

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA-PPGQ

EDUARDO FRANCISCO DA SILVA GUIMARÃES

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS TIADIAZOL-PALÁDIO

(II) COMO POTENCIAL AGENTE ANTINEOPLÁSICO

Alfenas/MG 2022

Eduardo Francisco da Silva Guimarães

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS TIADIAZOL-PALÁDIO
(II) COMO POTENCIAL AGENTE ANTINEOPLÁSICO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Química pelo Instituto de
Química da Universidade Federal de Alfenas-MG.
Área de concentração: Química Inorgânica/Bioinorgânica.
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida.

Alfenas/MG 2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Guimaraes, Eduardo Francisco da Silva.

Síntese e caracterização de complexos tiadiazol-paládio (II) como potencial agente antineoplásico / Eduardo Francisco da Silva Guimaraes. - Alfenas, MG, 2022.

57 f. : il. -

Orientador(a): Eduardo Tonon de Almeida.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Complexos de paládio (II). 2. Tiadiazol. 3. Câncer. 4. Antineoplásico. I. de Almeida, Eduardo Tonon, orient. II. Título.

EDUARDO FRANCISCO DA SILVA GUIMARÃES

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS TIADIAZOL-PALÁDIO (II) COMO
POTENCIAL AGENTE ANTINEOPLÁSICO**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 25 de fevereiro de 2022

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida - Presidente e Orientador
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)

Profa. Dra. Maryene Alves Camargo
Instituição: Universidade de Brasília (UnB)

Prof. Dr. Alexandre Cuiin
Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Tonon de Almeida, Professor do Magistério Superior**, em 07/03/2022, às 17:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maryene Alves Camargo, Usuário Externo**, em 07/03/2022, às 19:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ALEXANDRE CUIIN, Usuário Externo**, em 14/03/2022, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0687865** e o código CRC **2417B141**.

AGRADECIMENTOS

Nestes anos de mestrado, de muito esforço, estudo e empenho, gostaria de agradecer a algumas pessoas que acompanharam e tornaram possível a realização deste sonho. Por isso, gostaria de expressar a minha gratidão.

Gostaria de iniciar o agradecimento aos meus pais Efigênia e Geraldo, pelo esforço em criar 4 filhos de uma maneira honrada e honesta.

À minha segunda mãe Helena, pelo apoio irrestrito e verdadeiro, por ser aquela mãe que te liga sempre para ver como você está, te estimulando e sempre expressando seu orgulho, eu não tenho palavras para descrever o quanto a senhora foi importante neste momento.

À minha irmã Maria e irmã do coração LÍlian, vocês sempre serão as minhas pessoas, meu ponto de apoio, um alguém que sempre procurarei para dividir os meus momentos.

À família que Alfnas me deu, Daysla, Caroline, Fabrício, aos amigos de mestrado Cristiane, Gizele, Nathália, e amigos da Química 2015/1, deixo o meu muito obrigado por sempre desejarem o melhor para mim, pelo esforço em me ajudar nos meus momentos de necessidade, por ser meu ponto de apoio e de profunda alegria, vocês sempre estiveram lá, nos momentos mais importantes.

Agradeço ao meu companheiro Cássio por todo o apoio nestes últimos dois anos, obrigado por pelo apoio incondicional, pela torcida, pelos momentos de felicidade, o seu grande coração deixou este momento mais leve.

Minha sincera gratidão ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida pela orientação, obrigado pela autonomia dada a mim, pela confiança nas minhas ideias, sem o senhor nada seria possível.

À todos aqueles que passaram pelo LabiQ, em especial ao Luíz Eduardo e a Luana Giusto, por sempre me ensinarem, tirar as minhas incessantes dúvidas, revisarem meus textos, vocês foram importantíssimos no meu processo de formação.

À todos os envolvidos no meu projeto, em especial Prof^{ra}. Dra. Marisa Ionta e a doutoranda Carolina Giroto e os demais membros do LAPAN pela realização dos testes antitumorais, ponto crucial da minha pesquisa.

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

RESUMO

São crescentes as pesquisas desenvolvidas nas últimas décadas envolvendo a síntese de compostos de coordenação com possíveis aplicações farmacológicas. Compostos derivados do Paládio vêm ganhando destaque, uma vez que tem apresentado uma grande versatilidade tanto nas sínteses quanto em aplicação, uma vez que apresentam atividade biológica frente a diversas enfermidades, como por exemplo atividade antineoplásica, leishmanicida, fungicida. Isso despertou o interesse de muitos pesquisadores, que passaram a considerar esse metal como o foco de suas pesquisas. Portanto, o referido estudo teve como objetivo a síntese, caracterização e avaliação da atividade antineoplásica de novos complexos mononucleares de Paládio (II) contendo como ligantes compostos da classe tiadiazol. Reagiu-se complexos do tipo $[Pd(dmba)_\mu-X]_2$ sendo X= Cl, Br, I e N_3 com o composto 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol (dtz) *in situ*, originando compostos do tipo $[Pd(dmba)X(dtz)]$ sendo X= Cl, Br, I e N_3 . Os complexos sintetizados foram caracterizados utilizando espectroscopia vibracional na região do Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 1H e ^{13}C e análise termogravimétrica (TG-DTG). Os resultados apontaram para a formação de um composto quelato, no qual o íon paládio se ligou a um átomo de nitrogênio e um de carbono do composto dmba, formando um anel ciclometalado, liga-se também a um haleto ou pseudo-haleto, e o ligante dtz se coordenou ao átomo de paládio através de um átomo de nitrogênio presente no seu heteroanel. Todos os complexos sintetizados foram submetidos ao ensaio biológico, avaliando a viabilidade celular em culturas de HepG2, MCF-7, A549 e fibroblastos dérmicos; e o ciclo celular em células do tipo HepG2 de culturas tratadas com os produtos sintetizados. Verificou-se que os complexos sintetizados possuem uma taxa de viabilidade celular de 50% a 70%, sendo o mais promissor o composto $[Pd(dmba)Br(dtz)]$ em células do tipo HepG2, em cultura de células do tipo MCF-7 a taxa varia de 50% a 75%, sendo o tipo HepG2 mais sensível quando comparado a MCF-7, cultura do tipo A549 mostrou-se resistente aos compostos sintetizados.

Palavras-chave: Complexos de paládio (II). Tiadiazol. Câncer. Antineoplásico.

ABSTRACT

The research developed in the last decades involving the synthesis of coordination compounds with possible pharmacological applications is increasing. Compounds derived from Palladium have been gaining prominence, since it has shown great versatility both in synthesis and in application, since they have biological activity against various diseases, such as antineoplastic, leishmanicidal, fungicidal activity. This aroused the interest of many researchers, who began to consider this metal as the focus of their research. Therefore, this study aimed at the synthesis, characterization and evaluation of the antineoplastic activity of new palladium (II) mononuclear complexes containing compounds of the thiadiazole class as ligands. Complexes of the type $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-X}]_2$ where X= Cl, Br, I and N_3 were reacted with the compound 2,5-dimethyl-1,3,4-thiadiazole (dtz) in situ, yielding compounds of the type $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$ where X=Cl, Br, I and N_3 . The synthesized complexes were characterized using vibrational spectroscopy in the infrared region, ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and thermogravimetric analysis (TG-DTG). The results pointed to the formation of a chelate compound, in which the palladium ion bonded to a nitrogen atom and a carbon atom of the dmba compound, forming a cyclometallic ring, it also bonds to a halide or pseudo-halide, and the dtz ligand coordinated to the palladium atom through a nitrogen atom present in its hetero ring. All synthesized complexes were submitted to biological assay, evaluating cell viability in cultures of HepG2, MCF-7, A549 and dermal fibroblasts; and the cell cycle in HepG2-like cells from cultures treated with the synthesized products. It was found that the synthesized complexes have a cell viability rate of 50% to 70%, the most promising being the compound $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ in HepG2-type cells, in MCF-7-type cell culture the rate varies from 50% to 75%, with the HepG2 type being more sensitive when compared to MCF-7, type A549 culture proved to be resistant to the synthesized compounds.

Keywords: Palladium (II) complexes. thiadiazole. Cancer. Antineoplastic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo ação cisplatina em meio celular	12
Figura 2 - Mecanismo ação cisplatina em meio celular	13
Figura 3 - Interação cisplatina com guanosina	14
Figura 4 - Representação desdobramento de um campo octaédrico para um quadrado planar	15
Figura 5 - Representação esquemática formação de complexo ciclometalado	16
Figura 6 - Representações estruturas do Tiadiazol.....	17
Figura 7 - Distribuições proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma.....	18
Figura 8 - Representação da reação de formação do $[Pd(dmba)X(dtz)]$, sendo X um haleto ou pseudo-haleto	25
Figura 9 - Espectros de Absorção na Região do IV complexos do tipo $[Pd(dmba)X]_2$ e $[Pd(dmba)X(dtz)]$	31
Figura 10 - Modos de coordenação do íon azida.....	34
Figura 11 - Espectro de RMN de 1H 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol, em $CDCl_3$	36
Figura 12 - Espectro de RMN de ^{13}C de 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol, em $CDCl_3$	36
Figura 13 - Espectro de RMN de 1H do $[Pd(dmba)Cl(dtz)]$, em $CDCl_3$	37
Figura 14 - Espectro de RMN de 1H do $[Pd(dmba)Br(dtz)]$, em $CDCl_3$	38
Figura 15 - Espectro de RMN de 1H do $[Pd(dmba)I(dtz)]$, em $CDCl_3$	38
Figura 16 - Espectro de RMN de 1H do $[Pd(dmba)N_3(dtz)]$, em $CDCl_3$	39
Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[Pd(dmba)Cl(dtz)]$, em $CDCl_3$	41
Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[Pd(dmba)Br(dtz)]$, em $CDCl_3$	41
Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[Pd(dmba)I(dtz)]$, em $CDCl_3$	42
Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[Pd(dmba)N_3(dtz)]$, em $CDCl_3$	42
Figura 21 - Curva TG-DTG de $[Pd(dmba)Cl(dtz)]$ em atmosfera de ar sintético	44
Figura 22 - Curva TG-DTG de $[Pd(dmba)Br(dtz)]$ em atmosfera de ar sintético.....	44
Figura 23 - Curva TG-DTG de $[Pd(dmba)I(dtz)]$ em atmosfera de ar sintético.....	45
Figura 24 - Curva TG-DTG de $[Pd(dmba)N_3(dtz)]$ em atmosfera de ar sintético.....	45
Figura 25 - Viabilidade celular determinada pelo ensaio de sulforhodamina B (SRB) após 48 h de tratamento	47
Figura 26 - Imagens ilustrativas (painel superior) e análise do ensaio clonogênico.....	48
Figura 27 - (A e B) Histogramas representativos obtidos por citometria de fluxo e análise do ciclo celular.....	49

Figura 28 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})_2\mu\text{Cl}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$	54
Figura 29 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})_2\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{PdBr}(\text{dmba})\text{dtz}]$	55
Figura 30 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})_2\mu\text{I}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{I})\text{dtz}]$	56
Figura 31 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})_2\mu\text{N}_3]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)\text{dtz}]$	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A549	Célula isolada de tecido de pulmão de Adenocarcinoma de homem de 58 anos
Dmba	<i>N,N</i> -dimetilbenzilamina
Dtz	2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol
FTIr	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
HepG2	Linha de células de carcinoma hepatocelular de pessoa de 15 anos branca.
LRMN	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IV	Infravermelho
MCF-7	Linha de células epiteliais de Carcinoma mamário estrogênio-positivo
OMS	Organização Mundial da Saúde
P.A.	Padrão Analítico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TG-DTG	Análise Termogravimétrica - Termogravimetria Derivada

SUMÁRIO

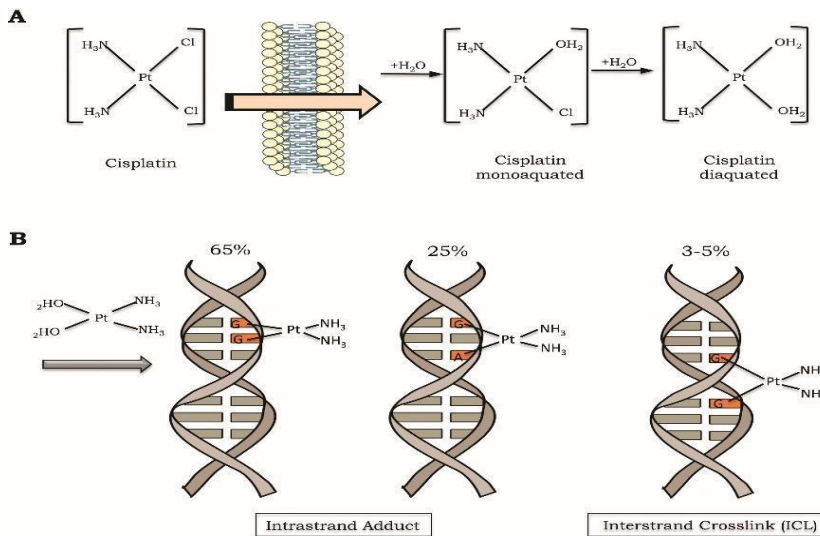
1	INTRODUÇÃO	11
1.1	COMPLEXOS DE PALÁDIO (II).....	14
1.2	LIGANTES.....	16
1.3	ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER.....	17
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVOS	21
4	METODOLOGIA	22
4.1	REAGENTES E SOLVENTES.....	22
4.2	METODOLOGIA DAS SÍNTESES.....	23
4.2.1	Síntese do [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂, sendo dmba= <i>N,N</i>-dimetilbenzelamina	23
4.3	SUBSTITUIÇÕES REGIOESPECÍFICAS.....	23
4.3.1	Síntese do [Pd(dmba)(μ-I)]₂	24
4.3.2	Síntese do [Pd(dmba)(μ-N₃)]₂.....	24
4.4	SÍNTESE DE COMPOSTOS PALÁDIO-TIADIAZOL [PD(DMBA)X(DTZ)] X= CL, BR, I E N ₃ ; DTZ= 2,5-DIMETIL-1,3,4-TIADIAZOL.....	25
4.5	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	26
4.5.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIr).....	26
4.5.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	26
4.5.3	Análise Termogravimétrica/ Termogravimétrica Derivada (TG-DTG)	26
4.5.4	Linhagens celulares e condições de cultivo.....	26
4.5.5	Ensaio de viabilidade celular por sulforhodamina B	27
4.5.6	Ensaio de ciclo celular	27
4.5.7	Ensaio Clonogênico.....	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS PRECURSORES.....	29
5.2	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR).....	29
5.3	ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	35
5.4	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG-DTG).....	43
5.5	ENSAIO BIOLÓGICO.....	46
6	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	51
	APÊNDICES	54

1 INTRODUÇÃO

Crescentes são os estudos a respeito da ação de compostos contendo metais de transição no organismo, pois apresentam uma variedade de estados de oxidação e, com isso, podem interagir com diversas biomoléculas, impulsionando pesquisas com o intuito de se desenvolver novas drogas, sendo usadas desde civilizações antigas como Mesopotâmia, Egito e China (FIKADU; *et al.*, 2020). Esse crescimento na investigação desses compostos foi impulsionado, principalmente, pela descoberta da atividade anti- neoplásica da cisplatina pelo pesquisador Barnett Rosenberg, em 1964 sendo que este complexo ainda é utilizada como fármaco no tratamento de diversos tipos de câncer, como os de bexiga, pulmão, ovário, testículo, cabeça e pescoço, sendo a cis-platina considerada o precursor da química bioinorgânica (NDAGI; MHLONGO; SOLIMAN, 2017; BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007).

Cis-diaminodicloroplatina (II), ou apenas cisplatina, é uma pequena molécula composta por dois ligantes ânions cloreto e duas moléculas de amônia ligadas a um centro metálico de platina (II), sendo o produto final um complexo neutro com formula mínima *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]. Quando esta molécula entra em contato com um ambiente que possui baixas concentrações de cloreto, como o citosol, ocorre o processo de troca dos ligantes cloreto por moléculas de água, tornando o complexo mais reativo, permitindo assim a interações com inúmeras biomoléculas no interior das células. Estudo do mecanismo de ação da cis-platina aponta que ela se liga de forma covalente a bases nitrogenadas que compõe a estrutura do DNA formando adutos, estas ligações podem ocorrer intrafita, interfita ou entre a fita de DNA e uma proteína como pode ser observado na Figura 1 (DASARI; BERNARD; TCHOUNWOU, 2014).

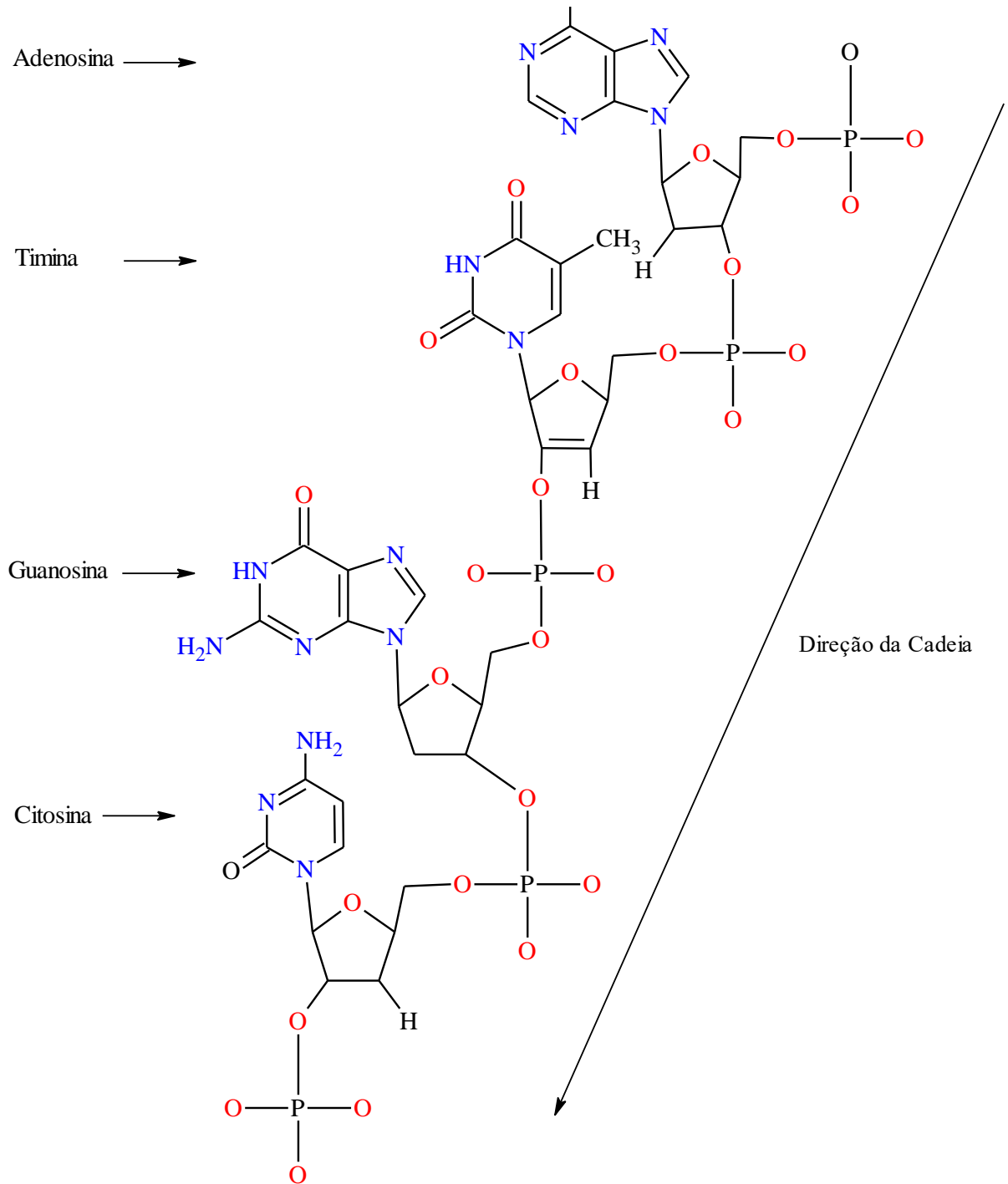
Figura 1 - Mecanismo ação cisplatina em meio celular



Fonte: ROCHA et al., 2018 p. 2

A utilização de compostos de coordenação de platina e paládio vêm sendo estudados nas últimas décadas quanto a sua utilização em tratamentos quimioterápicos. Com isso muitas evidências no que refere ao mecanismo da ação de drogas antineoplásicas a base de metais de transição, estão fundamentadas nas interações dos complexos destes metais com o DNA, causando uma lesão em nível molecular. Pesquisa apresentada por Howle e Gale (1970) estudaram a incorporação dos precursores timidina 3H (um nucleosídeo do DNA), uridina 3H (um substrato importante para a síntese de RNA) e L-leucina 3H (um aminoácido que compõe proteínas), marcados isotopicamente, em células tumorais, *in vitro*, advindas de camundongos tratados com a cisplatina, o primeiro quimioterápico sintetizado. Inicialmente todas estas espécies foram incorporadas, mas subsequentemente, as taxas de uridina e L-leucina retornaram aos valores iniciais de controle. Este experimento demonstrou uma inibição seletiva na síntese de DNA pela cisplatina, quando comparada à síntese protéica e de RNA.

Figura 2 - Mecanismo ação cisplatina em meio celular



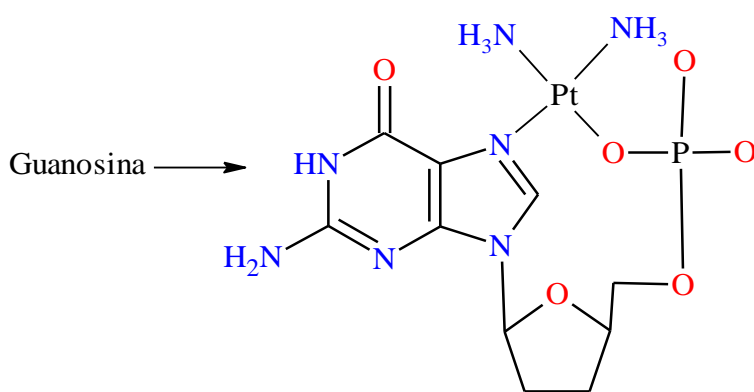
Tetranucleotídio d(P A P T P G P C P) d=deoxi P= Fosfato

A= Adenosina T=Timina G=Guanosina C=Citosina

Fonte: do autor.

Alguns mecanismos foram propostos para justificar como a cisplatina interage com o DNA. Um deles consiste na formação de um complexo com os fosfatos presentes nas hélices de DNA causando uma mudança na estrutura desse e impedindo sua replicação Figura 7 (MCAULIFFE; SHARMA; TINKER, 1991). Outro mecanismo de interação proposto é o de drogas que agem como intercaladoras. Essas se inserem entre os pares de bases nitrogenadas vizinhas no DNA, através de forças de Van der Waals, pelo fato de apresentarem estruturas altamente planares (LEMPERS; REEDIJK, 1991).

Figura 3 - Interação cisplatina com guanossina



Fonte: do autor.

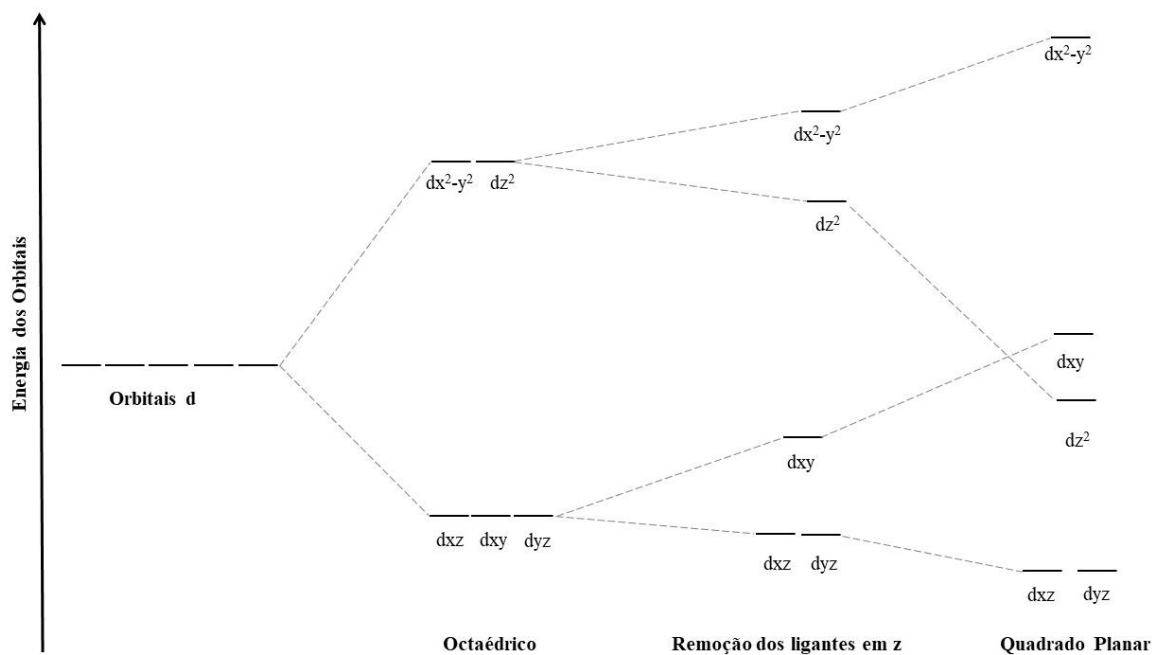
Crescentes são os estudos envolvendo os complexos organometálicos de paládio (II), uma vez que apresentam uma versatilidade de aplicações como o seu emprego na catálise orgânica, catálise inorgânica, na síntese de novos materiais e o potencial farmacológico, sendo assim considerado um tópico importante no campo de pesquisa da Química Organometálica como pode ser observado no crescente número de publicações relacionadas a esses compostos (MORO; MAURO; ANANIAS, 2004; DUPONT; CONSORTI; SPENCER, 2005).

1.1 COMPLEXOS DE PALÁDIO (II)

O paládio metálico é um metal de transição de coloração branco prateada, que apresenta pouca reatividade e alta resistência à corrosão, de configuração eletrônica $[\text{Kr}] 5s^2, 4d^8$. A sua forma catiônica apresenta estados de oxidação 0,+1,+2 e +4, sendo o estado +2 o mais estável e o estado +4 o mais instável. Na Tabela Periódica é localizado no grupo 10, juntamente com Níquel e a Platina. De acordo com a Teoria do Campo Cristalino, o íon paládio (II) é um íon tetracoordenante e apresenta geometria quadrado planar. Isso é explicado pelo fato desse cátion apresentar configuração eletrônica d^8 , isso impede a coordenação de mais ligantes de maneira efetiva (ALVES; GUERRA, 2010)(HUHEEY,

1975). Observando o desdobramento do campo cristalino dos complexos quadrado plano representada na Figura 2, a aproximação dos quatro ligantes ocorre por meio dos eixos x e y, sobre o orbital dx^2-y^2 desloca a densidade eletrônica desses orbitais para o orbital dz^2 . Isso causa uma repulsão dos ligantes que tentam se aproximar pelo eixo z. Como não ocorre, portanto, a ligação no eixo desse orbital ele tem sua energia diminuída. Já o orbital dx^2-y^2 , que interage frontalmente com os quatro ligantes, tem sua energia aumentada. Também por esse fator, o orbital d_{xy} se torna mais energético que os orbitais dxz e dyz . Com isso, é possível explicar o desdobramento apresentado na Figura 2, a partir de uma estrutura octaédrica (HOUSECROFT, CATHERINE E. ; SHARPE, 2012).

Figura 4 - Representação desdobramento de um campo octaédrico para um quadrado planar



Fonte: do autor

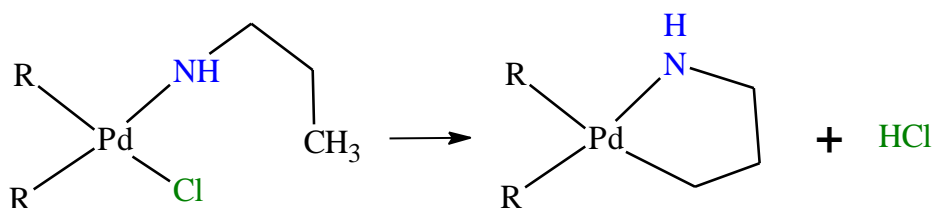
Estudos a respeito da ação biológica de complexos derivados de paládio também vêm sendo desenvolvidos, principalmente pelo fato de este ter configuração eletrônica semelhante à da platina, sendo assim, complexos de paládio e de platina apresentam coordenação e geometria muito semelhantes e, em comparação entre estes dois complexos análogos, os compostos de paládio apresentam menos efeitos colaterais. Na literatura, existem relatos de complexos de paládio (II) que apresentam ação como corticoides, antichagásica, antifúngica, antituberculose, anti-inflamatória, leishmanicida e também vermífida (CAVALCANTE *et al.*, 2008; CUNHA *et al.*, 2020; GAMBINO; OTERO, 2018;

HOUSECROFT, CATHERINE; SHARPE, 2012; PLUTÍN *et al.*, 2016; SHAHEEN *et al.*, 2010; TEYSSOT *et al.*, 2009; VELÁSQUEZ *et al.*, 2017; ZALEVSKAYA *et al.*, 2020; ZOU *et al.*, 2018).

Entretanto, os complexos de paládio, quando comparados aos seus análogos de platina, apresentam uma baixa atividade citotóxica, pois são muito lábeis em meio biológico. Todavia este comportamento muda quando comparamos os compostos ciclopaladados com seus análogos de platina, pois além de possuírem diferentes mecanismos de atuação frente ao DNA, apresentam maior eficácia mesmo em baixas concentrações e toxicidade menor (CAIRES *et al.*, 1999; DE ALMEIDA, V. L. *et al.*, 2005; FRANCO *et al.*, 2013).

Os ciclometalados são uma classe de complexos organometálicos e sua formação se dá a partir da ativação da ligação C-H por um metal de transição, ocorrendo, principalmente, em ligantes orgânicos heterossustituídos (CAIRES *et al.*, 1999). Esta classe de compostos apresenta diversas aplicações, tais como, síntese orgânica, obtenção de cristais líquidos, catalisadores e ações farmacológicas. Essa gama de aplicações é devido a sua diversidade estrutural. Possuem em suas estruturas, além de uma ligação metal-carbono formada pela quebra da ligação carbono-hidrogênio, anéis constituídos de uma ligação de coordenação entre um metal de transição (M) e um átomo doador de elétrons (Y) que seja do grupo 15 (N, P, As) ou do grupo 16 (O, S, Se) da Tabela Periódica. De acordo com o mecanismo proposto por Parshall (1970), a formação de ciclometalados a partir de sais de paládio (II) e *N*-doadores, benzilaminas ou azometinas, ocorre preferencialmente por uma reação de orto-substituição formando anéis de cinco membros (BRAGA; LÜDTKE; ALBERTO, 2006).

Figura 5 - Representação esquemática formação de complexo ciclometalado



Fonte: do autor

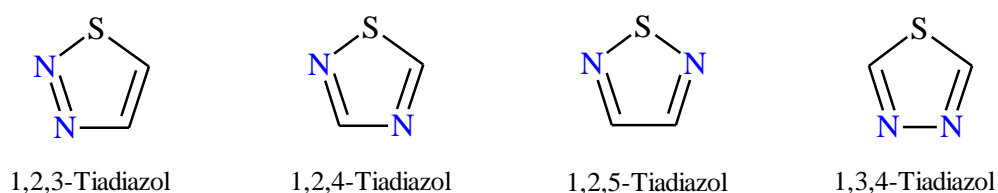
1.2 LIGANTES

A ação de determinado composto de coordenação depende, além da natureza do núcleo metálico, do tipo de ligante que forma esse composto. Devido a esse fato, a busca por novos ligantes para a formação de compostos de coordenação é um campo de pesquisa crescente (BRAGA; LÜDTKE; ALBERTO, 2006). A seguir é apresentado o ligante da

classe Tiadiazol, composto este utilizado no processo de planejamento reacional dos novos complexos ciclopaladados.

Os tiadiazóis são compostos orgânicos de estrutura heterocíclica contendo um átomo de enxofre e dois átomos de nitrogênio. Estes compostos são obtidos através de diversas técnicas de síntese, a síntese da estrutura 1,2,4-tiadiazol é realizada com ácido carboxílico, reagentes que contém o grupo *N'*- mercaptoformimidamida por meio de uma condensação e ciclização desidratante; já a conformação 1,3,4-tiadiazol pode ser obtida a partir do reagente de Lawerson após a condensação e desidratação do ácido carboxílico. Existem quatro tipos de estruturas de tiadiazóis, sendo elas 1,3,4-, 1,2,4-, 1,2,5- e 1,2,3-tiadiazol, representadas na Figura 4, sendo as mais estudadas as estruturas 1,2,4- e 1,3,4-tiadiazol devido suas atividades biológicas (FABRETTI *et al.*, 1985).

Figura 6 - Representações estruturas do Tiadiazol



Fonte: do autor

Os anéis de tiadiazol possuem características químicas semelhantes aos dos anéis de piridina, e devido às interações estruturais que os anéis de piridina realizam com as estruturas de DNA e RNA, é apontado na literatura uma provável interação entre os tiadiazóis e estas estruturas. É um composto lipossolúvel devido a presença do átomo de enxofre na estrutura da molécula o que influencia positivamente na sua atividade biológica destacando-se ações anti-inflamatórias, bactericidas, antifúngicas, antiparasitária, antiviral e anticancerígena; o que justifica seu emprego na síntese de compostos organometálicos (LI *et al.*, 2013).

Ciente das propriedades antineoplásicas de alguns complexos de paládio e de compostos da classe do tiadiazol, e ciente também que o câncer é a segunda doença que mais mata no mundo, o referido estudo pretende avaliar a possível atividade biológica destes compostos se combinados na forma de um composto de coordenação.

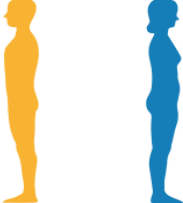
1.3 ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER

Câncer é o termo usualmente empregado ao se referir à neoplasia, que é uma doença caracterizada pelo crescimento de células anormais (MEDICI, 2018). De acordo com

estatísticas fornecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer é a segunda doença que mais mata no mundo, estimando que 1 em cada 6 são atribuídas ao câncer, estimando 9,6 milhões de mortes apenas no ano de 2020. Os tipos de neoplasia mais comuns são o de pulmão (23%), mama (23%), colorretal (16%) e próstata (13%), sendo os casos com maior taxa de mortalidade atribuídos aos cânceres de pulmão, colorretal, estômago, fígado e mama.

Conforme a estimativa de incidência de câncer fornecida pelo Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), vinculado ao Ministério da Saúde, estima-se que entre os anos de 2020-2022 ocorram 62 mil novos casos de câncer do tipo não melanoma no Brasil a cada ano, sendo que entre os homens o câncer de próstata é o que apresenta maior estimativa de incidência, enquanto que para as mulheres os casos mais comuns são atribuídos ao câncer de mama apresentado na Figura 7 (INCA, 2019).

Figura 7 - Distribuições proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
			Homens	Mulheres	Mama feminina	66.280	29,7%
Próstata	65.840	29,2%			Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
Cavidade oral	11.180	5,0%			Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema nervoso central	5.220	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: INCA, 2019.

Desconsiderando o câncer de pele, o câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres em todo o globo, sendo que cerca de 2,1 milhão de novos casos foram diagnosticados apenas no ano de 2018, o que corresponde a 11,6% de todos os tipos de cânceres estimados. Embora tenha uma taxa de mortalidade elevada, ou seja, um elevado número de mortes, este tipo de câncer possui uma taxa de letalidade baixa uma vez que menos de um terço dos casos levam a óbito. Alguns fatores de risco para o desenvolvimento desse tipo de câncer são a menarca precoce, primeira gestação após os 30 anos, uso de anticoncepcionais orais, menopausa tardia, tratamentos de reposição hormonal. Além desses fatores, o avanço da idade, principalmente até os 50 anos, também está relacionado com o aumento da probabilidade de desenvolver essa neoplasia. Após essa idade, esse aumento ocorre de maneira mais lenta. Pode-se relacionar, também, o desenvolvimento dessa doença à exposição a raios ionizantes, mesmo

em doses muito baixas, principalmente na adolescência e a fatores genéticos, pois genes responsáveis pela regulação, metabolismo hormonal e reparo de DNA podem sofrer alterações e aumentar o risco de câncer (INCA, 2019).

O tratamento para essa doença ainda está muito longe de ser satisfatório. A quimioterapia, que é a administração de medicamento com o intuito de destruir as células cancerígenas, acarreta uma série de efeitos colaterais, como fadiga excessiva, queda de cabelos e pelos, enjoo e vômito. O outro tratamento muito difundido é a radioterapia, que utiliza radiação para eliminar ou inibir o crescimento do tumor, também é caracterizado pelos efeitos colaterais, como cansaço, dificuldade na alimentação e reações da pele à radiação (MEDICI, 2018; TEIXEIRA, 2010).

Estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando complexos derivados de Paládio (II) como um potencial agente anticâncer como por exemplo Caires; *et al.* (1999) no qual uma série de complexos azido-ciclopaladados, no qual existe em suas estruturas o ligante *N,N*-dimetilbenzamina, todos os compostos apresentaram atividade antitumoral *in vitro* em maior ou menor grau quando aplicados a gliomas cerebral e orofaringe e cólon de útero. Os complexos contendo como ligantes compostos da classe dos ditiacarbamatos apresentados por Amir; *et al.* (2016) demonstraram atividade frente a várias células cancerígenas, obtendo melhores resultados que a *cis*-platina, entretanto apresentaram uma menor resistência cruzada quando comparada com a mesma, ou seja, resistência a uma substância citotóxica devido a exposição a outra. Complexos que apresentam ligantes do grupo alila-carboidrados ou alila-grupo fosfínico apresentado por Scattolin; *et al.* (2020), apresentaram uma melhor atividade antiproliferativa que a *cis*-platina, entretanto com uma citotoxicidade similar frente a uma série de células tumorais. Considerando tais fatos, pesquisas envolvendo complexos de paládio (II) tornam-se viáveis visto os resultados positivos expressos na literatura (CAIRES *et al.*, 1999; DE SOUZA *et al.*, 2010; FIKADU *et al.*, 2020; KUSHEV *et al.*, 2002; ROCHA *et al.*, 2018).

2 JUSTIFICATIVA

Ainda hoje, metalofármacos como a cis-platina e carboxiplatina são vastamente empregadas no tratamento de diversos tipos de cânceres. Entretanto, estes compostos são altamente tóxicos para o organismo, causando muitos efeitos colaterais. O fato de o paládio apresentar uma química de coordenação muito semelhante à da platina o credenciou como um possível substituto, visto que complexos desse metal apresentam menos efeitos colaterais que os seus análogos de platina. Com isso, paládio vem se mostrando como um constituinte muito versátil na composição de complexos que apresentem alguma atividade biológica. Essa afirmação é corroborada pelos resultados descritos na literatura, que expõem compostos com esse metal e que apresentam diversas ações, dentre as quais se destacam a antineoplásica.

Entretanto alguns complexos de paládio como o cis-paládio não apresentam atividade biológica, sendo apontado com um dos possíveis fatores a elevada labilidade dos complexos em meio biológico. Com o intuito de diminuir a labilidade do composto, apresenta-se como possível solução a síntese de complexos ciclometalados, uma vez que, encontra-se na literatura dados que comprovam que complexos ciclopaladados diminuem a labilidade e aumenta da atividade biológica dos compostos.

Vizando potencializar a atividade desta classe de compostos apresenta-se a possibilidade da incorporação de ligantes tiadiazólicos que já possuem ações biológicas já descritas na literatura, bem como características biológicas relevantes como a lipossibilidade, podendo atuar de forma sinérgica potencializando os resultados.

A possibilidade de aplicação dos compostos sintetizados como antineoplásicos é justificável visto que todos os tipos de câncer trazem severos impactos para a sociedade. O câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, sendo o maior número de óbitos em países de baixa renda, sendo considerado um problema de saúde pública mundial, pois possui impacto nas famílias, por meio de sobrecargas emocionais e financeiras além de um impacto social da perspectiva econômica, gasto de quase 15 bilhões de reais somente no ano de 2018 (BRASIL, 2019), o tratamento para a doença vem avançando mas está longe do ideal. Nessa linha, os compostos de Paládio (II) vêm apresentado atividade satisfatória, o que justifica, portanto, os objetivos propostos para esse trabalho.

3 OBJETIVOS

O referido estudo teve como objetivo a síntese, caracterização e avaliação da atividade antineoplásica de novos complexos mononucleares de Paládio (II) contendo como ligantes compostos da classe tiadiazol. Para isso a pesquisa se desenvolveu tendo como pilar os seguintes objetivos específicos:

- a) Sintetizar e caracterizar um novo complexo de paládio (II) a partir da reação entre o precursor $[Pd(dmba)_2\mu-Cl]_2$ e ligantes da classe tiadiazol;
- b) Substituir os átomos de cloro no composto sintetizado por outros haletos ou pseudo-haletos para a formação de complexos ciclometalados;
- c) Substituir um dos ligantes haletos ou pseudo-haletos por ligantes tiadiazol para a formação de novos complexos ciclometalados;
- d) Caracterizar os complexos sintetizados utilizando espectroscopia de absorção na região do infravermelho, ultravioleta e visível, análise elementar e análise termogravimétrica;
- e) Verificar a ação citotóxica dos compostos sintetizados frente a células de adenocarcinoma mamário humano, com o intuito de avaliar as potencialidades biológicas dos novos compostos.

4 METODOLOGIA

Nesta etapa serão relatados os reagentes, solventes, técnicas e equipamentos utilizados, procedimentos para as sínteses, caracterizações e testes biológicos dos compostos.

4.1 REAGENTES E SOLVENTES

Em todas as sínteses foram utilizados reagentes P.A. Os reagentes e solventes estão listados na Quadro 1.

Quadro 1 - Reagentes e solventes utilizados nas sínteses.

Cloreto de Paládio(II)	(Sigma-Aldrich)
5 amino-2 tiol-1,3,4-thiadiazol	(Sigma-Aldrich)
Cloreto de Lítio	Sigma-Aldrich)
<i>N,N</i> -dimetilbezilamina	(Sigma-Aldrich)
2,5dimetil-1,3,4-tiadiazol	(Sigma-Aldrich)
Iodeto de Potássio	(Sigma-Aldrich)
Brometo de Potássio	(Sigma-Aldrich)
Tiocianato de Potássio	(Merck)
Azida de Sódio	(Merck)
Diclorometano	(Merck)
Metanol	(Merck)
Trietilamina	(Synth)
Acetona	(Merck)
Éter Etílico	(Merck)
Pentano	(Merck)
Água Destilada	-
Clorofórmio	(Merck)

4.2 METODOLOGIA DAS SÍNTESES

De maneira geral as reações foram conduzidas em atmosfera aberta, em temperatura ambiente.

4.2.1 Síntese do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$, sendo *dmba*= *N,N*-dimetilbenzamina

O complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$ possui sua síntese descrita na literatura por membros do grupo de pesquisa (DE ALMEIDA et al., 2005). Este complexo atuou como base estrutural para a síntese dos complexos tiodiazólicos de paládio (II), para isso foi primeiramente sintetizado o complexo $\text{Li}_2[\text{Pd}(\text{Cl})_4]$, para tanto utilizou-se uma massa de 1,00 g (5,65 mmol) de cloreto de paládio(II) sendo parcialmente solubilizada, sob aquecimento, em 100,0 mL de metanol. Nesta solução adicionou-se 0,50 g (11,77 mmol) de cloreto de lítio. A mistura permaneceu sob agitação e aquecimento até que a solução ficasse marrom avermelhada. A solução foi então filtrada em funil de Buchner de placa sinterizada. Em seguida realizou-se a adição, sob agitação, de 1,00 mL (6,65 mmol) de *N,N*-dimetilbenzamina (*dmba*). Posteriormente adicionou-se, lentamente e sob agitação, 1,00 mL (7,20 mmol) de trietilamina em 10,00 mL de metanol. Devido a adição do composto *dmba* ocorreu a substituição de dois ligantes cloretos ligados ao íon paládio (II), e havendo a formação de um composto ciclopaladato dímero.

A solução foi mantida sob agitação por 8 h, havendo a precipitação de um sólido de coloração amarelo claro, que posteriormente foi filtrado em funil de placa sinterizada e lavado com água destilada gelada, metanol gelado e éter etílico gelado. O sólido então foi seco em estufa a vácuo. Recristalizou-se o sólido em acetona como solvente e água em temperatura ambiente como agente precipitante, obtendo-se uma massa de 1,45 g do produto, equivalente a aproximadamente 92% de rendimento.

4.3 SUBSTITUIÇÕES REGIOESPECÍFICAS

O composto $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-Cl}]_2$ foi submetido a uma série de reações denominadas substituições regioespecíficas. Nessas reações, houve a descoordenação dos ligantes cloretos sendo substituídos por outros ligantes haletos, como os haletos Br^- e I^- , e o pseudohaletos N_3^- . Cada uma das substituições foi conduzida em meio reacional de acetona, utilizando, nas proporções estequiométricas adequadas, e o respectivo sal do ânion substituinte, como descrito nas seções a seguir.

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 350 mg (0,63 mmol) de $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$ em 20,00 mL de acetona. A solução foi mantida sob agitação constante, sendo adicionada uma solução de brometo de potássio em acetona (2,53 mmol/10,0 mL). Após 30 min houve a precipitação de um sólido amarelo-esverdeado, adicionou-se a solução uma pequena quantidade de pentano com intuito a promover uma maior formação de precipitado, que então foi separado por filtração utilizando funil de placa sinterizada. O precipitado então foi lavado com água destilada e éter etílico para a remoção de impurezas e seco em estufa a vácuo. O precipitado foi recristalizado em acetona como solvente e água como agente precipitante, obtendo-se um rendimento de 87%.

4.3.1 Síntese do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-I})_2]$

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 350 mg (0,63 mmol) de $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$ em 20,00 mL de acetona. A solução foi mantida sob agitação constante, adicionando-se uma solução de iodeto de potássio em acetona (2,53 mmol/10,0 mL). Após 30 min houve a precipitação de um sólido castanho, adicionou-se a solução uma pequena quantidade de pentano promovendo uma maior formação de precipitado, que então foi separado por filtração utilizando funil de buchner de placa sinterizada. O precipitado então foi lavado com água destilada e éter etílico para a remoção de impurezas e seco em estufa a vácuo. O precipitado foi recristalizado em acetona como solvente e água como agente precipitante, obtendo-se um rendimento de 85%.

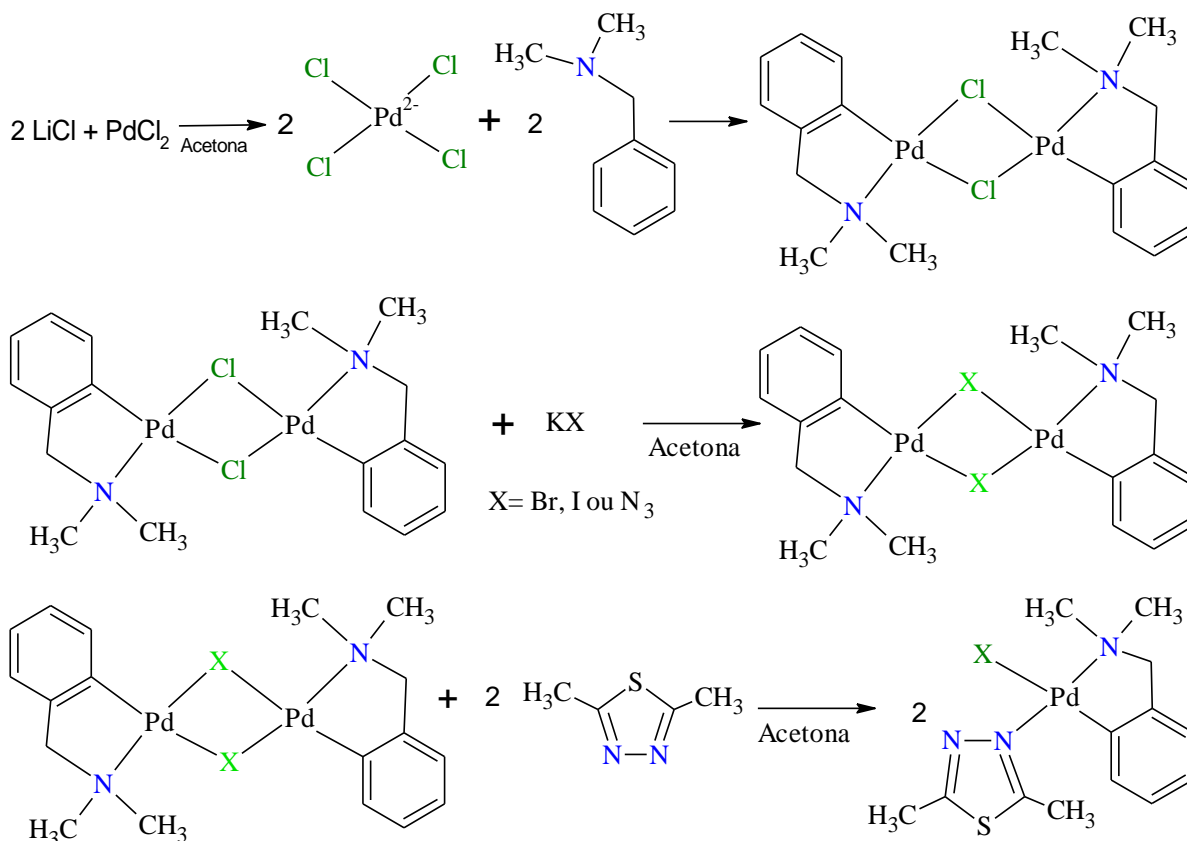
4.3.2 Síntese do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-N}_3)_2]$

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 350 mg (0,63 mmol) de $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-Cl})_2]$ em 20,00 mL de acetona. A solução foi mantida sob agitação constante, sendo adicionada uma solução de azida de sódio em acetona (2,53 mmol/10,0 mL). Após 30 min houve a precipitação de um sólido amarelo-esverdeado, adicionou-se a solução uma pequena quantidade de pentano com intuito a promover uma maior formação de precipitado, que então foi separado por filtração utilizando funil de placa sinterizada. O precipitado então foi lavado com água destilada e éter etílico para a remoção de impurezas e seco em estufa a vácuo. O precipitado foi recristalizado em acetona como solvente e água como agente precipitante, obtendo-se um rendimento de 80%.

4.4 SÍNTESE DE COMPOSTOS PALÁDIO-TIADIAZOL [Pd(dmba)X(DTZ)] X= CL, BR, I E N₃; DTZ= 2,5-DIMETIL-1,3,4-TIADIAZOL

Em 5 balões de fundo chato foram adicionados respectivamente, 0,35 mmol dos ciclopaladados diméricos [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂, [Pd(dmba)(μ-Br)]₂, [Pd(dmba)(μ-I)]₂ e [Pd(dmba)(μ-N₃)]₂, juntamente com 15,0 mL de acetona. As soluções formadas foram mantidas sob agitação por um período de 15 min, em seguida foram adicionados também em cada um dos balões, 0,35 mmol de 2,5-dimetil-1,3,4- tiadiazol. Observou-se a turvação imediata após a introdução deste ligante, exceto na solução contendo [Pd(dmba)(μ-Cl)]₂, no qual não houve a formação de precipitado. Manteve-se então todos os frascos sob agitação constante por um período de 1 h e notou-se, com o decorrer do tempo, uma formação gradativa de precipitados nas demais soluções. Estes sólidos foram isolados por filtração e lavados com água gelada e pentano na tentativa de remover impurezas e excesso de solvente. Devido à baixa solubilidade dos cinco compostos isolados, não foi possível recrystalizá- los. Rendimentos: (80-90)%. A proposta de mecanismo de substituição, bem como a estrutura geral encontra-se expresso na Figura 8.

Figura 8 - Representação da reação de formação do [Pd(dmba)X(dtz)], sendo X um haleto ou pseudo-haleto



Fonte: do autor.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

4.5.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIr)

Os espectros de absorção na região do infravermelho, abreviados neste trabalho apenas como IV, foram obtidos utilizando espectrofotômetro Shimadzu - Prestige 21, atuando na faixa de 4000 - 400 cm^{-1} . As amostras foram preparadas pela maceração em almofariz de ágata com brometo de potássio e posterior pastilhamento com auxílio de prensa hidráulica. Localizado no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabiQ) da UNIFAL-MG.

4.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear, RMN, foram obtidos no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LRMN) da UNIFAL-MG, em um Espectrômetro Bruker DPX-300, operando a 300 MHz para RMN ^1H e 75 MHz para RMN ^{13}C . Utilizou-se CDCl_3 para a solubilização das amostras. Como padrões externos empregou-se o tetrametilsilano (TMS) para núcleos de ^{13}C e ^1H .

4.5.3 Análise Termogravimétrica/ Termogravimétrica Derivada (TG-DTG)

As curvas TG-DTG foram obtidas no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabiQ) da UNIFAL-MG, por meio do equipamento, SDT Q-600, fabricado pela TA Instruments. Foram obtidas curvas com massa de amostra em torno de 10 mg, cadinho de alumina. Atmosfera de ar sintético (100 mL min^{-1}) aquecidas até temperatura de $800 \text{ }^\circ\text{C}$, com razão de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$. As interpretações propostas para cada etapa das variações de massas foram feitas baseadas na estequiometria proposta para os complexos.

4.5.4 Linhagens celulares e condições de cultivo

Os referentes estudos biológicos descritos nos itens 4.5.5, 4.5.6 e 4.5.7 foram realizados seguindo a metodologia específica pela Prof^a Dr^a Marisa Ionta e a mestranda Carolina Giroto do Instituto de Ciências da Natureza (ICN-UNIFAL-MG). No presente estudo, foram utilizadas as linhagens celulares MCF-7 (carcinoma de mama estrogênio-positivo), A549 (adenocarcinoma de pulmão), HepG2 (carcinoma hepatocelular). Fibroblastos dérmicos primários também foram incluídos. Essas células foram cultivadas em meio mínimo essencial

de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Sigma, CA, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS, Cultilab, São Paulo, Brasil) em uma atmosfera umidificada de 5% de CO₂ a 37 °C.

4.5.5 Ensaio de viabilidade celular por sulforhodamina B

As células foram semeadas na placa de 96 poços a uma densidade de 1×10^4 células (HepG2, MCF-7 e fibroblastos dérmicos) ou 5×10^3 células (A549) células por poço. As culturas de células foram submetidas a triagem. Nesta etapa, as células foram tratadas com os compostos à $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ por 48 h. A análise de viabilidade celular foi realizada de acordo com (VICHAI; KIRTIKARA, 2006). O ensaio sulforhodamina B (SRB) é usado para determinação do conteúdo proteico das amostras, o qual é proporcional a densidade celular. Após o período de incubação, as amostras foram fixadas com ácido tricloroacético a 5% (concentração final no meio de cultura) e coradas com sulforhodamina B por 30 min. Em seguida, o excesso de corante foi removido com sucessivas lavagens com ácido acético a 1% (3 vezes). O corante ligado à proteína foi dissolvido em solução de Tris-base (10 mM) e as amostras foram analisadas em espectrofotômetro (540 nm com referência de 690) para a determinação da taxa de viabilidade. Os valores apresentados representam a média (\pm) desvio padrão (DP) de 3 experimentos independentes realizados em quadruplicata.

4.5.6 Ensaio de ciclo celular

A análise da progressão do ciclo celular foi realizada de acordo com (AZEVEDO-BARBOSA *et al.*, 2019). As células HepG2 foram semeadas em Placas de Petri de 35 mm de diâmetro a uma densidade de 2×10^5 . Após 24 horas de adesão, as células foram tratadas com os compostos $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-Br}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ a 20 e $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ por 48 horas. Em seguida, as células foram coletadas por digestão enzimática (solução de Tripsina-EDTA, Sigma Aldrich LTDA, Brasil) e fixadas em etanol a 4°C (75% em tampão salina-fosfato, PBS) por 30 minutos. As amostras foram incubadas por 1 h com uma solução de coloração [PBS contendo RNase ($1,5 \text{ mg mL}^{-1}$, Sigma) e iodeto de propídio ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$)]. A análise foi realizada com citômetro de fluxo (Guava Mini EasyCyte, 8HT) e software GuavaSoft 2.7. Os dados apresentados referem-se à média \pm SD de três experimentos independentes realizados em triplicata.

4.5.7 Ensaio Clonogênico

O ensaio clonogênico foi realizado de acordo com (FRANKEN *et al.*, 2006).

Resumidamente, 1.000 células foram semeadas em placas de Petri de 35 mm de diâmetro. As culturas foram tratadas por 24 h com composto [Pd(dmba) μ Br] e [Pd(dmba)Br(dtz)] a 40 μ M e recuperadas em um meio fresco por 15 dias subsequentes. Em seguida, as colônias foram fixadas e coradas com Cristal Violeta. Apenas colônias com >50 células foram contadas usando um estereomicroscópio com aumento de 20X. Os ensaios foram realizados em triplicata e os dados foram apresentados como média \pm SD de três experimentos independentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por possuírem aplicações nas mais diversas áreas, os compostos ciclometalados de paládio (II) vêm recebendo atenção considerável nos últimos anos, principalmente por suas potencialidades farmacológicas. Alguns ligantes tiadiazólicos também demonstraram estas propriedades, e levando em consideração estas informações, no presente trabalho procurou-se sintetizar novos complexos de paládio (II) ciclometalados contendo estes ligantes. Para eventuais comparações dos resultados obtidos na caracterização dos complexos, recorreu-se a literatura sobre os ciclopaladados e os ligantes nitrogenados e sulfurados.

Os novos compostos ciclopaladados, bem como os demais complexos de paládio (II), foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho; espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C e análise termogravimétrica (TG-DTG).

Os espectros na região do IV forneceram informações importantes a respeito das coordenações dos ligantes *N,N*-dimetilbenzamina (dmba) e 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol (DTZ) e pseudohaletos. A espectroscopia de ressonância magnética nuclear constitui-se numa técnica fundamental para elucidar a possível estrutura química de cada composto, em solução, através da comparação dos deslocamentos químicos sofridos pelos núcleos de ^{13}C e ^1H dos ligantes após a sua coordenação com o centro metálico.

As curvas termogravimétricas, baseadas na variação de massa em função da temperatura, propiciaram informações a respeito da estabilidade térmica dos compostos bem como do resíduo final.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS PRECURSORES

A síntese e a caracterização dos compostos precursores $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-X})]_2$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ e N_3) encontram-se descritas na literatura. Entretanto, uma breve discussão sobre os mesmos se faz necessária, para uma investigação comparativa com as novas espécies obtidas no presente trabalho.

5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR)

Os principais modos vibracionais da *N,N*-dimetilbenzamina (*dmba*) encontram-se expostos na tabela 2. Os modos vibracionais do pseudohaletos (N_3) e do ligante 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol (*dtz*) são discutidos, pois, os mesmos, encontram-se presentes nos compostos

precursores e/ou compostos finais sintetizados.

Tabela 1 - Modos vibracionais da dmmba livre.

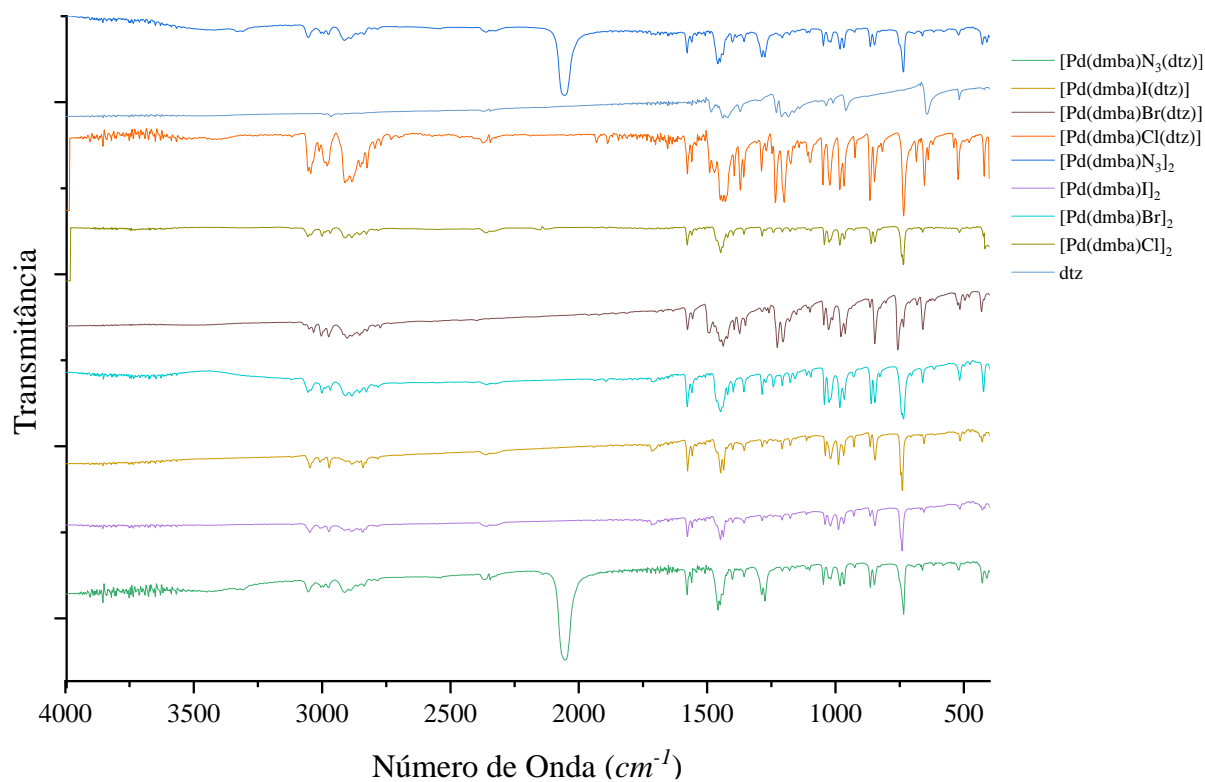
MODOS VIBRACIONAIS	ν (cm⁻¹)
νC-H(AROMÁTICO)	3031
νCH[-N(CH₃)₂]	2942
νCH(-N-CH₂-)	2772
νC-C(AROMÁTICO)	1570
δCH₃	1450
δCH₂	1387
δC-H(AROMÁTICO)	740

Fonte: CAIRES, et al. 1999.

A síntese do [Pd(dmmba)(μ -X)]₂ sendo X haletos ou pseudohaletos primeiramente, se fez necessária, pois, foi a partir deles que os demais ciclopaladados da série [Pd(dmmba)(X)(dtz)], foram obtidos, por substituição de um dos ligantes haletos ou pseudohaletos pelo composto 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol.

Todos os espectros no IV dos compostos precursores apresentaram bandas atribuídas apenas aos modos vibracionais dos ligante dmmba. Já os produtos finais apresentam bandas atribuídas ao ligante dmmba e também ao tiadiazol dtz. O composto [Pd(dmmba)(μ -N₃)]₂ e o seu produto [Pd(dmmba)N₃(dtz)] apresentam em seu espectro sinais característicos da coordenação do íon azida (N₃). Uma tabela contendo dados provenientes dos espectros na região do Infravermelho dos precursores e complexos finais são mostradas na Tabela 3. Os espectros no IV dos compostos finais bem como de seus precursores podem ser observados com mais detalhes no Apêndice desta dissertação.

Figura 9 - Espectros de Absorção na Região do IV complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$



A tabela com os dados espectroscópicos na região do IV para os complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$, em cm^{-1} , sendo X haletos ou pseudo-haletos podem ser observados na Tabela 2.

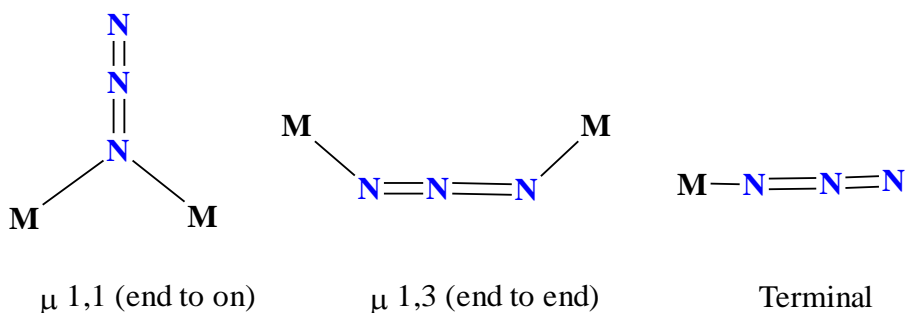
Tabela 2 - Dados espectroscópicos na região do IV para os complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$, em cm^{-1} . Sendo X haletos ou pseudo-haletos

Composto	1 $\nu\text{C-H}(\text{ar})$	2 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)$	3 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_2))$	4 $\nu_{\text{ass}}\text{Pd-N}_3$	5 $\nu\text{C-C}(\text{ar})$	6 δCH_3	7 δCH_2	8 $\delta\text{C-H}(\text{ar})$	9 $\nu(\text{S-C})$
$\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-Cl}]_2$	3055	2960	2781	-	1577	1546	1398	736	-
$\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$	3055	2980	2770	-	1577	1548	1394	136	684
$\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-Br}]_2$	3055	2968	2772	-	1575	1450	1398	752	-
$\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$	3032	2972	2772	-	1573	1440	1398	752	689
$\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-I}]_2$	3045	2974	2783	-	1575	1446	1400	742	-
$\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$	3047	2974	2783	-	1577	1446	1400	742	690
$\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{-N}_3]_2$	3051	2977	2789	2056	1577	1450	1400	738	-
$\text{Pd}(\text{dmba})\text{N}_3(\text{dtz})]$	3059	2979	2789	2056	1577	1452	1402	738	692

Os espectros na região do infravermelho dos complexos precursores e finais apresentam bandas características de estiramento da ligação C-H aromáticos e alifáticos em 3050 e próximo a 2800 e 2772 cm^{-1} . Em 1570 é possível observar uma banda associada ao estiramento da ligação C-C de aromáticos. Na região de 1450 e 1390 cm^{-1} são identificadas bandas intensas atribuídas ao movimento de dobramento da ligação C – H em CH_3 e CH_2 respectivamente. Em 740 cm^{-1} verifica-se uma banda intensa característica do movimento de dobramento da ligação C – H do anel aromático. As bandas citadas indicam a coordenação do ligante *N,N*-dimetilbenzamina (dmba), apresentando um pequeno deslocamento de bandas quando comparado o ligante, e os complexos precursores e finais. A principal banda que indica a coordenação do ligante 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol encontra-se na região de 660-700 cm^{-1} , correspondendo ao estiramento antissimétrico da ligação S – S do anel tiadiazol. Quando livre o ligante dtz apresenta essa banda em 642 cm^{-1} , mas quando coordenado ao íon paládio de forma Pd – dtz apresenta coordenação entre 685-690 cm^{-1} com intensidade baixa. A diferença no valor de número de onda das bandas dos compostos sintetizados pode estar associado a sua diferença estrutural, uma vez que os haletos e pseudohaletos e a presença ou não do ligante dtz influencia a simetria dos compostos.

A coordenação do ligante azida é evidenciada por uma banda intensa na região de 2056 cm^{-1} , sendo característica da coordenação na sua forma terminal, sendo observada no complexo precursor e final, não havendo deslocamento da mesma. A coordenação dos Haletos e do ligante tiadiazol ao íon paládio não pode ser determinado pois tais eventos ocorrem abaixo de 400 cm^{-1} . Os complexos que apresentam o ligante azida em sua estrutura possuem em seus espectros de absorção na região do IV médio 4 bandas características em, aproximadamente, 2050, 1300, 600, 400-300 e 200 cm^{-1} . Estes números de onda correspondem, respectivamente, às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico, $\nu_{\text{as}}(\text{N}_3)$ e $\nu_{\text{s}}(\text{N}_3)$, vibrações de deformação $\delta(\text{N}_3)$ e vibrações de estiramento metal- nitrogênio $\nu(\text{M}-\text{N})$. Compostos de coordenação contendo azida em ponte apresentam vibrações $\nu_{\text{as}}(\text{N}_3)$ no intervalo de 2060-2090 cm^{-1} , enquanto que azidas terminais absorvem em frequências mais baixas. Utilizando a espectroscopia de absorção na região do IV é possível inferir o modo de coordenação da azida em ponte [*end on* ($\mu-1,1$) ou *end-to-end* ($\mu-1,3$)], terminal ou iônica, Figura 10 e seus valores expressos na Tabela 3.

Figura 10 - Modos de coordenação do íon azida.



Fonte: do autor.

Tabela 3 - Intervalos de frequências observados para os diferentes tipos de coordenação do íon azida (N_3^-), em cm^{-1}

Modo de coordenação	vas N_3	vs N_3	δN_3
N_3^- livre	2041	1344	645
N-Terminal	2050-2010	1304-1285	590-570
Ponte (end-on)	2080-2050	1290-1200	570-550
Ponte (end-to-end)	2100-2080	1290-1200	570-550

Fonte: do autor.

O ligante *dmba* se coordena ao centro metálico de forma bidentada, formando um ciclopaladato e os ligantes haletos, pseudo-haletos e tiadiazol se coordenam de forma monodentada, não sendo possível identificar apenas pela espectroscopia na região do IV se o ligante *dtz* se coordena *cis* ou *trans* ao anel aromático do ligante *dmba*. Para isso tem-se como perspectiva futura empregar a técnica de difração Raio-X de monocristal.

De acordo com a classificação de ácidos e bases proposta por Pearson, o íon Pd^{2+} é classificado como um ácido macio. Por esse fator, as reações de substituição foram favorecidas, pois todos os substituintes utilizados (Br^- , I^- e N_3^-) apresentam maciez maior que a do íon Cl^- , por apresentarem uma maior polarizabilidade (HUHEEY, 1975). Essa informação pode ser constatada pela Tabela 4.

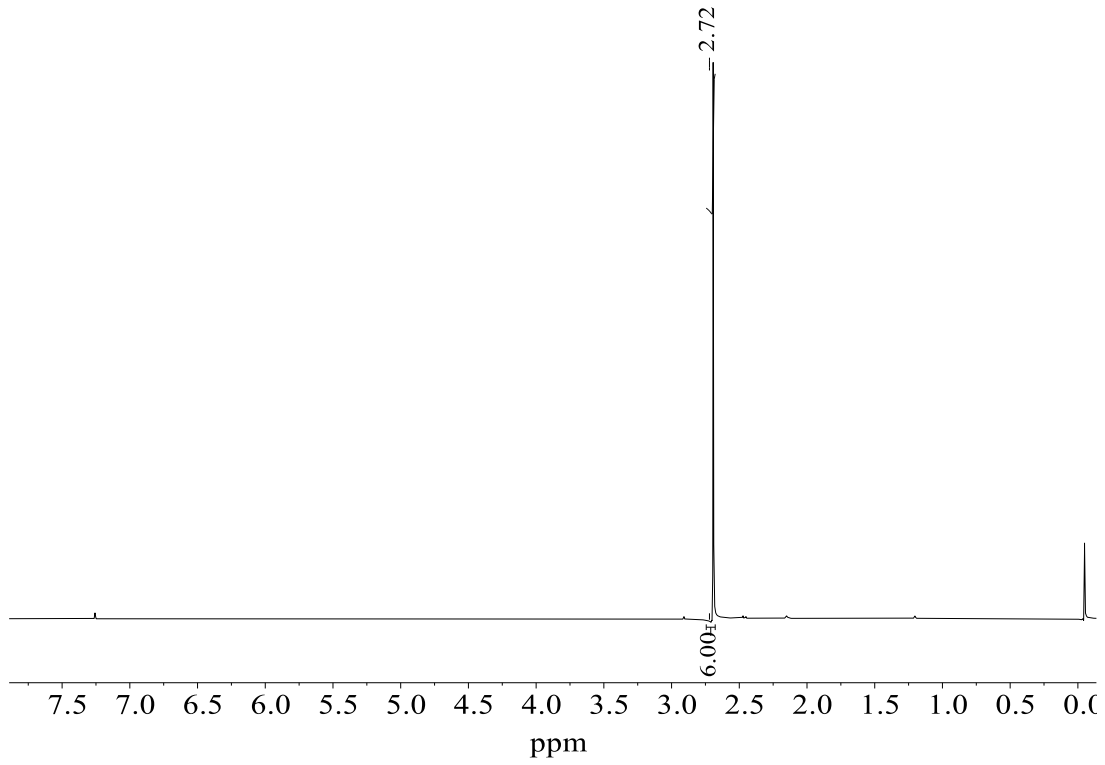
Tabela 4 - Classificação de alguns ácidos e bases de acordo com a teoria de Pearson

	Bases	Ácidos
Duros	NH ₃ , RNH ₂ , N ₂ H ₄ , H ₂ O, OH ⁻ , O ²⁻ , ROH, RO ⁻ , R ₂ O, CH ₃ COO ⁻ , CO ₃ ²⁻ , NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ , ClO ₄ ⁻ , F ⁻ , Cl ⁻	Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , H ⁺ , Rb ⁺ , Be ⁺ , Be(CH) ₃ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Sn ²⁺ , La ³⁺ , Ce ⁴⁺ , Gd ³⁺ , Lu ³⁺ , U ⁴⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺ , Al ³⁺ , Ga ³⁺ , In ³⁺ , Sc ³⁺ , Cr ⁶⁺ , Fe ³⁺ , Co ³⁺ , Th ⁴⁺ , Pu ⁴⁺ , Ti ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , CO ₂ , NC ⁺
Macios	I ⁻ , HR ⁻ , C ₂ H ₄ , C ₆ H ₆ , CN ⁻ , CO, RNC, RSH, R ₂ S, [RS] ⁻ , [SCN] ⁻ , R ₃ P, (RO) ₃ P, R ₃ As, R ₃ Sb, alcenos, arenos	Fe ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Rh ³⁺ , Ir ³⁺ , Ru ³⁺ , Os ²⁺ , GaH ₃ , R ₃ C ⁺ , Sn ²⁺ , Pb ²⁺ , NO ⁺ , Sb ³⁺ , Bi ³⁺ , SO ₂
Intermediários	Br ⁻ , N ₃ ⁻ , N ₂ , py, NCS ⁻ , ArNH ₂ , NO ₂ ⁻ , NCO ⁻ , SO ₃ ²⁻	Pd ²⁺ , Pt ²⁺ , Pt ⁴⁺ , Fe ²⁺ , Cd ²⁺ , Ni ²⁺ , Hg ⁺ , Hg ²⁺ , CH ₃ Hg ⁺ , BH ₃ , Tl ⁺ , Cu ⁺ , Ag ⁺ , Au ⁺ , Os ²⁺ , Ru ³⁺ , Rh ³⁺ , Ir ³⁺ , átomos metálicos, metais volumosos

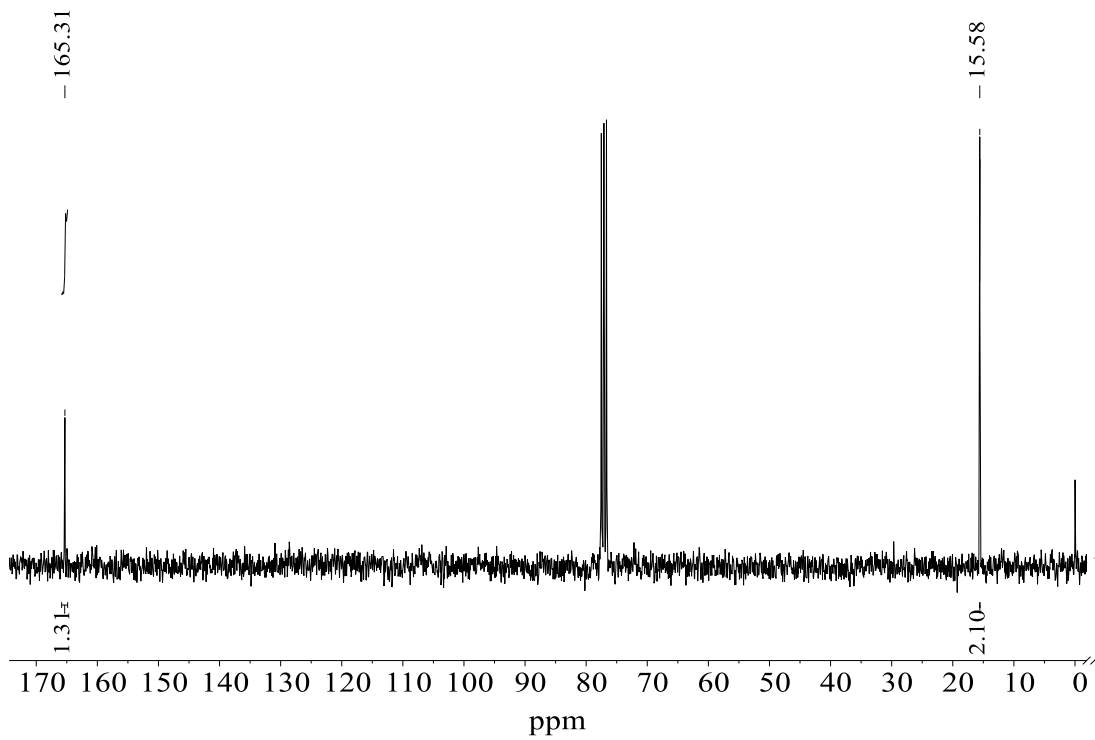
Fonte: HOUSECROFT; SHARPE, 2005.

5.3 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C do composto 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol Figura 11 e 12, e compostos do tipo [Pd(dmba)X(dtz)], sendo X haleto ou pseudohaleto, apresentados nas Figuras 13 à 20 constituindo seus deslocamentos químicos e suas respectivas atribuições organizadas na tabela 5 e 6. Nas referidas tabelas estão expressas o deslocamento químico de acordo com a estrutura proposta para os compostos. Todos os deslocamentos químicos apresentados são dados em δ(ppm). Verificou-se sinais atribuídos ao ligante dmba, e também, a presença de sinais de ¹H e ¹³C referente ao ligante 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol coordenado.

Figura 11 - Espectro de RMN de ^1H 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol, em CDCl_3 .

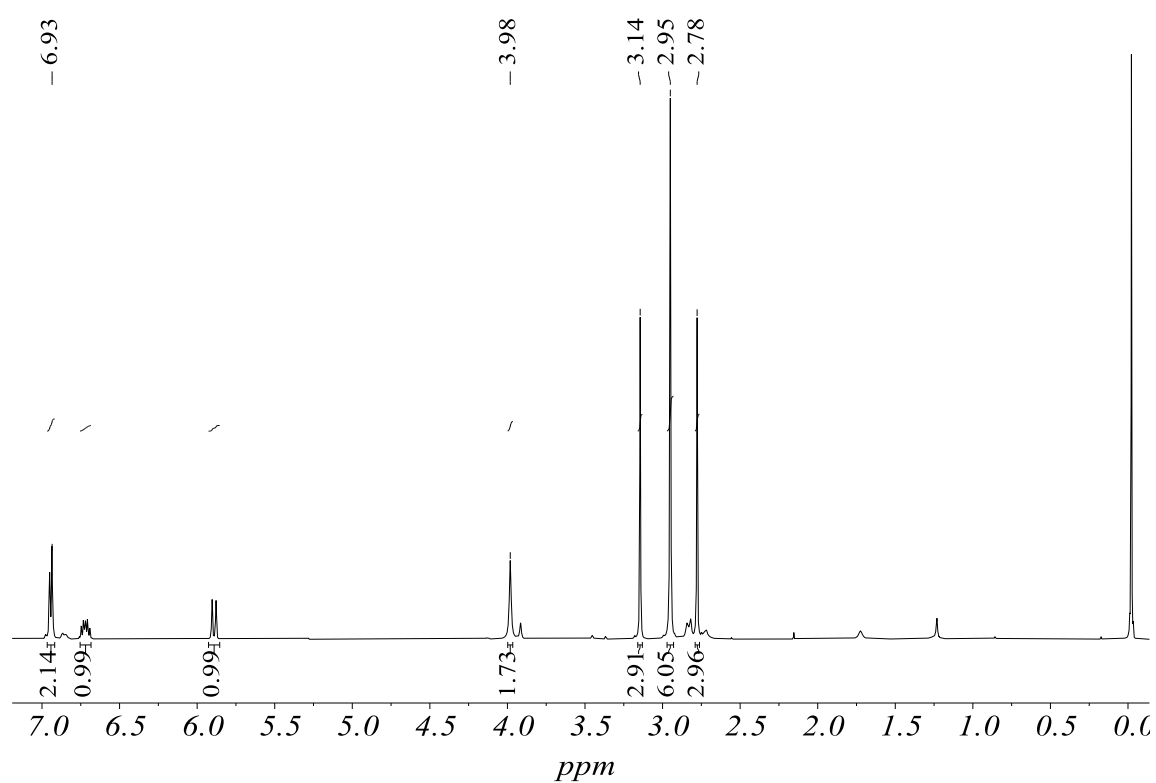
Fonte: do autor.

Figura 12 - Espectro de RMN de ^{13}C de 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol, em CDCl_3 .

Fonte: do autor.

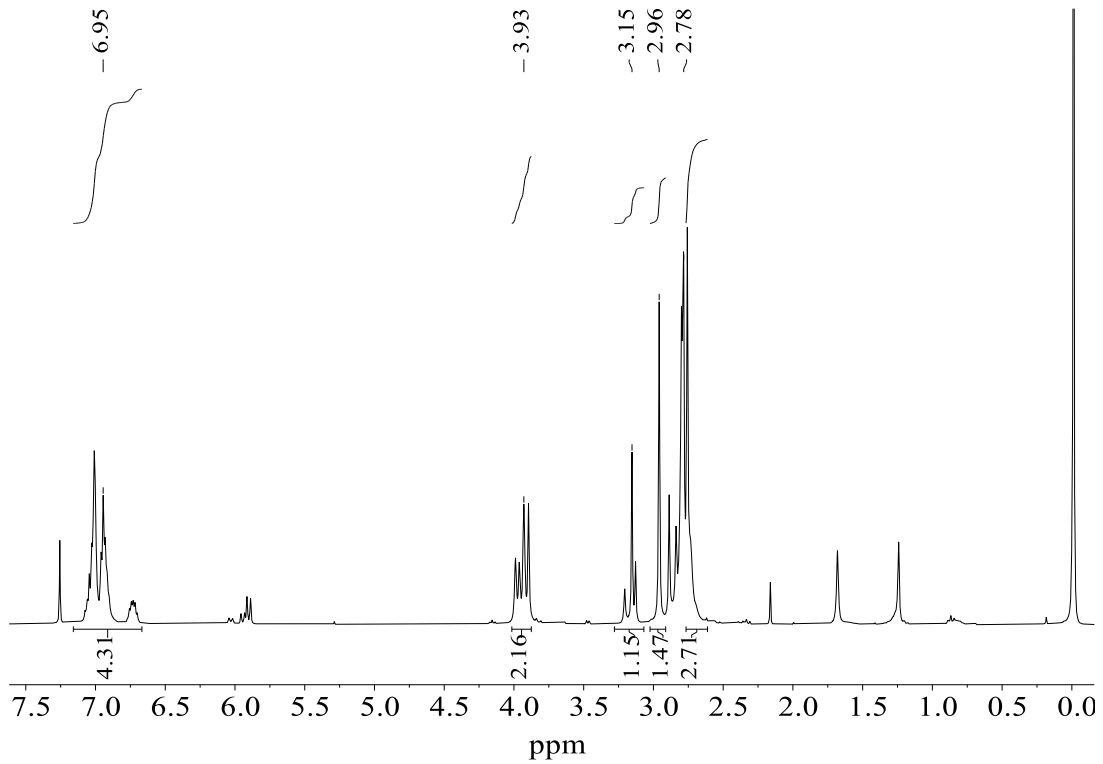
O espectro RMN ^1H (CDCl_3) do composto dtz Figura 16, apresenta um único singlete $\delta(\text{ppm})$ em 2,69, que pode ser atribuído a duas metilas, o deslocamento do sinal das metilas pode estar associado a uma menor desblindagem causada possivelmente pela elevada eletronegatividade do anel tiadiazólico. Em relação ao espectro RMN de ^{13}C são observados dois sinais $\delta(\text{ppm})$, um em 15,59 relacionado as duas metilas e outro em 165 referindo-se aos dois carbonos pertencentes aos heteroanel.

Figura 13 - Espectro de RMN de ^1H do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .



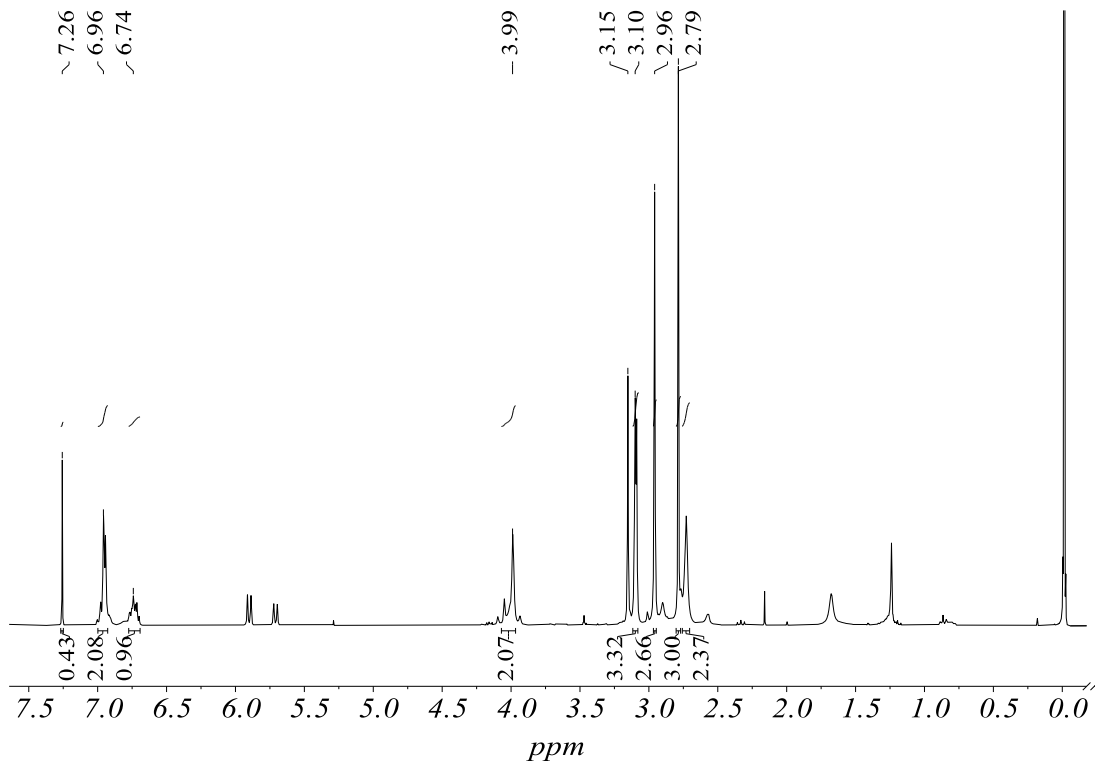
Fonte: do autor.

Figura 14 - Espectro de RMN de ^1H do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .

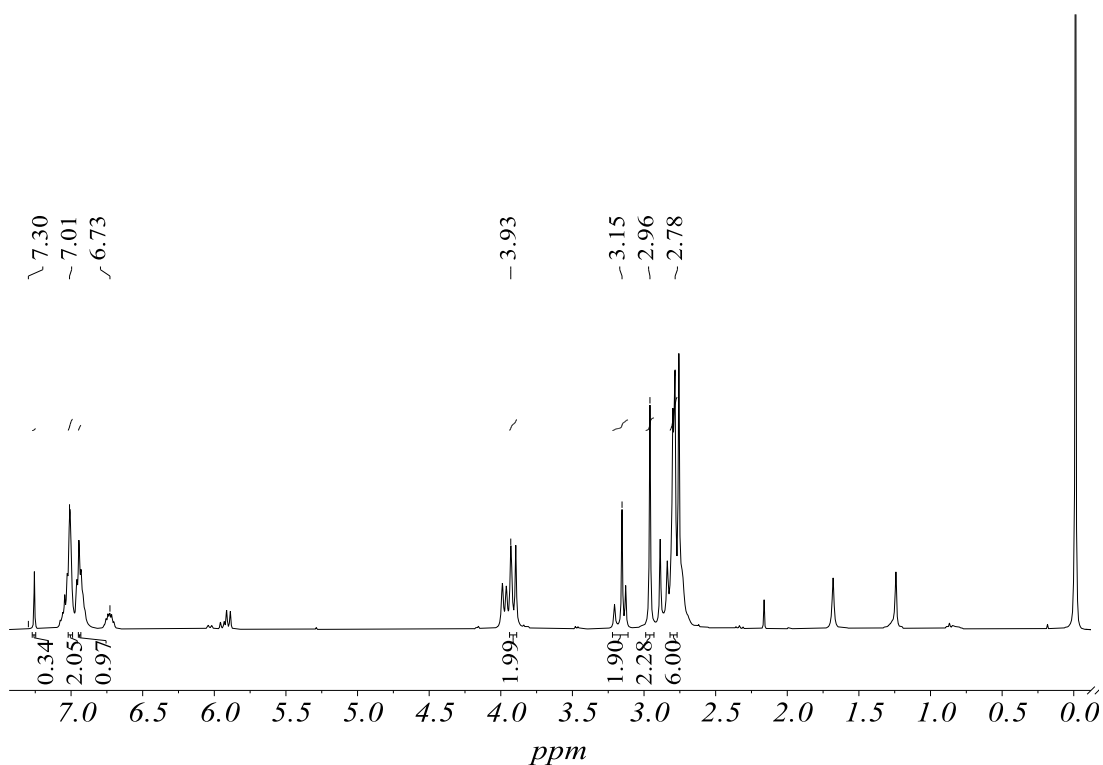


Fonte: do autor.

Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .



Fonte: do autor.

Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{N}_3(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .

Fonte: do autor.

Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H (δ) para os hidrogênios dos complexos da série $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$, (CDCl_3).

Composto	CH_3	$[-\text{N}(\text{CH}_3)_2]$	$(-\text{N}-\text{CH}_2-)$	Aromáticos
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$	2,78 (3) 3,14 (3)	2,95 (6)	3,93 (2)	5,80-6,95 (5)
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$	2,78 (3) 3,15 (3)	2,96 (6)	3,93 (2)	5,90-7,20 (5)
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$	2,79 (3) 3,15 (3)	2,96-3,10 (6)	3,99 (2)	5,90-7,25 (5)
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{N}_3(\text{dtz})]$	2,96-2 (3) 3,15 (3)	2,78 (6)	3,93 (2)	5,9-7,25 (5)

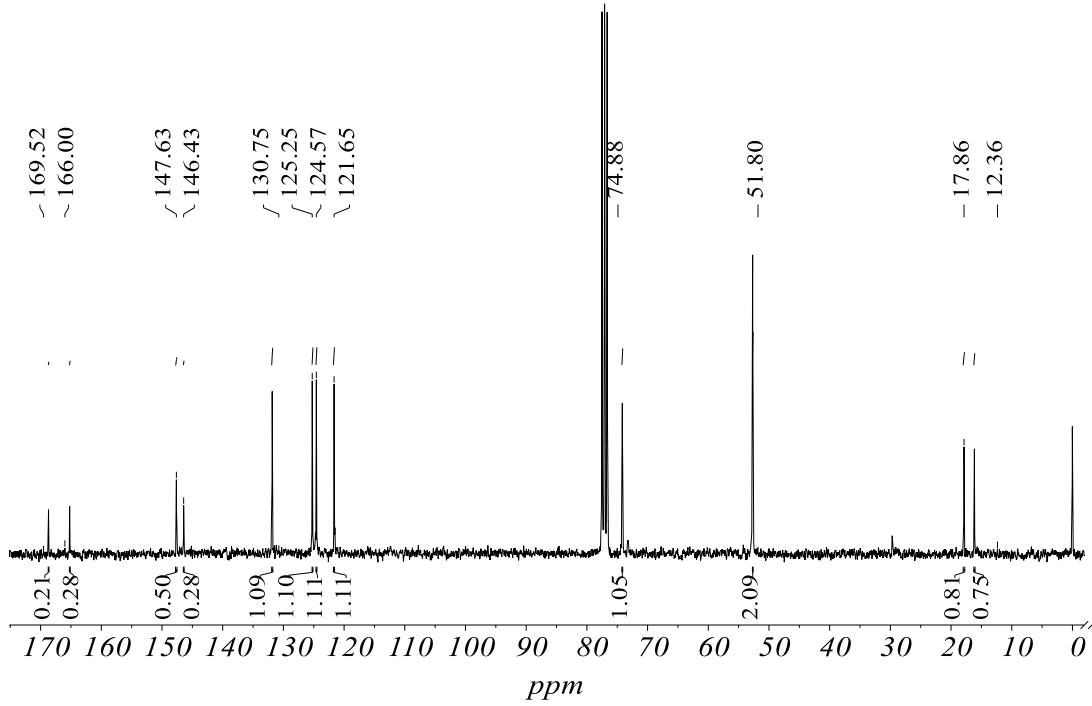
Dados obtidos na literatura apresentam que o RMN de $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, da *N,N*-dimetilbenzilamina livre apresenta dois singletos em $\delta(\text{ppm})$ 3,32 referente a $(-\text{N}-\text{CH}_2-)$;

2,14 associado a (-N-CH₃) e um conjunto de sinais referentes aos prótons aromáticos situados entre $\delta=7,14$ e $\delta=7,22$. Em relação ao espectro de RMN de ¹³C(CDCl₃), são observados os sinais δ (ppm): 138,51 atribuído a (-C-CH₂-N-), um conjunto de sinais entre 126 a 129 atribuídos a carbonos aromáticos e 63,9 (-N-CH₂-) e 44,7 [-N-(CH₃)₂].

Nos espectros de RMN ¹H(CDCl₃) dos complexos do tipo [Pd(dmba)(X)dtz] é possível observar sinais δ (ppm) Em aproximadamente 2,75 e 3,15, na qual seu deslocamento indica a presença de dois grupos metilas, referindo-se presença do ligante tiadiazol, uma vez que, cada metila está em um ambiente químico diferente, sendo uma mais próxima a ligação Pd-tiadiazol. O sinal na região de 2,78 em [Pd(dmba)N₃(dtz)] e 2,96 nos demais complexos também indicam a presença de duas metilas, referindo-se ao ligante dmba. Os dados de integração dos picos corroboram para tal afirmação. Observando o espectro do complexo [Pd(dmba)N₃(dtz)] tanto os sinais referentes as metilas do tiadiazol e *N,N*- dimetilbenzelamina se desdobraram em uma serie de dubletos, estando restrito nas mesmas faixas que os demais. Nos espectros dos complexos é observado um sinal entre 3,93- 3,98 indicativo dos hidrogênios da ligação N-CH₂-Ar. Entre 5,9-7,25 são observados uma série de sinais relativos aos hidrogênios do anel aromático do ligante dmba, sendo os proximos a 5,9 de baixa intensidade. Constata-se que houve um deslocamento ou desdobramento dos sinais dos ligantes livres quando comparados com os complexos finais, indicando mudanças na blindagem após a coordenação ao íon paládio deslocando para campos mais baixos, tais mudanças apresentam-se de forma mais expressivas nos complexos contendo o pseudohaletos N₃.

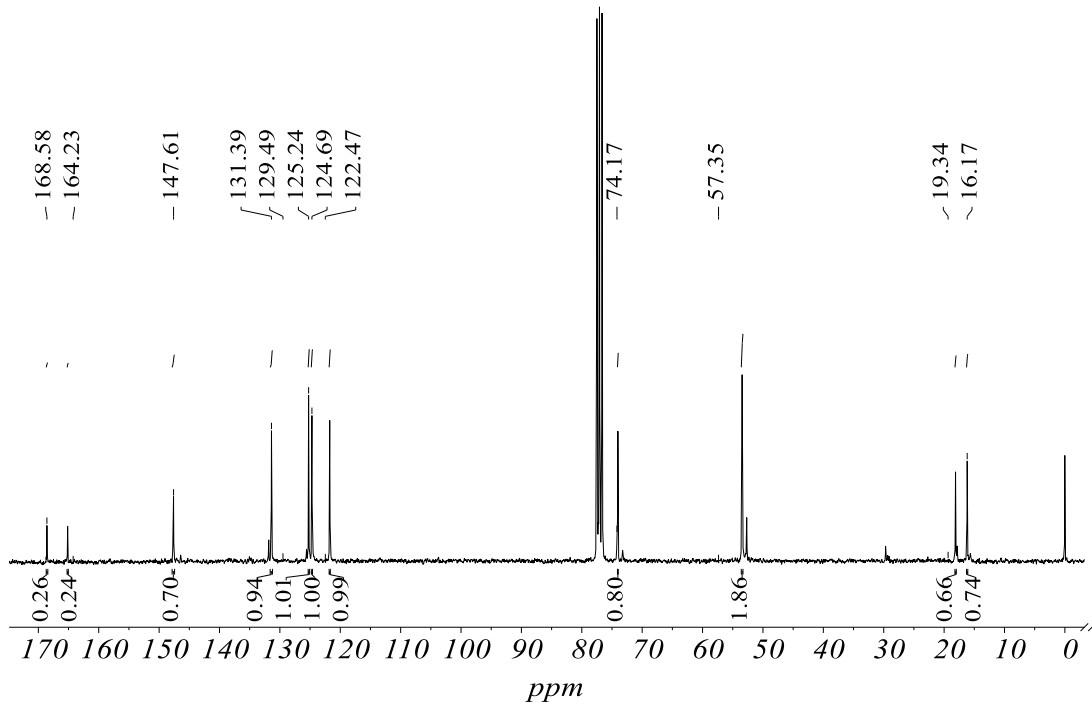
As figuras abaixo são referentes aos espectros de RMN de ¹³C dos complexos do tipo [Pd(dmba)X(dtz)] feito em CDCl₃. A tabela expressando os resultados obtidos são expressos em na Tabela 6.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .



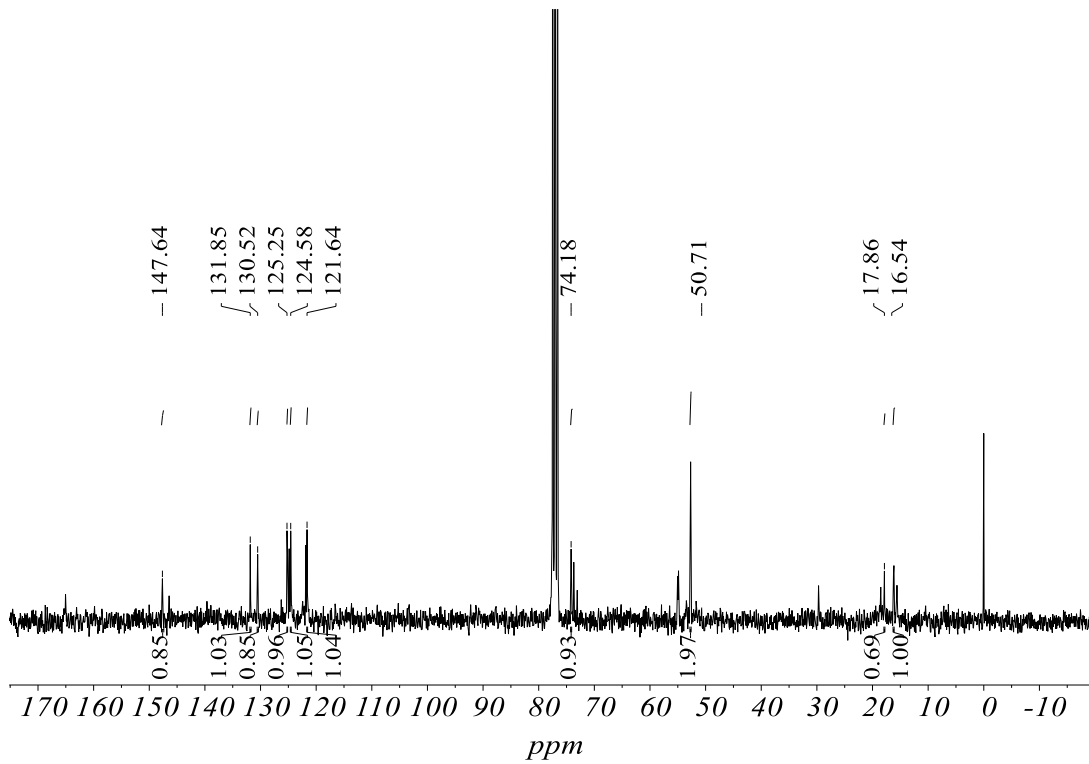
Fonte: do autor.

Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .



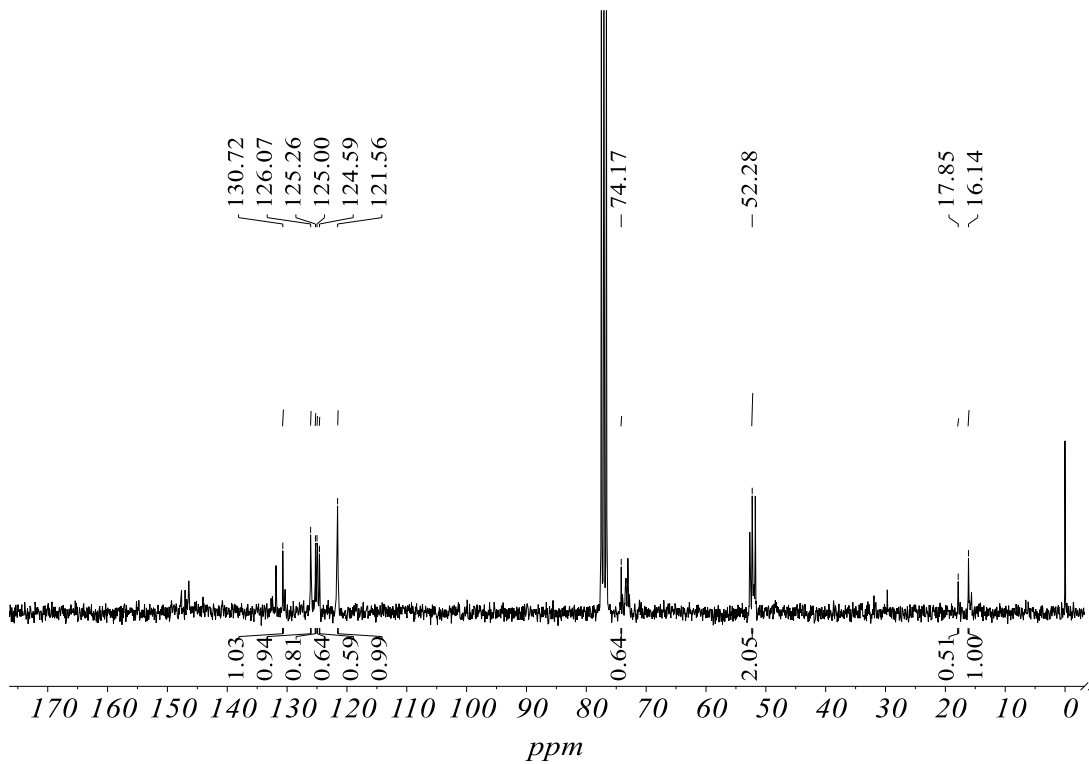
Fonte: do autor.

Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .



Fonte: do autor.

Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C do $[\text{Pd}(\text{dmaba})\text{N}_3(\text{dtz})]$, em CDCl_3 .



Fonte: do autor.

Tabela 2 - Dados de RMN de ^{13}C (δ) para os carbonos dos complexos da série $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$, (CDCl_3).

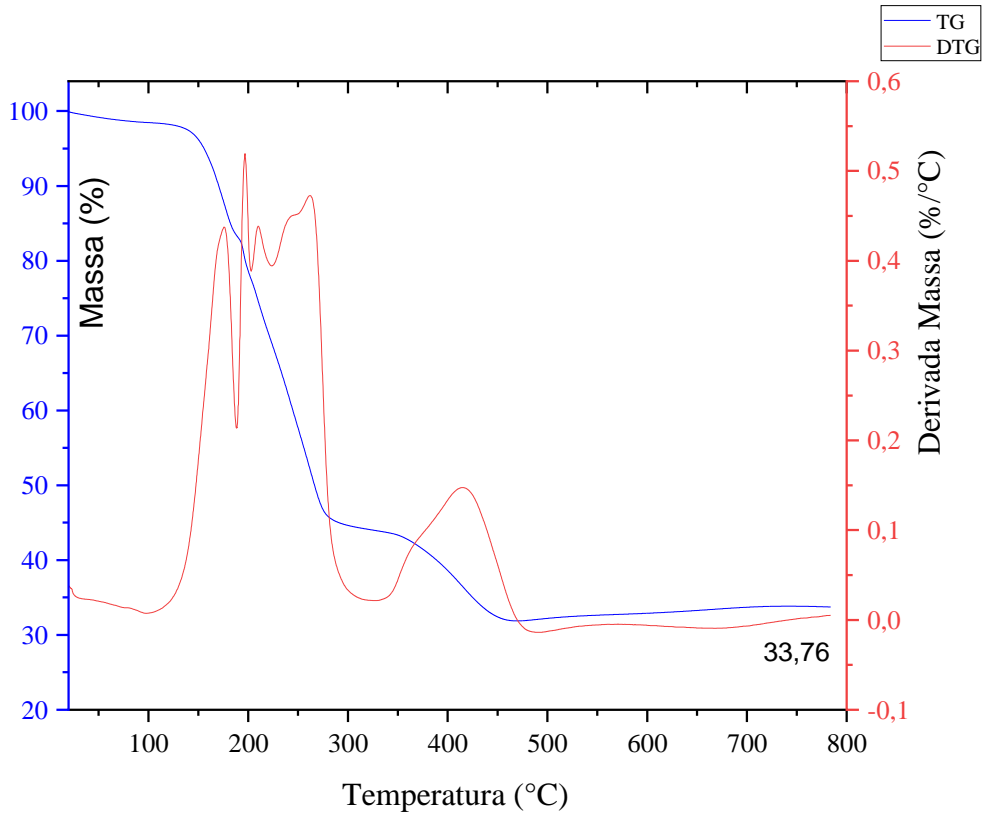
Composto	CH_3	$[-\text{N}(\text{CH}_3)_2]$	$(-\text{N}-\text{CH}_2-)$	Aromáticos	$\text{C}=\text{N}$
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$	53	15-19	74	121-147	164-169
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$	54	16-17	74	121-149	164-168
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$	52	16-18	74	121-147	----
$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{N}_3(\text{dtz})]$	52	17-18	73	121-146	----

Nos espectros RMN $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$ relativos aos complexos há um deslocamento e um desdobramento dos sinais quando comparados com os ligantes livres. Sendo os sinais $\delta(\text{ppm})$ próximos a 16 e 18 relacionados a CH_3 do ligante dtz, entre 52-53 metilas, 74 CH_2 , 121- 131 ao anel aos referentes ao ligante dmba. Em 165-168 há dois sinais referentes a $\text{C}=\text{N}$ do anel tiadiazol. O composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)\text{dtz}]$ bem como $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$ não apresenta os sinais em 165-168 característico da ligação $\text{C}=\text{N}$ do ligante dtz, este fato pode estar associado a baixa intensidade de sinais de carbonos quaternários. O desdobramento desses sinais pode ser um indicativo da coordenação do ligante dtz através do átomo de nitrogênio, como é indicado pela literatura.

5.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG-DTG)

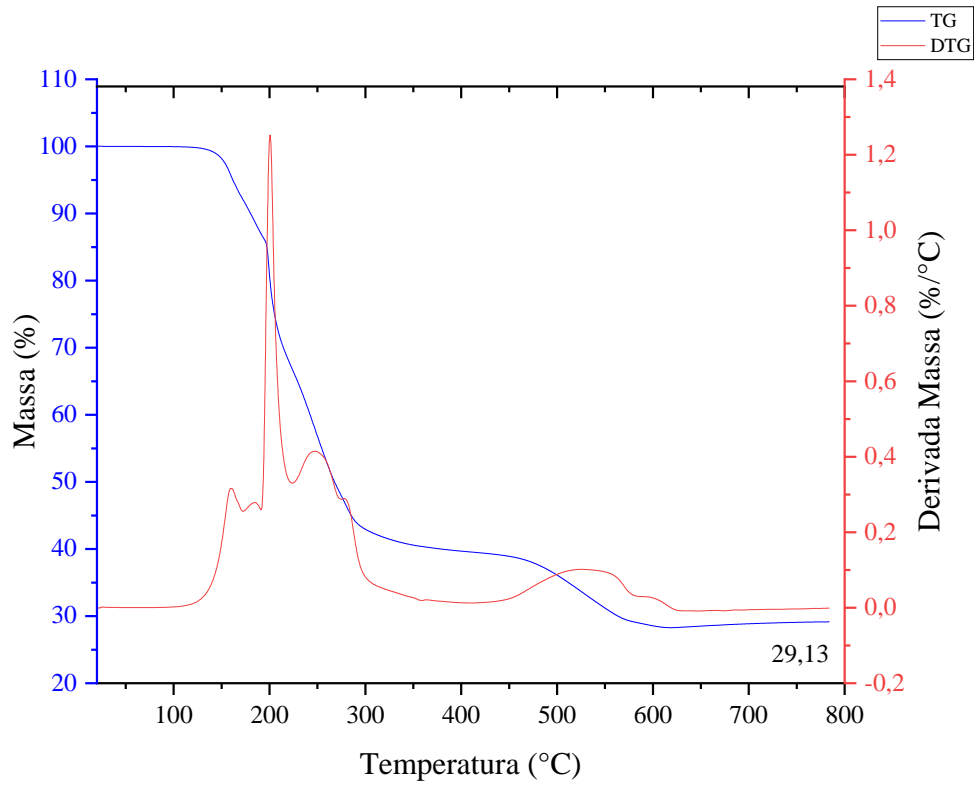
A análise termogravimétrica é uma técnica que pode ser empregada no estudo de complexos organometálicos, auxiliando na elucidação e, também, no estudo a influência dos ligantes nas temperaturas iniciais de decomposição, e também os estágios na qual ocorrem. As etapas, bem como as porcentagens de perda de massa dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$ em atmosfera de ar sintético em rampa de $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ encontram-se expressas nas Figura 23 à Figura 25.

Figura 21 - Curva TG-DTG de [Pd(dmba)Cl(dtz)] em atmosfera de ar sintético



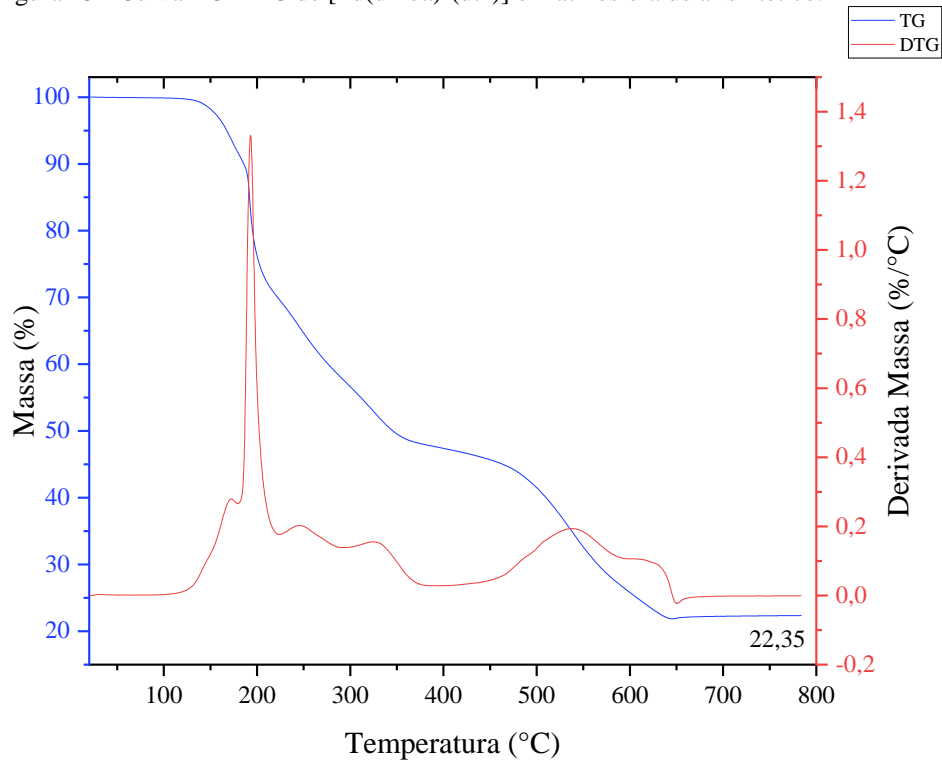
Fonte: do autor.

Figura 22 - Curva TG-DTG de [Pd(dmba)Br(dtz)] em atmosfera de ar sintético.



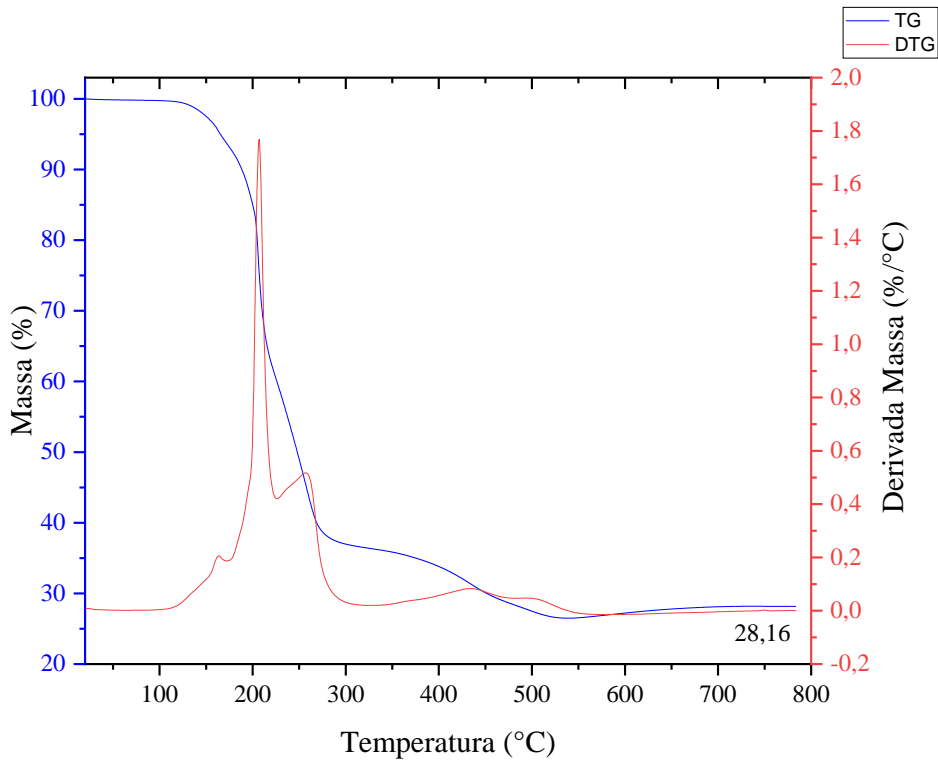
Fonte: do autor.

Figura 23 - Curva TG-DTG de [Pd(dmba)I(dtz)] em atmosfera de ar sintético.



Fonte: do autor.

Figura 24 - Curva TG-DTG de [Pd(dmba)N₃(dtz)] em atmosfera de ar sintético.



Fonte: do autor.

Ao analisar as curvas de decomposição térmica dos compostos sintetizados é possível inferir que os complexos sintetizados possuíam em suas estruturas uma pequena parte de solvente, evidenciado pela pequena perda de massa não estequiométrica em temperaturas próximas a 100 °C. Em seguida o ligante *dmba* se decompõe de forma distintas entre os complexos, podendo ter 2 ou mais etapas de decomposição. Uma análise utilizando uma razão de aquecimento menor poderia proporcionar uma melhor separação dos eventos de decomposição. Após a decomposição do ligante *dmba* o ligante *dtz* se decompõe, seguido pelo ligante haleto ou pseudo-haleto. Observa-se um ligeiro ganho de massa referindo-se a oxidação do íon paládio em PdO, que ocorre a partir de 500 °C.

As curvas TG-DTG apresentam algumas semelhanças, ambas apresentam picos de decomposição nas suas primeiras etapas, sendo relacionada com a decomposição dos ligantes *dmba* e *dtz*, seguido por um pico endotérmico relacionado com a formação de óxido de Paládio (PdO) corroborando com resultados apresentados por (DE ALMEIDA, E. T. *et al.*, 2005). O composto contendo o ligante tiadiazol apresenta uma etapa a mais de decomposição em 522,30 °C, quando comparado com os precursores. A primeira decomposição pode ser associada a perda de solventes residuais e hidratação, sendo as duas etapas seguintes no caso do precursor, e 3 etapas no composto final associado a decomposição dos ligantes tendo como produto o resíduo PdO. O pico endotérmico nas curvas DTA corrobora com esta afirmação. O teor de óxido de paládio teórico e experimental possuem diferenças em torno de 7%.

5.5 ENSAIO BIOLÓGICO

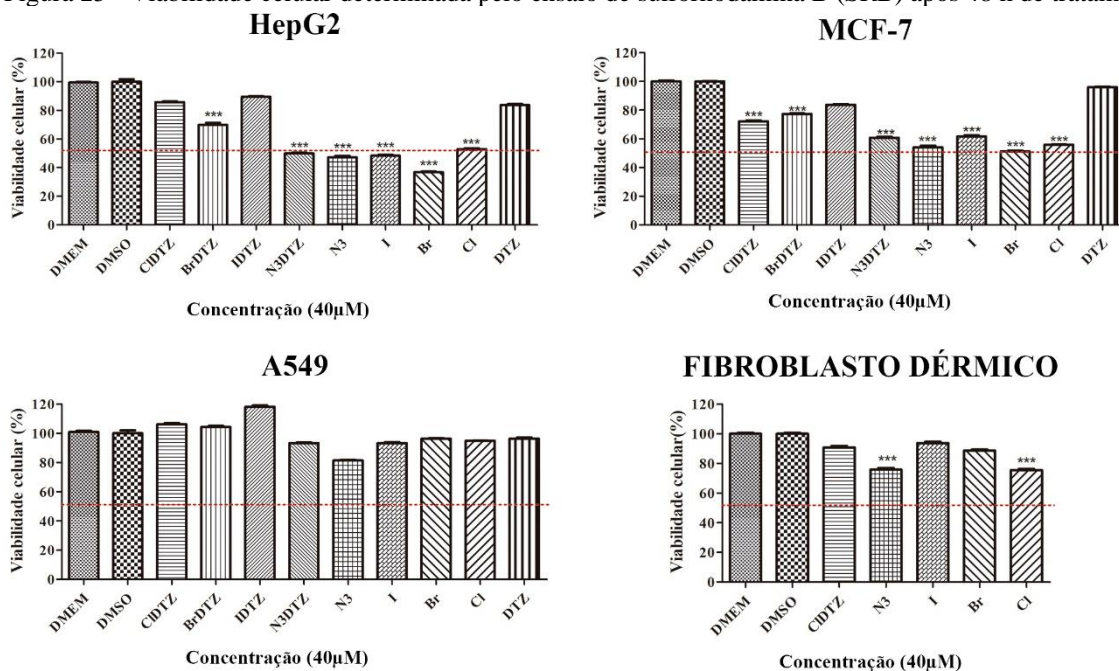
A viabilidade celular foi determinada nas linhagens de células derivadas de câncer de pulmão de células não pequenas (A549), câncer de mama estrogênio-positivo (MCF-7), carcinoma hepatocelular (HepG2). Fibroblastos derivados de pele normal (FB1) foram usados como modelo de célula não tumoral. Os compostos foram testados na concentração de 40 µmol L⁻¹ por 48 h. As taxas de viabilidade nas culturas HepG2 tratadas com [Pd(*dmba*)N₃(*dtz*)], [Pd(*dmba*)µN₃]₂, [Pd(*dmba*)µCl]₂, e [Pd(*dmba*)µBr]₂ [Pd(*dmba*)µI]₂ foram ao redor de 50% (Figura 1), enquanto nas culturas tratadas com [Pd(*dmba*)Br(*dtz*)], foi observado taxa de viabilidade ao redor de 70%. Nas culturas MCF-7, as taxas de viabilidade ficaram entre 50 e 75% nas culturas tratadas com [Pd(*dmba*)Br(*dtz*)], [Pd(*dmba*)N₃(*dtz*)], [Pd(*dmba*)Cl(*dtz*)], [Pd(*dmba*)µN₃]₂, [Pd(*dmba*)µCl]₂, e [Pd(*dmba*)µBr]₂ e [Pd(*dmba*)µI]₂ (Figura 28). Os dados de viabilidade mostraram que a linhagem HepG2 foi mais sensível em relação a linhagem MCF-7 às substâncias avaliadas. A linhagem A549 mostrou-se resistente, uma vez que redução

significativa na viabilidade não foi observada em culturas tratadas (Figura 28). As substâncias ativas nas linhagens HepG2 e MCF-7 foram testadas em culturas primárias de fibroblastos dérmicos. $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{N}_3]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Cl}]_2$ reduziram a viabilidade de fibroblastos em cerca de 15%, para ambas substâncias. As demais substâncias não tiveram efeito citotóxico sobre fibroblastos (Figura 30). Considerando os resultados de viabilidade, ensaios adicionais foram realizados para melhor caracterizar os efeitos de $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ sobre o comportamento proliferativo de células HepG2.

Os ensaios de capacidade clonogênica mostraram que as substâncias $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ inibem drasticamente a capacidade de células HepG2 em formar colônias. Houve redução significativa na frequência de colônias nas amostras tratadas com ambas as substâncias (40 μM) em relação aos grupos controles (Figura 28).

Análise de progressão do ciclo celular também foi realizada para avaliar se $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ alteram a dinâmica de progressão de células HepG2. As culturas foram tratadas com as substâncias nas concentrações de 20 e 40 μM e os dados mostraram aumento significativo da população G2/M nas amostras tratadas com $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ (20 e 40 μM) e redução das populações G0/G1 ($[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$, 40 μM , e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$, 20 e 40 μM) e S ($[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ a 40 μM) em relação às amostras controle. No entanto, diferenças significativas na frequência de células em Sub-G1 (células mortas) não foram observadas (Figura 30). Os dados indicam que:

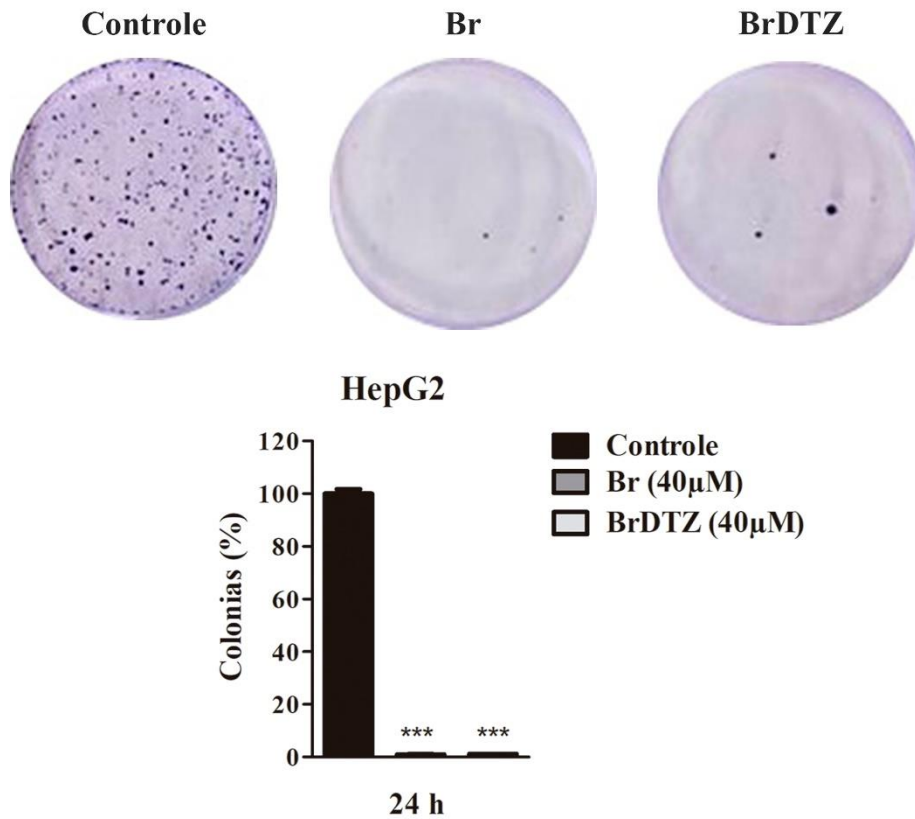
Figura 25 - Viabilidade celular determinada pelo ensaio de sulforhodamina B (SRB) após 48 h de tratamento



Fonte: do autor.

As culturas foram tratadas com as diferentes substâncias na concentração de $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$. ¹. *** $p < 0.001$ e em relação ao grupo DMSO segundo ANOVA seguida de pós-teste de Dunnet. DMSO foi usado como controle negativo.

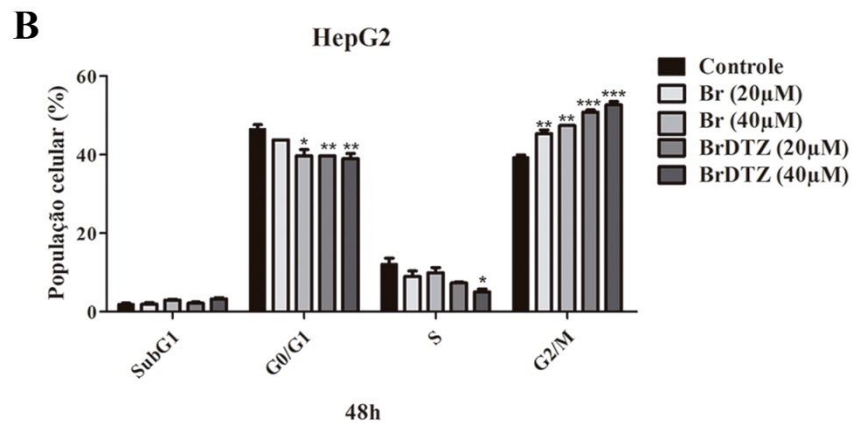
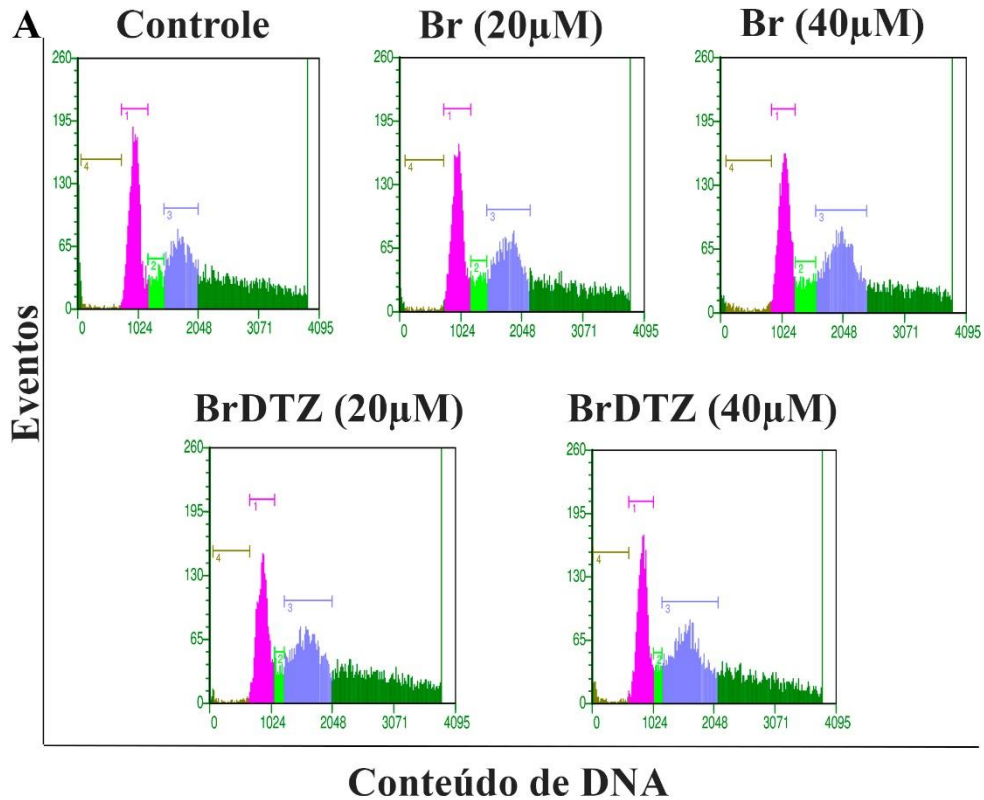
Figura 26 - Imagens ilustrativas (painel superior) e análise do ensaio clonogênico.



Fonte: do autor.

As células HepG2 foram tratadas com as substâncias $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ a $40 \mu\text{M}$ por 24 h e recuperadas em meio fresco por mais 15 dias. *** $p < 0,001$ de acordo com o teste *t-student*.

Figura 27 - (A e B) Histogramas representativos obtidos por citometria de fluxo e análise do ciclo celular.



Fonte: do autor.

As culturas de HepG2 foram tratadas por 48 h com os compostos Br e BrDTZ a 20 e 40 µM. Sub-G1 (marrom), G0/G1 (rosa), S (verde), G2/M (azul). A população hipertetraplóide (verde escuro) não foi incluída na análise. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ de acordo com ANOVA seguido por pós-teste de Dunnet.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos é possível identificar a formação de novos complexos mononucleares a partir da substituição regioespecífica do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Cl}]_2$ por haletos e pseudohaletos, e pela clivagem promovida pela coordenação do composto 2,5-dimetil-1,3,4-tiadiazol.

Houve a formação de um composto monomero ciclometalado, uma vez que o ligante dmba continuou coordenado de forma quelata ao íon Paládio, e o composto dtz se coordenou substituindo um dos ligantes haletos antes em ponte. A coordenação do tiadiazol ocorreu através de um átomo de nitrogênio que compõe o heteroanel, possivelmente a coordenação ocorreu desta maneira devido ao impedimento estérico causado pelas metilas ao átomo de enxofre. Tal afirmação é corroborada pelo espectro de infravermelho e pela quebra de simetria observada no RMN de ^1H e ^{13}C . Não houve uma modificação estrutural significativa quando comparados os resultados entre os compostos da série $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{X}(\text{dtz})]$, sendo $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ e N_3 , sendo observado resultados bem similares entre os espectros e curva de decomposição.

Os testes antitumorais frente a células do tipo MCF-7 e HepG2 demonstraram que o emprego de alguns compostos sintetizados como $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$ provocou uma considerável modificação morfológica das células. Os resultados obtidos classificam os compostos como possíveis agentes antitumorais, sendo necessário estudos mais abrangentes a cerca de mecanismo de ação e interação dos mesmos com DNA

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. E.; GUERRA, P. P.; SILVA, E. W. Metais do grupo da platina: história, propriedades e aplicações. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 119, p. 27–33, 2010.
- AMIR, M. K. *et al.* Anticancer activity, DNA-binding and DNA-denaturing aptitude of palladium(II) dithiocarbamates. **Inorganica Chimica Acta**, v.451, p. 31-40, June, 2016.
- AZEVEDO-BARBOSA, H. *et al.* Phenylpropanoid-based sulfonamide promotes cyclin D1 and cyclin E down-regulation and induces cell cycle arrest at G1/S transition in estrogen positive MCF-7 cell line. **Toxicology in Vitro**, v. 59, p. 150–160, Sept. 2019.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. D. P.; BARREIRO, E. J. Medicinal bioinorganic chemistry. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2062-2067, 2007.
- BRAGA, A. L.; LÜDTKE, D. S.; ALBERTO, E. E. Chalcogen-containing oxazolines in the palladium-catalyzed asymmetric allylic alkylation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 1, p. 11–15, 2006.
- CAIRES, A. C. F. *et al.* Synthesis and cytotoxicity of some cyclometallated palladium(II) complexes containing coordinated azide and diphosphines. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 329–334, 1999.
- CAVALCANTE, C. Q. *et al.* Determinação de paládio em amostras biológicas aplicando técnicas analíticas nucleares. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1094–1098, 2008.
- CUNHA, L. C. *et al.* Leishmanicidal activity of ibuprofen and its complexes with Ni(II), Mn(II) and Pd(II). **Inorganic Chemistry Communications**, v. 113, n. 107756, p. 1-5, 2020.
- DASARI, S.; BERNARD TCHOUNWOU, P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**. v. 740, p. 364-378, 2014.
- DE ALMEIDA, E. T. *et al.* Thermal study of cyclopalladated complexes of the type [Pd 2(dmmba)2X2(bpe)]: (X=NO⁻³, Cl⁻, N⁻³, NCO⁻, NCS⁻; bpe=trans-1,2-bis(4-pyridyl)ethylene). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 82, n. 2, p. 361–364, Nov. 2005.
- DE ALMEIDA, V. L. *et al.* Cancer and cell cycle-specific and cell cycle nonspecific anticancer DNA-interactive agents: An introduction. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005.
- DE SOUZA, R. A. *et al.* Antimycobacterial and antitumor activities of Palladium(II) complexes containing isonicotinamide (isn): X-ray structure of trans-[Pd(N₃)₂(isn)₂]. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 4863–4868, Nov. 2010.
- DUPONT, J.; CONSORTI, C. S.; SPENCER, J. The potential of palladacycles: more than just precatalysts. **Chemical Reviews**. v. 105, n. 6, p. 2527-2572, Nov. 2005.

- FABRETTI, A. C. *et al.* Palladium(II) halide complexes with 2,5-dimethyl-, 2-amino-, 2-amino-5-methyl-, 2-ethylamino- and 2-mercapto-5-methyl-1,3,4-thiadiazole. ***Polyhedron***, v. 4, n. 6, p. 989–992, Jan. 1985.
- FIKADU, T. *et al.* A Review on pharmacological activity of some selected transition metal complexes. ***World Journal of PharPharmaceutical Research***, v. 9, p. 100, Nov. 2020.
- FRANCO, L. P. *et al.* Palladium(II) imine ligands cyclometallated complexes with a potential leishmanicidal activity on *Leishmania (L.) amazonensis*. ***Medicinal Chemistry Research***, v. 22, n. 3, p. 1049–1056, 31. Mar. 2013.
- FRANKEN, N. A. P. *et al.* Clonogenic assay of cells in vitro. ***Nature Protocols***, v. 1, n. 5, p. 2315–2319, Dec. 2006.
- GAMBINO, D.; OTERO, L. Design of prospective antiparasitic metal-based compounds including selected organometallic cores. ***Inorganica Chimica Acta***. v. 472, p. 58-75, Mar. 2018
- HOUSECROFT, CATHERINE E. ; SHARPE, A. G. ***Inorganic chemistry***. 4. ed. Edinburgh Gate: Pearson Education, 2012.
- HOWLE, J. A.; GALE, G. R. Cis-dichlorodiammineplatinum (II). ***Biochemical Pharmacology***, v. 19, n. 10, p. 2757–2762, Oct. 1970.
- HUHEEY, J. E. ***Inorganic Chemistry***. 4. ed. New York: Pearson Education, 1975.
- INSTITUTO NACIONAL DO CANCER (BRASIL). ***Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil***. Rio de Janeiro, 2019.
- KUSHEV, D. *et al.* Synthesis, cytotoxicity, antibacterial and antitumor activity of platinum(II) complexes of 3-aminocyclohexanespiro-5-hydantoin. ***Journal of Inorganic Biochemistry***, v. 89, n. 3–4, p. 203–211, Apr. 2002.
- LEMPERS, E. L. M.; REEDIJK, J. Interactions of platinum amine compounds with sulfur-containing biomolecules and dna fragments. ***Advances in Inorganic Chemistry***, v. 37, p. 175–217, 1991.
- LI, Y. *et al.* Thiadiazole: a promising structure in medicinal chemistry. ***ChemMedChem***, v. 8, n. 1, p. 27–41, Jan. 2013.
- MCAULIFFE, C. A.; SHARMA, H. L.; TINKER, N. D. Cancer chemotherapy involving platinum and other platinum group complexes. ***Studies in Inorganic Chemistry***, v. 11, p. 546–593, 1991.
- MEDICI, A. C. Custo do Tratamento do Câncer no Brasil: Como Melhorar o Foco. ***Blog Monitor de Saude***, v. 12, n. 88, 2018.
- MORO, A. C.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R. Cleavage of the dimeric cyclopalladated $[Pd(dmba)(m-X)]_2$ ($dmba = N,N$ -dimethylbenzylamine; $X = Cl, N_3, NCO$) by thiourea. ***Ecletica Quimica***, v. 29, n. 1, p. 57–61, 2004.

NDAGI, U.; MHLONGO, N.; SOLIMAN, M. E. Metal complexes in cancer therapy: an update from drug design perspective. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 11, p.599-616, 2017.

PARSHALL, G. W. Intramolecular aromatic substitution in transition metal complexes. **Accounts of Chemical Research**, v. 3, n. 4, p. 139–144, Apr. 1970.

PLUTÍN, A. M. *et al.* Anti-Myco bacterium tuberculosis activity of platinum(II)/N,N-disubstituted-N'-acyl thiourea complexes. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 63, p. 74–80, Jan. 2016.

ROCHA, C. R. R. *et al.* DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. **Clinics**, v. 73, p. 1-10, 2018.

SCATTOLIN, T. *et al.* Allyl palladium complexes bearing carbohydrate-based N-heterocyclic carbenes: Anticancer agents for selective and potent in vitro cytotoxicity. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 34, n. 10, Oct. 2020.

SHAHEEN, F. *et al.* In vitro assessment of cytotoxicity, anti-inflammatory, antifungal properties and crystal structures of metallacyclic palladium(II) complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 695, n. 3, p. 315–322, Feb. 2010.

TEIXEIRA, L. A. O controle do câncer no Brasil na primeira metade do século XX. **História, Ciências, Saúde Manguinhos**, v. 17, n. suppl 1, p. 13–31, July. 2010.

TEYSSOT, M. L. *et al.* Metal-NHC complexes: A survey of anti-cancer properties. **Dalton Transactions**, v. 0, n. 35, p. 6894–6902, Aug. 2009.

VELÁSQUEZ, A. M. A. *et al.* Efficacy of a binuclear cyclopalladated compound therapy for cutaneous leishmaniasis in the murine model of infection with leishmania amazonensis and its inhibitory effect on topoisomerase 1B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 8, Aug. 2017.

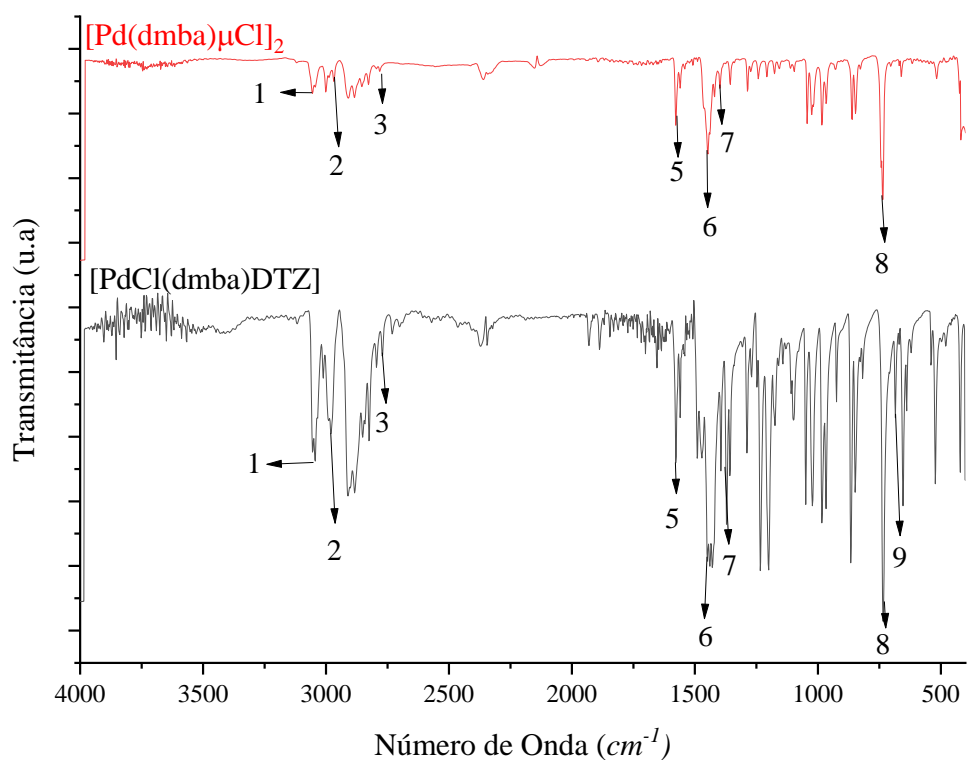
VICHAI, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature Protocols**, v. 1, n. 3, p. 1112–1116, Aug. 2006.

ZALEVSKAYA, O. *et al.* Antimicrobial and antifungal activities of terpene-derived palladium complexes. **Antibiotics**, v. 9, n. 5, p. 1–10, 2020.

ZOU, T. *et al.* Anticancer metal-N-heterocyclic carbene complexes of gold, platinum and palladium. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 43, p. 30-36, Apr. 2018

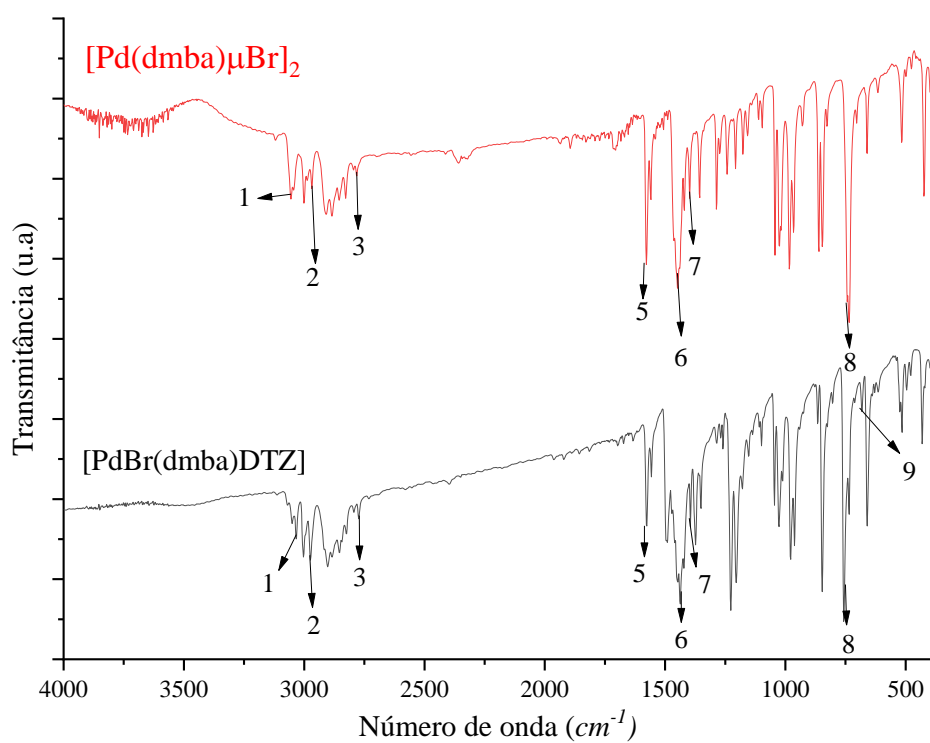
APÊNDICE

Figura 28 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Cl}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$.



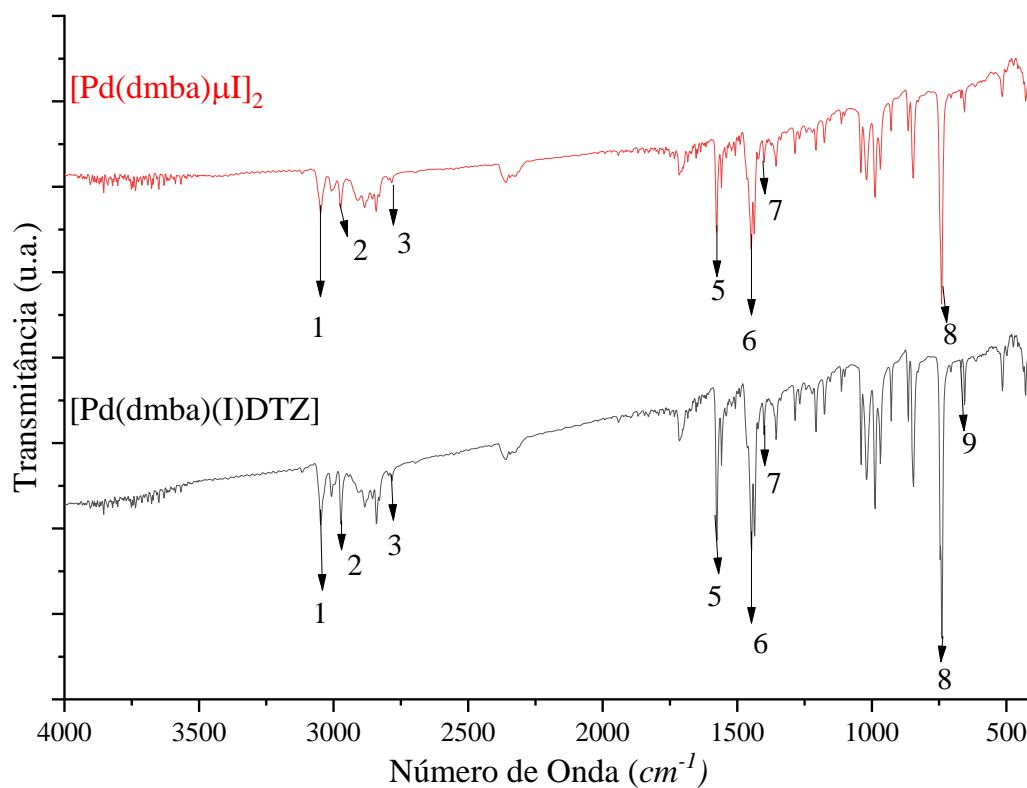
Modos Vibracionais	Composto	
	$[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Cl}]_2$	$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Cl}(\text{dtz})]$
1 $\nu\text{C-H}(\text{ar})$	3055	3055
2 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)$	2960	2980
3 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_2))$	2781	2770
4 $\nu\text{Pd-N}_3$	-	-
5 $\nu\text{C-C}(\text{ar})$	1577	1577
6 δCH_3	1546	1548
7 δCH_2	1398	1394
8 $\delta\text{C-H}(\text{ar})$	736	736
9 $\nu(\text{S-C})$	-	684

Figura 29 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$ e $[\text{PdBr}(\text{dmba})\text{dtz}]$.



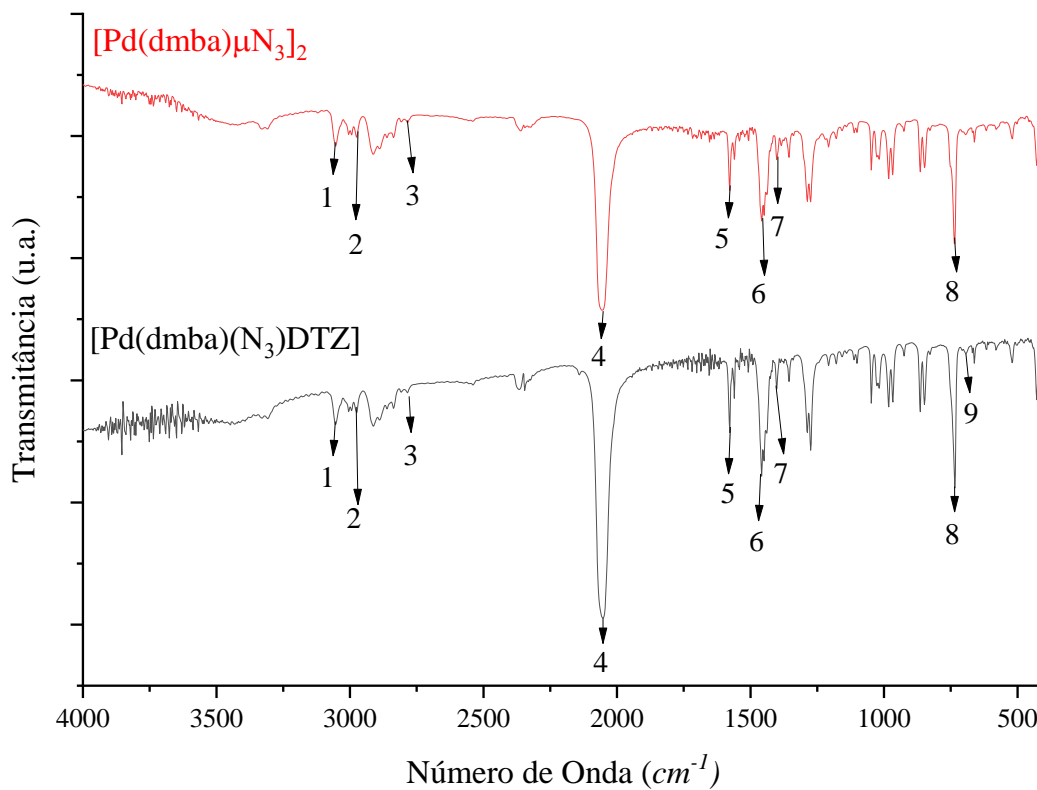
Modos Vibracionais	Composto	
	$[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{Br}]_2$	$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{Br}(\text{dtz})]$
1 $\nu\text{C-H}(\text{ar})$	3055	3032
2 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)$	2968	2972
3 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_2))$	2772	2772
4 $\nu\text{Pd-N}_3$	-	-
5 $\nu\text{C-C}(\text{ar})$	1575	1573
6 δCH_3	1450	1450
7 δCH_2	1398	1398
8 $\delta\text{C-H}(\text{ar})$	752	752
9 $\nu(\text{S-C})$	-	689

Figura 30 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{I}]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$.



Modos Vibracionais	Composto	
	$[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{I}]_2$	$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{I}(\text{dtz})]$
1 $\nu\text{C-H}(\text{ar})$	3045	3047
2 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)$	2974	2974
3 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_2))$	2783	2783
4 $\nu_{\text{ass}}\text{Pd-N}_3$	-	-
5 $\nu\text{C-C}(\text{ar})$	1575	1577
6 δCH_3	1446	1446
7 δCH_2	1400	1400
8 $\delta\text{C-H}(\text{ar})$	742	742
9 $\nu(\text{S-C})$	-	690

Figura 31 - Comparação entre os espectros de infravermelho dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{N}_3]_2$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)\text{dtz}]$.



Modos Vibracionais	Composto	
	$[\text{Pd}(\text{dmba})\mu\text{N}_3]_2$	$[\text{Pd}(\text{dmba})\text{N}_3(\text{dtz})]$
1 $\nu\text{C-H}(\text{ar})$	3051	3059
2 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)$	2977	2979
3 $\nu\text{C-H}(\text{N}(\text{CH}_2))$	2789	2789
4 $\nu\text{Pd-N}_3$	2056	2056
5 $\nu\text{C-C}(\text{ar})$	1577	1577
6 δCH_3	1450	1450
7 δCH_2	1400	1402
8 $\delta\text{C-H}(\text{ar})$	738	738
9 $\nu(\text{S-C})$	-	692