

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

ARIELLY SAMARA PEREZ

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE UM NOVO
COMPOSTO DE PALÁDIO (II), CONTENDO LIGANTE TIOSSEMICARBAZONA
DE VANILINA FUNCIONALIZADA COM N-ETILPIPERIDINA**

Araraquara
2025



ARIELLY SAMARA PEREZ

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE UM NOVO
COMPOSTO DE PALÁDIO (II), CONTENDO LIGANTE TIOSSEMICARBAZONA
DE VANILINA FUNCIONALIZADA COM *N*-ETILPIPERIDINA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Instituto de Química,
Araraquara, para obtenção do título de
Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de
Godoy Netto
Supervisora: MSc. Ana Beatriz Lazzarini

Araraquara

2025

P438s	<p>Perez, Arielly Samara</p> <p>Síntese, Caracterização e Avaliação Citotóxica de um Novo Composto de Paládio (II), Contendo Ligante Tiossemicarbazona de Vanilina Funcionalizada com N-Etilpiperidina / Arielly Samara Perez. -- Araraquara, 2025</p> <p>87 p.</p> <p>Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Química) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara</p> <p>Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto</p> <p>1. Química Bioinorgânica. 2. Agentes Antineoplásticos. 3. Paládio. 4. Tiossemicarbazonas. 5. Piperidinas. I. Título.</p>
-------	---


ARIELLY SAMARA PEREZ

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE UM NOVO
COMPOSTO DE PALÁDIO (II), CONTENDO LIGANTE TIOSSEMICARBAZONA
DE VANILINA FUNCIONALIZADA COM N-ETILPIPERIDINA**


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Instituto de Química, Araraquara, para obtenção
do título de Bacharel em Química.

Data da defesa: 02 / 12 / 2025


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO**
Data: 11/12/2025 17:45:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Documento assinado digitalmente
 **ISABELE RODRIGUES NASCIMENTO**
Data: 12/12/2025 09:38:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Isabele Rodrigues Nascimento

Documento assinado digitalmente
 **DOUGLAS FAZA FRANCO**
Data: 12/12/2025 09:27:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Douglas Faza Franco

Dedico esse trabalho aos meus ancestrais, educadores, ao meu amor, família e amigos, que sempre vibraram e me acompanharam na minha jornada.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro, devo agradecer a todos meus ancestrais, que tocaram ou tocam o solo desta terra, senão fossem pelas suas lutas e orientações jamais estaria aqui, realizando nosso sonho.

Um agradecimento a minha mãe e avós, por sempre me auxiliarem tanto e me inspirarem a ser a mulher que estou me tornando, sou grata por me ensinarem a nunca abaixar a cabeça e sempre questionar.

Aos meus irmãos, que mesmo com todos altos e baixos, sempre estiveram me apoiando e vibrando por mim.

Um agradecimento a todos professores que já me educaram e me incentivaram na busca incessante pelo conhecimento, graças a vocês minha curiosidade nunca morreu. Em especial ao Prof.Dr.Adelino Vieira de Godoy Netto, por me orientar durante toda a graduação neste projeto e, a Prof. Vivian M. Barbosa que foi a primeira a tocar minha curiosidade e, sempre apoiou meu sonho (na época tão distante) do mundo acadêmico.

Um agradecimento ao meu amor, que esteve ao meu lado desde o primeiro mês nesta instituição, sempre me apoiando e me incentivando a me tornar minha melhor versão.

Agradeço a República ÉternaMente e Caverna, por me acolherem e serem uma segunda família para mim nesta cidade, me proporcionando os melhores anos da minha vida.

Agradeço a coordenadoria de permanência estudantil, por me darem todo auxílio necessário durante a graduação, permitindo que concluísse esta etapa.

Agradeço a todos meus companheiros de laboratório do grupo de química de coordenação e organometálicos, Wladimir, Ana Maria, Pedro, Andressa, Alexandre, Thales, Gabriel e, em especial, a Ana Beatriz que esteve ao meu lado desde o primeiro dia da iniciação científica, me apoiando e incentivando a ter este trabalho concluído.

Agradeço a MSc. Nádjia Natalice P. da Silva e o Dr. Fillipe V. Rocha do Laboratório de Compostos de Coordenação na Química Medicinal – UFSCar, pela realização dos ensaios de MTT, que contribuiu imensamente para a conclusão deste trabalho

E, um agradecimento especial, a todas matriarcas da minha linhagem, este trabalho é uma realização do nosso sonho conjunto, se meu pés aqui tocam é por que vocês vieram antes e lutaram por esse espaço, por mim e por quem vier depois.

“Minha *cabeça* recomenda que *conheças*.
Minhas *garras* recomendam que *ouses*.
Meus *flancos* recomendam que *queiras*.
Minhas *asas* recomendam que permaneçam em *silêncio*.”

(PAPUS, 2022, p. 133)¹

¹ **PAPUS**. *Tratado Elementar de Ciências Ocultas: a sabedoria desvelada sobre as teorias e os símbolos usados pelos antigos alquimistas, astrólogos, maçons e cabalistas*. Trad. Gilson César Cardoso de Sousa. 1. ed. São Paulo: Pensamento, 2022.

RESUMO

Neste trabalho, foi desenvolvido e caracterizado um novo complexo de paládio(II) derivado da tiossemicarbazona funcionalizada com *N*-etilpiperidina (ASP) visando explorar seu potencial como agente antitumoral alternativo aos compostos clássicos de platina. A síntese foi conduzida em duas etapas: inicialmente, a funcionalização da vanilina com cloridrato de *N*-(2-cloroetil)piperidina, seguida pela condensação com *N*-etiltiossemicarbazida para obtenção do ligante *N*-etil-2-(3-metóxi-4-(2-(piperidin-1-il)etóxi)benzilideno)hidrazina-1-carbotioamida (VP-TSC). O complexo metálico foi obtido pela reação estequiométrica entre VP-TSC, o precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ e triifenilfosfina (PPh_3), com posterior purificação por recristalização em sistema CHCl_3 /pentano e tratamento com solução ácida HCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ para remoção de aminas residuais. A caracterização estrutural foi realizada por meio de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{31}P , complementada por experimentos bidimensionais (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC e ^1H - ^{13}C HMBC), que confirmaram a formação da espécie $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]\text{Cl}$, com coordenação *N,S*-bidentada do ligante tiossemicarbazona. A condutividade molar em etanol ($\Lambda_m = 17,5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$) corroborou a natureza neutra do complexo. O composto demonstrou alta estabilidade em DMSO por 48 h, condição essencial para os ensaios biológicos. Por meio de estudos de interação com biomoléculas, o complexo reagiu de forma progressiva com guanosina, sendo evidenciado pelo deslocamento do próton H8 de 7,92 a 8,13, indicando coordenação ao *N7*. Contudo, não foi detectada interação significativa com DNA de fita dupla em tampão Tris-HCl (pH 7,2) por UV-Vis. Apesar disso, o complexo ASP exibiu notável atividade antiproliferativa contra a linhagem de câncer de ovário A2780 ($\text{IC}_{50} = 0,65 \pm 0,01 \mu\text{M}$), superando a cisplatina em torno de 17 vezes, e alto índice de seletividade (23,08) frente a células normais (MRC-5). Esses resultados podem sugerir um mecanismo de ação diferente daquele observado para a cisplatina, que, todavia, necessitam maiores estudos para compreensão. Diante do conjunto de evidências, o complexo ASP emerge como um candidato promissor para a continuidade de estudos visando o desenvolvimento de novos agentes antitumorais, tendo em vista ao seu perfil de alta potência, seletividade e potencial para contornar mecanismos de resistência frente a células tumorais de ovário resistente à cisplatina.

Palavras-chave: agentes antineoplásicos; paládio; tiossemicarbazonas; piperidinas.

ABSTRACT

In this study, a novel palladium(II) complex derived from an N-ethylpiperidine-functionalized thiosemicarbazone (ASP) was developed and characterized, aiming to explore its potential as an alternative antitumor agent to classical platinum-based compounds. The synthesis was carried out in two steps: first, vanillin was functionalized with N-(2-chloroethyl)piperidine hydrochloride, followed by condensation with N-ethylthiosemicarbazide to afford the ligand N-ethyl-2-(3-methoxy-4-(2-(piperidin-1-yl)ethoxy)benzylidene)hydrazine-1-carbothioamide (VP-TSC). The metal complex was obtained via stoichiometric reaction of VP-TSC with the precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ and triphenylphosphine (PPh_3), followed by purification through recrystallization from a CHCl_3 /pentane system and treatment with 0.05 mol L^{-1} HCl to remove residual amines. Structural characterization was performed by ^1H , ^{13}C , and ^{31}P NMR spectroscopy, complemented by two-dimensional experiments (^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, and ^1H - ^{13}C HMBC), confirming the formation of the $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]\text{Cl}$ species, in which the thiosemicarbazone ligand coordinates in an N,S-bidentate fashion. Molar conductivity in ethanol ($\Lambda_m = 17.5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$) corroborated the neutral nature of the complex. The compound exhibited high stability in DMSO over 48 h, a prerequisite for subsequent biological assays. Biomolecular interaction studies revealed progressive reactivity with guanosine, evidenced by the downfield shift of the H8 proton from 7.92 to 8.13 ppm, indicating coordination at N7. However, no significant interaction with double-stranded DNA was detected in Tris-HCl buffer (pH 7.2) by UV-Vis spectroscopy. Notably, the ASP complex displayed remarkable antiproliferative activity against the ovarian cancer cell line A2780 ($\text{IC}_{50} = 0.65 \pm 0.01 \mu\text{M}$), approximately 17-fold more potent than cisplatin, and exhibited a high selectivity index (23.08) toward normal cells (MRC-5). These findings suggest a mechanism of action distinct from that of cisplatin, although further investigations are required to elucidate the underlying pathways. Collectively, the ASP complex emerges as a promising candidate for continued development as a novel antitumor agent, given its high potency, selectivity, and potential to circumvent resistance mechanisms in cisplatin-resistant ovarian cancer cells.

Keywords: anticancer agents; palladium; thiosemicarbazone; piperidine.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 O Câncer: Um Problema de Saúde.....	10
1.2 Química de Coordenação e Bioinorgânica	13
1.3 Metalofármacos: Uma Alternativa Antineoplástica	14
1.4 Complexos de Paládio: Uma Alternativa a Cis-Platina	18
1.5 Tiossemicarbazonas Bioativas.....	20
1.6 Vanilina: Uma Plataforma Funcionalizável	24
2 HIPÓTESE	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo Geral	30
3.2 Objetivos Específicos.....	30
4. METODOLOGIA	31
4.1 Síntese Da Tiossemicarbazona Derivada De Vanilina Funcionalizada Com N-Etilpiperidina (VP-TSC).....	31
4.2 Síntese Do Complexo Metálico Com Pd(II) (ASP)	32
4.3 Caracterizações	32
4.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	32
4.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	32
4.3.3. Estudo da estabilidade dos complexos em solução.....	33
4.3.4. Espectroscopia de massas	33
4.3.5. Análise de condutividade molar	33
4.4 Análise Da Interação Com Biomoléculas.....	33
4.4.1. Titulação Espectrofotométrica com DNA	33
4.4.2. Reação com guanosina	34
4.4.3. Viabilidade Celular.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1 Síntese Do Ligante VP-TSC	35
5.2 Síntese Do Complexo Com Pd (II)	37
5.3 Purificação Do Complexo	38
5.4 Análise De Infravermelho (FTIR)	40
5.5 Condutividade Molar (ΔM)	46

5.6 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	47
5.6.1. <i>RMN ¹H</i>	47
5.6.2. <i>RMN ³¹P</i>	53
5.6.3. <i>RMN ¹³C</i>	54
5.6.4. <i>Análise Bidimensional COSY</i>	57
5.6.5. <i>Análise Bidimensional HSQC</i>	60
5.6.6. <i>Análise Bidimensional HMBC</i>	62
5.7 ESPECTROSCOPIA DE MASSAS	65
5.8 Teste De Estabilidade Química Em Solução (RMN ¹H)	69
5.9 Testes Biológicos	71
5.9.1. <i>Titulação Espectrofotométrica com DNA</i>	71
5.9.2. <i>Reação com guanosina</i>	73
5.9.3. <i>Testes de Viabilidade celular</i>	77
6 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	81

1 INTRODUÇÃO

1.1 O Câncer: Um Problema De Saúde.

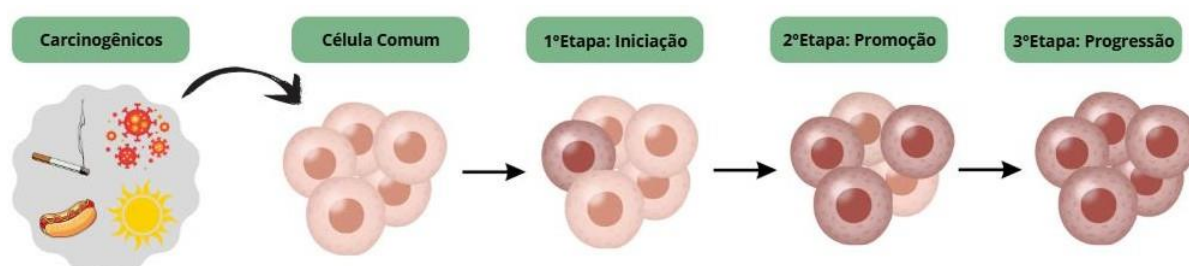
Segundo estimativas recentes da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2023), o câncer, atualmente, representa um dos maiores desafios de saúde pública mundial. Essa enfermidade, a qual é caracterizado por um conjunto de doenças marcadas pelo crescimento celular descontrolado e, pela capacidade de invasão de tecidos e órgãos adjacentes (quando atinge o ponto de metástase), é responsável por milhões de mortes anualmente e apresenta tendência crescente de incidência nas próximas décadas, impulsionada pelo envelhecimento populacional e por fatores ambientais e de estilo de vida (Santos et al., 2023)

No cenário brasileiro, dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2023) apontam para um aumento contínuo no número de novos casos, refletindo tanto mudanças demográficas quanto desigualdades no acesso à prevenção e ao tratamento. Apesar dos avanços no diagnóstico precoce e nas modalidades terapêuticas, incluindo cirurgia, radioterapia e quimioterapia, muitos tipos de câncer ainda apresentam prognóstico desfavorável, seja pela resistência adquirida aos fármacos convencionais, seja pelos efeitos colaterais severos associados a esses tratamentos. Nesse contexto, a busca por novas abordagens terapêuticas mais eficazes e seletivas constitui uma necessidade urgente no cenário da pesquisa biomédica contemporânea (SUNG *et al.*, 2021)

Sabendo-se que, as células que compõem nossos tecidos passam por um processo de crescimento organizado, multiplicação e, posteriormente, uma morte programada, o câncer passa a ser uma doença resultante de alterações genéticas e epigenéticas, ou seja, mudanças na expressão gênica, que podem ou não alterar a sequência de DNA e, que podem ser herdadas e influenciam em como os genes são ativados e desativados, que conferem a determinadas células a capacidade de escapar desses mecanismos regulatórios (Hanahan; Weinberg, 2011). Essas alterações permitem a proliferação contínua, a evasão da apoptose e a formação de massas tumorais, que podem comprometer funções vitais do organismo. Além disso, a heterogeneidade tumoral e a habilidade dessas células em desenvolver resistência a tratamentos convencionais tornam o câncer não apenas complexo do ponto de vista biológico, mas também um dos maiores obstáculos contemporâneos no desenvolvimento de terapias eficazes (INCA, 2023).

O crescimento tumoral ocorre de forma lenta, sendo denominado como carcinogênese ou oncogênese e, de modo geral, segue três etapas principais: a iniciação, promoção e progressão (Esquema 1). Este modelo foi inicialmente proposto por Berenblum e Shubik (1947) em estudos com camundongos expostos a agentes químicos.

Esquema 1: Representação dos estágios que compõem a oncogênese.



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

A iniciação representa a etapa primária do processo carcinogênico e consiste em uma modificação permanente e essencialmente irreversível na sequência do DNA (ácido desoxirribonucleico), resultante da interação com agentes químicos mutagênicos, em geral, espécies eletrofílicas ou capazes de gerar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (BERENBLUM & SHUBIK, 1947). Esses agentes reagem covalentemente com nucleobases, ou induzem lesões oxidativas que, quando não reparadas pelos sistemas celulares de manutenção, tornam-se mutações fixas no genoma. Uma vez incorporada, essa alteração é replicada com fidelidade durante a divisão celular, sendo transmitida de forma estável às células-filhas, mesmo na ausência contínua do agente indutor (COHEN & ELLWEIN, 1991). Apesar de não conferir imediatamente um fenótipo tumoral, a célula iniciada carrega uma carga mutacional latente que a torna particularmente suscetível à expansão clonal quando exposta a sinais proliferativos, como os mediados por agentes promotores (BALMAIN & PRAGNELL, 1983). Nesse contexto, a iniciação é, portanto, um evento quimicamente determinado, cuja eficiência depende da reatividade do composto, da formação de adutos estáveis com o DNA e da capacidade da célula em reparar ou tolerar o dano induzido.

A etapa de iniciação está diretamente relacionada a fatores genéticos, principalmente quando combinados a exposição cumulativa a agentes carcinogênicos externos, por exemplo, a exposição à radiação UV e ionizante, componentes da fumaça do tabaco, substâncias contaminantes presentes na água e alimentos, infecções causadas por certos vírus, bactérias ou parasitas e envelhecimento (Velasques, 2022).

A promoção constitui a segunda etapa do processo carcinogênico e é caracterizada por ser reversível, não genotóxica e dependente da exposição contínua e prolongada a agentes denominados promotores. Diferentemente dos iniciadores, que causam lesões diretas e irreversíveis no DNA, os promotores não interagem covalentemente com o material genético. Em vez disso, atuam por meio de mecanismos epigenéticos, como ativação de vias de sinalização proliferativa, inibição da apoptose ou indução de estresse oxidativo crônico, favorecendo a expansão clonal de células já iniciadas (Cohen & Ellwein, 1991; Pitot & Dragan, 1991). A promoção requer exposição sustentada; a interrupção do contato com o promotor em fases precoces geralmente leva à regressão das lesões pré-neoplásicas, confirmando a reversibilidade do processo (Balmain & Pragnell, 1983).

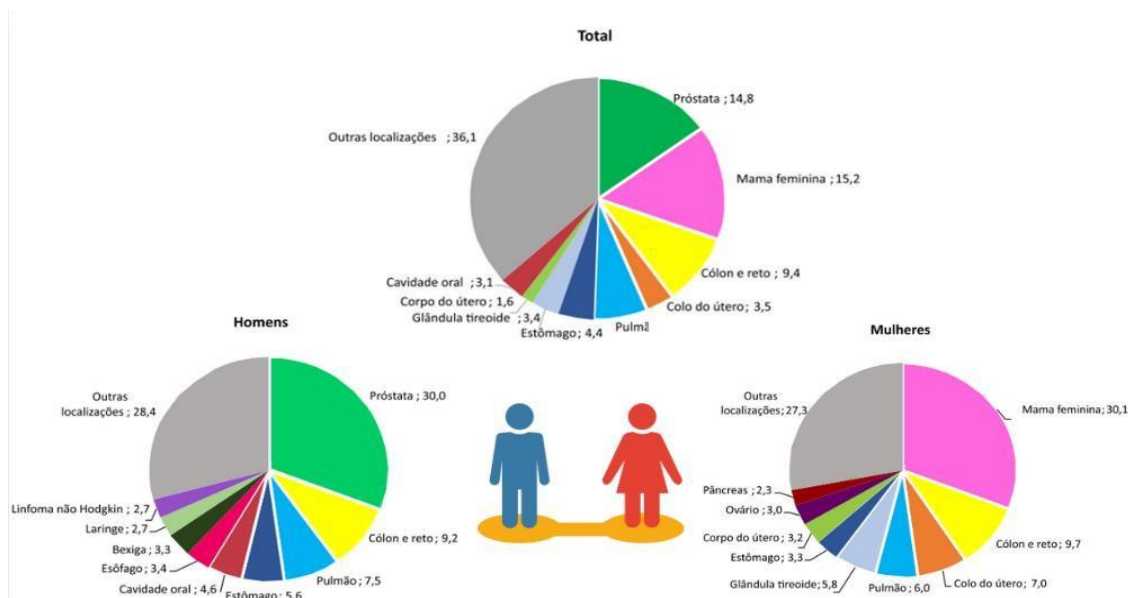
A Progressão é o terceiro estágio e fase final da oncogênese. Esta, por sua vez, é caracterizada pela transformação de uma lesão pré-neoplásica (uma condição pré-cancerosa, que indica um risco aumentado de desenvolver o câncer, caracterizado por alterações nas células que se multipliquem de forma anormal) em um tumor maligno invasivo e metastático (FOULDS, 1958). Nesta etapa, as células adquirem instabilidade genômica, heterogeneidade clonal e capacidade de invadir e colonizar outros tecidos. A progressão é irreversível e representa o estágio clínico do câncer (COHEN; ELLWEIN, 1991).

Segundo o INCA, são esperados 704 mil casos novos de câncer no Brasil para o triênio 2023-2025. Excluindo o câncer de pele não-melanoma, o número de casos novos projetados é de 483 mil, sendo deste valor, 49,5% (239 mil casos) são esperados para pessoas do sexo masculino e, 50,5% (244 mil casos) em pessoas do sexo feminino.

Para o sexo masculino, o câncer de próstata é o mais frequente, representando 30,0% dos casos, seguido por câncer de cólon e reto (9,2%), traqueia, brônquio e pulmão (7,5%), estômago (5,6%) e cavidade oral (4,6%). Enquanto para o sexo feminino, o câncer de mama é o mais prevalente, correspondendo a 30,1% dos casos,

o câncer de cólon e reto é o segundo mais frequente (9,7%), seguido por câncer do colo do útero (7,0%), traqueia, brônquio e pulmão (6,0%) e tireoide (5,8%) (INCA).

Figura 1: Gráficos com estimativas para o número de casos de Câncer, no triênio 2023-2025, entre homens e mulheres no Brasil.



Fonte: Adaptado de Santos et al. (2023, p. 7), com base no original.

1.2 Química De Coordenação E Bioinorgânica

A Química de Coordenação constitui um dos pilares centrais da Química Inorgânica. Esta se dedica ao estudo das interações entre os centros metálicos com moléculas ou íons, o qual são denominados de ligantes (Godoy Netto, 2018). Desde os trabalhos pioneiros de Alfred Werner, no início do século XX, que estabeleceram os fundamentos estruturais e estereoquímicos dos complexos metálicos, essa área vem se consolidando como um campo dinâmico e interdisciplinar (Godoy Netto, 2018; Esteves, 2012)

O entendimento das propriedades eletrônicas, geométricas e reativas dos complexos de metais de transição permitiu avanços significativos em catálise, ciência dos materiais e, mais recentemente, em aplicações biomédicas. A capacidade desses metais em se coordenar a diferentes ligantes, modulando seletivamente suas propriedades físico-químicas, confere à Química de Coordenação um papel estratégico no desenvolvimento de novos compostos funcionais com relevância científica e tecnológica (Godoy Netto, 2018).

Dessa forma, a Química de Coordenação, expandindo-se nas últimas décadas, passou a assumir um papel central na interface com a Biologia, dando origem à Química Bioinorgânica, campo interdisciplinar que investiga tanto os metais presentes em sistemas biológicos naturais, responsáveis por processos vitais como transporte de oxigênio e catálise enzimática, quanto o desenvolvimento de complexos metálicos sintéticos com aplicação terapêutica. Nesse contexto, compostos à base de um centro metálico e que sejam bioativos surgem como exemplo notável da convergência entre essas áreas, explorando a versatilidade dos metais de transição na modulação das propriedades eletrônicas e estruturais dos ligantes, de modo a gerar compostos com potencial para atuação seletiva em alvos biomoleculares.

Com o avanço da resistência a medicamentos convencionais e os efeitos colaterais associados à quimioterapia clássica, especialmente no tratamento do câncer, cresce o interesse por compostos metálicos com ação farmacológica, os chamados metalofármacos. Esses complexos são capazes de interagir com biomoléculas por mecanismos que podem ser inacessíveis a espécies orgânicas, abrindo caminhos para o desenvolvimento de agentes mais seletivos e eficazes.

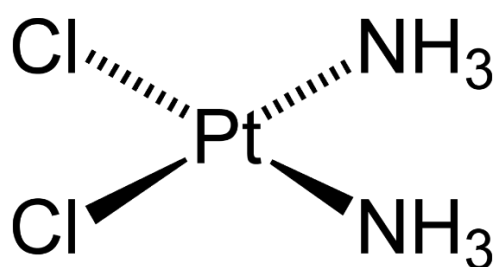
1.3 Metalofármacos: Uma Alternativa Antineoplástica

A quimioterapia, desde suas origens com os agentes alquilantes utilizados na Primeira Guerra Mundial, explora diversos mecanismos para combater o câncer por meio de fármacos que interagem diretamente com componentes celulares essenciais. Nesse contexto, os metalofármacos emergiram como uma área de pesquisa extremamente promissora (Santos *et al.*, 2020).

Historicamente, a descoberta da cisplatina (*cis*-diaminodicloroplatina(II)) por Barnett Rosenberg em 1965 marcou um ponto de virada na oncologia, estabelecendo a platina como núcleo importante na quimioterapia anticancerígena. Sua descoberta foi acidental: durante experimentos com eletrodos de platina em meio contendo NH_4^+ e Cl^- , formando-se o complexo *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, que demonstrou capacidade de inibir a divisão celular, se tornando eficaz contra diversos tipos de tumores, incluindo carcinomas testiculares e pulmonares, consolidando sua posição no arsenal clínico por décadas (MACIEL *et al.*, 2022).

Após comprovação de sua atividade antitumoral, a cisplatina tornou-se o primeiro metalofármaco aprovado pela FDA (1978) para uso clínico no tratamento de câncer (Dasari; Bernard Tchounwou, 2014).

Figura 2. Fórmula estrutural da *cis*-diaminobiscloridoplatina(II) (cisplatina)

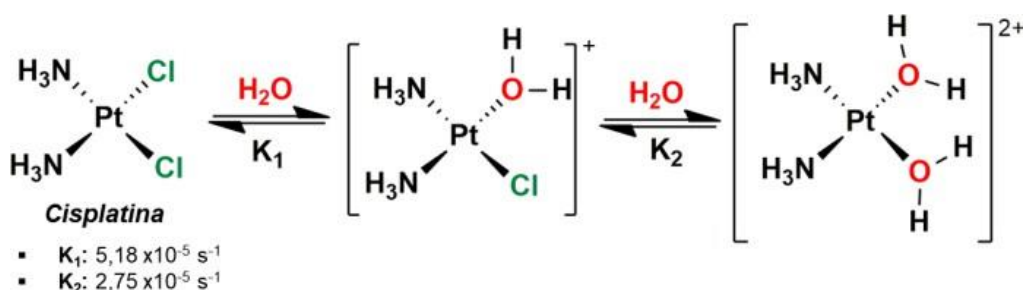


Fonte: elaborada pela autora, 2025.

Diversos estudos foram feitos, tentando desvendar os mecanismos de ação da cisplatina no meio biológico, sendo assim, foi iniciado também as proposições das relações estrutura-atividade do composto, destacando-se a importância da estereoespecificidade para a ação terapêutica (Velasques, 2022).

O mecanismo de ação da cisplatina envolve sua hidrólise em meio fisiológico, onde a baixa concentração de cloreto intracelular favorece a substituição dos ligantes Cl^- por moléculas de água, gerando espécies ativas (Esquema 2), capazes de interagir com bases nitrogenadas do DNA, principalmente via nitrogênio N7 guanina, promovendo a formação de *crosslinks* intra e inter-helicoidais, que bloqueiam a replicação e transcrição (Maciel et al., 2022).

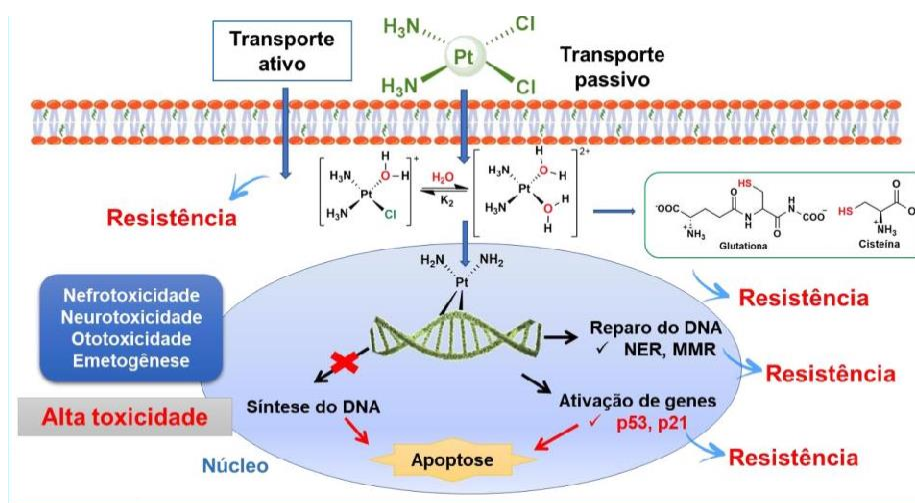
Esquema 2. Reação de hidrólise da cisplatina, formando suas espécies reativas.



Fonte. Velasques, 2022

Todavia, o sucesso clínico da cisplatina foi acompanhado por limitações significativas, principalmente relacionadas à toxicidade sistêmica, à resistência adquirida pelos tumores e à falta de especificidade celular, resultando em efeitos colaterais graves, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade e ototoxicidade (Maciel *et al.*, 2022). Muitos tumores desenvolvem resistência intrínseca ou adquirida, mediada por mecanismos como redução da captação celular, aumento da desintoxicação por glutatona ou reparo eficiente do DNA (Maciel *et al.*, 2022; “Cisplatin in Cancer Treatment...”) (Esquema 3).

Esquema 3: Proposta de mecanismo de ação para a cisplatina e possíveis mecanismos de resistência ao fármaco.



Fonte. Adaptado de Velasques, 2022

Para superar essas barreiras, a pesquisa expandiu-se para outros metais da tabela periódica, como rutênio, ósmio, ródio, irídio, zinco, cobre, prata, estanho e paládio, cada um oferecendo diferentes propriedades químicas e biológicas, iniciando-se assim, o desenvolvimento de análogos de segunda e terceira geração, visando superar limitações (Santos *et al.*, 2020). A carboplatina e a oxaliplatina, por exemplo, resultaram de modificações estruturais que preservam a geometria ativa, mas alteram a cinética de hidrólise, conferindo menor toxicidade e melhor perfil farmacocinético (Dasari; Bernard Tchounwou, 2014).

A forma com que os derivados da cisplatina de segunda e terceira geração, adentram o meio intracelular ainda não é totalmente esclarecida, um dos mecanismos propostos é através da difusão passiva, ou seja, o soluto presente no meio extracelular

passa pela membrana através de uma diferença de concentração entre o meio interno e externo (Esteves, 2012). Outro possível mecanismo, é através da afinidade do complexo pelas proteínas responsáveis pelo transporte de cobre, como as proteínas transportadoras de cobre de alta afinidade codificadas pelo gene CTR1, que do meio extracelular passará para o meio intracelular (Dasari; Bernard Tchounwou, 2014)

Dessa forma, o desenvolvimento de metalofármacos evoluiu através de três abordagens principais. A primeira, e mais antiga, é a modificação estrutural de agentes já existentes, como no caso da cisplatina, este caminho buscou melhorar a farmacocinética e reduzir a toxicidade, resultando na carboplatina e na oxaliplatina, previamente citadas, as quais são amplamente utilizados hoje (Godoy Netto, 2018)

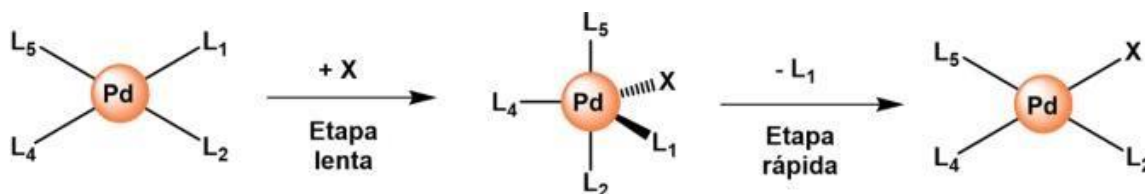
A segunda abordagem é a exploração de metais diferentes, focando na descoberta de novos mecanismos de ação que possam ser inerentes ao novo centro metálico. Esta estratégia reconhece que a atividade anticancerígena de um complexo metálico não reside apenas no ligante, mas também na interação sinérgica entre o metal e seus ligantes. O paládio, por exemplo, representa um candidato particularmente interessante nesta categoria, os compostos de paládio(II), como os derivados de tiossemicarbazonas, têm demonstrado potencial para induzir apoptose por meio da via mitocondrial, regulando a expressão de proteínas chave como Bcl-2 (Ferreira et al., 2023). Isso sugere um mecanismo de ação distinto da cisplatina, que geralmente é atribuído à formação de *crosslinks* no DNA.

A terceira abordagem, mais recente e avançada, é a construção de novos fármacos inteligentes. Neste paradigma, o metal atua como um catalisador ou sensor intracelular. Por exemplo, alguns complexos de platina podem gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) sob condições celulares específicas, permitindo uma citotoxicidade dependente do ambiente redox da célula cancerígena (Dasari; Bernard Tchounwou, 2014). Da mesma forma, complexos de cobre e ferro estão sendo explorados para ativar grupos funcionais de ligantes em resposta a EROs elevadas ou pH ácido presentes nos tumores, liberando agentes alquilantes de forma espacial e temporalmente controlada (Ferreira et al., 2023). Esta abordagem representa uma fronteira promissora, visando maximizar a seletividade e minimizar a toxicidade sistêmica.

1.4 Complexos De Paládio: Uma Alternativa A Cis-Platina

A comparação fundamental entre o paládio e a platina reside na sua posição no mesmo grupo do sistema periódico, o Grupo 10, o que lhes confere propriedades químicas e físicas semelhantes (Czarnomysy et al., 2021a; Mandal, 2025). Ambos os metais formam complexos quadrado-planar estáveis no estado de oxidação +2 (Pd(II) e Pt(II)), partilham uma configuração electrónica d^8 e têm comprimentos de ligação M-Cl muito próximos em compostos análogos, como $K_2[MCl_4]$, onde a ligação é de 2.316 Å para o Pt e 2.318 Å para o Pd (Czarnomysy et al., 2021a). Esta similaridade estrutural levou naturalmente à investigação do paládio(II) como um substituto promissor.

Esquema 4. Mecanismo associativo de substituição de ligantes em complexos quadráticos planares de paládio (II).



Fonte. Adaptado de Polez, 2023

No entanto, a sua principal característica diferenciadora, e simultaneamente o seu maior desafio, é a sua alta labilidade e conseqüente cinética de troca de ligantes. Os complexos de paládio(II) são, aproximadamente, 10^5 vezes mais rápidos a sofrer hidrólise e troca de ligantes do que os seus análogos de platina(II) (Kim et al., 2020; Marques, 2013). Esta alta reatividade significa que os complexos de paládio(II) podem ser instáveis no meio fisiológico, rapidamente a serem desativados por biomoléculas como proteínas e GSH (glutathiona reduzida) antes de chegarem ao seu alvo no DNA.

Historicamente, este fato explicou a falta de atividade antitumoral observada em isómeros *cis* simples como a *cis*-palladina (Zmejkovski; Pantelić; Kaluđerović, 2022).

Embora a platina(II) forme complexos cineticamente inertes e termodinamicamente estáveis, o paládio(II), também um ácido macio segundo a teoria HSAB (*Hard and Soft Acids and Bases*), exibe maior labilidade ligante, resultando em complexos menos inertes e mais reativos em meio biológico. (Kim et al., 2020).

Esta diferença fundamental na estabilidade cinética é o ponto de partida para toda a estratégia de design molecular moderna de complexos de Pd(II), focada para

estabilizar o centro metálico e permitir a sua sobrevivência no ambiente biológico. Transformando este obstáculo em uma oportunidade, desenvolvendo estratégias de design molecular inteligentes para construir complexos de Pd(II) estáveis e, acima de tudo, eficazes. Estas abordagens focam-se na modulação molecular para bloquear as vias de hidrólise rápida e conferir estabilidade cinética e termodinâmica, permitindo que o complexo sobreviva no ambiente biológico até encontrar o seu alvo.

Uma das estratégias mais bem-sucedidas é a utilização de complexos ciclopaladados. Nestes sistemas, a formação de uma ligação sigma carbono-paládio (C-Pd) cria uma ligação covalente extremamente forte e quimicamente inerte. Esta ligação bloqueia a via de hidrólise, que é a principal via de decomposição para complexos de paládio(II) simples. A presença de uma ligação C-Pd impede a ligação de nucleófilos (como a água) ao centro metálico, estabilizando drasticamente o complexo (Velasques, 2022). Complexos ciclopaladados com diversos tipos de ligantes, como benzofenona iminas, ferroceno e ditiocarbamatos, demonstraram uma estabilidade significativamente melhorada e potentes atividades citotóxicas, muitas vezes superiores às da cisplatina (Scattolin et al., 2021; Serhan et al., 2019).

Outra abordagem fundamental é o uso de ligantes polidentados. Ao ligar o íon de paládio(II) a múltiplos centros de coordenação, cria-se um quelato que é termodinamicamente estável e cineticamente inerte. Ligantes como poliaminas (putrescina, espermina), *N*-heterociclos aromáticos (NHCs), ditiocarbamatos e piridinas são exemplos de ligantes que formam complexos de paládio(II) extremamente estáveis no meio fisiológico (Marques, 2013; Serhan et al., 2019)

O perfil de toxicidade é um dos domínios onde os complexos de paládio mostram um potencial revolucionário, oferecendo uma perspectiva de segurança substancialmente mais favorável em comparação com a cisplatina. A toxicidade dose-limitante da cisplatina, particularmente a nefrotoxicidade, é a principal barreira para o seu uso clínico e a fonte de muitos dos seus efeitos secundários adversos (Dasari; Bernard Tchounwou, 2014). A investigação pré-clínica acumulada sugere que, através de estratégias de design molecular bem-sucedidas, os complexos de paládio(II) podem ser projetados para ter uma distribuição tecidual e um perfil metabólico que minimizam o dano a órgãos vitais, ao mesmo tempo que mantêm uma potente atividade antitumoral.

Os complexos de paládio(II) são apresentados como uma alternativa promissora à cisplatina, não apenas como um substituto direto, mas como uma classe de agentes

quimioterapêuticos com um espectro de mecanismos de ação substancialmente diversificado (Zmejovski; Pantelić; Kaluđerović, 2022). Esta diversidade constitui uma vantagem estratégica, pois permite a exploração de novas vias celulares para induzir a morte de células cancerosas, potencialmente revertendo a resistência a agentes que funcionam exclusivamente através da lesão do ADN. Enquanto a cisplatina opera, primariamente, através de um mecanismo claro e monofatorial, os complexos de paládio(II) demonstram uma vastidão de ações, que vão desde a interação com o DNA por meio de modos alternativos até a ativação de vias apoptóticas independentes do DNA, como as mediadas por mitocôndrias e pelo retículo endoplasmático (ER) (Czarnomysy et al., 2021a; Fanelli et al., 2016)

Um dos *insights* mais robustos é que muitos complexos de paládio(II) mantêm a sua potência citotóxica contra linhagens celulares geneticamente selecionadas para resistir à cisplatina (Jahanian-Najafabadi et al., 2019; Vrzal et al., 2010). Isto ocorre, porque eles operam por meio de mecanismos de ação que evitam as principais vias de resistência da cisplatina, como a detoxificação por tióis e a redução da entrada celular. (Czarnomysy et al., 2021b; Vrzal et al., 2010). Esta capacidade de superar a resistência cruzada é talvez o benefício mais significativo e consistente atribuído aos complexos de paládio(II).

Em suma, a cisplatina estabeleceu um paradigma terapêutico poderoso, mas o seu sucesso vem acompanhado de um conjunto de desafios clinicamente significativos. A sua dependência exclusiva de um único mecanismo de ação centrado no DNA tornou-a vulnerável a múltiplas vias de resistência. A sua toxicidade sistêmica severa impõe limites rigorosos à dose e à tolerabilidade. É neste contexto que a investigação sobre complexos de paládio(II) emerge como uma área de enorme interesse, oferecendo a perspectiva de agentes terapêuticos com perfis de segurança melhorados, mecanismos de ação diversificados e, crucialmente, a capacidade de contornar as formas estabelecidas de resistência à cisplatina.

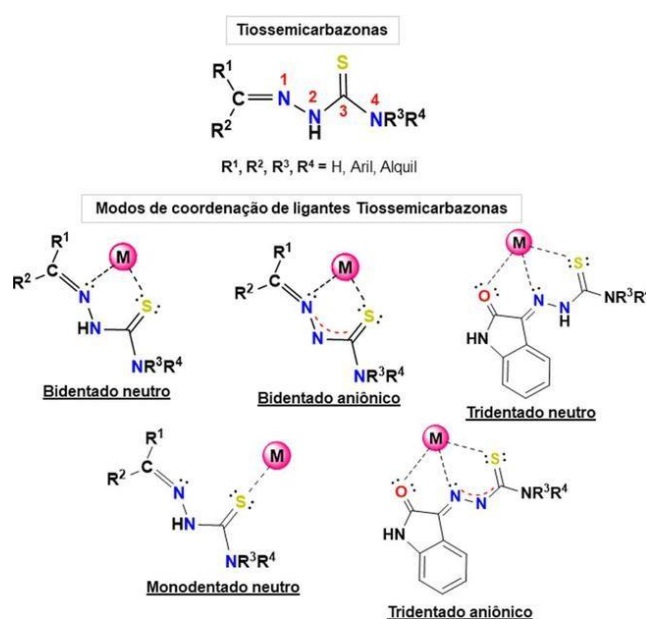
1.5 Tiossemicarbazonas Bioativas

A escolha de bons ligantes são fundamentais quando falamos sobre design de novos complexos bioativos, ainda mais quando tratamos de Pd(II), pois, como já citado, este possui cinética de reação mais rápida que os seus análogos de platina. Além de ligantes que estabilizem o composto final, é de interesse que esses também tenham atividade biológica, pois, causam um efeito sinérgico visando uma estratégia

A atividade biológica intrínseca dessas moléculas é atribuída principalmente à presença do grupo funcional NH–CS–NH–NH₂, que serve como um farmacofóric crucial para suas propriedades farmacológicas, isto é (Ferreira et al., Georgiou et al., 2025), grupo responsável pela atividade biológica de uma espécie. Esse agrupamento permite que as TSCs atuem como ligantes versáteis, capazes de formar quelatos estáveis com uma ampla gama de metais de transição (Georgiou et al., 2025; Singh et al., 2023). A capacidade de quelar cátions metálicos não é meramente uma curiosidade química, mas é central para sua atividade bioquímica, alterando fundamentalmente suas propriedades e desbloqueando um vasto potencial terapêutico que está em grande parte ausente na forma livre da ligante (Singh et al., 2023).

A coordenação de um centro metálico ao esqueleto da TSC a transforma em uma nova entidade química, frequentemente exibindo interações sinérgicas entre o metal e o ligante que resultam em eficácia anticâncer significativamente aumentada (Singh et al., 2023). Essa transformação é tão profunda que alguns complexos metálicos de TSC demonstram citotoxicidade até 1000 vezes maior do que suas ligantes tiossemicarbazonas parentes, sublinhando o papel indispensável da metalação para alcançar alta potência contra células cancerígenas (Garbuz et al., 2025).

Esquema 6. Estrutura geral numerada e representação dos possíveis modos de coordenação de ligantes Tiossemicarbazonas.

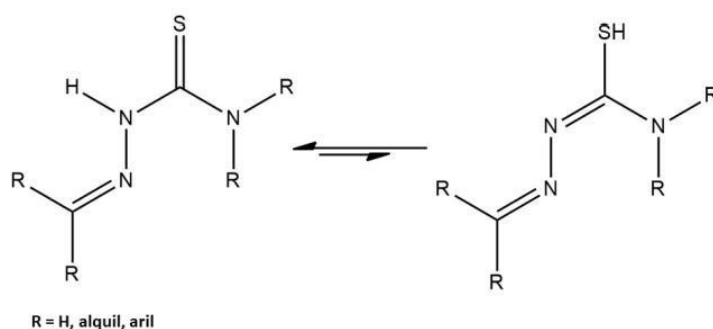


Fonte. Adaptado de Velasques, 2022

A base molecular para esse efeito transformador reside em várias alterações físico-químicas induzidas pela coordenação metálica. Uma das mudanças mais significativas é o aumento da lipofilicidade. A formação de um complexo metálico neutro a partir de um ligante com carga líquida diferente de zero melhora sua capacidade de atravessar membranas celulares, pré-requisito crítico para atingir alvos intracelulares (Bai; Zheng; Qi, 2022). Essa melhora na permeabilidade está diretamente relacionada à biodisponibilidade e ao desempenho terapêutico aprimorados (Veg et al., 2025).

Além da lipofilicidade, a quelação metálica estabiliza a própria molécula, reduzindo a equalização de cargas e promovendo uma conformação mais favorável para a interação biológica, a coordenação também influenciará a estrutura eletrônica do ligante, particularmente por meio do tautomerismo entre as formas tiona e tiol (Esquema 8; Veg et al., 2025). Em condições alcalinas, o ligante pode sofrer desprotonação para formar o tiolato, o qual é uma espécie aniônica que exibe ligação metal–enxofre (M–S) mais forte devido à desprotonação que gera o tiolato ($-S^-$), o que fortalece a interação global entre o metal e o ligante bidentado, aumentando a estabilidade e a atividade biológica do complexo, no qual é frequentemente considerada produtora de compostos metálicos neutros com efeitos biológicos superiores em comparação com seus equivalentes neutros (Veg et al., 2025).

Esquema 7. Tautomerismo tiona-tiol



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Essa flexibilidade notável no design levou ao desenvolvimento de um amplo espectro de complexos metálicos de TSC, cada um com um perfil único de atividade e mecanismo. Metais de transição, como Cobre(II), Níquel(II), Zinco(II), Paládio(II) e Rutênio(II), formam prontamente complexos estáveis com TSCs, tornando-os

escolhas comuns no desenvolvimento de complexos metálicos que apresentem atividade antitumoral (Singh et al., 2023)

O excepcional potencial anticâncer dos complexos metálicos de tiossemicarbazonas não decorre de um único mecanismo monolítico, mas de um ataque sofisticado e multifacetado às células cancerígenas. Esses compostos orquestram uma cascata de eventos interconectados que perturbam processos celulares essenciais, culminando na morte celular (Zheng et al., 2024). Embora a via específica possa variar dependendo do íon metálico e da estrutura da ligante, vários temas gerais emergem consistentemente na literatura, o mais comum para a ação de muitos complexos é a indução de estresse oxidativo severo e subsequente disfunção mitocondrial, uma estratégia que explora as vulnerabilidades metabólicas inerentes das células cancerígenas (Veg et al., 2025; Zheng et al., 2024).

A interação direta com macromoléculas celulares representa outro eixo crítico de sua atividade anticâncer. Os complexos metálicos contendo tiossemicarbazonas podem se ligar ao DNA por meio de vários modos distintos, interferindo assim em processos vitais como replicação e transcrição (Bai; Zheng; Qi, 2022; Zheng et al., 2024)

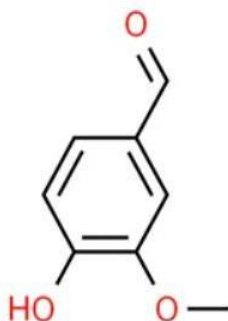
Em adição, as TSCs são conhecidas por sua capacidade de inibir a ribonucleotídeo redutase (RR), uma enzima-chave dependente de ferro responsável por converter ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos, os blocos de construção do DNA (Veg et al., 2025). Podendo também atingir a topoisomerase II (Topo II), uma enzima que gerencia a topologia do DNA durante a replicação, certos complexos metálicos de TSC atuam como venenos da Topo II, isto é, formam complexos ternários com a enzima e o DNA, impedindo a religação das quebras de fita dupla no DNA após a enzima realizar sua função catalítica, levando à fragmentação letal do DNA (Bai; Zheng; Qi, 2022; Veg et al., 2025)

1.6 Vanilina: Uma Plataforma Funcionalizável

Uma estratégia mais avançada e cada vez mais popular no design de TSC é a multifuncionalidade, onde uma única molécula é projetada para conter múltiplos grupos farmacofóricos, cada um projetado para atingir um alvo biológico diferente. Essa abordagem de "cavalo de Troia" visa alcançar efeitos sinérgicos, aumentar o direcionamento específico ao tumor e superar mecanismos de resistência simultaneamente.

Nesse contexto, a vanilina emerge não apenas como um composto natural amplamente disponível, mas como uma plataforma modular excepcionalmente versátil para o design racional de moléculas bioativas (Sihag; Dhayal; Nag, 2025). Sua estrutura aromática, caracterizada pelo anel fenólico, oferece múltiplos sítios para modificações químicas, permitindo a criação de uma vasta biblioteca de compostos derivados com propriedades físico-químicas e biológicas personalizadas (Bisceglie et al., 2018).

Figura 4. Fórmula estrutural da vanilina, destacando seus grupos funcionais em vermelho



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

A principal vantagem da vanilina reside em sua capacidade de servir como um ponto de partida para a síntese de tiossemicarbazonas, a estratégia de funcionalizar a vanilina antes da síntese da tiossemicarbazona é fundamental, pois permite a incorporação de grupos específicos, como a piperidina ou a morfolina, que atuam como moduladores críticos das propriedades finais do ligante e do complexo metálico resultante (Ahmad et al., 2025; Bisceglie et al., 2018). Essa abordagem modular confere flexibilidade estratégica, possibilitando a otimização sistemática da solubilidade, lipofilicidade, afinidade de coordenação e, em última análise, a potência e seletividade biológica do fármaco candidato.

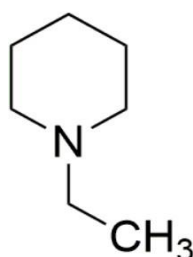
A escolha da vanilina como plataforma não se deve apenas à sua acessibilidade, mas também à sua própria atividade biológica latente. A vanilina e seus derivados já demonstraram propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antitumorais (Sihag; Dhayal; Nag, 2025). Ao projetar um ligante tiossemicarbazona sobre este núcleo, espera-se não apenas manter, mas também potencializar essa atividade base. A

complexação metálica, conforme descrito pela teoria quelato, aumenta a lipofilicidade do complexo em relação ao ligante livre, facilitando assim a penetração através das membranas celulares, um pré-requisito essencial para a atividade biológica intracelular(Aly et al., 2023; Veg et al., 2025) .

Adicionalmente, a presença de um núcleo aromático como o da vanilina pode contribuir para mecanismos de ação adicionais, como a intercalação no DNA ou a interação com proteínas alvo, complementando a função primária do tiossemicarbazona como agente quelante de metais endógenos como ferro e cobre, essenciais para a proliferação celular(Rzycka-Korzec et al., 2021) . A combinação sinérgica entre o núcleo aromático funcionalizado e o sistema tiossemicarbazona cria uma molécula híbrida com um perfil multifuncional, capaz de interagir com múltiplos alvos biológicos simultaneamente. Esta abordagem de design modular é consistentemente aplicada na literatura, onde a vanilina serve como um vetor para a construção de uma variedade de sistemas tiossemicarbazona, incluindo análogos com substituintes alquílicos e arílicos, podendo apresentar outros grupos heterocíclicos, todos com o objetivo comum de otimizar a atividade terapêutica (Kumar; Sunitha; Rathika Nath, 2020; Veg et al., 2025)

Em suma, a funcionalização da vanilina representa uma estratégia sofisticada e interessante para a descoberta de novos agentes quimioterapêuticos. A combinação da estrutura modular da vanilina com o poder quelatante e a atividade biológica das tiossemicarbazonas cria uma sinergia que tem sido consistentemente explorada com sucesso. A funcionalização com piperidina, será visando a fine-tuning das propriedades moleculares para alcançar uma atividade superior e seletiva contra as células cancerosas.

A piperidina (Figura 5) é uma molécula composta por um anel saturado de seis membros, contendo um átomo de nitrogênio (azaciclo-hexano), sendo uma excelente candidata para esta tarefa devido à sua basicidade, similaridade com aminas secundárias e uso extensivo em química medicinal (Sihag; Dhayal; Nag, 2025).

Figura 5. Fórmula estrutural da *N*-etilpiperidina

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Sendo um anel heterocíclico, no qual apresenta um átomo de nitrogênio, em hibridização sp^3 , possui um par de elétrons não ligante, conferindo-lhe caráter básico e nucleofílico, atuando como um doador de elétrons relativamente forte, podendo atuar como um sítio de coordenação adicional quando inseridas na cadeia lateral de um ligante tiossemicarbazona. O átomo de nitrogênio de ambos os anéis pode se coordenar ao metal central, transformando o ligante de bidentado (N,N,S) para tetridentado (NNNS) (Aly et al., 2023; Milunovic et al., 2024). A força dessa nova interação metálico-nitrogênio depende da basicidade do nitrogênio e, mais importante, da geometria e estereoisomerismo da aproximação do anel ao centro metálico (Tiwari et al., 2024).

Complexos de tiossemicarbazona derivados de vanilina funcionalizados com morfolina (VMTSC) e piperidina (VPTSC) foram ambos referenciados como tendo atividade anticancerígena significativa, em parte devido ao aumento da solubilidade proporcionado pelos *N*-etil-piperidino/morfolina (Ahmad et al., 2025). A eficácia dos complexos de vanilina-tiossemicarbazona como agentes terapêuticos, especialmente no tratamento do câncer, não se deve a um único mecanismo de ação, mas sim a um conjunto de interações biológicas complexas e multifacetadas.

A análise da literatura revela que esses compostos operam como moléculas *multitarget*, interferindo com várias vias metabólicas cruciais para a sobrevivência e proliferação das células neoplásicas. Os principais mecanismos de ação identificados incluem a inibição de enzimas-chave no metabolismo de nucleotídeos, a perturbação da integridade do DNA, a inductória de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a sabotagem do citoesqueleto celular (Milunovic et al., 2024; Sihag; Dhayal; Nag, 2025; Veg et al., 2025). Compreender esses mecanismos é fundamental para o design racional de novos fármacos, pois permite a otimização da estrutura molecular para maximizar a interação com um ou mais alvos biológicos específicos.

2 HIPÓTESE

Nosso grupo tem investigado o efeito citotóxico de bases de Schiff funcionalizadas com grupos *N*-alquilpiperidina e seus derivados metálicos. Velasques (2022) investigou o efeito de complexos do tipo $[PdCl_2(Et-vmtTSC)(PR_3)]Cl$ (Et-vmtTSC = *N*-etil-2-(3-metóxi-4-(2-(morfolin-1-il)etóxi)benzilideno)hidrazina-1-carbotioamida) em células tumorais e não-tumorais (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade antiproliferativa *in vitro* dos compostos R-cTSC e $[PdCl_2(PMeOPh_3)(PR_3)]Cl$ (PPh_3 = trifenilfosfina, $PTol_3$ = tri(*p*-toluil)fosfina, $PFPPh_3$ = tris(4-fluorofenil)fosfina, $PMeOPh_3$ = tris(4-metóxifenil)fosfina.) frente às linhagens tumorais MCF7, A549, MDA-MB-231 e não tumoral MRC5 representadas pelos valores de IC_{50} , em μM .

Compostos	IC_{50} (μM)			
	MCF7	A549	MDA-MB-231	MRC5
Et-vmtTSC (L)	97,9±3,27	1,82 ± 0,10	71,34 ± 3,69	> 100
$[PdCl_2(L)(PPh_3)]Cl$	39,17±9,63	1,51±0,11	66,35±0,74	26,20±1,16
$[PdCl_2(L)(PTol_3)]Cl$	48,87 ± 9,37	3,20 ± 0,15	58,91 ± 4,93	24,21±0,18
$[PdCl_2(L)(PFPPh_3)]Cl$	38,14 ± 4,03	1,74 ± 0,10	68,80 ± 3,54	29,16±0,69
$[PdCl_2(L)(PMeOPh_3)]Cl$	41,10 ± 6,21	2,64 ± 0,65	67,87 ± 2,76	9,62 ± 1,51
CDDP	60,58 ± 4,63	61,59 ± 3,02	23,36 ± 0,42	12,05±0,98

Fonte. Velasques, 2020

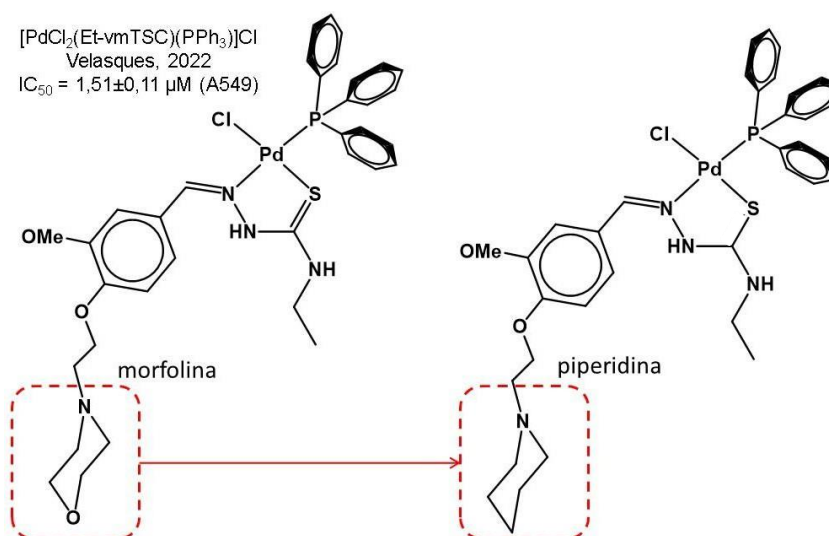
Particularmente, os valores de IC_{50} obtidos tanto para o ligante Et-vmtTSC quanto para os complexos $[PdCl_2(Et-vmtTSC)(PR_3)]Cl$ frente a linhagem A549 são da mesma ordem de grandeza, sugerindo uma relação direta da atividade inibitória apresentada pelos complexos com a presença do ligante Et-vmtTSC. Em contrapartida, a variação dos ligantes expectadores PR_3 fosfínicos praticamente não afetaram a ação dos complexos, sugerindo que a presença do ligante Et-vmtTSC é vital para a atividade contra as células A549.

Neste trabalho, foram considerados os critérios de bioisosterismo entre os fragmentos moleculares, perfis de citotoxicidade e toxicidade para o planejamento do composto-protótipo. O complexo $[PdCl_2(Et-vmtTSC)(PPh_3)]Cl$ foi classificado como precursor uma vez que é capaz de interferir na viabilidade celular da linhagem A549

e possuir uma moderada toxicidade frente a linhagem MRC5. Pretende-se investigar a contribuição farmacofórica da troca isostérica do sistema morfolínico da Et-vmTSC por um anel piperidínico. Essa proposta foi motivada pelo trabalho de PEREIRA e colaboradores (2024), no qual foi observado que compostos ciclometalados de fórmula $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-bzox-R})(\text{PPh}_3)]$ ($\text{C}^2, \text{N-bzox-P}$ = (*E*)-4-(2-piperidinoetóxi)benzaldeído oxima; $\text{C}^2, \text{N-bzox-M}$ = (*E*)-4-(2-morfolinoetóxi)benzaldeído oxima) foram mais ativos que a cisplatina frente as linhagens de osteossarcoma. Esses ciclopaladados funcionalizados com grupos *N*-etilmorfolina/etilpiperidina induziram a permeabilização da membrana lisossomal (LMP) e despolarização da membrana mitocondrial, sugerindo que o mecanismo de morte celular provocado pelos complexos de paládio envolve o eixo mitocôndria-lisossomos.

Diante do exposto, propõe-se a síntese do bioisótero Et-vpTSC = *N*-etil-2-(3-metóxi-4-(2-(piperidin-1-il)etóxi)benzilideno)hidrazina-1-carbotioamida) a da troca isostérica do sistema morfolínico da Et-vmTSC por um anel piperidínico (Figura 6). Pretende-se empregar o novo ligante na obtenção do seu derivado $[\text{PdCl}_2(\text{Et-vpTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ e submetê-lo a estudos preliminares de viabilidade celular frente as diferentes linhagens tumorais, dentre ela a A549, e não-tumorais bem como de interação com o DNA.

Figura 6. Planejamento estrutural do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Et-vpTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (Et-vpTSC = *N*-etil-2-(3-metóxi-4-(2-(piperidin-1-il)etóxi)benzilideno)hidrazina-1-carbotioamida)



Fonte: Elaborada pela autora, 2025

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O trabalho tem como objetivo geral a síntese de um ligante tiossemicarbazona inédito, derivado da vanilina funcionalizada com *N*-etilpiperidina, o qual foi modulado especificamente para complexação com o Pd(II), bem como a síntese do complexo, também inédito, [PdCl(PPh₃)(VP-TSC)], sua caracterização e, avaliação da atividade citotóxica frente às linhagens celulares A549, MDA-MB-23, A2780 e MRC-5.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar o ligante vanilina funcionalizado com *n*-etilpiperidina (VP-TSC);
- Sintetizar o complexo de fórmula geral [PdCl(PPh₃)(VP-TSC)] (ASP), no qual PPh₃ = trifenilfosfina;
- Caracterizar os compostos sintetizados por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas;
- Realizar estudos em solução durante 48 h por meio da ressonância magnética nuclear;
- Investigar a interação do composto com o DNA;
- Determinar a citotoxicidade e seletividade a partir da comparação dos valores de IC₅₀ em células tumorais humanas com elevada relação incidência/mortalidade (A549, MDA-MB-23 e A2780) e em células não-tumorais (MRC-5);
- Investigar o perfil de interação frente à biomolécula de Guanosina, a partir de análise por ressonância magnética nuclear.

4. METODOLOGIA

4.1 Síntese Da Tiossemicarbazona Derivada De Vanilina Funcionalizada Com *N*-etilpiperidina (VP-TSC)

A síntese do ligante foi realizada em duas etapas sequenciais, conforme adaptado da literatura para tiossemicarbazonas aromáticas funcionalizadas, sendo a primeira etapa de funcionalização do substituinte fenol na vanilina, seguido da formação do grupo tiossemicarbazona (Velasques, 2022).

A reação para funcionalização da vanilina consistiu em uma reação de substituição nucleofílica, onde o hidrogênio do grupo fenol no anel aromático é substituído pelo grupo etil-piperidina. Desta forma, partiu-se de 1,0000 g (6,57 mmol) de vanilina e 1,0000 g (5,43 mmol) de cloridrato de *N*-(2-cloroetil)piperidina. A etil-piperidina foi macerada em conjunto com 1,0000g de K_2CO_3 (7,23 mmol) e, em seguida, os reagentes foram solubilizados em 150 mL de acetona. A suspensão resultante foi mantida sob agitação sob refluxo por 24 h. Após o período de agitação e resfriamento do sistema, o excesso de K_2CO_3 foi removido por filtração simples e a solução resultante foi rotaevaporada. O produto resultante foi solubilizado em CH_2Cl_2 (50 mL) e a solução foi submetida a sucessivas lavagens com solução 10 % NaOH (100 mL), água destilada (50 mL) e uma solução salmoura KCl (50 mL) para remoção do excesso de vanilina adicionado na reação. O produto oleoso resultante foi seco à vácuo e um sólido amarelo ceroso foi obtido com rendimento de 64% (1,2834g). Este sólido foi utilizado na 2ª etapa de obtenção do ligante VP-TSC.

Para a formação do grupo tiossemicarbazona, partiu-se da massa do composto vanilina funcionalizado anteriormente obtido e 0,5813g (4,87 mmol) de *N*-etiltiossemicarbazida. Primeiramente o composto vanilina foi solubilizado em 20 mL de etanol e, a esta solução, o reagente *N*-etiltiossemicarbazida foi adicionado na forma sólida. O meio de reação foi acidificado e a mistura resultante foi mantida em agitação sob refluxo por 6 h. Após resfriamento do sistema, a solução de reação foi refrigerada overnight para precipitação do produto. Um precipitado de coloração amarelo claro foi isolado da solução por filtração à vácuo, apresentando um rendimento de 78% (1,4545g). O sólido apresentou-se solúvel em solventes orgânicos polares como etanol, metanol, acetona e DMSO. Após seco à vácuo, o sólido foi caracterizado pelas técnicas de espectroscopia na região do IV e RMN.

4.2 Síntese Do Complexo Metálico Com Pd(II) (ASP)

O complexo de Pd(II) derivado de tiossemicarbazona foi sintetizado pela metodologia adaptada reportada por Velasques, 2022.

Desta forma, partiu-se de uma relação equimolar entre o ligante VP-TSC (0,3192g; 1,12 mmol), o precursor metálico $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ (0,2872g; 1,1mmol) e o ligante fosfínico PPh_3 (0,2893g; 1,0mmol).

Primeiramente o precursor metálico foi solubilizado em 5 mL de CH_3CN sob agitação. A esta solução, gotejou-se 7 mL de uma suspensão contendo o ligante VP-TSC em CH_3CN . A suspensão laranja resultante foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 h. Após este primeiro período de agitação, gotejou se sobre a suspensão 5 mL de uma solução contendo o respectivo ligante fosfínico em CH_3CN .

A suspensão foi mantida sob agitação por mais 24 h. Após 48 h de agitação à temperatura ambiente, obtiveram-se soluções coloração amarelo alaranjadas. Os respectivos complexos foram recristalizados em um sistema CHCl_3 /pentano, resultando no isolamento de sólidos laranja com rendimentos que variaram entre 75 a 90 %. Em seguida, realizou um processo de lavagem ácida, para remover traços de impurezas com iminas, o sólido foi dissolvido em CHCl_3 e submetido a quatro extrações sucessivas com solução aquosa de HCl 0,05 mol L^{-1} (preparada com água gelada), utilizando-se funil de separação. Após agitação vigorosa, as fases foram separadas, descartando-se a fase aquosa (contendo a amina protonada) e mantendo-se a fase orgânica (contendo o complexo). O produto purificado foi então seco à vácuo e caracterizado.

4.3 Caracterizações

4.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram gerados no espectrofotômetro Nicolet IS5 Thermo Scientific na faixa de 400 – 4000 cm^{-1} , utilizando pastilhas de KBr. O tratamento dos espectros foi feito no programa OriginPro 9.0

4.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os experimentos de RMN ^1H , ^{31}P e ^{13}C foram realizados por meio de um espectrômetro Multinuclear BRUKER, modelo avance III HD 600, operando a 14,1 T a 298 K, pertencente ao Laboratório Multiusuários do Instituto de Química- IQ/Unesp-

Ar. Assim foram obtidos espectros de experimentos unidimensionais {TOCSY 1D (*Total Correlated Spectroscopy*), HOMODEC- ^1H (Homonuclear decoupling), NOESY- ^1H (*Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*)} e bidimensionais { ^1H - ^1H COSY (Homonuclear Correlation Spectroscopy), ^1H - ^{13}C HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*), ^1H - ^{13}C HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*)}. Os espectros foram coletados utilizando-se como solvente deuterado o dimetilsulfóxido (DMSO- d_6). O tratamento gráfico dos espectros foi realizado no software MestreNova 9.0.

4.3.3. Estudo da estabilidade dos complexos em solução

O solvente dimetilsulfóxido (DMSO) é aplicado como co-solvente nos ensaios de ação antiproliferativa, tendo em vista a baixa solubilidade de compostos em água. Desta forma, foi avaliada a estabilidade dos compostos em DMSO- d_6 com o monitoramento dos espectros de RMN ^1H e ^{31}P coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h a temperatura ambiente.

4.3.4. Espectroscopia de massas

A espectrometria de massas usando a ionização por electrospray (ESI-MS) foi realizada por meio do espectrômetro Amazonspeed ETD Bruker Daltonics, contendo o analisador de Ion Trap de baixa resolução.

4.3.5. Análise de condutividade molar

A condutividade molar foi determinada no condutivímetro DM 31 Digimed, solubilizando o complexo metálico de concentração 1 mmol L^{-1} em etanol.

4.4. Análise Da Interação Com Biomoléculas

4.3.1. Titulação Espectrofotométrica com DNA

Espectros de UV-Vis foram obtidos para o complexo na presença de quantidades crescentes de DNA na região de 200 a 800 nm em tampão salino Tris-HCl (pH 7,4). A titulação foi realizada a 25°C mantendo a concentração do complexo fixa em $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, enquanto a concentração de DNA foi variada de 0 até $4,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Partindo de uma solução do complexo 1 mmol L^{-1} preparado em DMSO, foram adicionados $60 \mu\text{L}$ do composto em $2940 \mu\text{L}$ de tampão tris-HCl (pH 7,4) em uma cubeta de quartzo de 3 mL. Uma segunda cubeta para o branco foi preparada com $60 \mu\text{L}$ de DMSO e $2940 \mu\text{L}$ de tampão tris-HCl (pH 7,4). Após a primeira leitura do complexo livre da presença de DNA, foram adicionados $18 \mu\text{L}$ de uma solução fresca de DNA 1 mmol L^{-1} , tanto na cubeta contendo o complexo quanto no branco. Foram

realizadas adições sucessivas de 18 μL da solução de DNA (tanto no branco quanto no complexo) até um total de 10 adições. A proporção molar do complexo: DNA foi variada de 0,3 a 3,0 com intervalos de 0,3 em cada adição.

4.3.2. Reação com guanosina

A reação com guanosina foi realizada utilizando o procedimento descrito por Rocha *et.al.*, com algumas modificações. O Complexo ASP (2,0 mg, 3,53 μmol) foi dissolvido em 0,2 mL de DMSO- d_6 em um tubo de microcentrífuga (1,5 mL). Em seguida, AgNO_3 (1,2 mg, 7,06 μmol) foi adicionado e a mistura foi agitada por 10 minutos. A suspensão branca resultante foi mantida em repouso por 1 hora à temperatura ambiente; após esse período, o sólido insolúvel foi removido por centrifugação (14.000 rpm), obtendo-se uma solução amarela. Uma solução de guanosina (2,0 mg, 7,06 μmol) em DMSO- d_6 (0,2 mL) foi então adicionada, e a solução foi agitada por 10 minutos. A mistura foi deixada em repouso por 48 horas antes da análise por espectroscopia de RMN ^1H .

4.3.3. Viabilidade Celular

A atividade antiproliferativa dos complexos foi avaliada através do ensaio colorimétrico de MTT frente às células tumorais humanas A549 (pulmão), MDA-MB-23 (mama; triplo-negativo) e A2780 (ovário) e não-tumorais MRC-5 (fibroblasto de pulmão). O ensaio foi realizado pela MSc. Nádjia Natalice P. da Silva, sob orientação do Dr. Fillipe V. Rocha no Laboratório de Compostos de Coordenação na Química Medicinal (CCQM) – UFSCar. O cultivo celular foi mantido em meio de cultura apropriado (DMEM/RPMI 1640) enriquecido com 10% de soro bovino fetal inativado pelo calor (FBS) e suplementado com sulfato de gentamicina (50 mg L^{-1}) e anfotericina B (2 mg L^{-1}) a 37 °C em atmosfera de 5% de CO_2 . 1×10^4 células/poço foram semeadas em microplacas de 96-poços e incubadas por 24 h para adesão celular. As células foram tratadas em soluções de DMSO (0.5% v/v) com diferentes concentrações por 48 h. Assim, uma alíquota (100 μL) da solução de MTT [3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo] a 1 mg mL^{-1} foi adicionada em cada poço e incubada por 4 h. Os cristais de formazam formados foram dissolvidos em 100 μL de isopropanol. A densidade óptica foi mensurada em 540 nm usando um leitor de 96-poços. Os valores de IC_{50} foram obtidos a partir de curvas de dose resposta (viabilidade celular vs log [concentração do complexo]) para três experimentos independentes. Os *plots* das curvas de viabilidade celular foram gerados através do software Graph Pad Prism 9.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3. Síntese do Ligante VP-TSC

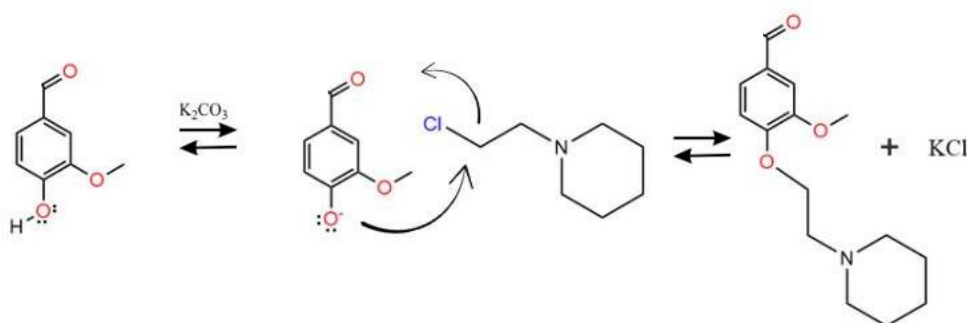
A funcionalização de moléculas orgânicas, visando aplica-las como ligantes na formação de novos complexos, vem se mostrando uma estratégia dentro do design de novos compostos na química inorgânica medicinal.

Dessa forma, analisando-se a molécula de vanilina, percebe-se possíveis sítios ativos reativos pertencentes a seus grupos substituintes, sendo eles, o fenol, o aldeído e éter. Tendo em seu grupo OH fenólico um hidrogênio ácido de pKa ~ 10, o qual se torna passível de realizar uma reação de substituição nucleofílica, substituindo-o pelo grupo de interesse (*N*-etilpiperidina) (Silva, 2020; Sihag; Dhayal; Nag, 2025; Velasques, 2022)

Utilizando-se como base a síntese orgânica, neste tipo de reação um haleto de alquila pode ter o halogênio substituído por um grupo nucleofílico em função da polaridade da ligação C-halogênio. A vanilina, quando desprotonada por uma base, se torna um nucleófilo aniônico, podendo ser funcionalizada via reação de substituição nucleofílica (F.A. Carey, Química Orgânica, 2011).

Desta forma, esta estratégia sintética foi utilizada na primeira etapa de formação do ligante de interesse (VP-TSC), esta etapa teve como objetivo inserir o grupo *N*-etilpiperidina à molécula de vanilina, a partir da reação de substituição nucleofílica bimolecular (SN2) entre a vanilina e a *N*-(2-cloroetil)piperidina, conforme o esquema simplificado abaixo, no qual, a reação se inicia pela desprotonação do grupo OH fenólico pela base (K₂CO₃), dando origem ao nucleófilo aniônico que substitui o átomo de cloro na *N*-(2-cloroetil)piperidina, conforme esquema 11:

Esquema 8. Mecanismo de substituição SN2 adaptado para a funcionalização da vanilina com cloridrato de *N*-(2-cloroetil)piperidina.

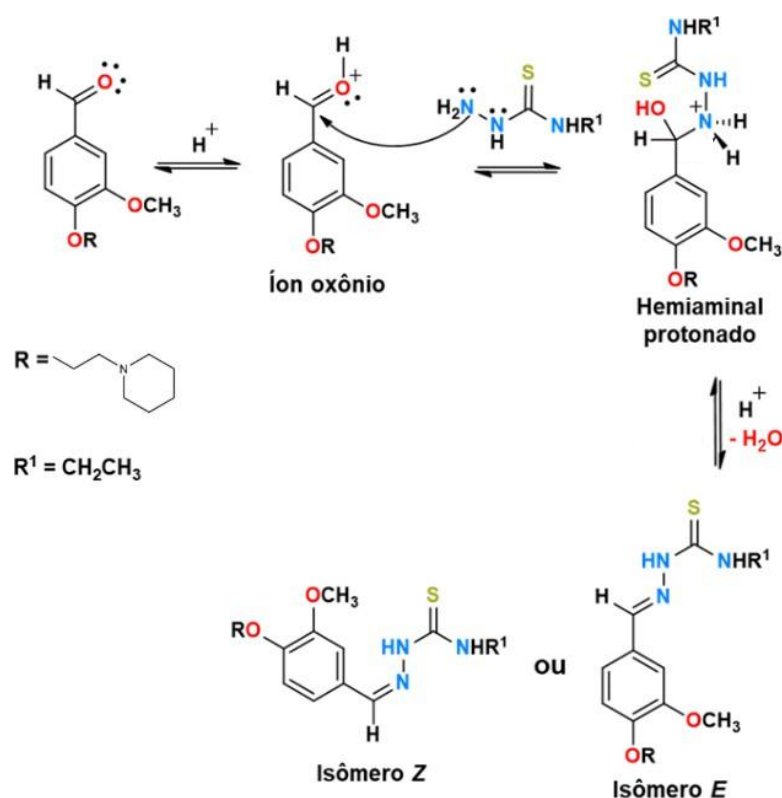


Fonte. Elaborado pela autora, 2025

As tiossemicarbazonas, por pertencerem a classe das iminas, podem ser obtidas via reações de condensação em meio alcóolico (Velasques, 2022). Sendo esse o método de obtenção utilizado neste trabalho, para a segunda etapa de obtenção do ligante de interesse (VP-TSC), pois, além de serem de baixo custo contemplam aspectos inerentes a química verde, como economia de átomos e a minimização na formação de subprodutos.

Segundo este mecanismo, a reação se inicia pela protonação da carbonila aldólica e ativação da carbonila pela formação do íon oxônio. Em sequência, ocorre o ataque nucleofílico do nitrogênio terminal da tiossemicarbazida ao carbono carbonílico da vanilina, formando o intermediário hemiaminal protonado. Esse intermediário é rearranjado, formando a ligação C=N, que caracteriza o composto base de Schiff, e liberando uma molécula de água (Velasques, 2022), vale destacar que as tiossemicarbazonas podem ser obtidas em duas formas isoméricas (E e Z) que se diferenciam pelo posicionamento do grupo mais volumoso com relação a ligação C=N. Conforme esquema abaixo:

Esquema 9. Mecanismo de reação geral para a obtenção de tiossemicarbazonas adaptado para a síntese do ligante VP-TSC.



Fonte. Adaptado de Velasques, 2022

Na primeira etapa, foi feito 24 h de reação e sucessivas extrações, foi isolado um composto oleoso de coloração amarela, com rendimento de 64 %. Para a inserção do grupo tiossemicarbazida, após 6 h de reação e, deixado 24h em refrigeração, foi isolado um sólido amarelo bem claro, quase branco. Este sólido, após seco à vácuo, apresentou um rendimento de 60 %.

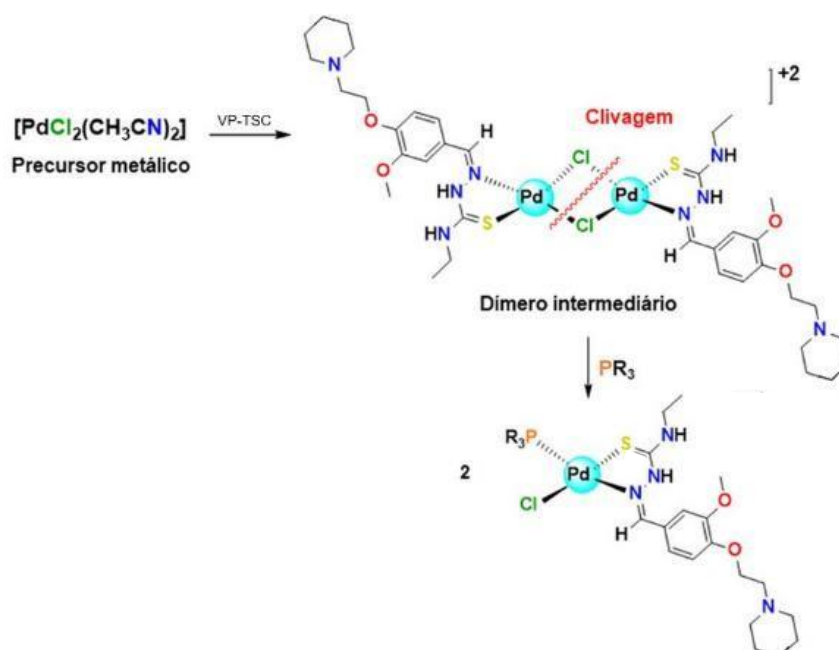
5.4. Síntese do Complexo Com Pd (II)

O complexo de Pd(II), contendo o ligante sintetizado, foi obtido também por duas etapas de reação.

A primeira etapa exigiu-se 24 h de reação, reagindo o ligante VP-TSC com o precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})]_2$, Velasques J. (2022) propôs que nesse tipo de reação ocorre a possibilidade de formação de uma forma dimérica intermediária, onde o ligante tiossemicarbazona substituí as moléculas de acetonitrila, mantendo os ligantes clorido em ponte.

A segunda etapa da reação ocorreu in situ, se iniciando pela adição do ligante fosfínico (PPh_3 -trifenilfosfina) que, considerando a existência do dímero intermediário supracitado, cliva uma das ligações Pd-Cl pela coordenação do átomo de fósforo, dando origem aos complexos, conforme é ilustrado no esquema 11 abaixo:

Esquema 10. Mecanismo de reação proposto para a reação de síntese do complexo de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]$



Fonte. Adaptado de Velasques, 2022

O complexo obtido tem aspecto de filamentos sólidos e, coloração alaranjada brilhante, com rendimento de 78%

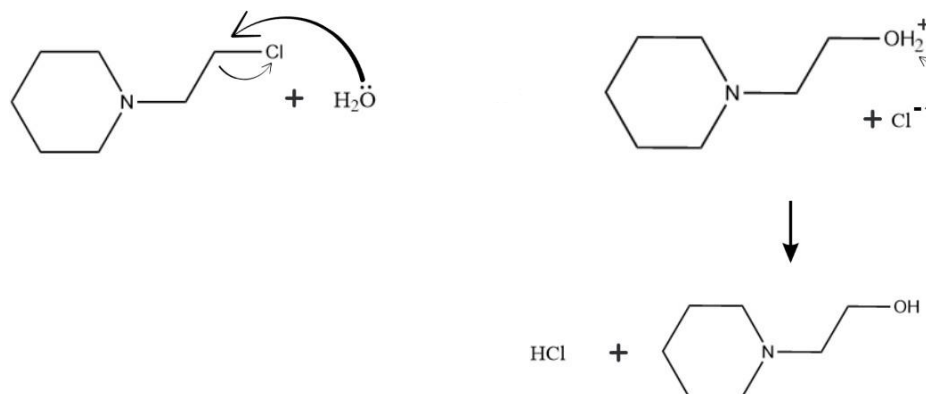
5.5. Purificação do Complexo

O complexo obtido (ASP), passou por duas etapas de purificação, sendo a primeira, um sistema binário de solventes composto por clorofórmio (CHCl_3) e pentano. Essa escolha é altamente coerente com as propriedades físico-químicas esperadas para complexos de Pd(II) contendo ligantes orgânicos do tipo tiossemicarbazona e triifenilfosfina (PPh_3), uma vez que, o complexo obtido possui um caráter predominantemente orgânico, devido à combinação de ligantes volumosos e pouco carregados resultando em uma espécie molecular neutra e tipicamente apolar. Tal natureza confere boa solubilidade em clorofórmio, um solvente de polaridade intermediária capaz de solvatar os sistemas aromáticos presentes, enquanto o pentano, como anti-solvente apolar, induz a cristalização seletiva do complexo sem promover sua decomposição. Essa abordagem é consistente com protocolos reportados na literatura para complexos similares de Pd(II) com tiossemicarbazonas (Pereira et al., 2024; Velasques, 2022)

Nesse sistema, o complexo ASP foi inicialmente solubilizado em CHCl_3 , e em seguida o pentano foi adicionado lentamente, promovendo a precipitação seletiva do produto desejado, essa técnica permite a remoção de impurezas polares (ex.: sais inorgânicos, excesso de K_2CO_3 , traços de água) que permanecem insolúveis ou são retidas na fase líquida, bem como a eliminação de subprodutos apolares, como triifenilfosfina não coordenada, que, apesar de solúvel em CHCl_3 , pode ser parcialmente removida pela ajuste fino da polaridade do meio.

Após a síntese e recristalização inicial, foi percebido a partir das análises bidimensionais em RMN, a presença residual de *N*-(2-hidroetil)piperidina (amina alquílica funcionalizada) no sólido, provavelmente oriunda de reações incompletas ou secundárias na etapa de alquilação da vanilina, a principal hipótese é a reação secundária de hidrólise da *N*-(2-cloroetil)piperidina com água residual presente no sistema, conforme demonstrado no esquema 14:

Esquema 11. Mecanismo de reação proposto para hidrólise da *N*-(2-cloroetil)piperidina, formando a *N*-(2-hidroxi)etil)piperidina



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Para removê-la, optou-se por um procedimento de extração ácida sequencial, utilizando quatro lavagens com solução aquosa de HCl 0,05 mol L⁻¹ em sistema bifásico CHCl₃/água. Esse método baseia-se no diferencial de basicidade e protonação entre o complexo metálico neutro e a amina terciária livre, a amina terciária alifática (ex.: *N*-etilpiperidina ou *N*-(2-hidroetil)piperidina) é uma base relativamente forte (pK_a do íon conjugado ≈ 9–10). Em meio ácido (pH < 3, como em HCl 0,05 mol L⁻¹, pH ≈ 1,3), essa amina é protonada, formando um íon amônio solúvel em água:



O cátion R₃NH⁺ é altamente polar e, portanto, preferencialmente solubilizado na fase aquosa, em contraste, o complexo de Pd(II) (ASP) é uma molécula neutra e predominantemente apolar, com ligantes quelantes (tiossemicarbazona) e fosfina que estabilizam a carga metálica e não possuem grupos facilmente protonáveis em pH moderado. O nitrogênio imínico (C=N) e o enxofre tiolato da tiossemicarbazona estão coordenados ao Pd(II), tornando-os menos básicos e não suscetíveis à protonação nas condições levemente ácidas empregadas. Assim, o complexo permanece na fase orgânica (CHCl₃).

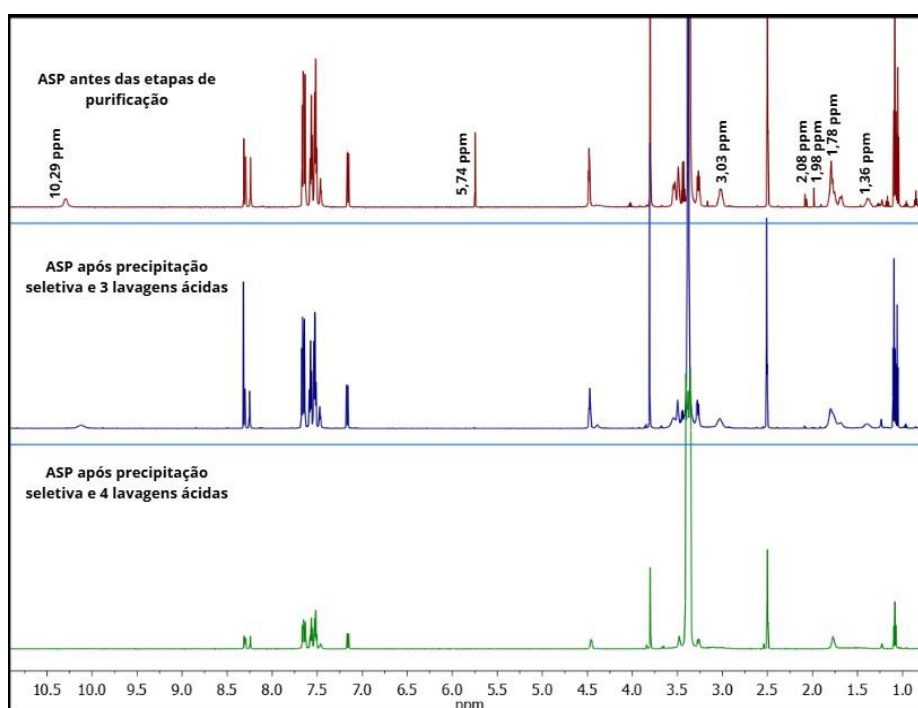
O uso de quatro lavagens sucessivas com pequenos volumes de HCl diluído é uma estratégia eficiente para maximizar a extração da impureza sem risco de decomposição do complexo, que poderia ocorrer em condições muito ácidas. Além

disso, o uso de água gelada minimiza a solubilidade residual do complexo na fase aquosa, preservando o rendimento.

Esse tipo de purificação por extração ácida seletiva é particularmente eficaz para separar bases orgânicas de compostos neutros não iônicos (Silverstein et al., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*; Vogel's *Textbook of Practical Organic Chemistry*).

A eficácia desse procedimento pode ser confirmada posteriormente por espectroscopia de RMN de ^1H (Figura 6), onde a ausência de sinais característicos da amina livre indica sucesso na purificação e, pelo RMN $^{31}\text{P} \{^1\text{H}\}$ para confirmação da estabilidade da PPh_3 coordenada, mesmo em contato com meio ácido.

Figura 7. Espectros comparativos no RMN ^1H do complexo ASP em suas etapas de purificação

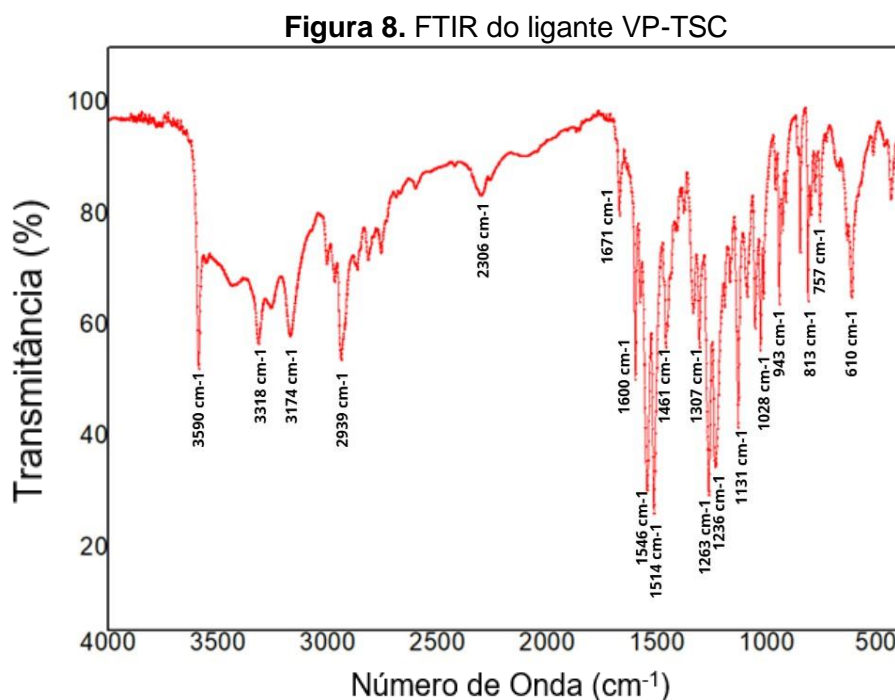


Fonte. Elaborado pela autora, 2025

5.6. Análise De Infravermelho (FTIR)

A espectroscopia FTIR é uma técnica poderosa para caracterizar compostos orgânicos e inorgânicos, fornecendo informações detalhadas sobre os grupos funcionais presentes em uma molécula. No presente estudo, utilizamos o FTIR para analisar o ligante VP-TSC e o complexo de paládio(II) formado (ASP), visando confirmar a formação do complexo e avaliar potenciais impurezas.

Os dados espectroscópicos apresentados no espectro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), presentes no gráfico 1 e na tabela 2, representados abaixo, fornecem informações sobre as características vibracionais e a composição química do ligante sintetizado (VP-TSC)



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Tabela 2 – Atribuições do FTIR do ligante VP-TSC

Número de onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição Vibracional
3590	Média	v(O-H)
3318	Média	v(N-H)
3174	Média	v(N-H)
2939	Média	v(C-H)
1671	Média	v(C=N)
1600	Média	v(C=C)
1546	Média	v(C=C) + δ(N-H)
1514	Forte	v(C=C)
1461	Média	δ(C-H) + v(C=C)
1307	Média	v(C-N) / δ(N-H)
1263	Forte	v(C-O) (metóxi)
1236	Forte	v(C-N)
1131	Forte	v(C-S)
1028	Média	v(C-N) + v(C-S)
943	Média	γ(C-H) fora do plano
848	Fraca	v(C=S)
813	Fraca	γ(C-H)
757	Fraca	γ(C-H) fora do plano
610	Fraca	τ(esqueleto)

Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Na região de alta frequência, observa-se uma banda em 3318 cm^{-1} , atribuída ao estiramento $\nu(\text{N-H})$ do grupo $-\text{NH}-$ da hidrazina (semicarbazona). Esse sinal é típico de tiossemicarbazonas e indica a presença da funcionalidade $-\text{NH}-\text{N}=\text{C}-$ na molécula. Uma banda secundária em 3174 cm^{-1} é uma segunda vibração N-H deslocada para menor frequência devido à formação de ligações de hidrogênio intramolecular ou intermolecular. Além disso, a banda em 3590 cm^{-1} , de intensidade média, provavelmente corresponde a traços de solvente adsorvido.

A banda em 2939 cm^{-1} corresponde aos estiramentos $\nu(\text{C-H})$ alifáticos, compatíveis com a presença do grupo N-etil ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) na estrutura. Esse sinal reforça a alquilação no nitrogênio da hidrazina, conforme planejado na síntese.

Na região de $1600-1700\text{ cm}^{-1}$, destaca-se uma banda em 1671 cm^{-1} , corresponde ao alongamento $\nu(\text{C}=\text{N})$ da ligação imínica (azometina, $-\text{N}=\text{C}-$), formada durante a condensação entre o grupo aldeído da vanilina e a hidrazina. A ausência de banda na região de $1700-1750\text{ cm}^{-1}$ confirma a conversão do grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) da vanilina em $\text{C}=\text{N}$, característico de TSCs. Assim, a banda em 1671 cm^{-1} é típica da ligação $\text{C}=\text{N}$ conjugada, frequentemente deslocada para valores mais baixos quando envolvida em ressonância com anéis aromáticos.

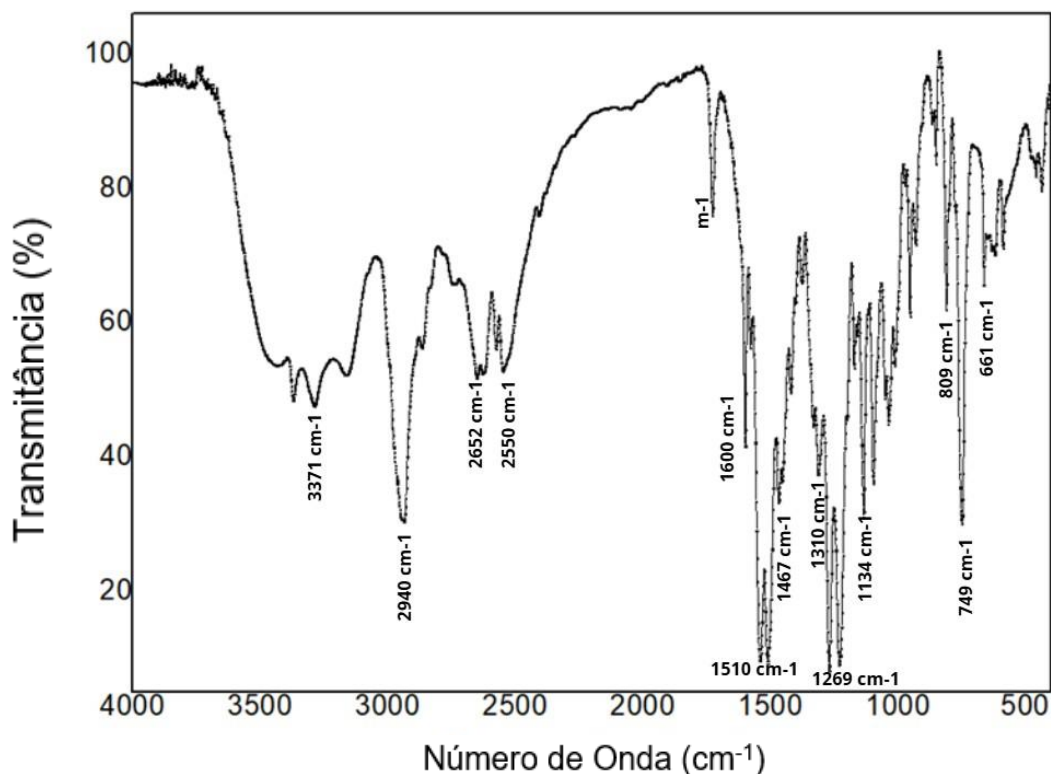
Na região de $1500-1600\text{ cm}^{-1}$, destaca-se uma banda forte em 1514 cm^{-1} , atribuída à deformação $\delta(\text{N-H})$ combinada com $\nu(\text{C}=\text{C})$ do anel aromático da vanilina. A banda em 1546 cm^{-1} , de intensidade média, também contribui para esse modo vibracional, indicando a presença do sistema aromático conjugado.

Uma banda fraca em 848 cm^{-1} é atribuída à vibração de $\nu(\text{C}=\text{S})$ do grupo tiocarbonila, característica de tiossemicarbazonas. Essa banda é consistente com a presença do grupo funcional $-\text{C}(=\text{S})-\text{N}-$ na estrutura do ligante e complementa a evidência fornecida pela ausência da banda de carbonila ($\text{C}=\text{O}$) da vanilina original, indicando a formação da tiossemicarbazona

Abaixo, se encontra os dados espectroscópicos do complexo sintetizado ASP, na sua forma cristalizada, os quais estão apresentados no espectro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), presentes no gráfico 2 e na tabela 3, representados abaixo.

A análise cuidadosa das bandas observadas permite inferir a presença de grupos funcionais específicos, além de elucidar interações moleculares e possíveis alterações estruturais decorrentes de processos químicos ou físico-químicos.

Figura 9. FTIR do composto ASP cristalizado



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Tabela 3. Atribuições do FTIR do composto ASP

Número de onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição Vibracional
3371	Média	v(O-H)
2935	Forte	v(C-H) alifático
2865	Fraca	v(C-H) alifático
2652	Média	v(C-H) alifático
2550	Média	v(C-H) alifático
1600	Média	v(C=N) + v(C=C)
1510	Forte	v(C=C) aromático
1467	Média	δ(C-H) + v(C=C)
1310	Média	v(C-N)
1269	Forte	v(C-O) (metóxi)
1134	Média	v(P-C) (PPh ₃)
809	Média	v(C=S)
749	Forte	δ(C-H) fora do plano
661	Fraca	τ(esqueleto)

Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

O espectro na região de alta frequência (3600–3200 cm^{-1}) apresenta uma banda média em 3371 cm^{-1} , que pode ser atribuída a $\nu(\text{O-H})$ de solvente residual, já que a banda de $\nu(\text{N-H})$ presente no ligante (3318 cm^{-1}) desaparece após a complexação, sugerindo que o grupo $-\text{NH}-$ foi desprotonado durante a coordenação ao Pd(II), resultando em um ligante aniônico bidentado (N,S^-).

Na região de 3000–2800 cm^{-1} , observam-se bandas de $\nu(\text{C-H})$ alifático em 2935 cm^{-1} e 2865 cm^{-1} , consistentes com os grupos $-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_3$ presentes na porção etilpiperidínica do ligante. Adicionalmente, bandas acima de 3000 cm^{-1} são atribuídas a $\nu(\text{C-H})$ aromático, oriundas tanto do anel da vanilina quanto dos anéis fenila da PPh_3 .

A banda em 1600 cm^{-1} é atribuída à sobreposição de $\nu(\text{C=N})$ da ligação imínica e $\nu(\text{C=C})$ de anéis aromáticos (vanilina e fenil da PPh_3), a presença dessa banda é coerente com a estrutura do composto.

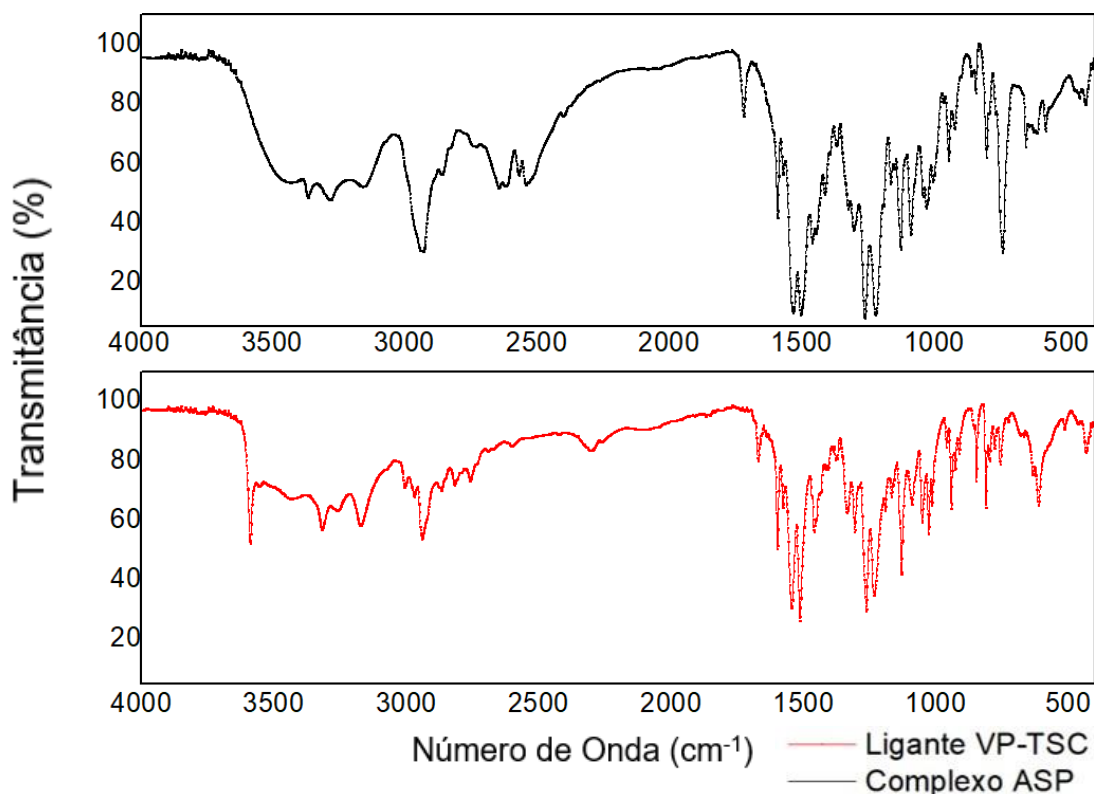
Na região de 1500–1300 cm^{-1} , observam-se bandas de $\delta(\text{N-H})$, $\nu(\text{C-O})$ do grupo metoxi da vanilina (1269 cm^{-1}) e $\nu(\text{P-C})$ da PPh_3 (1134 cm^{-1}), compatíveis com a estrutura propostas

Nas bandas abaixo de 1000 cm^{-1} , destaca-se uma banda em 809 cm^{-1} , atribuída à vibração $\nu(\text{C-S})$ do grupo tiolato ($-\text{S}^-$). Comparada à banda do ligante em 848 cm^{-1} ($\nu(\text{C=S})$), essa redução na frequência é consistente com a desprotonação do grupo $-\text{NH-C=S}$ e a subsequente formação de um ligante aniônico bidentado (N,S^-), no qual o enxofre coordena ao Pd(II) na forma de tiolato. Esse deslocamento para menor frequência reflete a diminuição na ordem da ligação C-S devido à doação do par de elétrons do enxofre ao metal. Adicionalmente, o pico intenso em 749 cm^{-1} corresponde à deformação fora do plano $\gamma(\text{C-H})$ de anéis aromáticos monossustituídos, característica dos grupos fenila da PPh_3 . A banda em 661 cm^{-1} pode ser atribuída a vibrações de esqueleto da molécula. Vibrações metal-ligante (Pd-N ou Pd-S) geralmente ocorrem abaixo de 500 cm^{-1} , região não acessível no espectrômetro utilizado, não sendo possível confirmar diretamente a presença de ligações Pd-L por FTIR. Ainda assim, o deslocamento de $\nu(\text{C=S}) \rightarrow \nu(\text{C-S}^-)$ fornece evidência indireta robusta da coordenação do enxofre.

Em seguida, foi realizado uma análise comparativa dos espectros de infravermelho do ligante VP-TSC (em vermelho) e do complexo ASP (em preto). A comparação permitiu identificar alterações estruturais decorrentes da complexação com paládio.

Os resultados corroboram com a formação do complexo $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]\text{Cl}$. Na Figura 8, temos o espectro do complexo ASP sobreposto ao do ligante VP-TSC, enquanto na Tabela 4 tem as principais bandas comparativas observadas:

Figura 10. Espectros de FTIR do complexo ASP (em preto) e do ligante VP-TSC (em vermelho) sobrepostos



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Tabela 4. Comparações do FTIR do complexo ASP com o ligante VP-TSC

Atribuição Vibracional	Banda VP-TSC (cm^{-1})	Banda ASP (cm^{-1})	Interpretação
$\nu(\text{N-})$ (tiossemicarbazona)	1546 e 3318	—	Desprotonação NH Grupo etil não coordena.
$\nu(\text{C-H})$ alifático	2939	2935	Coordenação do N ao Pd(II)
$\nu(\text{C=N})$ (imina, azometina)	1671	1600	Grupo metoxi não coordena
$\nu(\text{C-O})$ (metoxi, vanilina)	1263	1269	Presença da PPh_3
$\nu(\text{P-C})$ (PPh_3)	—	1134	Formação tiolato
$\nu(\text{C=S}) / \nu(\text{C-S}^-)$	848	809	(S-)

Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

A banda de $\nu(\text{C}=\text{N})$ desloca-se de 1671 cm^{-1} no ligante para 1600 cm^{-1} no complexo, indicando coordenação do átomo de nitrogênio imínico ao Pd(II), com consequente redução na ordem da ligação C=N devido à delocalização eletrônica. Em 1546 cm^{-1} e 3318 cm^{-1} , observa-se no ligante uma banda atribuída à $\delta(\text{N-H})$ e $\nu(\text{N-H})$, tais bandas desaparecem no espectro do complexo, reforçando a desprotonação do grupo hidrazônico.

O complexo apresenta uma banda em 1134 cm^{-1} , ausente no espectro do ligante, atribuída a $\nu(\text{P-C})$ da PPh_3 . Essa banda confirma a incorporação da trifenilfosfina como ligante neutro na esfera de coordenação.

Além disso, o deslocamento da banda de $\nu(\text{C}=\text{S})$ de 848 cm^{-1} (ligante) para 809 cm^{-1} (complexo) corrobora a formação do grupo tiolato ($-\text{S}^-$), reforçando a natureza bidentada do ligante e sua coordenação efetiva ao centro metálico

5.7. Condutividade Molar (Λ_M)

A condutividade molar do complexo ASP foi determinada em etanol à $25\text{ }^\circ\text{C}$ e concentração de 1 mmol L^{-1} . O valor obtido foi $\Lambda_m = 17,5\text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$. Esse resultado é altamente informativo quanto à natureza iônica do complexo em solução e permite inferir sua estequiometria e comportamento eletrolítico.

Em solventes de constante dielétrica intermediária, como o etanol ($\epsilon \approx 24,3$), os valores de condutividade molar são sensíveis à presença de espécies iônicas dissociadas. De acordo com a literatura (Geary, *Coord. Chem. Rev.*, 1971), os intervalos de condutividade molar esperados para soluções de $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ em etanol a $25\text{ }^\circ\text{C}$ são:

- Compostos não eletrólitos (neutros): $35\text{--}45\text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$
- Eletrólitos 1:1 (ex.: $[\text{M}]^+\text{Cl}^-$): $70\text{--}90\text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$
- Eletrólitos 2:1: $>120\text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$

O valor experimental de $17,5\text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ encontra-se abaixo da faixa típica de compostos não eletrólitos, o que pode indicar limitações na dissociação em meio pouco polar. Contudo, ele está claramente distante da faixa característica de eletrólitos 1:1, descartando a presença de um contra-íon livre em solução.

Essa observação é consistente com os dados de espectroscopia de FTIR, que evidenciam a desprotonação do grupo $-\text{NH}-\text{C}=\text{S}$ do ligante VP-TSC durante a complexação, como demonstrado pelo desaparecimento da banda de $\nu(\text{N-H})$ em

3318 cm^{-1} e pelo deslocamento da banda de $\nu(\text{C}=\text{S})$ de 813 cm^{-1} (ligante) para 750 cm^{-1} (complexo), característico da formação de um grupo tiolato ($-\text{S}^-$).

Nesse contexto, a estrutura mais plausível para o complexo é $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]$, em que o ligante coordena como ânion bidentado (N,S^-), o cloreto permanece coordenado ao metal e não há contra-íon dissociável, resultando em uma espécie neutra e predominantemente não eletrólítica.

Portanto, apesar do valor absoluto de condutividade estar ligeiramente abaixo do esperado para um não eletrólito ideal, o comportamento global é compatível com um complexo molecular neutro, sem dissociação iônica significativa em etanol. Isso reforça a coerência entre as análises espectroscópicas e físico-químicas, sustentando a proposta estrutural do complexo ASP.

5.8. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

5.8.2. RMN ^1H

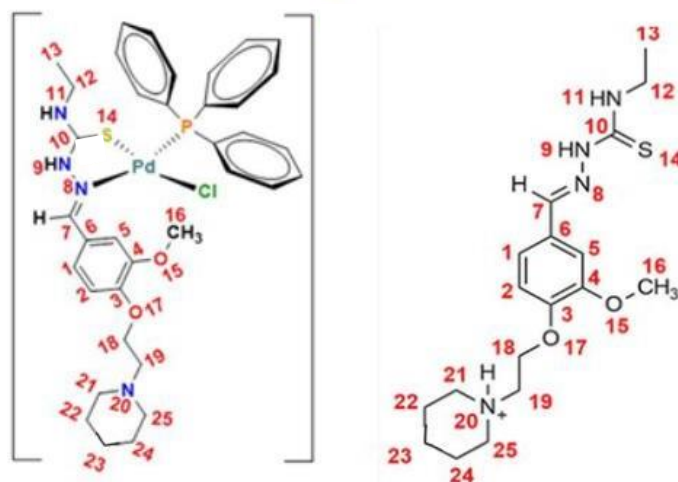
A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) constitui uma das técnicas mais poderosas e amplamente utilizadas na caracterização estrutural de compostos orgânicos e organometálicos. Sua alta sensibilidade, associada à capacidade de fornecer informações detalhadas sobre o ambiente químico dos prótons, conectividade molecular, pureza da amostra e modificações induzidas pela coordenação metálica, a torna indispensável na confirmação da formação de ligantes e seus respectivos complexos.

No presente trabalho, os espectros de RMN de ^1H foram empregados para:

- Verificar a conclusão das etapas de síntese do ligante VP-TSC;
- Confirmar a coordenação efetiva deste ao íon $\text{Pd}(\text{II})$ por meio de deslocamentos característicos dos prótons próximos aos sítios de ligação;
- Avaliar a pureza do material após as etapas de purificação, assegurando a integridade estrutural necessária para as análises subsequentes.

A caracterização dos sinais nos espectros seguiu as numerações apresentadas no Esquema 12, abaixo:

Esquema 12. Numeração adotada para a caracterização da estrutura do complexo e do ligante, respectivamente.



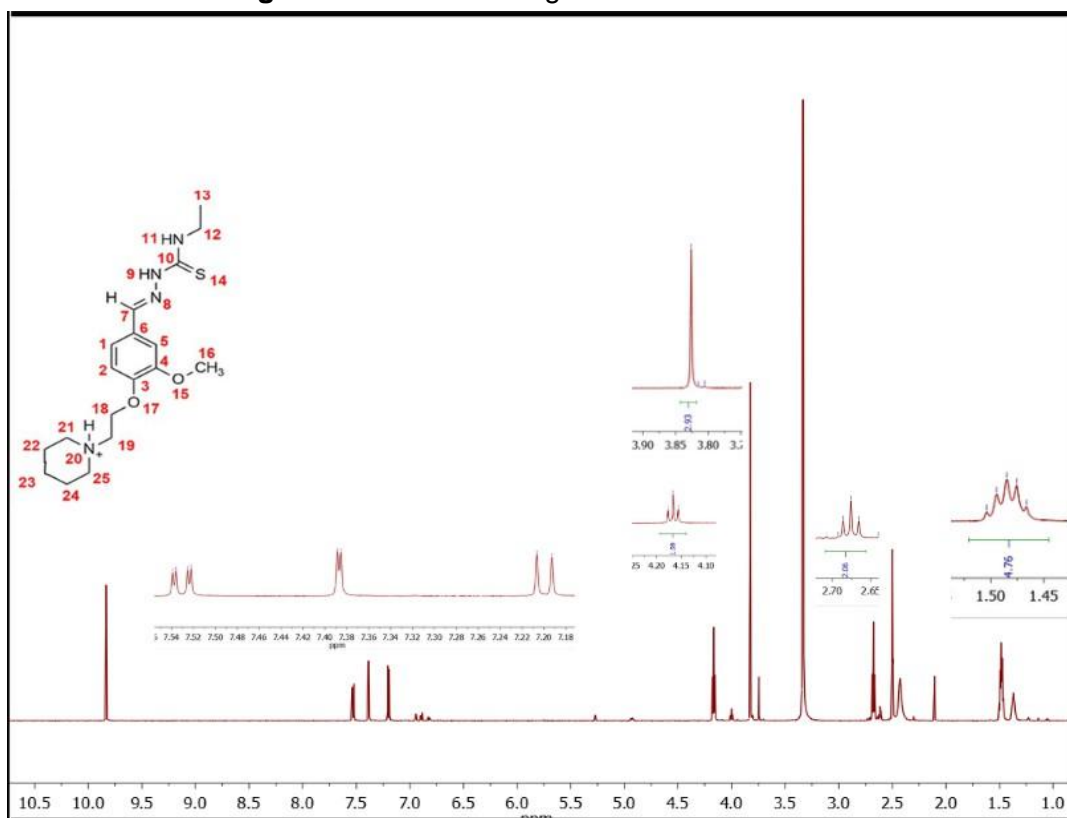
Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Com isso, temos na Figura 9 o RMN ^1H do ligante VP-TSC e, em seguida suas respectivas atribuições (Tabela 5), para discussão e comparação deste dado com o complexo final obtido.

O espectro de RMN ^1H do ligante VP-TSC, realizado em DMSO-d_6 , apresentou sinais consistentes com a estrutura proposta. Um singlete em δ 9,83 ppm foi atribuído ao próton do grupo $-\text{NH}-\text{C}(=\text{S})-$ (H9), característico de tiossemicarbazonas. Os prótons aromáticos do anel da vanilina apareceram na região de δ 7,20–7,53 ppm como um sistema ABX (3H), compatível com um anel trissubstituído. O grupo metóxi foi observado como um singlete em δ 3,83 ppm (3H, H16), enquanto o sinal em δ 4,17 ppm (t, 2H, H17) confirma a presença do grupo $-\text{O}-\text{CH}_2-$ resultante da alquilação do fenol.

A região alifática (δ 1,37–3,31 ppm) exibe uma série de múltiplos sinais sobrepostos, somando aproximadamente 19H, atribuídos aos grupos $-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_3$ da cadeia N-etilpiperidínica. A sobreposição é esperada devido à similaridade dos ambientes químicos dos metilenos na piperidina e no grupo etil, além da flexibilidade conformacional da cadeia alifática, que limita a resolução espectral unidimensional.

Figura 11. RMN ^1H do ligante sintetizado VP-TSC



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Tabela 5. Atribuições do RMN ^1H do ligante VP-TSC

Deslocamento Químico (ppm)	Multiplicidade	Atribuição	Grupo	Nº de H
9.83	s	H9	-NH-C(=S)- (TSC)	1H
7.53	dd	H1	Aromático (orto -CH=N-)	1H
7.39	d	H2	H aromático (meta)	1H
7.20	d	H5	H aromático (para)	1H
4.17	t	H17	-O-CH ₂ -	2H
3.83	s	H16	-OCH ₃ (vanilina)	3H
3.31	m	H19	N-CH ₂ - (piperidina, α N)	2H
2.68	t	H10	-C(=S)-CH ₂ -	2H
2.62	m	H20, H25	CH ₂ (piperidina, β/γ)	4H
2.43	m	H21, H24	CH ₂ (piperidina, γ/δ)	4H
1.49	p	H22, H23	CH ₂ (piperidina, δ/ε) + -N-CH ₂ - (etil)	5H
1.37	m	H(etil)	-CH ₃ do N-CH ₂ -CH ₃	3H

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

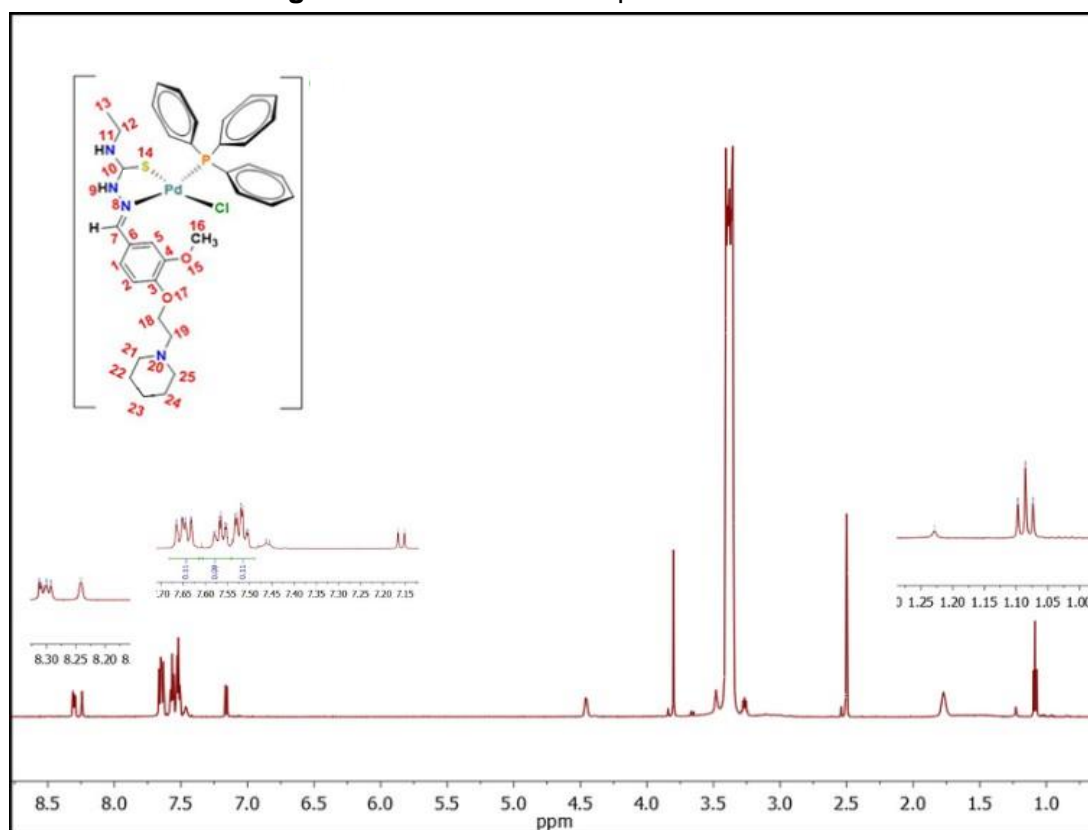
A ausência de sinal para o próton do fenol ($-\text{OH}$, $\sim 9\text{--}12$ ppm) corrobora o sucesso da etapa de funcionalização da vanilina. E, cabe destacar que o próton imínico ($-\text{CH}=\text{N}-$), esperado na região de δ 8,0–9,0 ppm, não foi observado no espectro do ligante. Esse fenômeno é frequentemente relatado na literatura para tiossemicarbazonas. Kowol et al. (2012) observaram comportamento semelhante em ligantes análogos, atribuindo a não detecção do sinal à troca química rápida entre os prótons ácidos do sistema $-\text{CH}=\text{N}-\text{NH}-\text{C}(=\text{S})-$ e o solvente, acentuada pela polaridade do DMSO.

Adicionalmente, o equilíbrio tautomérico tiol–tione pode contribuir para o alargamento ou desaparecimento do sinal em temperatura ambiente (Kalinowski et al., 2009). Apesar da ausência desse sinal, a formação bem-sucedida da tiossemicarbazona é corroborada pelo desaparecimento da banda de aldeído (confirmado por FTIR), pela presença do próton $-\text{NH}-\text{C}(=\text{S})-$ em 9,83 ppm e pela coerência de todos os demais sinais com a estrutura proposta.

Já o espectro de RMN ^1H do complexo ASP (Figura 8), realizado nas mesmas condições, revela alterações espectroscópicas indicativas da coordenação do ligante ao centro metálico. Notavelmente, o sinal em δ 9,83 ppm (Tabela 5) desaparece completamente, indicando a desprotonação do grupo $-\text{NH}-\text{C}(=\text{S})-$ durante a reação. Essa desprotonação é essencial para a formação de um ligante aniônico bidentado (N,S^-), onde o nitrogênio imínico ($-\text{CH}=\text{N}-$) e o enxofre tiolato ($-\text{S}^-$) atuam como doadores ao íon $\text{Pd}(\text{II})$.

Além disso, observa-se a ausência do sinal característico do próton tioureídico, que normalmente aparece entre δ 10–12 ppm em tiossemicarbazonas livres, o que contribui com a hipótese do grupo $-\text{NH}-$ ter sido desprotonado durante a reação de complexação

Figura 12. RMN ^1H do complexo sintetizado ASP



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Tabela 6. Atribuições do RMN ^1H do complexo ASP

Deslocamento Químico (ppm)	Multiplicidade	Atribuição	Grupo	Nº H
8,27	s	H7	-CH=N- (imínico)	1H
7,66–7,46	m	H6, H5, H2	Anel vanilina	3H
7,45–7,10	m	H fenílicos	3 anéis fenílicos (PPh ₃)	15H
4,17	t	H17	-O-CH ₂ -	2H
3,61	s	H16	-OCH ₃	3H
2,68	t	H10	-C(=S)-CH ₂ -	2H
2,42	m	H21, H25	-N-CH ₂ - (piperidina, α-N)	4H
1,48	m	H22, H23, H24	-CH ₂ - (anel pipe., β/γ-N)	6H
1,37	t	H13	-CH ₂ - (etil)	2H
0,92	t	H14	-CH ₃ (etil)	3H

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Comparando os espectros de RMN ^1H do ligante VP-TSC e do complexo ASP, percebe-se alterações consistentes com a coordenação do ligante ao íon Pd(II), bem como a integridade estrutural da molécula após a complexação. Essas mudanças refletem modificações no ambiente eletrônico dos prótons próximos aos sítios de ligação, além da desprotonação e reorganização estérica imposta pelo metal, conforme demonstrado Tabela 6.

Tabela 6. Principais comparações das atribuições do RMN ^1H para o ligante (VP-TSC) e o complexo (ASP) sintetizados

Grupo/Próton	VP-TSC (ppm)	ASP (ppm)	Mudança Observada
Próton imínico	-	8,27	Aparecimento
Próton tiureitídico	9,83	Ausente	Desaparecimento
Prótons aromáticos	7,56–7,18	7,66–7,46	Leve downfield (~0,1–0,3 ppm)
Grupo metóxi	3,83	3,61	Leve upfield
Sinais de PPh_3	Ausente	7,45–7,10 (envelope, 15H)	Aparecimento de novos sinais aromáticos

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Embora o próton imínico ($-\text{CH}=\text{N}-$) não seja observado no espectro do ligante VP-TSC (devido à troca química rápida e equilíbrio tautomérico), ele aparece claramente no complexo ASP em δ 8,27 ppm, como um singlete. Isso indica que a coordenação ao Pd(II) estabiliza a forma imínica do ligante, tornando o próton detectável. A posição em campo mais alto (8,27 ppm) em relação a iminas típicas (~8,5–9,0 ppm) é coerente com a ressonância conjugada com o anel aromático e a doação de densidade eletrônica do anel para o sistema $\text{C}=\text{N}-\text{Pd}$.

Além disso, os prótons aromáticos do anel de vanilina exibem um leve deslocamento downfield (de δ 7,56–7,18 para 7,66–7,46 ppm), refletindo a modulação eletrônica indireta causada pela coordenação do grupo $-\text{CH}=\text{N}-\text{N}-\text{C}(\text{S})-$ ao metal. O grupo metóxi, por sua vez, vai de δ 3,83 \rightarrow 3,61 ppm, o que era esperado, já que está distante do sítio de ligação, reforçando a integridade estrutural da fração aromática após a complexação. Por fim, o aparecimento de um envelope de sinais entre δ 7,45–7,10 ppm, correspondente aos 15 prótons aromáticos da triifenilfosfina (PPh_3), corrobora a estequiometria proposta para o complexo.

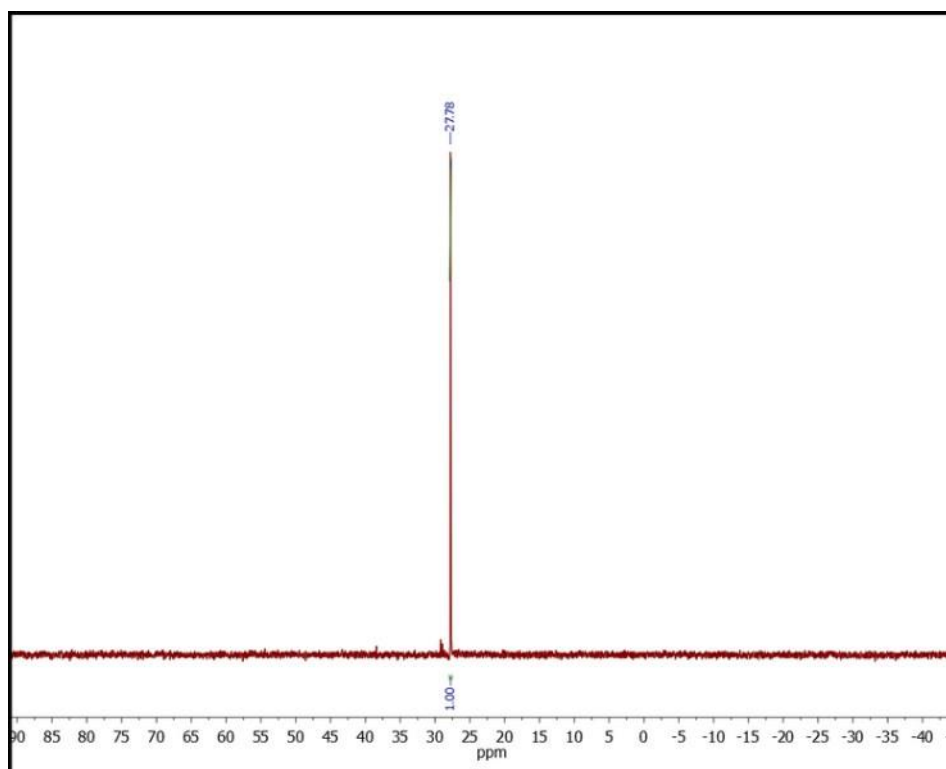
Em conjunto, essas mudanças espectroscópicas dão indícios robustos da formação do complexo ASP, além de demonstrarem que a estratégia de síntese e purificação foi eficaz.

5.8.3. RMN ^{31}P

O espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo ASP, foi registrado em $\text{DMSO-}d_6$ à temperatura ambiente, apresentando um único sinal bem definido, observado em δ 27,78 ppm. Esse resultado é altamente indicativo de formação de uma única espécie majoritária, com geometria quadrado-plana típica de complexos de Pd(II) d^8 .

Esse deslocamento químico encontra-se dentro da faixa típica reportada na literatura para complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{N}^{\wedge}\text{S})(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$ entre δ 25–33 ppm (Velasques, 2022), e está significativamente deslocado em relação ao PPh_3 livre ($\delta \approx -5$ ppm), indicando a coordenação da fosfina ao centro metálico.

Figura 13. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo ASP



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

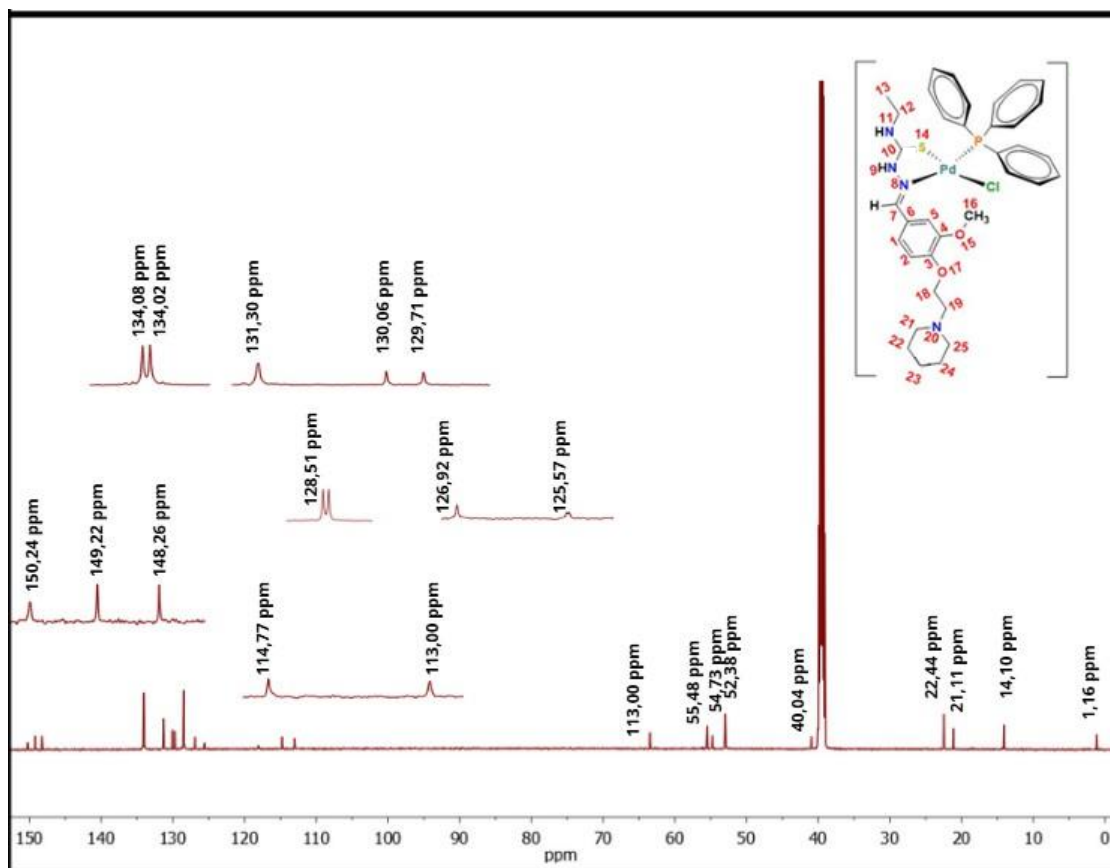
A ausência de picos adicionais no espectro descarta a presença de espécies secundárias, como PPh_3 não coordenada, complexos com estequiometria $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2]$ ($\delta \sim 20\text{--}25$ ppm) ou produtos de oxidação, reforçando a homogeneidade do complexo isolado.

5.8.4. RMN ^{13}C

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN de ^{13}C) constitui uma ferramenta indispensável na caracterização estrutural de complexos organometálicos, pois fornece informações sobre o ambiente eletrônico dos átomos de carbono, especialmente em regiões onde os sinais de ^1H podem estar sobrepostos ou ambíguos.

No caso do complexo de paládio(II) sintetizado (ASP), o espectro de ^{13}C em $\text{DMSO-}d_6$ (Figura 12) revelou um conjunto de sinais que dão indícios da integridade estrutural do ligante VP-TSC após a complexação, além de fornecer evidências da coordenação bidentada N,S^- ao centro metálico.

Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C para o complexo ASP



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

O sinal mais diagnóstico no espectro de ^{13}C do complexo ASP é o do carbono imínico ($-\text{CH}=\text{N}-$), observado em δ 150,26 ppm (Tabela 7). Esse valor está deslocado para downfield em relação ao encontrado em tiossemicarbazonas livres (geralmente entre δ 148–150 ppm), o que é consistente com a doação do par de elétrons do nitrogênio imínico ao Pd(II). Essa interação reduz a densidade eletrônica ao redor do carbono $\text{C}=\text{N}$, desshielding-o e fazendo ressonar em campos mais baixos, constituindo uma das principais evidências da formação da ligação Pd–N.

Tabela 8. Atribuições do RMN ^{31}C do complexo ASP

Deslocamento Químico (ppm)	Atribuição	Grupo/posição	#C atribuídos
150,26	C7	$-\text{CH}=\text{N}-$ (imínico)	1
149,22	C4	Anel aromático (C-4 da vanilina)	1
148,26	C3	Anel aromático (C-3 da vanilina)	2
134,10	C-P (PPh_3)	Carbono ligado ao P (por anel)	1
	C-Orto (PPh_3)	Anéis fenílicos (PPh_3) + anel	
131,30	+ C2/C6	vanilina	1
130,06	C5	Anel aromático (C-5 da vanilina)	3
129,71	C-Orto (PPh_3)	Anéis fenílicos (PPh_3)	1
128,51	C-Para (PPh_3)	Anéis fenílicos (PPh_3)	3
	C-Meta (PPh_3)	Anéis fenílicos (PPh_3)	
126,92	(PPh_3)	Anéis fenílicos (PPh_3)	3
125,57	C-Para (PPh_3)	Anel fenílico (para ao P)	1
114,77	C1	Anel aromático (C-1 da vanilina)	1
		Anel aromático (C-6 ou C-2 da	
113,00	C6/C2	vanilina)	1
63,00	C17	$-\text{O}-\text{CH}_2-$	1
55,48	C16	$-\text{OCH}_3$	2
54,73	C18/C19	$-\text{N}-\text{CH}_2-$ (piperidina/etil)	1
52,38	C12	$-\text{NH}-\text{CH}_2-$	6
40,04	C20–C25	$-\text{CH}_2-$ (piperidina)	6
39,85–39,08	C20–C25	$-\text{CH}_2-$ (piperidina)	1
22,44	C13	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (etil)	1
	C13		
21,11	(duplicata)	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (etil)	1
14,10	C14	$-\text{CH}_3$ (etil)	1

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

No espectro de RMN ^{13}C do complexo ASP, não foi observado um sinal claro na região característica da tiocarbonila (δ 175–185 ppm), que seria esperado para o carbono C=S em tiossemicarbazonas livres. Embora esse resultado possa parecer inesperado, é importante considerar que a detecção do carbono tiocarbonílico em compostos coordenados pode ser desafiadora devido à baixa intensidade do sinal, relaxamento rápido ou efeitos de acoplamento residual. Essa ausência pode estar relacionada a limitações experimentais, como tempo de aquisição insuficiente ou baixa concentração da amostra, que podem comprometer a sensibilidade do experimento.

Nesse contexto, a espectroscopia no infravermelho (FTIR) torna-se uma ferramenta complementar e fundamental para confirmar a presença e a transformação do grupo tiocarbonila. No espectro do ligante VP-TSC, uma banda clara em 810 cm^{-1} foi atribuída à vibração de $\nu(\text{C}=\text{S})$, característica de tiossemicarbazonas. Após a complexação, essa banda desloca-se para 792 cm^{-1} , consistente com a formação do grupo tiolato ($-\text{S}^-$), onde a ligação C–S adquire caráter mais simples, resultando em uma redução da frequência vibracional. Esse deslocamento para menor frequência é um indicativo direto da coordenação do enxofre ao Pd(II) e corrobora a hipótese de desprotonação do grupo $-\text{NH}-$ durante a reação.

Assim, embora o RMN ^{13}C não tenha permitido a visualização direta do carbono tiocarbonílico no complexo, os dados de FTIR fornecem evidências inequívocas da presença e transformação do grupo C=S, validando a estrutura proposta e a natureza bidentada do ligante.

A região dos carbonos aromáticos (δ 134–113 ppm) apresenta um padrão de sinais bem definidos, compatível com uma substituição 1,2,4-trissubstituída no anel benzênico da vanilina. Os sinais em δ 134,10 ppm (C-3), 131,30 ppm (C-2/C-6), 130,06 ppm (C-5), 129,71 ppm (C-4), 114,77 ppm (C-1) e 113,00 ppm (C-meta) estão alinhados com a estrutura proposta, dando indícios que a funcionalização do fenol com o grupo N-etilpiperidina foi bem-sucedida e que o anel permaneceu intacto durante as etapas de síntese e complexação.

A presença da triifenilfosfina (PPh_3) é confirmada por um conjunto de sinais entre δ 134–128 ppm, correspondentes aos 15 carbonos aromáticos dos três anéis fenílicos. Especificamente, o sinal em δ 134,10 ppm também pode ser atribuído ao carbono ligado diretamente ao fósforo (C-P), isso pode ocorrer por conta da sobreposição dos

carbonos quaternários C-3 do anel aromático da vanilina (ligado ao grupo metóxi) e C-IPSO da triifenilfosfina (ligado ao fósforo), a sobreposição é esperada e comum em complexos contendo múltiplos sistemas aromáticos, os sinais em δ 131,30 ppm, 130,06 ppm, 129,71 ppm e 128,51 ppm correspondem aos carbonos orto, meta e para dos anéis. A ausência de sinais adicionais nesta região indica que toda PPh_3 está coordenada ao metal, sem sua presença como uma impureza livre, um resultado consistente com o espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, que mostrou um único sinal em δ 27,78 ppm.

Os sinais na região δ 63,94–14,10 ppm confirmam a presença de todos os grupos alifáticos da estrutura, em δ 55,48 ppm carbono do grupo metóxi ($-\text{OCH}_3$), confirmando a integridade da fração vanilina, em δ 63,94–52,38 ppm os carbonos do grupo $-\text{O}-\text{CH}_2-$ e $-\text{N}-\text{CH}_2-$, referentes à cadeia que liga a vanilina à N-etilpiperidina, δ 40,04 ppm carbono do grupo etil ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) e, δ 14,10 ppm carbono do grupo metila ($-\text{CH}_3$). A manutenção desses sinais, sem alargamento ou deslocamento anômalo, indica que a estrutura orgânica do ligante VP-TSC permaneceu intacta após a coordenação ao Pd(II), sem degradação ou substituição parcial.

Os sinais em δ 22,44 ppm e 21,11 ppm foram atribuídos ao mesmo carbono C13 ($-\text{CH}_2-$ do grupo etil), sendo o segundo sinal uma duplicata ou componente do primeiro, decorrente de efeitos de resolução ou acoplamento residual. O sinal em δ 14,10 ppm foi atribuído ao carbono C14 ($-\text{CH}_3$ do grupo etil), indica integridade da cadeia alifática da N-etilpiperidina. O sinal em δ 1,16 ppm, embora presente no espectro, provavelmente corresponde a um ruído, já que seu valor está fora da faixa esperada para carbonos alifáticos.

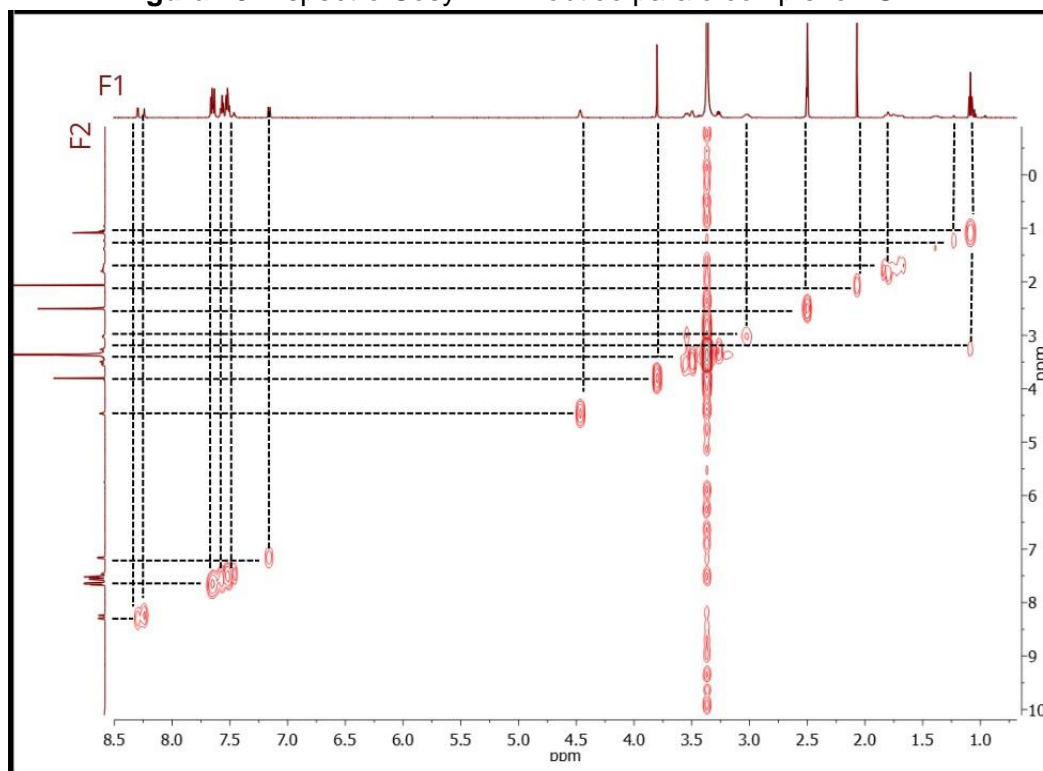
5.8.5. Análise Bidimensional COSY

O experimento bidimensional de correlação espectroscópica ($^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY) é uma ferramenta poderosa para elucidar a conectividade atômica em moléculas orgânicas e organometálicas, pois, permite identificar prótons que estão acoplados entre si por interações spin-spin (geralmente através de 2 ou 3 ligações, ^2JHH e ^3JHH). No caso do complexo ASP, o COSY foi empregado para confirmar a estrutura dos fragmentos alifáticos do ligante VP-TSC, particularmente os grupos N-etilpiperidina, $-\text{O}-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, cujos sinais podem estar sobrepostos ou mal resolvidos no espectro unidimensional de ^1H .

O espectro COSY do complexo ASP, foi realizado em DMSO- d_6 a 600 MHz, apresentando uma série de picos cruzados (cross-peaks) fora da diagonal, indicando correlações entre prótons acoplados (Figura 13).

Podemos observar a correlação entre δ 1,39 ppm e δ 1,23 ppm, o qual é bem característica do grupo etil ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), onde o próton do metileno (H13, δ 1,39 ppm) acopla-se ao próton da metila (H14, δ 1,23 ppm) por meio de um acoplamento vicinal típico ($^3\text{J}_{\text{HH}} \approx 7$ Hz). A presença dessa correlação fornece indícios da integridade do grupo etil na estrutura da N-etilpiperidina. Além deste, a relação entre δ 2,50 ppm e δ 2,07 ppm, corresponde aos prótons α e β ao nitrogênio no anel da piperidina (H21/H25 e H22/H24, respectivamente). A observação dessa correlação é consistente com a estrutura cíclica da piperidina, onde os prótons vizinhos apresentam acoplamento spin-spin clássico.

Figura 15. Espectro Cosy ^1H - ^1H obtido para o complexo ASP



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Além disso, foram observadas várias correlações na região δ 3,80–3,02 ppm, entre elas:

- δ 3,80 ppm \leftrightarrow δ 3,56 ppm
- δ 3,56 ppm \leftrightarrow δ 3,02 ppm
- δ 3,02 ppm \leftrightarrow δ 2,50 ppm

Essas correlações sugerem uma cadeia contínua de prótons acoplados, compatível com a conexão entre o grupo $-\text{O}-\text{CH}_2-$ (H17, δ 3,80 ppm), o $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ (H12, δ 3,56 ppm) e os prótons da piperidina (H21/H25, δ 2,50 ppm). Embora alguns desses acoplamentos sejam de longa distância (^4JHH) e, portanto, mais fracos, sua observação reforça a conectividade global do ligante VP-TSC.

Por fim, houve a ausência de correlações envolvendo o próton imínico (H7, δ 8,24 ppm), uma vez que ele está isolado entre o carbono aromático e o nitrogênio da tiossemicarbazona, sem prótons acopláveis.

A análise do COSY permitiu confirmar a integridade dos fragmentos alifáticos do ligante VP-TSC, como o grupo etil (correlação H13–H14), o anel piperidina (correlação H21/H25–H22/H24) e a conexão entre vanilina e piperidina (sugerida pelas correlações em cadeia na região δ 3,80–2,50 ppm). Esses dados corroboram as atribuições feitas no espectro unidimensional de ^1H e reforçam a proposta estrutural do complexo ASP.

A Tabela 9 resume as correlações observadas no espectro COSY do complexo ASP, no qual, F1 e próton 1 é a região horizontal, enquanto F2 e próton 2 a região vertical, sugerindo-se a conectividade dos fragmentos alifáticos do ligante VP-TSC.

Sendo importante destacar que, devido à complexidade da molécula e à presença de múltiplos grupos alifáticos com ambientes químicos semelhantes, alguns sinais podem estar sobrepostos ou apresentar acoplamentos fracos, o que dificultou a identificação clara de todas as correlações.

Tabela 9. Atribuições do COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ obtido para o complexo ASP

F1 (ppm)	F2 (ppm)	Próton 1	Próton 2	Atribuição Estrutural
1,39	1,23	H13	H14	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (grupo etil)
1,23	1,09	H14	H13	$-\text{CH}_3-\text{CH}_2-$ (grupo etil)
2,50	2,07	H21/H25	H22/H24	$-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (anel piperidina)
2,07	1,84	H22/H24	H21/H25	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (anel piperidina)
1,84	1,70	H22/H24	H21/H25	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (anel piperidina)
1,70	1,67	H22/H24	H21/H25	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (anel piperidina)
1,67	1,39	H21/H25	H13	$-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
3,80	3,56	H17	H16	$-\text{O}-\text{CH}_2-$ / $-\text{OCH}_3$
3,56	3,02	H16	H17	$-\text{OCH}_3$ / $-\text{O}-\text{CH}_2-$
3,02	2,50	H17	H21/H25	$-\text{O}-\text{CH}_2-$ / $-\text{N}-\text{CH}_2-$
3,37	3,29	H21/H25	H22/H24	$-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (anel piperidina)
3,29	3,02	H22/H24	H17	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

5.8.6. Análise Bidimensional HSQC

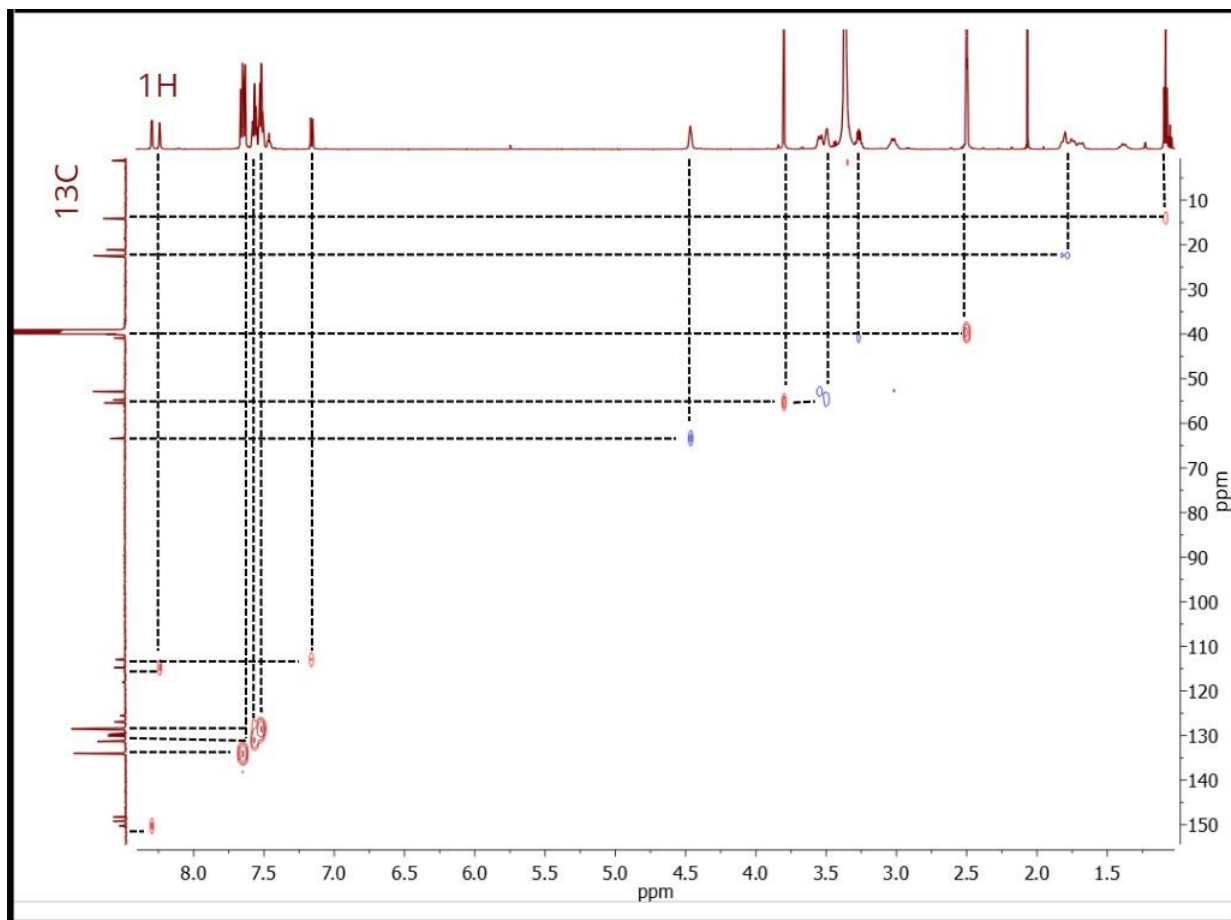
O experimento bidimensional HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence) é uma ferramenta essencial na caracterização de complexos, pois permite identificar correlações diretas entre prótons e seus carbonos diretamente ligados ($^1J_{CH}$). No caso do complexo ASP, o HSQC foi empregado para confirmar as atribuições unidimensionais e validar a integridade estrutural do ligante VP-TSC, especialmente nos fragmentos aromáticos e alifáticos, onde sinais podem estar sobrepostos ou mal resolvidos no espectro 1D.

Com base no espectro obtido (Figura 14), foi feita as correlações mais significativas, entre elas, foi observada entre o próton imínico (H7, δ 8,30 ppm) e seu carbono correspondente (C7, δ 150,26 ppm), cuja posição deslocada para downfield em relação a tiossemicarbazonas livres corrobora a coordenação do nitrogênio imínico ao Pd(II), resultando na formação de uma ligação estável que reduz a densidade eletrônica ao redor do carbono C=N.

Além disso, os sinais referentes ao anel aromático da vanilina foram identificados: os prótons H6/H2 (δ 7,65 ppm), H5 (δ 7,57 ppm) e H1 (δ 7,16 ppm) correlacionaram-se, respectivamente, com os carbonos C3 (δ 134,09 ppm), C5 (δ 131,06 ppm) e C1 (δ 114,75 ppm), confirmando o padrão de substituição 1,2,4-trissubstituída e a preservação da estrutura aromática ao longo das etapas de síntese. O grupo metóxi, característico da vanilina, também foi confirmado pela correlação entre H16 (δ 3,80 ppm) e C16 (δ 55,30 ppm), enquanto o fragmento alquiléter que conecta o anel aromático à cadeia funcionalizante foi validado pela correlação entre H17 (δ 4,46 ppm) e C17 (δ 63,35 ppm), atribuída ao grupo $-O-CH_2-$.

Paralelamente, o trecho da tiossemicarbazona foi identificado pela correlação entre H12 (δ 3,55 ppm) e C12 (δ 54,66 ppm), referente ao grupo $-NH-CH_2-$. A ausência de sinais adicionais nessa região, aliada à ausência do próton tiol ($-NH-$) no espectro de 1H , reforça a hipótese de que o grupo $-NH-$ foi desprotonado durante a complexação, permitindo a coordenação do enxofre na forma de tiolato ($-S^-$), em concordância com a estequiometria do complexo bidentado N,S^- .

Figura 16. Espectro HSQC ^1H - ^{13}C obtido para o complexo ASP



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

A porção alifática derivada da N-etilpiperidina também foi caracterizada, os prótons α ao nitrogênio (H21/H25, δ 2,50 ppm) correlacionaram-se ao carbono C21/C25 (δ 52,74 ppm), enquanto os prótons dos demais metilenos do anel piperidino (δ 3,35–3,02 ppm) associaram-se a seus respectivos carbonos (δ 39,64–40,86 ppm), dando indícios da integridade da cadeia cíclica. Da mesma forma, o grupo etil terminal foi analisado pelas correlações entre H13 (δ 1,82/1,78 ppm) e C13 (δ 22,37/22,42 ppm), e entre H14 (δ 1,08 ppm) e C14 (δ 13,98 ppm), correspondentes aos grupos $-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_3$, respectivamente.

A presença da triifenilfosfina coordenada foi igualmente verificada pelas correlações entre os prótons aromáticos da PPh_3 (δ 7,52 ppm) e os carbonos orto (δ 128,54 ppm) e meta (δ 124,51 ppm) dos anéis fenílicos, sem indícios de espécies livres, o que está alinhado com os dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Por fim, a ausência de correlação para o sinal em δ 197,61 ppm (atribuível ao carbono da tiocarbonila) é coerente com a

natureza do sistema após coordenação, uma vez que, o enxofre atua como tiolato ($-S^-$), o carbono C–S apresenta acoplamento $^1J_{CH}$ muito fraco ou nulo, tornando-o pouco visível no HSQC, como esperado para ligações C–S em sistemas metálicos.

Todas essas correlações estão dispostas na tabela 10, abaixo:

Tabela 10. Atribuições do HSQC 1H - ^{13}C obtido para o complexo ASP

1H (ppm)	^{13}C (ppm)	Atribuição	Atribuição Estrutural
8,30	150,26	H7 ↔ C7	–CH=N– (imínico)
7,65	134,09	H6/H2 ↔ C3	Anel aromático da vanilina
7,57	131,06	H5 ↔ C5	Anel aromático da vanilina
7,52	128,54	H-Orto ↔ C-Orto	Anéis fenílicos da PPh ₃
7,52	124,51	H-Meta ↔ C-Meta	Anéis fenílicos da PPh ₃
7,16	114,75	H1 ↔ C1	Anel aromático da vanilina
4,46	63,35	H17 ↔ C17	–O–CH ₂ –
3,80	55,30	H16 ↔ C16	–OCH ₃
3,55	54,66	H12 ↔ C12	–NH–CH ₂ –
3,50	52,84	H18/C19 ↔ C18/C19	–N–CH ₂ – (piperidina)
3,35	39,64	H20/C25 ↔ C20/C25	–CH ₂ – (anel piperidina)
3,27	39,64	H20/C25 ↔ C20/C25	–CH ₂ – (anel piperidina)
3,02	40,86	H20/C25 ↔ C20/C25	–CH ₂ – (anel piperidina)
2,50	52,74	H21/H25 ↔ C21/C25	–N–CH ₂ – (piperidina)
1,82	22,37	H13 ↔ C13	–CH ₂ – (etil)
1,78	22,42	H13 ↔ C13	–CH ₂ – (etil)
1,08	13,98	H14 ↔ C14	–CH=N– (imínico)

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

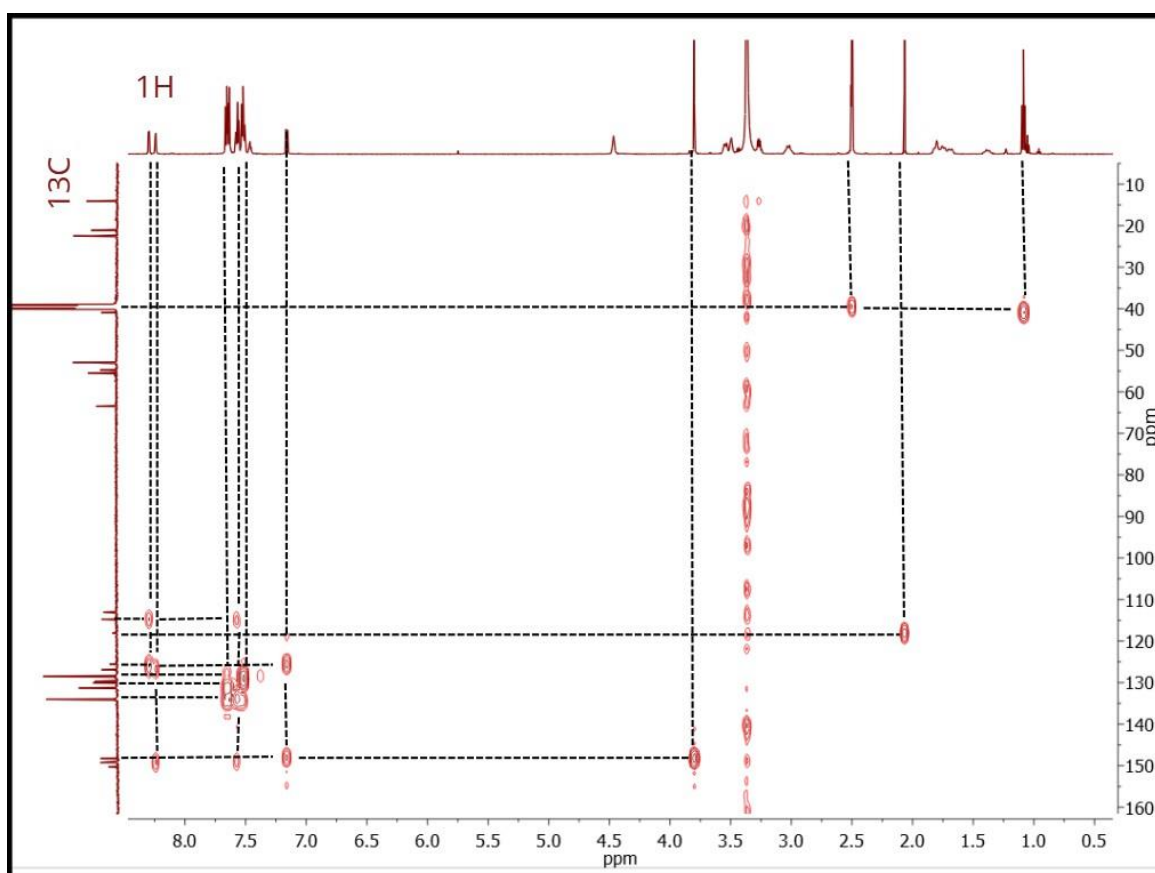
Em síntese, os dados do HSQC não apenas nos dão maior robustez de caracterização, para confirmarmos a estrutura proposta para o complexo ASP, mas também reforçam a pureza e estabilidade da espécie isolada, sustentando as interpretações espectroscópicas anteriores e fornecendo uma base sólida para as análises complementares.

5.8.7. Análise Bidimensional HMBC

O experimento bidimensional HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) foi fundamental para estabelecer as conexões entre fragmentos estruturais não diretamente ligados no complexo ASP, permitindo a validação da arquitetura molecular do ligante VP-TSC após coordenação ao Pd(II). Ao detectar correlações de longa distância ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$), o HMBC fornece evidências de como os distintos

subdomínios da molécula (aromático, imínico, alquiléter e aminado) estão quimicamente interligados, conforme a figura 13. A correlação mais significativa foi observada entre o próton imínico (H7, δ 8,30 ppm) e os carbonos aromáticos C4 (δ 149,11 ppm) e C3 (δ 148,99 ppm), ambas atribuídas a interações de três ligações ($^3J_{CH}$). Essas correlações dão os indícios que o grupo $-\text{CH}=\text{N}-$ da tiossemicarbazona está diretamente conectado ao anel benzênico da vanilina, fechando o fragmento condensado essencial à formação do ligante.

Figura 17. Espectro HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ obtido para o complexo ASP



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Além disso, o HMBC revelou correlações que corroboram o padrão de substituição 1,2,4-trissubstituído do anel aromático. Especificamente, o próton H6/H2 (δ 7,64 ppm) correlacionou-se com o carbono C3 (δ 133,86 ppm) por meio de um acoplamento geminal ($^2J_{CH}$), enquanto o próton H5 (δ 7,57 ppm) exibiu correlação com o carbono C5 (δ 131,17 ppm), consistente com a posição meta em relação ao grupo metóxi.

Esses dados reforçam a integridade do núcleo aromático da vanilina, mesmo após as modificações químicas introduzidas pela funcionalização com a N-etilpiperidina.

A presença da triifenilfosfina coordenada também foi confirmada indiretamente pelas correlações entre prótons aromáticos (δ 7,52 ppm) e carbonos dos anéis fenílicos (δ 128,96 ppm), embora essas interações sejam menos informativas devido à simetria e à sobreposição dos sinais típicos da PPh_3 .

Um aspecto particularmente elucidativo foi a correlação entre o próton do grupo metóxi (H16, δ 3,80 ppm) e os carbonos C3 (δ 148,07 ppm) e C4 (δ 148,19 ppm). A primeira, via acoplamento geminal (^2JCH), confirma a ligação direta do grupo $-\text{OCH}_3$ ao carbono C3, enquanto a segunda, por acoplamento vicinal (^3JCH), reflete a interação com o carbono adjacente (C4), onde está ancorada a cadeia funcionalizante com N-etilpiperidina. Essa dupla correlação reduz ambiguidades quanto à posição do metóxi no anel reforçando a especificidade da substituição química realizada.

No domínio alifático, o HMBC confirmou a continuidade estrutural da N-etilpiperidina: o próton H21/H25 (δ 2,50 ppm), adjacente ao nitrogênio, correlacionou-se com seu carbono α (δ 52,74 ppm, inferido com base no HSQC), enquanto o próton metileno do grupo etil (H13, não diretamente observado no HMBC, mas sugerido por correlações indiretas) e o próton metila (H14, δ 1,08 ppm) associaram-se ao carbono C14 (δ 14,10 ppm), validando a extremidade terminal da cadeia alifática.

A Tabela 8 resume as correlações observadas no espectro HMBC do complexo ASP, confirmando as conectividades de longa distância entre fragmentos estruturais:

Tabela 8. Atribuições do HMBC ^1H - ^{13}C obtido para o complexo ASP

^1H (ppm)	^{13}C (ppm)	Atribuição	Atribuição Estrutural	Tipo de Acoplamento
8,30	149,11	H7 \rightarrow C4	$-\text{CH}=\text{N}- \leftrightarrow$ Anel aromático	^3JCH
8,30	148,99	H7 \rightarrow C3	$-\text{CH}=\text{N}- \leftrightarrow$ Anel aromático	^3JCH
7,64	133,86	H6/H2 \rightarrow C3	Anel aromático	^2JCH
7,57	131,17	H5 \rightarrow C5	Anel aromático	^2JCH
7,52	128,96	H-Orto \rightarrow C-Orto	Anéis fenílicos (PPh_3)	^3JCH
7,16	114,76	H1 \rightarrow C1	Anel aromático	^2JCH
3,80	148,07	H16 \rightarrow C3	$-\text{OCH}_3 \leftrightarrow$ Anel aromático	^2JCH
3,80	148,19	H16 \rightarrow C4	$-\text{OCH}_3 \leftrightarrow$ Anel aromático	^3JCH
3,27	39,47	H20/C25 \rightarrow C20/C25	Anel piperidina	^2JCH
2,50	52,74	H21/H25 \rightarrow C21/C25	$-\text{N}-\text{CH}_2-$ (piperidina)	^2JCH
1,08	14,10	H14 \rightarrow C14	$-\text{CH}_3$ (etil)	^2JCH

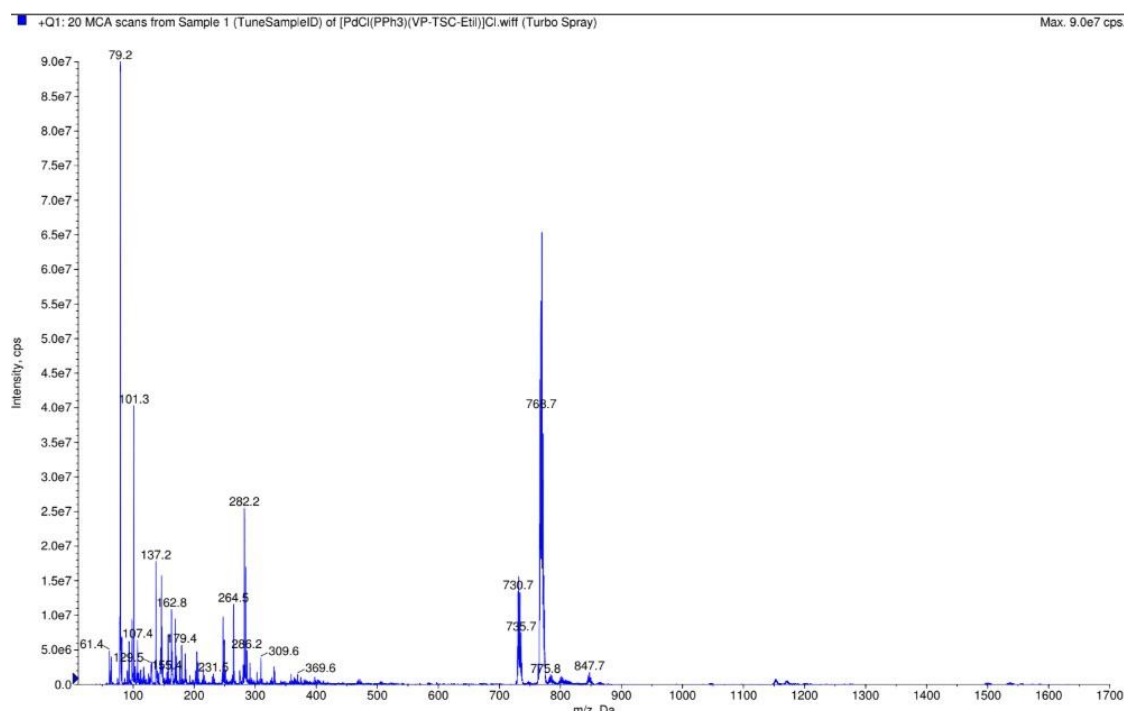
Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Por fim, em conjunto com os dados de HSQC e COSY, o HMBC completa o quadro estrutural do complexo ASP, confirmando não apenas a presença de todos os fragmentos funcionais, mas também a maneira como eles se conectam para formar uma espécie molecular coesa e estável. Esses resultados são fundamentais não apenas para a caracterização química, mas também para embasar interpretações sobre o mecanismo de ação biológica, uma vez que a geometria e a conectividade do ligante influenciam diretamente a reatividade do centro metálico e sua interação com alvos celulares.

5.9. Espectroscopia De Massas

A espectroscopia de massas foi obtida por ionização por spray (Turbo Spray), realizada com o objetivo de confirmar a formação do complexo $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC-Etil})]\text{Cl}$, bem como investigar sua integridade e possíveis fragmentos oriundos da dissociação parcial do sistema. O espectro obtido (Figura 16) apresenta um pico molecular intenso em $m/z = 739,1$, o qual corresponde à massa monoisotópica teórica (739,13 Da) calculada para o cátion $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]^+$, resultante da perda do ânion cloreto externo durante o processo de ionização.

Figura 18. Espectro de massas obtido para o complexo ASP



Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Houve concordância entre os valores experimentais e teórico, com erro inferior a 0,1 Da, que em conjunto com as demais caracterizações feitas, indicam que a formação do complexo desejado foi bem sucedida. O padrão isotópico observado, composto por picos consecutivos em m/z 738, 739 e 741, com intensidades relativas compatíveis com as abundâncias naturais dos isótopos de páladio (^{106}Pd , ^{108}Pd , ^{110}Pd) e cloro ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$), reforça a presença desses elementos no íon detectado. Tal distribuição isotópica é típica de complexos metálicos de Pd(II) contendo cloreto coordenado, corroborando a formulação proposta.

Tabela 11. Atribuição dos picos observados no espectro ESI⁺ do complexo ASP

m/z (Da)	Intensidade Relativa (%)	Atribuição	Atribuição Estrutural
739,1	100 (pico base)	$[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]^+$	Íon molecular principal (M-Cl) ⁺
738,1 / 741,1	81,7 / 96,8	Isótopos de $[\text{M-Cl}]^+$	Padrão isotópico de Pd e Cl
768,7 735,7 / 730,7	~45 20-30	$[\text{M-Cl} + \text{Na}]^+$ Fragmentos isotópicos $[\text{M-Cl-H}_2\text{O}]^+$	Aduto de sódio Fragmentação parcial
847,7	<10	$[\text{M-Cl} + \text{PPh}_3]^+$ ou $[\text{M} + \text{Na} + \text{PPh}_3\text{-Cl}]^+$	Aduto com fosfina livre
369,6	<10	Fragmento contendo $\text{Pd}(\text{PPh}_3)^+$	Núcleo metálico parcial
286,2 / 282,2 264,5 / 231,5 / 179,4 137,2 / 101,3	15-20 10-15 5-10	Fragmentos VP-TSC Fragmentos de PPh_3 ($\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{P}^+$, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{P}^+$, etc.) Fragmentos aromáticos do ligante	Parte orgânica do ligante Fragmentação da trifenilfosfina Fragmentos fenólicos ou tropílio
79,2	3-5	Fragmento C_6H_7^+ (íon tropílio)	Fragmento aromático estável

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

Além do pico base em 739,1, observa-se um sinal secundário em $m/z = 768,7$, atribuído ao aduto $[M-Cl + Na]^+$, formado possivelmente pela associação do cátion principal com um íon sódio proveniente de impurezas residuais do solvente ou do material de vidro. A presença deste aduto é comum em espectros obtidos por ESI⁺ e não compromete a identificação do complexo. Outros picos de menor intensidade, entre m/z 730–735, correspondem a variações isotópicas do íon molecular e a possíveis fragmentos parciais contendo o núcleo metálico.

Na região de baixa massa ($m/z < 400$), diversos sinais de baixa intensidade foram observados, atribuídos a fragmentos derivados da trifenilfosfina (PPh₃) e do ligante tiossemicarbazona funcionalizado (VP-TSC-Etil). Tais fragmentos resultam de clivagens das ligações Pd–P e Pd–N/S durante a ionização, liberando espécies aromáticas estáveis. Picos menores em torno de m/z 101–282 são consistentes com unidades tropílio, fragmentos fenólicos e porções da cadeia etilpiperidínica do ligante. Apesar de sua presença, o espectro é dominado pelo sinal correspondente ao íon molecular, indicando que o complexo é estável em fase gasosa e não sofre fragmentação extensiva sob as condições empregadas.

O comportamento observado é típico de complexos catiônicos de Pd(II) com geometria quadrado-planar, nos quais a tiossemicarbazona atua como ligante bidentado (N,S). Nesse caso, a perda do próton tioamídico (–NH–C(=S)–) durante a formação do complexo possibilita a coordenação simultânea do átomo de nitrogênio da imina e do enxofre desprotonado ao centro metálico, formando um anel quelante de cinco membros. A trifenilfosfina completa a coordenação por meio de doação σ , e o cloreto coordenado estabiliza o ambiente eletrônico do paládio. O segundo cloreto, atuando como contraíon, é removido na fase gasosa, originando o cátion detectado $[PdCl(PPh_3)(VP-TSC)]^+$, conforme indicado pelo espectro.

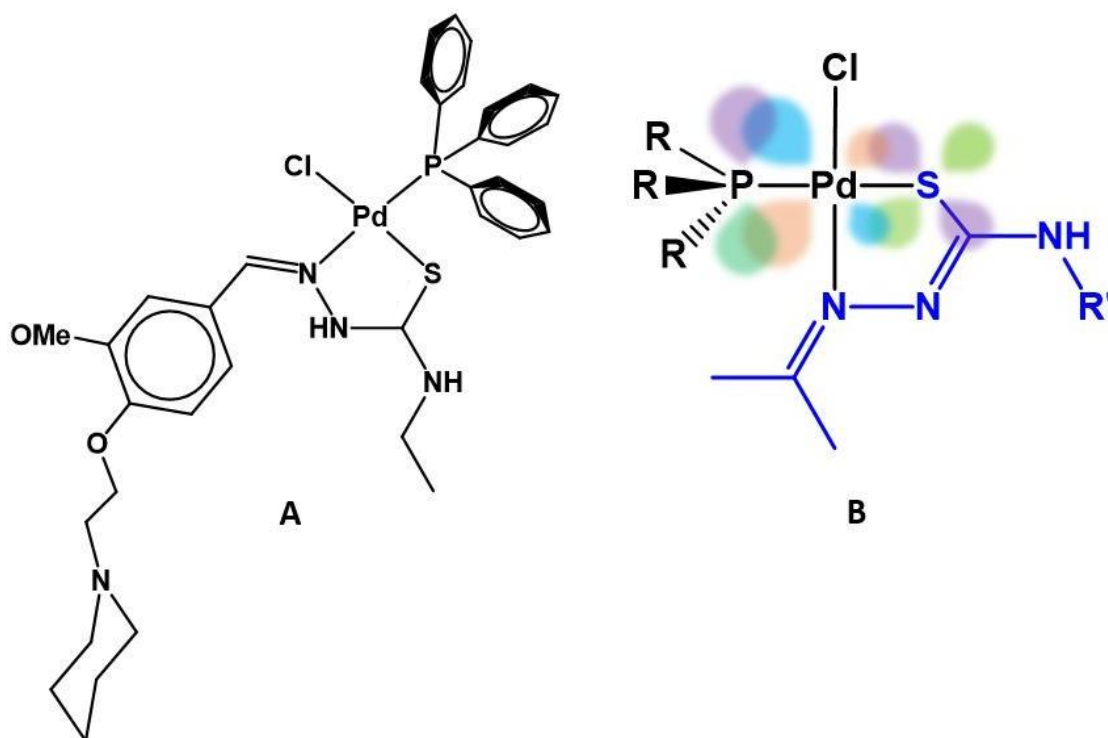
A presença exclusiva desse cátion como espécie dominante, acompanhada de um padrão isotópico bem definido, evidencia que o produto isolado é mononuclear e catiônica. A ausência de sinais significativos atribuíveis a complexos alternativos (como $[Pd(PPh_3)_2]^{2+}$ ou espécies dímeras) demonstra que a síntese foi seletiva e que o ligante VP-TSC-Etil atua de forma eficiente na coordenação ao metal.

Do ponto de vista analítico, a intensidade relativa e a nitidez do pico principal refletem a boa estabilidade do complexo frente à ionização, característica desejável em compostos de Pd(II) com potencial aplicação bioinorgânica. Essa estabilidade

sugere uma forte interação metal-ligante, coerente com a coordenação via sítios duros e moles complementares (N e S, respectivamente) ao centro metálico de caráter intermediário.

Segundo os resultados obtidos a partir das espectroscopias no IV e de RMN, em concordância com os resultados de espectrometria de massas e condutividade molar, sugere-se a seguinte estrutura para o composto ASP (Figura 17).

Figura 19. Estrutura proposta para o composto ASP.



Fonte: Elaborada pela Autora, 2025.

Espera-se um ambiente quadrado planar ao redor do átomo de paládio, com seus sítios de coordenação sendo ocupados por um átomo de fósforo (PPh_3) e um átomo de cloro. Os demais sítios de coordenação são preenchidos pelo átomo de nitrogênio imínico e enxofre do tiossemicarbazonato quelante. A configuração menos provável deve ser aquela em que o fósforo se encontra trans ao átomo de enxofre (Fig. 17 B).

Ambos os átomos doadores são π -aceitadores e a disposição trans desses átomos resultaria em uma competição pelos orbitais d do paládio. Os orbitais σ^* P-C da PPh_3 formam ligações π mais fortes com os orbitais d do paládio(II) e assim, monopoliza os

orbitais *d* do metal, reduzindo a estabilidade da ligação trans π fraca Pd-S. Resultados oriundos da determinação estrutural via difração de raios X de monocristal de complexos do tipo [PdCl(TSC)(PPh₃)], Akinyemi *et al.*, (2023) e Arancibia *et al.* (2015) confirmam essa proposta.

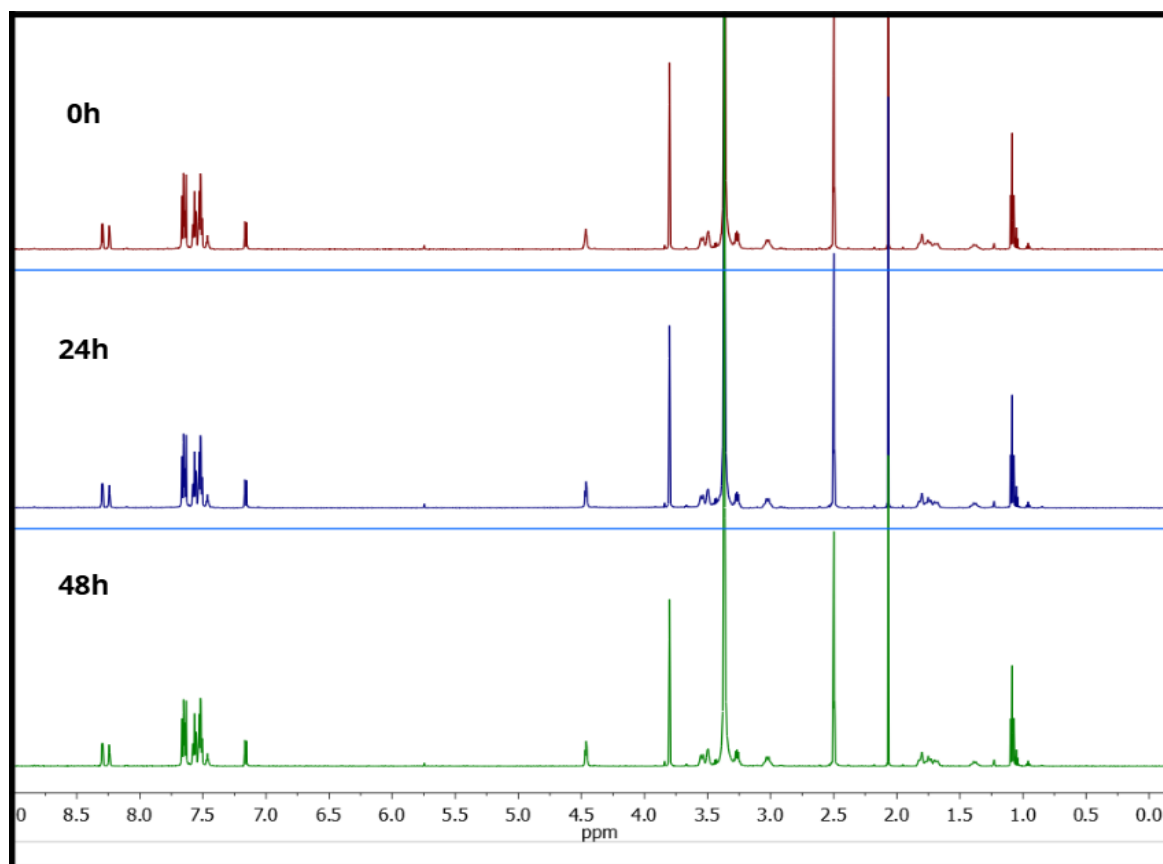
5.10. Teste de Estabilidade Química Em Solução (RMN ¹H)

O dimetilsulfóxido (DMSO) é amplamente empregado como co-solvente em ensaios biológicos devido à sua capacidade de solubilizar compostos orgânicos e organometálicos pouco polares, como os complexos de Pd(II) derivados de tiossemicarbazonas, sem causar citotoxicidade significativa em baixas concentrações (geralmente $\leq 0,5\%$ v/v). No entanto, apesar de sua utilidade, o DMSO pode atuar como ligante competitivo frente a metais de transição, especialmente em sistemas com ligantes labilizados ou em meio prótico, o que pode levar à descoordenação parcial ou total do ligante original e, conseqüentemente, à perda da atividade esperada.

Diante disso, foi conduzido um estudo de estabilidade em solução do complexo ASP em DMSO puro, com monitoramento por espectroscopia de RMN de ¹H e ³¹P{¹H} nos tempos de 0, 24 e 48 h à temperatura ambiente, condições que abrangem ou excedem o tempo típico de exposição em ensaios antiproliferativos (geralmente 24–72 h).

A estabilidade do complexo é indicada pela manutenção das posições, multiplicidades e razões integradas dos sinais característicos ao longo do tempo. Especialmente relevantes são, os sinais do próton imínico (–CH=N–) da tiossemicarbazona, tipicamente entre δ 8,0–8,7 ppm, os sinais dos prótons aromáticos da vanilina funcionalizada (δ 6,8–7,5 ppm) e, os padrões dos grupos N-etilpiperidina e metóxi (δ 3,8 ppm). A ausência de novos sinais ou alargamento significativo dessas ressonâncias sugere que não há hidrólise, desprotonação ou liberação do ligante.

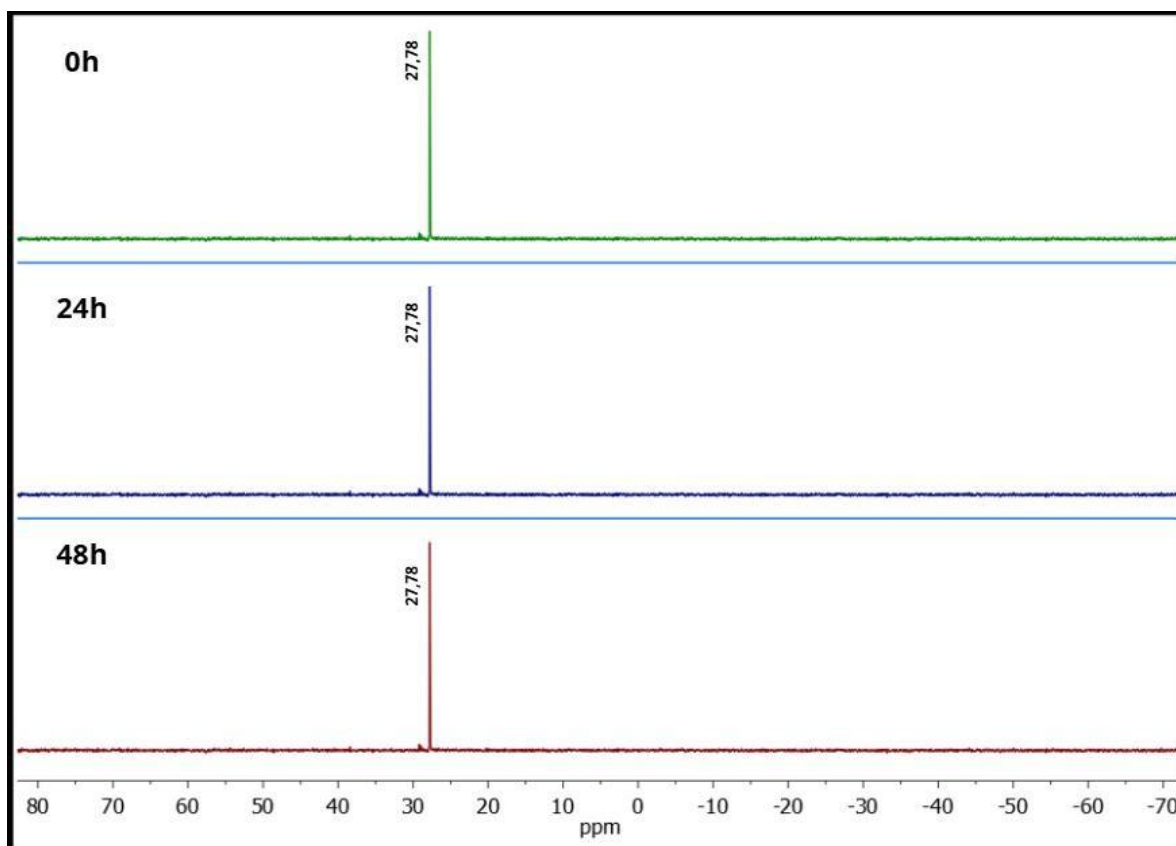
Figura 20. Espectros de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo ASP



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Para a estabilidade em RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (Figura 19), do complexo ASP, verificou-se um único sinal bem definido, sem desdobramento ou mudança de posição ao longo de 48 h, indicando que a PPh_3 permanece coordenado ao Pd(II) e que não há substituição por DMSO ou formação de espécies secundárias (ex.: $[\text{Pd}(\text{L})(\text{DMSO})\text{Cl}]$ ou PPh_3 livre, que apareceria em torno de $\delta \sim -5$ ppm).

Figura 21. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo ASP.



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Dessa forma, o complexo ASP demonstrou estabilidade química em DMSO ao longo de 48 h à temperatura ambiente, conforme evidenciado pelos espectros de RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, que não exibiram alterações significativas nas posições, intensidades ou multiplicidades dos sinais característicos. Esses resultados asseguram que o complexo permanece intacto nas condições utilizadas nos ensaios antiproliferativos, conferindo confiabilidade à interpretação dos dados biológicos.

5.11. Testes Biológicos

5.11.1. Titulação Espectrofotométrica com DNA

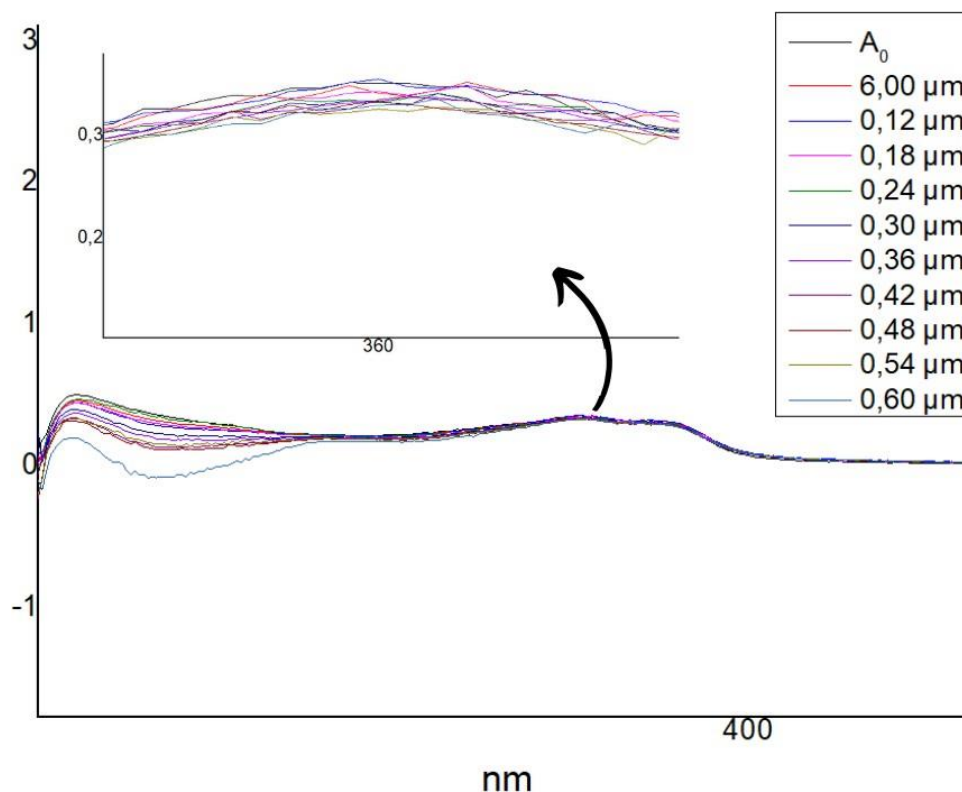
A avaliação da interação entre compostos metálicos e o ácido desoxirribonucleico (DNA) é um passo fundamental na elucidação de mecanismos de ação de potenciais agentes antitumorais. A espectroscopia UV-Vis é uma das técnicas mais utilizadas para esse propósito, pois permite monitorar alterações no perfil de absorvância do

DNA (geralmente em torno de 260 nm) diante da adição de um composto. Tais alterações, como hipocromismo (diminuição da absorbância), hipercromismo (aumento da absorbância) ou deslocamentos no λ_{max} , são indicativas de diferentes modos de interação, tais como intercalação, ligação no sulco menor ou maior ou ligação covalente.

No presente estudo, o ensaio foi conduzido com DNA dissolvido em tampão Tris-HCl (10 mM, pH 7,4), sob condições que visam mimetizar o ambiente fisiológico. Soluções do complexo ASP foram adicionadas incrementalmente, e os espectros de UV-Vis foram registrados após cada adição. Todavia, nenhuma alteração significativa foi observada na região característica de absorbância do DNA (240–300 nm), nem no perfil geral do espectro, que pode ser observado na Figura 20.

A análise quantitativa por meio da curva de titulação (absorbância vs. concentração do complexo) revelou um coeficiente de correlação linear extremamente baixo ($r^2 = 0,17$), tal valor está muito distante do esperado para compostos que interagem fortemente com o DNA, o que pode indicar uma ausência de relação linear entre a concentração do complexo e a resposta espectral do DNA.

Figura 22. Espectro no UV-Vis da interação do composto ASP com a presença de DNA (0 - 0,60 μm)



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

O complexo ASP não demonstrar interação significativa com o DNA sob as condições testadas pode, à primeira vista, parecer uma limitação, afinal, muitos agentes quimioterápicos clássicos, como, a cisplatina, carboplatina e oxaliplatina atuam por este meio. No entanto, essa ausência de ligação ao DNA não necessariamente reduz o potencial terapêutico do complexo ASP, pelo contrário, pode indicar um mecanismo de ação alternativo e potencialmente vantajoso, alinhado às atuais estratégias de desenvolvimento de fármacos anticâncer.

Um dos maiores desafios clínicos no tratamento do câncer é a resistência adquirida aos agentes platínicos, que ocorre por diversos mecanismos, incluindo, o reparo eficiente do DNA (via NER, nucleotide excision repair), a desintoxicação por glutathione ou metalotioneínas e a redução na captação celular. Dessa forma, complexos que não atuam no DNA podem burlar esses mecanismos de resistência, tornando-se candidatos promissores para o tratamento de tumores resistentes, como certos subtipos de câncer de ovário, onde a resistência à cisplatina é frequente.

Além disso, a ligação indiscriminada ao DNA em células saudáveis é uma das principais causas dos efeitos colaterais graves dos platínicos, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade e mielossupressão.

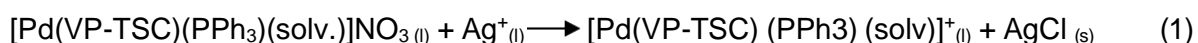
5.11.2. *Reação com guanósina*

A realização de ensaios de interação com guanósina tem como objetivo avaliar a capacidade do complexo ASP de se ligar a sítios nucleofílicos do DNA, uma vez que a guanósina é a nucleobase mais reativa frente a metais de transição, devido à alta densidade eletrônica no átomo de nitrogênio N7 do anel de purina. Essa abordagem é amplamente utilizada como modelo preliminar para prever o mecanismo de ação de agentes antitumorais metálicos, como a cisplatina e seus análogos (Rocha et al., 2018).

Essa avaliação é uma estratégia amplamente utilizada para investigar o potencial de ligação a sítios específicos no DNA, especialmente o átomo N7 do anel de purina, que é o sítio preferencial de coordenação para compostos de platina e paládio. No entanto, é importante destacar que a interação com guanósina em solução não implica necessariamente ligação ao DNA de fita dupla, trata-se de um modelo simplificado que avalia a reatividade intrínseca do complexo frente a um nucleófilo biologicamente relevante.

No caso do complexo ASP, os espectros de RMN de ^1H coletados após 24 h e 48 h de incubação com guanosina revelaram mudanças diagnósticas que confirmam uma interação progressiva e específica.

Um aspecto crucial do procedimento adotado é a pré-ativação do complexo com AgNO_3 antes da adição da guanosina. Esse passo é estrategicamente necessário porque o complexo ASP contém um ligante cloreto (Cl^-) diretamente coordenado ao Pd(II), que é pouco labilizado em condições fisiológicas. O íon Ag^+ atua como um agente precipitante seletivo, removendo o cloreto na forma de AgCl insolúvel (observado como suspensão branca), gerando uma espécie cátionica ativa de Pd(II):



Essa espécie cátionica é muito mais reativa frente a nucleófilos como a guanosina, pois apresenta um sítio de coordenação vazio (ou altamente labilizado) que pode ser ocupado pelo átomo N7 da guanina, formando uma ligação covalente Pd–N7.

A capacidade de um complexo de Pd(II) interagir com o N7 da guanosina é considerada um indicador preliminar de potencial atividade antitumoral, pois mimetiza a interação do cisplatina com o DNA, que resulta em distorção da hélice, inibição da replicação e ativação de vias apoptóticas. No entanto, diferentemente do cisplatina (que forma ligações bidentadas com duas guaninas), complexos de Pd(II) com ligantes quelantes estáveis (como VP-TSC) tendem a formar adutos mononucleares, o que pode influenciar seu perfil de atividade e seletividade.

Portanto, os indícios desta interação por RMN sugere reatividade biológica do complexo ASP, além de fornecer algumas evidências mecanísticas que sustentam os resultados futuros de ensaios antiproliferativos em linhagens celulares.

Dessa forma, foi realizado o ensaio em tempo de 24H e 48H de interação do complexo com a guanosina, conforme a Figura 20, quando comparado os deslocamentos químicos, percebe-se mudanças que sustentam a ideia de uma interação progressiva e específica entre o complexo ASP e a guanosina.

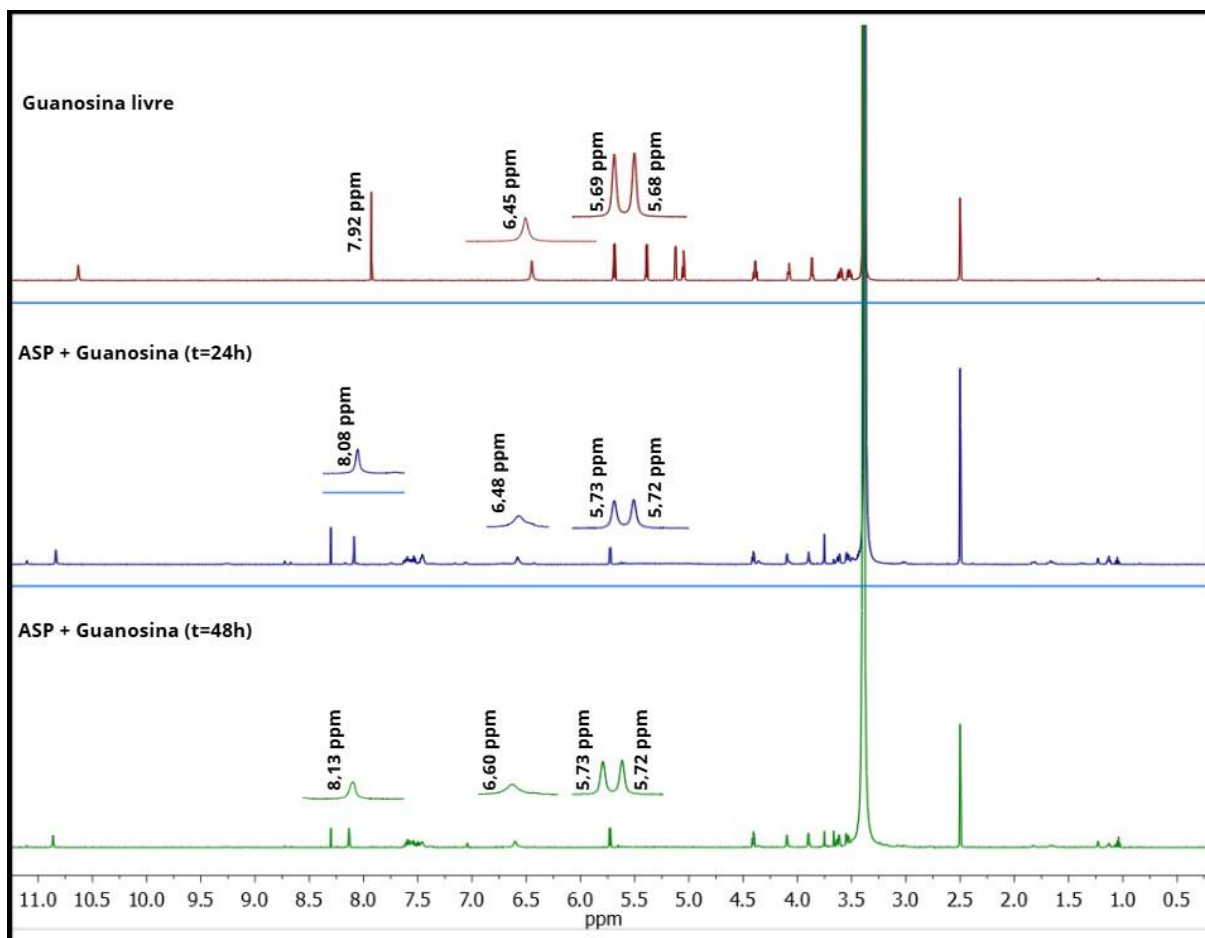
O sinal do próton da guanosina, inicialmente observado em δ 7,92 ppm (guanosina livre), deslocou-se para δ 8,08 ppm após 24 h e alcançou δ 8,13 ppm após 48 h. Esse deslocamento progressivo de +0,21 ppm em relação à guanosina livre é um indicador de redução da densidade eletrônica no anel de purina, consistente com a coordenação

covalente do Pd(II) ao átomo N7. Esse comportamento é amplamente documentado na literatura para complexos de Pd(II) e Pt(II) com nucleobases (Rocha et al., 2018).

A alteração do grupo -NH_2 , os sinais do grupo amino da guanosina (δ 6,45 ppm na guanosina pura) sofreram um ligeiro deslocamento para downfield (δ 6,60 ppm após 48 h), o que pode ser atribuído à perturbação do equilíbrio tautomérico induzida pela metalação no N7. Esse efeito indireto é esperado, uma vez que a coordenação no N7 reduz a densidade eletrônica no anel, afetando a basicidade do grupo amino adjacente.

Preservação da estrutura da ribose, o sinal dos prótons do açúcar, observados entre δ 5,69, permaneceram inalterados ao longo do tempo, indicando que a estrutura da guanosina não foi degradada durante a reação. Isso sugere que a interação é específica ao anel de purina, sem efeitos colaterais sobre a porção glicosídica do nucleosídeo.

Figura 23. Espectros de RMN ^1H coletados nos tempos de 24 e 48 h para o complexo ASP em interação com a guanosina



Fonte: Elaborada pela autora, 2025.

Com base nos dados obtidos, propõe-se o seguinte mecanismo:

- Ativação:

O complexo ASP sofre substituição do ligante cloreto por Ag^+ , gerando a espécie cátionica $[\text{Pd}(\text{VP-TSC})(\text{PPh}_3)]$ e $\text{AgCl}\downarrow$.

- Coordenação lenta:

A espécie ativa interage lentamente com a guanosina via ataque nucleofílico do N7 ao centro eletrofílico de Pd(II), formando um aduto ternário.

- Estabilização:

O aduto é estabilizado pela quelatação bidentada do ligante VP-TSC (N,S^-) e pela presença da PPh_3 , que reduz a reatividade excessiva do metal, evitando hidrólise ou precipitação.

A ausência de mudanças significativas em 24 h, seguida por alterações claras em 48 h, indica que a reação é lenta, o que é consistente com, a alta estabilidade termodinâmica do complexo ASP, devido à presença de ligantes quelantes fortes (VP-TSC e PPh_3), a necessidade de ativação por Ag^+ , que pode não ter sido 100% eficiente, as condições não aquosas (DMSO), que podem reduzir a taxa de troca de ligantes em comparação com meio aquoso, a cinética lenta não invalida a interação, mas sugere que o complexo ASP pode apresentar liberação controlada de sítios de coordenação, o que, em contextos biológicos, pode ser desejável para evitar toxicidade aguda.

A capacidade de um complexo de Pd(II) interagir com o N7 da guanosina é considerada um indicador preliminar de potencial atividade antitumoral, todavia, é importante ressaltar que a interação observada com guanosina (um modelo de nucleobase isolada em meio orgânico) não necessariamente se traduz em ligação ao DNA de fita dupla em condições fisiológicas simuladas.

O ensaio de UV-Vis foi realizado em tampão Tris-HCl, que contém grupos amina capazes de competir com o DNA pela coordenação ao Pd(II), possivelmente mascarando a interação real. Além disso, a estrutura tridimensional do DNA de fita dupla impõe restrições estéricas e eletrostáticas que não estão presentes no modelo de guanosina livre. Assim, a interação com guanosina revela a reatividade intrínseca do complexo frente a sítios nucleofílicos, enquanto a ausência de ligação ao DNA sob as condições testadas não descarta um mecanismo de ação alternativo, como alvos

enzimáticos ou redox, coerente com a alta seletividade e potência observadas nos ensaios biológicos.

5.11.3. Testes de Viabilidade celular

Os dados de concentração inibitória 50% (IC_{50}) após 48h de exposição em linhagens celulares representam o potencial citotóxico dos compostos testados. A comparação entre o complexo metálico (ASP) e o ligante livre (VP-TSC) permite avaliar o efeito da coordenação ao Pd(II) sobre a atividade biológica.

Os compostos foram testados nas linhagens celulares A549 (câncer de pulmão), MDA-MB-231 (câncer de mama), A2780 (câncer de ovário) e MRC-5 (fibroblasto humanos comuns), os quais foram realizados pela MSc. Nádjia Natalice P. da Silva, sob orientação do Dr. Fillipe V. Rocha no Laboratório de Compostos de Coordenação na Química Medicinal (CCQM) – UFSCar, os dados obtidos estão dispostos na Tabela 12 abaixo:

Tabela 12. Dados de IC_{50} em 48h do complexo e ligante sintetizados

*IS= (MRC-5/ A549); IS**= (MRC-5/ MDA-MB-231); IS***= (MRC-5/A2780)

	IC_{50} (μ M) – 48h				IS*	IS**	IS***
	A549	MDA-MB-231	A2780	MRC-5			
Complexo ASP	>50	>25	0,65 \pm 0,01	15,00 \pm 1,69	--	--	23,08
Ligante VP-TSC	>50	>50	>50	>50	--	--	--
Cisplatina	14,40 \pm 1,40	>50	11,17 \pm 0,30	12,47 \pm 0,15	0,86	--	1,12

Fonte. Elaborado pela autora, 2025

O complexo ASP exibiu um perfil de atividade altamente seletivo e excepcionalmente potente contra a linhagem A2780 (câncer de ovário), com um IC_{50} de 0,65 \pm 0,01 μ M após 48 h de exposição. Esse valor representa uma potência 17 vezes superior à da cisplatina (IC_{50} = 11,17 \pm 0,30 μ M), o fármaco de referência amplamente utilizado no tratamento clínico do câncer de ovário.

Além disso, o complexo apresentou um IC_{50} de 15,00 \pm 1,69 μ M para o fibroblasto MRC-5 (fibroblastos pulmonares humanos), mostrando ser menos tóxico em relação a linhagem de câncer de ovário. Esse comportamento resulta em um índice de seletividade (IS) de 23,08 (calculado como IC_{50} (MRC-5) / IC_{50} (A2780)), valor 20 vezes

maior do que o da cisplatina ($IS = 1,12$). Esse índice elevado indica que o complexo ASP é capaz de discriminar entre células tumorais e normais, um atributo desejável para minimizar efeitos colaterais em terapias antineoplásicas.

Em contrapartida, o complexo foi inativo ou pouco ativo nas outras linhagens tumorais testadas (A549 e MDA-MB-231), com $IC_{50} > 25-50 \mu M$. Essa especificidade de ação sugere que o mecanismo biológico do complexo ASP pode estar relacionado a alvos moleculares ou vias celulares particularmente ativas ou expostas em células de câncer de ovário, como altas taxas de replicação, deficiências em reparo de DNA ou maior expressão de transportadores metálicos.

O ligante VP-TSC, quando testado isoladamente, não apresentou atividade citotóxica significativa em nenhuma das linhagens celulares avaliadas ($IC_{50} > 50 \mu M$). Esse resultado é fundamental, pois demonstra que, a atividade observada para o complexo ASP não é herdada do ligante orgânico, a coordenação ao centro metálico de Pd(II) é essencial para desencadear o efeito biológico, o ligante atua como um veículo estrutural e funcional, modulando a reatividade, solubilidade e seletividade do metal, mas não possui ação intrínseca.

Esse comportamento é comum em química medicinal inorgânica, pois, muitos ligantes quelantes (como as tiossemicarbazonas) acabam por apenas estabilizar o metal em transporte e, liberar ou ativar sua reatividade apenas no microambiente tumoral.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento e a caracterização de um novo complexo de paládio(II) derivado da tiossemicarbazona funcionalizada com N-etilpiperidina (VP-TSC), designado complexo ASP ($[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{VP-TSC})]$), visando explorar seu potencial como agente antitumoral alternativo aos platínicos clássicos. A síntese foi realizada com sucesso em duas etapas, seguida por purificação cuidadosa, garantindo pureza do produto final.

A hipótese inicial deste trabalho (motivada pelos resultados de Velasques (2022)), cujos complexos análogos contendo o ligante *Et-vmTSC* (com morfolina) exibiram alta atividade frente à linhagem A549 (IC_{50} entre 1,51 e 3,20 μM), era que a substituição bioisostérica do grupo morfolina por N-etilpiperidina potencializaria a citotoxicidade nesta mesma linhagem. No entanto, os resultados obtidos mostraram que nem o ligante VP-TSC nem o complexo ASP apresentaram atividade significativa frente à A549 ($\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$), indicando que a troca por piperidina não foi benéfica para essa linhagem específica e que o grupo morfolina exerce um papel farmacofórico crítico no reconhecimento molecular pelas células de carcinoma pulmonar. Essa constatação, embora contrária à hipótese inicial, redirecionou a atenção para o perfil biológico inesperado do complexo ASP em outras linhagens, revelando uma atividade excepcional contra o câncer de ovário.

A caracterização estrutural foi abrangente, os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C revelaram a integridade do ligante VP-TSC após a complexação, com evidências da coordenação bidentada N,S^- . Os experimentos bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC) validaram a conectividade atômica em todos os fragmentos da molécula, incluindo o anel aromático da vanilina, a cadeia alifática da N-etilpiperidina e o grupo metóxi, reforçando a estabilidade e a coerência estrutural do complexo. Adicionalmente, o RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresentou um único sinal em δ 27,78 ppm, característico de complexos quadrado-planos de Pd(II) contendo triifenilfosfina, sem evidência de espécies secundárias.

O complexo ASP mostrou-se estável em DMSO por até 48 h, conforme monitorado por RMN de ^1H e ^{31}P , condição essencial para a validade dos ensaios biológicos. Nesse contexto, foi capaz de interagir de forma progressiva e específica com a guanosina, formando um aduto via coordenação do Pd(II) ao átomo N7, como

evidenciado pelo deslocamento do próton H8 (δ 7,92 \rightarrow 8,13 ppm). Contudo, não foi observada interação significativa com DNA de fita dupla no ensaio de UV-Vis em tampão Tris-HCl, o que pode ser atribuído tanto à competição do tampão Tris (que contém grupos amina capazes de se ligar ao Pd(II)) quanto ao fato de que o mecanismo de ação principal do complexo não envolve danos diretos ao DNA.

Esse comportamento é plenamente compatível com os resultados de atividade antiproliferativa, que revelaram uma potência notável contra a linhagem de câncer de ovário A2780 ($IC_{50} = 0,65 \mu M$), diante do conjunto de evidências obtidas, o complexo ASP demonstra um perfil farmacológico distinto e promissor. Sua alta potência contra a linhagem de câncer de ovário A2780, cerca de 17 vezes superior à cisplatina, e seu índice de seletividade elevado (23,08) indicam uma capacidade notável de discriminar células tumorais de células normais.

Embora o complexo seja capaz de interagir com a guanosina, formando adutos estáveis via coordenação ao N7, essa reatividade não se traduz em ligação detectável ao DNA de fita dupla nas condições do ensaio de UV-Vis (em tampão Tris-HCl). Essa aparente contradição é, na verdade, coerente com um mecanismo de ação não genotóxico, provavelmente mediado por alvos alternativos, como enzimas redox (ex.: tioredoxina redutase), sistemas de estresse oxidativo ou proteínas regulatórias do ciclo celular. A estabilidade do complexo em solução, sua lipofilicidade conferida pela N-etilpiperidina e a formação controlada de espécies reativas em meio biológico podem contribuir para essa atividade seletiva, evitando os mecanismos clássicos de resistência associados aos platínicos.

Assim, o complexo ASP emerge não como um análogo da cisplatina, mas como um candidato inovador com modo de ação diferenciado, alinhado às atuais estratégias de desenvolvimento de agentes antitumorais de segunda geração, beneficiando-se da lipofilicidade conferida pela N-etilpiperidina para atravessar membranas celulares com eficiência, com modo de ação diferenciado, alta seletividade e com a possibilidade de superar limitações associadas aos quimioterápicos clássicos, como toxicidade sistêmica e resistência tumoral. Os resultados obtidos justificam plenamente a continuidade dos estudos, com ênfase em ensaios mecanísticos direcionados e avaliação em modelos pré-clínicos

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, L. H. et al. Some new Ag(I), VO(II) and Pd(II) chelates incorporating tridentate imine ligand: Design, synthesis, structure elucidation, density functional theory calculations for DNA interaction, antimicrobial and anticancer activities and molecular docking studies. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 33, n. 4, p. e4699, 2019.
- AHMAD, Atif et al. Exploring the therapeutic potential of Thiosemicarbazones-ruthenium(II) complexes: In vitro evaluation. **Polyhedron**, v. 282, 1 dez. 2025.
- AKINYEMI, A. O. et al. Palladium(II) complexes as inhibitors of cathepsin B and topoisomerase I beta: Synthesis, characterization, and cytotoxicity. **Journal of Molecular Structure**, v. 1294, p. 136460, 2023.
- ALY, Ashraf A. et al. Transition Metal Complexes of Thiosemicarbazides, Thiocarbohydrazides, and Their Corresponding Carbazones with Cu(I), Cu(II), Co(II), Ni(II), Pd(II), and Ag(I)—A Review. **Molecules**, v. 28, n. 3, 1 fev. 2023.
- ARANCIBIA, R. et al. Palladium(II) and platinum(II) complexes containing organometallic thiosemicarbazone ligands: Synthesis, characterization, X-ray structures and antitubercular evaluation. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 55, p. 139–142, 2015.
- BAI, Xian Guang; ZHENG, Yunyun; QI, Jinxu. Advances in thiosemicarbazone metal complexes as anti-lung cancer agents. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 27 set. 2022.
- BALMAIN, A.; PRAGNELL, I. B. Carcinogen resistance in stem cells rather than proliferative potential is the cause of higher susceptibility to skin tumour development in mouse skin. **Nature**, v. 303, n. 5919, p. 705–707, 1983.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalintercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998–2016, 2015.
- BECHARA, A. et al. Palladacycle (BPC) antitumour activity against resistant and metastatic cell lines: the relationship with cytosolic calcium mobilisation and cathepsin B activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 79, p. 24–33, 2014.
- BERENBLUM, I.; SHUBIK, P. The persistence of latent tumours of skin. **British Journal of Cancer**, v. 1, n. 4, p. 383–393, 1947.
- BINCOLETTO, C. et al. Chiral cyclopalladated complexes derived from N,N-dimethyl-1-phenethylamine with bridging bis(diphenylphosphine)ferrocene ligand as inhibitors of the cathepsin B activity and as antitumoral agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 3047–3055, 2005.

BINCOLETTO, C. et al. Pre-clinical antitumour evaluation of Biphenylphosphinic Palladacycle Complex in human leukaemia cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 177, p. 181–189, 2009.

BISCEGLIE, Franco et al. Effects of polar substituents on the biological activity of thiosemicarbazone metal complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 179, p. 60–70, 1 fev. 2018.

BOZZA, S. M. et al. Synthesis and characterization of new palladacycles bearing 2,6-lutidine as co-ligand and evaluation of their cytotoxic activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 192, p. 120–129, 2019.

BUCHANAN, G. W.; DAWSON, B. A. Stereochemical analysis of aromatic oximes. ^{13}C - ^{15}N nuclear spin coupling and ^{13}C shieldings as conformational probes. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 56, p. 2200–2204, 1978.

CAIRES, A. C. F. Recent Advances Involving Palladium(II) Complexes for the Cancer Therapy. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 484–491, 2007.

CAREY, F. A.; GIULIANO, R. M. **Química Orgânica**. 7. ed. São Paulo: Bookman, 2011.

CHAPMAN, P. B. et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 26, p. 2507–2516, 2011.

CISPLATIN in Cancer Treatment: Mechanism, Resistance, Toxicity, and Future Directions. **OncoDaily**, 2025. Disponível em: <https://oncodaily.com/drugs/cisplatin>. Acesso em: 30 out. 2025.

COHEN, S. M.; ELLWEIN, L. B. Cell proliferation in carcinogenesis. **Science**, v. 254, n. 5035, p. 1161–1169, 1991.

CUNHA, G. A. da. **Investigação estrutural e potencialidades biológicas de espécies ciclopaladadas contendo o ligante 2,6-lutidina**. 2017. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.

CUNHA, G. A. da et al. Cyclopalladated compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, spectral and biological studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 203, p. 110944, 2020.

CUTILLAS, N. et al. Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, p. 2784–2797, 2013.

DASARI, Shaloam; BERNARD TCHOUNWOU, Paul. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**, v. 740, p. 364–378, 5 out. 2014.

Discovery – Cisplatin and The Treatment of Testicular and Other Cancers. **National Cancer Institute (NCI)**. Disponível em: <https://www.cancer.gov/research/progress/discovery/cisplatin>. Acesso em: 7 nov. 2025.

DUPONT, J.; PFEFFER, M. **Palladacycles: synthesis, characterization and applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2008.

FANELLI, Mirco et al. New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 311, p. 1–53, 1 mar. 2016.

FERREIRA, Irineu et al. Aplicação dos metalofármacos na terapia de cânceres: uma revisão de literatura. Juiz de Fora, 2023.

FOGLH, J.; WRIGHT, W. C.; LOVELESS, J. D. Absence of HeLa cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 58, p. 209–214, 1977.

FOULDS, L. The natural history of cancer. **Journal of Chronic Diseases**, v. 8, n. 1, p. 2–37, 1958.

FRANKEN, N. A. P. et al. Clonogenic assay of cells in vitro. **Nature Protocols**, v. 1, p. 2315–2319, 2006.

GARBUZ, Olga et al. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. **Molecules**, v. 30, n. 9, 1 maio 2025.

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.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 81–122, 1971.

GEORGIU, Nikitas et al. Conformational and Functional Properties of the Bioactive Thiosemicarbazone and Thiocarbohydrazone Compounds. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 47, n. 9, 1 set. 2025.

GHOSH, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102925, 2019.

GODOY NETTO, Adelino Vieira de. **Introdução à Química Inorgânica Medicinal: o papel dos metais e ligantes no planejamento de fármacos**. Araraquara: UNESP, 2018.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, p. 646–674, 2011.

Heterocyclic Chemistry. **Michigan State University**. Disponível em: <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/heterocy.htm>. Acesso em: 30 out. 2025.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2023: Incidência de Câncer no Brasil**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa>. Acesso em: 1 dez. 2022.

JAHANIAN-NAJAFABADI, Ali et al. Novel palladium complex: Cytotoxicity against cisplatin-resistant K562 cells. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 3, p. 1323–1331, 1 jun. 2019.

KALINOWSKI, D. S. et al. The chemistry of ligands that bind ferric iron in a neutral aqueous environment: a new class of tridentate ligands containing a pyridyl and a thiosemicarbazone. **Dalton Transactions**, n. 37, p. 7294–7301, 2009.

KIM, Youngwon et al. Novel nickel(II), palladium(II), and platinum(II) complexes having a pyrrolyl-iminophosphine (PNN) pincer: Synthesis, crystal structures, and cytotoxic activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 205, 1 abr. 2020.

KOWOL, C. R. et al. Synthesis, Characterization, and Antitumor Activity of Novel Iron(II) and Gallium(III) Complexes with Thiosemicarbazones. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 16, p. 7261–7273, 2012.

KUMAR, Lekshmi V.; SUNITHA, S.; RATHIKA NATH, G. Antioxidant, antidiabetic and anticancer studies of nickel complex of Vanillin-4-Methyl-4-Phenyl-3-Thiosemicarbazone. In: **AIP Conference Proceedings**, 2020.

MACIEL, Leide Laura Figueiredo et al. In Vitro and In Vivo Relevant Antineoplastic Activity of Platinum(II) Complexes toward Triple-Negative MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Line. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 10, 1 out. 2022.

MANDAL, Arup. Palladium analogues as complementary of Cis-platin- a mini review. **Polyhedron**, v. 298, 1 jul. 2025.

MARQUES, M. P. M. Platinum and Palladium Polyamine Complexes as Anticancer Agents: The Structural Factor. **ISRN Spectroscopy**, v. 2013, p. 1–29, 24 fev. 2013.

MESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Química Inorgânica**. 5. ed. São Paulo: Pearson, 2014.

MILUNOVIC, Miljan N. M. et al. Copper(II) Complexes with Isomeric Morpholine-Substituted 2-Formylpyridine Thiosemicarbazone Hybrids as Potential Anticancer Drugs Inhibiting Both Ribonucleotide Reductase and Tubulin Polymerization: The Morpholine Position Matters. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, n. 11, p. 9069–9090, 13 jun. 2024.

MOREIRA, Leonardo Marmo; LYON, Juliana Pereira. Paládio (Pd): Propriedades, química de coordenação e aplicações contra o câncer. **Research, Society and Development**, v. 14, n. 3, p. e7914348533, 22 mar. 2025.

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

OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 19, p. 6645–6653, 2018.

OMAE, I. Applications of five-membered ring products of cyclometalation reactions as anticancer agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 280, p. 84–95, 2014.

PAULO, C. et al. **Substâncias Carboniladas e seus derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2003.

PEREIRA, Thales Hebert Regiani et al. Palladium(II) compounds containing oximes as promising antitumor agents for the treatment of osteosarcoma: An in vitro and in vivo comparative study with cisplatin. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 264, p. 116034, 2024.

PITOT, H. C.; DRAGAN, Y. Chemical carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 51, n. 13 Suppl, p. 3430s–3440s, 1991.

POLEZ, A. M. R. **Síntese, caracterização e estudo da interação com o DNA de um ciclopaladado contendo tetralonoxima e 2,6-lutidina**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.

RAMALINGAM, S.; PRABHU, T.; PERIANDY, S. Experimental Study (FT IR and FT Raman), Computed Vibrational Frequency Analysis and Computed IR Intensity and Raman Activity Analysis on 2,6-Lutidine: HF and DFT Calculations. **International Journal of Industrial Chemistry**, v. 2, p. 12–22, 2011.

RYABOV, A. D. et al. Synthesis by Ligand Exchange, Structural Characterization, and Aqueous Chemistry of Ortho-Palladated Oximes. **Inorganic Chemistry**, v. 31, p. 3083–3090, 1992.

RZYCKA-KORZEC, Roksana et al. Effect of the complex-formation ability of thiosemicarbazones containing (aza)benzene or 3-nitro-1,8-naphthalimide unit towards Cu(II) and Fe(III) ions on their anticancer activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 415, p. 113314, jun. 2021.

SANTOS, P. S. et al. Vanillin-derived thiosemicarbazones and their copper(II) complexes: Synthesis, characterization and biological activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 112, p. 107710, 2020.

SANTOS, Marcell de Oliveira et al. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023–2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 6 fev. 2023.

SCATTOLIN, Thomas et al. A critical review of palladium organometallic anticancer agents. **Cell Reports Physical Science**, v. 2, n. 6, 23 jun. 2021.

SERHAN, Michael et al. Anti-cancer palladium complexes: a focus on PdX₂L₂, palladacycles and related complexes. In: **AICHE Annual Meeting**, Conference Proceedings, v. 2019, nov. 2019.

SIHAG, Deepika; DHAYAL, Suman; NAG, Purnima. Metal Complexes of Semicarbazone and Thiosemicarbazone with Vanillin and 2-acetyl furan: Synthesis and Characterization with Preliminary Anti-bacterial and Anti-fungal Activities. **Oriental Journal Of Chemistry**, v. 41, n. 4, p. 1207–1215, 31 ago. 2025.

SILVA, Débora. **Desenvolvimento de novos complexos de prata(I) contendo ligantes tiossemicarbazonas com potencial antitumoral contra células de câncer de mama triplo negativo**. 2020. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.

Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., & Bryce, D.L. (2015). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (8th ed.). John Wiley & Sons.

SINGH, Vipin et al. Recent developments on the potential biological applications of transition metal complexes of thiosemicarbazone derivatives. **Polyhedron**, v. 468, 15 nov. 2023.

SOELA, S.; SAHLOUL, S.; SONG, Y. A. Biophysical analysis of drug efficacy on *C. elegans* models for neurodegenerative and neuromuscular diseases. **PLoS One**, v. 16, e0246496, 2021.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.

TENÓRIO, R. P. et al. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030–1037, 2005.

TIWARI, Laxmi et al. Binding Mechanisms and Therapeutic Activity of Heterocyclic Substituted Arylazothioformamide Ligands and Their Cu(I) Coordination Complexes. **ACS Omega**, v. 9, n. 35, p. 37141–37154, 3 set. 2024.

VEG, Ekhlakh et al. Some Biological Applications and Mechanistic Insights of Benzaldehyde-Substituted Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes: A Review. **Natural Sciences**, v. 7, n. 4, 1 abr. 2025.

VELASQUES, Jecika. **Compostos de paládio(II) contendo tetralonoxima ortometalada, tiossemicarbazona e fosfinas terciárias: síntese, estudo estrutural e avaliação da ação antitumoral**. Araraquara: UNESP, 2022.

VELASQUES, J. M. et al. Orthopalladated tetralone oxime compounds bearing tertiary phosphines: Synthesis, structure, biological and in silico studies. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 958, p. 122184, 2022.

VOGEL, A. I.; FURNISS, B. S.; HANNAFORD, A. J.; SMITH, P. W. G.; TATCHELL, A. R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. 5. ed. Harlow: Pearson Education, 1996.

VRZAL, Radim et al. Evaluation of in vitro cytotoxicity and hepatotoxicity of platinum(II) and palladium(II) oxalato complexes with adenine derivatives as carrier ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 104, n. 10, p. 1130–1132, out. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cancer**. Fact Sheet. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Acesso em: 30 out. 2025.

ZHENG, Yunyun et al. Recent progress in thiocarbazono metal complexes for cancer therapy via mitochondrial signalling pathway. **Frontiers in Chemistry**, v. 12, 2024.

ZMEJKOVSKI, Bojana B.; PANTELIĆ, Nebojša; KALUĐEROVIĆ, Goran N. Palladium(II) complexes: Structure, development and cytotoxicity from cisplatin analogues to chelating ligands with N stereocenters. **Inorganica Chimica Acta**, v. 534, 1 maio 2022.

