

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

**Walleska Bismaida Zacarias Galvão Barros**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTICONVULSIVANTE DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) DERIVADOS DO  
DIAZEPAM**

**Maceió  
2012**

**WALLESKA BISMAIDA ZACARIAS GALVÃO BARROS**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTICONVULSIVANTE DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) DERIVADOS DO  
DIAZEPAM**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências.

**Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti**

**Maceió  
2012**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

**Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade**

- B277s Barros, Walleska Bismaida Zacarias Galvão.  
Síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade anticonvulsivante de complexos de paládio (II) derivados do diazepam / Walleska Bismaida Zacarias Galvão Barros. – 2012.  
100 f. : il., graf., tabs.
- Orientador: Mario Roberto Meneghetti.  
Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2012.
- Inclui bibliografia.  
Apêndices: f. 91-100.
1. Anticonvulsivantes. 2. Diazepam. 3. Compostos paladaciclos.  
4. Química farmacêutica. I. Título.

CDU: 54:615.213



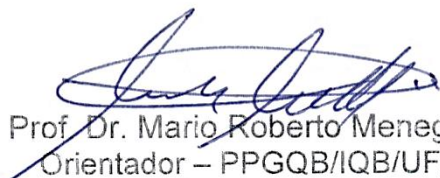
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E  
BIOTECNOLOGIA

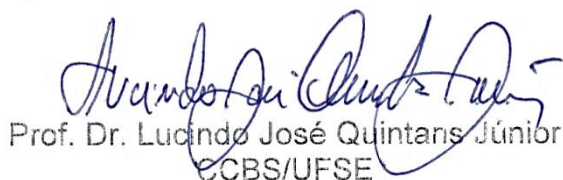


BR 104 Km14, Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins  
57072-970, Maceió-AL, Brasil  
Fone: (82) 3214-1364,  
email: ppgqb.ufal@gmail.com

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Walleska Bismaida Zacarias Galvão Barros**, intitulada: **“Síntese, Caracterização Estrutural e Avaliação da Atividade Anticonvulsivante de Complexos de Paládio (II) Derivados do Diazepam”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 11 de maio de 2012, às 10h, na Sala de Aulas do PPGQB no IQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

  
Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti  
Orientador – PPGQB/IQB/UFAL

  
Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior  
ECBS/UFSE

  
Prof. Dr. José Rui Machado Reys  
ESENFAR/UFAL

  
Prof.ª Dr.ª Lucia Maria Conserva  
PPGQB/IQB/UFAL

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua infinita bondade e por ter abençoado o meu caminho até aqui;

Aos meus pais (Walbert Rommel e Maria Madalena), meus irmãos (Walbeska Betsaida e Willbert Bismarck) e meu namorado (Tiberio Teylon), por todo carinho e pelo incentivo na realização deste mestrado;

Ao Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti, por ter aceitado ser meu orientador e por tudo que me ensinou;

Ao Prof. Dr. José Rui Machado Reys, por ter colaborado com o desenvolvimento deste trabalho e por ter aceitado fazer parte da banca de qualificação e defesa do meu mestrado;

Aos estudantes de iniciação científica Felipe Sabino e Camila Honorato, pela colaboração na parte de síntese dos complexos;

Ao Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior, por abrir as portas do Laboratório de Farmacologia Pré-clínica da Universidade Federal de Sergipe (LAPEC/UFS), possibilitando a realização da avaliação da atividade anticonvulsivante dos complexos que sintetizamos e por ter aceitado fazer parte da banca de defesa do meu mestrado;

À doutoranda Jullyana de Souza Siqueira Quintans e a estudante de iniciação científica Marília Trindade de Santana, componentes do LAPEC/UFS, por terem colaborado com este trabalho ao realizar a avaliação da atividade anticonvulsivante dos complexos;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Valéria Rodrigues dos Santos Malta do Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular (LaboCrMM) do IQB/UFAL, pela realização do teste de difração de raios X de um dos monômeros que sintetizamos;

Ao Prof. Dr. Edson de Souza Bento e aos componentes do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da UFAL, em especial ao Adilson, por contribuírem com a caracterização dos nossos complexos;

À Central Analítica da Universidade de São Paulo e ao Centro de Tecnologia do Nordeste (CETENE), também por contribuírem com a caracterização dos nossos complexos;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Aline Barros Fidelis de Moura e ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, pela colaboração na banca de qualificação do meu mestrado;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucia Maria Conserva, por ter aceitado fazer parte da banca de defesa do meu mestrado;

Ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (PPGQB/IQB/UFAL), pela oportunidade de realização do mestrado;

Aos professores do PPGQB/IQB/UFAL, por contribuírem com minha formação acadêmica;

A todos os componentes do GCaR, em especial, a Ana Soraya, Gabriela Muniz, Rafael Jorge, Jéssica Guedes, Livia Thays, Raquel Meneses, Daví Alexsandro, Sara Figueiredo, Aída Domithilla, Monique Ângelo, Yariadner Brito e Fellipe Pereira, pela ajuda que me forneceram durante o período de realização do mestrado;

Às minhas amigas Kelma Guerra, Patrícia Vasconcelos, Theolyta Araújo e Camila Calado pelo incentivo e carinho;

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Os fármacos anticonvulsivantes atuais apresentam seu uso frequentemente limitado devido aos seus efeitos colaterais; além disso, eles são utilizados de forma não eficaz na profilaxia para o tratamento das convulsões epiléticas. Tais fatos motivaram o desenvolvimento deste trabalho que apresenta como objetivo sintetizar complexos de paládio(II) derivados dos diazepam, um fármaco anticonvulsivante, com a finalidade de obter complexos que sejam mais ativos e menos tóxicos que o ligante de escolha, diazepam. Neste trabalho foram sintetizados cinco complexos de paládio(II) derivados do diazepam a partir de PdCl<sub>2</sub> e Pd(OAc)<sub>2</sub> como fontes de paládio; desses, dois estão na forma dimérica (DIAZPdOAcD, *bis*[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil-κ<sup>2</sup>-C,N}-μ<sub>2</sub>-acetato-paládio(II)]; e DIAZPdClD, *bis*[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil-κ<sup>2</sup>-C,N}-μ<sub>2</sub>-cloropaládio(II)]) e três na forma monomérica (DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>, [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil-κ<sup>2</sup>-C,N}acetatotrifetilfosfinopaládio(II)]; DIAZPdClPPh<sub>3</sub>, [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil-κ<sup>2</sup>-C,N}clorotrifetilfosfinopaládio(II)]; e DIAZPdClPy, [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil-κ<sup>2</sup>-C,N}cloropiridinopaládio (II)]). Todos esses complexos foram caracterizados por técnicas espectrométricas e análise elementar; e o monômero DIAZPdClPy teve sua estrutura química elucidada através de difração de raios X, onde observou-se a geometria quadrada plana do paládio(II) e a ocorrência da ciclopaladação. Os complexos diméricos foram avaliados quanto à atividade anticonvulsivante através de dois tipos de testes *in vivo*, ambos em camundongos, um utilizando pentilenotetrazol e o outro picrotoxina como indutores das convulsões. Os resultados mostraram que os dímeros apresentaram efeitos anticonvulsivantes induzidos provavelmente com envolvimento dos receptores GABA<sub>A</sub>-benzodiazepínicos, sendo que o DIAZPdOAcD apresentou uma maior atividade quando comparado ao DIAZPdClD. Além disso, o DIAZPdOAcD apresentou-se tão efetivo quanto o diazepam no teste utilizando o pentilenotetrazol como indutor das convulsões, mesmo sendo utilizado em doses mais baixas em termos de μmol/kg, apresentando chances elevadas de ser mais potente que o diazepam. No entanto, mais testes precisam ser realizados para uma melhor comparação entre os dímeros e o ligante.

**Palavras-chave:** Química Inorgânica Medicinal, paladaciclos, diazepam, atividade anticonvulsivante.

## ABSTRACT

The current anticonvulsant drugs often have limited use due to its side effects, in addition, they are used in a non-effective prophylaxis for the treatment of epileptic seizures. These facts led to the development of this work has aimed at synthesizing complexes of palladium (II) derived from diazepam, an anticonvulsant drug, in order to obtain complexes that are more active and less toxic than the ligand of choice, diazepam. In this work were synthesized five complexes of diazepam-palladium(II) derivatives from PdCl<sub>2</sub> and Pd(OAc)<sub>2</sub> as palladium source; two of them are in dimeric form (DIAZPdOAcD, *bis*[2-{(7-chloro-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzodiazepine-5-il)phenyl-κ<sup>2</sup>-C,N}-μ<sub>2</sub>-acetato-palladium(II)]; and DIAZPdClD, *bis*[2-{(7-chloro-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzodiazepin-5-il)phenyl-κ<sup>2</sup>-C,N}-μ<sub>2</sub>-chloropalladium(II)]) and three in monomeric form (DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>, [2-{(7-chloro-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzodiazepin-5-il)phenyl-κ<sup>2</sup>-C,N}acetatotriphenylphosphine-palladium(II)]; DIAZPdClPPh<sub>3</sub>, [2-{(7-chloro-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzodiazepin-5-il)phenyl-κ<sup>2</sup>-C,N}chlorotriphenylphosphine-palladium(II)]; and DIAZPdClPy, [2-{(7-chloro-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzodiazepin-5-il)phenyl-κ<sup>2</sup>-C,N}chloropyridinepalladium (II)]). All these complexes were characterized by spectral and elemental analysis; and the monomer DIAZPdClPy had your chemical structure elucidated by X-ray diffraction, where it was observed the square planar geometry of palladium(II) and the occurrence of cyclopalladation. The dimeric complexes were evaluated in relation to anticonvulsant activity through two types of tests *in vivo*, both in mice, using pentylenetetrazole and picrotoxin to induce seizures. The results showed that the dimers presented anticonvulsant effects induced probably with involvement of GABA<sub>A</sub>-benzodiazepines, being the DIAZPdOAcD showed higher activity when compared to DIAZPdClD. Furthermore, the DIAZPdOAcD presented as effective as diazepam in the test using pentylenetetrazol as inducer of seizures, even if used at lower doses in terms of μmol/kg, with high chances to be more potent than diazepam. However, more tests should be performed for a better comparison of the dimer and the binder.

**Keywords:** Medicinal Inorganic Chemistry, palladacycles, diazepam, anticonvulsant activity.



## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 4.1</b> – Síntese do DIAZPdCID.....	49
<b>Esquema 4.2</b> – Síntese do DIAZPdClPy.....	50
<b>Esquema 4.3</b> – Síntese do DIAZPdClPPh <sub>3</sub> .....	51
<b>Esquema 4.4</b> – Síntese do DIAZPdOAcD.....	52
<b>Esquema 4.5</b> – Síntese do DIAZPdOAcPPh <sub>3</sub> .....	53
<b>Esquema 5.1</b> – Mecanismos de ativação C–H.....	58
<b>Esquema 5.2</b> – Conformações cisóide e transóide, obtidas através de cálculo teórico, dos dímeros DIAZPdOAcD e DIAZPdCID.....	63

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> – Estrutura química do diazepam com destaque ao grupo de ligação do paládio.....	19
<b>Figura 1.2</b> – Metalaciclos de 5 membros.....	19
<b>Figura 3.1</b> – Estrutura química de alguns complexos de platina com atividade antitumoral.....	24
<b>Figura 3.2</b> – Estrutura química de alguns metalofármacos.....	26
<b>Figura 3.3</b> – Algumas das áreas da Química Inorgânica Medicinal.....	27
<b>Figura 3.4</b> – Tabela periódica, com destaque para o paládio.....	28
<b>Figura 3.5</b> – Conformações do canal para sódio durante o potencial de ação.....	31
<b>Figura 3.6</b> – Inibição circundante em uma rede neural simplificada.....	32
<b>Figura 3.7</b> – Grupos principais de convulsão.....	33
<b>Figura 3.8</b> – Crise de ausência.....	34
<b>Figura 3.9</b> – Convulsão tônico-clônica.....	35
<b>Figura 3.10</b> – Registros eletroencefalográficos no cérebro normal e apresentando convulsão.....	36
<b>Figura 3.11</b> – Estrutura pentamérica do receptor GABA <sub>A</sub> .....	37
<b>Figura 3.12</b> – Principais sítios de ligação no receptor GABA <sub>A</sub> .....	37
<b>Figura 3.13</b> – Mecanismo de ação dos benzodiazepínicos.....	38
<b>Figura 3.14</b> - Estrutura do diazepam, 7-Cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-3H-1,4-benzodiazepina, com destaque ao anel benzodiazepínico.....	38
<b>Figura 3.15</b> – Estrutura química básica dos 1,4- e 1,5-benzodiazepínicos, respectivamente.....	39
<b>Figura 4.1</b> – Camundongo Swiss ( <i>Mus musculus</i> ).....	54
<b>Figura 5.1</b> – Paladaciclos organometálicos.....	57
<b>Figura 5.2</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do DIAZPdOAcD em CDCl <sub>3</sub> .....	60
<b>Figura 5.3</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do DIAZPdCID em DMSO-d <sub>6</sub> .....	61
<b>Figura 5.4</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do DIAZPdCIPy em CDCl <sub>3</sub> .....	65
<b>Figura 5.5</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do DIAZPdOAcPPh <sub>3</sub> em CDCl <sub>3</sub> .....	66
<b>Figura 5.6</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do DIAZPdCIPPh <sub>3</sub> em CDCl <sub>3</sub> .....	67
<b>Figura 5.7</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do DIAZPdOAcD em CDCl <sub>3</sub> .....	69
<b>Figura 5.8</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do DIAZPdCID em DMSO-d <sub>6</sub> .....	70

<b>Figura 5.9</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do DIAZPdClPy em $\text{CDCl}_3$ .....	71
<b>Figura 5.10</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do DIAZPdOAcPPh $_3$ em $\text{CDCl}_3$ .....	72
<b>Figura 5.11</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do DIAZPdClPPh $_3$ em $\text{CDCl}_3$ .....	73
<b>Figura 5.12</b> – Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ do DIAZPdOAcPPh $_3$ em $\text{CDCl}_3$ .....	74
<b>Figura 5.13</b> – Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ do DIAZPdClPPh $_3$ em $\text{CDCl}_3$ .....	75
<b>Figura 5.14</b> – Projeção Ortep do DIAZPdClPy.....	76

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 3.1</b> – Utilização de alguns metais em Medicina, na antiguidade.....	24
<b>Quadro 3.2</b> – Complexos metálicos derivados de 1,4- e 1,5-benzodiazepínicos relatados na literatura.....	39
<b>Quadro 3.3</b> – Complexos metálicos derivados do diazepam relatados na literatura.....	41
<b>Quadro 4.1</b> – Locais de realização das atividades experimentais.....	46
<b>Quadro 4.2</b> – Procedência e fórmula molecular dos reagentes e solventes.....	47

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 5.1</b> – RMN de $^1\text{H}$ do DIAZPdOAcD com piridina deuterada, em $\text{CDCl}_3$ .....	64
<b>Tabela 5.2</b> – RMN de $^1\text{H}$ do DIAZPdCID com piridina deuterada, em $\text{CDCl}_3$ .....	64
<b>Tabela 5.3</b> – Ângulos [ $^\circ$ ] diedro e de ligação para DIAZPdCIPy.....	77
<b>Tabela 5.4</b> – Distâncias [ $\text{Å}$ ] de ligação para DIAZPdCIPy.....	77
<b>Tabela 5.5</b> - Efeito do tratamento agudo com DIAZPdOAcD, DIAZPdCID ou diazepam (DZP), na presença e na ausência de Flumazenil (FLU), no teste das convulsões induzidas pelo PTZ em camundongos.....	79
<b>Tabela 5.6</b> - Efeito do tratamento agudo com DIAZPdOAcD, DIAZPdCID ou diazepam (DZP) no teste das convulsões induzidas pela PIC em camundongos.....	81

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>BDZ</b>	Benzodiazepínico
<b>br sig</b>	Sinal alargado (do inglês: <i>broad signal</i> )
<b>CETENE</b>	Centro de Tecnologia do Nordeste
<b>d</b>	Dupleto
<b>DFS</b>	Departamento de Fisiologia
<b>DIAZPdCID</b>	<i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metill-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }- $\mu_2$ -cloropaládio(II)]
<b>DIAZPdCIPPh<sub>3</sub></b>	[2-{(7-cloro-1-metill-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }clorotrifenilfosfinopaládio(II)]
<b>DIAZPdCIPy</b>	[2-{(7-cloro-1-metill-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }cloropiridinopaládio(II)]
<b>DIAZPdOAcD</b>	<i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metill-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }- $\mu_2$ -acetatopaládio(II)]
<b>DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub></b>	[2-{(7-cloro-1-metill-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }acetatotrifenilfosfinopaládio(II)]
<b>DMF</b>	Dimetilformamida
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DZP</b>	Diazepam
<b>EEG</b>	Eletroencefalográfico
<b>F.M.</b>	Fórmula molecular
<b>FLU</b>	Flumazenil
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>GCaR</b>	Grupo de Catálise e Reatividade Química
<b>Hz</b>	Hertz
<b>ICLAS</b>	Conselho Internacional de Ciência em Animais de Laboratório (do inglês: <i>International Council for Laboratory Animal Science</i> )
<b>i.p.</b>	Intraperitoneal
<b>IQB</b>	Instituto de Química e Biotecnologia
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>J</b>	Acoplamento de spin

<b>LaboCrMM</b>	Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular
<b>LAPEC</b>	Laboratório de Farmacologia Pré-Clínica
<b>m</b>	Multiplete
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>M.M.</b>	Massa molar
<b>OAc</b>	Acetato
<b>pág.</b>	Página
<b>PIC</b>	Picrotoxina
<b>PPh<sub>3</sub></b>	Trifenilfosfina
<b>ppm</b>	Parte por milhão
<b>PTZ</b>	Pentilenotetrazol
<b>Py</b>	Piridina
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>s</b>	Simpleto
<b>SBCAL</b>	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>t</b>	Triplete
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>UFAL</b>	Universidade Federal de Alagoas
<b>UFS</b>	Universidade Federal de Sergipe

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
2.1 Geral.....	22
2.2 Específicos.....	22
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Química Inorgânica Medicinal.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Paládio: propriedades e aplicações.....</b>	<b>27</b>
<b>3.3 Convulsão.....</b>	<b>29</b>
3.3.1 Considerações gerais.....	29
3.3.2 Fisiologia.....	30
3.3.3 Tipos de convulsão.....	33
<b>3.4 Farmacologia dos anticonvulsivantes.....</b>	<b>36</b>
<b>3.5 Complexos metálicos derivados de benzodiazepínicos.....</b>	<b>38</b>
<b>4 EXPERIMENTAL.....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Atividades desenvolvidas e locais de realização.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Reagentes e solventes.....</b>	<b>47</b>
<b>4.3 Instrumentação para caracterização.....</b>	<b>47</b>
4.3.1 Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN).....	47
4.3.2 Espectrometria no infravermelho médio (IV).....	48
4.3.3 Difração de raios X.....	48
4.3.4 Análise Elementar.....	48
4.3.5 Espectrometria de Massas.....	48
<b>4.4 Procedimentos de síntese.....</b>	<b>48</b>
4.4.1 Síntese do <i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ -C,N}- $\mu_2$ -cloropaládio(II)], DIAZPdCID.....	49



4.4.2 Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }cloropiridinopaládio(II)], DIAZPdClPy.....	50
4.4.3 Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }clorotrifetilfosfinopaládio(II)], DIAZPdClPPh <sub>3</sub> .....	51
4.4.4 Síntese do <i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }- $\mu_2$ -acetatopaládio(II)], DIAZPdOAcD.....	52
4.4.5 Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ - <i>C,N</i> }acetatotrifetilfosfinopaládio(II)], DIAZPdOAcPPh <sub>3</sub> .....	53
<b>4.5 Avaliação da atividade anticonvulsivante.....</b>	<b>54</b>
4.5.1 Teste das convulsões induzidas pelo PTZ.....	55
4.5.2 Teste das convulsões induzidas pela PIC.....	55
4.5.3 Análise Estatística.....	55
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>56</b>
5.1 Síntese dos paladacilos.....	57
5.2 Caracterização dos paladacilos.....	59
5.2.1 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H (RMN de <sup>1</sup> H).....	59
5.2.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C (RMN de <sup>13</sup> C).....	68
5.2.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>31</sup> P (RMN de <sup>31</sup> P).....	68
5.2.4 Espectrometria no Infravermelho Médio (IV).....	76
5.2.5 Difração de Raios X.....	76
5.2.6 Análise Elementar e Espectrometria de Massas.....	77
5.3 Avaliação da atividade anticonvulsivante.....	78
5.3.1 Convulsões induzidas pelo PTZ.....	78
5.3.2 Convulsões induzidas pela PIC.....	81
<b>6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>83</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>91</b>

<b>APÊNDICE A</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do DIAZPdOAcD com piridina deuterada, em $\text{CDCl}_3$ .....	<b>92</b>
<b>APÊNDICE B</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do DIAZPdCID com piridina deuterada, em $\text{CDCl}_3$ .....	<b>93</b>
<b>APÊNDICE C</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do diazepam em $\text{CDCl}_3$ .....	<b>94</b>
<b>APÊNDICE D</b> – Espectro na região do IV do DIAZPdOAcD.....	<b>95</b>
<b>APÊNDICE E</b> – Espectro na região do IV do DIAZPdCID.....	<b>96</b>
<b>APÊNDICE F</b> – Espectro na região do IV do DIAZPdClPy.....	<b>97</b>
<b>APÊNDICE G</b> – Espectro na região do IV do DIAZPdOAcPPh <sub>3</sub> .....	<b>98</b>
<b>APÊNDICE H</b> – Espectro na região do IV do DIAZPdClPPh <sub>3</sub> .....	<b>99</b>
<b>APÊNDICE I</b> – Espectro na região do IV do diazepam.....	<b>100</b>

---

---

# 1 INTRODUÇÃO

---

---

## 1 INTRODUÇÃO

Geralmente, a primeira ideia que surge ao se pensar em fármacos é a de que os mesmos são compostos orgânicos; entretanto, vários destes apresentam metais em sua estrutura e são utilizados na clínica médica. Para tanto, temos como exemplos: os complexos de platina, empregados para o tratamento de tumores; os de antimônio, para o tratamento da leishmaniose; os de ouro, para o tratamento de artrite; e os de bismuto, para o tratamento da úlcera gástrica (BERALDO; MORTIMER, 2005).

O interesse por metalofármacos foi ampliado com a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina, um arquétipo de fármaco inorgânico por não apresentar um só átomo de carbono em sua estrutura; desempenhando, assim, um papel importantíssimo no desenvolvimento da Química Inorgânica Medicinal (BERALDO, 2005).

Uma estratégia, dentro dessa área, para o desenho de novos fármacos consiste no desenvolvimento de complexos formados pela coordenação de metais a ligantes bioativos, com o objetivo de formar complexos mais potentes e/ou menos tóxicos (BERALDO, 2005). Essa estratégia é utilizada com esse objetivo devido aos metais poderem desempenhar um importante papel "passivo" no acompanhamento e/ou entrega de fármacos em direção a seus locais de ação e fora dos locais onde exercem mais toxicidade. E também pelo fato da coordenação a um metal alterar a solubilidade e lipofilia de um ligante bioativo, resultando em mudanças na sua absorção, biodistribuição e biotransformação (HAMBLEY, 2007); além de poder modificar sua estereoquímica e propriedades eletrônicas, podendo, dessa forma, alterar substancialmente a atividade biológica de um ligante bioativo (VIŠNJEVAC et al., 2002).

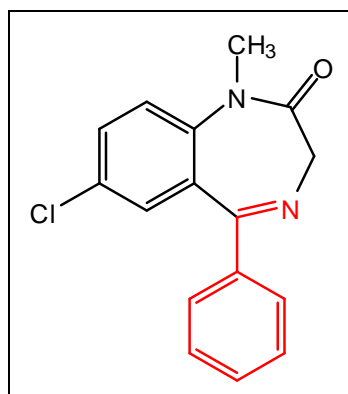
Tal estratégia foi a que utilizamos neste trabalho; para isso, selecionamos como pré-ligante um fármaco com atividade anticonvulsivante, mais especificamente o diazepam, e um metal passível de ligação a esse fármaco, mais especificamente o paládio.

A escolha de um fármaco anticonvulsivante foi realizada devido aos fármacos anticonvulsivantes atuais terem seu uso frequentemente limitado pelos efeitos colaterais (RANG et al., 2004) e por não existir profilaxia eficaz para o tratamento das convulsões epiléticas – convulsões desenvolvidas por pacientes que apresentam epilepsia (MCNAMARA, 2005). É importante ressaltar o seguinte: acredita-se que pelo menos 25% dos pacientes com epilepsia no Brasil necessitam do uso de medicamentos por toda a vida, visto que, são portadores em estágios mais graves (BRASIL, 2006). Tais fatores nos mostram

a importância do desenvolvimento de fármacos anticonvulsivantes mais eficazes e com menos efeitos tóxicos.

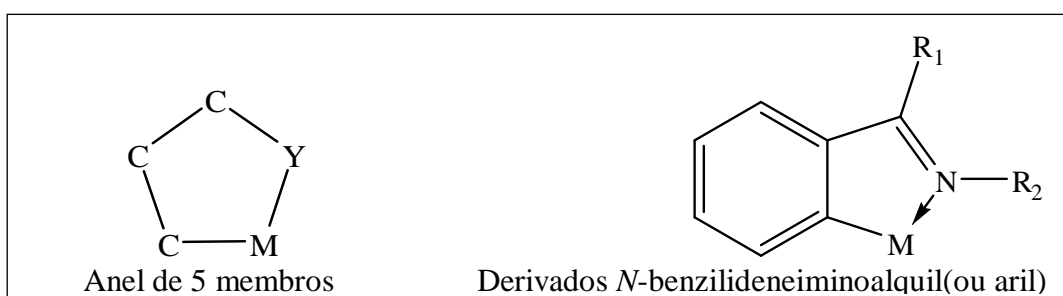
No que diz respeito à escolha do paládio como metal para a geração de potenciais metalofármacos derivados do diazepam, podemos dizer que foi em função da estrutura do próprio diazepam, um 1,4-benzodiazepínico com um substituinte fenila no carbono-5 do anel (Figura 1.1). O diazepam em presença de sais de Pd(II) pode sofrer reação de ciclometalação via ativação da ligação C-H, formando composto organometálico, e coordenação intramolecular com o nitrogênio imínico. Isso leva, então, a formação de um anel, um paladaciclo de cinco membros. A Figura 1.2 ilustra de maneira genérica a estrutura básica de um metalaciclo derivado de um *N*-benzilideneimino (OMAE, 2004).

**Figura 1.1** – Estrutura química do diazepam com destaque ao grupo de ligação do paládio



Fonte: Autora, 2012.

**Figura 1.2** – Metalaciclos de 5 membros



M = Pd, Pt, Ni, Rh; Y = N, O, S, P, As.

Fonte: OMAE, 2004.

Assim, o nosso objetivo nesse trabalho de dissertação de mestrado foi o de elaborar complexos de Pd(II) derivados do diazepam, com a finalidade de obter complexos que possam ser mais ativos e que apresentem menos efeitos tóxicos que o ligante de escolha.

Vale salientar que sais de cobre derivados de salicilatos e aminoácidos apresentam atividade anticonvulsivante (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007); mostrando que compostos metálicos podem atuar como anticonvulsivantes e que é interessante complexar um ligante com conhecida atividade anticonvulsivante a um metal de transição com o intuito de obter novos protótipos de fármacos para o tratamento das convulsões.

---

---

## **2 OBJETIVOS**

---

---

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Realizar a síntese de complexos de paládio(II) contendo diazepam como ligante visando realizar estudos farmacológicos anticonvulsivantes.

### **2.2 Específicos**

- Sintetizar paladaciclos derivados do diazepam provenientes de sais de  $\text{PdCl}_2$  e  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , tanto em suas formas diméricas quanto monoméricas;
- Caracterizar estruturalmente os complexos sintetizados por meio de diversas técnicas;
- Avaliar a atividade anticonvulsivante dos paladaciclos obtidos através de bioensaios utilizando pentilenotetrazol e picrotoxina como indutores das convulsões em roedores.



---

---

## **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

---

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Química Inorgânica Medicinal

A Química Inorgânica Medicinal é uma área de caráter multidisciplinar que combina elementos da Química, Bioquímica, Farmacologia e Química Medicinal (ROAT-MALONE, 2002). Apesar do uso de metais em Medicina ser praticado há aproximadamente 5000 anos (Quadro 3.1), somente despertou-se um grande interesse por essa área com a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina,  $cis[Pt(NH_3)_2Cl_2]$  (Figura 3.1) pelo físico Barnett Rosenberg, em 1965. Esta espécie química, diferente da maioria dos fármacos, não apresenta nenhum átomo de carbono em sua estrutura, mas proporcionou, a partir de 1978, uma diminuição de cerca de 80% nas mortes de homens com tumor de testículo (BERALDO, 2005).

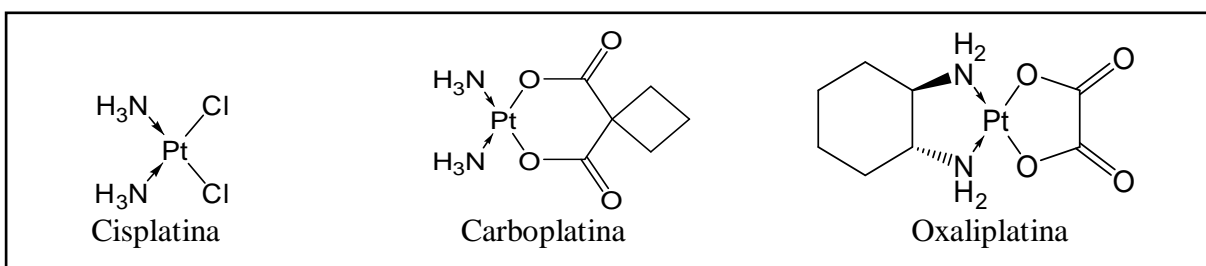
Nos dias atuais, a cisplatina é utilizada em vários outros tipos de tumores, como câncer de pulmão, cabeça, estômago, esôfago e mama, sobretudo em associação com outros fármacos, em vários esquemas terapêuticos (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005); além disso, outros complexos de platina, como carboplatina e oxaliplatina (Figura 3.1), são utilizados no tratamento de tumores e estima-se que 50 a 70% dos pacientes com câncer recebam tratamento com complexos de platina (BERALDO, 2011).

**Quadro 3.1** – Utilização de alguns metais em Medicina, na antiguidade

Metal	Utilização	Período
Cobre	Para esterilizar a água, pelos egípcios	3000 anos antes de Cristo
Ferro	Em medicamentos, no Egito	1500 anos antes de Cristo
Ouro	Fabricação de medicamentos, na Arábia e na China	Há mais de 3500 anos

Fonte: BERALDO, 2005.

**Figura 3.1** – Estrutura química de alguns complexos de platina com atividade antitumoral



Fonte: Autora, 2012.

A partir desse marco, deu-se início a uma nova corrida na busca por novos compostos metálicos com propriedades farmacológicas, metalofármacos, bem como, na investigação dos mecanismos de ação desses compostos e na tentativa de melhorar a atividade biológica de compostos puramente orgânicos com a adição de metais em sua estrutura; modificando, assim, o cenário encontrado em meados do século XX, no qual observamos o receio na elaboração de fármacos contendo metais em sua estrutura. De fato, com essa descoberta, retoma-se a utilização de compostos metálicos na Medicina, porém agora de forma menos empírica, tendo-se como base o conhecimento das estruturas moleculares e seus mecanismos de ação (BERALDO, 2005; RONCONI; SADLER, 2007).

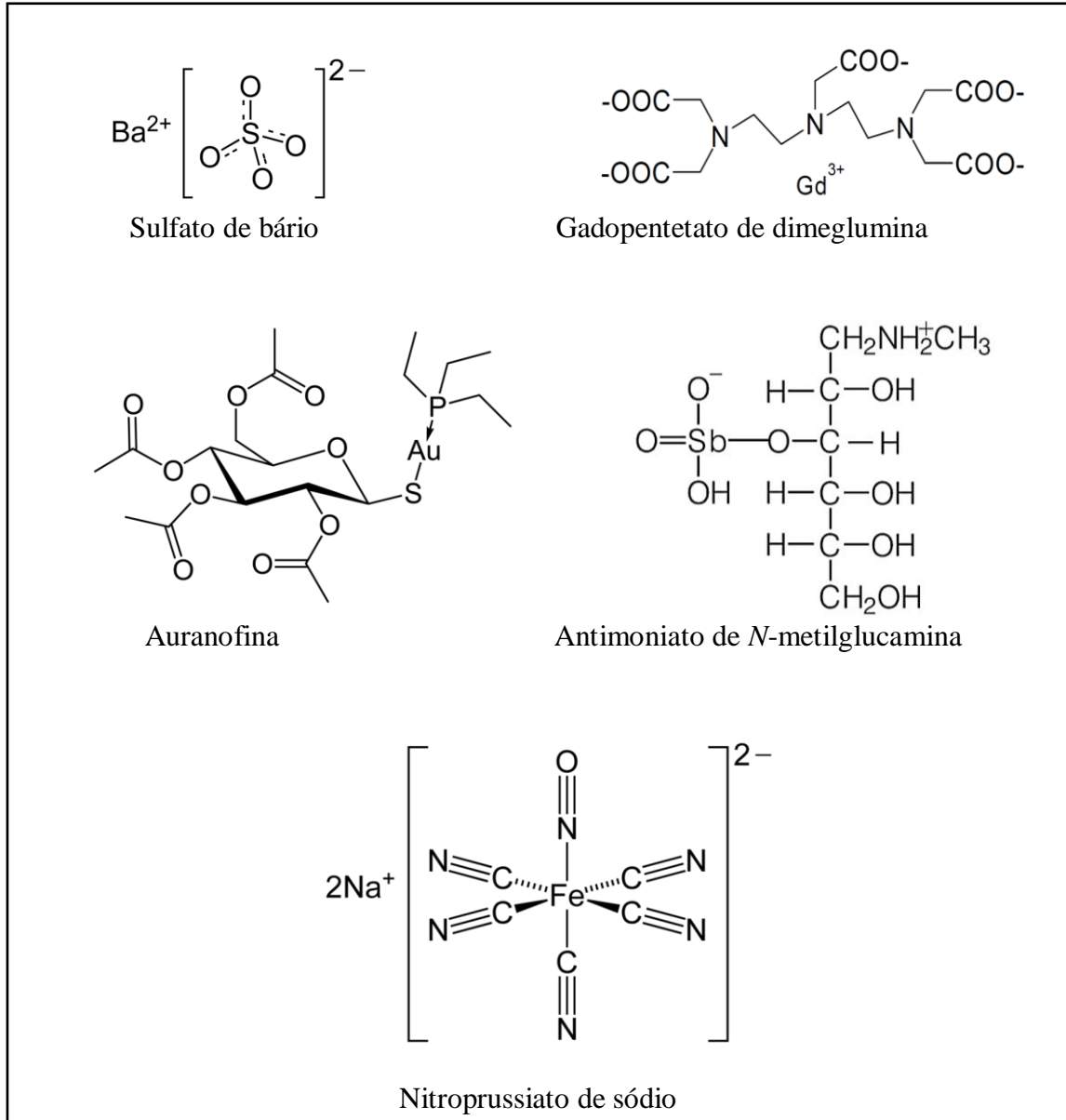
Um dos principais desafios no desenvolvimento de metalofármacos consiste em modular a reatividade da porção metal que, apesar de desencadear as propriedades farmacológicas desejadas, muitas vezes relacionadas a seus diversos estados de oxidação e às reações que sofrem *in vivo*, tais como hidrólise e substituição de ligantes, está associada, por muitas vezes, à sua toxicidade. Porém, com um adequado planejamento racional de fármacos, pode-se realizar o *design* de moléculas a partir da escolha de metais e ligantes de forma a atingir as características desejadas de atividade e seletividade do composto elaborado, direcionando o fármaco para o local desejado, diminuindo os efeitos colaterais (BERALDO, 2011).

O emprego de ligantes com comprovada bioatividade pode ser uma interessante estratégia com o intuito de obter compostos mais potentes e/ou levar a um aumento de sua biodisponibilidade e/ou ainda à reversão da resistência celular. Como exemplos dessa estratégia, têm-se complexos de rutênio e cobre, investigados para o tratamento da doença de Chagas, e complexos de ouro com ligantes antimaláricos, que se revelaram promissores (BERALDO, 2011).

Mesmo diante de vários desafios, a elaboração de metalofármacos apresenta crescimento significativo tanto na medicina terapêutica quanto na medicina diagnóstica (RONCONI; SADLER, 2007). Como exemplos de compostos contendo metais utilizados na medicina terapêutica, podemos citar o nitroprussiato de sódio (complexo de ferro II), único complexo metal-nitrosila utilizado clinicamente para controlar a pressão arterial; o antimoniato de *N*-metilglucamina, complexo de antimônio(V), utilizado para o tratamento da leishmaniose; e a auranofina, complexo de ouro(I), utilizada para o tratamento da artrite reumatóide, Figura 3.2. E como exemplos de compostos contendo metais utilizados na medicina diagnóstica (Figura 3.2) têm-se o sulfato de bário, comumente utilizado como contrastante em Raios X do trato gastrointestinal; e o gadopentetato de dimeglumina,

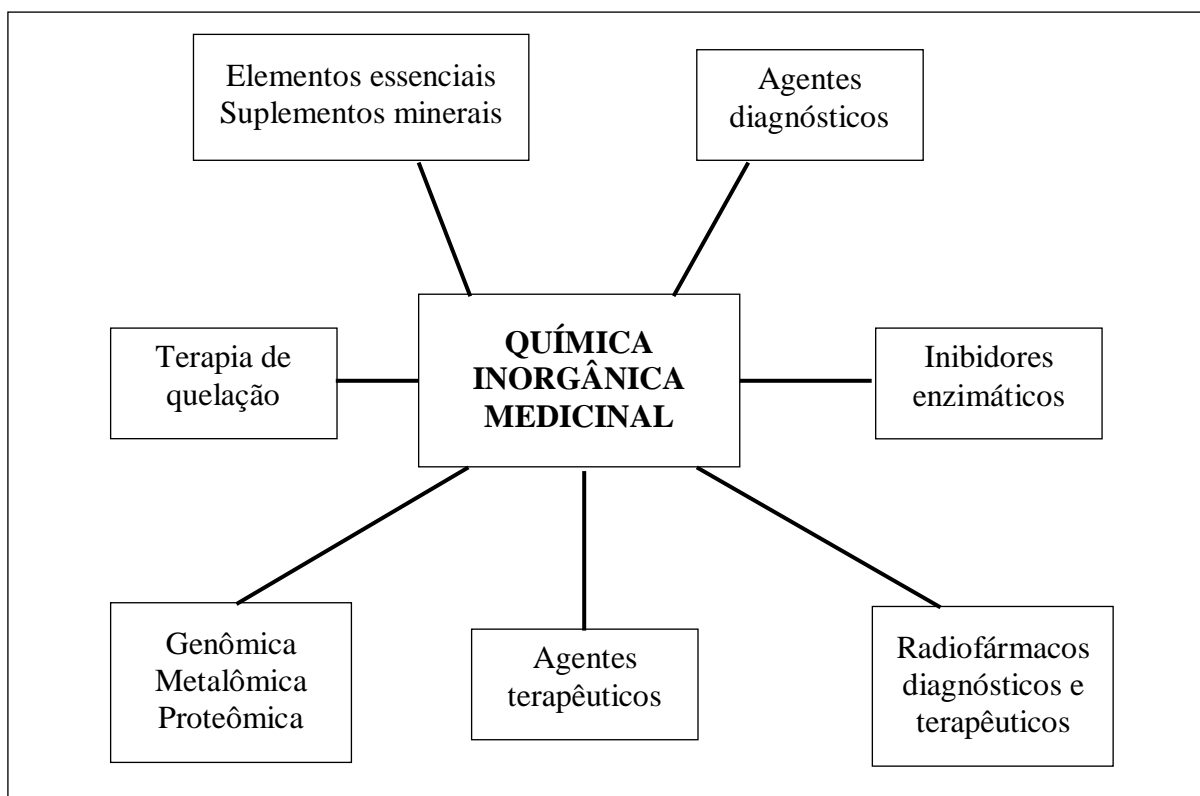
complexo de gadolínio(III), utilizado na detecção de anormalidades na circulação sanguínea do cérebro (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007).

**Figura 3.2** – Estrutura química de alguns metalofármacos



Fonte: BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007.

É importante salientar que a Química Inorgânica Medicinal não se limita ao estudo de complexos metálicos para uso como agentes terapêuticos e de diagnóstico, como exemplificado na Figura 3.3 (RONCONI; SADLER, 2007).

**Figura 3.3** – Algumas das áreas da Química Inorgânica Medicinal

Fonte: Adaptado de RONCONI; SADLER, 2007.

### 3.2 Paládio: propriedades e aplicações

O paládio (Pd) é um metal de transição pertencente ao bloco *d*, grupo 10 e período 5 da Tabela Periódica, que apresenta número atômico igual a 46 e massa molar igual a 106,42 g/mol (Figura 3.4). É um metal que possui coloração branco prateada, estrutura cúbica e é um elemento considerado denso (12,02 g/cm<sup>3</sup>). Esse metal amolece antes de fundir, podendo ser trabalhado e soldado, sendo pouco reativo e bastante resistente à corrosão. Dissolve-se em bases fundidas, ácidos oxidantes e em água régia, gerando o ácido H<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]. Quando combinado, esse metal exibe os estados de oxidação 0, +1, +2 e +4; o estado de oxidação +2 é o mais estável e ocorre no íon hidratado [Pd(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>]<sup>2+</sup> e num número bastante elevado de compostos de coordenação; o estado de oxidação +4 é instável e é atingido quando combinado com oxigênio, PdO<sub>2</sub>, e flúor, PdF<sub>4</sub>, podendo também ocorrer em alguns complexos (ALVES; SILVA; GUERRA, 2010; SILVA; GUERRA, 2011).

Figura 3.4 – Tabela periódica, com destaque para o paládio

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	1 H Atômico Símb																	2 He
2	3 Li	4 Be																10 Ne
3	11 Na	12 Mg																18 Ar
4	19 K	20 Ca																36 Kr
5	37 Rb	38 Sr																54 Xe
6	55 Cs	56 Ba																86 Rn
7	87 Fr	88 Ra																118 Uuo

46  
Pd  
Paládio  
106,42

57-71  
69-103

Para os elementos sem isótopos estáveis, o número de massa do isótopo com a meia-vida mais longa está entre parênteses.

Tabela Periódica Diretos autorais de design e interface © 1997 Michael Dayan. Ptable.com Última atualização 8 de Out de 2011

57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu
89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr

Fonte: <http://www.ptable.com/?lang=pt>

A maior parte do paládio produzido no mundo é utilizado na produção de conversores catalíticos para escapes de veículos automotivos com o intuito de reduzir as emissões de gases poluentes. A função de tais conversores é transformar os gases  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{CO}$  e hidrocarbonetos emitidos do escape de automóveis, nos compostos  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$  e vapor de água, que são naturalmente encontrados na atmosfera. O restante do paládio é utilizado na produção de joias, na indústria eletrônica e petroquímica, na odontologia, entre outras aplicações (ALVES; SILVA; GUERRA, 2010; SILVA; GUERRA, 2011).

Na forma metálica, o paládio adsorve hidrogênio gasoso; sendo a quantidade adsorvida, em temperatura ambiente, igual a 900 vezes o seu volume. Por ser o metal que adsorve a maior quantidade de hidrogênio, é utilizado na purificação desse gás. Já o composto  $\text{PdCl}_2$  adsorve monóxido de carbono e, por isso, é utilizado em detectores para esse gás (ALVES; SILVA; GUERRA, 2010; SILVA; GUERRA, 2011).

O paládio também é utilizado como catalisador na produção de etanal, processo Wacker, reações de acoplamento carbono-carbono e de hidrogenação. Além disso, é utilizado na obtenção do ácido nítrico e do ácido tereftálico ( $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4$ ) purificado, empregados na fabricação de fibras artificiais (ALVES; SILVA; GUERRA, 2010; SILVA; GUERRA, 2011).

Devido à semelhança química do paládio com a platina, alguns complexos de paládio têm sido estudados visando a obtenção de fármacos. No entanto, apesar de existirem compostos de paládio que possuem boa atividade antitumoral e anti-infecciosa, somente o isótopo radioativo de  $^{103}\text{Pd}$  tem utilidade clínica, sendo empregado no tratamento do câncer de próstata em estágio avançado (ALVES; SILVA; GUERRA, 2010; SILVA; GUERRA, 2011).

### 3.3 Convulsão

#### 3.3.1 Considerações gerais

A convulsão refere-se a uma breve alteração comportamental causada pela ativação desordenada, sincrônica e rítmica de grupos de neurônios cerebrais; em outras palavras, representa uma manifestação clínica da atividade elétrica anormal no cérebro. A ocorrência periódica e imprevisível de convulsões caracteriza um distúrbio da função cerebral que é denominado epilepsia; assim, um indivíduo que teve uma única convulsão não apresenta necessariamente epilepsia (MCNAMARA, 2005; GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009).

As convulsões podem ser “não-epilépticas” ou “epilépticas”: o primeiro caso ocorre no cérebro normal, devido a tratamentos como o eletrochoque ou com os convulsivantes químicos; já o segundo caso ocorre quando não se tem um estímulo evidente, em geral acontece comprometimento transitório da consciência, expondo o indivíduo a riscos de lesões físicas, e frequentemente interferindo na educação e no trabalho (MCNAMARA, 2005).

Esses transtornos estão presentes na população em diferentes percentuais: 5 a 10% apresenta um episódio de convulsão no decorrer da vida, sendo uma maior prevalência em crianças e idosos (ALVAREZ et al., 2009), enquanto que a epilepsia está compreendida entre 0,5 e 1% (RANG et al., 2004).

As convulsões podem ocorrer de forma contínua ou repetida, sem recuperação completa da consciência, constituindo uma emergência médica denominada estado de mal epiléptico ou *Status Epilepticus* (ARANDAS; SENA, 2010). Tal emergência apresenta uma incidência média de 18 a 61 casos/100000 habitantes por ano, correspondendo a 0,1 % das referidas emergências e a 4% dos cuidados neurológicos intensivos (BENTES; PIMENTEL, 2003), e uma taxa de mortalidade que se aproxima de 20% entre os adultos (MCNAMARA, 2005). Como emergência médica, necessita de uma terapêutica eficaz, iniciada o mais precocemente possível (BENTES; PIMENTEL, 2003); quanto maior o tempo durante o qual

o episódio de estado epiléptico permanecer sem tratamento, mais complicado será o seu controle, aumentando o risco de lesão cerebral permanente (MCNAMARA, 2005).

As convulsões recorrentes podem ser parte integrante da síndrome de abstinência de drogas sedativas e depressoras do sistema nervoso central (SNC) ou podem estar relacionadas a outras condições como: traumatismo craniano, meningite, tumores cerebrais, doenças degenerativas, hipertermia, hipoglicemia e doenças febris na infância (ARANDAS; SENA, 2010). A ocorrência de convulsão associada a uma doença febril ocorre entre 2 e 4% das crianças; dessas, 25 a 33% apresentarão outra convulsão febril e 2 a 3% se tornam epiléticas posteriormente (MCNAMARA, 2005).

Os sintomas de uma convulsão variam de um rápido lapso de atenção para um ataque convulsivo bem desenvolvido, perdurando vários minutos; tais sintomas são determinados pelo local da descarga primária e a extensão de seu espalhamento; o que se inicia como uma descarga anormal local, pode a seguir se espalhar para outras áreas do cérebro (RANG et al., 2004). Os sintomas dependem das funções normalmente realizadas pelo local no córtex cerebral no qual se produz a convulsão; por exemplo, uma convulsão que envolva o córtex motor se associa a um abalo clônico da parte do corpo controlada por essa região cortical (MCNAMARA, 2005).

### **3.3.2 Fisiologia**

Estudos farmacológicos referentes às convulsões corroboram a tese que a redução da atividade inibitória sináptica ou o aumento da atividade excitatória sináptica desencadeia uma convulsão. Os neurotransmissores que medeiam grande parte da transmissão sináptica no cérebro dos mamíferos são aminoácidos, com o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e o ácido glutâmico, constituindo os principais neurotransmissores inibitórios e excitatórios, respectivamente (MCNAMARA, 2005).

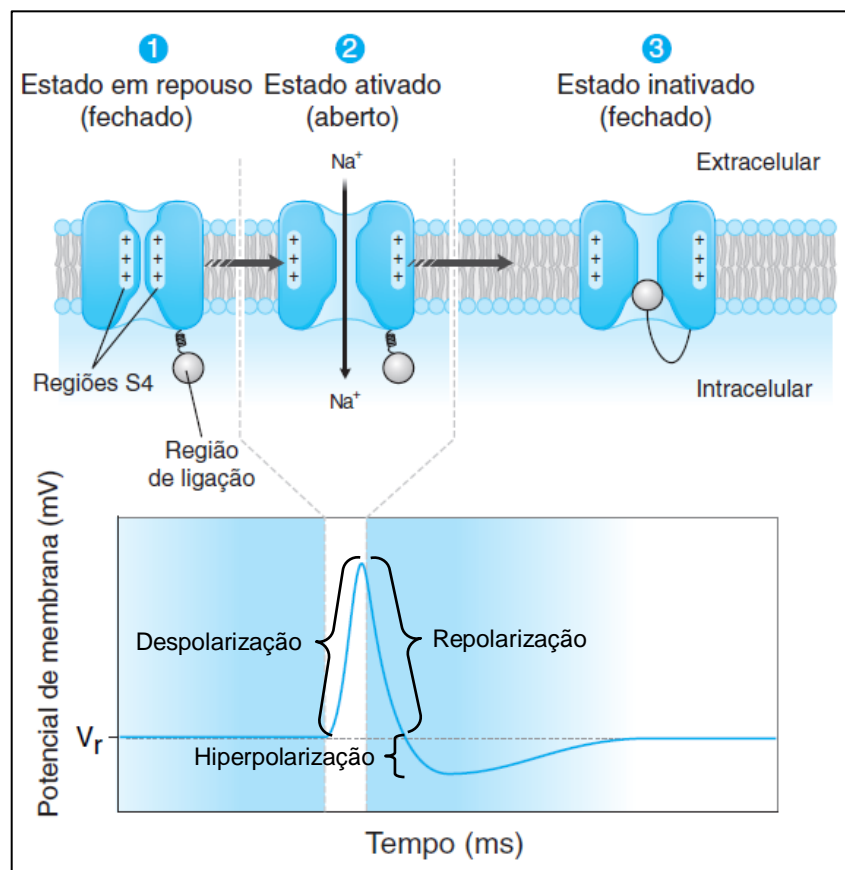
Alterações agudas na disponibilidade de neurotransmissores excitatórios, causadas pela ingestão da toxina ácido domóico (análogo estrutural do ácido glutâmico) ou alterações no efeito dos neurotransmissores inibitórios propiciadas pela injeção de penicilina (um antagonista GABA<sub>A</sub>), podem resultar em atividade convulsiva maciça no cérebro humano. Esses exemplos ilustram que os complexos circuitos no interior do cérebro se encontram em equilíbrio entre fatores excitatórios e inibitórios, e que a ocorrência de alterações em um desses mecanismos de controle pode causar disfunção significativa (GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009).



No sistema nervoso central, encontramos dois elementos importantes que, além de estarem envolvidos no controle preciso da sinalização neuronal, também funcionam para impedir a descarga repetitiva e sincrônica característica de uma convulsão. São eles (GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009):

1) **Em nível celular:** a inativação dos canais para  $\text{Na}^+$  e a hiperpolarização mediada pelos canais para  $\text{K}^+$  durante um potencial de ação induzem o “período refratário”, o que impede a descarga repetitiva anormal nas células neuronais. Após ser iniciado no cone de implantação, o potencial de ação é propagado através de canais iônicos sensíveis à voltagem, por correntes alternadas de influxo de  $\text{Na}^+$  despolarizante e efluxo de  $\text{K}^+$  hiperpolarizante. Durante um potencial de ação (Figura 3.5), os canais para  $\text{Na}^+$  se apresentam em três estados diferentes: o estado em repouso (1), antes da despolarização; o estado ativado (2), durante a despolarização; e o estado inativado (3), pouco depois do pico de despolarização.

**Figura 3.5** – Conformações do canal para sódio durante o potencial de ação



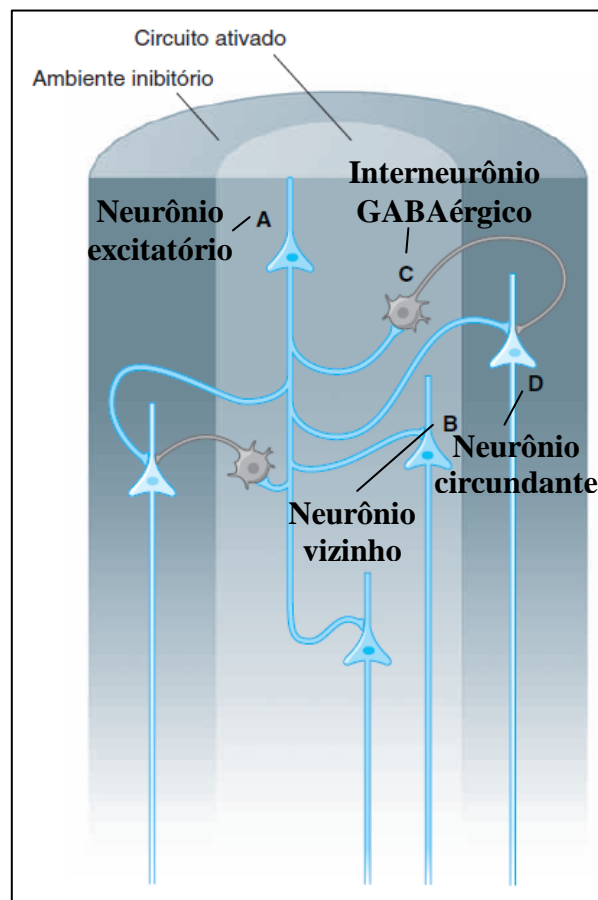
Fonte: Adaptado de GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009.

Como os canais para  $\text{Na}^+$  adotam o estado inativado em resposta à despolarização até que a membrana seja suficientemente repolarizada, os potenciais de ação são intrinsecamente

autolimitantes. A abertura dos canais para  $K^+$  repolariza a célula, entretanto o elevado efluxo de  $K^+$  hiperpolariza transitoriamente a membrana celular além de seu potencial de repouso, aumentando ainda mais o intervalo de tempo antes que possa ser gerado um novo potencial de ação. Logo, em condições fisiológicas, as propriedades bioquímicas dos canais para  $Na^+$  e para  $K^+$  estabelecem um limite sobre a frequência de descarga, ajudando a evitar a descarga repetitiva que caracteriza muitos tipos de convulsões;

2) **Em nível das redes neurais:** as redes neurais garantem a especificidade da sinalização neuronal ao limitar os efeitos de determinado potencial de ação a uma área definida. Conforme observado na rede neural simplificada ilustrada na Figura 3.6, o neurônio (representado pela letra A) emite projeções excitatórias imediatamente para neurônios vizinhos (representados pela letra B) e para interneurônios GABAérgicos (representados pela letra C) que transmitem sinais inibitórios a neurônios circundantes (representados pela letra D).

**Figura 3.6** – Inibição circundante em uma rede neural simplificada



Fonte: Adaptado de GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009.

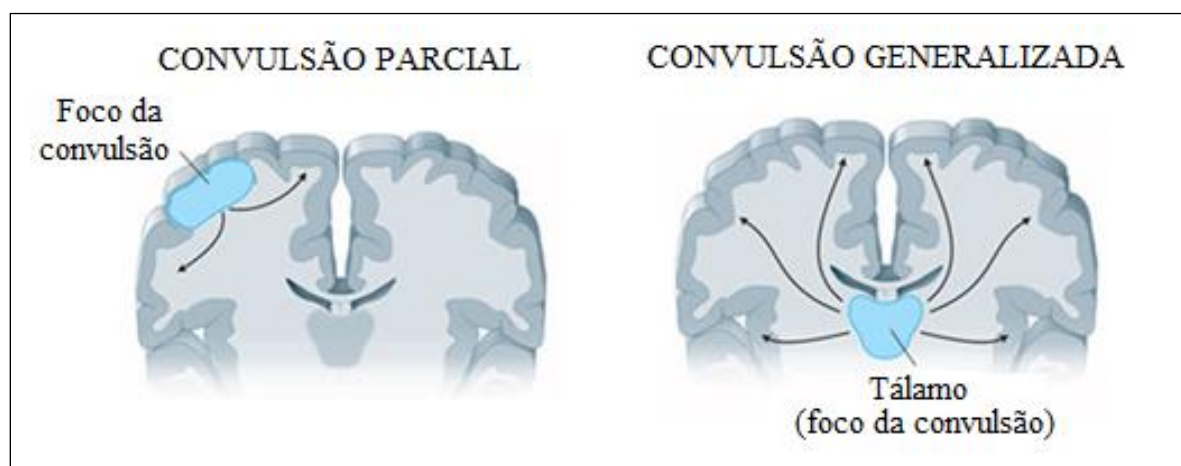
Esse contraste de amplificação local e inibição dos neurônios circundantes resulta na denominada inibição circundante, que é essencial para a função normal do sistema nervoso, pois esse fenômeno não apenas amplifica os sinais locais, como também proporciona um isolamento e uma proteção contra a sincronia observada em áreas circundantes. Vários distúrbios convulsivos parecem resultar da ruptura desse complexo equilíbrio.

Em condições fisiológicas, esses dois elementos impedem a propagação rápida e descontrolada da atividade elétrica; no entanto, existem numerosas alterações potenciais no cérebro que podem enfraquecer essas forças inibitórias, como lesão e degeneração dos neurônios GABAérgicos, mutações gênicas que alteram a função dos canais e gradientes iônicos anormais induzidos por lesões expansivas (GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009).

### 3.3.3 Tipos de convulsão

As convulsões epiléticas são classificadas em dois grandes grupos (Figura 3.7): *parciais*, que se iniciam em um foco no córtex cerebral, e *generalizadas*, que envolvem amplamente ambos os hemisférios cerebrais desde o início. As convulsões parciais são divididas em: *simples*, quando associadas à preservação da consciência, e *complexas*, quando associadas ao comprometimento da consciência (MCNAMARA, 2005; ARANDAS; SENA, 2010).

**Figura 3.7** – Grupos principais de convulsão



Fonte: GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009.

As manifestações clínicas de alguns tipos de convulsão podem ser observadas a seguir (MCNAMARA, 2005):

### 1) **Convulsões parciais:**

- Parcial simples: várias manifestações determinadas pela região do córtex cerebral ativada pela convulsão, com duração de aproximadamente 20-60 segundos, por exemplo, no caso do córtex motor representar o polegar esquerdo, o resultado será o abalo clônico do polegar esquerdo; a principal característica é a preservação da consciência;

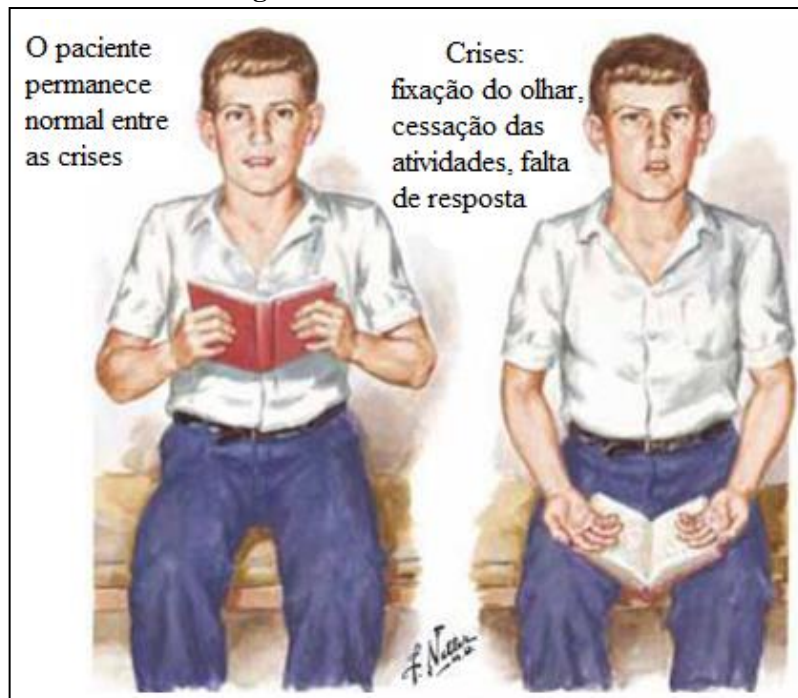
- Parcial complexa: comprometimento da consciência durando de 30 segundos a 2 minutos, frequentemente associado a movimentos sem finalidade, por exemplo, contorcer as mãos;

- Parcial, com convulsão tônico-clônica secundariamente generalizada: a convulsão parcial simples ou complexa evolui para uma convulsão tônico-clônica com perda da consciência e contrações musculares (tônicas) mantidas dos músculos do corpo todo, seguidas de períodos de contração muscular alternando com períodos de relaxamento (clônico), durando geralmente de 1 a 2 minutos;

### 2) **Convulsões generalizadas:**

- Crise de ausência (Figura 3.8): início repentino de comprometimento da consciência associado à cessação das atividades e à fixação do olhar, geralmente durando menos de 30 segundos;

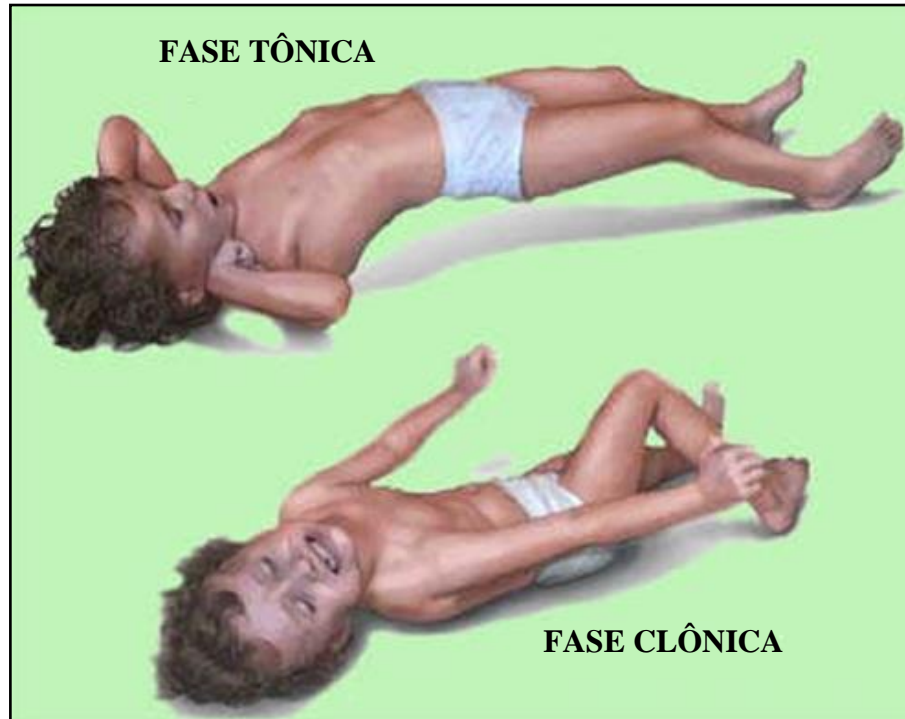
**Figura 3.8 – Crise de ausência**



Fonte: Adaptado de RAFFA; RAWLS; BEYZAROV, 2008. Autor da ilustração: Frank H. Netter.

- Convulsão tônico-clônica (Figura 3.9): perda da consciência e contrações musculares (tônicas) de todos os músculos do corpo, seguidas de períodos de contração muscular alternando com períodos de relaxamento (clônico), durando geralmente de 1 a 2 minutos;

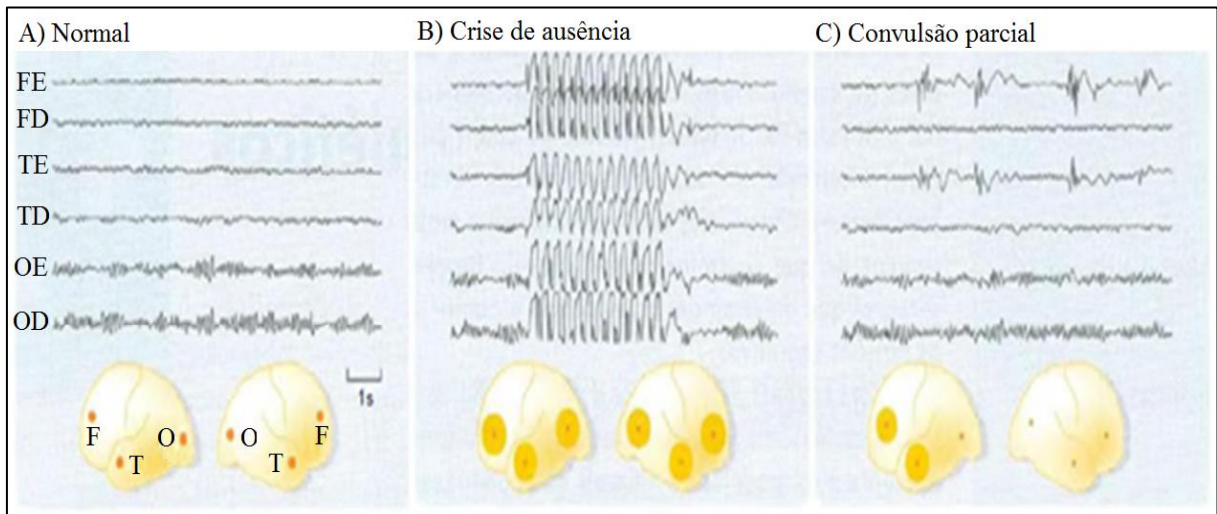
**Figura 3.9** – Convulsão tônico-clônica



Fonte: [pt.wikinoticia.com/estilo%20de%20vida/Maternidade/3041-convulsoes-em-lactentes](http://pt.wikinoticia.com/estilo%20de%20vida/Maternidade/3041-convulsoes-em-lactentes)

- Convulsão mioclônica: contração breve dos músculos, tipo choque, podendo ser generalizada ou limitada à parte de um membro.

A atividade elétrica durante uma convulsão pode ser detectada por registro eletroencefalográfico (EEG), a partir de eletrodos distribuídos por toda a superfície do couro cabeludo. Vários tipos de convulsões podem ser reconhecidos com base na natureza e distribuição da descarga anormal. Como exemplo, na crise de ausência, observa-se uma descarga rítmica característica durante o período da crise, o que podemos notar na Figura 3.10B, que mostra um registro EEG com rápido episódio repentino da descarga “ponta e onda”; na convulsão parcial, a descarga EEG normalmente é confinada a um hemisfério, como podemos observar na Figura 3.10C, que apresenta um registro EEG com descargas anormais sincrônicas nas regiões frontal e temporal esquerdas (RANG et al., 2004).

**Figura 3.10** – Registros eletroencefalográficos no cérebro normal e apresentando convulsão

F = região frontal, T = região temporal, O = região occipital, E = esquerda, D = direita.

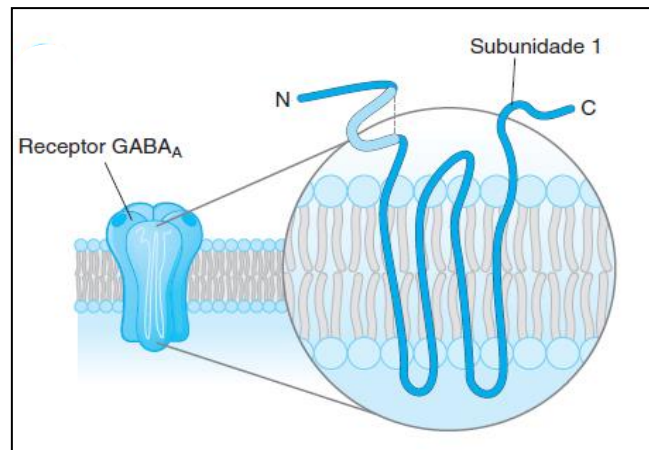
Fonte: Adaptado de RANG et al., 2004.

### 3.4 Farmacologia dos anticonvulsivantes

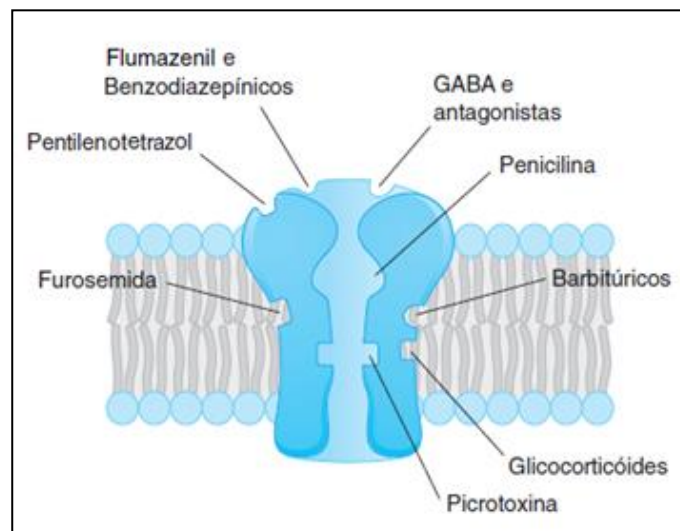
Os fármacos anticonvulsivantes são utilizados com a finalidade de inibir as convulsões, sendo escolhidos de acordo com o tipo de convulsão do paciente (MCNAMARA, 2005). Esses fármacos são classificados em quatro categorias principais: inibidores dos canais para  $\text{Ca}^{2+}$ , estimuladores da inibição mediada pelos canais para  $\text{Na}^+$ , potencializadores da inibição mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) e inibidores dos receptores do ácido glutâmico (GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009).

Entre os fármacos que aumentam a inibição mediada pelo GABA, encontram-se os benzodiazepínicos, que atuam sobre receptores  $\text{GABA}_A$  através da ligação direta a um local específico distinto daquele da ligação do GABA, atuando sobre o complexo receptor/canal iônico (CHARNEY; MIHIC; HARRIS, 2005). Os receptores  $\text{GABA}_A$  são os mais abundantes dessa classe no sistema nervoso central, os quais correspondem a glicoproteínas transmembranas pentaméricas organizadas para formar um poro iônico central seletivo para o cloreto, (Figura 3.11), que é aberto quando ocorre a ligação de duas moléculas de GABA. Além do local de ligação do GABA e dos benzodiazepínicos, os receptores  $\text{GABA}_A$  contêm vários sítios moduladores, onde ocorre ligação de outros ligantes endógenos e/ou outros fármacos (Figura 3.12), cuja localização definitiva desses sítios ainda precisa ser estabelecida (FORMAN et al., 2009).



**Figura 3.11** – Estrutura pentamérica do receptor GABA<sub>A</sub>

Fonte: FORMAN et al., 2009.

**Figura 3.12** – Principais sítios de ligação no receptor GABA<sub>A</sub>

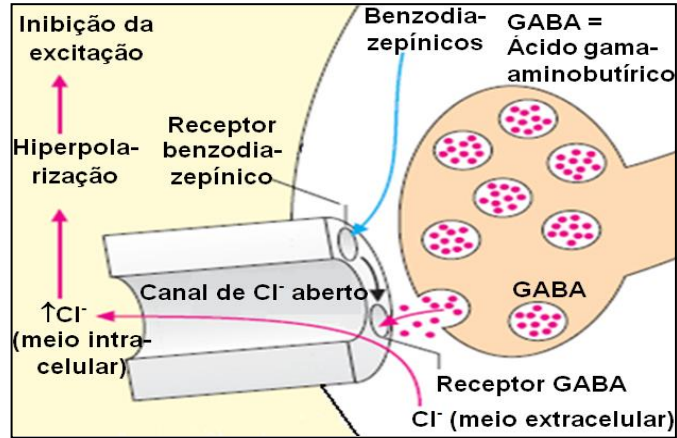
Fonte: Modificado de FORMAN et al., 2009.

Os benzodiazepínicos não ativam diretamente os receptores GABA<sub>A</sub>, pois eles necessitam de GABA para expressar seus efeitos, ou seja, eles apenas modulam os efeitos do GABA (CHARNEY; MIHIC; HARRIS, 2005), que consistem na abertura do canal iônico para cloreto, seguido do influxo de cloreto, da hiperpolarização neuronal e da diminuição da excitabilidade (Figura 3.13) (LÜLLMANN et al., 2008).

Os benzodiazepínicos são usados no estado de mal epilético, assim como no tratamento de crises parciais e generalizadas. Esses fármacos exibem tolerância e dependência, observando-se a existência de uma síndrome de retirada que pode significar uma acentuação da gravidade e da frequência das crises epiléticas (ARANDAS; SENA, 2010). Além disso, causam efeitos adversos proeminentes, incluindo sonolência, tontura e ataxia. Por

isso, são tipicamente utilizados apenas para interrupção aguda das convulsões (GRIFFIN; LOWENSTEIN, 2009).

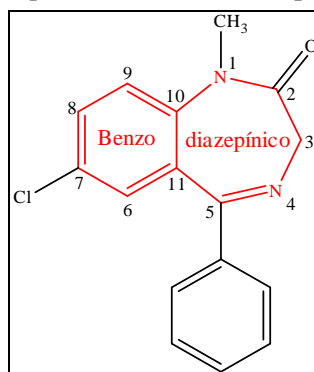
**Figura 3.13** – Mecanismo de ação dos benzodiazepínicos



Fonte: Modificado de LÜLLMANN et al., 2000.

O fármaco de escolha para interromper as crises no estado de mal epilético é o diazepam (Figura 3.14), sua vantagem é que ele age muito rapidamente quando comparado com os outros fármacos anticonvulsivantes (RANG et al., 2004). No entanto, tem a desvantagem de apresentar uma ação não duradoura, sendo necessário administrar também fenitoína endovenosa, e é ineficaz quando usado por via oral (ARANDAS; SENA, 2010).

**Figura 3.14** - Estrutura do diazepam, 7-Cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-3H-1,4-benzodiazepina, com destaque ao anel benzodiazepínico



Fonte: Autora, 2012.

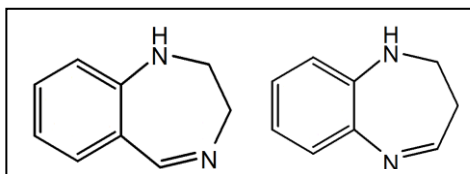
### 3.5 Complexos metálicos derivados de benzodiazepínicos

Os benzodiazepínicos são bem conhecidos por suas capacidades complexantes (SURESH et al., 2008). Existem relatos na literatura de complexos metálicos derivados de



dois tipos de benzodiazepínicos: 1,4- e 1,5-benzodiazepínicos, exemplificados a seguir, cujas estruturas básicas podem ser visualizadas na Figura 3.15.

**Figura 3.15** – Estrutura química básica dos 1,4- e 1,5-benzodiazepínicos, respectivamente



Fonte: Autora, 2012.

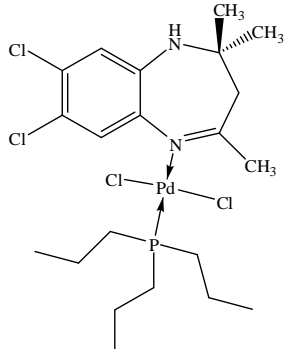
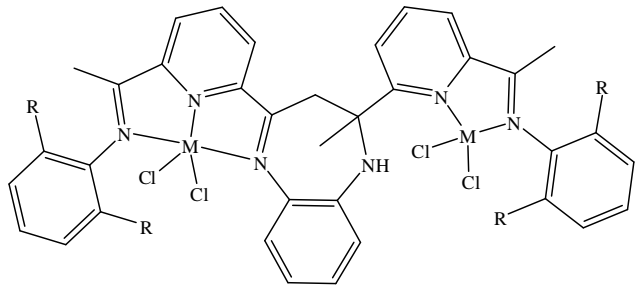
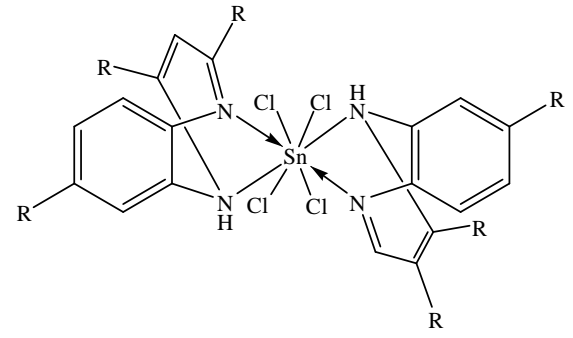
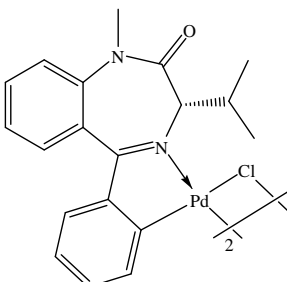
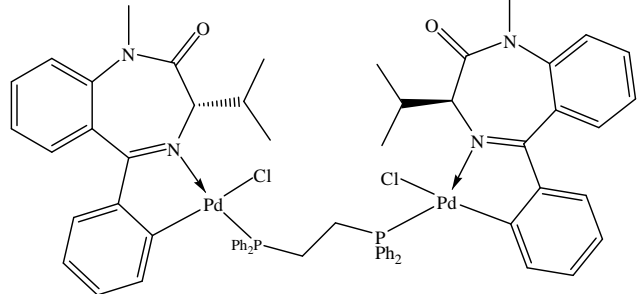
Há relatos na literatura da formação de complexos derivados de 1,5-benzodiazepínicos com diversos metais (Quadro 3.2): paládio(II) (AVERSA et al., 1990); platina(II) (AVERSA et al., 1991); estanho(IV) (SURESH et al., 2008); ferro(II); e cobalto(II) (ZHANG et al., 2007). Estes fragmentos 1,5-benzodiazepínicos podem se apresentar coordenados ao centro metálico como ligantes monodentados ou bidentados, cuja ligação metal-ligante ocorre através de um ou dos dois nitrogênios do anel benzodiazepínico; em alguns casos eles estão ligados a dois metais através de átomos de nitrogênio.

Os complexos derivados de 1,4-benzodiazepínicos relatados, com exceção dos que apresentam diazepam como ligante, são formados pela complexação com os seguintes metais (Quadro 3.2): cobre(II) (FORIZS et al., 1997; FORIZS et al., 1999; VIŠNJEVAC et al., 2001); zinco(II) (VIŠNJEVAC et al., 2002); paládio(II) (CINELLU et al., 1991; VIŠNJEVAC et al., 2002; SPENCER et al., 2008; SPENCER et al., 2009); e platina(II) (AVERSA et al., 1991). Nesses casos, a estrutura do complexo metálico pode se apresentar de maneira monodentada, bidentada ou tridentada e cuja ligação metal-ligante ocorre através de somente um nitrogênio do anel benzodiazepínico ou também a um ou dois átomos pertencentes a grupos substituintes do anel diazepínico, mais especificamente ao nitrogênio, oxigênio e/ou carbono.

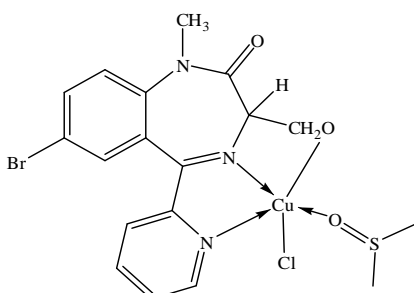
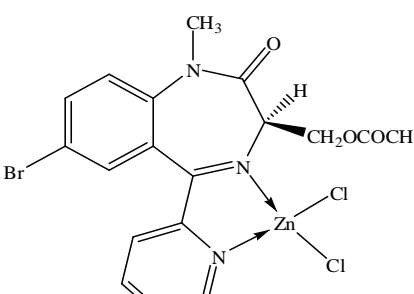
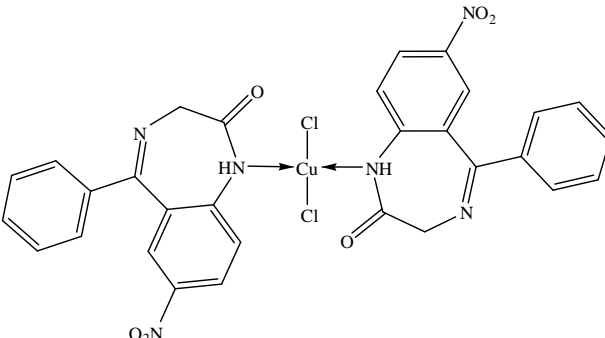
**Quadro 3.2** – Complexos metálicos derivados de 1,4- e 1,5-benzodiazepínicos relatados na literatura

Metais	Complexos metálicos	Referências
Platina(II)		Aversa et al., 1991

*Continua*

Metais	Complexos metálicos	Referências
Paládio(II)		Aversa et al., 1990
Ferro(II)	 <p>Onde: R = CH<sub>3</sub> e M = Fe</p>	Zhang et al., 2007
Estanho(IV)	 <p>Onde: R = CH<sub>3</sub></p>	Suresh et al., 2008
Paládio(II)		Spencer et al., 2008
Paládio(II)		Spencer et al., 2009

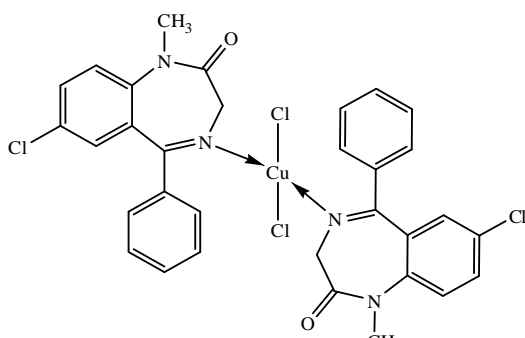
*Continua*

Metais	Complexos metálicos	Referências
Cobre(II)		Višnjevac et al., 2001
Zinco(II)		Višnjevac et al., 2002
Cobre(II)		Forizs et al., 1997

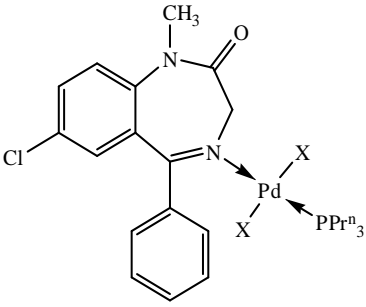
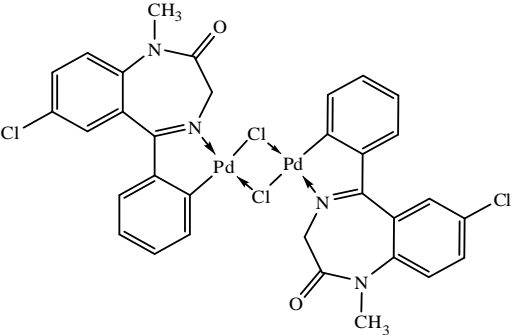
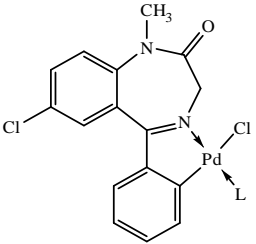
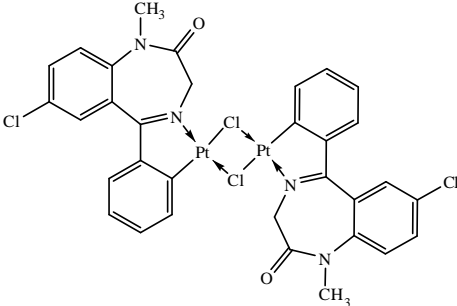
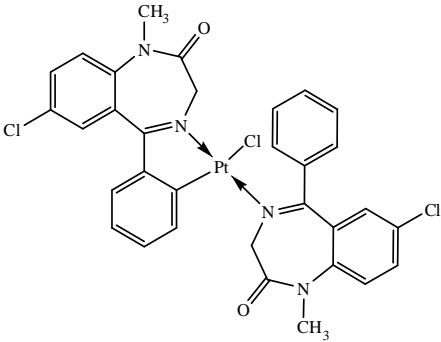
Fonte: Autora, 2012.

Todos os complexos derivados do diazepam encontrados na literatura podem ser visualizados no Quadro 3.3.

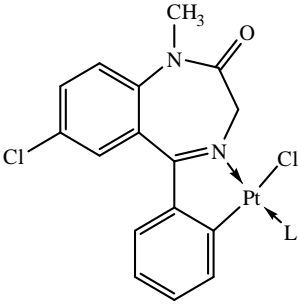
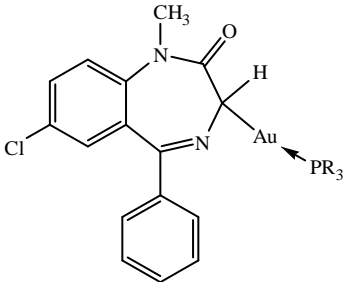
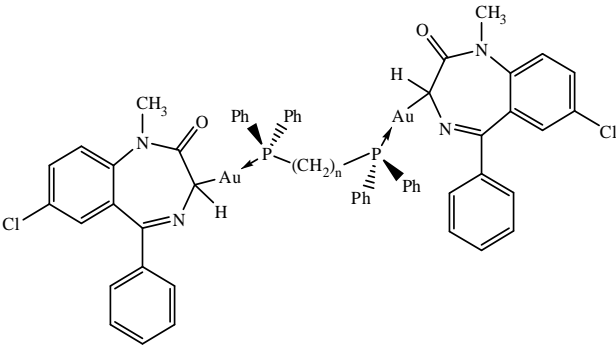
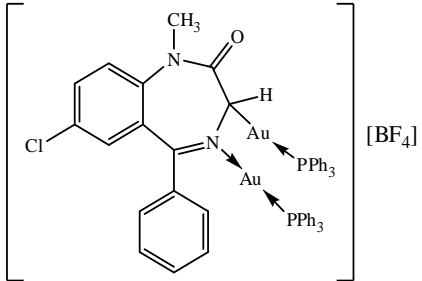
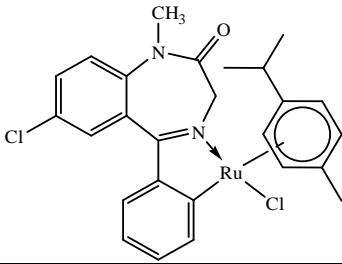
**Quadro 3.3** – Complexos metálicos derivados do diazepam relatados na literatura

Metais	Complexos metálicos	Referências
Cobre(II)		Mosset et al., 1980

*Continua*

Metais	Complexos metálicos	Referências
Paládio(II)	 <p>Onde: X = Cl ou I</p>	Cusumano et al., 1991
Paládio(II)		Cinellu et al., 1991
Paládio(II)	 <p>Onde: L = PPh<sub>3</sub> ou CO</p>	Cinellu et al., 1991
Platina(II)		Stoccoro et al., 1994
Platina(II)		Stoccoro et al., 1994

*Continua*

Metais	Complexos metálicos	Referências
Platina(II)	 <p>Onde: L = PPh<sub>3</sub>; 3,5-Me<sub>2</sub>-py ou CO</p>	Stoccoro et al., 1994
Ouro(I)	 <p>Onde: R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> ou C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>-4</p>	Minghetti et al., 1998
Ouro (I)	 <p>Onde: n = 2 ou 3</p>	Minghetti et al., 1998
Ouro (I)	 <p>[BF<sub>4</sub>]</p>	Minghetti et al., 1998
Rutênio(II)		Pérez et al., 2002

Continua

Metais	Complexos metálicos	Referências
Rutênio(II)		Pérez et al., 2002

Fonte: Autora, 2012.

Quanto ao estudo da atividade biológica desses complexos derivados de benzodiazepínicos, foram encontrados, até o momento, somente dois artigos; no entanto, nenhum avaliou a atividade anticonvulsivante dos complexos. Um dos artigos referidos apresenta estudos *in vitro* da atividade citostática e antiviral de complexos de Pd(II), Zn(II) e Cu(II) derivados de 1,4-benzodiazepínicos; um total de seis complexos (dois complexos de cada metal) foram analisados e os resultados revelaram que nenhum dos complexos apresenta atividade citostática em concentrações terapeuticamente significativas e todos os complexos apresentam nenhuma ou apenas atividade antiviral marginal (VIŠNJEVAC et al., 2002).

O outro artigo apresenta estudos *in vitro* de citotoxicidade contra uma linhagem celular de câncer humano e da atividade inibitória sobre a catepsina B (enzima envolvida em eventos relacionados ao câncer) bovina, onde foram analisados sete complexos de Pd(II) derivados de 1,4-benzodiazepínicos. Os resultados mostraram que três complexos apresentam boa atividade citotóxica (sendo dois desses, excelentes inibidores de catepsina B; e um desses, inibidor moderado), três apresentam moderada atividade citotóxica (dois desses também apresentaram moderada atividade inibitória sobre catepsina B e um desses apresentou-se como um fraco inibidor), e um foi essencialmente inativo com relação à citotoxicidade (e apresentou fraca atividade inibitória sobre a catepsina B) (SPENCER et al., 2009).

A partir desta revisão bibliográfica, é possível observar a importância do presente estudo, que tem como objetivo sintetizar complexos de paládio (II) derivados do diazepam (um benzodiazepínico) e avaliar a atividade anticonvulsivante destes complexos.

---

---

## **4 EXPERIMENTAL**

---

---

## 4 EXPERIMENTAL

### 4.1 Atividades desenvolvidas e locais de realização

As atividades desenvolvidas neste trabalho e seus respectivos locais de realização encontram-se no Quadro 4.1.

**Quadro 4.1** – Locais de realização das atividades experimentais

<b>Atividades</b>	<b>Locais de realização</b>
Síntese dos dímeros e monômeros de paládio(II) derivados do diazepam	Laboratório do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL), Maceió/AL
Análises de espectrometria de ressonância magnética nuclear	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do IQB/UFAL, Maceió/AL
Análises por espectrometria na região do infravermelho médio	Laboratório da Central Analítica do IQB/UFAL, Maceió/AL
Análises por difração de raios-x	Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular (LaboCrMM) do IQB/UFAL, Maceió/AL
Análises elementares	Central Analítica da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP
Análises de Espectrometria de Massas - MALDI-TOF	Centro de Tecnologia do Nordeste (CETENE), Recife/PE
Avaliação da atividade anticonvulsivante dos dímeros sintetizados	Laboratório de Farmacologia Pré-clínica (LAPEC) do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe (DFS/UFS), São Cristóvão/SE

Fonte: Autora, 2012.



## 4.2 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos complexos estão presentes no Quadro 4.2, com sua procedência e a fórmula molecular.

**Quadro 4.2** – Procedência e fórmula molecular dos reagentes e solventes

Reagentes e Solventes	Fórmula Molecular	Origem
Acetato de paládio (II)	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Pd	Aldrich
Ácido acético	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Vetec
Cloreto de lítio	LiCl	Acros Organics
Cloreto de paládio (II)	PdCl <sub>2</sub>	Sigma-Aldrich
Clorofórmio P.A.	CHCl <sub>3</sub>	Dinâmica
Diazepam	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O	União Química, Brasil, doação do Hospital Universitário/UFS
Hexano P.A.	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	Dinâmica
Metanol P.A.	CH <sub>4</sub> O	Dinâmica
Piridina P.A.	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N	Quimibrás Indústrias Químicas S.A
Trifenilfosfina	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> P	Aldrich

Fonte: Autora, 2012.

## 4.3 Instrumentação para caracterização

### 4.3.1 Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN)

As amostras foram preparadas em tubos para RMN e solubilizadas em solvente deuterado apropriado (CDCl<sub>3</sub> ou DMSO-*d*<sub>6</sub>, Sigma-Aldrich). As amostras foram analisadas por colaboradores do laboratório de RMN/IQB/UFAL, sob a coordenação do Prof. Dr. Edson de Souza Bento. O equipamento utilizado para as análises foi o Espectrômetro Bruker Avance 400. Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente e operando na frequência de 400,13 MHz para os núcleos de <sup>1</sup>H; 100,61 MHz para os núcleos de <sup>13</sup>C e 162,00 MHz para os núcleos de <sup>31</sup>P. Os deslocamentos químicos (δ) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram medidos usando-se como padrão interno o tetrametilsilano (TMS, δ = 0) e os de <sup>31</sup>P, usando-se como padrão externo o ácido fosfórico 85% (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, δ = 0).

### 4.3.2 Espectrometria no infravermelho médio (IV)

As análises por espectrometria na região do infravermelho médio foram realizadas no Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier, modelo IRPrestige-21, utilizando pastilhas de KBr contendo cerca de 1% da amostra. Os espectros abrangeram as regiões de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### 4.3.3 Difração de raios X

A caracterização do monocristal de DIAZPdClPy foi realizada pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Valéria Rodrigues dos Santos Malta, do LaboCrMM/IQB/UFAL. O equipamento utilizado para este tipo de caracterização foi o Difratorômetro Automático KappaCCD. A coleta de dados foi realizada a uma temperatura de 298 K utilizando-se a radiação monocromática  $\text{MoK}\alpha$  ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). Na etapa de determinação da estrutura cristalina e molecular (estrutura tridimensional) do complexo foi utilizado o pacote de programas WinGX.

### 4.3.4 Análise Elementar

As análises elementares de C, H e N foram realizadas junto a Central Analítica da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, empregando-se uma unidade *Perkin-Elmer CHN 2400*.

### 4.3.5 Espectrometria de Massas

As análises de Espectrometria de Massas - MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight) foram realizadas junto ao Centro de Tecnologia do Nordeste, CETENE, Recife/PE. As análises foram feitas sem o uso de matriz, utilizando-se um Espectrômetro de Massas AutoflexIII Maldi-TOF-TOF 200 / BrukerDaltonics.

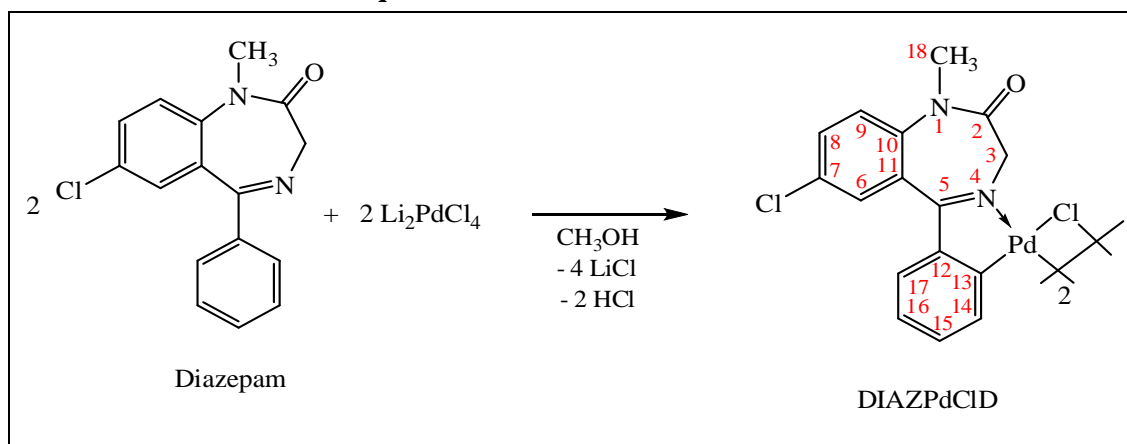
## 4.4 Procedimentos de síntese

Independente da fonte de paládio empregada para a preparação dos paladaciclos, os complexos diméricos foram sintetizados, de modo geral, sob agitação e refluxo enquanto que

suas respectivas formas monoméricas foram sintetizadas a temperatura ambiente somente sob agitação.

#### 4.4.1 Síntese do bis[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ -*C,N*}- $\mu_2$ -cloropaládio(II)], DIAZPdCID

Esquema 4.1 – Síntese do DIAZPdCID



Fonte: Autora, 2012.

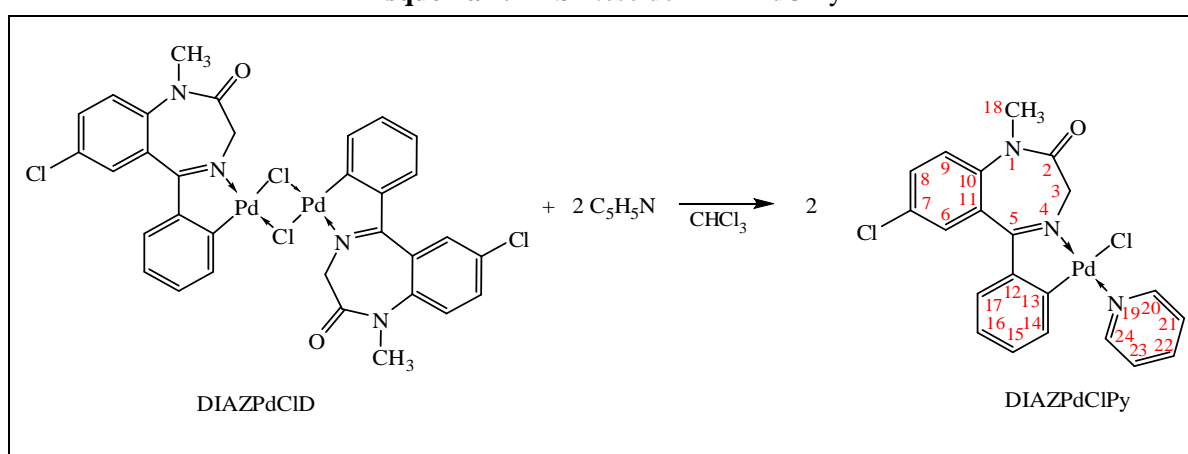
Inicialmente, preparou-se uma solução metanólica de  $\text{Li}_2\text{PdCl}_4$  a partir do seguinte procedimento: solubilizou-se o cloreto de lítio (0,1060 g; 2,50 mmol) em metanol (10 mL). Essa solução foi adicionada a um segundo frasco contendo cloreto de paládio(II) (0,1773 g; 1,00 mmol) que ficou sob agitação e aquecimento ( $T = 60^\circ\text{C}$ ) por 10 min. Logo após, filtrou-se o material, recuperando-se a solução de coloração castanho-escura de  $\text{Li}_2\text{PdCl}_4$ . A essa solução foi adicionado o pré-ligante Diazepam, 7-Cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-3*H*-1,4-benzodiazepina, (0,2847 g; 1,00 mmol) sob agitação, seguido de aquecimento sob refluxo ( $T \approx 75^\circ\text{C}$ ) por 1 hora e 30 minutos, Esquema 4.1. Após esse tempo, separou-se o precipitado do sobrenadante por filtração. O sólido obtido foi lavado com metanol até que o filtrado ficasse incolor. Por fim, secou-se o material em uma bomba de alto vácuo, obtendo-se assim um sólido amarelo. Rendimento: 75%.

Fórmula molecular (F.M.):  $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_2\text{Pd}_2$ . Massa molar (M.M.): 851,21 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz):  $m/z$ : 816 [M-Cl]. Anal. Elem. Teórico: C: 45,15; H: 2,84; N: 6,58. Experimental: C: 44,81; H: 2,89; N: 6,48. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3103-3021 ( $\nu$  C-H aromático); 1683 ( $\nu$  C=O e  $\nu$  C=N). RMN de  $^1\text{H}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): - Majoritário: 4,63 (d, 2H, H3a,  $J = 12,72$  Hz); 3,94 (d, 2H, H3b,  $J = 12,72$  Hz); 3,30 (s, 6H, H18); 5,52 (br sig, 2H, H14); 7,12 (br sig, 6H, H15, H16 e H17); 7,74 (m, 6H, H6, H8 e H9); - Minoritário:

4,41 (d, 1H, H3a,  $J = 12,72$  Hz); 3,88 (d, 1H, H3b,  $J = 12,72$  Hz); 3,16 (s, 3H, H18). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 178,04 (C5); 167,07 (C2); 153,99 (C13); 145,43 (C11); 142,20 (C10); 136,61 (C6); 132,91 (C15); 130,55 (C8); 130,08 (C12); 129,37 (C16); 129,19 (C17); 128,82 (C7); 125,03 (C14); 124,45 (C9); 54,47 (C3); 35,02 (C18).

#### 4.4.2 Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ -C,N}cloropiridinopaládio(II)], DIAZPdCIPy

Esquema 4.2 – Síntese do DIAZPdCIPy



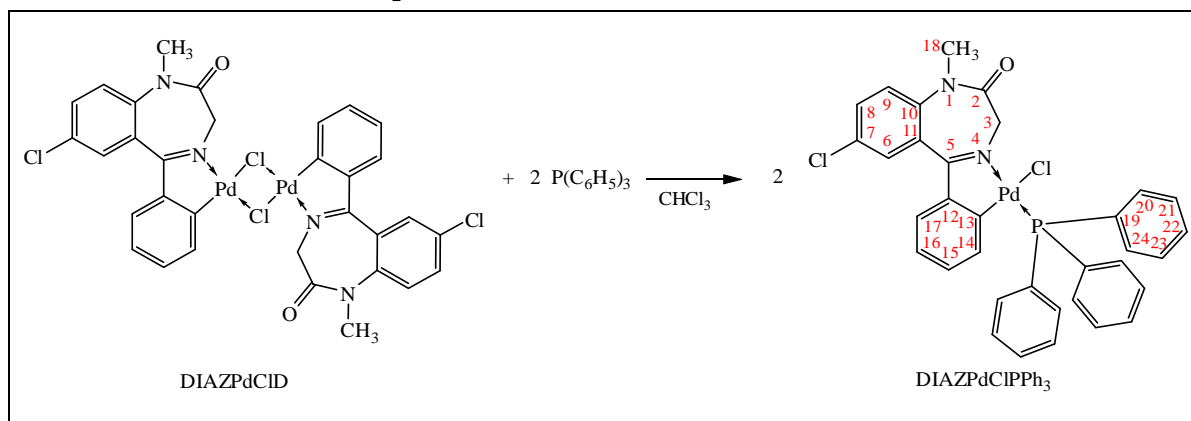
Fonte: Autora, 2012.

Preparou-se uma suspensão do DIAZPdClD (0,8514 g; 1,00 mmol) em clorofórmio (125 mL) e adicionou-se piridina (0,32 mL; 4,0 mmol), Esquema 4.2. A reação procedeu sob agitação em temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, hexano foi adicionado à solução obtida até completa precipitação do composto, o qual foi separado do sobrenadante e secado à vácuo, obtendo-se assim um sólido amarelo claro. Rendimento: 69%.

F.M.:  $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OPd}$ . M.M.: 504,71 g/mol. Anal. Elem. Teórico: C: 49,97; H: 3,40; N: 8,33. Experimental: C: 43,43; H: 2,97; N: 6,68. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3107-3022 ( $\nu$  C–H aromático); 1679 ( $\nu$  C=O e  $\nu$  C=N). RMN de  $^1\text{H}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 3,41 (s, 3H, H18); 3,82 (d, 1H, H3a,  $J = 12,56$  Hz); 5,92 (d, 1H, H3b,  $J = 12,56$  Hz); 6,26 (d, 1H, H14,  $J = 7,06$  Hz); 7,08 (m, 3H; H17, H16 e H15); 7,37 (d, 1H, H9,  $J = 8,63$  Hz); 7,49 (t, 2H, H21 e H23,  $J = 6,83$  Hz); 7,64 e 7,63 (s e d, 2H, H6 e H8,  $J = 8,63$  Hz); 7,91 (t, 1H, H22,  $J = 7,62$  Hz); 8,93 (d, 2H, H20 e H24,  $J = 5,06$  Hz). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 180,50 (C5); 168,69 (C2); 158,70 (C13); 153,19 (C20 e C24); 145,54 (C11); 142,04 (C10); 138,19 (C6); 132,62 (C15 e C22); 131,61 (C8); 130,07 (C16); 129,99 (C12); 129,47 (C17); 126,39 (C7); 125,62 (C21 e C23); 124,38 (C14); 123,26 (C9); 55,93 (C3); 34,97 (C18).

#### 4.4.3 Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ -C,N}clorotrifetilfosfinopaládio(II)], DIAZPdCIPPh<sub>3</sub>

Esquema 4.3 – Síntese do DIAZPdCIPPh<sub>3</sub>

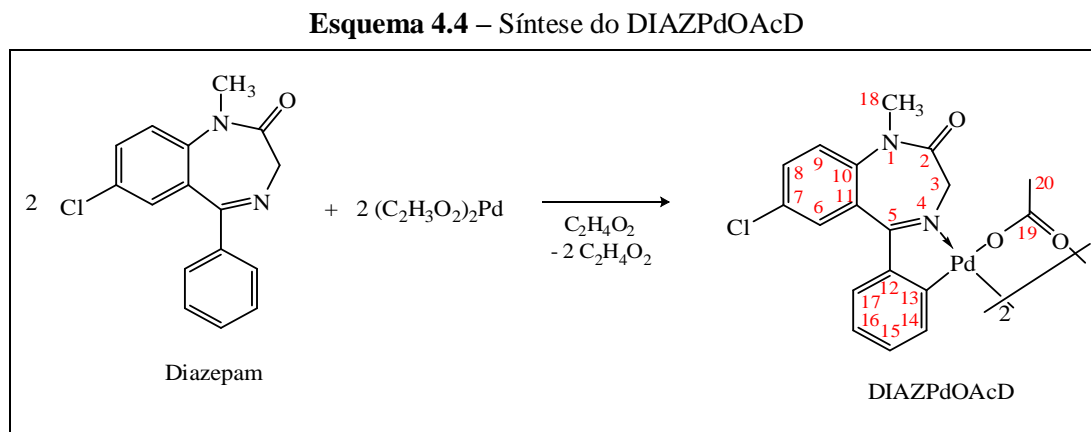


Fonte: Autora, 2012.

Preparou-se uma suspensão do DIAZPdCID (0,8514 g; 1,00 mmol) em clorofórmio (70 mL) e adicionou-se uma solução de trifetilfosfina (0,5246 g; 2,00 mmol) em clorofórmio (10 mL), Esquema 4.3. A reação foi deixada sob agitação e à temperatura ambiente por 1 hora. Após esse tempo, adicionou-se hexano à solução obtida até completa precipitação do composto, o qual foi separado do sobrenadante e secado à vácuo, obtendo-se assim um sólido branco levemente amarelado. Rendimento: 99%.

F.M.: C<sub>34</sub>H<sub>27</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>OPPd. M.M.: 687,89 g/mol. Anal. Elem. Teórico: C: 59,36; H: 3,96; N: 4,07. Experimental: C: 58,81; H: 3,87; N: 4,11. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3102-3004 ( $\nu$  C-H aromático); 1686 ( $\nu$  C=O e  $\nu$  C=N). RMN de <sup>1</sup>H (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 3,39 (s, 3H, H18); 3,77 (dd, 1H, H3a,  $J_{H-P} = 12,43$  e 3,75 Hz); 6,16 (dd, 1H, H3b,  $J_{H-P} = 12,42$  e 3,00 Hz); 6,56 (m, 1H, H14); 6,61 (t, 1H, H15,  $J = 7,41$  Hz); 6,91 (t, 1H, H16,  $J = 7,38$  Hz); 7,11 (d, 1H, H17,  $J = 7,24$  Hz); 7,42 (m, 10H, H9, H21, H22, H23); 7,62 (dd, 1H, H8,  $J = 8,80$  e 2,33 Hz); 7,70 (d, 1H, H6,  $J = 2,28$  Hz); 7,78 (dd, 6H, H20, H24,  $J = 11,55$  e 7,87 Hz). RMN de <sup>13</sup>C (100MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 180,38 (d, 1C, C5,  $J_{C-P} = 3,50$  Hz); 169,33 (s, 1C, C2); 159,37 (s, 1C, C13); 147,12 (s, 1C, C11); 142,33 (s, 1C, C10); 139,06 (d, 3C, C19,  $J_{C-P} = 11,38$  Hz); 135,48 (d, 6C, C20, C24,  $J_{C-P} = 12,00$  Hz); 132,46 (s, 1C, C6); 131,29 (s, 1C, C15); 130,82 (d, 3C, C22,  $J_{C-P} = 2,60$  Hz); 130,73 (s, 1C, C8); 130,67 (s, 1C, C7); 129,85 (s, 1C, C16); 129,69 (s, 1C, C17); 128,11 (d, 6C, C21, C23,  $J_{C-P} = 10,98$  Hz); 127,21 (d, 1C, C12,  $J_{C-P} = 2,55$  Hz); 123,69 (s, 1C, C14); 123,10 (s, 1C, C9); 54,10 (s, 1C, C3); 34,86 (s, 1C, C18). RMN de <sup>31</sup>P (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 42,54.

#### 4.4.4 Síntese do bis[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ -*C,N*}- $\mu_2$ -acetatopaládio(II)], DIAZPdOAcD

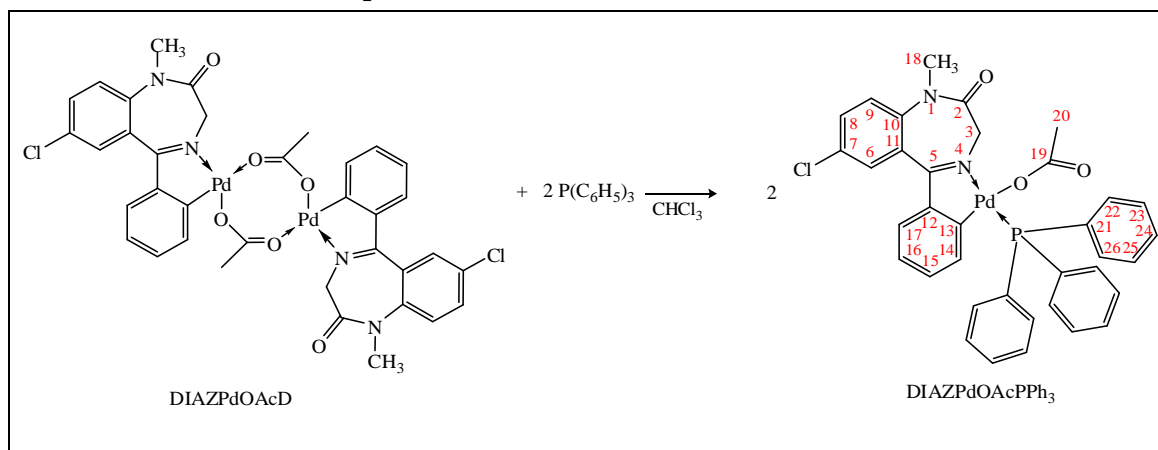


Preparou-se uma suspensão de acetato de paládio(II) (0,1998 g; 0,89 mmol) em ácido acético (15 mL) e, em seguida, adicionou-se o diazepam (0,2847 g; 1,00 mmol), Esquema 4.4. A reação procedeu sob agitação e refluxo ( $T = 127\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 1 hora. Após esse tempo, filtrou-se o material obtido, o qual foi colocado sob vácuo para retirar todos os voláteis. Em seguida, ao material sólido, adicionou-se clorofórmio em quantidade suficiente para solubilizar o mesmo e hexano até completa precipitação do composto desejado, sendo secado à vácuo, obtendo-se assim um sólido laranja. Rendimento: 84%.

F.M.:  $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_6\text{Pd}_2$ . M.M.: 898,39 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz):  $m/z$ : 839 [M-OAc]. Anal. Elem. Teórico: C: 48,13; H: 3,37; N: 6,24. Experimental: C: 48,51; H: 3,58; N: 6,11. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3109-3012 ( $\nu$  C–H aromático); 1687 ( $\nu$  C=O e  $\nu$  C=N); 1562 e 1417 ( $\nu$  as/s COO). RMN de  $^1\text{H}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): - Majoritário: 4,36 (d, 2H, H3a,  $J = 12,80$  Hz); 3,32 (d, 2H, H3b,  $J = 12,68$  Hz); 3,32 (s, 6H, H18); 2,25 (s, 6H, H20); - Minoritário: 4,23 (d, 1H, H3a,  $J = 12,93$  Hz); 3,80 (d, 1H, H3b,  $J = 13,06$  Hz); 3,68 (d, 1H, H3c,  $J = 12,93$  Hz); 3,26 e 3,16 (s, 6H, H18); 3,04 (d, 1H, H3d,  $J = 12,93$  Hz); 2,32 e 2,31 (s, 6H, H20). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 181,90 (C19); 177,96 (C5); 168,24 (C2); 156,59 (C13); 144,18 (C11); 141,34 (C10); 132,42 (C6); 132,32 (C15); 130,06 (C8); 129,57 (C12); 128,97 (C16); 128,81 (C17); 125,49 (C7); 124,05 (C14); 123,23 (C9); 55,70 (C3); 35,07 (C18); 24,59 (C20).

#### 4.4.5 Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- $\kappa^2$ -*C,N*}acetatotrifenilfosfinopaládio(II)], DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>

Esquema 4.5 – Síntese do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>



Fonte: Autora, 2012.

Preparou-se uma solução de DIAZPdOAcD (0,8985 g; 1,00 mmol) em clorofórmio (30 mL) e adicionou-se uma solução de trifenilfosfina (0,5246 g; 2,00 mmol) em clorofórmio (10 mL), Esquema 4.5. A reação procedeu sob agitação e à temperatura ambiente por 1 hora. Após esse tempo, adicionou-se hexano até completa precipitação de um composto marrom escuro. Em seguida, separou-se o sobrenadante do precipitado o qual foi secado à vácuo; obtendo-se, assim, um sólido amarelo. Rendimento: 52%.

F.M.: C<sub>36</sub>H<sub>30</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PPd. M.M.: 711,48 g/mol. Anal. Elem. Teórico: C: 60,77; H: 4,25; N: 3,94. Experimental: C: 59,85; H: 4,38; N: 3,88. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3093-3014 ( $\nu$  C–H aromático); 1687 ( $\nu$  C=O e  $\nu$  C=N); 1574 e 1383 ( $\nu$  as/s COO). RMN de <sup>1</sup>H (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,44 (s, 3H, H20); 3,40 (s, 3H, H18); 3,81 (dd, 1H, H3a,  $J_{H-P} = 12,50$  e 3,53 Hz); 4,92 (dd, 1H, H3b,  $J_{H-P} = 12,50$  e 2,86 Hz); 6,56 (m, 1H, H14); 6,61 (t, 1H, H15,  $J = 7,37$  Hz); 6,90 (t, 1H, H16,  $J = 7,40$  Hz); 7,10 (d, 1H, H17,  $J = 7,69$  Hz); 7,41 (m, 10H, H9, H23, H24, H25); 7,18 (dd, 1H, H8,  $J = 8,81$  e 1,59 Hz); 7,69 (d, 1H, H6,  $J = 2,05$  Hz); 7,82 (dd, 6H, H22, H26,  $J = 11,57$  e 7,85Hz). RMN de <sup>13</sup>C (100MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 179,60 (d, 1C, C19,  $J_{C-P} = 3,31$  Hz); 177,22 (s, 1C, C5); 169,21 (s, 1C, C2); 156,56 (s, 1C, C13); 146,90 (s, 1C, C11); 142,26 (s, 1C, C10); 139,63 (d, 3C, C21,  $J_{C-P} = 11,18$  Hz); 135,44 (d, 6C, C22, C26,  $J_{C-P} = 12,28$  Hz); 132,46 (s, 1C, C6); 130,71 (d, 3C, C24,  $J_{C-P} = 2,35$  Hz); 130,63 (s, 1C, C15); 130,51 (s, 1C, C8); 130,25 (s, 1C, C16); 130,02 (s, 1C, C17); 129,90 (s, 1C, C7); 128,26 (d, 6C, C23, C25,  $J_{C-P} = 10,90$  Hz); 126,94 (d, 1C, C12,  $J_{C-P} = 2,76$  Hz); 123,56 (s,

1C, C14); 123,13 (s, 1C, C9); 54,08 (s, 1C, C3); 35,02 (s, 1C, C18); 23,42 (s, 1C, C20). RMN de  $^{31}\text{P}$  (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): - Majoritário: 40,59; - Minoritário: 42,54.

#### 4.5 Avaliação da atividade anticonvulsivante

A avaliação da atividade anticonvulsivante foi realizada por colaboradores do LAPEC/DFS/UFS, sob orientação do Prof. Dr. Lucindo José Quintans-Júnior. Foram utilizados dois tipos de testes farmacológicos, ambos *in vivo* e por estimulação química: um utilizou pentilenotetrazol (PTZ) como indutor das convulsões e o outro utilizou picrotoxina (PIC). Para a realização de tais testes, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem *Swiss*, machos, albinos, pesando entre 25 – 33 gramas (Figura 4.1), procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe, selecionados e alojados em gaiolas de polipropileno, contendo cinco animais cada, mantidos sob condições controladas de temperatura de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas (fase clara: 06:00 – 18:00 horas), tendo livre acesso a alimentação (tipo pellets de ração da marca comercial Purina®) e água.

**Figura 4.1** – Camundongo Swiss (*Mus musculus*)



Fonte: <http://www.unifenas.br/pesquisa/bioterio/animais.asp>

Antes da realização dos protocolos experimentais, os animais foram colocados no ambiente de trabalho (laboratório), por pelo menos trinta minutos de antecedência à execução do experimento, visando à adaptação ao ambiente novo e evitar possíveis alterações comportamentais dos animais.

Todos os protocolos experimentais propostos respeitaram os critérios éticos de experimentação animal preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e *International Council for Laboratory Animal Science* (ICLAS). Além disso, o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Sergipe (CEPA/UFS Nº 91/11).



#### 4.5.1 Teste das convulsões induzidas pelo PTZ

Neste teste, grupos de oito camundongos machos (n=8, por grupo) foram pré-tratados, por via intraperitoneal (i.p.), com solução tween 80 a 0,2% em água destilada (veículo); DIAZPdCID ou DIAZPdOAcD nas doses 1,5; 3 e 6 mg/kg (i.p.) e diazepam (DPZ, 6 mg/kg, i.p.). Grupos adicionais foram pré-tratados com flumazenil (FLU, Roche, Brasil) 15 minutos antes dos tratamentos com DIAZPdCID, DIAZPdOAcD ou DZP (padrão).

Transcorridos 60 minutos dos pré-tratamentos, administrou-se em todos os animais, o PTZ na dose de 60 mg/kg (i.p.), conforme metodologia descrita por Smith, Wilcox e White (2007). Imediatamente após essa administração, procedeu-se a observação dos seguintes parâmetros: latência para o aparecimento das convulsões, percentual de convulsões e número de mortes. Os animais foram observados individualmente durante um período de 15 minutos, no que se refere aos primeiros parâmetros; já o número de mortes foi avaliado até 24 horas após a administração do agente convulsivante.

#### 4.5.2 Teste das convulsões induzidas pela PIC

Para este experimento, os animais foram divididos em grupos de oito camundongos machos (n=8, por grupo). O grupo controle recebeu o veículo (solução tween 80 a 0,2% em água destilada). Os grupos experimentais foram pré-tratados com DIAZPdCID ou DIAZPdOAcD nas doses 3 e 6 mg/kg (i.p.). O grupo padrão recebeu DZP na dose 6 mg/kg (i.p.). Após 60 minutos das administrações, todos os animais foram tratados com PIC na dose 8 mg/kg (i.p.). Em seguida, procedeu-se a observação dos seguintes parâmetros: latência para o aparecimento das convulsões e percentual de convulsões, durante 20 minutos, e número de mortes, durante um período de 24 horas para cada animal.

#### 4.5.3 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados obtidos nos testes *in vivo* entre os grupos foi realizada obedecendo à particularidade de cada experimento. Foram utilizados os testes de Análise de Variância (ANOVA) com uma classificação (one-way), seguido do Teste de Tukey para medidas paramétricas e o teste de Fisher para medidas não paramétricas. Os resultados só foram considerados significativos quando apresentaram  $p < 0,05$ .

---

---

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

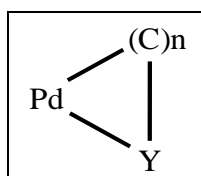
---

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Síntese dos paladaciclos

Os paladaciclos são complexos que apresentam em sua estrutura no mínimo um anel intramolecular envolvendo o paládio, pertencentes à classe dos metalaciclos, onde os complexos mais estáveis apresentam anel intramolecular de cinco membros. Esses complexos podem apresentar coordenação intramolecular organometálica, ou seja, o paládio pode estar diretamente ligado a um átomo de carbono (Figura 5.1) (OMAE, 2004).

**Figura 5.1** – Paladaciclos organometálicos



$n \geq 1$ ; Y = O, N, S, P, As

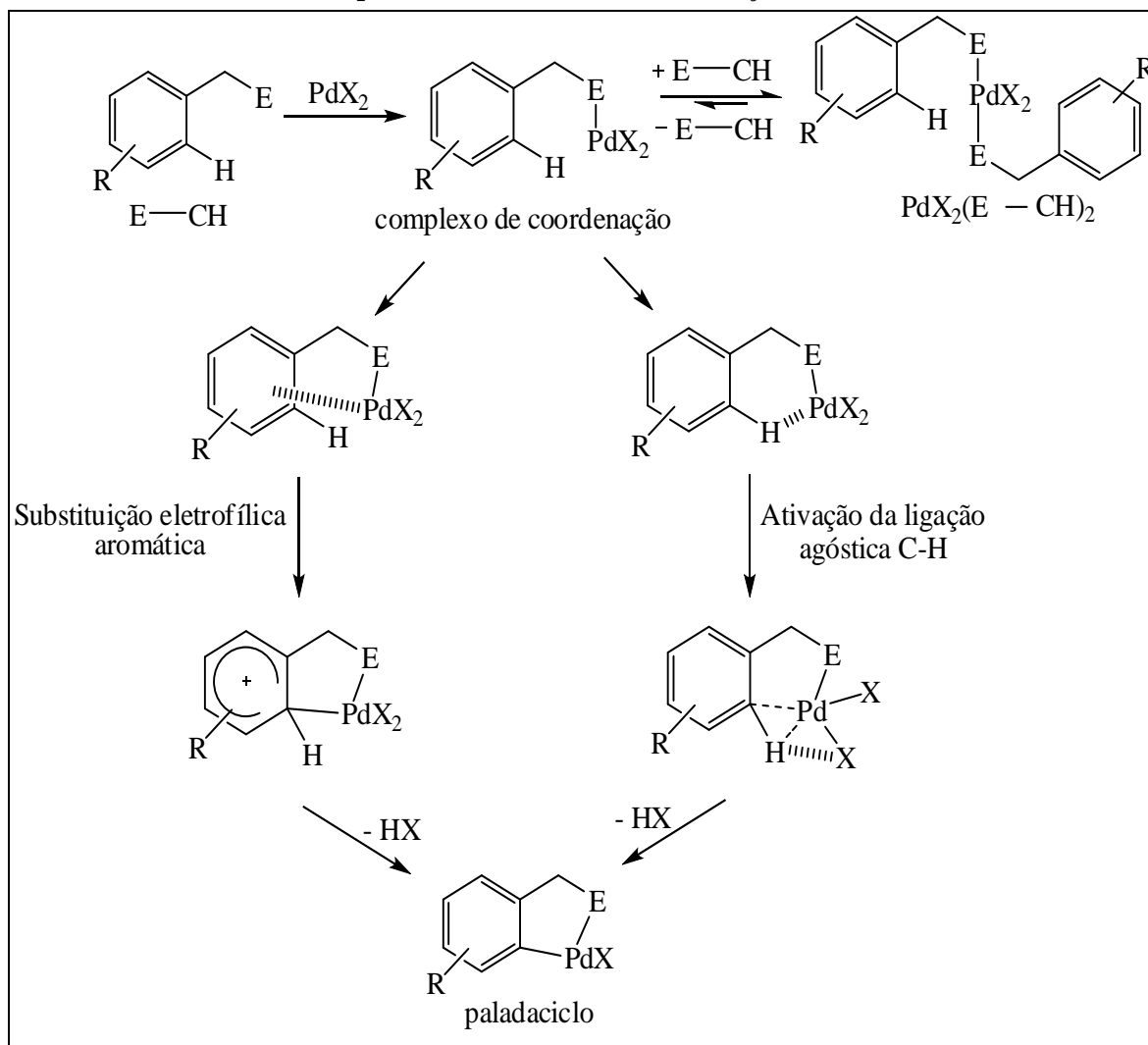
Fonte: Adaptado de OMAE, 2004.

A metodologia de síntese dos paladaciclos deste trabalho mostrou-se rápida, pois o tempo reacional não ultrapassou 1 hora e 30 minutos, e eficaz, pois foi possível obter os complexos desejados em bom rendimento. Primeiramente, obtivemos os paladaciclos diméricos através de reação de ciclometalação, envolvendo a ativação da ligação C-H, partindo dos sais  $\text{PdCl}_2$  e  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  como fontes de paládio; e, a partir desses, sintetizamos seus respectivos paladaciclos monoméricos, utilizando ligantes nitrogenado e fosforado (bases de Lewis), mais especificamente piridina e trifenilfosfina, respectivamente.

A reação de ciclopaladação envolvendo a ativação da ligação C-H, que resultou na formação dos complexos diméricos sintetizados, pode ser explicada por meio de dois mecanismos reacionais (Esquema 5.1, pág. 58): um consiste na reação de substituição eletrofílica aromática e o outro refere-se à reação envolvendo a formação de ligação agóstica. Na primeira etapa, em ambos os mecanismos reacionais, ocorre a coordenação do nitrogênio imínico (átomo coordenante) do diazepam ao paládio (centro metálico), o que aproxima o metal do substituinte 5-fênica do diazepam, mais especificamente dos carbonos  $\beta$  e  $\gamma$ , permitindo que as outras etapas ocorram. Posteriormente, no caso da reação de substituição eletrofílica aromática ocorre a formação de um complexo  $\pi$ , que em seguida se rearranja em um complexo  $\sigma$ ; finalizando, ocorre a formação do paladaciclo devido a abstração de um dos

prótons em orto do substituinte 5-fenila do diazepam. Já no outro mecanismo, após a coordenação do nitrogênio ao paládio, ocorre a formação de uma ligação agóstica entre o paládio e uma das ligações Corto-H do substituinte 5-fenila do diazepam, seguido da formação de um complexo agóstico e, finalizando, do paladaciclo, que ocorre da mesma forma que no mecanismo anterior (OMAE, 2004; ALBRECHT, 2008).

Esquema 5.1 – Mecanismos de ativação C–H



Fonte: ALBRECHT, 2008.

Na literatura encontramos relatos de metalacilos derivados do diazepam com os seguintes metais: Pd(II) (CINELLU et al., 1991), Pt(II) (STOCCORO et al., 1994) e Ru(II) (PÉREZ et al., 2002); dentre esses, são relatados por Cinellu e colaboradores (1991) os complexos DIAZPdCID e DIAZPdCIPPh<sub>3</sub> descritos neste trabalho, no entanto, não foram encontrados estudos que avaliassem a atividade anticonvulsivante desses complexos. Todos esses metalacilos derivados do diazepam formam anel intramolecular de 5 membros por

meio de ligação envolvendo o átomo de N(4) e um dos átomos de C orto do substituinte 5-fenila, da mesma maneira que os complexos descritos neste trabalho; com exceção de um complexo de Ru(II), que apresenta anel intramolecular de 3 membros, onde a ligação envolve o átomo de N(4), mesmo átomo de ligação dos outros complexos, e o átomo de C(3) do anel diazepínico. O maior número de complexos com anel intramolecular de cinco membros provavelmente ocorre por esses serem os metalaciclos mais estáveis, como dito anteriormente.

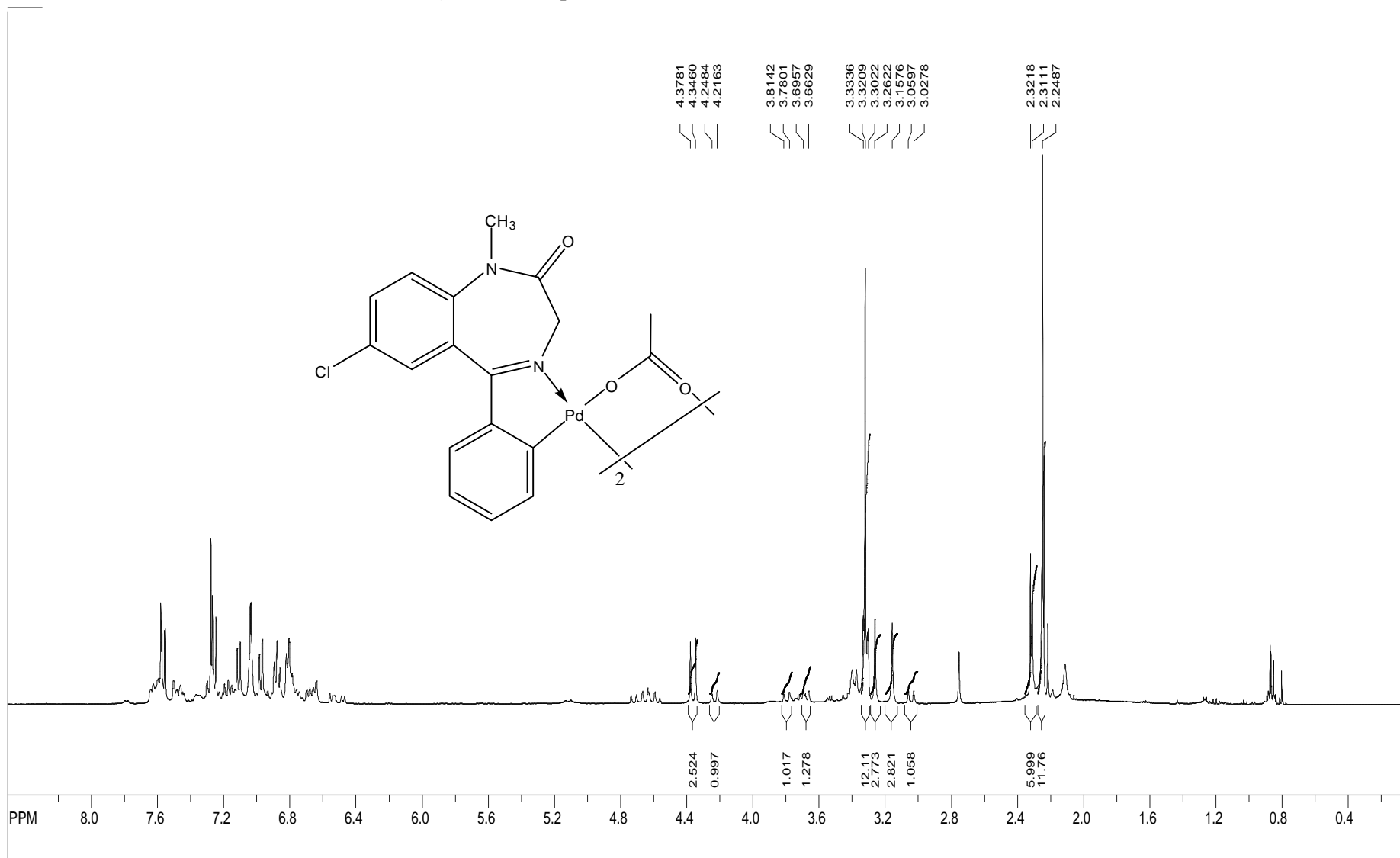
Todos os complexos sintetizados são sólidos à temperatura ambiente e apresentam coloração que varia do laranja ao amarelo. Quanto à solubilidade, todos são insolúveis em água e solúveis em dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), diclorometano e clorofórmio, no entanto, estes dois últimos não solubilizam o DIAZPdCID.

## 5.2 Caracterização dos paladaciclos

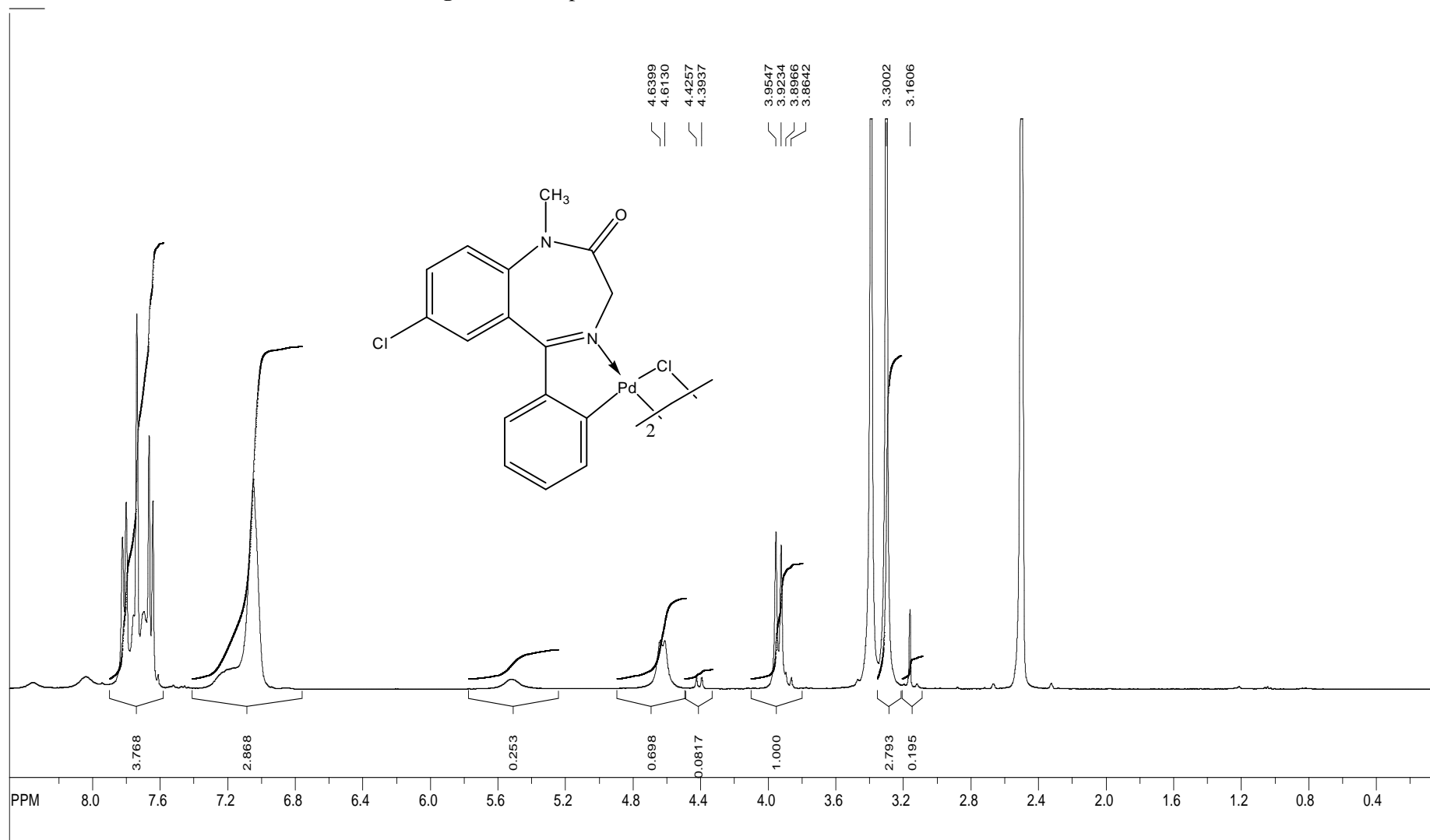
A caracterização de todos os complexos sintetizados foi realizada por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , análise elementar e espectrometria no infravermelho. Além disso, os paladaciclos diméricos tiveram sua confirmação obtida também por meio de espectrometria de massas; os complexos monoméricos DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> e DIAZPdCIPPh<sub>3</sub> tiveram sua formação evidenciada também por RMN de  $^{31}\text{P}$  e o complexo monomérico DIAZPdCIPy foi caracterizado também por difração de raios X.

### 5.2.1 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ (RMN de $^1\text{H}$ )

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos paladaciclos diméricos, observados nas Figuras 5.2 (pág. 60) e 5.3 (pág. 61), mostram-se de difícil resolução devido à alta fluxionalidade que estes complexos apresentam e à interconversão entre os isômeros cisóide e transóide em solução, o que resulta em espectros com grande número de sinais superpostos e ou alargados. No entanto, foi possível atribuir os sinais referentes aos hidrogênios do grupo metila ligado ao nitrogênio 1 do anel benzodiazepínico, e no caso do DIAZPdOAcD, também foi possível atribuir os sinais simpletos referentes aos hidrogênios da metila da ponte acetato ( $\delta = 2,24$  ppm); além disso, foi possível observar os sinais típicos referentes aos hidrogênios aromáticos do diazepam com deslocamentos químicos entre 8,4 e 6,4 ppm.

Figura 5.2 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdOAcD em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

**Figura 5.3** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdCID em  $\text{DMSO-d}_6$ 

Fonte: Autora, 2012.

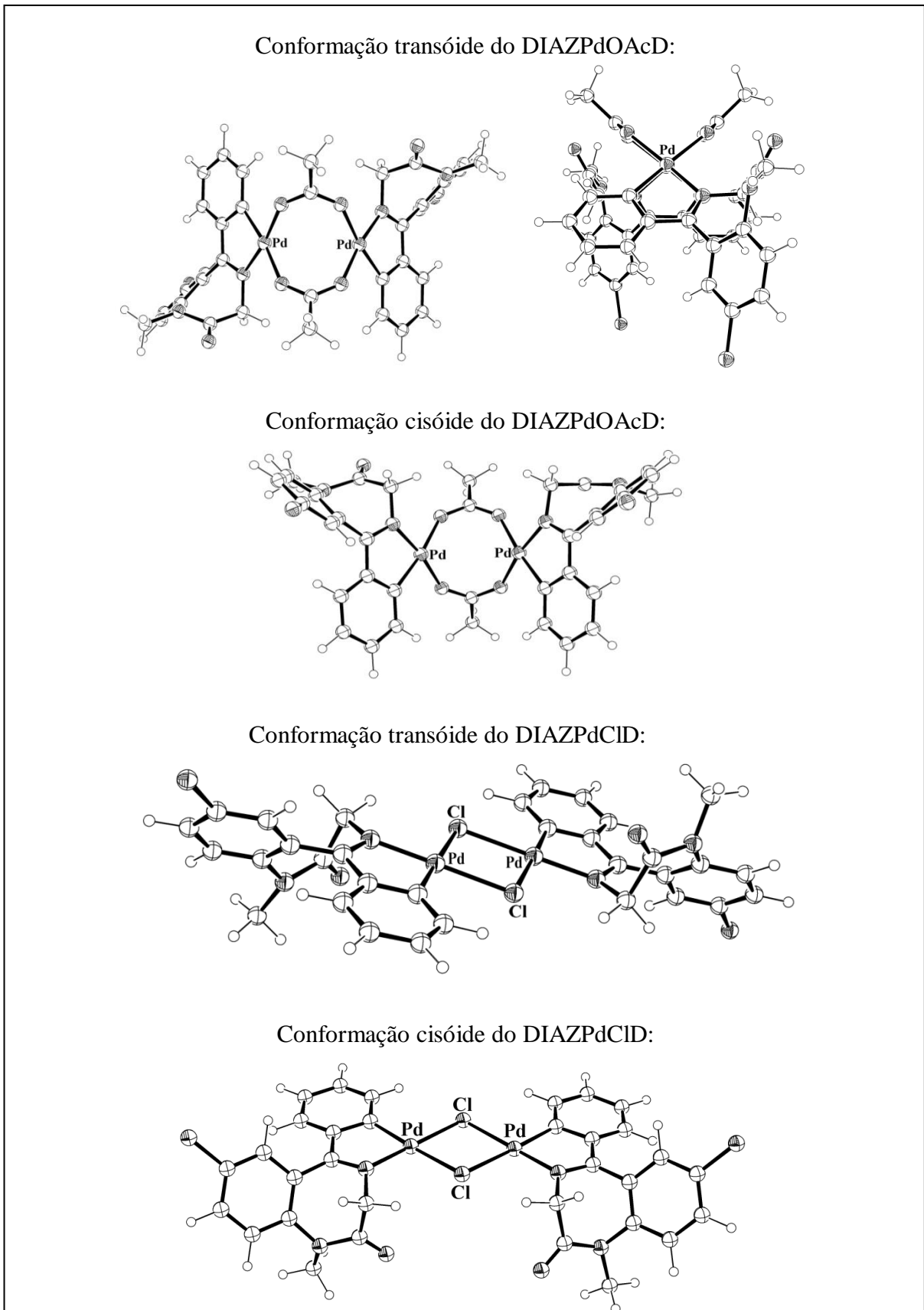
Tipicamente os sinais dos hidrogênios metilênicos do anel diazepínico são vistos como dois sinais (por serem diastereotópicos) para o isômero transóide; por outro lado, para o isômero cisóide são observados quatro sinais, no caso do DIAZPdOAcD, e dois sinais, no caso do DIAZPdClD (os outros sinais não puderam ser visualizados provavelmente por estarem superpostos a outros sinais de maior intensidade); isto ocorre pois esses hidrogênios estão em ambientes magnéticos distintos. A integração entre os sinais majoritários e minoritários foi empregada para a constatação da proporção entre os dois isômeros dos complexos, com isso, verificou-se que o DIAZPdOAcD tem uma razão de aproximadamente 1:1 e o DIAZPdClD de aproximadamente 4:1, entre os isômeros transóide:cisóide; a maior semelhança quantitativa entre os isômeros do DIAZPdOAcD com relação ao do DIAZPdClD resultou em um espectro de maior dificuldade de interpretação. Para facilitar a interpretação dos resultados de RMN de  $^1\text{H}$ , o Esquema 5.2 (pág. 63) ilustra as típicas geometrias dos isômeros cisóide e transóide para os dímeros contendo ponte de acetato e o de cloro.

Para melhor atribuir os sinais dos hidrogênios aromáticos do diazepam, adicionamos piridina deuterada aos dímeros; dessa forma, através dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos monômeros gerados em solução, derivados do DIAZPdOAcD e do DIAZPdClD (Apêndices A e B, respectivamente), foi possível observar todos os sinais dos hidrogênios do diazepam com exceção de um próton, o que indica a ocorrência da ligação organometálica entre o paládio e o diazepam, além do sinal do hidrogênio da metila do grupo acetato ( $\delta = 2,28 \text{ ppm}$ ), no caso do monômero derivado do DIAZPdOAcD; deduzindo-se, assim, a formação dos paladaciclos diméricos. Ver Tabelas 5.1 e 5.2 (ambas podem ser encontradas na pág. 64).

No espectro do DIAZPdClPy (Figura 5.4, pág. 65) além dos sinais referentes aos hidrogênios do diazepam desprotonado, também é possível observar o acréscimo de três sinais típicos de hidrogênios aromáticos com deslocamentos químicos entre 9,0 e 7,4 *ppm*, que são os sinais referentes aos hidrogênios da piridina (duplete com  $\delta = 8,93 \text{ ppm}$  referente aos hidrogênios em orto, tripleto com  $\delta = 7,90 \text{ ppm}$  referente ao hidrogênio em para, e tripleto  $\delta = 7,49 \text{ ppm}$  referente aos hidrogênios em meta, na proporção de 2:1:2); a multiplicidade e os valores das integrais de todos esses sinais, em conjunto, confirmam a formação deste monômero.



**Esquema 5.2** – Conformações cisóide e transóide, obtidas através de cálculo teórico, dos dímeros DIAZPdOAcD e DIAZPdClD



Fonte: Autora, 2012.

**Tabela 5.1** – RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdOAcD com piridina deuterada, em  $\text{CDCl}_3$ 

$\delta$ (ppm)	Multiplicidade	Integral	$J$ (Hz)	Atribuição
2,28	s	3	–	H20
3,39	s	3	–	H18
3,81	d	1	12,85	H3a
4,89	d	1	12,85	H3b
6,28	d	1	7,56	H14
7,01	m	2	–	H15 e H16
7,11	d	1	7,56	H17
7,35	d	1	8,69	H9
7,61	d	1	2,27	H8
7,63	s	1	–	H6

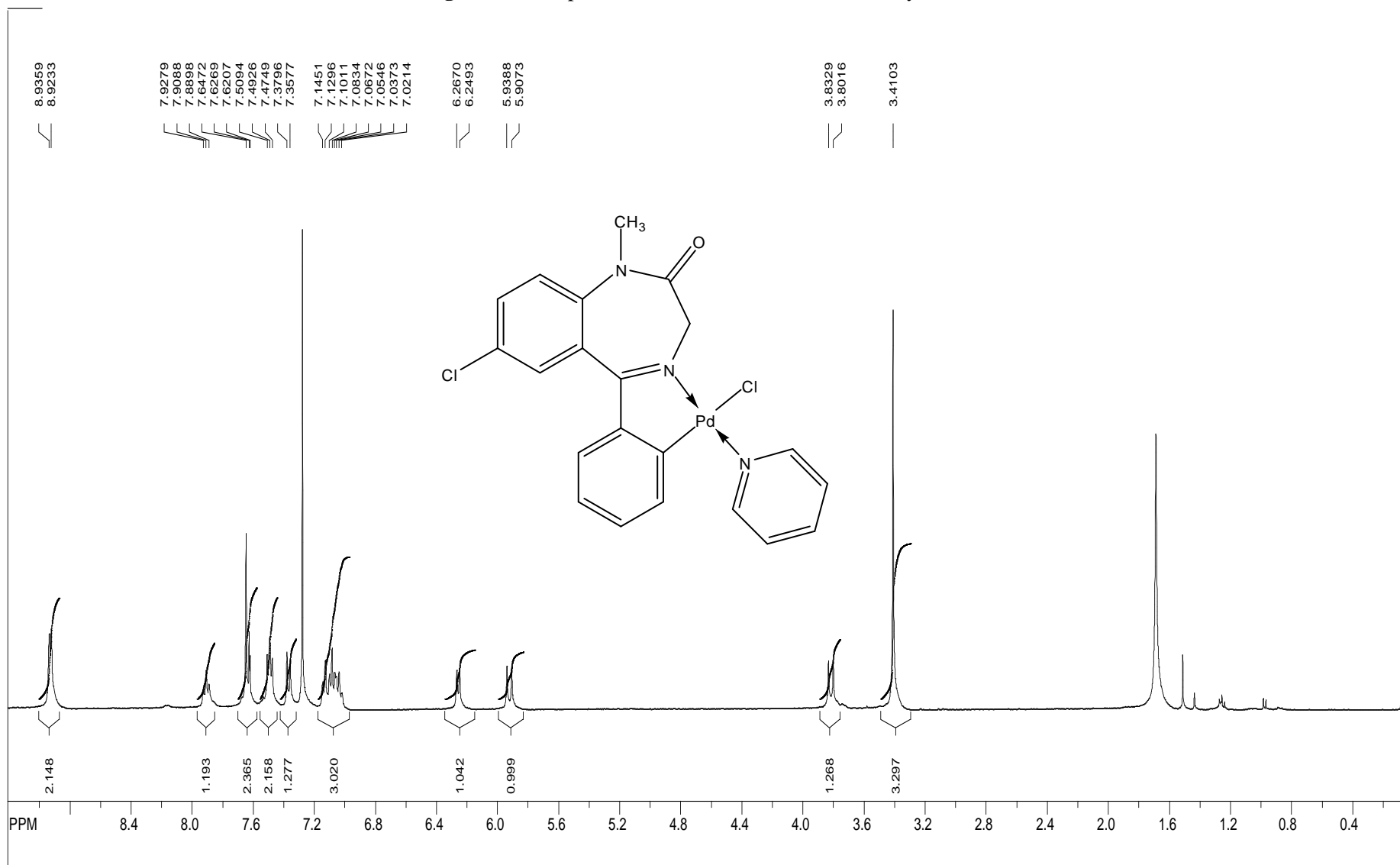
Fonte: Autora, 2012.

**Tabela 5.2** – RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdCID com piridina deuterada, em  $\text{CDCl}_3$ 

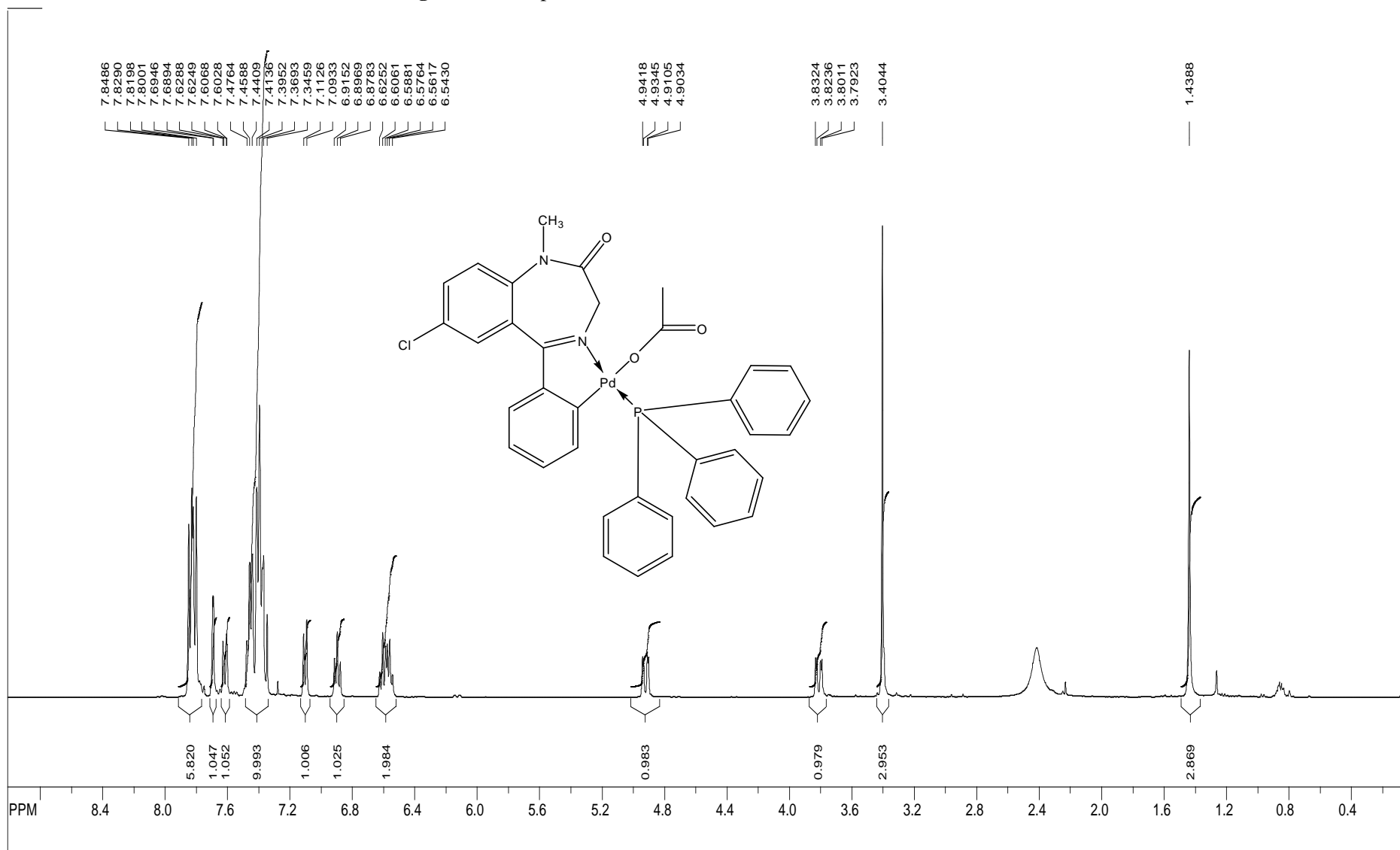
$\delta$ (ppm)	Multiplicidade	Integral	$J$ (Hz)	Atribuição
3,38	s	3	–	H18
3,79	d	1	12,50	H3a
5,84	br sig	1	–	H3b
6,28	br sig	1	–	H14
7,06	m	3	–	H15, H16 e H17
7,33	d	1	8,56	H9
7,59	d	1	2,55	H8
7,62	s	1	–	H6

Fonte: Autora, 2012.

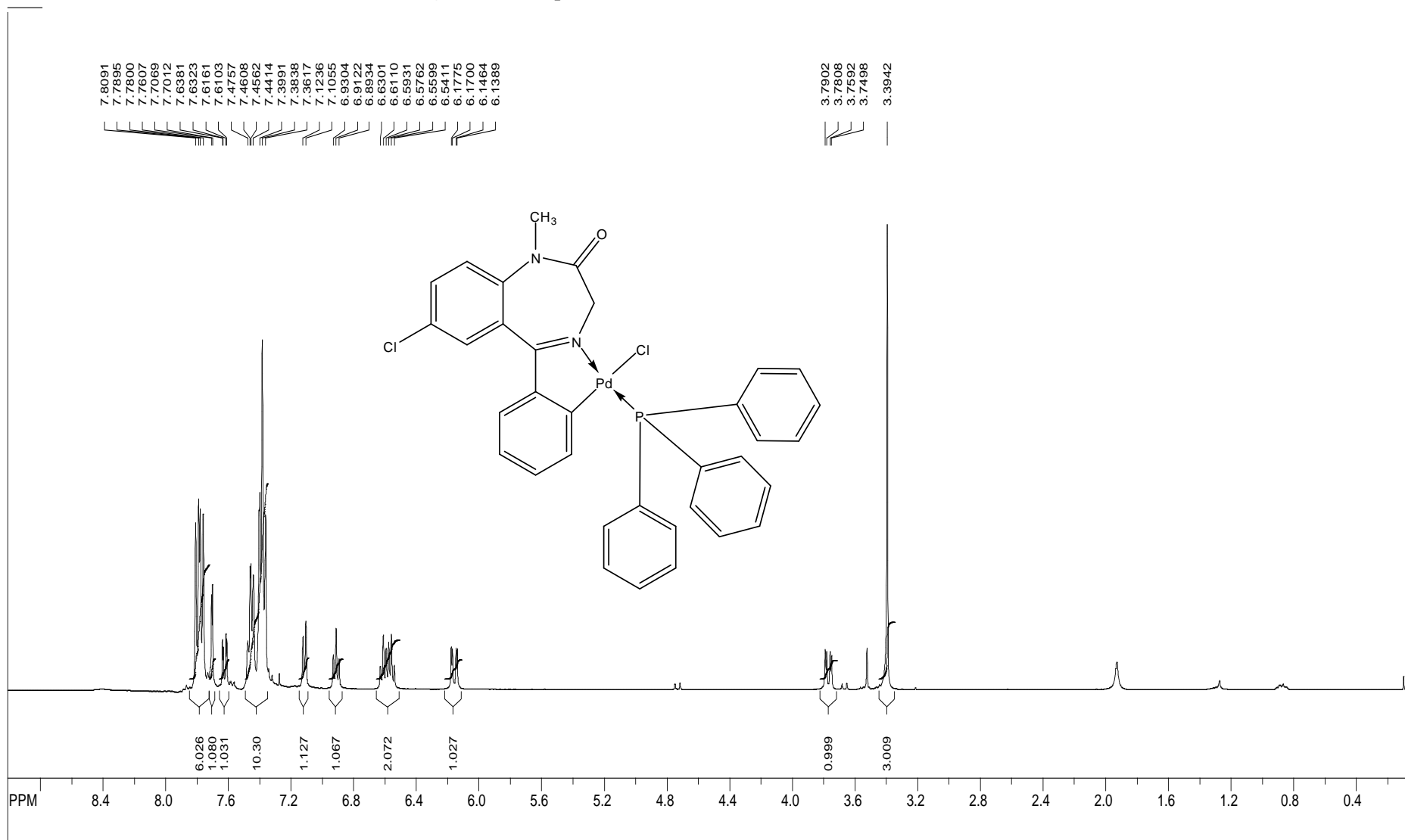
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos paladaciclos monoméricos DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> (Figura 5.5, pág. 66) e DIAZPdCIPPh<sub>3</sub> (Figura 5.6, pág. 67) mostram os sinais referentes ao diazepam desprotonado, além de sinais típicos de hidrogênios aromáticos com deslocamentos químicos entre 7,9 e 7,3 ppm, que são referentes aos hidrogênios da trifenilfosfina; e, no caso do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>, também observa-se o sinal simpleto relativo aos hidrogênios da metila do grupo acetato ( $\delta = 1,44$  ppm); tais dados confirmam a obtenção desses monômeros. Além disso, é possível observar o acoplamento dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos do diazepam com o fósforo da trifenilfosfina e o acoplamento do hidrogênio orto à ligação C-Pd também com o fósforo.

Figura 5.4 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdCIPy em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

Figura 5.5 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdOAcPPh $_3$  em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

Figura 5.6 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdClPh $_3$  em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

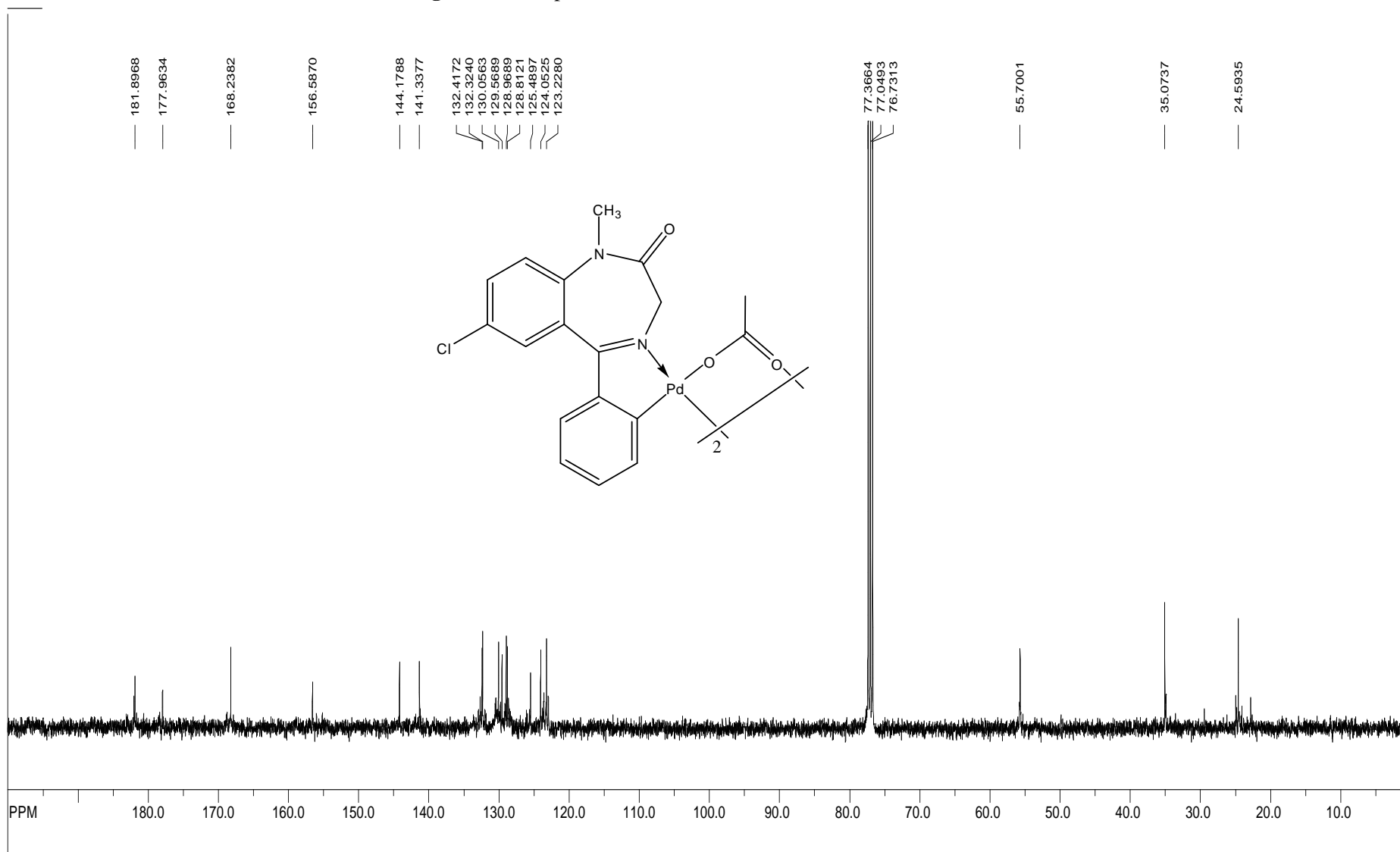
### 5.2.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ (RMN de $^{13}\text{C}$ )

Através da análise por RMN de  $^{13}\text{C}$  de todos os complexos (Figuras 5.7 – 5.11, págs. 69-73) é possível identificar os sinais típicos de carbonila ( $\delta$  entre 170 e 167 *ppm*) do diazepam e, naqueles que apresentam o grupo acetato (Figuras 5.7 e 5.10, págs. 69 e 72), é possível observar o sinal do carbono da metila ( $\delta$  entre 25 e 23 *ppm*) e do carbono quaternário ( $\delta$  entre 182 e 179 *ppm*) desse grupo. Além disso, comparando-se os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos com o do ligante livre (Apêndice C), verifica-se o deslocamento dos sinais do C=N e de um dos átomos de carbono orto do substituinte 5-fenila para valores de frequência bem mais elevados ( $\delta$  de  $\approx 169$  *ppm* para valores entre 181 e 177 *ppm*, e de  $\approx 130$  *ppm* para valores entre 160 e 153 *ppm*, respectivamente), indicando a ciclopalação.

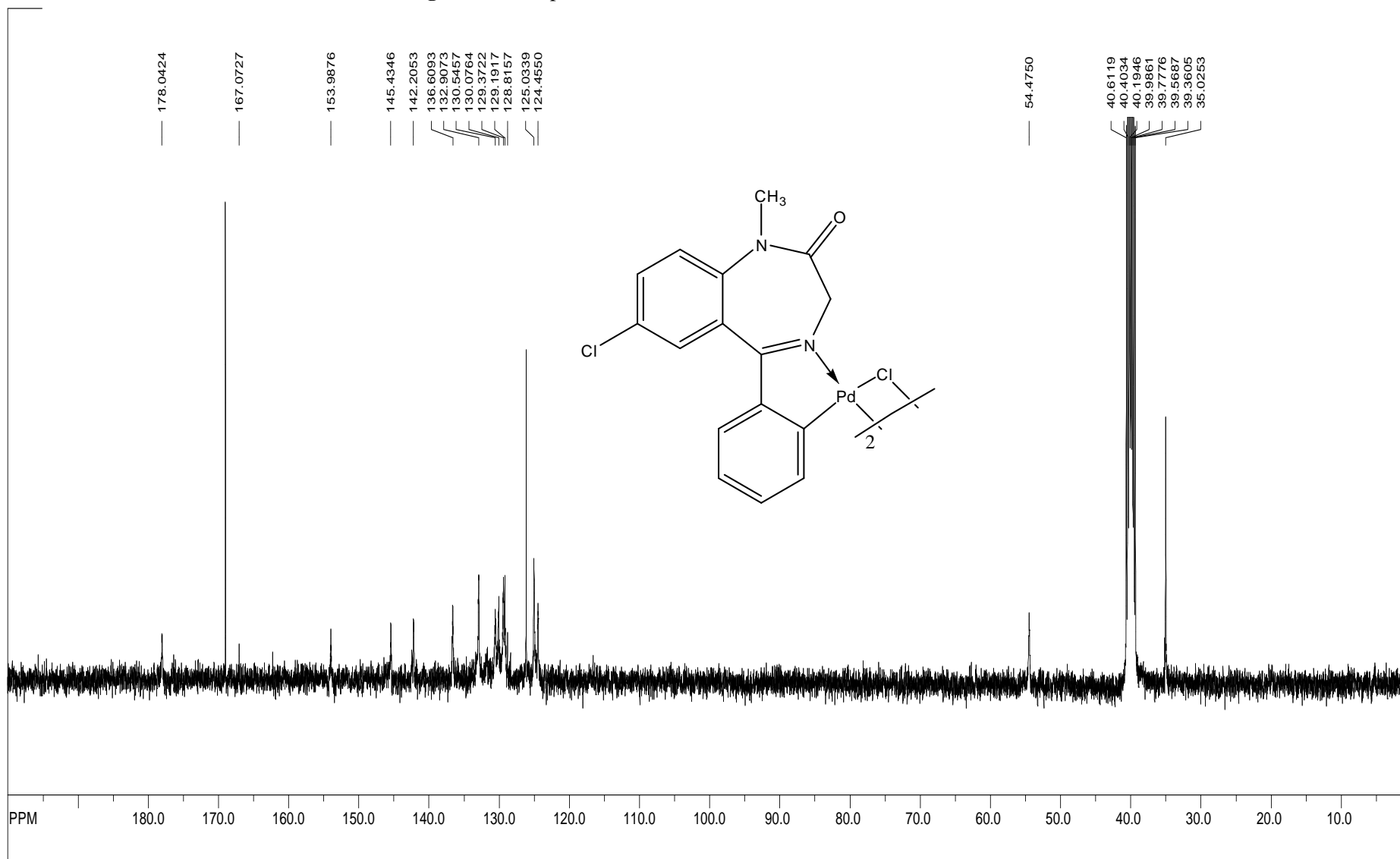
Existem particularidades referentes aos monômeros que cabem ser destacadas. Quanto ao DIAZPdClPy (Figura 5.9, pág. 71), através do seu espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  é possível observar além dos sinais referentes ao diazepam, o acréscimo de sinais que são referentes à piridina: o sinal referente ao carbono quaternário que se encontra em para ao nitrogênio ( $\delta = 132,62$  *ppm*) e os sinais dos carbonos terciários que se encontram em orto ( $\delta = 153,19$  *ppm*) e em meta ( $\delta = 125,62$  *ppm*) ao nitrogênio, estes últimos apresentam-se superpostos pois esses carbonos encontram-se em ambientes magnéticos equivalentes. Já os espectros dos complexos DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> (Figura 5.10, pág. 72) e DIAZPdClPPh<sub>3</sub> (Figura 5.11, pág. 73), mostram sinais referentes à trifenilfosfina, de forma mais específica é possível observar: dois sinais muito intensos referentes aos carbonos terciários em orto ( $\delta \approx 135$  *ppm*) e em meta ( $\delta \approx 128$  *ppm*), ambos como dupletos devido ao acoplamento com o átomo de fósforo; um sinal duplete referente aos carbonos quaternários ( $\delta \approx 139$  *ppm*) que estão acoplados ao átomo de fósforo; e um sinal duplete de intensidade elevada referente aos carbonos terciários que se encontram em para ( $\delta \approx 131$  *ppm*), que estão fracamente acoplados ao átomo de fósforo.

### 5.2.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de $^{31}\text{P}$ (RMN de $^{31}\text{P}$ )

Através da análise por RMN de  $^{31}\text{P}$  dos complexos DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> (Figura 5.12, pág. 74) e DIAZPdClPPh<sub>3</sub> (Figura 5.13, pág. 75) foi possível identificar, em ambos os espectros, sinais de fósforo que evidenciam a presença do ligante trifenilfosfina. No caso do espectro do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> foi possível identificar dois sinais: um majoritário, referente ao complexo que apresenta uma relação *trans* entre as ligações N-Pd e Pd-P; e um minoritário, referente ao complexo que apresenta uma relação *cis* entre essas ligações.

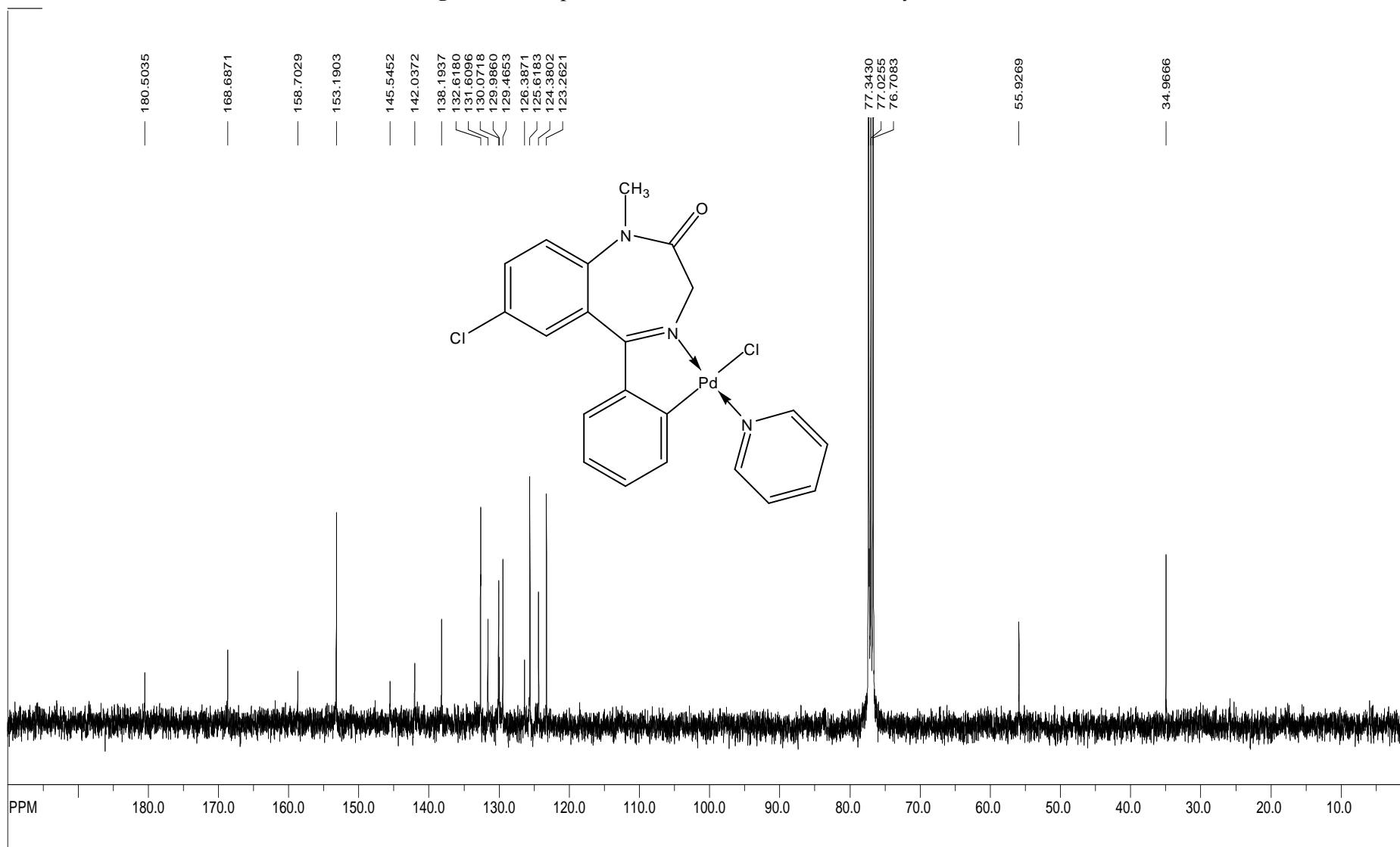
**Figura 5.7** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do DIAZPdOAcD em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

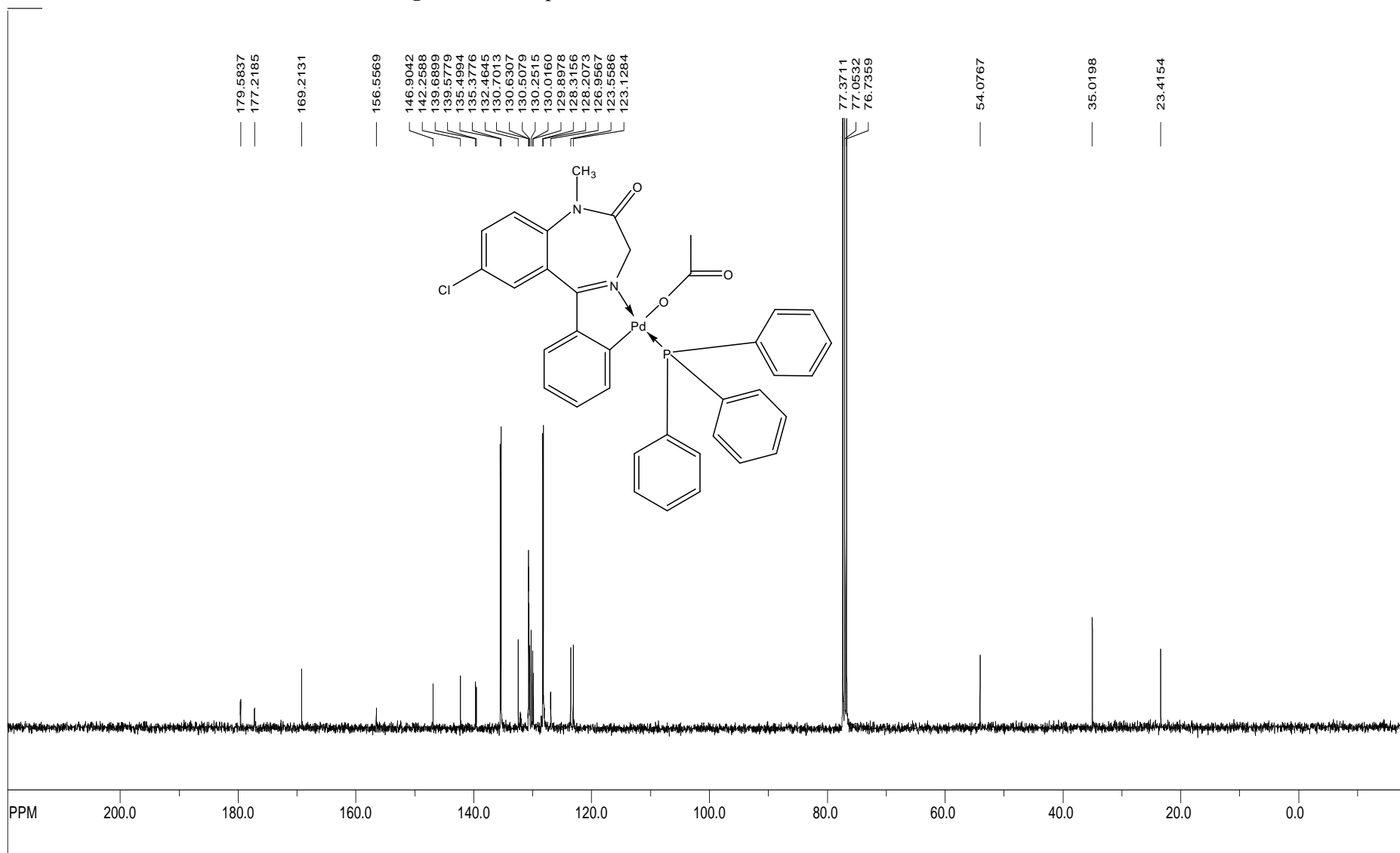
**Figura 5.8** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do DIAZPdCID em  $\text{DMSO-d}_6$ 

Fonte: Autora, 2012.

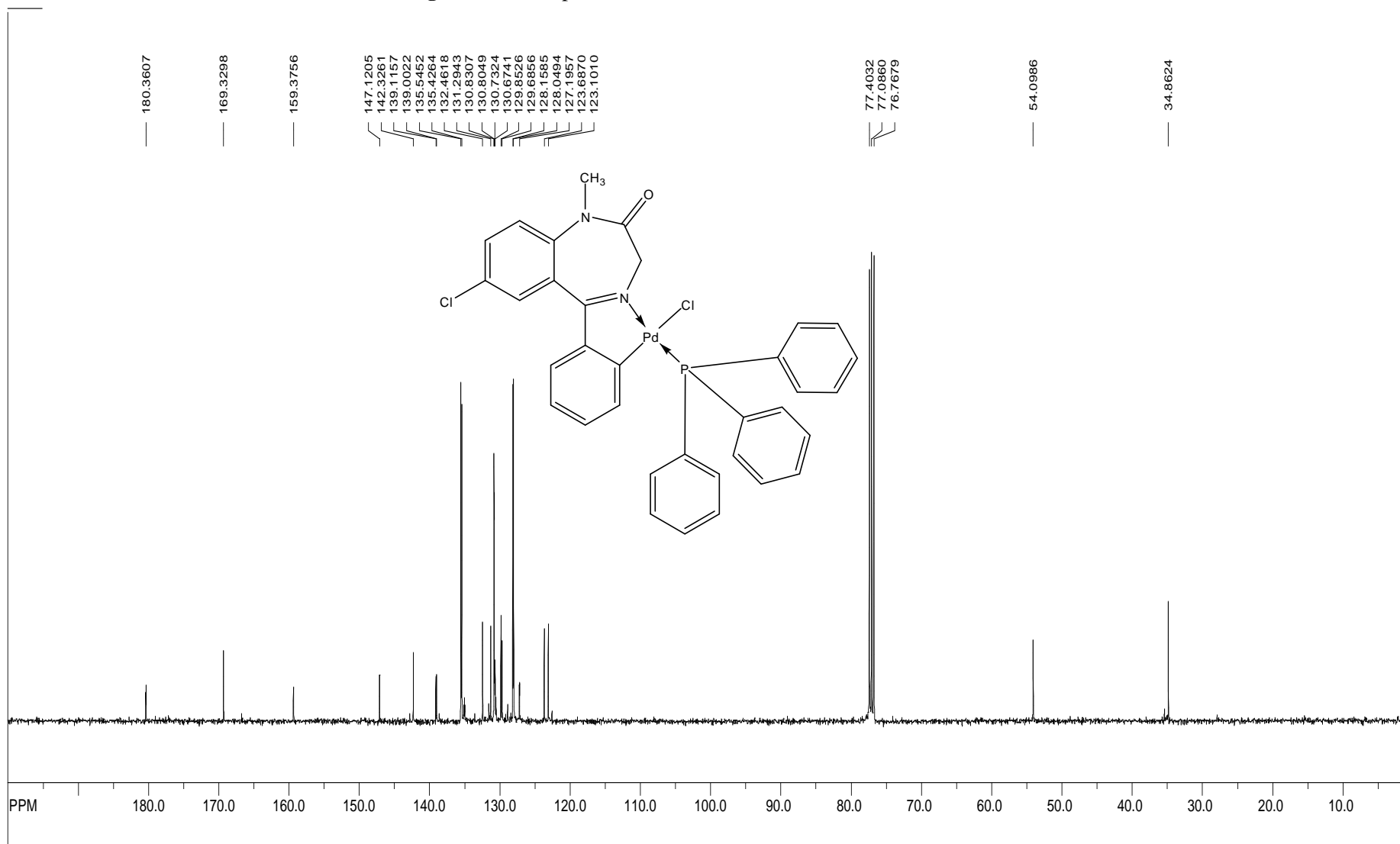


**Figura 5.9** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do DIAZPdClPy em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

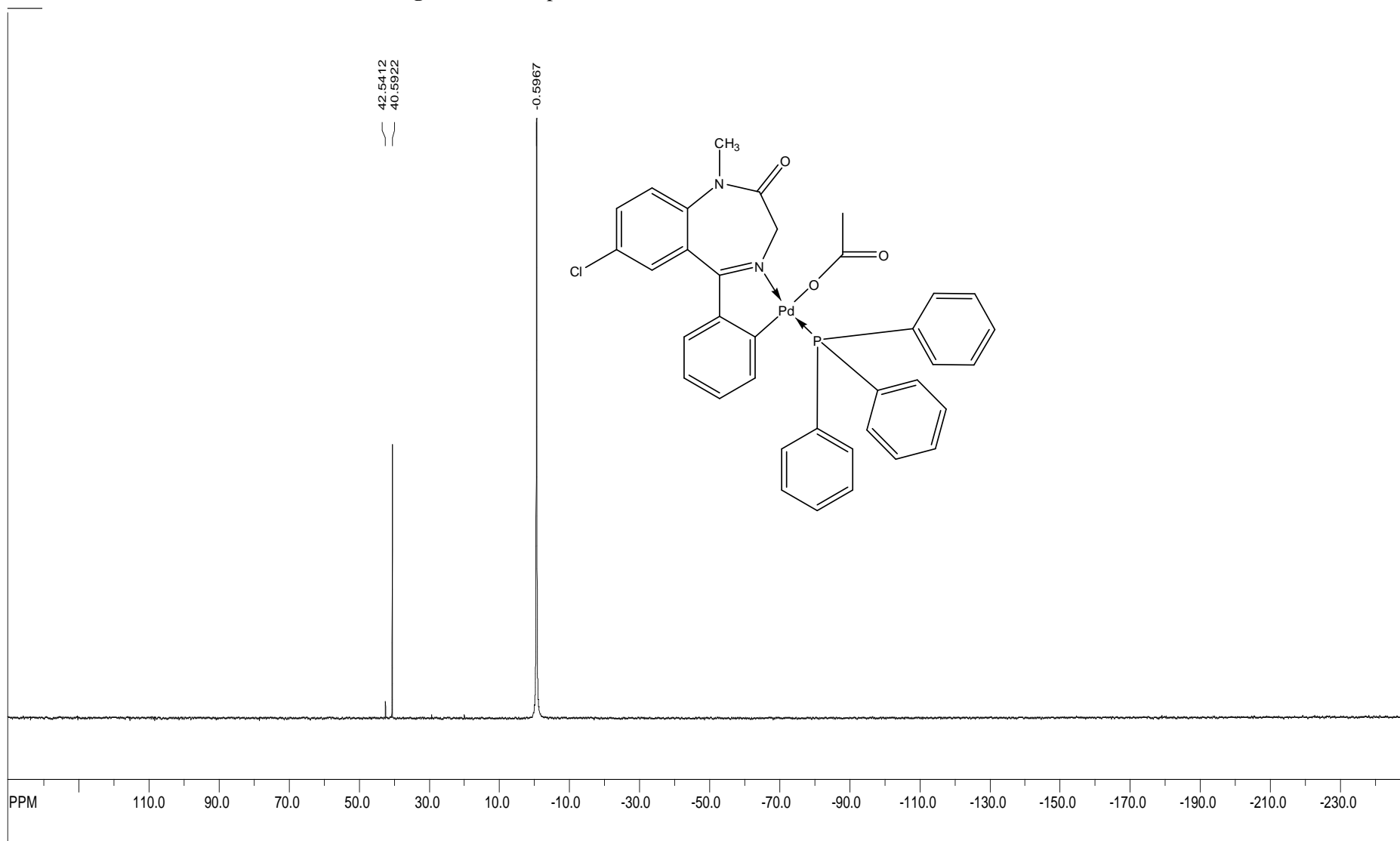
**Figura 5.10** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

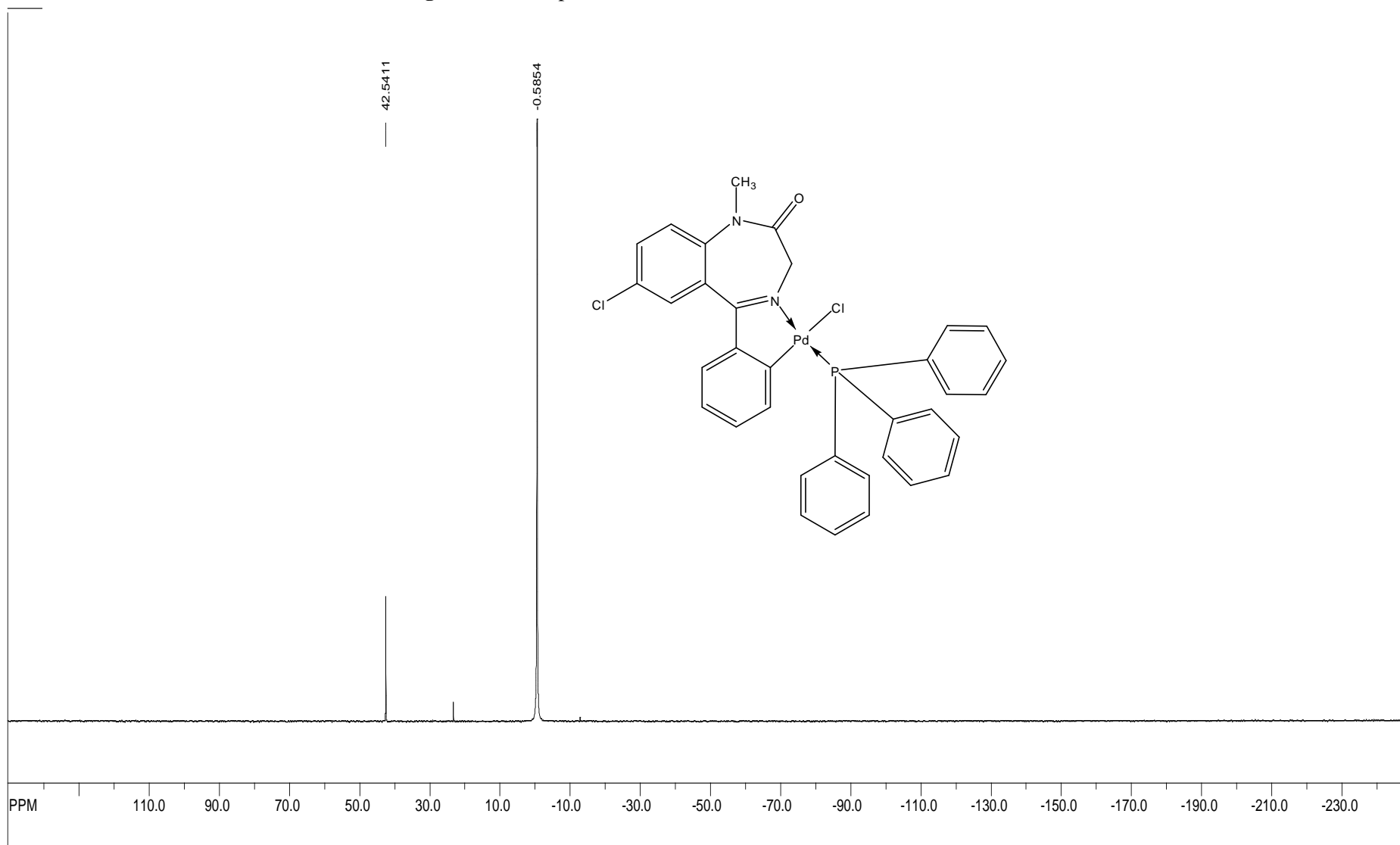
**Figura 5.11** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do DIAZPdCIPPh $_3$  em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

Figura 5.12 – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub> em  $\text{CDCl}_3$



Fonte: Autora, 2012.

**Figura 5.13** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  do DIAZPdCIPPh<sub>3</sub> em  $\text{CDCl}_3$ 

Fonte: Autora, 2012.

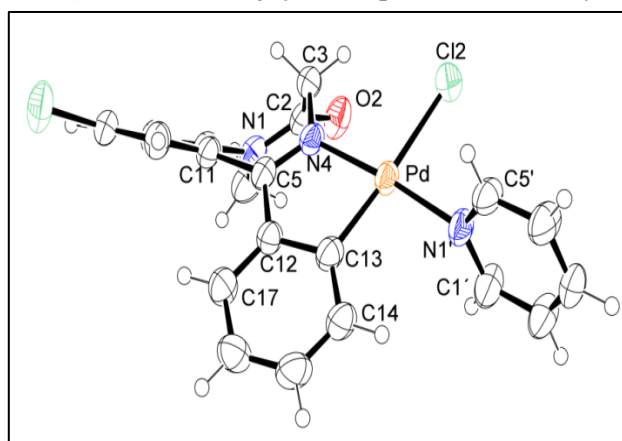
### 5.2.4 Espectrometria no Infravermelho Médio (IV)

Os espectros de infravermelho dos dímeros (Apêndices D e E) e monômeros (Apêndices F, G e H) foram comparados com o do ligante livre (Apêndice I), observando-se assim todas as principais bandas características do diazepam como, por exemplo, a banda em  $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$  referente a carbonila e a imina do anel diazepínico. Além disso, foi possível observar as bandas características do grupo acetato no espectro do DIAZPdOAcD e do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>. Esses resultados juntamente com a mudança observada na coloração dos dímeros e monômeros quando comparados ao ligante dão indícios da formação dos complexos.

### 5.2.5 Difração de Raios X

O monômero contendo piridina como ligante, mais precisamente o DIAZPdClPy, foi cristalizado em CHCl<sub>3</sub>/Hexano e analisado por difração de raios X, obtendo-se assim sua estrutura química, como indicada na Figura 5.14, onde podemos claramente observar a relação *trans* entre a ligação Pd-N(4) e Pd-N(1'), e a formação do paladaciclo, onde o diazepam desprotonado está ligado ao paládio através do átomo de nitrogênio imínico, N(4), do anel diazepínico e de um dos átomos de carbono orto do substituinte 5-fenila, C(13).

**Figura 5.14** – Projeção Ortep do DIAZPdClPy



Fonte: Autora, 2012.

Através da projeção Ortep (Figura 5.14), juntamente com os dados dos ângulos encontrados na Tabela 5.3 (pág. 77), é possível observar que este monômero mantém a

geometria de barco do anel diazepínico encontrada no ligante livre (MOSSET et al., 1980); e que o Pd(II) apresenta uma geometria quadrada plana levemente distorcida.

**Tabela 5.3** – Ângulos [°] diedro e de ligação para DIAZPdClPy

Átomos	Ângulos
Cl(2)-Pd-N(1')-C(5')	74,78
C(11)-C(5)-N(4)-C(3)	1,91
C(13)-Pd-N(4)	80,86(18)
C(13)-Pd-N(1')	93,74(19)
N(4)-Pd-Cl(2)	96,20(12)
N(1')-Pd-Cl(2)	89,21(13)

Fonte: Autora, 2012.

As principais distâncias de ligação do DIAZPdClPy são encontrados na Tabela 5.4, nenhuma mudança importante foi encontrada nas mesmas.

**Tabela 5.4** – Distâncias [Å] de ligação para DIAZPdClPy

Átomos	Distâncias de Ligação
C(2)-O(2)	1,216(6)
C(2)-N(1)	1,380(7)
C(5)-N(4)	1,302(6)
C(5)-C(12)	1,464(7)
C(12)-C(13)	1,413(6)
C(13)-Pd	1,984(5)
Cl(2)-Pd	2,4073(14)
N(1')-Pd	2,043(4)
N(4)-Pd	2,026(4)

Fonte: Autora, 2012.

### 5.2.6 Análise Elementar e Espectrometria de Massas

Na análise elementar, foram obtidos resultados satisfatórios para os complexos sintetizados; com exceção, do resultado para o monômero DIAZPdClPy que não foi condizente com sua fórmula molecular, o que pode ser explicado devido a presença de água e a decomposição deste complexo. Cabe salientar, que o monômero DIAZPdClPy foi bem

caracterizado por RMN e infravermelho; além disso, ele teve sua estrutura química elucidada por difração de raios X.

Através da análise dos dímeros DIAZPdCID e DIAZPdOAcD por espectrometria de massas foi possível observar a razão massa/carga do íon resultante, respectivamente, da ruptura da ponte cloro e acetato, ou melhor, do íon molecular.

### **5.3 Avaliação da atividade anticonvulsivante**

Com o intuito de avaliar a atividade anticonvulsivante dos paladaciclos diméricos derivados do diazepam (DIAZPdOAcD e DIAZPdCID), foram selecionados dois tipos de testes farmacológicos, um que utiliza o PTZ e o outro a PIC como indutores das convulsões. A escolha desses testes foi realizada por estes serem os testes de triagem de fármacos anticonvulsivantes mais utilizados no mundo (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008) e pelo fato da reversão da estimulação induzida tanto pelo PTZ quanto pela PIC serem consideradas um parâmetro eficaz no estudo de compostos que apresentam mecanismos de ação que envolvem o sistema GABAérgico, é importante ressaltar que os dímeros são complexos derivados de um fármaco que apresenta sua ação através da ligação aos receptores GABAérgicos.

O diazepam foi escolhido como fármaco padrão nesses testes pelo fato dos paladaciclos diméricos serem derivados desse fármaco e, principalmente, por bloquear as convulsões atuando em canais para os íons cloreto associados ao GABA<sub>A</sub>, facilitando assim a transmissão GABAérgica (LAMBERTY; GOWER; KLITGAARD, 2002).

#### **5.3.1 Convulsões induzidas pelo PTZ**

O PTZ é um potente agente convulsivante, que atua induzindo convulsões por inibir canais para íons cloreto associados a receptores GABA<sub>A</sub> se ligando a um sítio específico nesse canal iônico (LÖSCHER; SCHMIDT, 2002; 2006). Além disso, o PTZ pode ainda induzir convulsões por um efeito excitatório direto sobre as membranas neuronais (FAINGOLD, 1987). Embora os efeitos do PTZ estejam bem estabelecidos, o seu mecanismo exato de ação ainda está obscuro.

A inibição das convulsões induzidas pelo PTZ é uma metodologia extensamente utilizada para avaliar o efeito anticonvulsivante de drogas em animais (LOWSON; GENT; GOODCHILD, 1991; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008), sendo o modelo experimental de



triagem de novos fármacos anticonvulsivantes mais utilizado no mundo (MELDRUM, 2002; LÖSCHER; SCHMIDT, 2006). Portanto, sabe-se que o bloqueio das convulsões induzidas quimicamente pelo PTZ, em roedores, é uma característica de alguns fármacos depressores do SNC pertencentes à classe dos anticonvulsivantes (SMITH; WILCOX; WHITE, 2007).

Os resultados deste teste encontram-se resumidos na tabela abaixo, Tabela 5.5.

**Tabela 5.5** - Efeito do tratamento agudo com DIAZPdOAcD, DIAZPdCID ou diazepam (DZP), na presença e na ausência de Flumazenil (FLU), no teste das convulsões induzidas pelo PTZ em camundongos

Tratamento	Dose (mg/kg) [ $\mu$ mol/kg]	Latência(s) <sup>a</sup>	% Convulsões	% Mortes
Veículo	-	328,2 $\pm$ 14,9	100	60
DIAZPdOAcD	1,5 [1,7]	875,1 $\pm$ 22,3 <sup>c</sup>	10 <sup>e</sup>	30 <sup>d</sup>
DIAZPdOAcD	3,0 [3,3]	900,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	0 <sup>e</sup>	10 <sup>e</sup>
DIAZPdOAcD	6,0 [6,7]	900,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>e</sup>
DIAZPdCID	1,5 [1,8]	376,9 $\pm$ 22,7	100	50
DIAZPdCID	3,0 [3,5]	321,5 $\pm$ 35,3	70	60
DIAZPdCID	6,0 [7,0]	644,2 $\pm$ 31,0 <sup>b</sup>	60 <sup>d</sup>	20 <sup>e</sup>
DZP	6,0 [21,1]	900,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>e</sup>
DIAZPdOAcD + FLU	6 + 10 [6,7 + 32970]	410,1 $\pm$ 53,8	100	50
DIAZPdCID + FLU	6 + 10 [7,0 + 32970]	393,8 $\pm$ 48,4	100	60
DZP + FLU	6 + 10 [21,1 + 32970]	311,5 $\pm$ 33,0	100	30 <sup>d</sup>

*n* = 8, por grupo

<sup>a</sup>Valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média

<sup>b</sup>*p* < 0,01; <sup>c</sup>*p* < 0,001 (ANOVA seguido do teste de Tukey), significativa e diferente do controle

<sup>d</sup>*P* < 0,01; <sup>e</sup>*p* < 0,001 (Teste de Fisher), significativa e diferente do controle.

Fonte: Autora, 2012.

No que se refere ao tempo de latência para que os camundongos apresentassem as convulsões clônicas induzidas pelo PTZ, os resultados mostram que o tratamento agudo com o DIAZPdOAcD aumentou esse tempo de forma significativa (*p* < 0,001) em todas as doses testadas; já o tratamento com o DIAZPdCID, foi estatisticamente significativo na maior dose testada (6 mg/kg).

A Tabela 5.5 mostra também que o tratamento com DIAZPdOAcD e DIAZPdCID produziu uma proteção dos animais em relação aos animais do grupo controle. Entretanto, o DIAZPdOAcD apresentou um efeito protetor em todas as doses testadas, com um perfil semelhante ao do diazepam, que foi efetivo no que se refere ao tempo de latência (inibindo o aparecimento das convulsões durante todo o tempo avaliado) e ao percentual de mortes

(nenhum animal morreu); enquanto que o DIAZPdCID apresentou efeito protetor apenas na maior dose.

É importante ressaltar que, como a única diferença entre os dímeros encontra-se na ponte (átomo ou grupo que liga um paládio a outro), esses resultados mostram que o grupo acetato teve importância na melhor atividade do DIAZPdOAcD quando comparada à atividade do DIAZPdCID.

Quando comparamos o DIAZPdOAcD com o diazepam, observamos que esse dímero inibiu o aparecimento das convulsões induzidas pelo PTZ durante todo o tempo avaliado (15 minutos = 900 segundos) a partir da administração da dose de 3,3  $\mu\text{mol/kg}$ , que corresponde a aproximadamente 6,6  $\mu\text{mol}$  de diazepam/kg (visto que uma molécula do dímero é composta por duas moléculas de diazepam desprotonado), mostrando que o dímero necessitou de uma dose três vezes menor que a utilizada de diazepam (21,1  $\mu\text{mol/kg}$ ) para obter o mesmo efeito que esse fármaco, indicando uma atividade potencialmente maior que a do diazepam. No entanto, existe a necessidade da realização de mais testes utilizando o diazepam em doses menores para realizar uma melhor comparação entre o DIAZPdOAcD e o diazepam, já que este fármaco pode apresentar o mesmo resultado (inibir 100% das convulsões) em doses menores.

Ao compararmos o DIAZPdCID na maior dose testada (7,0  $\mu\text{mol/kg}$ ) com o diazepam, observamos que esse complexo não foi tão potente quanto o fármaco anticonvulsivante, mas é importante salientar que esse dímero apresentou resultados estatisticamente significativos mesmo sendo utilizado em uma dose correspondente a ~14,0  $\mu\text{mol}$  de diazepam/kg (visto que uma molécula de DIAZPdCID é formada por duas moléculas de diazepam desprotonado), sendo essa dose ~1/3 menor que a dose utilizada de diazepam (21,1  $\mu\text{mol/kg}$ ). Tais resultados nos mostram a necessidade da realização de novos testes utilizando o diazepam em doses equivalentes a do DIAZPdCID para uma melhor comparação entre esses compostos.

Buscando também avaliar o possível envolvimento dos receptores GABA<sub>A</sub>-Benzodiazepínicos (GABA<sub>A</sub>-BDZ) nos efeitos dos complexos diméricos, foi administrado o flumazenil, um antagonista competitivo específico desses receptores (FILE; PELLOW, 1986). Os resultados desse teste utilizando flumazenil, encontrados na Tabela 5.5, mostram que os efeitos anticonvulsivante dos dímeros DIAZPdOAcD e DIAZPdCID foram antagonizados pelo pré-tratamento com o antagonista, sugerindo um possível efeito desses complexos no mesmo sítio de ligação nos receptores GABA<sub>A</sub>-BDZ (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2010).

### 5.3.2 Convulsões induzidas pela PIC

A PIC é um poderoso estimulante do SNC sendo utilizada na indução química de convulsões através do antagonismo aos receptores GABAérgicos (ZIA et al, 1995; SMITH; WILCOX; WHITE, 2007). A reversão da estimulação induzida pela PIC é considerada como um parâmetro eficaz no estudo de fármacos da classe dos anticonvulsivantes que atuam em mecanismos que envolvem o sistema GABAérgico (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008).

O teste das convulsões induzidas pela PIC em camundongos foi utilizado para investigar melhor a participação do sistema GABAérgico no possível efeito anticonvulsivante dos dímeros, DIAZPdOAcD e DIAZPdCID, visto que a administração da PIC (8 mg/Kg, i.p.) parece produzir convulsões por bloquear a condutância de canais para íons cloreto associados a receptores GABA<sub>A</sub> (LÖSCHER; SCHMIDT, 2006).

Os resultados encontrados na Tabela 5.6 mostram que os animais que receberam o tratamento agudo com DIAZPdOAcD na dose de 6 mg/kg (i.p.) foram protegidos e o tempo de latência para os animais entrarem em convulsão foi aumentado de maneira significativa ( $p < 0,01$ ). O DIAZPdCID não alterou nenhum dos parâmetros avaliados de maneira significativa em nenhuma das doses testadas. O grupo tratado com diazepam (DZP, 6 mg/kg, i.p.) aumentou de forma significativa o tempo de latência e produziu uma redução do percentual de convulsões.

**Tabela 5.6** - Efeito do tratamento agudo com DIAZPdOAcD, DIAZPdCID ou diazepam (DZP) no teste das convulsões induzidas pela PIC em camundongos

Tratamento	Dose (mg/kg) [ $\mu$ mol/kg]	Latência(s) <sup>a</sup>	% Convulsões	% Mortes
Veículo	-	454,6 $\pm$ 28,0	40	20
DIAZPdOAcD	3,0 [3,3]	588,3 $\pm$ 21,5	10 <sup>d</sup>	0
DIAZPdOAcD	6,0 [6,7]	734,2 $\pm$ 65,9 <sup>b</sup>	20 <sup>d</sup>	10
DIAZPdCID	3,0 [3,5]	487,4 $\pm$ 23,8	50	0
DIAZPdCID	6,0 [7,0]	524,1 $\pm$ 41,5	40	0
DZP	6,0 [21,1]	980,0 $\pm$ 77,2 <sup>c</sup>	10 <sup>d</sup>	0

$n = 8$ , por grupo

<sup>a</sup> Valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média

<sup>b</sup>  $p < 0,01$ ; <sup>c</sup>  $p < 0,001$  (ANOVA seguido do teste de Tukey), significativa e diferente do controle

<sup>d</sup>  $P < 0,01$  (Teste de Fisher), significativa e diferente do controle.

Fonte: Autora, 2012.

Quando comparamos o DIAZPdOAcD com o DIAZPdCID notamos que esse dímero apresentou uma melhor atividade anticonvulsivante, indicando a importância do grupo acetato

para a atividade desse complexo, já que a única diferença entre os dímeros encontra-se na ponte, que liga um paládio a outro.

A comparação do DIAZPdOAcD com o diazepam nos mostra que esse complexo apresentou resultados significativos na dose de 6,7  $\mu\text{mol/kg}$ , mesmo sendo essa dose  $\sim 1/3$  menor que a dose utilizada de diazepam quando nos referimos a número de mols de diazepam (DIAZPdOAcD  $\approx 13,4 \mu\text{mol}$  de diazepam/kg; diazepam = 21,1  $\mu\text{mol/kg}$ ). Já o DIAZPdCID não apresentou resultados significativos, no entanto, a maior dose desse dímero que foi avaliada (7,0  $\mu\text{mol/kg}$ ) também foi  $\sim 1/3$  menor que a dose de diazepam utilizada quando nos referimos a número de mols de diazepam (DIAZPdCID  $\approx 14,0 \mu\text{mol}$  de diazepam/kg, diazepam = 21,1  $\mu\text{mol/kg}$ ). Tais resultados nos mostram que é necessária a realização de mais testes utilizando o diazepam em doses menores para uma melhor comparação entre os complexos e o ligante.

---

---

## **6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

---

---

## 6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram sintetizados cinco complexos de paládio(II) derivados do diazepam: DIAZPdCID, DIAZPdCIPPh<sub>3</sub>, DIAZPdCIPy, DIAZPdOAcD e DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>. A síntese de tais complexos mostrou-se rápida e eficaz, visto que através das técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho foi possível confirmar a formação dos mesmos. Através de estudos cristalográficos por difração de raios X foi possível obter a estrutura química do DIAZPdCIPy, confirmando-se a ocorrência da ciclopaladação.

Por meio dos testes realizados para avaliação da atividade anticonvulsivante dos complexos diméricos sintetizados (DIAZPdOAcD e DIAZPdCID) foi possível observar que os dímeros apresentaram atividade anticonvulsivante no tratamento agudo em camundongos e que os efeitos anticonvulsivantes dos dímeros foram induzidos, provavelmente, com envolvimento dos receptores GABA<sub>A</sub>-BDZ. Além disso, foi possível notar que o DIAZPdOAcD mostrou-se mais potente que o DIAZPdCID, indicando a importância do grupo acetato para a atividade, e exibiu um perfil semelhante ao do diazepam no teste com o PTZ mesmo sendo administrado em doses menores que esse fármaco, apresentando chances elevadas de ser mais potente que o ligante. No entanto, mais testes precisam ser realizados para uma melhor comparação entre os dímeros e o ligante.

Como perspectivas deste trabalho, têm-se:

- A caracterização dos monômeros sintetizados por espectrometria de massas;
- A realização dos testes anticonvulsivantes utilizando o diazepam em doses menores;
- A avaliação da atividade anticonvulsivante dos paladaciclos monoméricos;
- A avaliação da toxicidade dos paladaciclos.

---

---

## **REFERÊNCIAS**

---

---

## REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, M. C–H bond activation. In: DUPONT, J.; PFEFFER, M. **Palladacycles: synthesis, characterization and applications**. Weinheim: WILEY-VCH, 2008.
- ALVAREZ, F. S. et al. Convulsões. **Protocolos das unidades de pronto atendimento 24 horas**. Rio de Janeiro: Subsecretaria de Defesa Civil, 2009. Part I – protocolos de clínica médica, cap. 3, p. 25-28.
- ALVES, F. E.; SILVA, P. P.; GUERRA, W. Metais do grupo da platina: história, propriedades e aplicações. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 119, p. 27-33, 2010.
- ARANDAS, F. S.; SENA, E. P. Drogas antiepilépticas. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
- AVERSA, M. C. et al. Metal complexes of benzodiazepines: part 1; synthesis, crystal structure, and characterization in solid and solution of *trans*-dichloro(7,8-dichloro-2,3-dihydro-2,2,4-trimethyl-1*H*-1,5-benzodiazepine)(tri-*n*-propylphosphine)-palladium(II). **Journal of Chemical Society, Dalton Transactions**, p. 2433-2436, 1990.
- AVERSA, M. C. et al. Metal complexes of benzodiazepines: part 3; synthesis and characterization of organometallic complexes of platinum (II). **Journal of Chemical Society, Dalton Transactions**, p. 3431-3434, 1991.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Considerações sobre a química bioinorgânica medicinal. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, p. 131-142, 2007.
- BENTES, C. C.; PIMENTEL, J. G. Estado de mal convulsivo: aspectos fisiopatológicos e clínicos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 16, p. 77-80, 2003.
- BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p. 4-6, 2005.
- BERALDO, H. Tendências atuais e as perspectivas futuras da química inorgânica. **Ciência e Cultural**, v. 63, n. 1, p. 29-32, 2011.
- BERALDO, H.; MORTIMER, E. F. Introdução. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p. 3, 2005.



BIOTÉRIO UNIFENAS. **Animais**. Disponível em:  
<<http://www.unifenas.br/pesquisa/bioterio/animais.asp>>. Acesso em: 10 nov. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dicas em saúde: Epilepsia**. [S.l.]: Biblioteca Virtual em Saúde, 2006. Disponível em: <<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/dicas/100epilepsia.html>>. Acesso em: 20 out. 2011.

CHARNEY, D. S.; MIHIC, S. J.; HARRIS, R. A. Hipnóticos e sedativos. In: GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.

CINELLU, M. A. et al. Cyclometallated derivatives of palladium(II) with 1,4-benzodiazepin-2-ones: crystal structure of (L-H)Pd(PPh<sub>3</sub>)Cl·CHCl<sub>3</sub> (L = prazepam: 7-chloro-1-cyclopropylmethyl-1,3-dihydro-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one); synthesis of isoindolo[2,1-d][1,4]benzodiazepine derivatives by reaction of [(L-H)PdCl]<sub>2</sub> species with carbon monoxide. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 401, n. 3, p. 371-384, 1991.

CONVULSÕES em lactentes. Disponível em:  
<[pt.wikinoticia.com/estilo%20de%20vida/Maternidade/3041-convulsoes-em-lactentes](http://pt.wikinoticia.com/estilo%20de%20vida/Maternidade/3041-convulsoes-em-lactentes)>. Acesso em: 15 out. 2011. il. color.

CUSUMANO, M. et al. Metal complexes of benzodiazepines: part 2; the reaction of 1,4-benzodiazepines with halide-bridged complexes of palladium(II) [Pd<sub>2</sub>X<sub>4</sub>(PPrn<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (X = Cl or I). **Journal of Chemical Society, Dalton Transactions**, p.1581-1584, 1991.

FAINGOLD, C. L. Seizures induced by convulsant drug. In: JOBE, P. C.; LAIRD II, H. E. (Eds.) **Neurotransmitters and Epilepsy**. The Humans Press, Clifton, p. 215-275, 1987.

FILE, S. E.; PELLOW, S. Intrinsic actions of the benzodiazepine receptor antagonist Ro 15-1788. **Psychopharmacology**, v. 88, n. 1, p. 1-11. 1986.

FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. A química inorgânica na terapia do câncer. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p.13-18, 2005.

FORIZS, E. et al. ESR study of some Cu(II)-oxazepam complexes. **Applied Magnetic Resonance**, v. 16, p. 499-506, 1999.

FORIZS, E. et al. IR and ESR study of Cu(II)-nitrazepam complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 408/409, p. 195-199, 1997.

FORMAN, S. A. et al. Farmacologia da Neurotransmissão GABAérgica e glutamatérgica. In: GOLAN, D. E. et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2009.

GRIFFIN, E. A.; LOWENSTEIN, D. H. Farmacologia da neurotransmissão elétrica anormal no sistema nervoso central. In: GOLAN, D. E. et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2009.

HAMBLEY, T. W. Developing new metal-based therapeutics: challenges and opportunities. **Dalton Transactions**, p. 1–9, 2007.

LAMBERTY, Y.; GOWER, A. J.; KLITGAARD, H. The new antiepileptic drug levetiracetam normalizes chlordiazepoxide withdrawal-induced anxiety in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 439, p. 101-106, 2002.

LÖSCHER, W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 50, n. 1-2, p. 105–123, 2002.

LÖSCHER, W.; SCHMIDT, D. New horizons in the development of antiepileptic drugs. **Epilepsy Research**, v. 50, n. 1-2, p. 3-16, 2002.

LÖSCHER, W.; SCHMIDT, D. New horizons in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies. **Epilepsy Research**, v. 69, n. 3, p. 183–272, 2006.

LOWSON, S.; GENT, J. P.; GOODCHILD, C. S. Convulsive thresholds in mice during the recovery phase from anesthesia induced by propofol, thiopentone, methohexitone and etomidate. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 102, p. 879-882, 1991.

LÜLLMANN, H. et al. **Color atlas of pharmacology**. Ilustrações de Jürgen Wirth. 2. ed. New York: Thieme Stuttgart, 2000. p. 227, il. color.

LÜLLMANN, H. et al. **Farmacologia: texto e atlas**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

MCNAMARA, J. O. Fármacos eficazes no tratamento das epilepsias. In: GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.

MELDRUM, B. S. Do preclinical seizure models preselect certain adverse effects of antiepileptic drugs. **Epilepsy Research**, v.50, n. 1-2, p. 33-40, 2002.

MINGHETTI, G. et al. C(3) aurated 1,4-benzodiazepin-2-ones: synthesis and characterization; crystal structure of (L)Au[P(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>-4)<sub>3</sub>] (HL = 7-chloro-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one, diazepam). **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 553, p. 405-415, 1998.

MOSSET, A et al. Solution and solid-state structural study of the copper(II) complex of diazepam. **Inorganic Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 290-294, 1980.

OMAE, I. Intramolecular five-membered ring compounds and their applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 248, n. 11-12, p. 995-1023, 2004.

PÉREZ, J. et al. Synthesis and structure of the first ruthenated benzodiazepines. **Organometallics**, v. 21, n. 24, p. 5437-5438, 2002.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. Anticonvulsant evaluation of *Rauvolfia ligustrina* Willd. ex Roem. & Schult., Apocynaceae, in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 54-59, 2010.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. Plants with anticonvulsant properties: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 798-819, 2008.

RAFFA, R. B.; RAWLS, S. M.; BEYZAROV, E. P. Fármacos utilizados en trastornos del sistema nervioso central y en el tratamiento del dolor. In:\_\_\_\_\_. **Netter farmacología ilustrada**. Ilustrações de Frank H. Netter et al. 1. ed. Barcelona: Elsevier Masson, 2008. cap. 3, p. 57-91.

RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 5. ed. [S.l.]: Elsevier, 2004.

ROAT-MALONE, R. M. Metals in medicine. **Bioinorganic chemistry: a short course**. New Jersey: John Wiley and Sons, 2002. Cap. 7. p. 265-335.

RONCONI, L.; SADLER, P. J. Using coordination chemistry to design new medicines. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, p. 1633-1648, 2007.

SILVA, P. P.; GUERRA, W. Paládio. **Química Nova na Escola**, v. 33, n. 1, p. 65-66, 2011.

SMITH, M.; WILCOX, K. S.; WHITE, H. S. Discovery of antiepileptic drugs. **Neurotherapeutics**, v. 4, p. 12-17, 2007.

SPENCER, J. et al. C-H activations on a 1*H*-1,4-benzodiazepin-2(3*H*)-one template. **Tetrahedron**, v. 64, n. 26, p. 6082–6089, 2008.

SPENCER, J. et al. Excellent correlation between cathepsin B inhibition and cytotoxicity for a series of palladacycles. **Dalton Transactions**, v. 48, p. 10731-10735, 2009.

STOCCORO, S. et al. Cyclometallated derivatives of platinum(II) derived from 1,4-benzodiazepin-2-ones: crystal and molecular structure of Pt(L)(HL)Cl(HL=7-chloro-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-one, diazepam), a molecule containing a neutral and a deprotonated 1,4-benzodiazepin-2-one. **Inorganica Chimica Acta**, v. 215, n. 1-2, p. 17-26, 1994.

SURESH et al. Synthetic, spectral and thermal studies of tin(IV) complexes of 1,5-benzodiazepines. **E-Journal of Chemistry**. v. 5, n. 3, p. 627-633, 2008.

TABELA periódica dinâmica. Disponível em: <<http://www.ptable.com/?lang=pt>>. Acesso em: 3 nov. 2011. il. color.

VIŠNJEVAC, A. et al. Copper(II)-promoted chemical transformations of 3-substituted 5-(2'-pyridyl)-1,4-benzodiazepin-2-one derivatives: crystal structures and spectroscopic characterization of metal complexes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, p. 2647-2654, 2001.

VIŠNJEVAC, A. et al. Synthesis, structural characterisation and biological activity of Zn(II) and Pd(II) complexes of 3-substituted 5-(2'-pyridyl)-1,4-benzodiazepin-2-one derivatives. **Polyhedron**, v. 21, p. 2567-2577, 2002.

ZHANG, S. et al. Bimetallic (iron or cobalt) complexes bearing 2-methyl-2,4-bis(6-iminopyridin-2-yl)-1*H*-1,5-benzodiazepines for ethylene reactivity. **Organometallics**, v. 26, n. 9, p. 2456-2460, 2007.

ZIA, A. et al. Studies on the constituents of the leaves of *Nerium oleander* on behavior pattern in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 49, p. 33-39, 1995.

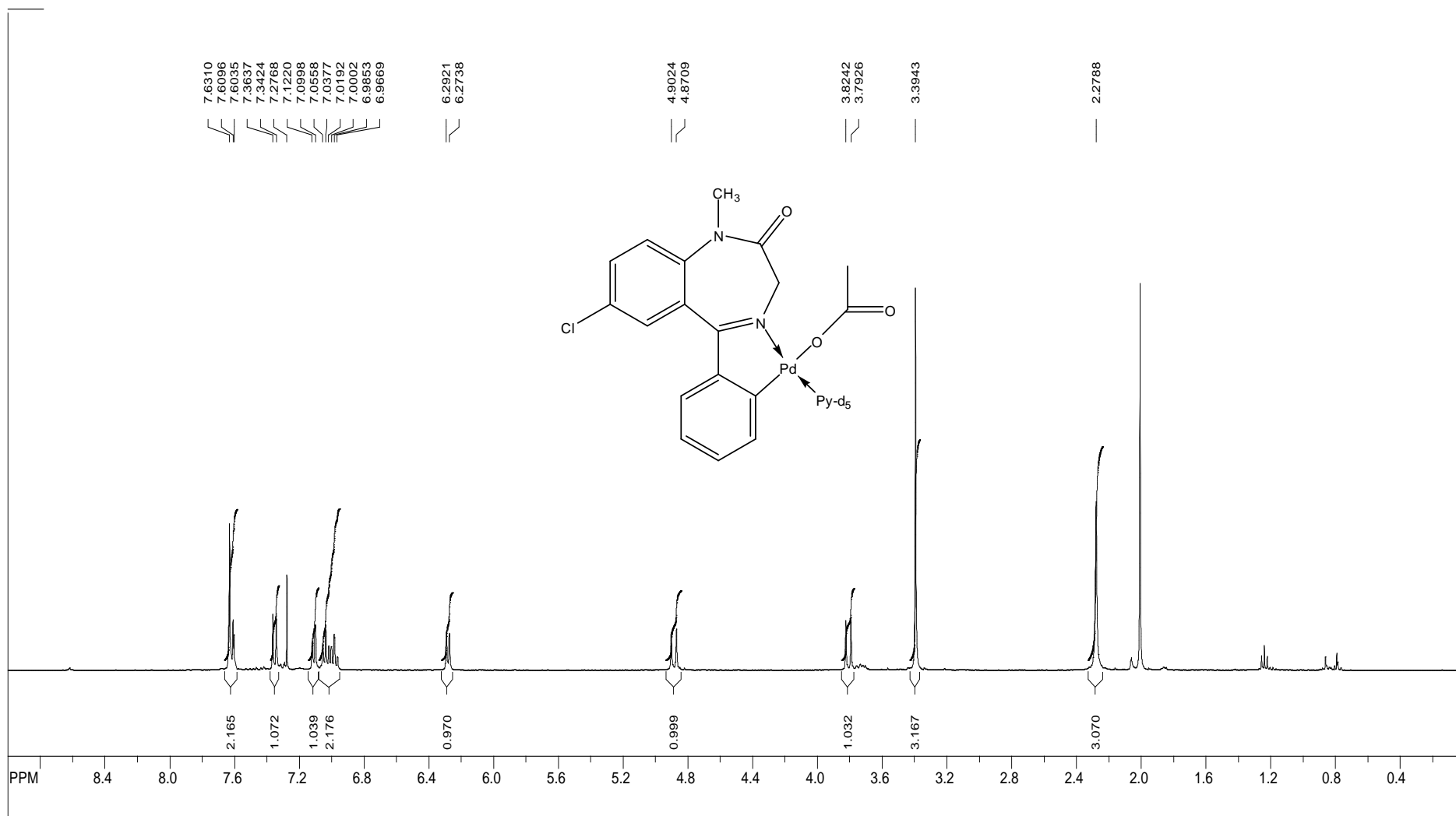
---

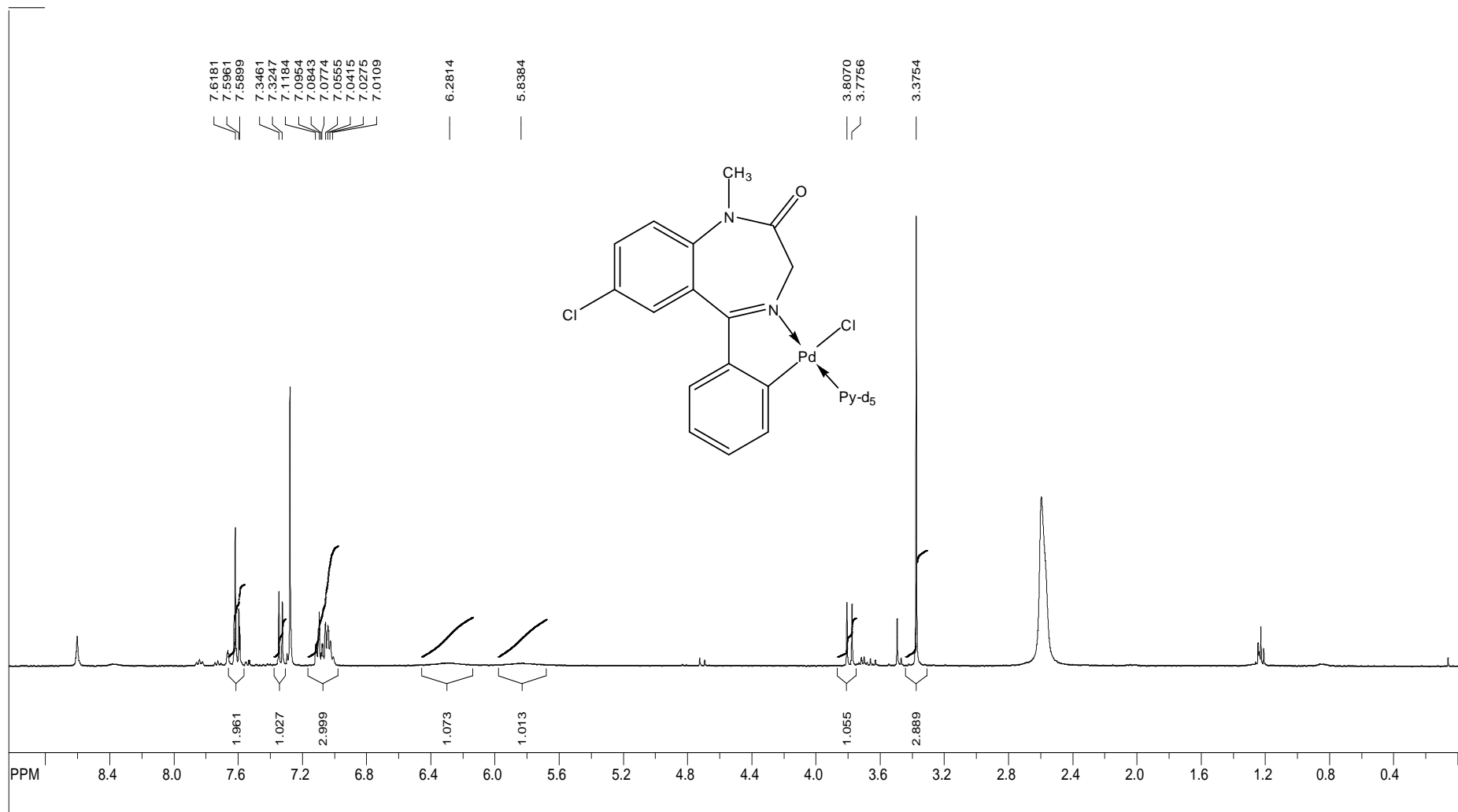
---

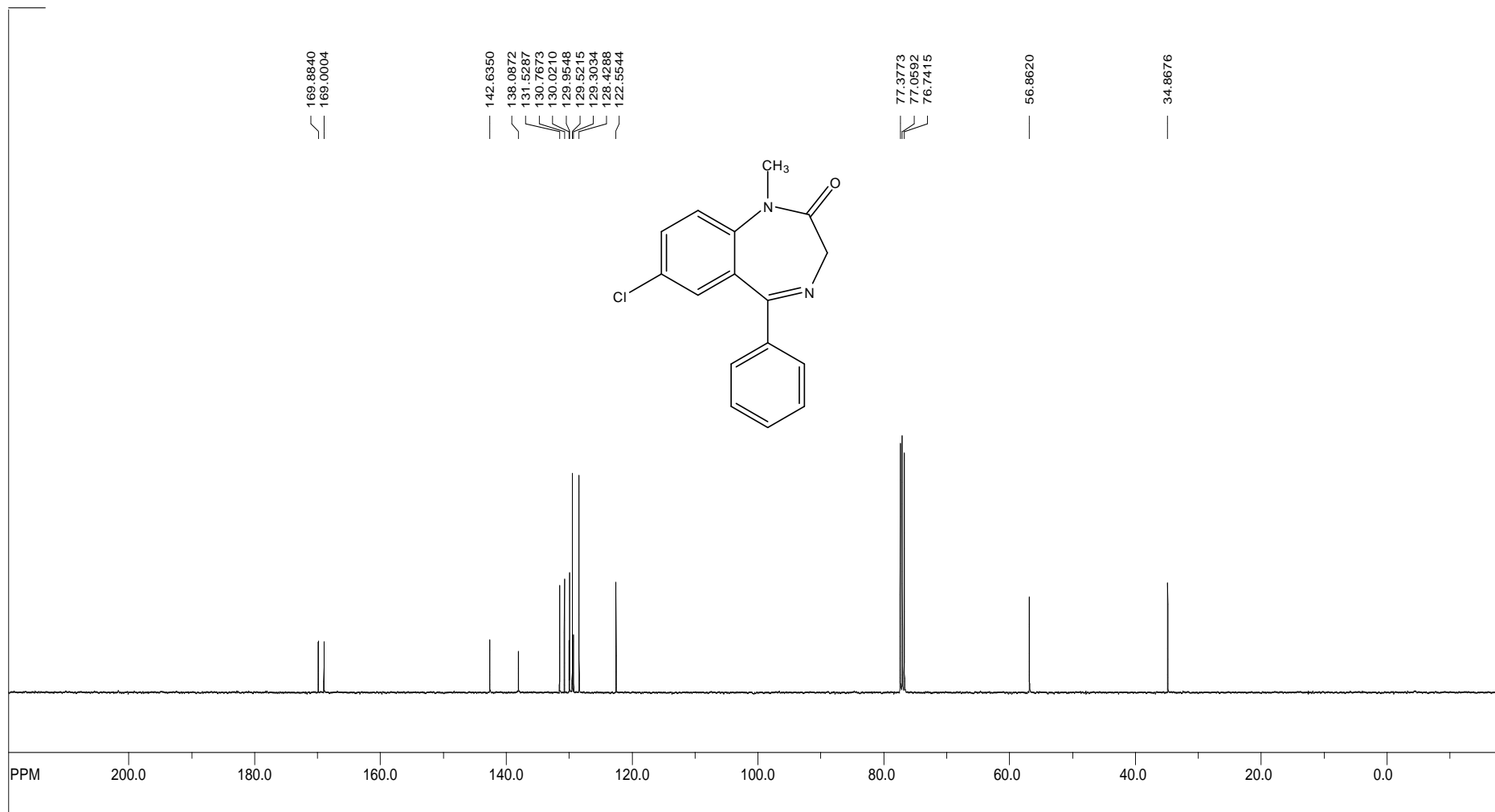
# APÊNDICES

---

---

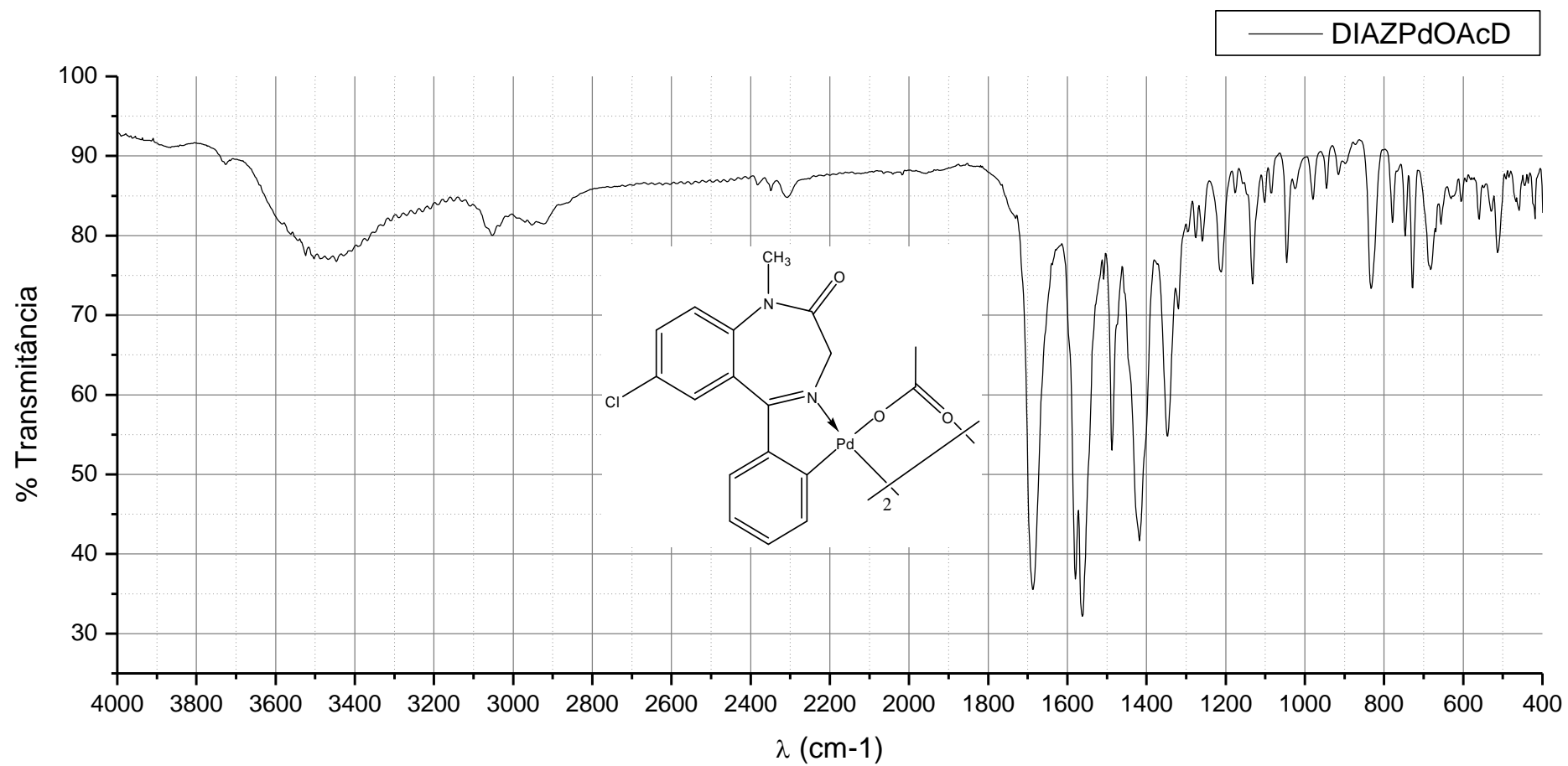
APÊNDICE A – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdOAcD com piridina deuterada, em  $\text{CDCl}_3$ 

APÊNDICE B – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do DIAZPdCID com piridina deuterada, em  $\text{CDCl}_3$ 

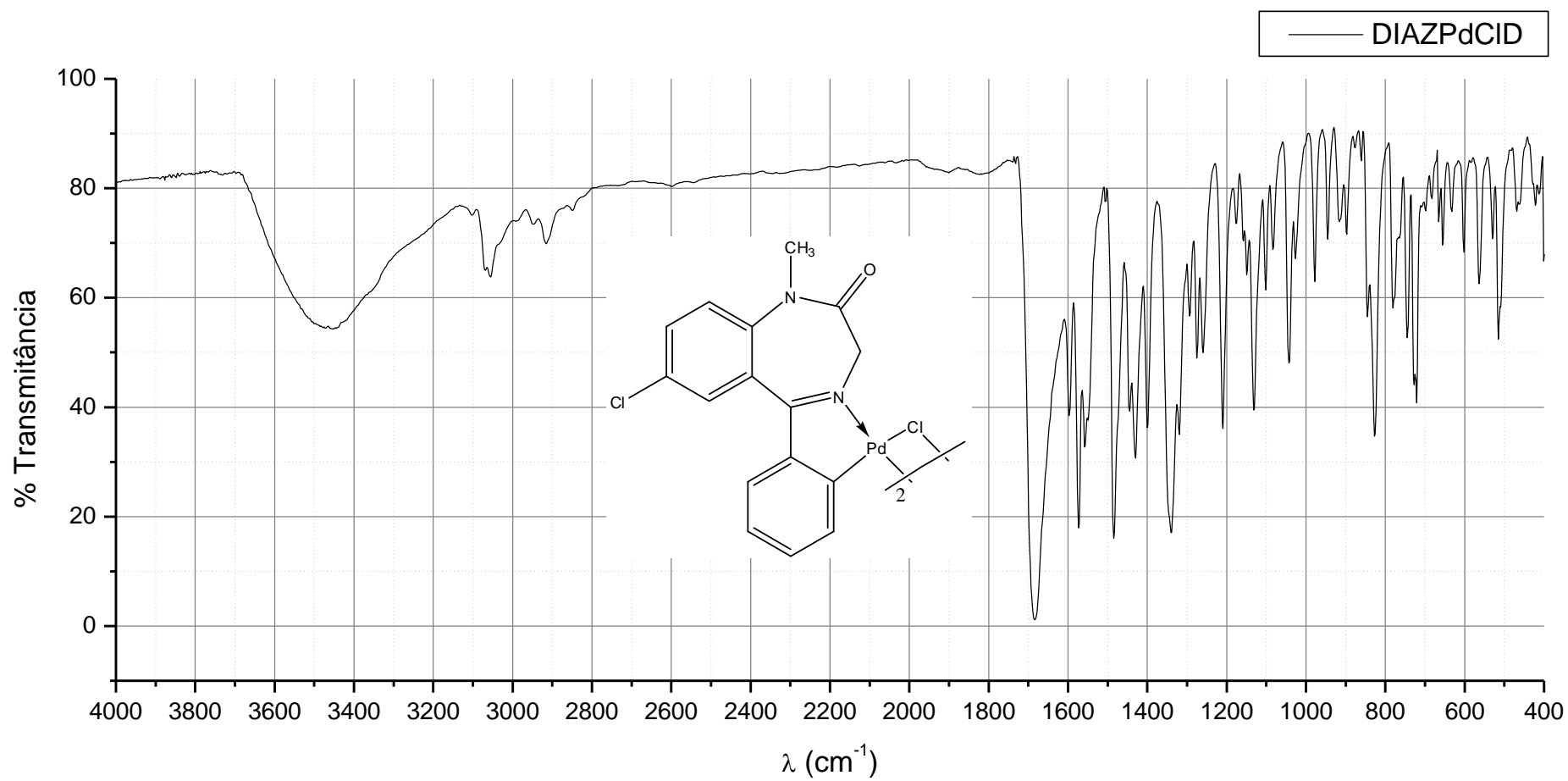
APÊNDICE C – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do diazepam em  $\text{CDCl}_3$ 



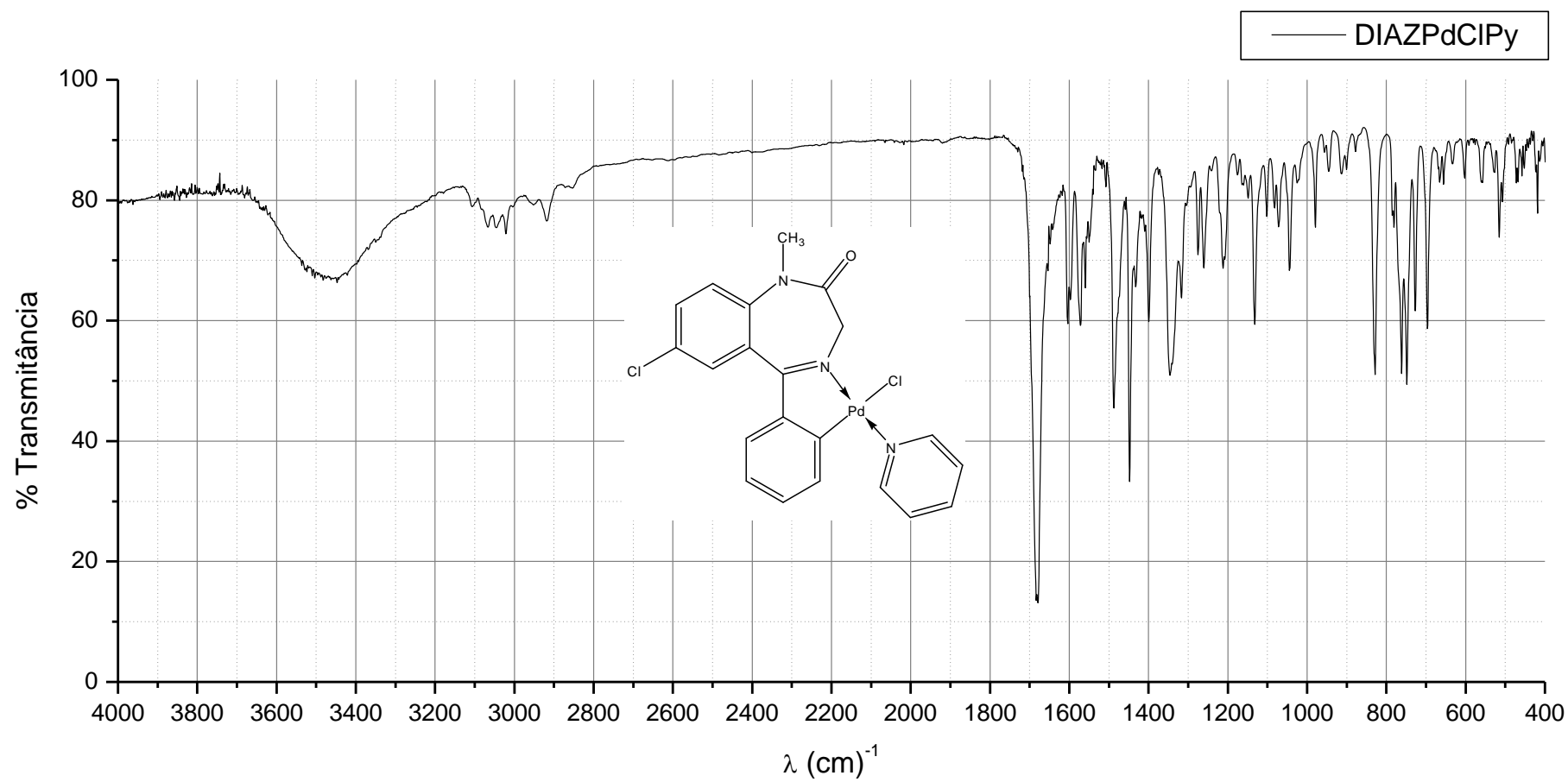
## APÊNDICE D – Espectro na região do IV do DIAZPdOAcD

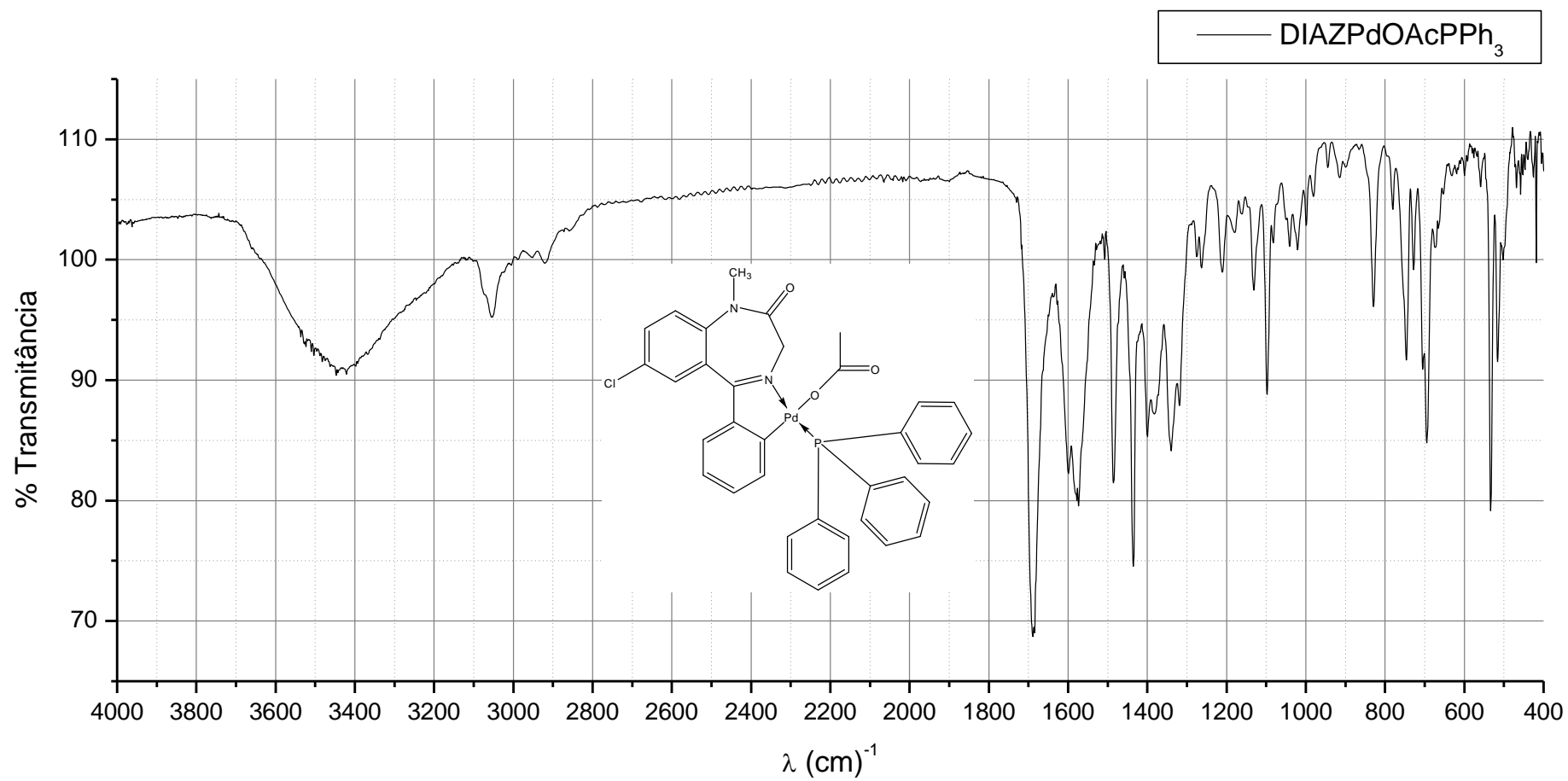


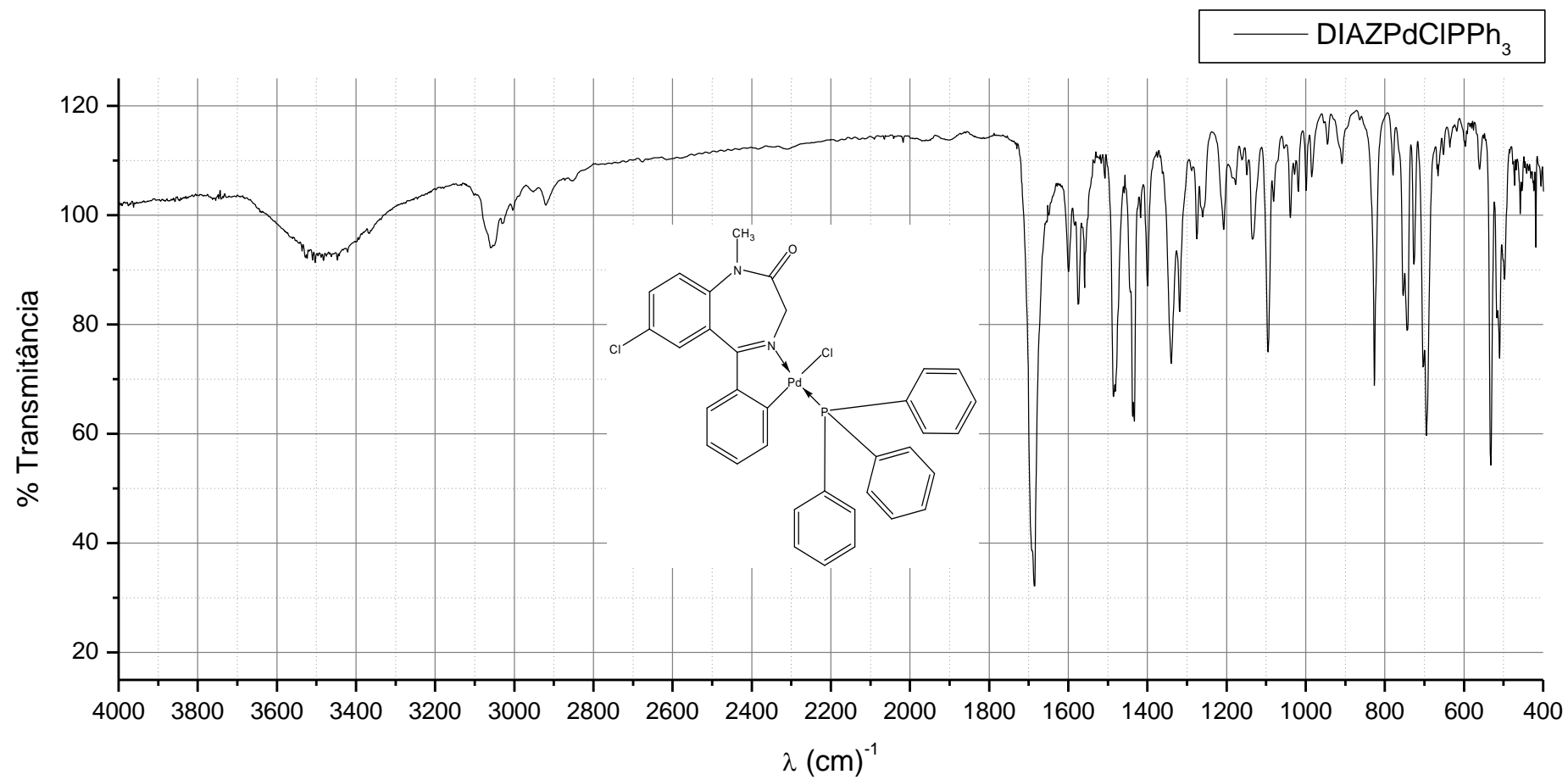
## APÊNDICE E – Espectro na região do IV do DIAZPdCID



## APÊNDICE F – Espectro na região do IV do DIAZPdClPy



APÊNDICE G – Espectro na região do IV do DIAZPdOAcPPh<sub>3</sub>

APÊNDICE H – Espectro na região do IV do DIAZPdCIPh<sub>3</sub>

## APÊNDICE I – Espectro na região do IV do diazepam

