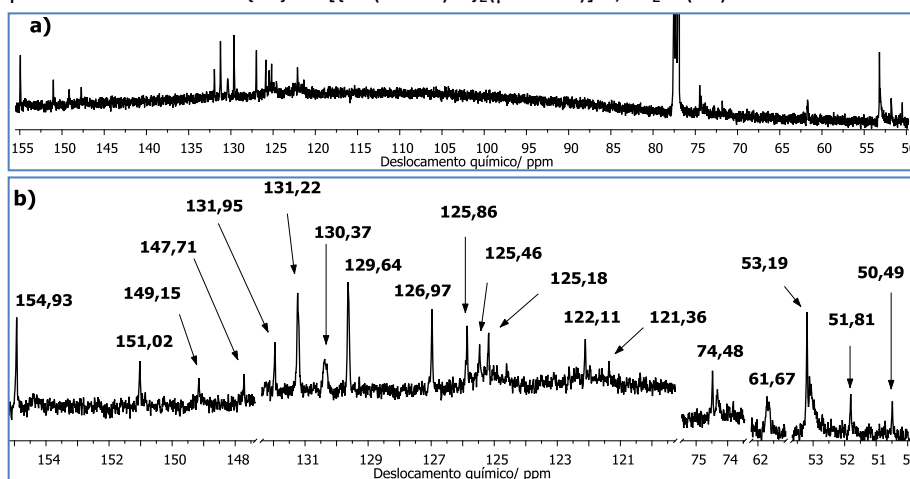
Mapas obtidos em CDCl_3 , a 11,7 T e 28 °C. Ampliação da região espectral entre 7,26 e 5,89 ppm. *Figura elaborada pelo autor.*

O sinal em 5,95 ppm está correlacionado com o sinal em 6,73 ppm (multiplete, H⁴) que, por sua vez, correlaciona-se ao sinal em 6,92 ppm (multiplete, H⁵).

Reforçando a sugestão de que o sinal em 7,21 ppm corresponda ao H³ do fragmento dmba-Pd ligado ao enxofre, nota-se uma correlação desse sinal com 6,90 ppm (multiplete), atribuído ao H⁴ do mesmo fragmento. Outras correlações envolvendo os prótons aromáticos da DMBA não são visíveis, além do que, segundo o espectro de ¹H de **24** (figura 76), fica difícil distinguir esses outros sinais situados, aparentemente, entre 7,0 e 6,9 ppm.

Para dar maior consistência com a proposição binuclear do composto **24**, o espectro de RMN de ¹³C é mostrado na figura 78.

Figura 78 – Espectro de RMN de ¹³C{¹H} do [{Pd(dmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (**24**).

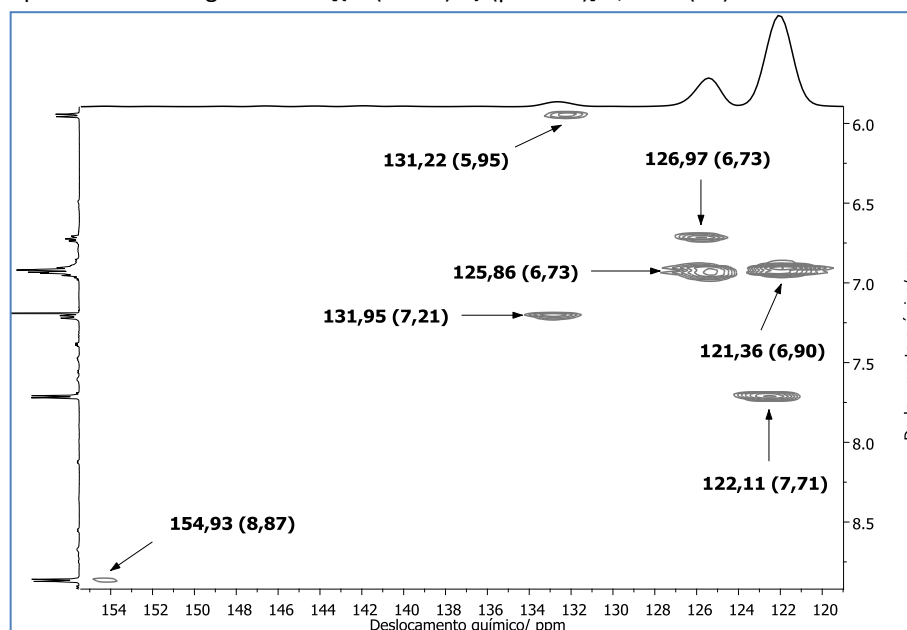


Espectro obtido em CDCl₃, a 11,7 T e 28 °C, em **a**. Ampliação das várias regiões espectrais entre 155,2 e 50,0 ppm (**b**). *Figura elaborada pelo autor.*

Notam-se muitos sinais de ¹³C associados praticamente com todos os sinais esperados para a espécie binuclear. É relevante destacar aquele em 154,93 ppm, referente aos C^{2,6} da TIOISN coordenada, bem como os sinais em 149,15 e 147,71 ppm, provavelmente associados aos carbonos ligados diretamente aos dois átomos de Pd(II) da espécie binuclear.

Além disso, por meio do experimento gHMQC (figura 79), constatou-se a correlação 7,21→131,95 ppm (H³→C³) que, de forma inequívoca, deixa claro que esse sinal de ¹H se refere ao fragmento (dmba)Pd-S. Segundo a figura 79, também foi possível observar a correlação 5,95→131,22 ppm (H³→C³), correspondente ao fragmento (dmba)Pd-N_{piridínico}.

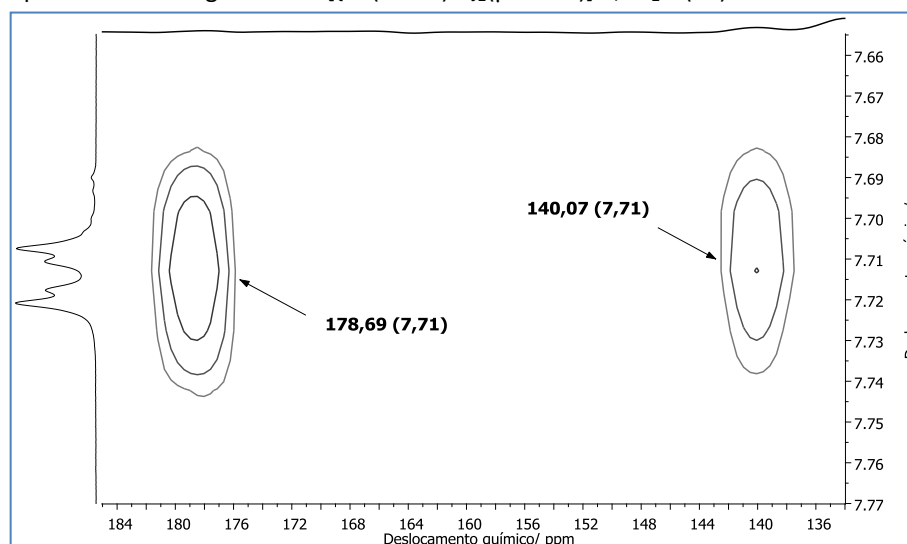
Figura 79 – Mapas de contorno gHMQC do $[\{Pd(dmba)Cl\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5H_2O$ (**24**).



Mapas obtidos em $CDCl_3$, a 11,7 T e 28 °C. Figura elaborada pelo autor.

Objetivando atribuir os carbonos quaternários foi realizado o experimento gHMBC, figura 80, com as correlações mais importantes mostradas em destaque.

Figura 80 – Mapas de contorno gHMBC do $[\{Pd(dmba)Cl\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5H_2O$ (**24**).



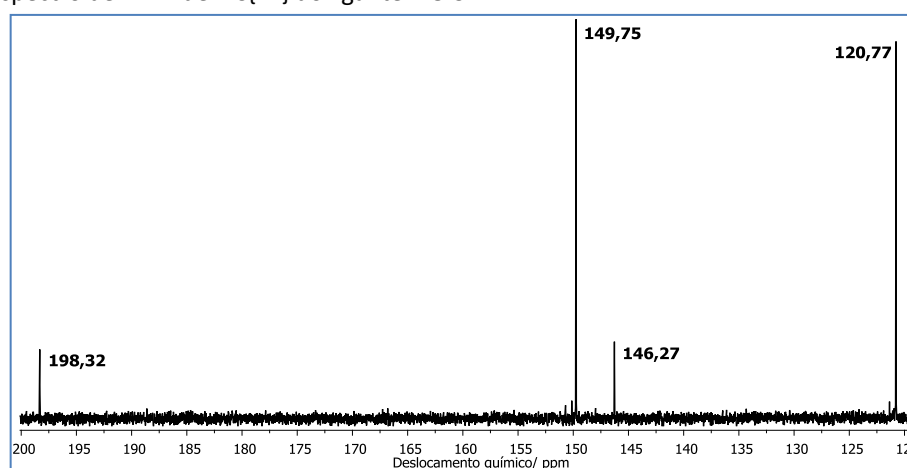
Mapas obtidos em $CDCl_3$, a 11,7 T e 28 °C. Figura elaborada pelo autor.

A correlação 7,71→140,07 ppm propiciou a atribuição do sinal de ^{13}C envolvido como sendo o C^4 do ligante TIOISN coordenado. Cabe destacar que esse sinal não havia sido detectado anteriormente pelo experimento de RMN de ^{13}C .

Outro sinal que só foi detectado pelo experimento de gHMBC foi o $C=S$, em 178,69 ppm. No caso do composto binuclear $[Pd(dmba)(qnS)]_2$ {qnS= 2-quinolinatiol}, preparado

por Caires et al. (1993), esse sinal aparece em 176 ppm. Comparado ao espectro de ^{13}C do ligante TIOISN livre (198,32 ppm, figura 81), o sinal encontra-se deslocado para campo alto. Esse deslocamento é atribuído a diminuição da ordem de ligação C=S envolvida na coordenação ao Pd(II), que causa um deslocamento da densidade eletrônica do grupo tioamida, aumentando o caráter π da ligação C–N (MORO; et al., 2009), como representado pela figura 75b.

Figura 81 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante TIOISN.



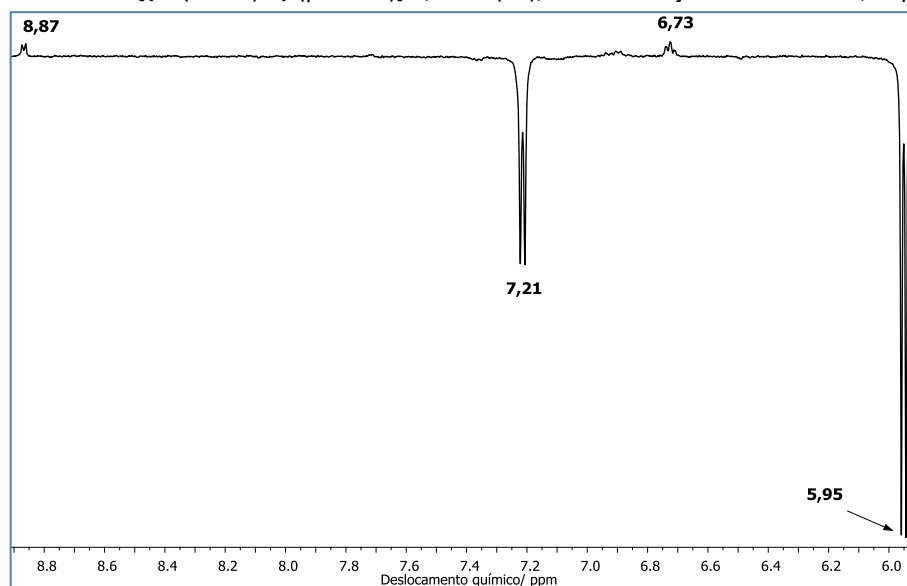
Espectro obtido em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. *Figura elaborada pelo autor.*

Para uma melhor noção da conformação espacial do composto **24** foi realizado o experimento NOESY 1D, que possibilita identificar os sinais de ^1H que interajam espacialmente em distâncias de até 3 Å. Assim, o sinal em 5,95 ppm foi irradiado e as interações espaciais existentes entre o respectivo próton com os seus vizinhos espaciais são apresentadas pela figura 82.

Como era esperado, há uma interação espacial com o $\text{H}^{2,6}$ da TIOISN coordenada, já que o próprio ligante piridínico *cis* ao C-metalado provoca um efeito anisotrópico sobre o H^3_{dmba} , favorecendo uma considerável blindagem sobre esse próton. Além disso, o H^4_{dmba} com sinal em 6,73 ppm interage com o próton situado em 5,95 ppm, pois são vizinhos espaciais e vizinhos no próprio anel da DMBA.

Curiosamente, um terceiro sinal, em 7,21 ppm, interage com o próton irradiado. Segundo as atribuições decorrentes de RMN anteriores para o composto **24**, esse sinal corresponde ao H^3 da DMBA, ou $\text{H}^{3'}_{\text{dmba}}$, envolvida com a coordenação Pd–S.

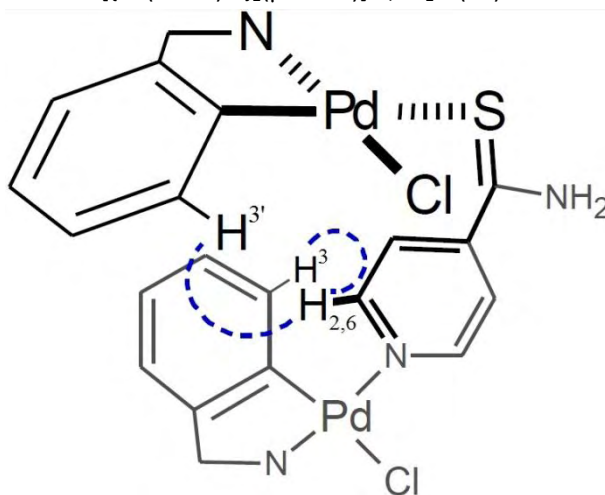
Figura 82 – NOESY 1D do $[\{Pd(dmba)Cl\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5H_2O$ (**24**), com irradiação do sinal em 5,95 ppm.



Experimento realizado em $CDCl_3$, a 11,7 T e 28 °C. O sinal de 5,95 ppm irradiado está indicado por uma seta. [Figura elaborada pelo autor.](#)

Dessa forma, a conformação molecular para **24**, considerando-se as interações observadas pelo experimento NOESY 1D, apresentaria um formato em “C” (figura 83).

Figura 83 – Proposição estrutural do $[\{Pd(dmba)Cl\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5H_2O$ (**24**).



Conformação espacial baseada no experimento NOESY 1D. Em destaque, por curvas tracejadas, as interações espaciais mais relevantes presentes entre os hidrogênios numerados. [Figura elaborada pelo autor.](#)

Esta proposta também encontra sustentação na literatura, em trabalhos envolvendo ciclopaladados bi ou trinucleares contendo pontes constituídas por ligantes *N,S*-doadores, a citar os trabalhos de Caires et al. (1993) e Deeming et al. (1988).

4.9 ATIVIDADE BIOLÓGICA

Atividade frente ao adenocarcionoma mamário murino LM3

Todos os compostos da Tese, incluindo os ligantes, foram testados contra a linhagem tumoral LM3 e os resultados são apresentados na tabela 7.

Tabela 7 – Ação antitumoral dos compostos frente à linhagem murina de adenocarcinoma mamário LM3.

Composto	CI ₅₀ /μg mL ⁻¹	CI ₅₀ /μmol L ⁻¹
ISN	> 100	^a NA
TEDA	> 100	NA
BIPY	> 100	NA
4CNPY	> 100	NA
4AMPY	> 100	NA
4ACIDPY	> 100	NA
TIOISN	> 100	NA
DMBA	> 100	^b NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂] (1)	> 100	^a NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (2)	> 100	^a NA
<i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (3)	> 100	^a NA
<i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	> 100	^a NA
<i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (5)	> 100	^a NA
<i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6)	> 100	NA
<i>trans</i> -[PdI ₂ (isn) ₂] (7)	> 100	NA
[Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-teda)(isn) ₂]·H ₂ O (8)	> 100	NA
[Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9)	> 100	NA
[Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂]·H ₂ O (10)	> 100	NA
[Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11)	> 100	NA
[Pd(dmba)(μ-Cl)] ₂ (12)	13,30 ±0,73	24,09 ±1,32
[Pd(dmba)(μ-N ₃)] ₂ ·H ₂ O (13)	42,33 ±2,58	72,57 ±4,42
[Pd(dmba)(μ-NCO)] ₂ (14)	38,45 ±1,94	68,02 ±3,43
[Pd(dmba)Cl(isn)] (15)	6,29 ±0,69	15,80 ±1,73
[Pd(dmba)(N ₃)(isn)] (16)	4,26, ±0,33	10,52 ±0,81
[Pd(dmba)(NCO)(isn)] (17)	17,56, ±1,00	43,38 ±2,47
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4cnpy) ₂] (18)	> 100	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19)	> 100	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4acidpy) ₂] (20)	> 100	NA
[Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21)	27,21 ±0,51	71,57 ±1,34
[Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22)	25,81 ±1,57	69,72 ±4,24
[Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23)	24,93 ±0,89	62,45 ±2,23
[Pd{(dmba)Cl} ₂ (μ-tioisn)]·0,5H ₂ O (24)	7,35 ±0,67	10,65 ±0,97
Cisplatina	^a 9,08 ±1,12	^a 30,26 ±3,72

^a Souza, R. et al. (2010); ^b Moro et al. (2009). NA= não ativo. Tabela elaborada pelo autor.

Foi estabelecido que as amostras com valores de CI₅₀ maiores que 100 μg mL⁻¹ seriam consideradas não ativas, pois essa concentração já é cerca de dez vezes maior que o CI₅₀ encontrado para a cisplatina, 9,08 ±1,12 μg mL⁻¹ (SOUZA, R.; et al., 2010).

Analisando os resultados, nota-se que a série 1 de compostos (**1** a **7**), a série 2 (compostos **8** a **11**) e a série 4 (compostos **18** a **20**), constituídas por complexos de

coordenação típicos, apresentam compostos inativos. No caso das séries 3 (compostos **12** a **17**) e 5 (compostos **21** a **24**), envolvendo ciclopaladados, percebe-se que todos apresentam alguma atividade contra a linhagem LM3.

Apesar de haver exemplos na literatura envolvendo complexos *trans* de Pd(II) com derivados piridínicos, as atividades antitumorais desses compostos se deve à alguma condição intrínseca à estabilidade do composto mediada pelo ligante nitrogenado, como no caso do composto contendo o ligante 2,6-dimetil-4-nitropiridina (figura 3c). Segundo os autores, as duas metilas adjacentes ao N-piridínico criam certo impedimento espacial, evitando a formação de um intermediário pentacoordenado que poderia induzir a geração de outra(s) espécie(s) inativa(s) (KUDUK-JAWORSKA; et al., 2004).

Por outro lado, se tem vários exemplos de ciclopaladados ativos contra muitas linhagens tumorais. Especificamente para as células LM3, os primeiros e até então únicos ciclopaladados testados contra essa linhagem foram relatados por Moro e colaboradores (2009). Nesse trabalho, os compostos $[Pd(C^2,N\text{-dmba})(Cl)(tu)]$ e $[Pd(C^2,N\text{-dmba})(Br)(tu)]$ apresentaram valores de CI_{50} de 72,4 e 29,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Todos os ciclopaladados desta Tese foram ativos frente a LM3, merecendo destaque os compostos $[Pd(dmba)(\mu\text{-Cl})_2]$ (**12**), $CI_{50} = 24,09 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[Pd(dmba)(Cl)(isn)]$ (**15**), $CI_{50} = 15,80 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[Pd(dmba)(N_3)(isn)]$ (**16**), $CI_{50} = 10,52 \mu\text{mol L}^{-1}$; e $[Pd\{(dmba)Cl\}_2(\mu\text{-tioisn})] \cdot 0,5H_2O$ (**24**), $CI_{50} = 10,65 \mu\text{mol L}^{-1}$, que se mostraram mais ativos que a cisplatina diante da LM3. Os compostos **16** e **24** foram, respectivamente, 2,9 e 2,8 vezes mais potentes que a cisplatina.

Os compostos **15** e **16** apresentam uma faixa de atividade muito próxima e isso pode estar associado ao comportamento deles em solução de DMSO durante a condução dos ensaios. Conforme discutido, os derivados mononucleares dos ciclopaladados contendo ISN e pseudo-haletos não se mantêm totalmente íntegros em solução, segundo as análises de RMN. Portanto, a atividade do composto contendo azida (**16**) pode recair sobre uma fração das espécies presentes e de seu respectivo precursor $[Pd(dmba)(\mu\text{-N}_3)]_2$ (**13**). Testes envolvendo esses compostos em outros solventes que mantenham suas integridades poderão ser realizados para se comprovar essa hipótese. Se isso proceder, espera-se um aumento da ação antitumoral de **16**, como visto para casos em que azido-complexos se mostraram muito potentes contra algumas linhagens tumorais, a citar o trabalho de Caires e colaboradores (1999).

A estrutura binuclear de **24** contendo uma ligação Pd-S pode ser a principal razão de sua elevada atividade, supondo-se, diante das considerações anteriores, que sua estabilidade

seja maior em solução durante os ensaios biológicos. Esse composto, assim como o **16**, é promissor para testes envolvendo outras linhagens celulares cancerígenas para se averiguar como se compara frente a compostos binucleares descritos na literatura que são fortes candidatos à quimioterápicos, como é o caso daqueles ilustrados pela figura 3b (RODRIGUES; et al., 2003) e 3f (SPENCER; et al., 2009).

Atividade frente ao *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv ATCC 27194)

Todos os compostos e os ligantes da Tese foram testados contra os bacilos *M. tuberculosis* e os resultados encontram-se na tabela 8. As amostras com CIM >25 µg mL⁻¹ foram consideradas inativas, segundo o *pipeline* estabelecido por Pavan, Sato e Leite (2011).

Tabela 8 – Ação antituberculose dos compostos frente ao *M. tuberculosis*.

Composto	CI ₅₀ /µg mL ⁻¹	CI ₅₀ /µmol L ⁻¹
ISN	> 25	^a NA
TEDA	> 25	NA
BIPY	> 25	NA
4CNPY	> 25	NA
4AMPY	> 25	NA
4ACIDPY	> 25	NA
TIOISN	> 25	NA
DMBA	> 25	^b NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂] (1)	> 25	^a NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (2)	> 25	^a NA
<i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (3)	15,6 ^a	^a 35,9
<i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	> 25	^a NA
<i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (5)	> 25	^a NA
<i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6)	> 25	NA
<i>trans</i> -[PdI ₂ (isn) ₂] (7)	> 25	NA
[Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-teda)(isn) ₂]·H ₂ O (8)	> 25	NA
[Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9)	> 25	NA
[Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂]·H ₂ O (10)	> 25	NA
[Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11)	> 25	NA
[Pd(dmmba)(μ-Cl)] ₂ (12)	> 25	NA
[Pd(dmmba)(μ-N ₃) ₂]·H ₂ O (13)	22,0	37,7
[Pd(dmmba)(μ-NCO)] ₂ (14)	> 25	NA
[Pd(dmmba)Cl(isn)] (15)	> 25	NA
[Pd(dmmba)(N ₃)(isn)] (16)	> 25	NA
[Pd(dmmba)(NCO)(isn)] (17)	> 25	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4cnpy) ₂] (18)	> 25	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19)	> 25	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4acidpy) ₂] (20)	> 25	NA
[Pd(dmmba)Cl(4cnpy)] (21)	> 25	NA
[Pd(dmmba)Cl(4ampy)] (22)	> 25	NA
[Pd(dmmba)Cl(4acidpy)] (23)	> 25	NA
[Pd{(dmmba)Cl} ₂ (μ-tioisn)]·0,5H ₂ O (24)	12,0	17,2
Pirazinamida	^a 50-100	^a 406,1-812,2
Isoniazida	^c 0,015-0,05	0,11-0,36

^a Souza, R. et al. (2010); ^b Moro et al. (2009); ^c Collins; Franzblau (1997).

NA= não ativo. Tabela elaborada pelo autor.

Analisando os resultados, nota-se que apenas os compostos **3**, **13** e **24** apresentaram atividade de CIM abaixo do limite estabelecido. O composto **3** já foi mencionado na literatura por nós (SOUZA, R.; et al., 2010) e tem em comum com o composto **13** a presença dos ligantes aniônicos azida. Há, também, uma similaridade estrutural entre os compostos **13** e **24**, por serem ambos binucleares.

As atividades dos compostos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**13**) e $[\text{Pd}\{(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**) são, respectivamente, 37,7 e 17,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Comparados à faixa de atividade da pirazinamida, um dos compostos empregados no tratamento da tuberculose, ambos se mostraram mais potentes e por isso já são interessantes para novas investigações frente às micobactérias resistentes aos fármacos utilizados no tratamento. Por outro lado, quando comparados à isoniazida, a atividade desses dois compostos se mostra muito inferior.

Comparando o composto **24** com alguns dos trabalhos mais recentes envolvendo compostos de paládio(II), ativos contra a tuberculose, observa-se que ele é ligeiramente mais potente que o composto $[\{\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}\}_2(\mu\text{-bpp})]$, BPP= 1,3-bis(4-pyridil)propano, com CIM= 18,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (MORO; et al., 2012), mas com atividade inferior aos compostos $[\text{Pd}(\text{apptsc})(\text{PPh}_3)](\text{NO}_3) \cdot \text{H}_2\text{O}$, HAPPTSC= 2-acetilpiridina-*N*(4)-feniltiossemicarbazona, com CIM= 8,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (MAIA; et al., 2010), e $[\text{Pd}(\text{C-bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$, BZAN= *N*-benzilidenoanilina e DPPP= 1,3-bis(difenilfosfina)propano, cujo CIM= 5,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (FERREIRA; et al., 2012).

Atividade frente ao *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) e frente à *Leishmania amazonensis*

Todos os compostos e ligantes da Tese foram testados contra os protozoários *T. cruzi* e *L. amazonensis*, e os resultados estão na tabela 9. Os valores de CI_{50} maiores que 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram considerados não ativos contra esses micro-organismos.

Nota-se, a exemplo de ensaios anteriores, que os ciclopaladados também apresentaram ação contra *T. cruzi* e *L. amazonensis*. Os demais compostos e ligantes não mostraram atividade.

Analisando os resultados, nota-se uma tendência ligeiramente distinta entre as atividades apresentadas pelos ciclopaladados contra esses protozoários. Contra as formas epimastigotas de *T. cruzi*, não há uma distinção clara da atividade em função de aspectos estruturais dos ciclopaladados. Os valores determinados de CI_{50} são muito bons em todos os casos, sendo menores que o valor da droga padrão benzonidazol, segundo a literatura

(SANTOS; et al., 2012). Contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, ao contrário, percebe-se uma melhor ação dos ciclopaladados contendo derivados piridínicos e cloro.

Tabela 9 – Ação tripanocida e leishmanicida dos compostos frente às formas epimastigotas de *T. cruzi* e promastigotas de *L. amazonensis*, respectivamente.

Composto	<i>T. cruzi</i>	<i>L. amazonensis</i>
	CI ₅₀ /μmol L ⁻¹	CI ₅₀ /μmol L ⁻¹
ISN	NA	NA
TEDA	NA	NA
BIPY	NA	NA
4CNPY	NA	NA
4AMPY	NA	NA
4ACIDPY	NA	NA
TIOISN	NA	NA
DMBA	ND	ND
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂] (1)	NA	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (isn) ₂] (2)	NA	NA
<i>trans</i> -[Pd(N ₃) ₂ (isn) ₂] (3)	NA	NA
<i>trans</i> -[Pd(NCO) ₂ (isn) ₂] (4)	NA	NA
<i>trans</i> -[Pd(SCN) ₂ (isn) ₂] (5)	NA	NA
<i>trans</i> -[PdBr ₂ (isn) ₂] (6)	NA	NA
<i>trans</i> -[PdI ₂ (isn) ₂] (7)	NA	NA
[Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-teda)(isn) ₂]·H ₂ O (8)	NA	NA
[Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-teda)(isn) ₂] (9)	NA	NA
[Pd ₂ (N ₃) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂]·H ₂ O (10)	NA	NA
[Pd ₂ (SCN) ₄ (μ-bipy)(isn) ₂] (11)	NA	NA
[Pd(dmba)(μ-Cl)] ₂ (12)	7,06 ±1,76	13,53 ±1,76
[Pd(dmba)(μ-N ₃)] ₂ ·H ₂ O (13)	6,89 ±0,86	13,15 ±0,67
[Pd(dmba)(μ-NCO)] ₂ (14)	11,06 ±1,76	13,67 ±1,54
[Pd(dmba)Cl(isn)] (15)	5,02 ±0,56	5,88 ±0,65
[Pd(dmba)(N ₃)(isn)] (16)	19,71 ±1,09	25,79 ±2,20
[Pd(dmba)(NCO)(isn)] (17)	7,72 ±0,62	32,12 ±3,09
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4cnpy) ₂] (18)	NA	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4ampy) ₂] (19)	NA	NA
<i>trans</i> -[PdCl ₂ (4acidpy) ₂] (20)	NA	NA
[Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (21)	18,94 ±0,81	5,15 ±0,81
[Pd(dmba)Cl(4ampy)] (22)	8,27 ±0,49	7,70 ±0,49
[Pd(dmba)Cl(4acidpy)] (23)	14,38 ±0,48	8,57 ±0,48
[Pd{(dmba)Cl} ₂ (μ-tioisn)]·0,5H ₂ O (24)	4,32 ±0,24	3,09 ±0,24
Benzonidazol	^a 42,7	ND
Isotonato de pentamidina	ND	^a 7,0

^a Extraído de Santos et al. (2012). NA= não ativo e ND= não determinado. Tabela elaborada pelo autor.

Não é possível associar o caráter eletrônico dos ligantes piridínicos com as atividades antiparasitárias obtidas, e tampouco é adequado mencionar um maior ou menor caráter lipofílico dos compostos, pressupondo-se que a atividade estaria em função da permeabilidade intraparasitária. Provavelmente a ação mecânica desses compostos envolva um conjunto de fatores complexos, como a estabilidade no meio biológico, levando à formação de espécies

pró-ativas, ou a interação com proteínas receptoras de membranas dos parasitos, induzindo processos que comprometem a sobrevivência do micro-organismo.

O composto $[\text{Pd}\{(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**) é o mais potente contra os tripanossomatídeos testados. Novamente, como sugerido no caso da linhagem LM3, em que houve a consideração de sua maior estabilidade estrutural por conta da ligação Pd–S, esse parece ser um fator consistente para a sua melhor ação biológica também contra os protozoários em questão.

Citotoxicidade frente aos macrófagos peritoneais murinos

Os ciclopáladados contendo derivados piridínicos **15** a **17** e **21** a **24** foram avaliados quanto às suas toxicidades frente às células saudáveis do sistema imunológico de defesa de camundongos, os macrófagos. Os resultados são compilados na tabela 10.

Tabela 10 – Resultados de citotoxicidade frente aos macrófagos peritoneais murinos e os respectivos índices de seletividade (IS) diante das células tumorais ou dos micro-organismos investigados nesta Tese.

Composto	$\text{CI}_{50}/\mu\text{mol L}^{-1}$	IS			
		LM3	<i>M. tuberculosis</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>L. amazonensis</i>
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (15)	$221,00 \pm 16,01$	13,99	ND	44,02	37,58
$[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (16)	$154,41 \pm 11,67$	14,68	ND	10,42	5,99
$[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (17)	$104,51 \pm 8,14$	2,41	ND	14,32	4,05
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(4\text{cnpy})]$ (21)	$157,56 \pm 7,65$	2,20	ND	8,32	30,59
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(4\text{ampy})]$ (22)	$175,10 \pm 7,67$	2,51	ND	21,17	22,74
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(4\text{acidpy})]$ (23)	$145,30 \pm 10,17$	2,33	ND	10,10	16,95
$[\text{Pd}\{(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (24)	$89,15 \pm 3,25$	8,37	5,18	20,64	28,85
Cisplatina	$62,88 \pm 2,14$	2,08	ND	ND	ND
Benzonidazol	ND	ND	ND	ND	ND
Isotionato de pentamidina	20,32	ND	ND	ND	2,90

NA= não ativo e ND= não determinado. Tabela elaborada pelo autor.

A relação entre as citotoxicidades frente aos macrófagos e micro-organismos, para os compostos testados, expressa o grau de seletividade deles diante de um tipo de célula do sistema de defesa considerada como uma das mais sensíveis dos organismos de mamíferos. Assim, quanto maior o resultado dessa relação numérica, a princípio, maior é a possibilidade de se aplicar um determinado composto em ensaios *in vivo* e de se obter os menores efeitos adversos diante de um tratamento. O índice de seletividade (IS), portanto, é determinado a partir da seguinte expressão:

$$IS = \frac{\text{CI}_{50}(\text{macrófagos})}{\text{CI}_{50}(\text{célula ou micro-organismo})};$$

sendo considerada ‘célula’ a linhagem tumoral LM3 e ‘micro-organismo’ os bacilos *M. tuberculosis*, ou os parasitos *T. cruzi* ou *L. amazonensis*.

Em relação à linhagem tumoral LM3, se sobressaíram os compostos **15**, **16** e **24**, sendo eles 4,0 a 7,1 vezes mais seletivos que a cisplatina. Sendo assim, os ciclopaladados **15**, **16** e **24** merecem futura atenção para o entendimento de suas características mecanísticas.

Quanto à ação antituberculose, o composto **24** foi o único a ter os dados de citotoxicidade determinados contra os macrófagos e apresentou IS= 5,18. Segundo o *pipeline* aplicado aos ensaios anti-TB dessa Tese (PAVAN; SATO; LEITE, 2011), outros ensaios só seriam pertinentes a partir de valores de IS iguais ou maiores que 10.

Ao se analisar os IS relacionados aos tripanossomatídeos nota-se que aqueles dos ciclopaladados são muito bons, quando comparados à droga isotionato de pentamidina (IS= 2,90 diante de *L. amazonensis*). Valores de citotoxicidade do benzonidazol não foram aqui representados para efeito comparativo, e os valores de IS situados numa faixa de 8,32 (composto **21**) a 44,02 (composto **15**) são todos melhores que do isotionato de pentamidina, levando-se em conta o IS contra a *L. amazonensis*.

Em termos de seletividade, o composto [Pd(dmmba)Cl(isn)] (**15**) é o mais promissor desse trabalho, quando avaliado contra os tripanossomatídeos. No caso dos parasitos *L. amazonensis*, ele apresenta também um excelente IS de 37,38.

5 CONCLUSÃO

Este trabalho trata da preparação e caracterização estrutural de compostos de paládio(II) contendo ligantes piridínicos, agrupados em cinco séries, e de suas atividades biológicas contra células murinas tumorais de mama (LM3), contra bacilos causadores da tuberculose humana (*M. tuberculosis*) e contra protozoários que provocam a doença de Chagas (*T. cruzi*) e a leishmaniose cutânea (*L. amazonensis*).

A série 1, com os compostos *trans*-[PdX₂(isn)₂], X= Cl (**2**), N₃ (**3**), NCO (**4**), SCN (**5**), Br (**6**) e I (**7**), ISN= isonicotinamida, foi obtida a partir do precursor *trans*-[PdCl₂(CH₃CN)₂] (**1**), mediante reações de substituição de ligantes.

O comportamento térmico dos compostos **2** a **5** foi investigado por análise termogravimétrica (TG) e análise termogravimétrica diferencial (DTA), de modo simultâneo. As curvas TG dos compostos **2**, **3** e **5** apresentaram um perfil de degradação térmica semelhante, com a saída dos ligantes ocorrendo em uma ou duas etapas de perda de massa, gerando, como resíduos, uma mistura de Pd e PdO. Por outro lado, o composto **4** gerou como resíduo Pd, após a saída dos ligantes em duas etapas. Considerando as temperaturas iniciais de decomposição, a estabilidade térmica desses compostos variou de acordo com o grupo aniônico, seguindo a ordem: Cl > NCO > SCN > N₃.

Os compostos **6** e **7** são análogos aos anteriores e tiveram suas estruturas sugeridas a partir da análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e de ¹³C{¹H}. Assim como os complexos anteriores dessa série, **6** e **7** apresentam os ligantes ISN coordenados ao Pd(II) pelo nitrogênio piridínico, com estereoquímica *trans*. Experimentos 2D de RMN corroboraram com a determinação estrutural e com a proposta que, no caso de **6**, indicou a presença do ligante ISN livre e de uma espécie contendo DMSO coordenado ao Pd(II), em solução.

A série 2, ou seja, os compostos [Pd₂(N₃)₄(μ-teda)(isn)₂]·H₂O (**8**), [Pd₂(SCN)₄(μ-teda)(isn)₂] (**9**), [Pd₂(N₃)₄(μ-bipy)(isn)₂]·H₂O (**10**) e [Pd₂(SCN)₄(μ-bipy)(isn)₂] (**11**), sendo TEDA= trietilenodiamina e BIPY= 4,4'-bipiridina, também foi obtida a partir de **1**, via reações de troca de ligantes. As propostas estruturais consideraram os dados de análise elementar e de espectroscopia no IV.

Em todos os casos, o modo de coordenação dos pseudo-haletos envolvidos na série 2 é terminal; pelo átomo de nitrogênio, ao se tratar da azida (**8** e **10**) e pelo átomo de enxofre, quando o ligante é o tiocianato (**9** e **11**).

Para **9** e **11**, curvas TG-DTA também contribuíram para as sugestões estruturais no estado sólido, sendo que para ambos houve três etapas de decomposição térmica, gerando como resíduos Pd, no caso de **9**, e uma mistura Pd/PdO no caso de **11**. Em termos de estabilidade térmica, **9** > **11**. Devido ao caráter explosivo de **8** e **10**, suas respectivas análises TG-DTA não foram realizadas.

A série 3, cujos compostos possuem fórmula geral $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{isn})]$, sendo DMBA = *N,N*-dimetilbenzilamina e X = Cl (**15**), N₃ (**16**) e NCO (**17**), é derivada de reações envolvendo ISN e as espécies binucleares $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ (**12**), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**13**) e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-NCO})]_2$ (**14**). A ruptura das pontes existentes entre os átomos de paládio e os ligantes cloro, azida e cianato, nesses precursores, levou à coordenação monodentada desses ligantes aniônicos nos respectivos derivados da série. A coordenação da ISN, em todos os casos, ocorreu via N-piridínico. Essas propostas são concordantes com os dados de IV e de análise elementar dos ciclopalladados da série.

Dados de RMN (¹H, ¹³C{¹H}, gHMQC e gHMBC), em solução de CDCl₃, apontaram a compatibilidade com a fórmula proposta no estado sólido e a integridade estrutural de **15**. Entretanto, para **16** e **17**, cujos experimentos foram realizados em d₆-DMSO, pôde-se notar, além da espécie proposta para o estado sólido, a presença da ISN não coordenada e dos respectivos precursores diméricos.

A série 4, formada por compostos do tipo *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$, L = 4CNPY (**18**), 4AMPY (**19**) e 4ACIDPY (**20**), foi preparada a partir de **1** envolvendo a troca de ligantes.

A análise elementar e a espectroscopia no IV foram coerentes com as fórmulas atribuídas no estado sólido. Segundo os espectros no IV, as piridinas *para*-substituídas coordenaram-se aos átomos de Pd(II) por meio dos N-piridínicos. Já em solução de d₆-DMSO, os experimentos de RMN de ¹H, ¹³C{¹H}, gHMQC e de gHMBC acusaram a presença da espécie supramencionada mais os respectivos ligantes livres para **18** e **20**. Assim como sugerido para **6**, foi notada a presença de uma espécie contendo a ligação Pd-dmso nos dois casos. O composto **19**, ao contrário, manteve-se inalterado em solução.

A série 5, contendo os compostos $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{L})]$, L = 4CNPY (**21**), 4AMPY (**22**), 4ACIDPY (**23**), e o composto binuclear $[\{\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**), sendo TIOISN = tioisonicotinamida, foi preparada a partir da clivagem das pontes dos ligantes cloro de **12** com os respectivos ligantes nitrogenados.

Os resultados de análise elementar são condizentes com as propostas moleculares e os dados de IV inferem que as coordenações dos ligantes nitrogenados se dão via N-piridínico.

Para **24**, além disso, é proposto que o grupo tioamida estabelece uma ligação com um segundo núcleo metálico via enxofre, resultando uma estrutura binuclear envolvendo uma ponte do tipo N,S do ligante TIOISN.

A estrutura de **21** foi determinada por difração de raios X de monocristal. Os ângulos envolvidos nas ligações dos fragmentos DMBA, Cl e 4CNPY com o centro metálico apontam um poliedro quadrático-planar ligeiramente distorcido ao redor do Pd(II). O ligante cloro se posiciona *trans* ao C-metalado da DMBA e a distância de ligação Pd–C_{dmba} é muito menor quando comparada à ligação Pd–Cl. Outro ponto relevante da estrutura elucidada é a sua natureza supramolecular. Uma disposição unidimensional entre os metilenos e as nitrilas de moléculas adjacentes levam a uma topologia semelhante a um “zig-zag” ao longo da cadeia 1D. A ocorrência de interações bidimensionais promove o empilhamento molecular das camadas unidimensionais via ligações C–H... π , envolvendo átomos de hidrogênio do 4CNPY e o anel aromático do DMBA, respectivamente.

Os resultados de RMN, em solução, são concordantes com as estruturas propostas para **21** e **22**. Entretanto, para **23**, cujos experimentos de RMN (^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, gCOSY, gHMQC e gHMBC) foram realizados em d_6 -DMSO, notou-se em solução a espécie predominante (a mesma do estado sólido), o ligante 4ACIDPY livre e o precursor **12**.

Para o composto **24**, espectros uni e bidimensionais de RMN foram obtidos e corroboraram substancialmente para a proposição binuclear, a citar o experimento NOESY 1D, que indicou uma conformação espacial em “C” da estrutura.

Todos os compostos da Tese, incluindo os ligantes, foram testados contra a linhagem celular murina tumoral de mama (LM3), contra os bacilos causadores da tuberculose humana (*Mycobacterium tuberculosis*) e contra os agentes etiológicos da doença de Chagas (*Trypanosoma cruzi*) e da leishmaniose cutânea (*Leishmania amazonensis*).

Somente os ciclopalladados se mostraram ativos frente à LM3, destacando-se os compostos $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{isn})]$ (**15**), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (**16**) e $[\text{Pd}\{(\text{dmba})\text{Cl}\}_2(\mu\text{-tioisn})]\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**24**), cujos valores de concentração inibitória mediana (CI_{50}) – concentração capaz de evitar a proliferação de 50% dos micro-organismos, ou de células normais ou das células tumorais, neste caso –, expressos em $\mu\text{mol L}^{-1}$, foram de 15,80; 10,52 e 10,65. Esses compostos se mostraram mais ativos que a cisplatina ($\text{CI}_{50}= 30,26 \mu\text{mol L}^{-1}$) e os compostos **16** e **24** foram, respectivamente, 2,9 e 2,8 vezes mais potentes que a cisplatina.

A elevada atividade de **16** recai sobre a presença do ligante azida, assim como visto para alguns casos na literatura. Já para o composto **24**, sua estrutura binuclear contendo uma

ligação Pd-S pode ser a principal razão da elevada atividade antitumoral, supondo-se que sua estabilidade seja mantida em solução, durante os ensaios biológicos.

Diante dos resultados de concentração inibitória mínima (CIM), que considera a concentração capaz de eliminar 90% ou mais das micobactérias causadoras da tuberculose, apenas os compostos *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂] (**3**), [Pd(dmba)(μ-N₃)₂·H₂O (**13**) e [Pd{(dmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (**24**) apresentaram atividade abaixo de 25 μg mL⁻¹, valor estabelecido como limite conforme o *pipeline* de testes empregado. O composto **3** já foi mencionado na literatura por nós e tem, em comum com o composto **13**, a presença dos ligantes azida. Entretanto, os compostos **13** e **24**, por serem binucleares, devem apresentar certa condição estrutural mais semelhante, ao se considerar a atividade dos compostos contra o *M. tuberculosis*.

Os compostos **13** e **24** apresentaram valores CIM igual a 37,7 e 17,2 μmol L⁻¹, respectivamente, sendo mais potentes que a pirazinamida – um dos compostos empregados no tratamento da tuberculose –, cuja faixa de atividade situa-se entre 50 e 100 μmol L⁻¹. Por outro lado, quando comparados à isoniazida – composto também empregado no tratamento da tuberculose, com CIM de 0,11 a 0,36 μmol L⁻¹ –, a atividade desses dois compostos se mostra muito inferior.

De qualquer modo, **13** e **24** são interessantes para novas investigações frente à micobactérias resistentes aos fármacos utilizados no tratamento. Por sua vez, o ciclopaladado binuclear **24** é o mais potente desse trabalho e se coloca entre os melhores compostos de paládio(II) ativos contra a tuberculose descritos até o momento na literatura, que apresentam valores de CIM variando de 5,15 a 18,6 μmol L⁻¹.

Os ciclopaladados desse trabalho foram ativos contra as formas epimastigotas de *T. cruzi* e promastigotas de *L. amazonensis*, enquanto os demais compostos e os ligantes não o foram. Não há uma relação evidente estrutura-atividade dos ciclopaladados diante das formas epimastigotas, mas os valores de CI₅₀ são muito bons em todos os casos.

Contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* foi possível perceber que há uma melhor ação dos ciclopaladados contendo os derivados piridínicos. Além disso, a substituição do ligante cloro por azida ou cianato, na série contendo a isonicotinamida, não potencializou a ação biológica desses compostos frente ao parasitos.

O composto [Pd{(dmba)Cl}₂(μ-tioisn)]·0,5H₂O (**24**) é o mais potente contra os tripanossomatídeos testados e, provavelmente, sua maior estabilidade estrutural em função da

ligação Pd–S, nas condições dos ensaios biológicos, parece ser o fator determinante para a sua melhor ação biológica também contra os protozoários em questão.

As informações de citotoxicidade sobre os macrófagos revelaram a capacidade dos compostos sob outro viés. Por exemplo, o composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (**15**), apesar de não ser mais citotóxico que os compostos **16** e **24** contra a LM3, se mostra muito interessante quando se considera o seu índice de seletividade (IS).

Em relação à seletividade dos ciclopaladados testados, considerando-se a linhagem tumoral LM3, os compostos **15**, **16** e **24** foram 4,0 a 7,1 vezes mais seletivos que a cisplatina. Os compostos **16** e **24** são os mais promissores em termos de atividade antitumoral, porém, agregando a informação de IS, os compostos **15** e **16** se sobressaem. Para os três casos é interessante a investigação de seus mecanismos de ação e até ensaios *in vivo*, a fim de compará-los aos compostos de Pd(II) da literatura que são fortes candidatos à quimioterápicos contra alguns tipos de câncer.

Quanto à ação antituberculose, o composto **24** foi o único a ter os dados de citotoxicidade obtidos contra os macrófagos e apresentou IS= 5,18. Apesar de não se enquadrar nas condições que dariam sequência a outros experimentos a fim de se avaliar seu potencial uso contra a tuberculose, segundo o *pipeline* aplicado aos ensaios dessa Tese, outros ensaios visando a atividade contra micobactérias resistentes poderiam ser obtidos, ou até se avaliar o CIM de **24** em outras condições, como pH ácido e na presença de albumina, para assim constatar se sua atividade se mantém, pois muitos dos compostos extremamente ativos em condições normais de *screening* se mostram inativos nessas circunstâncias.

Quanto aos tripanossomatídeos, ao se analisar os dados de IS relacionados aos ciclopaladados, percebeu-se que todos os compostos são muito bons quando comparados à droga isotionato de pentamidina.

Contra *T. cruzi*, a faixa de IS variou de 8,32 (composto **21**) a 44,02 (composto **15**). Já contra *L. amazonensis*, a variação de IS foi de 4,05 (composto **17**) a 37,38 (composto **15**).

Em termos de seletividade, o composto [Pd(dmba)Cl(isn)] (**15**) é o mais promissor deste trabalho, quando avaliado contra os tripanossomatídeos.

Como perspectivas diante do exposto, caberia realizar os ensaios envolvendo os ciclopaladados desta Tese em outro solvente que não levasse à formação de outras espécies em solução. Paralelo a isso, análises espectroscópicas no UV-Visível somadas a cálculos computacionais poderiam proporcionar um melhor entendimento das atividades biológicas à luz das propriedades eletrônicas, a citar a composição dos orbitais de fronteira e a densidade de cargas de Mulliken sobre o Pd e os átomos coordenados a ele.

REFERÊNCIAS

- ABU-SURRAH, A. S.; AL-SA'DONI, H. H.; ABDALLA, M. Y. Palladium-based chemotherapeutic agents: routes toward complexes with good antitumor activity. **Cancer Therapy**, v. 6, p. 1-10, 2008.
- ALMEIDA, E. T. de. et al. Self-assembly of organometallic Pd(II) complexes via $\text{CH}_3 \cdots \pi$ interactions: the first example of a cyclopalladated compound with herringbone stacking pattern. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 10, n. 12, p. 1394-1398, 2007.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, v. 7, n. 5, e35671, p. 1-12, 2012.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer facts & figures 2013**. Atlanta, 2013. 61 p.
- ANANIAS, S. R. et al. Reação de bis-inserção de 1,2-difenilacetileno na ligação Pd-C de ciclometalados. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 53-55, 2003.
- ANDRADE, J. P. et al. I diretriz latino-americana para o diagnóstico e tratamento da cardiopatia chagásica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 97, n. 2, p. 1-48, 2011. Supl. 3.
- ARGOLO, A. M. et al. **Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil**. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio, 2008. 64 p.
- ASSIS, R. R. de. et al. Glycoconjugates in New World species of *Leishmania*: polymorphisms in lipophosphoglycan and glycoinositolphospholipids and interaction with hosts. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1820, n. 9, p. 1354-1365, 2012.
- BALCI, M. **Basic ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopy**. Amsterdam: Elsevier, 2005. p. 289.
- BAÑULS, A.-L.; HIDE, M.; PRUGNOLLE, F. *Leishmania* and the Leishmaniases: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. **Advances in Parasitology**, v. 64, p. 1-109, 455-458, 2007.
- BARNETT, S. A. et al. *trans*-Dichlorobis(4-cyanopyridine)palladium(II). **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. E58, p. m385-m386, 2002.
- BLACK, D. St. C.; DEACON, G. B.; EDWARDS, G. L. Observations on the mechanism of halogen-bridge cleavage by unidentate ligands in square planar palladium and platinum complexes. **Australian Journal of Chemistry**, v. 47, p. 217-227, 1994.
- BEGO, A. M. et al. Immunomodulatory effects of palladium(II) complexes of 1,2,4-triazole on murine peritoneal macrophages. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 3, p. 437-444, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana**. Brasília, DF, 2000. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manu_leishman.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes**. Brasília, DF, 2009. 6 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2012**: incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2011. 118 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Programa nacional do controle do câncer de mama**: tratamento. Rio de Janeiro, 2012a. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/nobrasil/programa_controle_cancer_mama/tratamento>. Acesso em: 28 jun. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Novo medicamento para tratamento do câncer de mama será oferecido pelo SUS**. 2012b. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2012/07/23/novo-medicamento-para-tratamento-do-cancer-de-mama-fara-parte-da-lista-do-sus>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. **LV – descrição da doença**. Brasília, DF, 2013. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31934>. Acesso em: 28 jun. 2013.

BRUCE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. v. 1, p. 91-92.

CAIRES, A. C. F.; MAURO, A. E. Compostos ciclometalados de coordenação intramolecular. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 59-72, 1996.

CAIRES, A. C. F. et al. Síntese e atividade citotóxica de alguns azido-ciclopalladados estabilizados com ligantes bifosfínicos. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 329-334, 1999.

CAIRES, A. C. F. et al. Synthesis and crystal structure of the novel cyclopalladated complex di(μ ,*N*-Sn²-quinoline-2-thiolate)-bis[*N,N*-dimethylbenzylamine-*C*²,*N*]palladium(II). **Gazzetta Chimica Italiana**, v. 123, p. 495-497, 1993.

CAMARGO, L. M. A.; BARCINSKI, M. A. Leishmanioses, feridas bravas e kalazar. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 34-37, 2003.

CARLOS, I. Z. et al. Immunostimulatory effects of the phenolic compounds from lichens on nitric oxide and hydrogen peroxide production. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 847-852, 2009.

CASAS, J. S. et al. New Pd(II) and Pt(II) complexes with N,S-chelated pyrazolonate ligands: molecular and supramolecular structure and preliminary study of their *in vitro* antitumoral activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, n. 1, p. 33-45, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR TB)**. Atlanta, 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/drtb/xdrtb.htm>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

- CHARLAB, R. et al. Toward an understanding of the biochemical and pharmacological complexity of the saliva of a hematophagous sand fly *Lutzomyia longipalpis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 26, p. 15155-15160, 1999.
- CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.
- COLLINS, L. A.; FRANZBLAU, S. G. Microplate alamar blue assay versus BATEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 5, p. 1004-1009, 1997.
- COPE, A. C.; FRIEDRICH, E. C. Electrophilic aromatic substitution reactions by platinum(II) and palladium(II) chlorides on N,N-dimethylbenzylamines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 4, p. 909-913, 1968.
- COPPENS, P.; LEISEROWITZ, L.; RABINOVICH, D. Calculation of absorption corrections for camera and diffractometer data. **Acta Crystallographica**, v. 18, part. 6, p. 1035-1038, 1965.
- COUTINHO, M.; DIAS, J. C. P. A descoberta da doença de Chagas. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 16, n. 2, p. 11-51, 1999.
- DALCOLMO, M. P.; ANDRADE, M. K. N.; PICON, P. D. Tuberculose multirresistente no Brasil: histórico e medidas de controle. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 34-42, 2007. Supl. 1.
- DAMASCENO, J. D.; BEVERLEY, S. M.; TOSI, L. R. O. A transposon toolkit for gene transfer and mutagenesis in protozoan parasites. **Genetica**, v. 138, n. 3, p. 301-318, 2010.
- DANISHEFSKY, S. J. et al. Total synthesis of baccatin III and taxol. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 12, p. 2843-2859, 1996.
- DEEMING, A. J. et al. Di- and tri-nuclear complexes of palladium(II) containing doubly- and triply-bridging pyridine-2-thionato (pyS) ligands: crystal structure of $[\text{Pd}_3(\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{NMe}_2)_3(\text{pyS})_2][\text{BF}_4]$. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, v. 1988, n. 8, p. 2193-2199, 1988.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: public health aspects and control. **Clinics in Dermatology**, v. 14, n. 5, p. 417-423, 1996.
- DUNINA, V. V. et al. Competition between sp^3 and sp^2 C-H bonds in cyclopalladation of *N*-methyl- α -*tert*-butylbenzylamine. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 603, p. 138-151, 2000.
- 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.

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

FARRELL, N. P.; WILLIAMSON, J.; McLAREN, D. J. M. Trypanocidal and antitumour activity of platinum-metal and platinum-metal-drug dual-function complexes. **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 7, p. 961-971, 1984.

FERREIRA, J. G. et al. Structure and antimycobacterial activity of the novel organometallic [Pd(C-bzan)(SCN)(dppp)] compound. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 23, p. 63-66, 2012.

FRIEBOLIN, H. **Basic one- and two-dimensional NMR spectroscopy**. 4th ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. p. 56.

GAO, E. et al. Impact of the carbon chain length of novel palladium(II) complexes on interaction with DNA and cytotoxic activity. **Inorganic Chemistry**, v. 49, n. 7, p. 3261-3270, 2010.

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.

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

GODOY NETTO, A. V. et al. Thermal decomposition of palladium(II) pyrazolyl complexes. Part I. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 72, p. 183-189, 2004.

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

GOMEZ, J. E.; McKINNEY, J. D. M. Tuberculosis persistence, latency, and drug tolerance. **Tuberculosis**, v. 84, n. 1, p. 29-44, 2004.

GONTIJO, E. D.; SANTOS, S. E. **Mecanismos principais e atípicos de transmissão da doença de Chagas**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=173>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

GRAEBIN, C. S. et al. Antiprotozoal agents: an overview. **Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 345-366, 2009.

HECK, R. F. Acylation, methylation, and carboxyalkylation of olefins by Group VIII metal derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 20, p. 5518-5526, 1968a.

HECK, R. F. The addition of alkyl- and arylpalladium chlorides to conjugated dienes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 20, p. 5542-5546, 1968b.

HECK, R. F. Allylation of aromatic compounds with organopalladium salts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 20, p. 5531-5534, 1968c.

HECK, R. F. Aromatic haloethylation with palladium and copper halides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 20, p. 5538-5542, 1968d.

HECK, R. F. The arylation of allylic alcohols with organopalladium compounds. A new synthesis of 3-aryl aldehydes and ketones. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 20, p. 5526-5531, 1968e.

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.

HUQ, F. et al. 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, n. 1, p. 30-35, 2007.

INTERNATIONAL CENTRE FOR DIFFRACTION DATA. **Powder diffraction file**: PDF-2: release 2009. Version 2.063. Newton Square, 2009a. 1 CD-ROM. PDF n. 00-043-1024.

INTERNATIONAL CENTRE FOR DIFFRACTION DATA. **Powder diffraction file**: PDF-2: release 2009. Version 2.063. Newton Square, 2009b. 1 CD-ROM. PDF n. 00-046-1043.

JEONG, H. C. et al. Fluorinated pyridinium oximes as potential reactivators for acetylcholinesterases inhibited by paraoxon organophosphorus agent. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 7, p. 6213-6217, 2009.

KROGUL, A. et al. Crystal structure, electronic properties and cytotoxic activity of palladium chloride complexes with monosubstituted pyridines. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 2, p. 658-666, 2012.

KUČA, K. et al. Synthesis of a potential reactivator of acetylcholinesterase—1-(4-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(carbamoylpyridinium)propane dibromide. **Tetrahedron Letters**, v. 44, n. 15, p. 3123-3125, 2003.

KUDUK-JAWORSKA, J. et al. Synthesis, structural, physico-chemical and biological properties of new palladium(II) complexes with 2,6-dimethyl-4-nitropyridine. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, n. 8, p. 1447-1456, 2004.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de Leishmania: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010.

LI, Y. et al. Resveratrol inhibits proliferation and promotes apoptosis of osteosarcoma cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 609, n. 1/3, p. 13-18, 2009.

LU, Z.-L.; NEVEROV, A. A.; BROWN, R. S. An *ortho*-palladated dimethylbenzylamine complex as a highly efficient turnover catalyst for the decomposition of P=S insecticides. Mechanistic studies of the methanolysis of some P=S containing phosphorothioate triesters. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 3, n. 18, p. 3379-3387, 2005.

LUCCA NETO, V. A. de. et al. Synthesis, characterization and thermal behavior of cyclopalladated compounds of the type $[\text{Pd}\{\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\}(\mu\text{-X})_2]$ $\text{X}=\text{Cl}, \text{NCO}, \text{SCN}, \text{CN}$. **Polyhedron**, v. 18, p. 413-417, 1999.

LUCCA NETO, V. A. de. et al. Síntese e emprego do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{PPh}_3)]$ em processos catalíticos envolvendo a preparação de derivados da uréia e de alcóxicarbonil complexos. **Eclética Química**, v. 31, n. 3, p. 75-81, 2006.

MA, Z. et al. Global tuberculosis drug development pipeline: the need and the reality. **The Lancet**, v. 375, n. 9731, p. 2100-2109, 2010.

MAIA, P. I. S. et al. Palladium(II) complexes with thiosemicarbazones. Syntheses, characterization and cytotoxicity against breast cancer cells and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 7, p. 1177-1186, 2010.

MARTINEZ, I. **Caracterização de duas cepas de *Trypanossoma cruzi* CHAGAS, 1909 (KINETOPLASTIDAE) isoladas de exemplares de *Triatoma rubrovaria* (BLANCHARD, 1843) (HEMIPTERA, REDUVIIDA) coletadas em ambiente silvestre**. 2004. 85 f. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

MAURO, A. E. et al. Cycloaddition reaction of the azido-bridged cyclometallated complex $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{N}_3]_2$ with CS_2 . Crystal and molecular structure of $\text{di}(\mu, \text{N}, \text{S}-1,2,3,4\text{-thiatriazole-5-thiolate})\text{bis}[(\text{N}, \text{N}-\text{dimethylbenzyl-amine}-\text{C}^2, \text{N})\text{palladium}(\text{II})]$. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 521-528, 1999.

MENTES, A. et al. The synthesis and crystal structures of $\text{di-}\mu\text{-dichlorobis}\{[N, N\text{-dimethylaminobenzyl}-\text{C}^1, \text{N}]\text{dipalladium}(\text{II})\}$ and of the cocrystals of $\{\text{chloro}-(\text{triphenylphosphino})\text{-bis}[N, N\text{-dimethylaminobenzyl}-\text{C}^1, \text{N}]\text{palladium}(\text{II})\}$ and $\{\text{trans-bis}(\text{triphenylphosphino})\text{-chloro-}[N, N\text{-dimethylaminobenzyl}-\text{C}]\text{palladium}(\text{II})\}$. **Journal of Molecular Structure**, v. 693, p. 241-246, 2004.

MESSINA, M. T. et al. Infrared and Raman analyses of the halogen-bonded non-covalent adducts formed by α, ω -diiodoperfluoroalkanes with DABCO and other electron donors. **Journal of Molecular Structure**, v. 524, p. 87-94, 2000.

MORO, A. C. et al. Antitumor and antimycobacterial activities of cyclopalladated complexes: X-ray structure of $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-dmba})(\text{Br})(\text{tu})]$ ($\text{dmba} = N, N\text{-dimethylbenzylamine}$, $\text{tu} = \text{thiourea}$). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4611-4615, 2009.

MORO, A. C. et al. Binuclear cyclopalladated compounds with antitubercular activity: synthesis and characterization of $[\{\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-dmba})(\text{X})\}_2(\mu\text{-bpp})]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{NCO}, \text{N}_3$; $\text{bpp} = 1,3\text{-bis}(4\text{-pyridyl})\text{propane}$). **Journal of Coordination Chemistry**, v. 65, n. 8, p. 1434-1442, 2012.

MORRISON, B. E.; MAJDZADEH, N.; D'MELLO, S. R. Histone deacetylases: focus on the nervous system. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 17, p. 2258-2269, 2007.

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.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL-RUIZ, J. J.; GÓMES-BARRIO, A. Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Parasitology Research**, v. 86, p. 999-1002, 2000.

MURAOKA, T. K. et al. Compostos heterometálicos. Interação do tricarbonil com ligação W-Hg, $[WCl(CO)_3(bipy)(HgCl)]$, com tiouréias. **Eclética Química**, v. 22, p. 75-82, 1997.

THE OPEN UNIVERSITY. **Ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi***. Geneva, 2008. Disponível em: <<http://labspace.open.ac.uk/mod/resource/view.php?id=459540>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

OTWINOWSKI, Z.; MINOR, W. Processing of X-ray diffraction data collected in oscillation mode. **Methods in Enzymology**, v. 276, p. 307-326, 1997.

PAIM, A. C. Parede celular de peptideoglicano. **Ciência da Vida**, 2008. Disponível em: <<http://setimocientista.blogspot.com.br/2013/02/caracteristicas-dos-organismos-do-reino.html>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

PAIVA, F. P. de; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**. Salvador: Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, 2005. Disponível em: <www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio_apostilha.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2013.

PANDOLFI, J. R. et al. Tuberculose e o estudo molecular da sua epidemiologia. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2007.

PARR, R. G.; PEARSON, R. G. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 105, n. 26, p. 7512-7516, 1983.

PASSOS, L. A. C. et al. Sobrevivência e infectividade do *Trypanosoma cruzi* na polpa de açaí: estudo *in vitro* e *in vivo*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 21, n. 2, p. 223-232, 2012.

PAVAN, F. R.; SATO, D. N.; LEITE, C. Q. F. An approach to the search for new drugs against tuberculosis. In: CARDONA, P-J. (Ed.). **Understanding tuberculosis: new approaches to fighting against drug resistance**. Rijeka: Intech, 2012. Cap. 5, p. 137-145.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533-3539, 1963.

PIMENTA, P. F. et al. Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. **Science**, v. 256, n. 5065, p. 1812-1815, 1992.

PINTO, M. C. et al. Attraction of the cutaneous leishmaniasis vector *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to host odour components in a wind tunnel. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 210-217, 2012.

QIN, Z. et al. Self-assembly of one-dimensional polymers by coordination and hydrogen bonding in palladium(II) complexes. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 77, p. 155-157, 1999.

RASSI, A. Jr.; RASSI, A.; LITTLE, W. C. Chagas' heart disease. **Clinical Cardiology**, v. 23, n. 12, p. 883-889, 2000.

RASSI, A. Jr.; RASSI, A.; MARIN NETO, J. A. Chagas disease. **The Lancet**, v. 375, n. 9723, p. 1388-1402, 2010.

RAY, S. et al. 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.

REDE BRASILEIRA DE PESQUISAS EM TUBERCULOSE. **A história da tuberculose**. Rio de Janeiro, 2002. Disponível em: <<http://redetb.org/>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 3. ed. Rio de Janeiro : Guanabara, 2010. p. 391.

RIMOLDI, A. et al. Morphological, biological and molecular characterization of three strains of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) isolated from *Triatoma sordida* (Stal) 1859 (Hemiptera, Reduviidae) and a domestic cat. **Parasitology**, v. 139, p. 37-44, 2012.

ROCHA, M. C. et al. Citotoxicity and immune response induced by organopalladium(II) compounds in mice bearing Ehrlich ascites tumour. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1473-1480, 2007.

RODRIGUES, E. G. et al. Cyclopalladated compounds as chemotherapeutic agents antitumor activity against a murine melanoma cell line. **International Journal of Cancer**, v. 107, p. 498-504, 2003.

ROSEMBERG, J. Tuberculose - aspectos históricos, realidades, seu romantismo e transculturação. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 7, n. 2, p. 5-29, 1999.

SANTANA, A. M. et al. 1,3-Dipolar cycloaddition of CS₂ to the coordinated azide in the cyclopalladated [Pd(bzan)(μ-N₃)]₂. Crystal and molecular structure of di(μ, N,S-1,2,3,4-thiatriazole-5-thiolate)bis[(benzylideneaniline-C²,N)palladium(II)]. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 163-172, 2001.

SANTANA, A. M. et al. Self-assembly of cyclometallated Pd(II) compounds directed by C–H···π interactions: a structural evidence for metalloaromaticity in a cyclopalladated ring. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 14, p. 83-86, 2011.

SANTOS, V. A. F. F. M. et al. Antiprotozoal sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 5, p. 991-995, 2012.

SAUVE, A. A. et al. Chemical activation of Sir2-dependent silencing by relief of nicotinamide inhibition. **Molecular Cell**, v. 17, n. 4, p. 595-601, 2005.

SHELDRICK, G. M. **SHELXL-97**: program for crystal structure analysis. Göttingen: Universit of Göttingen, 1997a.

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

SILVA, M. A. da; NAI, G. A.; ROSA, J. A. da. Caracterização biológica e molecular de quatro cepas de *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes na fase crônica, forma cardíaca da doença de Chagas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 35, n. 3, p. 213-226, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. p. 133-137.

SOUZA, R. A. de. **Potencialidades biológicas e aspectos estruturais de compostos contendo paládio(II) e isonicotinamida**. 2008. 75 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

SOUZA, R. A. de. et al. Antimycobacterial and antitumor activities of palladium(II) complexes containing isonicotinamide (isn): X-ray structure of *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 4863-4868, 2010.

SOUZA, R. A. de. et al. Synthesis, characterization, and thermal behavior of palladium(II) coordination compounds containing isonicotinamide. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, p. 375-378, 2011.

SOUZA, W. de (Coord.). **Doenças negligenciadas**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2010. 56 p.

SPENCER, J. et al. Synthesis of a 1,4-benzodiazepine containing palladacycle with *in vitro* anticancer and cathepsin B activity. **Dalton Transactions**, v. 2009, n. 22, p. 4299-4303, 2009.

STEVANATO, A.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V. Thermal and spectroscopic investigation on *N,N*-dimethylbenzylamine based cyclopalladated compounds containing isonicotinamide. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, p. 149-152, 2009.

SÜLSEN, V. P. et al. Trypanocidal and leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from *Ambrosia tenuifolia* Sprengel (Asteraceae). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2415-9, 2008.

TONIN, L. T. D. et al. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of novel N-alkyl-(1-phenylsubstituted- β -carboline)-3-carboxamides. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 64, n. 6, p. 386-389, 2010.

TREU FILHO, O. et al. Theoretical and experimental study of the infrared spectrum of isonicotinamide. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 763, p. 175-179, 2006.

UNIVERSIDAD DE GRANADA. Facultad de Ciencias. Departamento de Química Orgánica. **Elucidación estructural**: resonancia magnética nuclear (equivalencia química). Granada. Disponível em: <<http://www.ugr.es/~quiorred/espec/eq.htm>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

VARELLA, M. Droga que trata Mal de Chagas pode faltar no Brasil e no mundo. **Folha de S. Paulo**, São Paulo, 5 nov. 2011. Folha Equilíbrio e Saúde. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/985865-droga-que-trata-mal-de-chagas-pode-faltar-no-brasil-e-no-mundo.shtml>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

WALTON, R. A. Complexes of alkyl and aryl cyanides. Part VI. The vibrational spectra of $\text{MX}_2 \cdot 2\text{RCN}$, 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.

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.

WENZEL, M. et al. Multinuclear cytotoxic metallodrugs: physicochemical characterization and biological properties of novel heteronuclear gold–titanium complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 50, n. 19, p. 9472-9480, 2011.

WERNECK, G. L. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 4, p. 644-645, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Are the number of cancer cases increasing or decreasing in the world?** Geneva, 2008. Disponível em: <<http://www.who.int/features/qa/15/en/index.html>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Tuberculosis Report 2012**. Geneva, 2012. 89 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Geneva, 2013a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/index.html>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

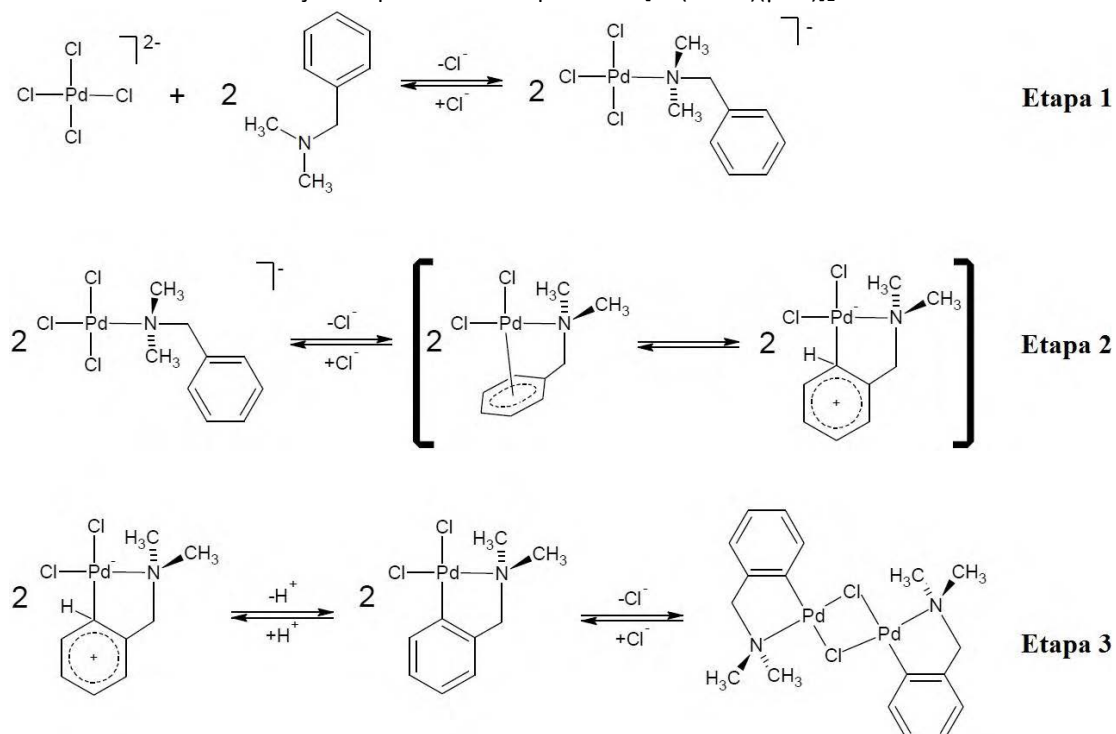
WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Geneva, 2013b. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/>>. Acesso em: 28 jun. 2013.

WU, D-Y. et al. Density functional study and normal-mode analysis of the bindings and vibrational frequency shiftsof the pyridine–M (M = Cu, Ag, Au, Cu^+ , Ag^+ , Au^+ , and Pt) complexes. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 106, n. 39, p. 9042-9052, 2002.

ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. J. New metal complexes as potential therapeutics. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.7, p. 481-489, 2003.

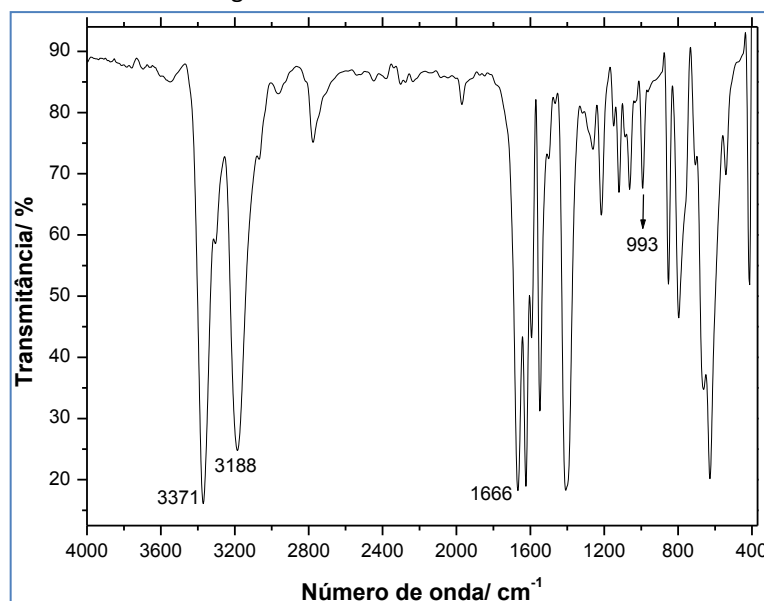
APÊNDICE

Figura 1 – Mecanismo de formação do precursor ciclopaladado $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$.



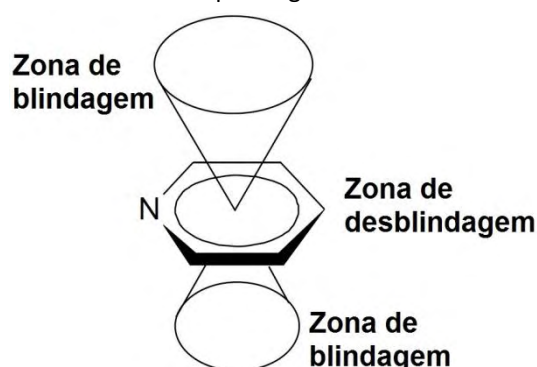
Mecanismo proposto por três etapas. **Etapa 1:** a partir de uma reação entre $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ e a amina *N,N*-dimetilbenzilamina (DMBA), há a formação de um composto de coordenação envolvendo uma ligação Pd–N. **Etapa 2:** ataque nucleofílico do Pd(II) ao anel aromático, sendo que o uso da base trietilamina catalisa o processo abstraindo o hidrogênio a ser substituído. **Etapa 3:** a posição *orto* é a mais suscetível à substituição eletrofílica por possibilitar a formação de uma espécie cíclica com cinco membros, mais estável termodinamicamente. *Figura elaborada pelo autor, adaptada de Caires; Mauro (1996).*

Figura 2 – Espectro vibracional no IV do ligante isonicotinamida livre.



Espectro obtido em KBr. *Figura elaborada pelo autor.*

Figura 3 – Representação esquemática da anisotropia magnética envolvendo o anel piridinico.



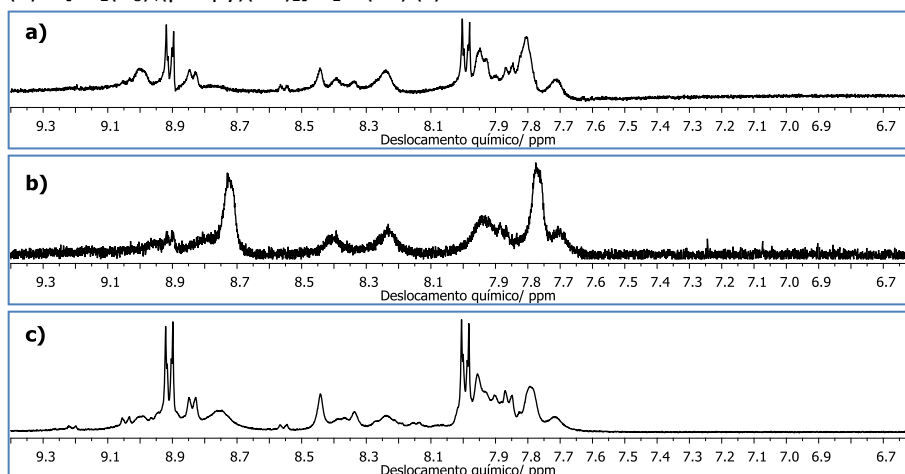
Os prótons do heterociclo são desprotegidos magneticamente devido à circulação dos elétrons π , que induzem um campo magnético local direcionado em sentido oposto ao campo magnético externo aplicado durante a medida de RMN – campo magnético externo saindo do plano do anel e campo gerado pelo movimento circular dos elétrons π entrando no plano do anel, por exemplo.

A zona cônica de blindagem (acima e abaixo do plano do anel) favorece uma maior proteção magnética sobre os núcleos que estiverem sob a sua influência, resultando em deslocamentos químicos numericamente menores do que o esperado. Quanto maior a densidade eletrônica no ambiente desses hidrogênios mais blindados eles estarão e, portanto, precisarão de uma frequência mais baixa para entrar em ressonância. Com isso, apresentarão deslocamentos químicos situados em campo mais alto (menores valores).

Na região de desblindagem ocorre o efeito contrário.

Figura elaborada pelo autor.

Figura 4 – Espectros de RMN de ^1H dos compostos $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**8**) (a), $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-teda})(\text{isn})_2]$ (**9**) (b) e $[\text{Pd}_2(\text{N}_3)_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**10**) (c).



Espectros obtidos em d_6 -DMSO, a 11,7 T e 28 °C. Ampliações das regiões aromáticas entre 9,40 e 6,60 ppm. Para o composto $[\text{Pd}_2(\text{SCN})_4(\mu\text{-bipy})(\text{isn})_2]$ (**11**) não foi possível obter o espectro de RMN de ^1H , devido a baixa solubilidade da amostra. Figura elaborada pelo autor.

Tabela 1 – Dados cristalográficos e dos refinamentos obtidos para o composto [Pd(dmba)Cl(4cnpy)] (**21**).

Fórmula empírica	C ₁₅ H ₁₆ N ₃ ClPd
Massa molecular	380,16 g mol ⁻¹
Temperatura da coleta	293(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	Pc
Dimensões da cela unitária	a= 6,0190(4) Å b= 12,7910(8) Å β= 105,907(4) ° c= 10,4550(6) Å
Volume	774,10(8) Å ³
Z	2
Densidade (calculada)	1,631 g cm ⁻³
Tamanho do cristal	0,345×0,176×0,044 mm ³
Intervalo de θ para a coleta dos dados	2,58 a 25,99 °
Intervalo dos índices hkl	-7 ≤ h ≤ 7, -15 ≤ k ≤ 14, -12 ≤ l ≤ 12
F(000)	380
Reflexões coletadas	10.182
Reflexões independentes	2.962 [R(int)= 0,0956]
Totalidade para θ= 25,99 °	98,4%
Método de refinamento	Mínimos-quadrados
Dados / restrições / parâmetros	2.962 / 2 / 185
GOF	1,079
Índices R final [I > 2σ(I)]	R1= 0,0529, wR2= 0,1268
Índices R (todos os dados)	R1= 0,0633; wR2= 0,1466
Parâmetro estrutural absoluto	0,36(7)
Coeficiente de extinção	0,300(19)
Coeficiente de absorção	1,364 mm ⁻¹
Densidade residual máxima, e mínima	1,326 e Å ⁻³ , e -1,167 e Å ⁻³

Tabela elaborada pelo autor.

REFERÊNCIA

CAIRES, A. C. F.; MAURO, A. E. Compostos ciclometalados de coordenação intramolecular. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 59-72, 1996.

ANEXO

1 ATIVIDADE FRENTE AO *Mycobacterium tuberculosis*

Preparação da suspensão bacteriana

A cepa de *M. tuberculosis* foi cultivada em caldo Middlebrook 7H9 (Difco™) enriquecido com OADC (BD/BBL®) e incubada por aproximadamente 10 dias, a 37 °C.

Na sequência, coletou-se a suspensão de micobactérias, promovendo-se lavagens (duas vezes) com o tampão PBS acrescido de Tween 80 (Interlab) a 0,05%, por centrifugação (15 min., 3150 *g*). O sedimento obtido foi resuspenso em 50 mL do tampão supracitado, e então alíquotas foram dispostas em microtubos, que foram congelados a -80 °C.

Após congelamento de dois dias dos microtubos, aferindo-se o controle de qualidade da viabilidade celular, semeou-se 100 µL da suspensão pura e de suas diluições a 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} e a 10^{-8} , em placas de três quadrantes contendo meio Middlebrook 7H11 (Difco™), acrescido de 10% de OADC. As placas foram incubadas em estufa (37 °C, 5% de CO₂) por 20 dias para a realização da contagem das unidades formadoras de colônias/mL (UFC mL⁻¹).

Solução reveladora

Foi preparada instantes antes de ser usada, a partir de uma mistura 1:1 (volume/volume) de azul de Alamar (Accumed International) e Tween 80 (Sigma) a 10%.

Determinação da CIM em microplaca utilizando azul de Alamar como revelador

A determinação da CIM foi realizada segundo a técnica proposta por Collins e Franzblau (1997), denominada MABA. Em uma microplaca estéril de 96 poços, distribuída em oito fileiras horizontais e doze verticais, foram introduzidos 200 µL de água destilada estéril em todos os poços da periferia da microplaca, para evitar a evaporação durante a incubação na estufa. Para os demais poços, colocou-se 200 µL em cada poço, entre caldo Middlebrook 7H9 suplementado com OADC, solução do complexo em DMSO e a suspensão bacteriana.

Os controles necessários foram:

- a) Controle do meio (200 µL do caldo Middlebrook 7H9, sem bactérias);

- b) Controle positivo (100 μ L do caldo Middlebrook 7H9 + 100 μ L de suspensão bacteriana);
- c) Controle da droga (150 μ L do caldo Middlebrook 7H9 + 50 μ L do composto a ser testado).

As placas foram, então, seladas com *parafilm* e incubadas por sete dias (37 °C, 5% de CO₂).

Após esse período, foram adicionados 25 μ L do indicador azul de Alamar em cada poço e as placas foram incubadas novamente por 24 h.

Transcorrido esse tempo, a fluorescência decorrente dos eventos bioquímicos, de cada poço, foi medida no leitor de microplacas SPECTRAFLUOR (Tecan®).

A manutenção da cor azul nos poços é diretamente relacionada com a ausência de crescimento bacteriano, enquanto que o desenvolvimento de uma coloração rósea se relaciona ao crescimento bacteriano. Portanto, quando as bactérias aeróbicas estão vivas –consumindo oxigênio molecular –, o indicador azul de Alamar adquire a cor rosa, pois está em sua forma reduzida. Por outro lado, ao ocorrer a inibição do crescimento bacteriano, o meio de cultura permanecerá rico em O₂, que irá, então, oxidar o indicador – tornando-o azul. A CIM é então definida como a menor concentração do composto capaz de impedir a mudança de cor, de azul para rosa.

REFERÊNCIA

COLLINS, L. A.; FRANZBLAU, S. G. Microplate alamar blue assay versus BATEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 5, p. 1004-1009, 1997.

2 PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Protocolo CEUA/FCF/CAr nº 26/2012

Pesquisador: RODRIGO ALVES DE SOUZA

Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro

Projeto: *Design* de complexos contendo paládio(II) e cobre(I): investigação de suas potencialidades biológicas

Experimento: Avaliação da citotoxicidade de compostos de paládio(II) frente a macrófagos obtidos de exsudado peritoneal de camundongos

Parecer nº 43/2012 – Comissão de Ética no Uso de Animais

A Comissão de Ética no Uso de Animais desta Faculdade, reunida em 23 de julho de 2012, considerou que o protocolo para uso de animais na pesquisa: “Avaliação da citotoxicidade de compostos de paládio(II) frente a macrófagos obtidos de exsudado peritoneal de camundongos”, apresentado pelo pós-graduando Rodrigo Alves de Souza, sob orientação do Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro, do Departamento de Química Geral e Inorgânica, do Instituto de Química/ Unesp, esta estruturado dentro dos princípios éticos na experimentação animal do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, manifestando-se FAVORÁVEL à sua execução.

O relatório final do protocolo de pesquisa deverá ser entregue em MAIO de 2013, em formulário próprio para esse fim.

Araraquara, 24 de julho de 2012.



ProfªDrª ALEXANDRA IVO DE MEDEIROS
Vice-Coordenadora da CEUA