



UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANSIOLÍTICA E ANTIOXIDANTE
DE COMPLEXOS BENZODIAZEPÍNICOS DE PALÁDIO(II) E PLATINA(II)**

ARTUR VIEIRA DA SILVA

Universidade Federal de Alagoas

**Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió-AL**

ARTUR VIEIRA DA SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANSIOLÍTICA E ANTIOXIDANTE
DE COMPLEXOS BENZODIAZEPÍNICOS DE PALÁDIO(II) E PLATINA(II)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, do Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Maceió – AL

2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586s Silva, Artur Vieira da.
Síntese e avaliação das atividades ansiolítica e antioxidante de complexos benzodiazepínicos de paládio (II) e platina (II) / Artur Vieira da Silva. – 2023. 93 f. : il., grafs., tabs. color.

Orientador: Mario Roberto Meneghetti.
Tese (doutorado em ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 125-136.
Apêndices: f. 138-192.

1. Complexos metálicos. 2. Compostos organometálicos. 3. Benzodiazepínicos. 4. Química farmacêutica. 5. Transtornos de ansiedade. 6. Ansiolíticos. 7. Estresse oxidativo. I. Título.

CDU: 661.8



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



Campus A. C. Simões, Cidade Universitárias
 57072-900, Maceió-AL, Brasil
 Fone: (82) 3214-1144
 Email: ppgqb@iqb.ufal.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando Artur Vieira da Silva intitulada: “Síntese e avaliação das atividades ansiolítica e antioxidante de complexos benzodiazepínicos de paládio(II) e platina(II)”, apresentada, em sessão aberta, ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 10 de janeiro de 2023, às 14h, por meio de videoconferência.

Maceió, 10 de janeiro de 2023.

Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 MARCELO DUZZIONI
 Data: 16/01/2023 18:07:56-0300
 Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dr. MARCELO DUZZIONI
 Examinador Externo ao Programa

Documento assinado digitalmente
 Dr. OLAGIDE WAGNER DE CASTRO, UFAL  OLAGIDE WAGNER DE CASTRO
 Data: 12/01/2023 15:23:55-0300
 Examinador Externo ao Programa Verifique em <https://verificador.iti.br>

Documento assinado digitalmente
 Dr. EDEILDO FERREIRA DA SILVA JÚNIOR  EDEILDO FERREIRA DA SILVA JÚNIOR
 Data: 17/01/2023 07:35:52-0300
 Examinador Interno Verifique em <https://verificador.iti.br>

Documento assinado digitalmente
 Dra. ISIS MARTINS FIGUEIREDO, UFAL  ISIS MARTINS FIGUEIREDO
 Data: 17/01/2023 10:51:55-0300
 Examinador Interno Verifique em <https://verificador.iti.br>

Documento assinado digitalmente
 Dr. MARIO ROBERTO MENEGHETTI, UFAL  MARIO ROBERTO MENEGHETTI
 Data: 12/01/2023 14:26:22-0300
 Presidente Verifique em <https://verificador.iti.br>

RESUMO

O planejamento de compostos candidatos a fármacos se configura como uma importante estratégia da Química Medicinal para a descoberta de fontes alternativas no tratamento de diversas patologias, dentre estas, tem-se os transtornos de ansiedade (TA). Os problemas relacionados aos TA acometem milhares de pessoas no mundo todo, sendo que os benzodiazepínicos se destacam como fármacos de primeira escolha para o tratamento. Esses fatos inspiraram como elaboração deste trabalho de pesquisa, tendo como objetivos: sintetizar complexos de paládio(II) e platina(II) contendo ligantes benzodiazepínicos – Diazepam (DZP), Bromazepam (BMZ), Alprazolam (APZ) –, a fim de avaliar as atividades biológicas dos mesmos no combate à ansiedade e ao estresse oxidativo. Foram sintetizados dezessete complexos metálicos, a maioria organometálicos, derivados de compostos benzodiazepínicos com rendimentos considerados de moderados a bons. Alguns dos complexos foram obtidos a partir de outros complexos benzodiazepínicos, geralmente diméricos, empregando reações, como por exemplo, de substituição e adição de ligantes e de inserção de alcinos em complexos contendo ligação Pd-C. Usando essas estratégias, foram preparados compostos com dois ligantes bioativos (híbridos). Por exemplo, foram preparados complexos de Pd(II) a partir do dímero [(DZP)PdOAc]₂ contendo, além do grupo farmacofórico benzodiazepínico, os ligantes derivados dos ácidos isonicotínico (AI) e nicotínico (AN). Os complexos metálicos isolados foram bem caracterizados por técnicas espectroscópicas, exceto aqueles modificados por reações de inserção de alcinos na ligação metal-carbono, os quais, apesar de puros, necessitam de mais caracterizações para a determinação adequada de sua estrutura. Os testes para verificação da capacidade antioxidante dos complexos obtidos demonstraram resultados promissores, com destaque ao complexo [(BMZ)PdCl₂]. Vale destacar que os estudos para avaliação da atividade antioxidante destes compostos são importantes, visto que em casos de TA, elevados graus de estresse oxidativo podem estar associados. Os estudos de avaliação ansiolítica do complexo [(DZP)PdCl]₂ demonstrou um efeito ansiolítico na dose de 0,15 mg/kg (0,176 μmol/kg), para o teste de labirinto em cruz elevado (LCE), não promovendo alterações na atividade locomotora e nem efeito amnésico nessa dose administrada. Por fim, os resultados obtidos no LCE demonstram que o efeito do tipo ansiolítico promovido pelo complexo é mediado via receptor GABA_A.

Palavras-chave: Complexos metálicos. Compostos organometálicos. Paladaciclos. Benzodiazepínicos. Química Medicinal. Transtornos de ansiedade. Ansiolíticos. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

The planning of drug candidate compounds is an important strategy of Medicinal Chemistry for the discovery of alternative sources in the treatment of several pathologies, such as anxiety disorders (TA). Problems related to TA affect thousands of people worldwide and benzodiazepines stand out as drugs of first choice for treatment. These facts inspired the elaboration of this research work, with the following objectives: to synthesize palladium(II) and platinum(II) complexes containing benzodiazepine ligands – Diazepam (DZP), Bromazepam (BMZ), Alprazolam (APZ) –, in order to evaluate how their biological activities are combating anxiety and oxidative stress. Seventeen metal complexes have been synthesized, most of them organometallic derived from benzodiazepine compounds with yields considered moderate to good. Some of the complexes were obtained from other benzodiazepine complexes, generally dimeric, employing reactions such as substitution and addition of ligands and insertion of alkynes in complexes containing Pd-C bond. Using these strategies, compounds with two bioactive ligands (hybrids) were prepared. For example, Pd(II) complexes were prepared from the [(DZP)PdOAc]₂ dimer containing, in addition to the benzodiazepine pharmacophoric group, the ligands derived from isonicotinic (AI) and nicotinic (AN) acids. The isolated metal complexes were well characterized by spectroscopic techniques, except those modified by reactions of insertion of alkynes in the metal-carbon bond, which although pure need further characterization for the proper determination of their structure. Tests to verify the antioxidant capacity of the obtained complexes demonstrated promising results, with emphasis on the [(BMZ)PdCl₂] complex. It is worth mentioning that studies to assess the antioxidant activity of these compounds are important, since in cases of TA high levels of oxidative stress may be associated. The anxiolytic evaluation studies of the [(DZP)PdCl₂]₂ complex showed an anxiolytic effect at a dose of 0.15 mg/kg (0.176 μmol/kg), for the elevated plus maze test (EPM), not promoting changes in the locomotor activity and no amnesic effect at this administered dose. Finally, the results obtained in the EPM demonstrate that the anxiolytic-like effect promoted by the complex is mediated via the GABAA receptor.

Keywords: Metal complexes. Organometallic compounds. Paladacycles. Benzodiazepines. Medicinal Chemistry. Anxiety disorders. Anxiolytics. Oxidative stress.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Usos medicinais de alguns metais complexados com compostos orgânicos.....	32
Tabela 2	– Complexos de metais de transição contendo derivados de benzodiazepínicos como ligantes.....	35
Tabela 3	– Locais de realização das atividades experimentais.....	49
Tabela 4	– Procedência e fórmula molecular dos reagentes e solventes.....	50
Tabela 5	– Capacidade antioxidante sequestradora de radicais (DPPH·) considerando 1 hora de reação.....	108
Tabela 6	– Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl] ₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 µmol/kg) no número de entradas nos braços fechados (EBF) e nos parâmetros etológicos avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE).....	110
Tabela 7	– Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl] ₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 µmol/kg) nos parâmetros espaço-temporais da caixa claro-escuro (CCE).....	111
Tabela 8	– Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl] ₂ (0,15 mg/kg) (0,176 µmol/kg) e do flumazenil (2 mg/kg) (6,59 µmol/kg) no número de entradas dos braços fechados (EBF) e nos parâmetros etológicos avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE).....	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura do Diazepam com destaque para o núcleo benzodiazepínico.....	19
Figura 2	– Região do Diazepam favorável à ciclometalação e estrutura básica do metalaciclo formado.....	19
Figura 3	– Algumas substâncias relatados no estudo de Sternbach (I).....	26
Figura 4	– Algumas substâncias relatados no estudo de Sternbach (II).....	27
Figura 5	– Relação estrutura-atividade dos BZDs.....	28
Figura 6	– Estrutura pentamérica do receptor GABA _A	28
Figura 7	– Sítios de ligação do receptor GABA _A	29
Figura 8	– Receptor GABA _A com os sítios de ligação alostérica.....	30
Figura 9	– Benzodiazepínicos comercializados no Brasil.....	31
Figura 10	– Estrutura do cisplatina (1), estrutura genérica dos tiossemicarbazonas (2) e estrutura dos complexos de paládio (3), M = Pd(II) e platina, M = Pt(II) com fenilacetaldéido tiossemicarbazona.....	33
Figura 11	– Estrutura química de alguns metalofármacos.....	34
Figura 12	– Reações de ciclopaladação do Diazepam na presença de sais de paládio(II), formando [(DZP)PdCl] ₂ e [(DZP)PdOAc] ₂	40
Figura 13	– Esquema de planejamento de potenciais fármacos híbridos.....	42
Figura 14	– Mono e di-inserção de alcinos.....	43
Figura 15	– Sínteses realizadas por monoinserções.....	43
Figura 16	– Reações com alcinos.....	44
Figura 17	– Reação de di-inserção com fenilacetileno.....	45
Figura 18	– Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos paladaciclos derivados do Diazepam.....	74
Figura 19	– Conformação cisoide e transoide para os complexos [(DZP)PdOAc] ₂ e [(DZP)PdCl] ₂	77
Figura 20	– Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos complexos [(BMZ)PdCl] ₂ e [(BMZ)Pt] ₂ derivados do Bromazepam.....	79
Figura 21	– Mecanismo reacional proposto para a obtenção do dímero [(DZP)PdI] ₂ obtido por metátese halogênica.....	82

Figura 22	– Mecanismo reacional proposto para a obtenção do complexo [(BMZ)PdI ₂] obtido por metátese halogênica.....	82
Figura 23	– Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos monômeros derivados do Diazepam.....	85
Figura 24	– Nitrogênio se coordenando ao paládio como ligante sigma doador de elétrons.....	88
Figura 25	– Fósforo se coordenando ao paládio como ligante σ doador (<i>a</i>) e π acceptor (<i>b</i>) de elétrons.....	88
Figura 26	– Alcinos utilizados nas sínteses de modificação estrutural do complexo [(DZP)PdI ₂].....	89
Figura 27	– Mecanismo reacional proposto para a monoinserção de alcinos na ligação Pd-C.....	90
Figura 28	– Proposta de mecanismo reacional para a di-inserção de alcinos na ligação Pd-C.....	92
Figura 29	– Possível mecanismo para a possível estrutura obtida por di-inserção após rearranjo do composto seguida de descomplexação do paládio(II), “DZP(MPP) ₂ ”.....	95
Figura 30	– Acompanhamento da reação do dímero [(DZP)PdI ₂] com metil fenilpropiolato (MPP) por RMN de ¹ H em CDCl ₃ durante 24 horas.....	97
Figura 31	– Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos complexos híbridos com AI e AN, mas exemplificado apenas com AI.....	100
Figura 32	– Valores correspondentes aos sinais de RMN de ¹³ C atribuídos aos carbonos dos ácidos isonicotínico (AI) e nicotínico (AN).....	102
Figura 33	– Capacidade antioxidante de alguns benzodiazepínicos frente ao radical DPPH.....	103
Figura 34	– Faixa de absorção do Diazepam e dos complexos diméricos derivados do Diazepam.....	103
Figura 35	– Capacidade antioxidante dos dímeros [(DZP)PdCl ₂], [(DZP)PdI ₂] e [(DZP)PdOAc] ₂ frente ao radical DPPH.....	104
Figura 36	– Capacidade antioxidante dos complexos [(BMZ)PdCl ₂] e [(BMZ)PdI ₂] frente ao radical DPPH.....	105

Figura 37	–	Influência do tempo de reação entre o complexo [(DZP)PdI ₂] e o radical DPPH·.....	106
Figura 38	–	Influência do tempo de reação entre o complexo [(BMZ)PdI ₂] e o radical DPPH·.....	106
Figura 39	–	Influência do tempo de reação entre o complexo [(BMZ)PdCl ₂] e o radical DPPH·.....	107
Figura 40	–	Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl ₂] (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) no labirinto em cruz elevado (LCE).....	110
Figura 41	–	Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl ₂] (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) no tempo de permanência no compartimento claro no teste da caixa claro-escuro (CCE).....	110
Figura 42	–	Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl ₂] (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) no teste do campo aberto (CA).....	111
Figura 43	–	Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl ₂] (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) no step-down (SD).....	113
Figura 44	–	Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl ₂] (0,15 mg/kg) (0,176 μmol/kg) e do flumazenil (2 mg/kg) (6,59 μmol/kg) no labirinto em cruz elevado (LCE).....	116
Figura 45	–	Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl ₂] (0,15 mg/kg) (0,176 μmol/kg) e do flumazenil (2 mg/kg) (6,59 μmol/kg) no teste do campo aberto (CA).....	117
Figura AP1	–	Teste do labirinto em cruz elevado (LCE) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).....	183
Figura AP2	–	Teste da caixa claro-escuro (CCE) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).....	184
Figura AP3	–	Teste do campo aberto (TCA) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).....	185
Figura AP4	–	Teste do step-down (SD) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).....	186

Figura AP5	– Delineamento experimental realizado para avaliar a atividade do tipo ansiolítica no LCE e a atividade locomotora no CA do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂ (0,015; 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol).....	187
Figura AP6	– Delineamento experimental para avaliar a atividade ansiolítica na CCE do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂ (0,015; 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol).....	188
Figura AP7	– Delineamento experimental realizado para avaliar efeito amnésico no SD do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂ (0,015; 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol).....	189
Figura AP8	– Delineamento experimental realizado para avaliar possível modulação gabaérgica no efeito tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂ (0,15 mg/kg) (0,176 μmol).....	190

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	– <i>Anterior Cingulate Cortex</i>
AI	– Ácido isonicotínico
ASR	– Atividade Sequestradora de Radicais
NA	– Ácido Nicotínico
AS	– Transtorno de Ansiedade de Separação
BMZ	– Bromazepam
BZDs	– Benzodiazepínicos
CAT	– Catalase
DFT	– <i>Density Functional Theory</i>
dIPFC	– <i>Dorsolateral Pre-frontal Cortex</i>
DMAP	– Dimetil aminopiridina
DMSO	– Dimetilsulfóxido
DSM	– 5-Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
DPPH	– 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
DZP	– Diazepam
EO	– Estresse Oxidativo
FDG	– 18-flúordesoxiglucose
FE	– Fobias Específicas
GABA	– Ácido gama-aminobutírico
GSH	– Glutathiona reduzida
ISRSs	– Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
LCE	– Labirinto em Cruz Elevado
M	– Metal
MS	– Mutismo Seletivo
AcOH	– Ácido acético
OAc	– Íon acetato
OFC	– Orbitofrontal Cortex bilateral
PET	– Tomografia por emissão de pósitron
PhCl	– Clorobenzeno
PPh ₃	– Trifenilfosfina
ppm	– Parte por milhão

PTX	– Picrotoxina
PTZ	– Pentilenotetrazol
Py	– Piridina
RMN	– Ressonância Magnética Nuclear
SNC	– Sistema Nervoso Central
SOD	– Superóxido Dismutase
TA	– Transtorno de Ansiedade
TOM	– Teoria do Orbital Molecular

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	18
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
2.1.	Transtornos de Ansiedade.....	21
2.1.1.	Considerações Gerais.....	21
2.1.2.	Tratamento.....	22
2.1.2.1.	Tratamento psicológico como medida não medicamentosa.....	23
2.1.2.2.	Tratamento medicamentoso.....	23
2.1.2.3.	Novas alternativas farmacológicas para os transtornos de ansiedade.....	24
2.2.	Ansiedade e Estresse Oxidativo.....	25
2.3.	Farmacologia dos benzodiazepínicos.....	26
2.3.1.	Contexto histórico dos BZDs.....	26
2.3.2.	Mecanismo de ação dos BZDs.....	28
2.3.3.	Uso de benzodiazepínicos e seus derivados nos transtornos de ansiedade e outras doenças correlatas.....	30
2.4.	Química Medicinal e Metalofármacos.....	32
2.4.1.	Contexto Histórico.....	32
2.5.	Complexos metálicos derivados de benzodiazepínicos.....	35
2.6.	Síntese de híbridos candidatos a fármacos como novas alternativas farmacológicas.....	41
2.7.	Reações de inserção de alcinos em paladaciclos como alternativa de modelagem das características estruturais e físico-químicas de complexos organometálicos.....	42
3.	OBJETIVOS.....	47
3.1.	Objetivo Geral.....	47
3.2.	Objetivos Específicos.....	47
4.	EXPERIMENTAL.....	49
4.1.	Atividades desenvolvidas e locais de realização.....	49
4.2.	Reagentes e solventes.....	50
4.3.	Instrumentação para caracterização.....	51
4.3.1.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	51
4.3.2.	Espectrometria de massas.....	51

4.3.3.	Espectroscopia na região do infravermelho médio (IV).....	52
4.3.4.	Análise elementar.....	52
4.3.5.	Espectroscopia por absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis)	52
4.3.6.	Ponto de Fusão e/ou degradação.....	52
4.4.	Procedimentos de síntese.....	53
4.4.1.	Síntese dos dímeros derivados do Diazepam (DZP).....	53
4.4.1.1.	Síntese do <i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }- μ_2 -cloropaládio(II)], [(DZP)PdCl] ₂ ...	53
4.4.1.2.	Síntese do <i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }- μ_2 -acetatopaládio(II)], [(DZP)PdOAc] ₂	55
4.4.2.	Síntese dos complexos derivados do Bromazepam (BMZ).....	55
4.4.2.1.	Síntese do [2-{(7-bromo-2-oxo-1,3-diidro-2 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-5-il)piridinil- κ^2 - <i>N,N</i> }cloropaládio(II)], [(BMZ)PdCl] ₂	55
4.4.2.2.	Síntese do [2-{(7-bromo-2-oxo-1,3-diidro-2 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-5-il)piridinil- κ^2 - <i>N,N</i> }iodoplatina(II)], [(BMZ)PtI] ₂	56
4.4.3.	Síntese dos complexos obtidos por metátese halogênica.....	57
4.4.3.1.	Síntese do <i>bis</i> [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }- μ_2 -iodopaládio(II)], [(DZP)PdI] ₂	57
4.4.3.2.	Síntese do [2-{(7-bromo-2-oxo-1,3-diidro-2 <i>H</i> -1,4-benzodiazepin-5-il)piridinil- κ^2 - <i>N,N</i> }iodopaládio(II)], [(BMZ)PdI] ₂	58
4.4.4.	Síntese dos monômeros obtidos a partir dos dímeros.....	59
4.4.4.1.	Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }cloro-4-dimetilaminopiridinopaládio(II)], [(DZP)PdCIDMAP].....	60
4.4.4.2.	Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }cloropiridinopaládio(II)], [(DZP)PdClPy].....	61
4.4.4.3.	Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }iodopiridinopaládio(II)], [(DZP)PdIPy].....	62
4.4.4.4.	Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }clorotrifetilfosfinopaládio(II)], [(DZP)PdClPPh ₃]....	63
4.4.4.5.	Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }iodotrifetilfosfinopaládio(II)], [(DZP)PdIPPh ₃].....	64

4.4.4.6.	Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 - <i>C,N</i> }- μ_2 -acetatotrifetilfosfinopaládio(II)], [(DZP)PdOAcPPh ₃].....	65
4.4.5.	Modificação do complexo [(DZP)PdI] ₂ por meio de reações de inserção de alcinos.....	66
4.4.5.1.	Síntese do paladaciclo com dimetil acetilenodicarboxilato por monoinserção, [(DZP)PdI(DMAD)] ₂	66
4.4.5.2.	Síntese do paladaciclo com metil fenilpropiolato por monoinserção, [(DZP)PdI(MPP)] ₂	67
4.4.5.3.	Síntese por di-inserção com metil fenilpropiolato, “DZP(MPP) ₂ ”.....	68
4.4.6.	Síntese de compostos híbridos a partir de modificações no dímero [(DZP)PdOAc] ₂	68
4.4.6.1.	Síntese do complexo híbrido com o Ácido Isonicotínico, [(DZP)Pd(AI)] ₂	69
4.4.6.2.	Síntese do complexo híbrido com o Ácido Nicotínico, [(DZP)Pd(AN)] ₂	69
4.5.	Determinação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH·.....	70
4.6.	Testes comportamentais utilizados.....	71
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1.	Síntese dos complexos.....	73
5.1.1.	Síntese dos dímeros derivados do Diazepam (DZP).....	73
5.1.1.1.	Caracterização química dos dímeros derivados do Diazepam (DZP).....	75
5.1.2.	Síntese dos complexos [(BMZ)PdCl ₂] e [(BMZ)PtI ₂] derivados do Bromazepam (BMZ).....	78
5.1.2.1.	Caracterização química dos complexos [(BMZ)PdCl ₂] e [(BMZ)PtI ₂] derivados do Bromazepam (BMZ).....	79
5.1.3.	Síntese dos complexos [(DZP)PdI] ₂ e [(BMZ)PdI] ₂ , obtidos por metátese halogênica.....	81
5.1.3.1.	Caracterização química dos complexos obtidos por metátese halogênica.....	83
5.1.4.	Síntese dos monômeros derivados do Diazepam (DZP).....	84
5.1.4.1.	Caracterização química dos monômeros derivados do Diazepam (DZP).....	85
5.1.5.	Síntese dos complexos modificados por meio de inserção de alcinos.....	89
5.1.5.1.	Caracterização química dos complexos modificados por meio de inserção de alcinos.....	92

5.1.6.	Síntese dos compostos híbridos a partir de modificações no dímero [(DZP)PdOAc] ₂	99
5.1.6.1.	Caracterização química dos compostos híbridos a partir de modificações no dímero [(DZP)PdOAc] ₂	101
5.2.	Avaliação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH.....	102
5.3.	Principais resultados de atividade biológica com o complexo [(DZP)PdCl] ₂	109
5.3.1.	Labirinto em cruz elevado (LCE).....	109
5.3.2.	Caixa claro-escuro (CCE).....	110
5.3.3.	Teste do campo aberto (CA).....	111
5.3.4.	Efeito do tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂	112
5.4.	Step-down (SD).....	113
5.4.1.	Efeito do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂ sobre a atividade locomotora e na memória.....	114
5.5.	Modulação gabaérgica do efeito tipo ansiolítico pelo bloqueio com o flumazenil (antagonista dos benzodiazepínicos).....	115
5.5.1.	Labirinto em cruz elevado (LCE).....	115
5.5.2.	Teste do campo aberto (CA).....	117
5.5.3.	Modulação gabaérgica no efeito do tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl] ₂	117
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	120
6.1.	Considerações Finais.....	120
7.	PERSPECTIVAS	123
	REFERÊNCIAS	125
	APÊNDICE A – Experimentos de RMN do Diazepam (DZP) em CDCl ₃	138
	APÊNDICE B – Experimentos de RMN do Bromazepam (BMZ) em DMSO-d ₆	139
	APÊNDICE C – Experimentos de RMN do [(DZP)PdOAc] ₂ em CDCl ₃	140
	APÊNDICE D – Experimentos de RMN do [(DZP)PdCl] ₂ em DMSO-d ₆	142
	APÊNDICE E – Experimentos de RMN do [(BMZ)PdCl] ₂ em DMSO-d ₆	144
	APÊNDICE F – Experimentos de RMN do [(BMZ)PtI] ₂ em DMSO-d ₆	146
	APÊNDICE G – Experimentos de RMN do [(DZP)PdI] ₂ em DMSO-d ₆	148
	APÊNDICE H – Experimentos de RMN do [(BMZ)PdI] ₂ em DMSO-d ₆	150

APÊNDICE I – Experimentos de RMN do [(DZP)PdClDMAP] em CDCl ₃	152
APÊNDICE J – Experimentos de RMN do [(DZP)PdClPy] em CDCl ₃	154
APÊNDICE K – Experimentos de RMN do [(DZP)PdIPy] em CDCl ₃	157
APÊNDICE L – Espectro de RMN de ¹ H do dímero [(DZP)PdOAc] ₂ com piridina deuterada em CDCl ₃	160
APÊNDICE M – Experimentos de RMN do [(DZP)PdClPPh ₃] em CDCl ₃	161
APÊNDICE N – Experimentos de RMN do [(DZP)PdIPPh ₃] em CDCl ₃	163
APÊNDICE O – Experimentos de RMN do [(DZP)PdOAcPPh ₃] em CDCl ₃	165
APÊNDICE P – Experimentos de RMN do [(DZP)PdI(DMAD)] ₂ em CDCl ₃	166
APÊNDICE Q – Experimentos de RMN do [(DZP)PdI(MPP)] ₂ em CDCl ₃	168
APÊNDICE R – Experimentos de RMN do “DZP(MPP) ₂ ” em CDCl ₃	169
APÊNDICE S – Experimentos de RMN do [(DZP)Pd(AI)] ₂ em CDCl ₃	170
APÊNDICE T – Experimentos de RMN do [(DZP)Pd(AN)] ₂ em CDCl ₃	172
APÊNDICE U – Espectros de FTIR dos ligantes Diazepam e Bromazepam.....	174
APÊNDICE V – Espectros de FTIR dos dímeros [(DZP)PdCl] ₂ , [(DZP)PdOAc] ₂ e [(DZP)PdI] ₂ , derivados do Diazepam.....	175
APÊNDICE W – Espectros de FTIR dos monômeros obtidos a partir dos dímeros....	177
APÊNDICE X – Espectros de FTIR dos complexos modificados por meio de inserção de alcinos.....	180
APÊNDICE Y – Espectro de FTIR do complexo [(BMZ)PdCl ₂] derivado do Bromazepam.....	182
APÊNDICE Z – Testes Comportamentais Utilizados.....	183
APÊNDICE A1 – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), N° 29/2018.....	192

1. INTRODUÇÃO

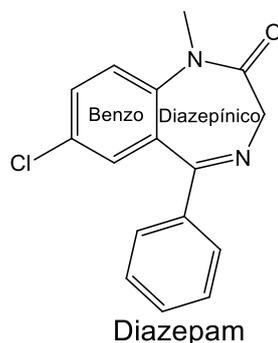
Os fármacos são, geralmente, compreendidos como compostos orgânicos ativos planejados ou não pelo homem. No entanto, metais podem estar associados, ou melhor, formando complexos com esses fármacos, promovendo novas propriedades biológicas com propriedades farmacológicas diferenciadas.

A síntese de compostos contendo um ou mais elementos metálicos em sua estrutura é uma estratégia que o químico medicinal pode adotar para o planejamento de novos fármacos (BERALDO, 2005). Nesse sentido, planejou-se a síntese de complexos de paládio(II) contendo derivados benzodiazepínicos como ligantes. Alguns exemplos já são conhecidos na literatura, em que o Diazepam é empregado como ligante para obter complexos organometálicos de paládio, mais especificamente, paladaciclos a partir de reações de ativação da ligação C-H (BARROS et al., 2016; OMAE, 2004).

Por sua vez, os transtornos de ansiedade (TA) vêm acometendo mais pessoas a cada ano, trazendo tanto prejuízos para a saúde quanto também economicamente, uma vez que são empenhados altos valores de capital para o tratamento dessa patologia (CRASKE et al., 2017). Dentre os fármacos de escolha para o tratamento, temos os benzodiazepínicos, os quais possuem atividade neuronal capaz de tratar esses transtornos, em sua maioria. A escolha de benzodiazepínicos como objeto de estudo desse trabalho se deu pelo fato de serem fármacos com propriedades bioativas já conhecidas e reportadas na literatura, além de serem capazes de formar complexos organometálicos com metais como ouro (MINGHETTI et al., 1998), platina (STOCCORO et al., 1994), paládio (CINELLU et al., 1991), cobre (MOSSET et al., 1980), dentre outros (PÉREZ et al., 2002; VISNJEVAC et al., 2002).

Nesse contexto, estudos voltados à síntese e avaliação da atividade biológica de complexos metálicos contendo ligantes benzodiazepínicos, tal como Diazepam-paládio(II) podem aumentar consideravelmente as possibilidades de desenvolvimento de metalofármacos como novas formas de tratamento dos TA ou mesmo outras doenças. De fato, é nesse contexto que este trabalho está inserido. Para tanto, sintetizamos complexos derivados do Diazepam (DZP) (Figura 1) e do Bromazepam (BMZ), ambos benzodiazepínicos passíveis de se ligarem a metais (como paládio e platina, ambos empregados neste trabalho).

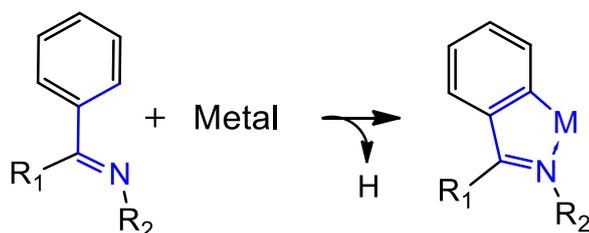
Figura 1 – Estrutura do Diazepam com destaque para o núcleo benzodiazepínico.



Fonte: Autor, 2023.

A própria estrutura química do Diazepam e de outros benzodiazepínicos é favorável a reações de ciclometalação, promovendo a formação de um ciclo de 5 membros, como observado na figura a seguir.

Figura 2 – Região do Diazepam favorável à ciclometalação e estrutura básica do metalacido formado.



Fonte: Autor, 2023.

Dentre as possibilidades de moldar as características de um composto e torná-lo um candidato a fármaco, encontramos aquelas relacionadas a formação dos chamados compostos híbridos, nos quais resultam de combinações de compostos bioativos com propriedades já conhecidas (BARRULAS, 2014; DIAS, 2015). Essa estratégia vem se destacando como uma alternativa bastante promissora, uma vez que é possível obter um candidato a fármaco com algumas propriedades moldadas conforme a necessidade clínica ou objetivando melhorias nas características físico-químicas do composto como solubilidade, maior estabilidade, dentre outros. Espera-se, com esse trabalho, obter resultados significativos que auxiliem na compreensão da atividade farmacológica de complexos metálicos contendo ligantes benzodiazepínicos, contribuindo, assim, para o avanço da pesquisa voltada para a química medicinal de metalofármacos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Transtornos de Ansiedade

2.1.1. Considerações Gerais

A ansiedade, em sentido mais amplo, é vista como uma reação normal do organismo às diversas situações do cotidiano, se apresentando tanto como um estado interno do falante, quanto de processos comportamentais, desencadeando esse estado. Nesse contexto, a ansiedade implica em uma condição de dúvida, incerteza ou até mesmo impotência do organismo frente a uma determinada situação (BRAGA et al., 2010; ZAMIGNANI; BANACO, 2005).

Quando há uma resposta adaptativa do organismo e uma consequente execução natural das atividades, a ansiedade é considerada normal. Entretanto, quando a mesma leva a algum sofrimento, ultrapassando essa normalidade e trazendo prejuízo à saúde da pessoa, essa condição passa a ser patológica, sendo chamada de Transtorno de Ansiedade (TA). Emocionalmente, o indivíduo pode manifestar sensações de medo, insegurança ou estar em estado de alerta; fisiologicamente, pode acarretar insônia, taquicardia, desordens intestinais, palidez, dentre outros (GIUNTINI, 2006). Assim como a ansiedade, o medo também possui um sentido adaptativo e evolutivo, embora sejam conceitos diferentes, uma vez que, no medo, conhecemos a fonte causadora desse sentimento, mas na ansiedade não se conhece essa fonte, tratando-se de uma expectativa futura (AMERICAM PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; SILVA, 2019).

Vale ressaltar, ainda, que os TA muitas vezes estão correlacionados com outras patologias como a depressão, na qual estudos revelam uma forte correlação entre esses problemas, levando até mesmo ao surgimento de apneia do sono, por exemplo (WIERSEMA; VAN ZELST; VOSHAAR, 2018; ZHOU et al., 2017). Dados da literatura reportam também a presença de TA em pacientes com transtorno bipolar (TB), sendo menos intenso no TB tipo I comparado ao TB tipo II (ESER et al., 2018), em pacientes com dores crônicas (CSUPAK et al., 2018), e o desencadeamento de problemas e outros de ordem psiquiátrica em pacientes com câncer (SHIM et al., 2017).

Em um estudo realizado a nível global, foi constatado que 1 a cada 5 pessoas (aproximadamente 17%) possui um transtorno mental comum. Outros 29,2% foram

identificados como tendo apresentado algum tipo de transtorno durante a vida (STEEL et al., 2014). Vale ressaltar, ainda, que segundo Bandelow e Michaelis (2015), não há evidências que as taxas de prevalência dos TA tenham se alterado nos últimos anos. Em 2010, mais de 60 milhões de europeus apresentaram algum distúrbio de ansiedade, acarretando um custo total de mais de 74 bilhões de euros com custos como incapacidade com a população europeia (CRASKE et al., 2017).

No Brasil, foi observado que após cerca de 12 meses, 12,7% da população em São Paulo apresentava ansiedade, dados que se aproximaram também do observado na cidade do Rio de Janeiro, com 12,1% da população. Uma das possíveis justificativas para tais dados está no fato dessas cidades estarem mais expostas à violência. As incidências foram ainda mais predominantes nas mulheres em relação aos homens (BLAY et al., 2018). Em trabalhos reportados na literatura, o sexo feminino e o histórico familiar de ansiedade são alguns fatores para a presença dessa patologia. Nos homens, esse quadro é mais presente em quem faz uso de substâncias como o álcool, por exemplo (CRASKE et al., 2017; KESSLER et al., 2007; SHIMADA-SUGIMOTO; OTOWA; HETTEMA, 2015; STEEL et al., 2014).

2.1.2. Tratamento

O tratamento para a ansiedade passa a ser uma alternativa no momento em que o paciente mostra um quadro de angústia ou apresenta comorbidades. Esse tratamento pode ser apenas a nível ambulatorial, mas a hospitalização poderá ocorrer caso a resposta ao tratamento ambulatorial não seja bem-sucedido. Vale salientar que é de grande importância que o paciente seja esclarecido a respeito do diagnóstico e tratamentos disponíveis, o que caracteriza uma “psicoeducação” (BANDELOW; MICHAELIS, 2015; BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017; PEEDICAYIL, 2020).

Diversos fatores devem ser levados em consideração ao buscar um plano de tratamento para os TA. Nesse tratamento, pode haver psicoterapia, farmacoterapia e outras intervenções. Entretanto, mesmo havendo tratamento eficaz para os TA, diversos pacientes acabam não buscando os serviços de saúde, e dentre os que buscam, uma porcentagem alta não é diagnosticada corretamente. Não há evidências ou dados de que essa realidade no sistema de saúde tenha se alterado nos últimos anos (BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017; GRIEBEL; HOLMES, 2013).

2.1.2.1. Tratamento psicológico como medida não medicamentosa

Porto e colaboradores (2008) relata contribuições específicas das neurociências para a terapia cognitivo-comportamental, na qual se encoraja o paciente a desafiar os medos e o pensamento negativo. Durante as exposições, o paciente deixa o seu senso de controle mais fortalecido e reduz expectativas futuras de dano. Esse processo tem importante valor adaptativo, uma vez que busca a não realização de comportamentos inadequados. Nesse sentido, percebe-se que as estratégias de exposição, de distração e até mesmo de reestruturação cognitiva são eficazes na regulação emocional. Atualmente, a terapia cognitivo-comportamental é tida como a abordagem não farmacológica mais validada para os TA (CHRISTENSEN; BATTERHAM; CALEAR, 2014; METZLER; MAHONEY; FREEDY, 2016).

A hipnose, a análise de imagens e a terapia psicodinâmica breve são outras alternativas de tratamento para os TA. Outra alternativa terapêutica não farmacológica reportada na literatura inclui a meditação baseada na atenção, relaxamento muscular e exercícios respiratórios. Vale ressaltar que essas opções são terapias coadjuvantes nas principais etapas do tratamento dessa patologia (METZLER; MAHONEY; FREEDY, 2016).

Ainda não foram localizados registros publicados a respeito de comparações entre o uso de fármacos e as terapias alternativas nos TA (CHRISTENSEN; BATTERHAM; CALEAR, 2014). Vários estudos vêm sendo realizados e, dentre esses, os estudos epidemiológicos podem auxiliar no planejamento de programas de tratamento e prevenção, assim como compreender as causas e origens desses distúrbios (BANDELOW; MICHAELIS, 2015; BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017).

2.1.2.2. Tratamento medicamentoso

São diversos os recursos farmacológicos que contamos atualmente para o tratamento dos TA e incluem as seguintes classes de medicamentos: benzodiazepínicos (BZDs), antidepressivos, barbitúricos, carbamatos, noradrenérgicos, anti-histamínicos e outros como o ácido glutâmico e a buspirona (AMARAL; MACHADO, 2012; BRAGA et al., 2010; FARIA et al., 2019; SHADER; GREENBLATT, 1993).

Os BZDs estão entre os fármacos mais utilizados para o tratamento de, pelo menos, três TA (ansiedade generalizada, transtorno do pânico e fobia social). Entretanto, o seu uso e o efeito a longo prazo acabam levando a se pensar no custo-benefício a respeito do uso desses fármacos (BRAGA et al., 2010). O risco de abuso e dependência por esses medicamentos acabam levando pacientes, clínicos e pesquisadores a resistirem quanto ao uso dos mesmos (ANDREATINI; LACERDA; ZORZETTO FILHO, 2001; ARORA et al., 2020). Diferente dos antidepressivos, os BZDs não causam insônia nem aumento do nervosismo. No entanto, em pacientes mais idosos, pode comprometer as funções cognitivas, além de levar à dependência em pacientes com predisposição ao abuso de substâncias (BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017).

No que se refere aos antidepressivos, o uso dos mesmos para a ansiedade é bem consolidado na literatura, seja o uso dos triciclos ou até mesmo os inibidores seletivos da recaptação de serotonina – ISRSs (GRAEFF, 2003; GRAEFF, 2002) e noradrenalina (ANDREATINI; LACERDA; ZORZETTO FILHO, 2001; BRAGA et al., 2010). Estudos demonstram que cada vez mais está aumentando o uso dos antidepressivos para tratar a ansiedade. O fato de haver menor incidência de efeitos adversos, assim como uma boa ação no tratamento dos transtornos emocionais e psicológicos da ansiedade, faz com que ISRSs sejam os fármacos de primeira escolha em detrimento aos BZDs e outros antidepressivos tricíclicos (BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017; SILVA, 2019). Os fármacos bloqueadores alfa-adrenérgicos agem no sistema nervoso central (SNC), não atuando diretamente nos componentes da ansiedade. Por isso, são fármacos de segunda ou terceira escolhas. Já outros fármacos, como a buspirona, vêm sendo utilizados nesse tratamento, embora ainda não se tenha a comprovação de uma ação superior aos fármacos de primeira escolha. Alguns relatos na literatura a respeito de drogas anti-histamínicas demonstram o efeito ansiolítico da hidrazina já na primeira semana de uso, além de não haver sintomas após a descontinuidade do uso do medicamento (ANDREATINI; LACERDA; ZORZETTO FILHO, 2001; BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017; BRAGA et al., 2010).

2.1.2.3. Novas alternativas farmacológicas para os transtornos de ansiedade

A falta de resposta adequada ao tratamento para os TA faz com que novas alternativas sejam buscadas e novos estudos sejam realizados nesse sentido. Dessa forma, novas opções

farmacológicas podem contribuir significativamente para a compreensão das bases neurobiológicas envolvidas nesses distúrbios (MURROUGH et al., 2016; SILVA, 2019).

O uso de produtos fitoterápicos já é conhecido há muito tempo, e vem aumentando gradativamente o emprego das plantas medicinais no combate à ansiedade. Registros já mencionam fitoterápicos com efeito ansiolítico (GUTIÉRREZ; CHILPA; JAIME, 2014). Há estudos que relatam a relação entre peptídeos e os transtornos de ansiedade e depressão (LACH et al., 2018). Já outros, mostram que complexos metálicos mostram atividade anticonvulsivante e ansiolítica em camundongos (BARROS et al., 2016; CORREIA, 2017; SILVA, 2019; ZHANG; YAO, 2018).

2.2. Ansiedade e Estresse Oxidativo

Muitos dos estudos envolvendo o equilíbrio redox na fisiopatologia dos TA foram realizados, sendo que alguns desses sugerem que processos oxidativos fora do equilíbrio são comuns em transtornos psiquiátricos. Assim, há a necessidade de desenvolver intervenções nesse campo de estudo (NG et al., 2008).

Segundo Sies (1997), o estresse oxidativo (EO) é caracterizado quando o equilíbrio redox é favorecido para a formação de radicais livres e outras espécies reativas, tanto devido ao aumento da sua produção quanto a uma deficiência nas defesas antioxidantes. No caso de um quadro de EO, o dano celular pode ser uma lesão estrutural ou até mesmo apoptose e necrose celular (DAVIS, 2000; FINKEL; HOLBROOK, 2000; SANTOS, 2017). Vale destacar que a alta taxa de metabolismo e a utilização de oxigênio acaba levando à produção de radicais livres no cérebro, tornando-o particularmente vulnerável (HALLIWELL, 2006; VALKO et al., 2007).

De fato, são recentes os estudos que correlacionam EO e ansiedade, mostrando correlações importantes, tanto em modelos animais como em estudos com humanos (BULUT et al., 2013; EMHAN et al., 2015; NG et al., 2008). Trabalhos na literatura apontam que doses ansiogênicas de vitamina A foram capazes de induzir o EO no hipocampo dos ratos, com aumento dos níveis de biomarcadores do EO, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (OLIVEIRA et al., 2007). Em humanos, foram relatados um aumento nas taxas de peroxidação lipídica nos transtornos de ansiedade generalizada (BULUT et al., 2013; EMHAN et al., 2015).

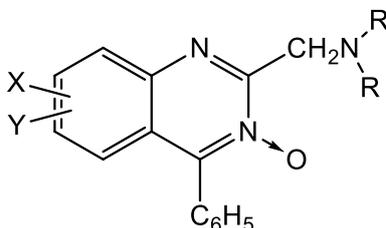
Estudos realizados por Fonteles e colaboradores (2016) demonstraram atividade antioxidante significativa para os fármacos Levetiracetam (um anticonvulsivo) e Clonazepam (um ansiolítico benzodiazepínico). Os testes realizados *in vitro* utilizaram ácido ascórbico como antioxidante de referência e, como marcadores de EO, utilizou-se peroxidação lipídica, níveis de nitrito-nitrato, atividade catalase e níveis reduzidos de glutationa (GSH). Os fármacos demonstraram propriedade antioxidante, impedindo mudanças pró-oxidativas. Resultados como esse revelam dados importantes na elucidação da proteção contra o EO no mecanismo neuroprotetor de fármacos com ação no SNC.

2.3. Farmacologia dos benzodiazepínicos

2.3.1. Contexto histórico dos BZDs

Sternbach e seu grupo desenvolveram, em meados dos anos 1950, um dos primeiros benzodiazepínicos com ação tranquilizante, a partir de uma demanda que vislumbrava a obtenção de um fármaco tranquilizante mais potente que os já existentes no mercado. Inicialmente, com base em experiências sintéticas anteriores, optaram por modificar estruturalmente substâncias relativamente novas à época, mas nunca exploradas para ação tranquilizante. As primeiras substâncias sintetizadas para tanto (Figura 3) não possuíam a atividade desejada, nem mesmo quando se removia o oxigênio ou quando se realizava a hidrogenação da estrutura (Figura 3).

Figura 3 – Algumas substâncias relacionadas ao estudo de Sternbach (I).

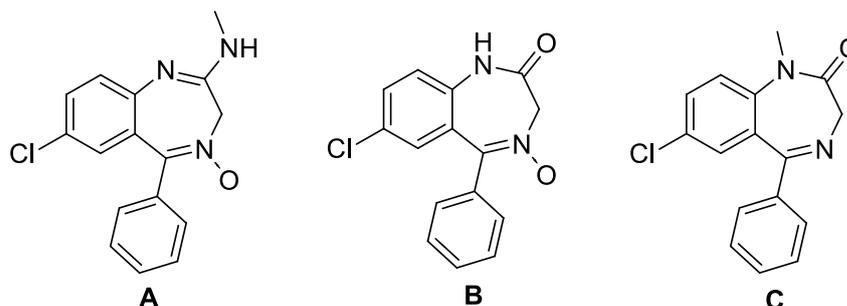


Fonte: STERNBACH, 1979.

No entanto, em meados de 1957, observou-se atividade interessante nos testes de atividade farmacológica para o composto A (Figura 4). Em vários testes de atividade farmacológica, o novo composto foi mais ativo que o fármaco de primeira escolha

comercializado até então no mercado. Após uma série de testes, esse composto foi comercializado a partir de 1960 com o nome de Clordiazepóxido, um dos primeiros BZDs com atividade ansiolítica conhecida. Após hidrólise ácida, chegou-se à substância **B** (Figura 4), de mesma atividade de **A**, porém, mais estável (STERNBACH, 1979).

Figura 4 – Algumas substâncias relatadas ao estudo de Sternbach (II).

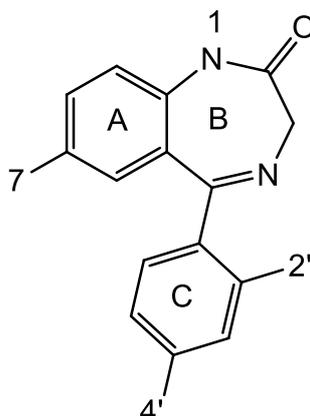


Fonte: STERNBACH, 1979.

Desde então, outros estudos levaram à produção de substâncias tão potentes quanto o Clordiazepóxido (substância **A**, Figura 4), tal como o Diazepam (DZP) (substância **C**, Figura 4) (3 a 10 vezes mais potente), descoberto em 1963. Após diversos estudos e pesquisas, confirmou-se que determinadas posições na estrutura do composto podiam aumentar ou até mesmo inibir a atividade (Figura 5) (STERNBACH, 1979; MOHSIN; QADIR, 2015).

No anel A, (posição 7) (Figura 5), a atividade é aumentada com grupos retiradores de elétrons como halogênios, NO, CF₃, e reduzida por grupos doadores de elétrons, CH₃ e OCH₃. A atividade é reduzida em qualquer outra posição diferente de 7 no anel A. No anel B, aumenta com uma metila na posição 1 e diminui com grupos maiores, sendo inativo com o grupo terc-butil. No anel C, aumenta com halogênios na posição 2 (por exemplo Cl e F) e reduz com substituintes na posição 4. Além disso, vale ressaltar que poucas substâncias com um anel diferente do benzeno em C (Figura 5) possuem atividade. Uma dessas substâncias é o Bromazepam (BMZ). Estudos mais recentes revelam também propriedades interessantes com os chamados triazolobenzodiazepínicos, aumentando a gama de possibilidades e combinações de obter substâncias farmacologicamente ativas no combate a patologias como a ansiedade, a depressão e a convulsão, por exemplo (STERNBACH, 1979; MOHSIN; QADIR, 2015).

Figura 5 – Relação estrutura-atividade dos BZDs.

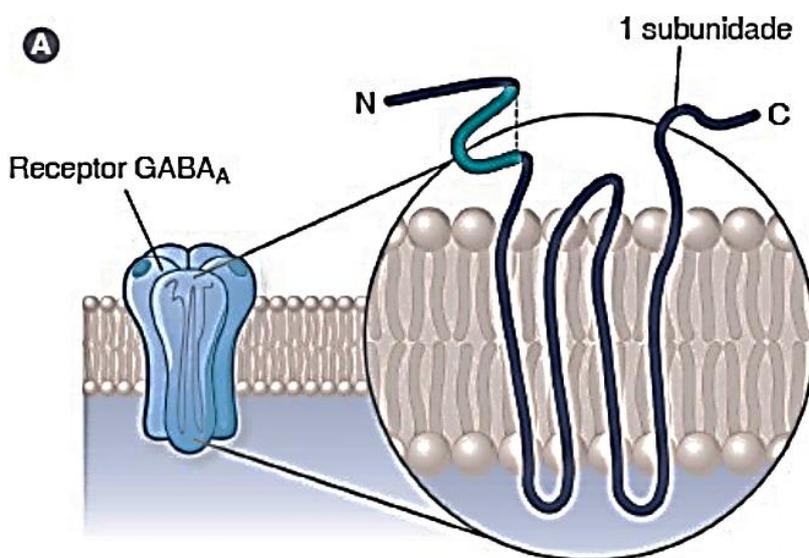


Fonte: STERNBACH, 1979; MOHSIN; QADIR, 2015.

2.3.2. Mecanismo de ação dos BZDs

Os BZDs podem atuar no ácido gama-aminobutírico (GABA), aumentando a inibição mediada por esse ácido, agindo especificamente nos receptores GABA_A (Figura 6). Esses receptores constituem-se como os mais abundantes dessa classe que atua no SNC formando um canal iônico para íons cloreto quando duas moléculas de GABA se ligam (GOLAN, 2005; CORREIA, 2017; SOLOMON et al., 2019).

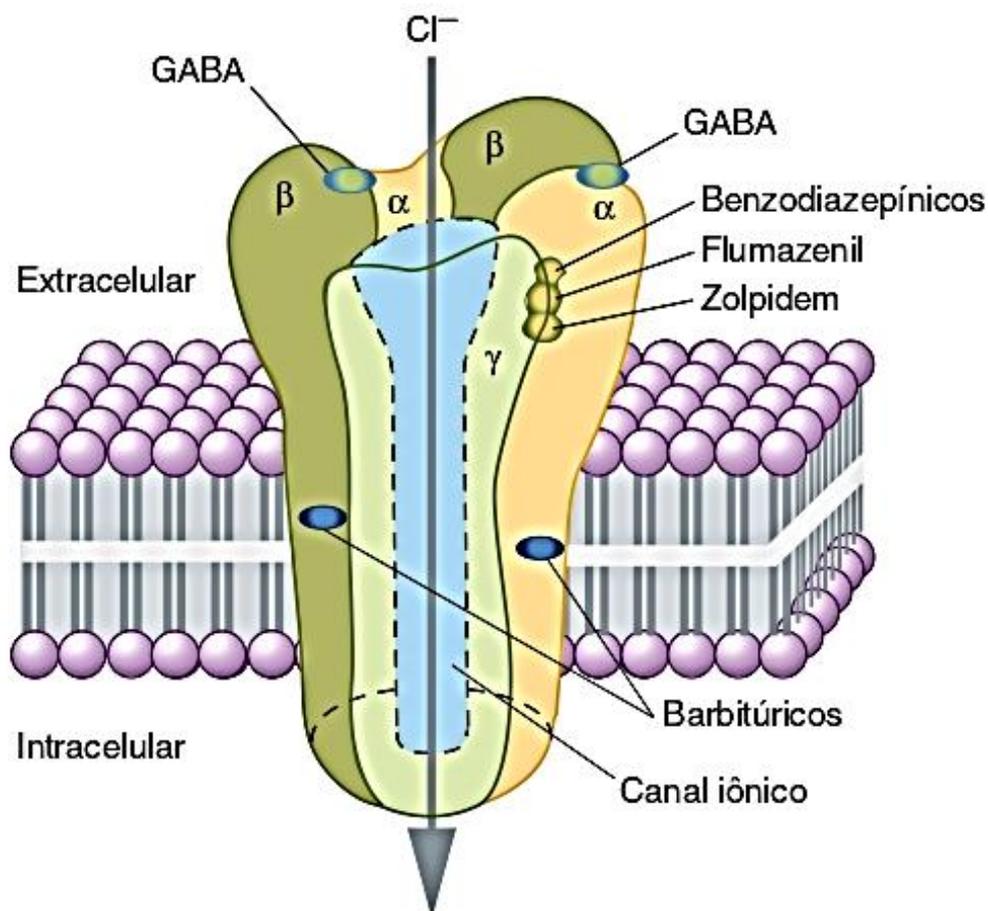
Figura 6 – Estrutura pentamérica do receptor GABA_A.



Fonte: GOLAN, 2005.

O GABA_A corresponde a um conjunto de glicoproteínas pentaméricas nos quais, por conterem vários sítios moduladores, podem se ligar a outros fármacos (Figura 7). No entanto, ainda se estuda estabelecer a localização definitiva desses sítios (Figura 8) (GOLAN, 2005; CORREIA, 2017).

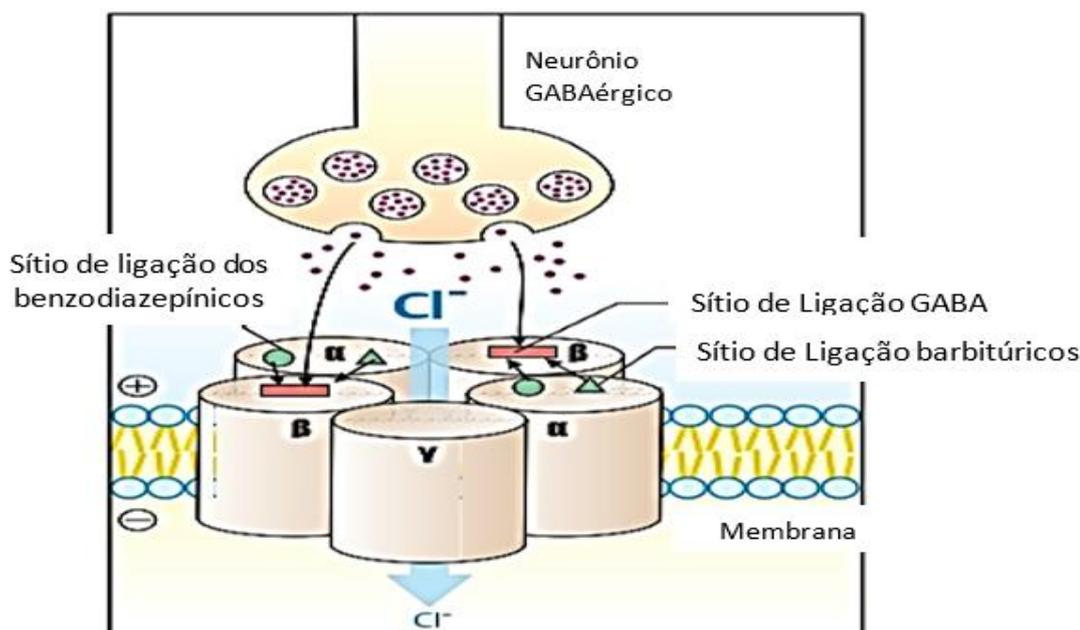
Figura 7 – Sítios de ligação do receptor GABA_A.



Fonte: KATZUNG; TREVOR, 2017.

Vale ressaltar que os BZDs atuam modulando os efeitos do GABA e não os substituem. A ligação alostérica ao receptor GABA_A amplia o canal para cloreto, o que resulta em uma hiperpolarização do neurônio pós-sináptico (DE WAELE et al., 2013; CORREIA, 2017).

Figura 8 – Receptor GABA_A com os sítios de ligação alostérica.



Moduladores alostéricos positivos do efeito GABA aumentam a hiperpolarização da condutância por cloreto, diminuindo a excitabilidade.

Fonte: LULMANN et al., 2005.

2.3.3. Uso de benzodiazepínicos e seus derivados nos transtornos de ansiedade e outras doenças correlatas

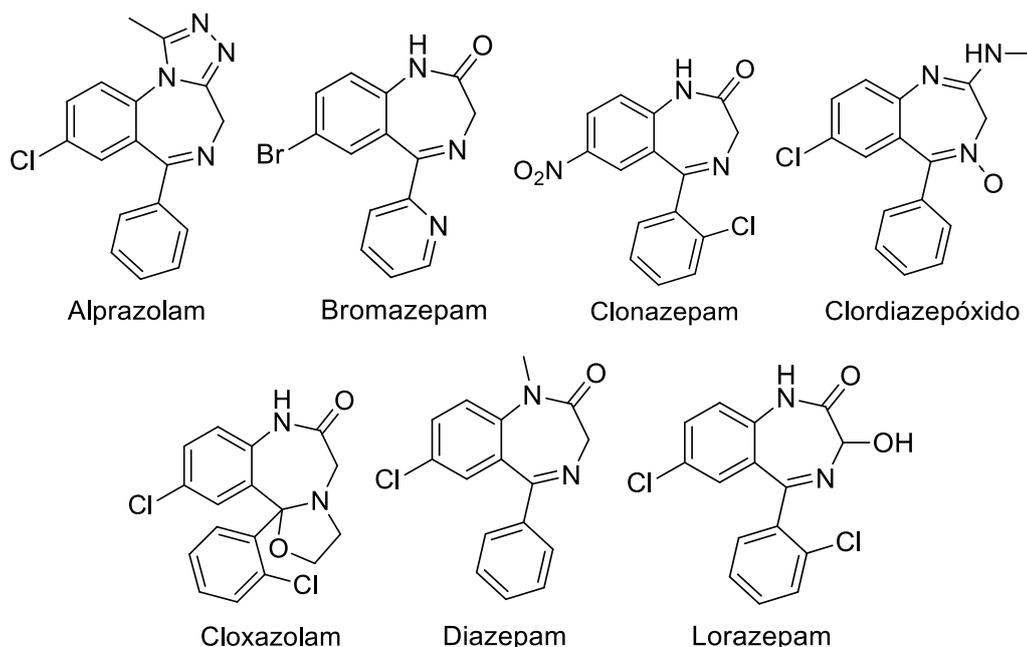
Dentre os efeitos que os BZDs podem apresentar podemos destacar os sedativos, ansiolítico, indutores do sono, miorelaxante, anticonvulsivante e anestésico, reduzindo, inclusive a necessidade de agentes anestésicos (GOLAN, 2005). Algumas características farmacológicas fizeram com que os BZDs ampliassem consideravelmente seu uso clínico (MELO, 2014), substituindo os barbitúricos, inclusive, pois apresentam características como:

- Grande distância entre a dose terapêutica e a depressão do SNC, permitindo grande margem de segurança quanto ao aparecimento de depressão respiratória;
- Menor potencial de dependência física e psíquica;
- Não produzem indução enzimática considerável, não interferindo no metabolismo de drogas que possam estar sendo usadas ao mesmo tempo.

No Brasil, os BZDs são a terceira classe de fármacos mais utilizada (MELO, 2014). Entre 2009 e 2013 houve um aumento de 5 milhões de caixas vendidas, passando de 12 para

17 milhões, um aumento de 42% (FOLHA DE SÃO PAULO, 2014). Dentre os fármacos disponíveis no Brasil dessa classe, temos: Alprazolam, Bromazepam, Clonazepam, Clordiazepóxido, Cloxazolam, Diazepam e Lorazepam (MELO, 2014) (Figura 9).

Figura 9 – Benzodiazepínicos comercializados no Brasil.



Fonte: Autor, 2023.

Os efeitos adversos de fármacos utilizados atualmente para o tratamento da epilepsia, associado ao fato de que um terço dos pacientes tratados não ficam completamente livres de convulsões, levaram o Grupo de Catálise e Reatividade Química, em parceria com outros grupos, a pesquisar e sintetizar complexos de paládio(II) derivados do Diazepam e testá-los quanto às atividades anticonvulsivante, antioxidante e citotóxica. Apesar dos mesmos apresentarem citotoxicidade mais elevada, comparados ao Diazepam, um dos complexos derivados do Diazepam demonstrou resultados significativos para inibir as convulsões. Parte destes resultados foram publicados no *Journal of Inorganic Biochemistry* (BARROS et al., 2016).

Em seguida, em um trabalho de colaboração, Silva (2019) avaliou, de forma preliminar, a atividade ansiolítica de um complexo de paládio(II) derivado do Diazepam. Porém, vale ressaltar que se tratou do primeiro estudo com esse complexo benzodiazepínico demonstrando que o mesmo apresenta efeito do tipo ansiolítico e que o mesmo não afeta a atividade locomotora e nem promove efeito amnésico.

2.4. Química Medicinal e Metalofármacos

2.4.1. Contexto Histórico

A Química Medicinal é um campo da química que se utiliza de aspectos das ciências biológica, médica e farmacêutica, visando planejar, sintetizar e identificar compostos biologicamente ativos com a finalidade de construir relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica dos protótipos (LIMA, 2007).

Até a descoberta das propriedades antitumorais do cisplatina, pensava-se que praticamente somente os compostos orgânicos possuíam propriedades medicinais. No entanto, esse pensamento foi revertido, em 1978, quando esse composto foi utilizado clinicamente, reduzindo consideravelmente o número de pacientes com tumor de testículo, por exemplo. A partir desse marco, houve um considerável interesse pelas propriedades dos complexos metálicos como agentes terapêuticos, passando a serem investigados e empregados de forma racional (BERALDO, 2005; BERALDO; MORTIMER, 2005).

Alguns exemplos estão indicados na Tabela 1.

Tabela 1 – Usos medicinais de alguns metais complexados com compostos orgânicos.

Metal	Aplicação
Antimônio (Sb)	Tratamento de leishmaniose.
Bismuto (Bi)	Tratamento de úlcera gástrica.
Ferro (Fe)	Emergências hipertensivas.
Ouro (Au)	Tratamento de tuberculose e artrite.
Platina (Pt)	Tratamento de tumores.

Fonte: BERALDO, 2005.

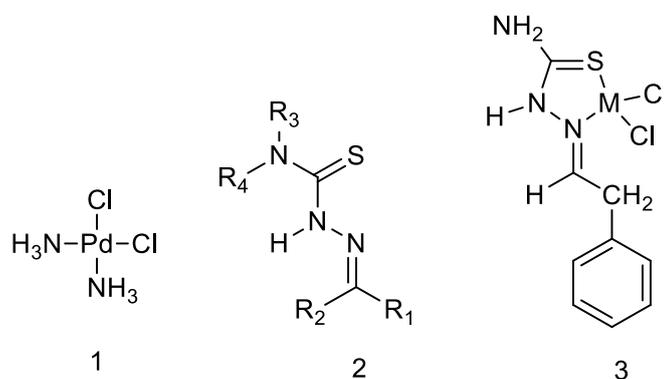
O químico inorgânico medicinal dispõe de diversas metodologias para o desenvolvimento de novos fármacos, envolvendo o planejamento dessas drogas com base em propriedades como a lipofilia e farmacocinética, além da combinação com as propriedades inerentes à porção metálica do complexo como propriedades magnéticas, estados de oxidação, dentre outros. Tais estratégias para o desenvolvimento e identificação de possíveis compostos bioativos baseiam-se em modificações planejadas na estrutura

química de outros com atividades farmacológicas já conhecidas (BERALDO, 2005; LIMA, 2007; PAULA et al., 2005).

Sabe-se que alguns metais são empregados pela natureza em sistemas biológicos, porém alguns questionamentos surgem no tocante ao emprego dos mesmos como medicamentos. Um dos maiores desafios é combinar as propriedades orgânicas do composto às inorgânicas, geralmente inerentes à porção metálica dos complexos, pois o perfil fisiológico das drogas pode alterar significativamente quando cátions metálicos são coordenados, podendo tanto reduzir os efeitos colaterais quanto elevar sua toxicidade (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007).

O emprego de alguns metais, tidos como essenciais ao organismo, se contrapõe à toxicidade dos fármacos, o que justifica o fato de estarem sendo substituídos pelo princípio dose-resposta, uma vez que os compostos essenciais também podem apresentar efeitos deletéricos, quando empregados em altas doses (BERALDO, 2005). Além disso, a utilização de ligantes que possuem elevada bioatividade vem se constituindo como uma importante estratégia para obtenção de metalofármacos eficazes no tratamento de doenças como câncer, por exemplo. Os efeitos colaterais, resistência celular e baixa solubilidade do cisplatina, levaram a estudos visando a obtenção de novos compostos modificados estruturalmente a fim de melhorar suas características bioativas. Nesse sentido, alguns exemplos importantes de complexos ativos que agem em células resistentes ao cisplatina são complexos de platina e paládio com ligantes orgânicos, como tiossemicarbazonas (Figura 10) (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005).

Figura 10 – Estrutura do cisplatina (1), estrutura genérica dos tiossemicarbazonas (2) e estrutura dos complexos de paládio (3), M = Pd(II) e platina, M = Pt(II) com fenilacetaldéido tiossemicarbazona.

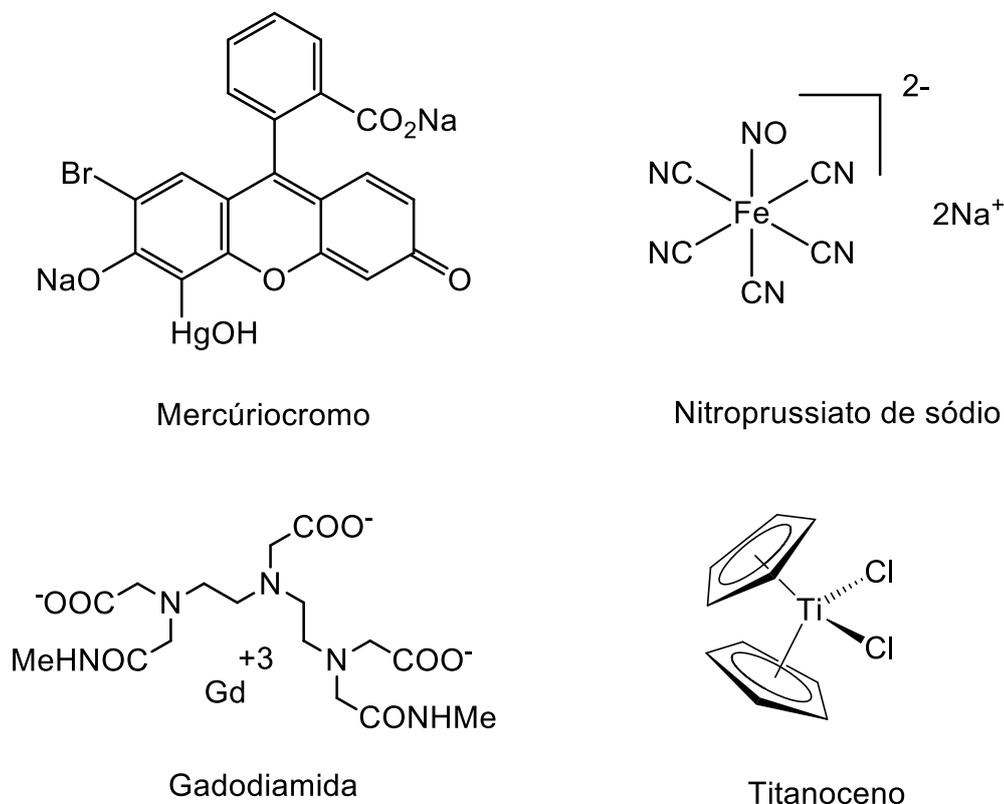


Fonte: FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005.

Como exemplos da utilização de metais no tratamento de patologias na Medicina, podemos citar: o uso do mercúriocromo, com atividade antisséptica; o nitroprussiato de sódio, um complexo de ferro(II)-nitrosila empregado no controle da pressão arterial; o titanoceno, com atividade antitumoral e identificado pela primeira vez em 1979; a gadodiamida, um complexo de gadolínio aprovado para uso clínico na detecção de anormalidades na circulação sanguínea do cérebro; dentre outros (Figura 11) (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007).

Observa-se também o uso de fontes de elementos da química inorgânica como suplementos fundamentais para o desenvolvimento correto e balanceado dos processos fisiológicos e metabólicos nos seres vivos (BARAN, 2005), assim como o uso de radiofármacos em diagnósticos de patologias e disfunções (ARAÚJO, 2005) e até mesmo a correlação do uso de lipossomas do sistema biológico como carreadores de metalofármacos no combate à leishmaniose e à esquistossomose (DEMICHELI; FRÈZARD, 2005).

Figura 11 – Estrutura química de alguns metalofármacos.



Fonte: BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007.

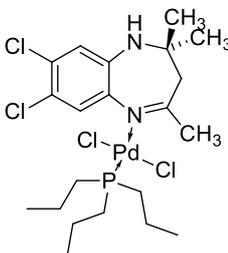
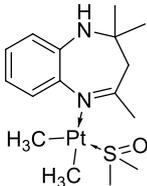
Dessa forma, observa-se que a Química Inorgânica Medicinal compreende uma área de estudo bastante abrangente no desenvolvimento de compostos-protótipo com bioatividade satisfatória e alta biodisponibilidade. Vale destacar que a aplicação de estratégias de identificação desses compostos baseia-se em modificações planejadas na estrutura de princípios ativos já conhecidos (LIMA, 2007).

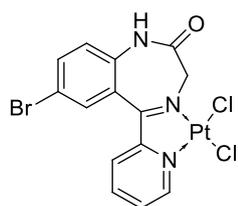
O universo da Química Medicinal é ainda mais amplo, uma vez que engloba tanto as características da Química Orgânica quanto da Química Inorgânica, pois esta contribui significativamente para o desenvolvimento de novos fármacos ou candidatos a fármacos e aumento do arsenal terapêutico (BERALDO, 2005).

2.5. Complexos metálicos derivados de benzodiazepínicos

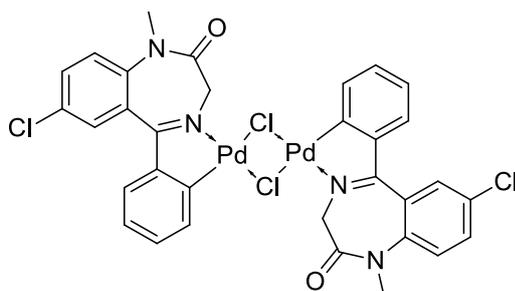
De imediato, vale destacar que já há relatos na literatura descrevendo a síntese de complexos metálicos contendo ligantes BZDs, conforme pode ser visto na Tabela 2. Esses complexos, em geral, são obtidos por simples coordenação do BZD ao centro metálico ou via ativação da ligação C-H. Entretanto, no que se refere a estudos biológicos com uso de complexos metálicos de benzodiazepínicos, encontramos poucos registros na literatura.

Tabela 2 – Complexos de metais de transição contendo derivados de benzodiazepínicos como ligantes.

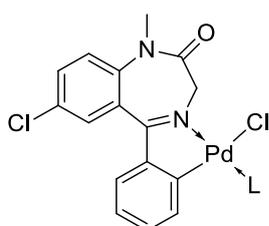
Complexos metálicos	Referências
	Aversa et al., 1991.
	Aversa et al., 1991.



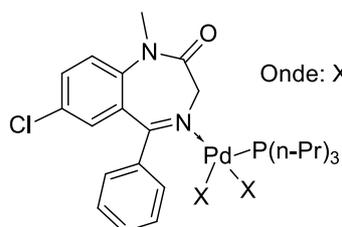
Benedetti et al., 1987.



Cinellu et al., 1991.

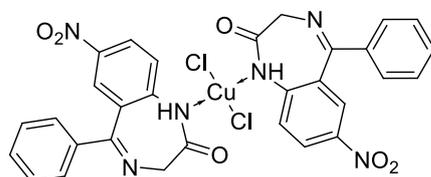
Onde: L = PPh₃ ou CO

Cinellu et al., 1991.

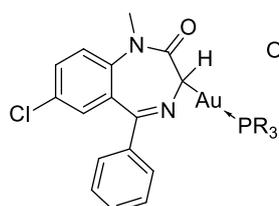


Onde: X = Cl ou I

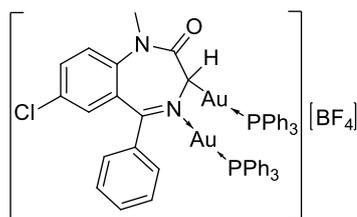
Cusumano et al., 1991



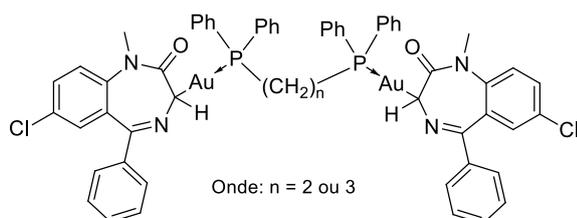
Forizs et al., 1997.

Onde: R = C₆H₅; C₂H₅ ou C₆H₄CH₃-4

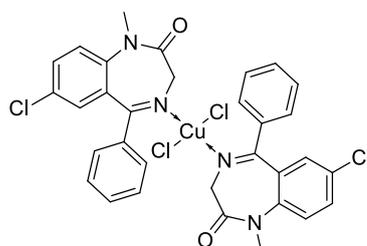
Minghetti et al., 1998.



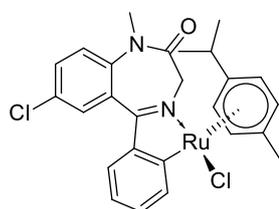
Minghetti et al., 1998.



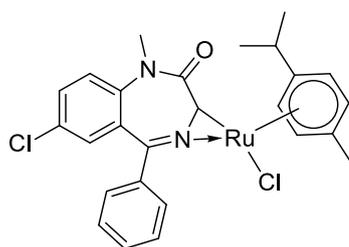
Minghetti et al., 1998.



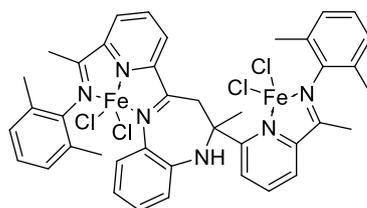
Mosset et al., 1980.



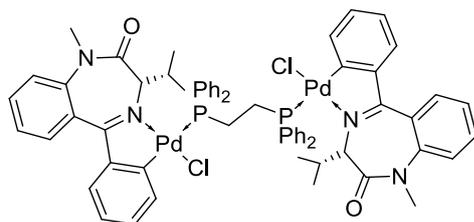
Pérez et al., 2002.



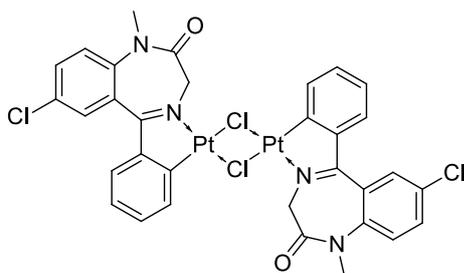
Pérez et al., 2002.



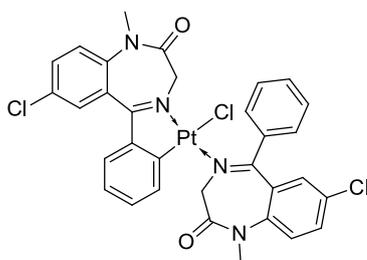
Zhang et al., 2007.



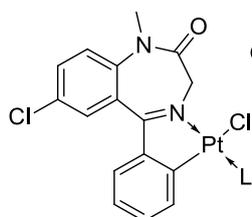
Spencer et al., 2008.



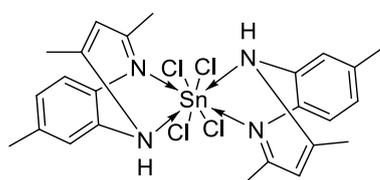
Stoccoro et al., 1994.



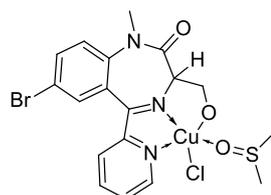
Stoccoro et al., 1994.

Onde: L = PPh₃, 3,5-Me₂Py ou CO

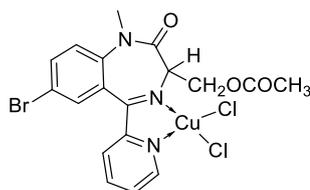
Stoccoro et al., 1994.



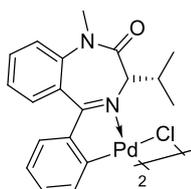
Suresh et al., 2008.



Visnjevac et al., 2001.



Visnjevac et al., 2002.



Spencer et al., 2008.

Fonte: Autor, 2023.

Visnjevac e colaboradores (2002) sintetizaram complexos de paládio(II) e zinco(II) derivados de benzodiazepínicos e avaliaram a atividade citostática *in vitro* contra algumas linhas celulares, assim como também foi avaliada a atividade antiviral em diferentes ensaios. Apesar dos complexos não terem demonstrado boa atividade, ficaram esses estudos registrados como um dos primeiros com esses tipos de complexos avaliados biologicamente.

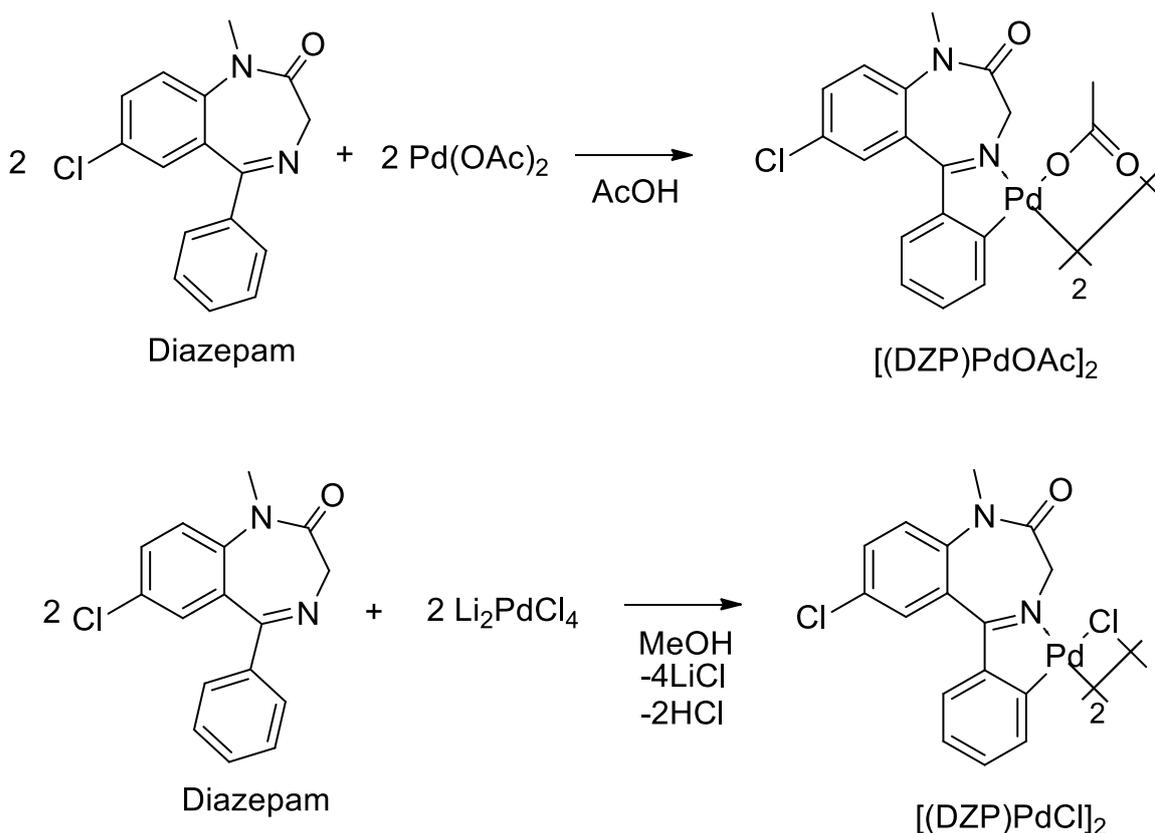
Alguns anos depois, Basavaraju, Naik e Prabhakara (2007) sintetizaram também oito complexos organometálicos de metais de transição. Foram utilizados sais de cobalto(II), níquel(II), cádmio(II) e zinco(II), os quais foram complexados a dois derivados benzodiazepínicos. Nesse trabalho foi investigada a atividade antibacteriana e antifúngica dos complexos metálicos e dos respectivos ligantes. Foi observado que os complexos apresentaram maior atividade antimicrobiana que os próprios ligantes.

Spencer e colaboradores (2008) realizaram estudos *in vitro* de toxicidade de complexos derivados de 1,4-benzodiazepínicos frente a uma linhagem celular de câncer humano, além de avaliar a atividade inibitória sobre uma das enzimas envolvidas em eventos relacionados ao câncer, a catepsina B bovina. Dos sete complexos testados, três apresentaram boa atividade citotóxica dos quais, dois foram bons inibidores da catepsina B e um, inibidor moderado.

Quanto ao estudo de complexos de paládio com aplicações na Química Medicinal podemos citar os complexos benzodiazepínicos do tipo paladaciclo [(DZP)PdCl]₂ e [(DZP)PdOAc]₂ (PRETI; TOSI, 1979). Tais derivados organometálicos de Diazepam-paládio(II) mostraram atividade anticonvulsivante significativa (BARROS et al., 2016).

Barros e colaboradores (2016) estudaram a síntese dos paladaciclos derivados do Diazepam por meio de reações relativamente simples. Foram obtidos sólidos estáveis ao ar e com bons rendimentos a partir da ciclopaladação do DZP, por meio da coordenação do nitrogênio do grupo imino e ativação da ligação C-H da fenila substituinte na posição orto, tendo como fontes de paládio, os sais cloreto de paládio(II) (PdCl_2) e acetato de paládio(II) [$\text{Pd}(\text{OAc})_2$]. Os compostos foram obtidos com proporções distintas de conformação espacial, uma vez que foram identificados tanto isômeros cisoides como transoides para ambos os dímeros. Também foram obtidos correspondentes compostos na forma monomérica através da adição de piridina aos dímeros, a qual se coordena ao paládio, formando os monômeros $[(\text{DZP})\text{PdClPy}]$ e $[(\text{DZP})\text{PdOAcPy}]$ (Figura 12) (BARROS et al., 2016).

Figura 12 – Reações de ciclopaladação do Diazepam na presença de sais de paládio(II), formando $[(\text{DZP})\text{PdCl}]_2$ e $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$.



Fonte: BARROS et al., 2016.

Esses dímeros foram testados como potenciais agentes anticonvulsivos em camundongos, os quais foram tratados com pentilenotetrazol (PTZ) e picrotoxina (PTX), que são agentes que induzem a convulsão. Ambos responderam positivamente aos testes

realizados. Entretanto, mais estudos são necessários para a comprovação, de fato, da eficácia desses complexos e sua utilização como possíveis metalofármacos no combate a convulsões (BARROS et al., 2016; BARROS, 2012).

2.6. Síntese de híbridos candidatos a fármacos como novas alternativas farmacológicas

Os compostos híbridos são assim chamados porque buscam combinar as propriedades tanto físico-químicas quanto farmacológicas, de duas ou mais moléculas. Tal combinação se constitui como uma alternativa promissora a fim de modelar os efeitos de fármacos já existentes e que, algumas vezes não apresentam o efeito desejado, ou até mesmo fazer com que o híbrido atue por mais de um mecanismo de ação (DIAS, 2017).

Segundo Dias (2017), a hibridação de fármacos é uma estratégia de *design* em que a molécula obtida retém algumas particularidades. Contudo, é importante considerar que nesse processo algumas características inerentes aos fármacos primários podem ser perdidas, e que estas podem ou não serem mantidas quando combinadas na mesma molécula. Relatos na literatura revelam a síntese de um híbrido no qual apresentou atividade antitumoral mais alta que o fármaco primário, distamicina, quando testado *in vitro*. Foi possível verificar a inibição da proliferação celular como também que a seletividade de ligação foi mais abrangente, alcançando mais alvos (BARALDI et al, 1998; BARALDI et al, 1999; BARRULAS, 2014).

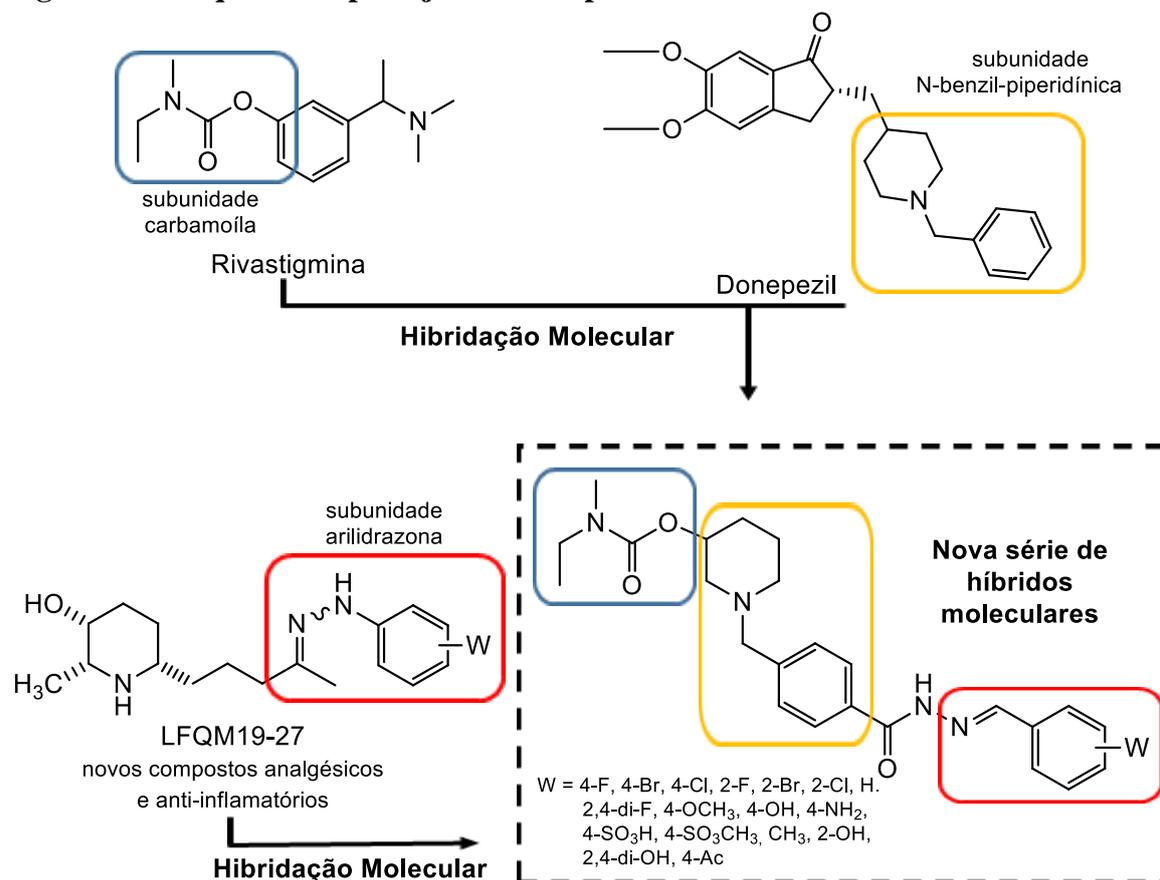
Rocha e Viegas Junior (2008) estudaram, a partir do planejamento de fármacos, a síntese e a otimização da rota sintética de potenciais agentes anticolinesterásicos e anti-inflamatórios na doença de Alzheimer. O planejamento realizado por eles pode ser visto na Figura 13.

Também é possível encontrar registros de testes biológicos com potenciais híbridos candidatos à antimaláricos (DIAS, 2015) e com propriedades sinérgicas de ação benéfica ao tratamento da anemia falaciforme (SANTOS, 2007), evidenciando o potencial da síntese e aplicação dos compostos híbridos na área biológica e medicinal.

O planejamento e, conseqüentemente, a síntese de fármacos híbridos por ligação química de dois grupos químicos diferentes com vários efeitos, configura-se como uma nova estratégia em busca de novos tratamentos para os TA, baseados no conceito de moléculas híbridas com possível duplo modo de ligação (DIAS, 2015).

Dessa forma, a síntese de compostos híbridos torna-se cada vez mais importante para a criação de novos fármacos no combate à patologias que ganham resistência ao longo de tratamento.

Figura 13 – Esquema de planejamento de potenciais fármacos híbridos.



Fonte: Adaptado de ROCHA; VIEGAS JUNIOR, 2008.

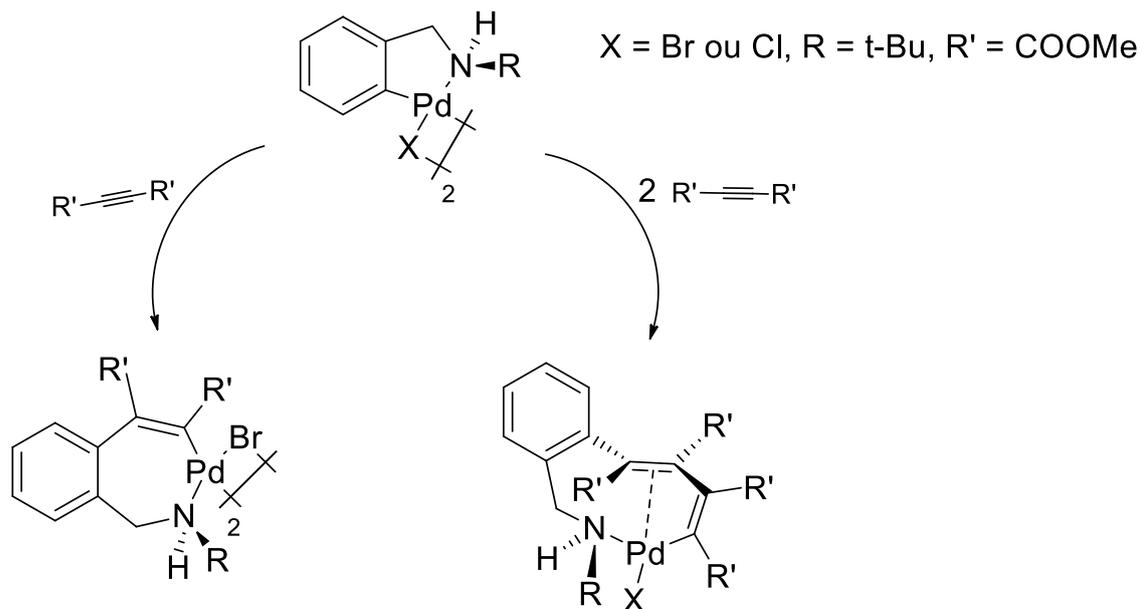
2.7. Reações de inserção de alcinos em paladaciclos como alternativa de modelagem das características estruturais e físico-químicas de complexos organometálicos

A esta altura, vale a pena destacar uma reação que paladaciclos podem sofrer, e que foi estudada neste trabalho, neste caso, reações de inserção, mais particularmente, reações de inserção de alcinos na ligação Pd-C.

Para exemplificar, pode-se citar um dos trabalhos realizados por Karami e colaboradores (2014); em que, partindo de um paladaciclo de cinco membros, realizaram reações de mono e di-inserções de alcinos em complexos de paládio(II). Como esperado, os alcinos foram inseridos na ligação Pd-C. Em geral, a primeira inserção, condução a formação

de um paladacilo maior, mas ainda na forma dimérica. Por outro lado, a inserção de duas moléculas de alcino levam a formação de uma estrutura monomérica, tanto em função de um efeito estérico, quanto a uma possível coordenação intramolecular por parte da ligação dupla formada (Figura 14) (ALBERT et al., 1989; KARAMI et al., 2014).

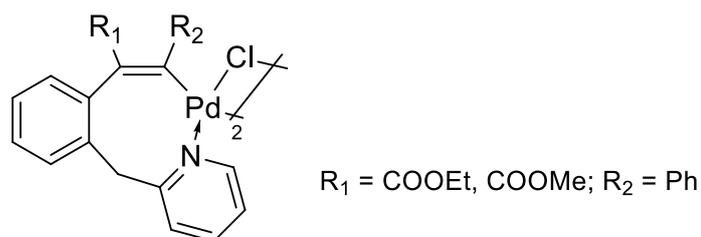
Figura 14 – Mono e di-inserção de alcinos.



Fonte: KARAMI et al., 2014.

Outros estudos foram realizados com inserção de alcinos a complexos de paládio. A monoinserção de etil 3-fenilpropiolato na ligação Pd-C proporcionou a formação de um produto com bons rendimentos, em sínteses realizadas por Maassarani, Pfeffer e Le Borgne (1987b) (Figura 15). Análise elementar, aliada a análises de RMN e FTIR comprovaram as sínteses dos compostos por adição de uma molécula de alcino.

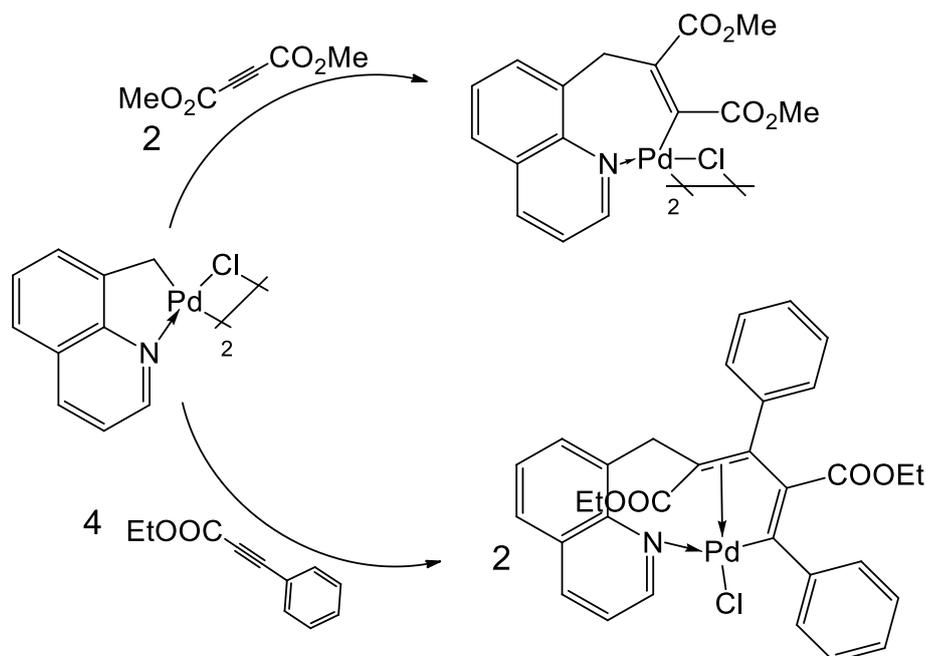
Figura 15 – Sínteses realizadas por monoinserções.



Fonte: MAASSARANI; PFEFFER; LE BORGNE, 1987b.

Pfeffer, Pereira e Rotteveel (1989) também realizaram reações de ciclopaladação, seguida de inserções de alcinos ao complexo levando à formação de um dímero estável quando inserida uma molécula de dimetil acetilenodicarboxilato em clorofórmio, sob refluxo (Figura 16). No entanto, quando o precursor foi tratado com excesso do correspondente alcino, não foi possível isolar um composto contendo paládio. Por outro lado, a reação com excesso de etil 3-fenilpropiolato, em clorobenzeno (PhCl), à temperatura ambiente, proporcionou a formação do monômero, sem a saída do paládio do composto. Foram inseridas duas moléculas de alcino por átomo de paládio no complexo. Vale ressaltar que não foi observada a inserção de apenas uma molécula desse alcino, mesmo variando as proporções estequiométricas e as condições da reação.

Figura 16 – Reações com alcinos.



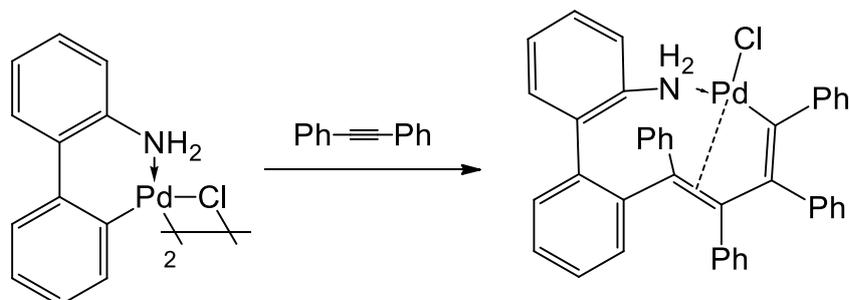
Fonte: PFEFFER; PEREIRA; ROTTEVEEL, 1989.

Alcinos como o difenilacetileno foram também utilizados em reações de di-inserção em complexos de paládio(II). O complexo reagiu separadamente com difenilacetileno, na proporção de duas moléculas de alcino para cada átomo de paládio. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica, obtendo-se um produto na forma monomérica com rendimentos satisfatórios (Figura 17) (ALBERT et al., 2006; ALBERT et al., 2007).

Outra alternativa para aumentar a reatividade dos complexos é substituir o halogênio coordenado ao metal. Nesse contexto, é possível obter compostos análogos aos complexos

já sintetizados a partir da reação do precursor organometálico com sais como iodeto de sódio ou iodeto de potássio que, por metátese, substitui o átomo de cloro na coordenação ao centro metálico (MAASSARANI; PFEFFER; LE BORGNE, 1987a).

Figura 17 – Reação de di-inserção com fenilacetileno.



Fonte: ALBERT et al., 2007.

Por fim, salienta-se que nos últimos anos, tem sido crescente o interesse por reações de ciclometalação. Cada vez mais surgem estudos voltados para os complexos metálicos dos mais variados tipos. Com as reações de inserção em paladaciclos, esse estudo não é diferente, uma vez que o interesse no aprimoramento das propriedades dos complexos por meio de modificações estruturais cresce cada vez mais (DUPONT; PFEFFER, 1987; SPENCER; PFEFFER, 1995).

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Sintetizar complexos benzodiazepínicos de paládio(II) e platina(II), assim como realizar modificações estruturais nos mesmos por meio de alteração e/ou inserção de ligantes no metalaciclo, e realizar ensaios biológicos para verificação das atividades ansiolítica e antioxidante dos compostos sintetizados.

3.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar complexos metálicos derivados de benzodiazepínicos como, por exemplo, Diazepam e Bromazepam;
- Sintetizar formas monoméricas a partir da adição de ligantes coordenantes aos respectivos dímeros, quando obtidos;
- Realizar modificações estruturais nos complexos por meio de inserção de alcinos e/ou coordenação de outras moléculas com atividade biológica já conhecida;
- Caracterizar os compostos por técnicas como Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Espectrometria no Infravermelho Médio (FTIR), Análise Elementar e Espectrometria de Massas;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos compostos pelo método com o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•);
- Avaliar a atividade ansiolítica através de bioensaios com roedores.

4. EXPERIMENTAL

4.1. Atividades desenvolvidas e locais de realização

As atividades desenvolvidas nesse trabalho e seus respectivos locais de realização encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 – Locais de realização das atividades experimentais.

Atividades	Locais de realização
Síntese dos complexos organometálicos de paládio(II) e platina(II) derivados de benzodiazepínicos; reações de inserção de alcinos aos complexos diméricos; e síntese de compostos híbridos.	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 por espectroscopia na região do infravermelho médio e Espectrometria de Massas.	
Análises por espectroscopia na região do Uv-Vis para a avaliação da capacidade antioxidante dos compostos frente ao radical DPPH·	
Análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear.	Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL), Maceió/AL.
Análises elementares.	Central Analítica da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP.
Ponto de fusão ou decomposição térmica	Laboratório de Química Medicinal do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas (ICF/UFAL), Maceió/AL.

Espectrometria de Massas – Maldi-tof	Centro de Tecnologia do Nordeste – CETENE/RECIFE - PE
Espectrometria de Massas de Alta Resolução – HRMS	Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ/RJ

Fonte: Autor, 2023.

4.2. Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos complexos de partida, bem como nas sínteses de modificações dos complexos e nas caracterizações dos mesmos estão presentes no Tabela 4, com sua procedência e fórmula molecular.

Tabela 4 – Procedência e fórmula molecular dos reagentes e solventes.

Reagentes e solventes	Fórmula	Origem
Cloreto de lítio	LiCl	Acros Organics
Acetona P.A.	C ₃ H ₆ O	
Clorofórmio P.A.	CHCl ₃	
Diclorometano P.A.	CH ₂ Cl ₂	Dinâmica
Dimetilsulfóxido P.A.	C ₂ H ₆ OS	
Hexano P.A.	C ₆ H ₁₄	
Metanol P.A.	CH ₄ O	
Piridina P.A.	C ₅ H ₅ N	Quimibrás Indústrias Químicas S.A
Brometo de potássio	KBr	Sigma Centrifuges
Dimetil acetilenodicarboxilato	C ₆ H ₆ O ₄	
Metil-fenilpropiolato	C ₁₀ H ₈ O ₂	
Iodeto de potássio	KI	
Clorobenzeno	C ₆ H ₅ Cl	
Cloreto de paládio(II)	PdCl ₂	Sigma-Aldrich
Clorofórmio deuterado	CDCl ₃	
Dimetilsulfóxido deuterado	DMSO-d ₆	
Celite	-	
Acetato de paládio(II)	Pd(C ₂ H ₃ O ₂) ₂	

Ácido acético	$C_2H_4O_2$	
Trifenilfosfina	$P(C_6H_5)_3$	
Éter etílico P.A.	$C_4H_{10}O$	
Piridina deuterada	C_5D_5N	
4-dimetilaminopiridina	$C_7H_{10}N_2$	
Ácido nicotínico	$C_6H_5NO_2$	
Ácido isonicotínico	$C_6H_5NO_2$	
2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH·)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	
Diazepam	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	Doação do Hospital Universitário /
Bromazepam	$C_{14}H_{10}BrN_3O$	UFAL

Fonte: Autor, 2023.

4.3. Instrumentação para caracterização

4.3.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Cada amostra foi solubilizada em solvente deuterado apropriado ($CDCl_3$ ou $DMSO-d_6$, Sigma Aldrich) e transferidas para tubos de RMN. 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 600. Cada espectro foi obtido à temperatura ambiente e operando na frequência de 600,09 MHz para os núcleos de 1H e 150,89 MHz para os núcleos de ^{13}C . Os deslocamentos químicos (δ) de 1H , bem como os de ^{13}C , foram medidos usando-se como padrão interno o tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0$).

4.3.2. Espectrometria de massas

As análises por espectrometria de massas foram realizadas no Laboratório de Catálise e Reatividade Química (GCaR), no Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL). Foi utilizado um Espectrômetro de massas GCMS – QP2010 / Shimadzu, por injeção direta.

As análises de espectrometria de massas – MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight) foram realizados no Centro de Tecnologia do Nordeste, CETENE, Recife/PE. As análises foram feitas sem o uso da matriz, utilizando-se um Espectrômetro de Massas AutoflexIII Maldi-TOF-TOF 200/BrukerDaltonics.

4.3.3. Espectroscopia na região do infravermelho médio (IV)

As análises por espectroscopia na região do infravermelho médio foram realizadas no Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier, modelo Nicolet IR200 da Thermo Scientific, utilizando o método de transmissão e pastilhas de KBr, resultando na média de 64 varreduras numa resolução de 4 cm^{-1} . Os espectros abrangeram as regiões de 4000 a 400 cm^{-1} .

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. Espectroscopia por absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis)

As análises de espectroscopia por absorção no ultravioleta e visível foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-3600 (UV-vis-NIR) com detectores para a região de estudo de PMT (photomultiplier tubo) e InGaAs. As amostras foram acondicionadas em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

4.3.6. Ponto de Fusão e/ou degradação

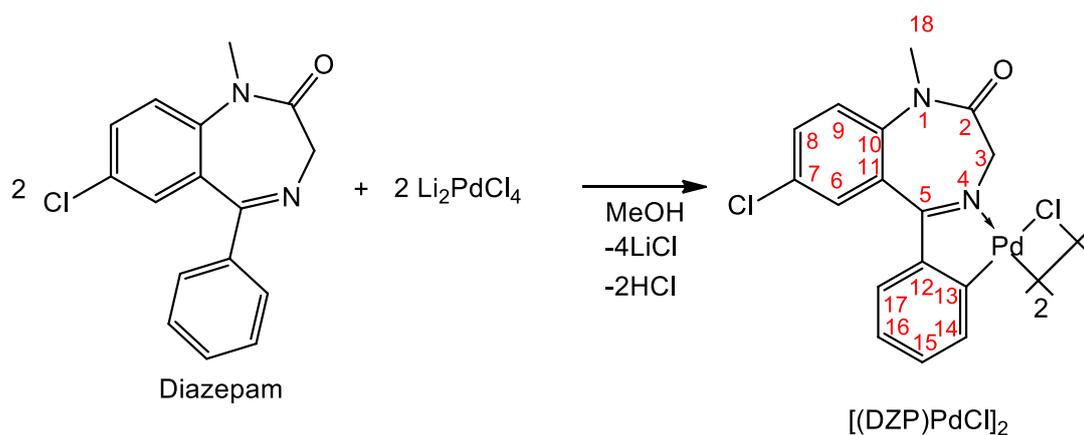
Os pontos de fusão foram determinados utilizando equipamento MSTecnopon[®], modelo PFMII Digital, em tubos capilares contendo cada uma das amostras individualmente.

4.4. Procedimentos de síntese

Os procedimentos de síntese dos complexos [(DZP)PdCl₂]₂, [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂] seguiram conforme descritos por Cinellu, Ganadu e Minghetti (1988) e Barros e colaboradores (2016), com modificações. O complexo [(DZP)PdOAc]₂, assim como os monômeros, [(DZP)PdClPPh₃], [(DZP)PdIPPh₃], [(DZP)PdOAcPPh₃], [(DZP)PdClPy], [(DZP)PdIPy] e [(DZP)PdClDMAP], e os compostos híbridos [(DZP)Pd(AI)]₂ e [(DZP)Pd(AN)]₂ seguiram os procedimentos descritos por Barros e colaboradores (2016). As reações de metátese halogênica para obtenção dos complexos [(DZP)PdI]₂, [(BMZ)PdI₂] seguiram como proposto por Maassarani, Pfeffer e Le Borgne (1987b). Por fim, as modificações estruturais dos dímeros por meio de reações de inserção de alcinos ocorreram conforme descrito por Albert e colaboradores (2007), Pfeffer, Pereira, Rotteveel (1989) e Spencer e colaboradores (1995), com modificações. Todas as sínteses foram realizadas sob atmosfera comum, à temperatura ambiente ou sob refluxo. Descrições com mais detalhes estão mostrados nos tópicos a seguir.

4.4.1. Síntese dos dímeros derivados do Diazepam (DZP)

4.4.1.1. Síntese do bis[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzodiazepin-5-il)fenil-κ²-C,N}-μ₂-cloropaládio(II)], [(DZP)PdCl]₂



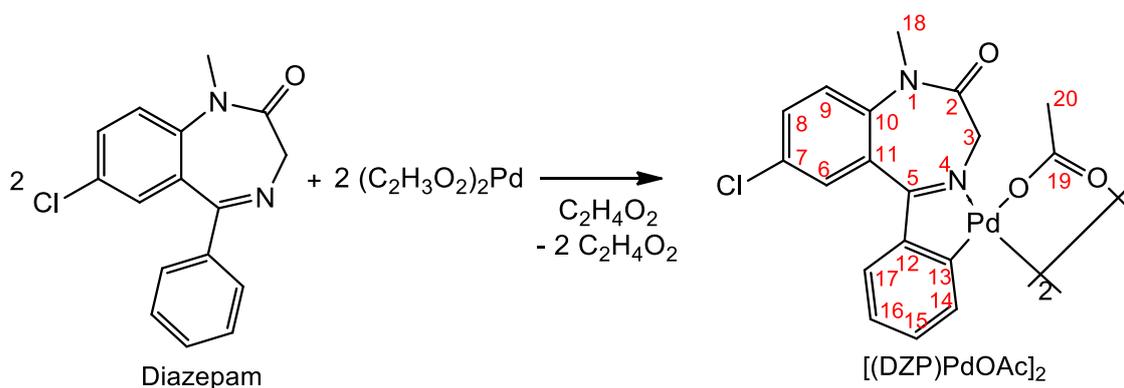
Foi preparada, inicialmente, uma solução metanólica de Li₂PdCl₄ por meio do seguinte procedimento: solubilizou-se o cloreto de lítio (0,106 g; 2,50 mmol) em metanol (10 mL). O cloreto de paládio(II) (0,177 g; 1,00 mmol) foi adicionado à solução metanólica que ficou sob agitação e aquecimento (T = 60 °C) por 10 min. Em seguida, a mistura foi filtrada com celite, obtendo a solução de coloração castanho-escura de Li₂PdCl₄. A essa

solução foi adicionado o ligante Diazepam, 7-Cloro-1-metil-2-oxo-5-fenil-3*H*-1,4-benzodiazepina, (0,285 g; 1,00 mmol) sob agitação, seguido de aquecimento sob refluxo ($T \approx 75 \text{ }^\circ\text{C}$) por 1 hora e 30 minutos. Após o tempo de reação, separou-se o precipitado do sobrenadante por decantação e o sólido obtido foi lavado com metanol até que o sobrenadante ficasse incolor. Por fim, secou-se o material em uma bomba de alto vácuo, obtendo-se assim um sólido amorfo 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]. Faixa de degradação: 288-292 $^\circ\text{C}$. 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): 3070 – 3058 (ν C-H aromático); 2988 – 2854 (ν CH_2 e CH_3); 1685 (ν C=O); 1598 – 1484 (ν C=C aromático). RMN de ^1H (600MHz, $\text{DMSO-}d_6$, ppm): - Majoritário: 3,31 (s, 6H, H18); 3,95 (d, 2H, H3a, $J = 12,26$ Hz); 4,63 (d, 2H, H3b, $J = 10,66$ Hz); 7,14 (br sig, 6H, H15, H16 e H17); 7,69 (m, 8H, H6, H8, H9 e H14); - Minoritário: 3,89 (d, 1H, H3a, $J = 12,54$ Hz); 4,41 (d, 1H, H3b, $J = 12,58$ Hz); 3,17 (s, 3H, H18). RMN de ^{13}C (150MHz, $\text{DMSO-}d_6$, ppm): 178,05 (C5); 167,09 (C2); 153,94 (C13); 145,45 (C11); 142,19 (C10); 136,63 (C14); 132,90 (C8); 130,54 (C15); 130,09 (C17); 129,39 (C6); 129,21 (C12); 128,81 (C7); 125,05 (C9); 124,47 (C16); 54,47 (C3); 35,02 (C18).

REFERÊNCIA: (BARROS et al., 2016; CINELLU; GANADU; MINGHETTI, 1988).

4.4.1.2. Síntese do *bis*[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -C,N}- μ_2 -acetatopaládio(II)], [(DZP)PdOAc]₂



Foi preparada uma suspensão de acetato de paládio(II) (0,20 g; 0,89 mmol) em ácido acético (15 mL) e, em seguida, foi adicionado o Diazepam (0,285 g; 1,00 mmol). A reação seguiu sob agitação e refluxo ($T = 127 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 1 hora. Em seguida, a solução foi filtrada com celite e o filtrado foi levado ao vácuo para retirar todos os voláteis. Após esse período, foi adicionado clorofórmio em quantidade suficiente para solubilizar o sólido e hexano até

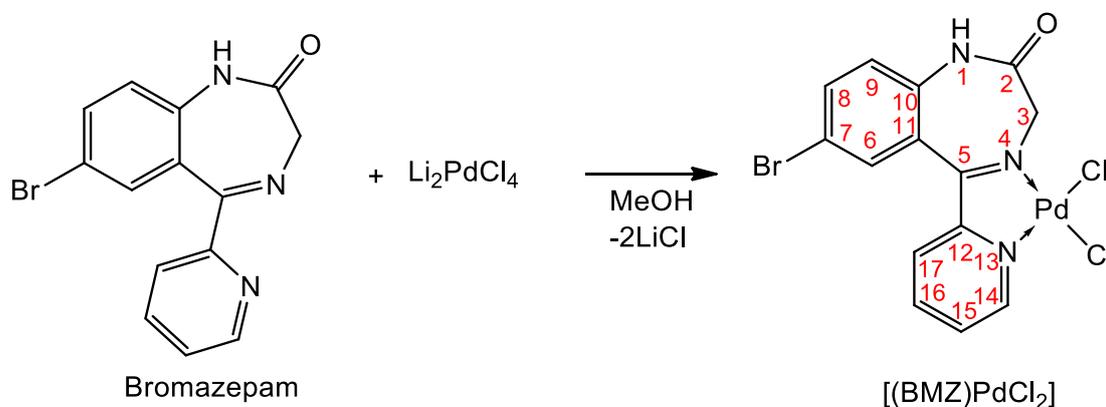
completa precipitação do composto, secando em seguida à vácuo e obtendo um sólido amorfo laranja. Rendimento: 84%.

Fórmula molecular (F.M.): $C_{36}H_{30}Cl_2N_4O_6Pd_2$. Massa molar (M.M.): 898,39 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z : 839 [M-OAc]. Faixa de degradação: 233-237 °C. 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 (ν C-H aromático); 3034 – 2820 (ν CH_2 e CH_3); 1687 (ν C=O e ν C=N); 1562 – 1469 (ν C=C aromático); 1562 e 1417 (ν as/s COO). RMN de ^1H (600MHz, CDCl_3 , ppm): - Majoritário: 3,29 (d, 2H, H3a, $J = 12,73$ Hz); 4,34 (d, 2H, H3b, $J = 12,88$ Hz); 2,22 (s, 6H, H20); 3,29 (s, 6H, H18); 6,78 (t, 2H, H16); 6,85 (t, 2H, H15); 6,95 (d, 2H, H14, $J = 7,61$ Hz); 7,01 (s, 2H, H6); 7,08 (d, 2H, H17, $J = 7,12$ Hz); 7,24 (d, 2H, H9, $J = 8,84$ Hz); 7,54 (dd, 2H, H8, $J = 8,81$ Hz); - Minoritário: 3,02 (d, 1H, H3a, $J = 12,89$ Hz); 3,66 (d, 1H, H3b, $J = 13,04$ Hz); 3,77 (d, 1H, H3c, $J = 10,48$ Hz); 4,21 (d, 1H, H3d, $J = 12,92$ Hz); 4,62 (d, 1H, H3e, $J = 13,09$ Hz); 4,82 (d, 1H, H3f, $J = 10,86$ Hz); 3,13, 3,24 e 3,38 (s, 9H, H18); 2,18, 2,28 e 2,29 (s, 9H, H20). RMN de ^{13}C (150MHz, CDCl_3 , ppm): 181,87 (C19); 177,94 (C5); 168,23 (C2); 156,65 (C13); 144,21 (C11); 141,36 (C10); 132,44 (C17); 132,29 (C8); 130,03 (C15); 129,55 (C6); 128,99 (C12); 128,79 (C14); 125,52 (C7); 124,03 (C16); 123,19 (C9); 55,72 (C3); 35,06 (C18); 24,60 (C20).

REFERÊNCIA: (BARROS et al., 2016).

4.4.2. Síntese dos complexos derivados do Bromazepam (BMZ)

4.4.2.1. Síntese do [2-{(7-bromo-2-oxo-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-5-il)piridinil- κ^2 -N,N} cloropaládio(II)], [(BMZ)PdCl₂]



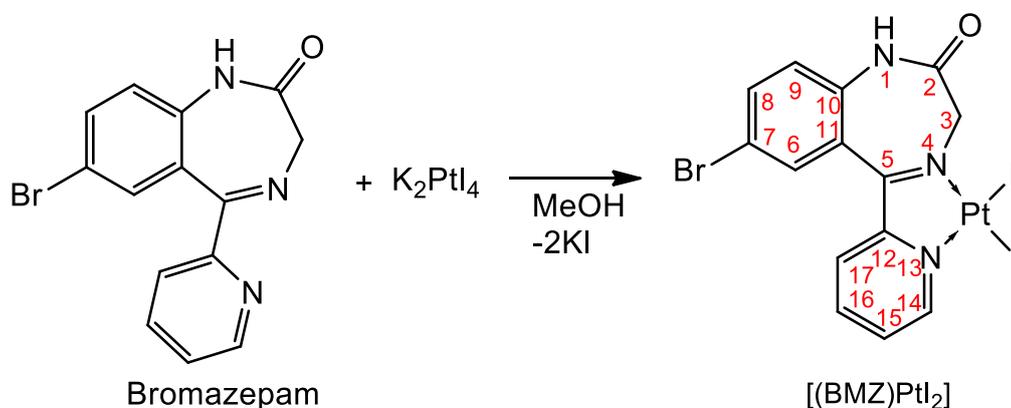
A síntese desse complexo foi semelhante aos procedimentos descritos para o dímero [(DZP)PdCl]₂, no qual preparou-se uma solução metanólica de Li_2PdCl_4 solubilizando

cloreto de lítio (0,106 g; 2,50 mmol) em metanol (10 mL). O cloreto de paládio(II) (0,177 g; 1,00 mmol) foi adicionado à solução metanólica que ficou sob agitação e aquecimento ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 10 min. Em seguida, a mistura foi filtrada, obtendo a solução de coloração castanho-escura de Li_2PdCl_4 . A essa solução foi adicionado o ligante Bromazepam, (7-Bromo-2-oxo-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-5-il)2-piridinil (0,316 g; 1,00 mmol) sob agitação, seguido de aquecimento sob refluxo ($T \approx 75\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 1 hora e 30 minutos. Após o tempo de reação, separou-se o precipitado do sobrenadante por decantação e o sólido obtido foi lavado com metanol até que o sobrenadante ficasse incolor. Por fim, secou-se o material a vácuo, obtendo-se assim um sólido amorfo amarelo. Rendimento: 75%.

Fórmula molecular (F.M.): $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BrCl}_2\text{N}_3\text{OPd}$. Massa molar (M.M.): 493,47 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z : 492 [M-H]. Faixa de degradação: 313-317 $^{\circ}\text{C}$. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3161 (ν N-H); 3080 (ν C-H aromático); 3033–2897 (νCH_2); 1692 ($\nu\text{C}=\text{O}$ e $\nu\text{C}=\text{N}$); 1573–1453 ($\nu\text{C}=\text{C}$ aromático). RMN de ^1H (600MHz, DMSO- d_6 , ppm): 3,97 (d, 1H, H3a, $J = 12,27$ Hz); 5,35 (d, 1H, H3b, $J = 12,30$ Hz); 7,27 (d, 1H, H9, $J = 8,82$ Hz); 7,76 (d, 1H, H17, $J = 7,98$ Hz); 7,91 (td, 1H, H15); 7,94 (dd, 1H, H8, $J = 8,76$ Hz); 8,03 (s, 1H, H6); 8,30 (td, 1H, H16); 9,17 (dd, 1H, H14, $J = 5,61$ Hz); 11,10 (s, 1H, NH). RMN de ^{13}C (150MHz, DMSO- d_6 , ppm): 174,74 (C2); 168,71 (C5); 156,10 (C12); 151,07 (C14); 141,75 (C16); 139,84 (C10); 137,12 (C8); 133,24 (C6); 130,66 (C17); 129,40 (C15); 124,51 (C9); 123,18 (C11); 115,96 (C7); 56,16 (C3).

REFERÊNCIA: (ANTOLINI et al., 1992).

4.4.2.2. Síntese do [2-{(7-bromo-2-oxo-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-5-il)piridinil- κ^2 -N,N}iodoplatina(II)], [(BMZ)PtI₂]



Preparou-se uma solução metanólica de K_2PtI_4 solubilizando iodeto de potássio (0,415 g; 2,50 mmol) em metanol (10 mL). O cloreto de platina(II) (0,266 g; 1,00 mmol) foi

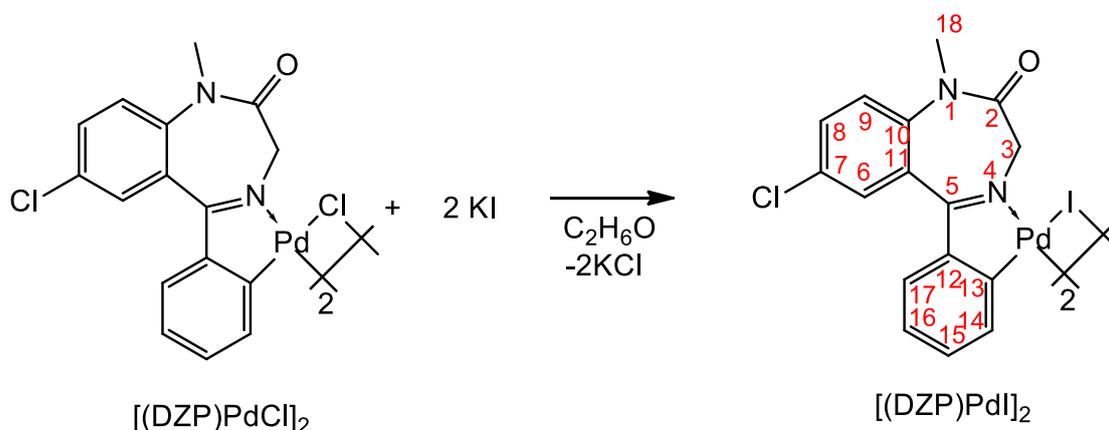
adicionado à solução que ficou sob agitação e aquecimento ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 10 min. Em seguida, a mistura foi filtrada, obtendo a solução de coloração castanho-escuro de K_2PtI_4 . A essa solução foi adicionado o ligante Bromazepam, (7-Bromo-2-oxo-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-5-il)2-piridinil (0,316 g; 1,00 mmol) sob agitação, seguido de aquecimento sob refluxo ($T \approx 75\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 1 hora e 30 minutos. Após o tempo de reação, separou-se o precipitado do sobrenadante por decantação e o sólido obtido foi lavado com metanol até que o sobrenadante ficasse incolor. Por fim, secou-se o material em uma bomba de alto vácuo, obtendo-se assim um sólido amorfo de tonalidade marrom escuro. Rendimento: 58%.

Fórmula molecular (F.M.): $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BrI}_2\text{N}_3\text{OPt}$. Massa molar (M.M.): 765,05 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z : 764 [M-H]. RMN de ^1H (600MHz, DMSO-d_6 , ppm): 4,39 (d, 1H, H3a, $J = 12,18\text{ Hz}$); 6,33 (d, 1H, H3b, $J = 12,10\text{ Hz}$); 7,27 (d, 1H, H9, $J = 8,78\text{ Hz}$); 7,76 (d, 1H, H17, $J = 7,89\text{ Hz}$); 7,98 (dd, 1H, H8, $J = 8,78\text{ Hz}$); 8,03 (t, 1H, H15); 8,11 (s, 1H, H6); 8,38 (t, 1H, H16); 10,14 (d, 1H, H14, $J = 5,57\text{ Hz}$); 11,11 (s, 1H, NH). RMN de ^{13}C (150MHz, DMSO-d_6 , ppm): 173,93 (C2); 168,99 (C5); 156,64 (C12); 152,81 (C14); 140,75 (C16); 138,72 (C10); 136,64 (C8); 132,56 (C6); 131,54 (C17); 130,56 (C15); 124,53 (C9); 124,33 (C11); 116,15 (C7); 58,54 (C3).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.3. Síntese dos complexos obtidos por metátese halogênica

4.4.3.1. Síntese do *bis*[2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -C,N}- μ_2 -iodopaládio(II)], [(DZP)PdI]₂



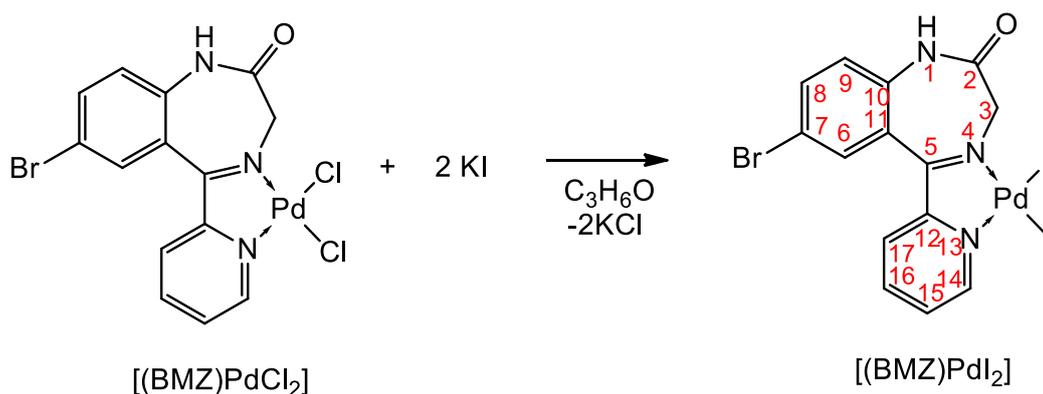
Foi preparada uma suspensão do complexo $[(\text{DZP})\text{PdCl}]_2$ (0,851g; 1,00 mmol) em acetona (200 mL) e adicionou-se iodeto de potássio (KI) em excesso (0,415g; 2,50 mmol) sob agitação, à temperatura ambiente, durante 10 minutos. Durante esse tempo, uma solução

verde escura foi se formando. O solvente foi removido completamente a vácuo à medida que um resíduo se formava nas paredes do balão. Foi adicionado diclorometano para dissolver o complexo e retirar os resíduos de iodeto de potássio e cloreto de potássio por meio de filtração com celite. O filtrado foi concentrado a vácuo e adicionado hexano até completa precipitação do complexo. O sólido amorfo esverdeado foi obtido após secagem a vácuo. Rendimento: 95%.

Fórmula molecular (F.M.): $C_{32}H_{24}Cl_2I_2N_4O_2Pd_2$. Massa molar (M.M.): 1034,11 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z : 1033 [M-H]. Faixa de degradação: 261-265 °C. Anal. Elem. Teórico: C: 37,17; H: 2,34; N: 5,42. Experimental: C: 37,31; H: 2,27; N: 5,30. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3052 – 3020 (ν C-H aromático); 2951 – 2866 (ν CH_2 e CH_3); 1688 (ν C=O); 1596 – 1484 (ν C=C aromático). RMN de 1H (600MHz, DMSO- d_6 , ppm): 3,32 (s, 6H, H18); 3,89 (d, 2H, H3a, $J = 12,48$ Hz); 4,68 (d, 2H, H3b, $J = 12,52$ Hz); 6,92 (m, 2H, H15); 7,03 (m, 4H, H17 e H16); 7,67 (d, 2H, H9, $J = 8,93$ Hz); 7,74 (s, 2H, H6); 7,82 (dd, 2H, H8, $J = 8,90$ Hz); 8,36 (d, 2H, H14, $J = 7,67$ Hz). RMN de ^{13}C (150MHz, DMSO- d_6 , ppm): 178,20 (C5); 169,20 (C2); 153,47 (C13); 145,99 (C11); 144,52 (C14); 142,19 (C10); 132,89 (C8); 131,38 (C15); 130,83 (C17); 129,48 (C6); 129,22 (C12); 126,45 (C7); 125,06 (C9); 123,97 (C16); 53,52 (C3); 35,04 (C18).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.3.2. Síntese do [2-{(7-bromo-2-oxo-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-5-il)piridinil- κ^2-N,N }iodopaládio(II)], [(BMZ)PdI₂]



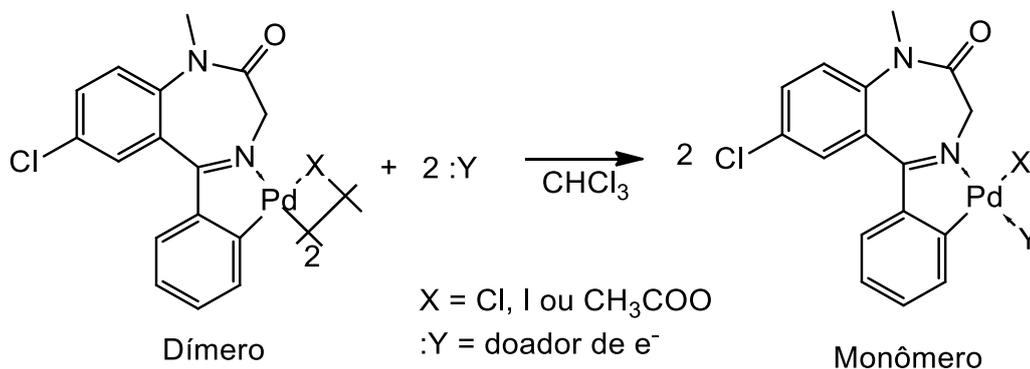
Preparou-se uma suspensão do complexo [(BMZ)PdCl₂] (0,493 g; 1,00 mmol) em acetona (200 mL) e adicionou-se iodeto de potássio (KI) em excesso (0,415 g; 2,50 mmol) sob agitação, à temperatura ambiente, durante 1 hora. Durante esse tempo, uma solução marrom escura foi se formando. O solvente foi removido completamente a vácuo à medida

que um resíduo se formava nas paredes do balão. O sólido obtido foi lavado com metanol até completa solubilização dos sais em excesso e que foram formados ao longo da reação. Após ser lavado com metanol, foi obtido um sólido amorfo de tonalidade preta o qual terminou de ser secado sob vácuo para a remoção de todos os voláteis. Rendimento: 95%.

Fórmula molecular (F.M.): $C_{14}H_{10}BrI_2N_3OPd$. Massa molar (M.M.): 676,38 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z : 675 [M-H]. RMN de 1H (600MHz, DMSO- d_6 , ppm): 4,21 (d, 1H, H3a, $J = 12,07$ Hz); 6,00 (d, 1H, H3b, $J = 12,19$ Hz); 7,27 (d, 1H, H9, $J = 8,81$ Hz); 7,71 (d, 1H, H17, $J = 7,89$ Hz); 7,94 (dd, 1H, H8, $J = 8,77$ Hz); 7,97 (td, 1H, H15); 8,04 (s, 1H, H6); 8,29 (td, 1H, H16); 9,78 (dd, 1H, H14, $J = 5,38$ Hz); 11,07 (s, 1H, NH). RMN de ^{13}C (150MHz, DMSO- d_6 , ppm): 174,66 (C2); 169,18 (C5); 156,15 (C12); 153,98 (C14); 140,95 (C16); 139,68 (C10); 136,82 (C8); 133,25 (C6); 131,16 (C17); 130,13 (C15); 124,36 (C9); 124,27 (C11); 115,85 (C7); 59,01 (C3).

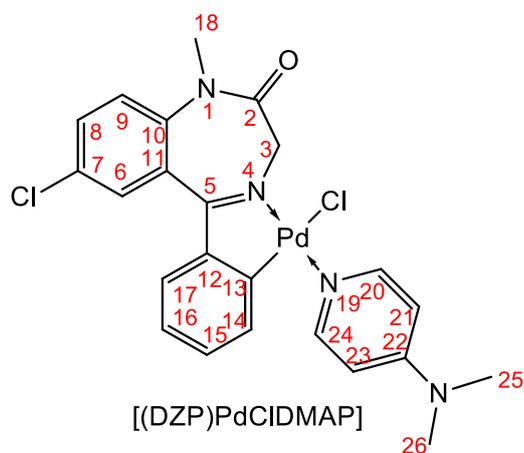
REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.4. Síntese dos monômeros obtidos a partir dos dímeros



Preparou-se uma suspensão do dímero (1,00 mmol) em clorofórmio (100 mL) e adicionou-se um monômero coordenante à suspensão (4-dimetilaminopiridina, piridina ou trifetilfosfina) (2,00 mmol). A reação procedeu sob agitação em temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, filtrou-se com celite e hexano foi adicionado à solução obtida até completa precipitação do composto, o qual foi separado do sobrenadante e secado a vácuo, obtendo-se assim um sólido.

4.4.4.1. Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -*C,N*}cloro-4-dimetilaminopiridinopaládio(II)], [(DZP)PdCIDMAP]

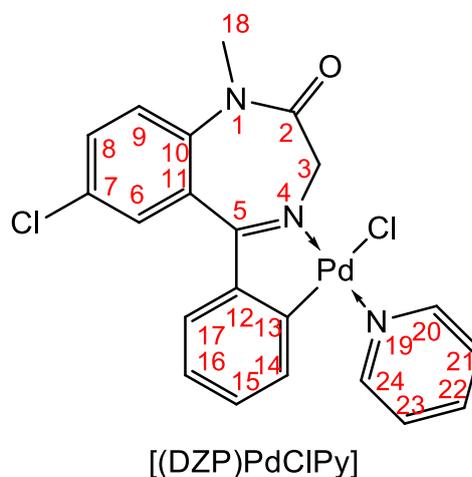


Aspecto: sólido amorfo amarelo claro. Rendimento da reação: 99%.

Fórmula Molecular (F.M.): C₂₃H₂₂Cl₂N₄OPd. Massa Molar (M.M.): 546,02 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z: 547 [M-H]. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3061 – 2982 (ν C-H aromático); 2884 – 2778 (ν CH₂ e CH₃); 1657 (ν C=O); 1596 (ν C-N); 1553 – 1426 (ν C=C aromático). RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 3,08 (s, 6H, H₂₅, H₂₆); 3,38 (s, 3H, H₁₈); 3,77 (d, 1H, H_{3a}, *J* = 12,59 Hz); 5,91 (d, 1H, H_{3b}, *J* = 12,60 Hz); 6,49 (m, 1H, H₁₄); 6,54 (d, 2H, H₂₁, H₂₃, *J* = 7,15 Hz); 7,04 (m, 2H, H₁₅, H₁₆); 7,09 (m, 1H, H₁₇); 7,33 (d, 1H, H₉, *J* = 8,76 Hz); 7,59 (dd, 1H, H₈, *J* = 8,76 Hz); 7,62 (s, 1H, H₆); 8,34 (d, 2H, H₂₀, H₂₄, *J* = 7,14 Hz). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 179,96 (C₅); 168,88 (C₂); 158,94 (C₁₃); 154,44 (C₂₂); 151,70 (C₂₀, C₂₄); 145,57 (C₁₂); 141,99 (C₁₁); 133,26 (C₁₄); 132,46 (C₈); 131,41 (C₁₇); 129,88 (C₇); 129,80 (C₁₅); 129,45 (C₆); 126,58 (C₁₀); 124,05 (C₁₆); 123,27 (C₉); 107,77 (C₂₁, C₂₃); 55,78 (C₃); 39,33 (C₂₅, C₂₆); 34,97 (C₁₈).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.4.2. Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -*C,N*}cloropiridinopaládio(II)], [(DZP)PdClPy]

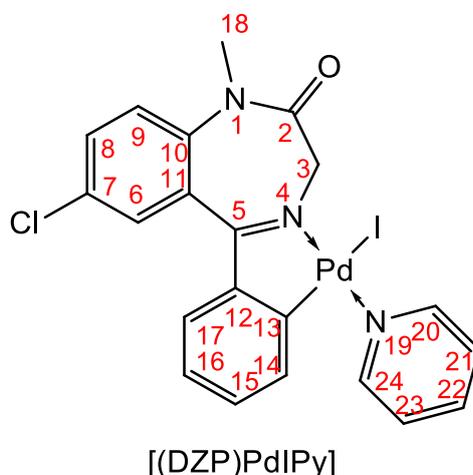


Aspecto: sólido amorfo amarelo pálido. Rendimento da reação: 69%.

Fórmula Molecular (F.M.): C₂₁H₁₇Cl₂N₃OPd. Massa Molar (M.M.): 504,71 g/mol.
 Ponto de degradação: 288-292 °C. 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): 3105 – 3021 (ν C-H aromático); 2969 – 2853 (ν CH₂ e CH₃); 1682 (ν C=O); 1600 – 1484 (ν C=C aromático).
 RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 3,39 (s, 3H, H18); 3,80 (d, 1H, H3a, *J* = 12,56 Hz); 5,90 (d, 1H, H3b, *J* = 12,57 Hz); 6,24 (dd, 1H, H14, *J* = 7,53 Hz); 7,07 (m, 3H, H15, H16, H17); 7,34 (dd, 1H, H9, *J* = 8,45 Hz); 7,48 (t, 2H, H21, H23); 7,62 (t, 2H, H6, H8); 7,89 (t, 1H, H22); 8,91 (d, 2H, H20, H24, *J* = 4,98 Hz). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 180,49 (C5); 168,65 (C2); 158,73 (C13); 153,20 (C20, C24); 145,57 (C12); 142,06 (C11); 138,17 (C22); 132,51 (C8, C14); 131,59 (C17); 130,05 (C15); 129,97 (C10); 129,47 (C6); 126,40 (C7); 125,59 (C21, C23); 124,37 (C16); 123,24 (C9); 55,94 (C3); 34,94 (C18).

REFERÊNCIA: (BARROS et al., 2016).

4.4.4.3. Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -*C,N*}iodopiridinopaládio(II)], [(DZP)PdIPy]

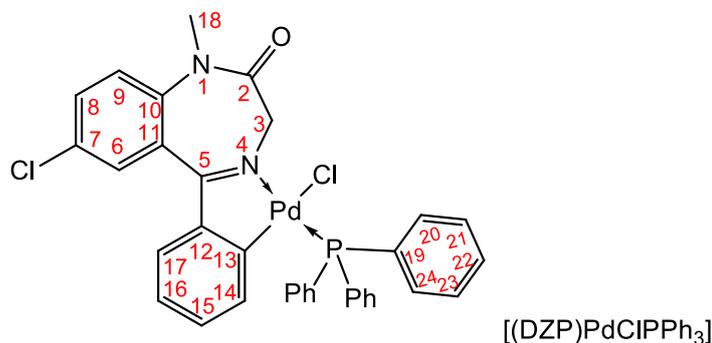


Aspecto: sólido amorfo verde claro. Rendimento da reação: 65%.

Fórmula Molecular (F.M.): C₂₁H₁₇ClIN₃OPd. Massa Molar (M.M.): 594,91 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z: 596 [M-H]. Ponto de degradação: 144-148 °C. Anal. Elem. Teórico: C: 42,31; H: 2,87; N: 7,05. Experimental: C: 41,85; H: 2,61; N: 7,08. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3113 – 3055 (ν C-H aromático); 2963 – 2856 (ν CH₂ e CH₃); 1683 (ν C=O); 1600 – 1485 (ν C=C aromático). RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 3,36 (s, 3H, H18); 3,76 (br sig, 1H, H3a); 5,88 (br sig, 1H, H14); 6,29 (br sig, 1H, H3b); 7,05 (m, 3H, H15, H16, H17); 7,34 (d, 1H, H9, *J* = 8,96 Hz); 7,48 (t, 2H, H21, H23); 7,60 (t, 2H, H6, H8); 7,85 (t, 1H, H22); 8,84 (br sig, 2H, H20, H24). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 180,41 (C5); 168,40 (C2); 155,37 (C13); 151,91 (C20, C24); 145,87 (C12); 141,63 (C11); 138,06 (C22); 132,61 (C8); 132,03 (C17); 130,65 (C15); 130,26 (C10); 129,69 (C6); 126,86 (C7); 125,47 (C21, C23); 124,90 (C14); 124,15 (C16); 123,26 (C9); 55,38 (C3); 34,83 (C18).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.4.4. Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -*C,N*}clorotrifetilfosfinopaládio(II)], [(DZP)PdClPPh₃]

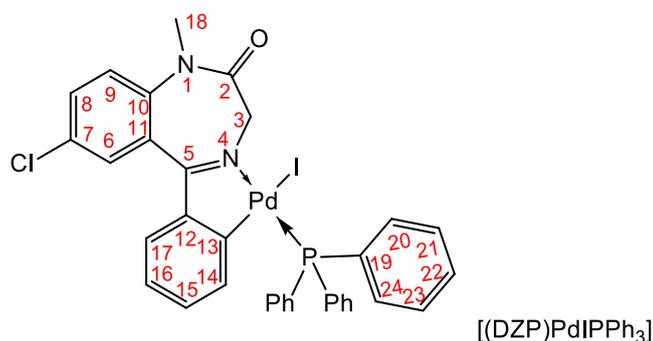


Aspecto: sólido amorfo amarelo pálido. Rendimento da reação: 99%.

Fórmula molecular (F.M.): C₃₄H₂₇Cl₂N₂OPPd. Massa molar (M.M.): 687,89 g/mol. Ponto de degradação: 258-262 °C. 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 (ν C-H aromático); 2991 – 2884 (ν CH₂ e CH₃); 1686 (ν C=O e ν C=N); 1579 – 1462 (ν C=C aromático). RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 3,37 (s, 3H, H18); 3,75 (d, 1H, H3a, *J* = 12,30 Hz); 6,14 (d, 1H, H3b, *J* = 12,42 Hz); 6,54 (t, 1H, H14); 6,59 (t, 1H, H15); 6,89 (t, 1H, H16); 7,09 (d, 1H, H17, *J* = 7,80 Hz); 7,36 (m, 7H, H9, H21, H23); 7,43 (t, 3H, H22); 7,61 (dd, 1H, H8, *J* = 8,82 Hz); 7,68 (s, 1H, H6); 7,76 (m, 6H, H20, H24). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 180,43 (C5); 169,28 (C2); 159,40 (C13); 147,15 (C12); 142,35 (C11); 139,03 (C14, *J* = 10,92 Hz); 135,48 (C20, C24, *J* = 11,93 Hz); 132,50 (C8); 131,28 (C19); 130,94 (C17); 130,81 (C22); 130,68 (C15, *J* = 4,88 Hz); 129,83 (C6); 129,67 (C7); 128,11 (C21, C23, *J* = 10,92 Hz); 127,22 (C10); 123,70 (C16); 123,19 (C9); 54,12 (C3); 34,83 (C18).

REFERÊNCIA: (BARROS et al., 2016).

4.4.4.5. Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -*C,N*}iodotrifetilfosfinopaládio(II)], [(DZP)PdIPPh₃]

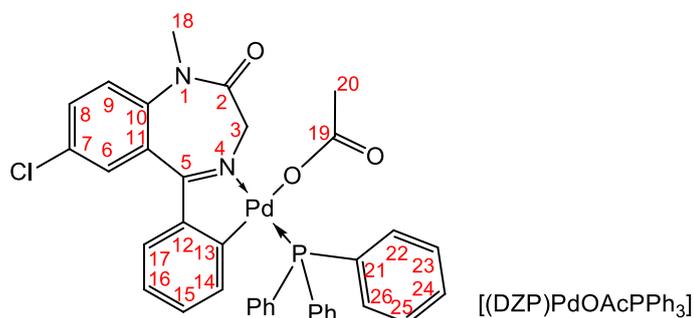


Aspecto: sólido amorfo verde claro. Rendimento da reação: 48%.

Fórmula molecular (F.M.): C₃₄H₂₇ClIN₂OPPd. Massa molar (M.M.): 779,34 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z: 780 [M-H]. Ponto de degradação: 185-189 °C. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3035 – 3015 (ν C-H aromático); 2977 – 2819 (ν CH₂ e CH₃); 1665 (ν C=O e ν C=N); 1577 – 1467 (ν C=C aromático). RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 3,38 (s, 3H, H18); 3,99 (d, 1H, H3a, *J* = 12,43 Hz); 6,48 (d, 1H, H14, *J* = 7,66 Hz); 6,62 (td, 1H, H15); 6,66 (d, 1H, H3b, *J* = 12,42 Hz); 6,88 (t, 1H, H16); 6,98 (dd, 1H, H17, *J* = 7,71 Hz); 7,35 (m, 7H, H9, H21, H23); 7,42 (t, 3H, H22); 7,60 (dd, 1H, H8, *J* = 8,78 Hz); 7,66 (s, 1H, H6); 7,77 (m, 6H, H20, H24). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 180,63 (C5); 169,39 (C2); 161,29 (C13); 147,48 (C12); 142,07 (C11); 138,09 (C14); 135,44 (C20, C24, *J* = 11,93 Hz); 133,43 (C19); 132,34 (C8); 131,00 (C17); 130,90 (C15); 130,65 (C22); 129,88 (C6); 129,60 (C7); 128,04 (C21, C23, *J* = 10,87 Hz); 127,63 (C10); 123,80 (C16); 122,85 (C9); 54,43 (C3); 34,61 (C18).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.4.6. Síntese do [2-{(7-cloro-1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-benzodiazepin-5-il)fenil- κ^2 -*C,N*}- μ_2 -acetatotrifenilfosfinopaládio(II)], [(DZP)PdOAcPPh₃]



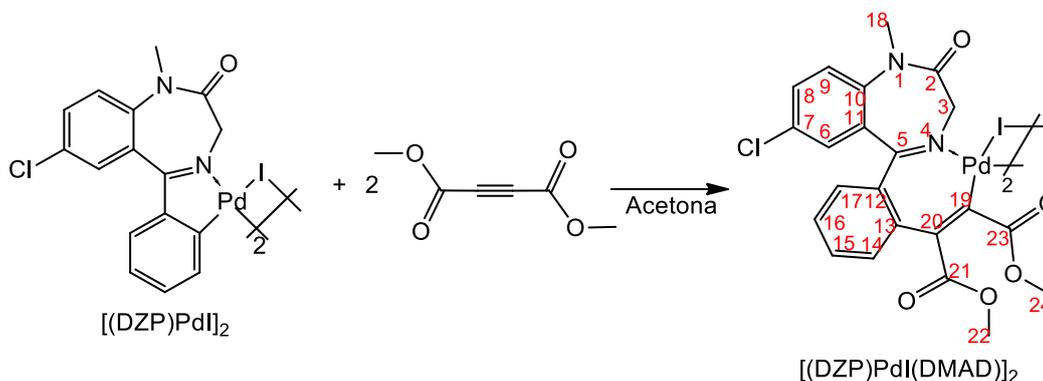
Aspecto: sólido amorfo alaranjado. Rendimento da reação: 52%.

Fórmula molecular (F.M.): C₃₆H₃₀ClN₂O₃PPd. Massa molar (M.M.): 711,48 g/mol. Ponto de degradação: 179-183 °C. 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 (ν C-H aromático); 2913 – 2818 (ν CH₂ e CH₃); 1687 (ν C=O e ν C=N); 1556 – 1464 (ν C=C aromático); 1574 e 1383 (ν as/s COO). RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 1,42 (s, 3H, H20); 3,39 (s, 3H, H18); 3,79 (dd, 1H, H3a, *J* = 12,50 Hz); 4,90 (dd, 1H, H3b, *J* = 12,48 Hz); 6,56 (m, 2H, H14, H15); 6,88 (t, 1H, H16); 7,08 (d, 1H, H17, *J* = 7,71 Hz); 7,36 (m, 7H, H9, H23, H25); 7,44 (t, 3H, H24); 7,59 (dd, 1H, H8, *J* = 8,81 Hz); 7,68 (s, 1H, H6); 7,80 (dd, 6H, H22, H26, *J* = 11,54 Hz). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 179,60 (C19, *J* = 3,30 Hz); 177,22 (C5); 169,21 (C2); 156,56 (C13); 146,90 (C12); 142,26 (C11); 139,63 (C14, *J* = 11,22 Hz); 135,44 (C22, C26, *J* = 12,29 Hz); 132,46 (C8); 130,71 (C24, *J* = 2,34 Hz); 130,63 (C15); 130,51 (C21); 130,25 (C17); 130,02 (C6); 129,90 (C7); 128,26 (C23, C25, *J* = 10,92 Hz); 126,95 (C10); 123,56 (C16); 123,13 (C9); 54,08 (C3); 35,02 (C18); 23,42 (C20).

REFERÊNCIA: (BARROS et al., 2016).

4.4.5. Modificação do complexo [(DZP)PdI]₂ por meio de reações de inserção de alcinos

4.4.5.1. Síntese do paladaciclo com dimetil acetilenodicarboxilato por monoinserção, [(DZP)PdI(DMAD)]₂

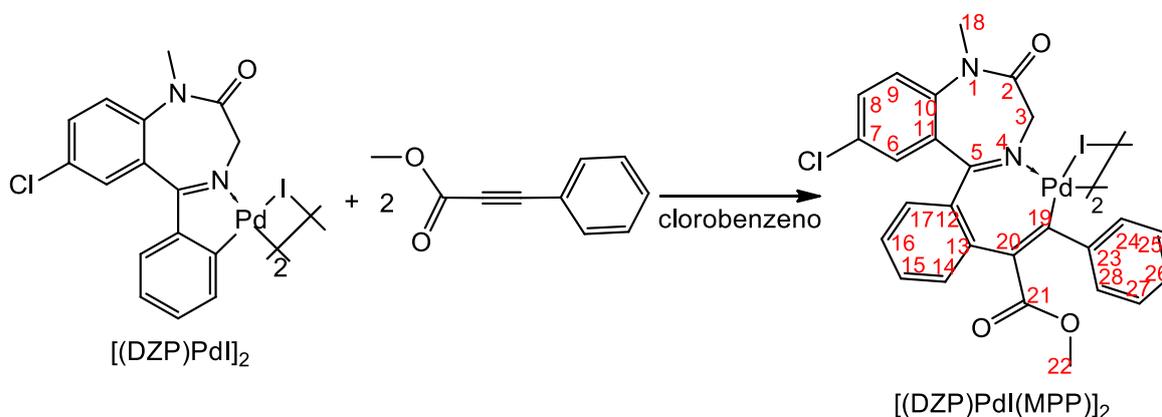


Preparou-se uma solução do complexo [(DZP)PdI]₂ (1,034 g; 1,00 mmol) em acetona (100 mL) e adicionou-se o alcino dimetil acetilenodicarboxilato, em excesso (0,373 mL; 3,00 mmol). A reação procedeu sob agitação à temperatura ambiente por 3,5 horas, a medida que um foi formando uma suspensão. Em seguida, submeteu-se a aquecimento a 70 °C por 1 hora, formando uma solução alaranjada. Em seguida, filtrou-se com celite e todo o solvente foi removido à vácuo. Solubilizou-se o sólido obtido em diclorometano e éter dietílico foi adicionado até completa precipitação do complexo, o qual foi separado do sobrenadante e secado à vácuo, obtendo-se assim um sólido amorfo alaranjado. Rendimento: 82 %.

Fórmula Molecular (F.M.): C₄₄H₃₆Cl₂I₂N₄O₁₀Pd₂. Massa Molar (M.M.): 1318,33 g/mol. Ponto de degradação: 168-172 °C. Anal. Elem. Teórico: C: 40,09; H: 2,75; N: 4,25. Experimental: C: 39,43; H: 2,74; N: 3,31. IV (ν_{máx}/cm⁻¹, KBr): 3123 – 3072 (ν C-H aromático); 2995 – 2840 (ν CH₂ e CH₃); 1741, 1699 (ν C=O); 1604 – 1486 (ν C=C aromático). RMN de ¹H (600MHz, CDCl₃, ppm): 3,44 (s, 6H, H18); 4,13 (s, 6H, H24); 4,19 (s, 6H, H22); 5,41 (d, 2H, H3a, *J* = 14,78 Hz); 5,65 (d, 2H, H3b, *J* = 14,70 Hz); 7,83 (d, 2H, H8, *J* = 8,84 Hz); 8,03 (d, 2H, H9, *J* = 8,75 Hz); 8,09 (s, 2H, H6); 8,21 (t, 2H, H15); 8,40 (m, 4H, H16, H17); 8,55 (d, 2H, H14, *J* = 8,40 Hz). RMN de ¹³C (150MHz, CDCl₃, ppm): 165,13 (C5); 163,30 (23); 160,51 (C21); 157,80 (C2); 142,90 (C19); 138,85 (C16); 136,47 (C8); 136,04 (C13); 135,51 (C12); 134,97 (C15); 133,87 (C6); 132,24 (C10); 131,41 (C17); 129,80 (C11); 127,94 (C14); 126,95 (C7); 124,82 (C9); 122,77 (C20); 59,20 (C3); 55,39 (C22); 54,61 (C24); 35,12 (C18).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

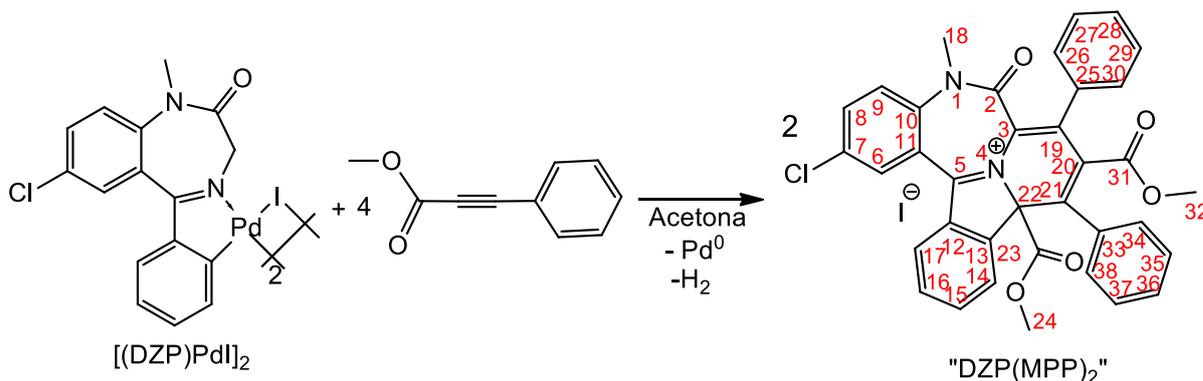
4.4.5.2. Síntese do paladaciclo com metil fenilpropiolato por monoinserção,
 $[(DZP)PdI(MPP)]_2$



Preparou-se uma solução do complexo $[(DZP)PdI]_2$ (1,034 g; 1,00 mmol) em clorobenzeno (100 mL) e adicionou-se o alcino metil fenilpropiolato (0,300 mL; 2,00 mmol). A reação procedeu sob agitação à temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, todo o solvente foi removido à vácuo e o sólido foi dissolvido em diclorometano e a solução filtrada com celite. Éter dietílico 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 amorfo marrom. Rendimento: 58 %.

Fórmula Molecular (F.M.): $C_{52}H_{40}Cl_2I_2N_4O_6Pd_2$. Massa Molar (M.M.): 1354,45 g/mol. Ponto de degradação: 183-187 °C. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3054 – 3022 (ν C-H aromático); 2947 – 2877 (ν CH_2 e CH_3); 1738, 1692 (ν C=O); 1597 – 1485 (ν C=C aromático). RMN de 1H (600MHz, $CDCl_3$, ppm): 3,47 (s, 6H, H18); 3,82 (s, 6H, H22); 5,26 (d, 2H, H3a, $J = 14,92$ Hz); 5,55 (d, 2H, H3b, $J = 14,94$ Hz); 7,37-8,45 (12H, aromáticos). REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.5.3. Síntese por di-inserção com metil fenilpropiolato, “DZP(MPP)”



Preparou-se uma solução do complexo $[(DZP)PdI]_2$ (1,034 g; 1,00 mmol) em acetona (100 mL) e adicionou-se o alcino metil fenilpropiolato (0,600 mL; 4,00 mmol). A reação procedeu sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Nos primeiros minutos de reação já se observa alteração na coloração da solução, indicando boa reatividade do alcino empregado na síntese. Em seguida, filtrou-se com celite para retirada dos resíduos de Pd^0 formado durante a reação, e 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 amorfo marrom. Rendimento: 62 %.

Fórmula Molecular (F.M.): $C_{36}H_{27}ClN_2O_5$. Massa Molar (M.M.): 603,06 g/mol. IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr): 3057 – 3024 (ν C-H aromático); 2948 – 2887 (ν CH_2 e CH_3); 1738, 1689, 1657 (ν C=O); 1605 – 1485 (ν C=C aromático). RMN de 1H (600MHz, $CDCl_3$, ppm): 2,89 (s, 3H, H18); 3,72 (s, 3H, H24); 4,27 (s, 3H, H32); 6,82 (d, 1H, H8, $J = 9,07$ Hz); 7,02 (s, 1H, H6); 7,31 (d, 2H, H_{fenila} , $J = 7,51$ Hz); 7,54 (m, 6H, H9, H16, H17, H_{fenila}); 7,67 (t, 1H, H15); 7,90 (m, 4H, H_{fenila}); 8,07 (t, 1H, H_{fenila}); 8,15 (d, 1H, H14, $J = 6,33$ Hz).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.4.6. Síntese de compostos híbridos a partir de modificações no dímero $[(DZP)PdOAc]_2$

Preparou-se uma solução do dímero $[(DZP)PdOAc]_2$ (0,898 g; 1,00 mmol) em clorofórmio (100 mL) e adicionou-se o ácido nicotínico ou ácido isonicotínico (0,123 g; 2,00 mmol). A reação procedeu sob agitação em temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, filtrou-se com celite e hexano foi adicionado à solução obtida até completa precipitação do

Fórmula Molecular (F.M.): $C_{44}H_{32}Cl_2N_6O_6Pd_2$. Massa Molar (M.M.): 1024,51 g/mol. MALDI-TOF (sem matriz): m/z: 1023 [M-H]. RMN de 1H (600MHz, $CDCl_3$, ppm): 3,37 (s, 6H, H18); 3,81 (d, 2H, H3a, $J = 12,55$ Hz); 4,80 (br sig, 2H, H3b); 6,30 (br sig, 2H, H14); 6,96 (t, 2H, H15); 7,00 (t, 2H, H16); 7,07 (d, 2H, H17, $J = 7,35$ Hz); 7,33 (d, 2H, H9, $J = 8,70$ Hz); 7,41 (t, 2H, H23); 7,60 (d, 2H, H8, $J = 8,91$ Hz); 7,61 (s, 2H, H6); 8,45 (s, 2H, H22); 8,93 (br sig, 2H, H24); 9,52 (br sig, 2H, H20). RMN de ^{13}C (150MHz, $CDCl_3$, ppm): 179,76 (C5); 168,62 (C2); 167,97 (C25); 156,73 (C13); 154,09 (C20); 153,66 (C24); 145,38 (C11); 141,92 (C10); 139,55 (C22); 133,75 (C14); 132,64 (C8); 131,55 (C15); 130,19 (C12); 129,90 (C17); 129,69 (C6); 126,31 (C7); 125,67 (C21); 124,84 (C23); 124,23 (C16); 123,35 (C9); 55,48 (C3); 35,08 (C18).

REFERÊNCIA: INÉDITO.

4.5. Determinação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH·

Esse método consiste em avaliar a atividade antioxidante, que pode ser expressa relacionando a capacidade de eliminação de radicais através da reação do composto candidato à agente antioxidante com um radical específico sob condições controladas. Nesse contexto, um dos métodos amplamente reportado na literatura para avaliar a atividade antioxidante de uma grande variedade de compostos é o monitoramento espectrofotométrico da concentração do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH·), estável e de coloração púrpura.

A determinação da capacidade antioxidante dos compostos foi feita de acordo com Eklund et al. (2005), com modificações. O método consistiu em preparar uma solução de DPPH· de concentração 160 μM , na qual 2,0 mL dessa solução foi misturada a 0,4 mL da solução do composto em DMSO, nas concentrações de [1,0], [2,5] e [5,0] mM e, por fim, completando os volumes das misturas com 1,6 mL de metanol, obtendo uma solução final de volume 4,0 mL e concentração do radical DPPH· de 80 μM e cada composto nas concentrações de [100], [250] e [500] μM em triplicata. Foi preparada também uma solução controle contendo apenas os solventes utilizados nas mesmas proporções das amostras analisadas (3,6 mL de metanol + 0,4 mL de DMSO) a fim de verificar se os mesmos exercem alguma influência na faixa de absorção do radical DPPH·. Essa última solução controle foi utilizada como branco para calibrar o espectrofotômetro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese dos complexos

De uma forma geral, todos os complexos sintetizados foram obtidos com rendimentos de moderados a bons, variando de 48-99%, tanto nos dímeros quanto nos monômeros. A seguir são abordados os mecanismos propostos para as sínteses dos compostos deste trabalho, acompanhado dos respectivos esquemas. Após a abordagem dos mecanismos reacionais, são discutidas as caracterizações químicas dos compostos sintetizados, considerando os principais sinais observados, como picos e bandas de estiramento, por exemplo, obtidos nos respectivos espectros experimentais. Cada espectro foi discutido com base em literatura consolidada (JACOBSEN, 2017; PAVIA et al., 2015; PRETSCH; BUHLMANN; BADERTSCHER, 2009; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

5.1.1. Síntese dos dímeros derivados do Diazepam (DZP)

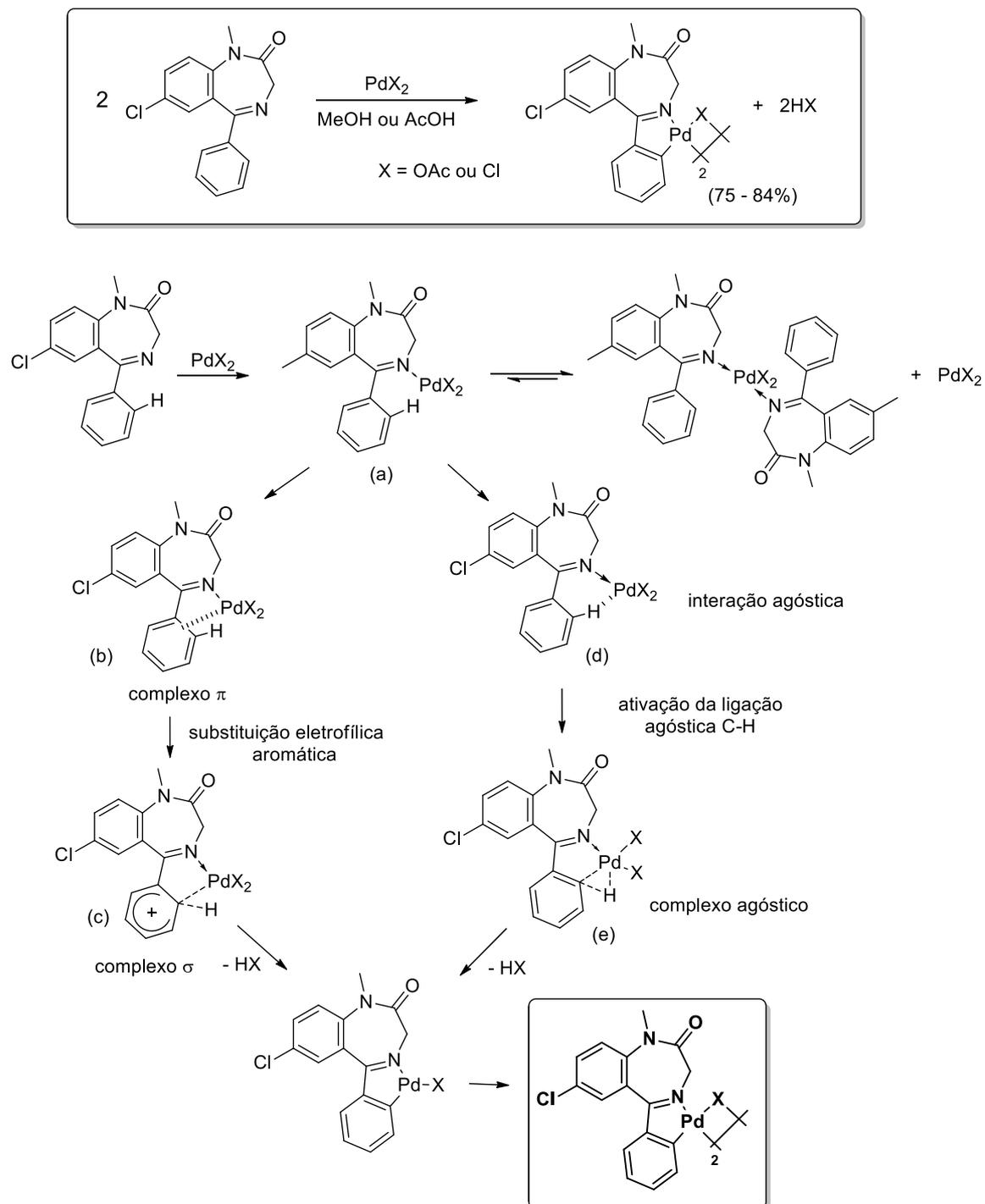
Podemos compreender os paladaciclos como complexos que possuem um anel intramolecular contendo o paládio como um de seus membros, no qual geralmente o anel de cinco membros mostra-se mais estável. Nesses complexos, existe coordenação intramolecular organometálica na qual o metal (paládio) pode encontrar-se ligado diretamente a um átomo de carbono via ligação covalente clássica (BARROS, 2012).

Neste trabalho, empregou-se uma metodologia de síntese relativamente rápida e em condições reacionais relativamente eficazes para a formação dos complexos, uma vez que não houve a necessidade de se trabalhar sob atmosfera controlada e o tempo reacional são relativamente curtos, com média de 1 hora, para a síntese dos compostos diméricos e seus respectivos monômeros.

A reação de ciclopaladação a fim de obter os dímeros $[(DZP)PdCl]_2$ e $[(DZP)PdOAc]_2$ ocorreu envolvendo a ativação da ligação agóstica C-H, partindo dos sais $PdCl_2$ e $Pd(OAc)_2$, formando o complexo dimérico, que pode ser explicado por dois mecanismos reacionais. Um dos mecanismos trata da formação da ligação agóstica e o outro descreve uma substituição eletrofílica aromática. Nos mecanismos citados ocorre a coordenação do nitrogênio 4 do anel benzodiazepínico, durante a primeira etapa, levando a

aproximação da fenila do carbono 5 ao centro metálico e favorecendo as demais etapas da reação (Figura 18) (BARROS, 2012).

Figura 18 – Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos paladaciclos derivados do Diazepam.



Fonte: Adaptado de ALBRECHT, 2008.

No mecanismo eletrofílico, esse caráter tipicamente do paládio favorece a coordenação inicial do heteroátomo, no caso o nitrogênio imínico do anel diazepínico, para o centro metálico, esquematizado em **(a)**, seguido da formação de um complexo π **(b)**. Este, por sua vez, sofre rearranjo em um complexo sigma intermediário, **(c)**. Por fim, após a captura de um próton e sua consequente eliminação redutiva, temos a formação do paladaciclo de cinco membros. Apesar de estudos já evidenciarem a difícil estabilidade dos intermediários paladaciclos formados nessa rota eletrofílica, foi possível caracterizar com sucesso intermediários de platina que puderam ser analisados como análogos do paládio (DUPONT; PFEFFER, 2008).

Dupont e Pfeffer (2008) relatam a contribuição de estudos teóricos que fortalecem um perfil de rota de síntese por meio de uma interação agóstica que leva à formação de um intermediário de seis membros **(d)**, iniciando o processo de ativação da ligação C-H. Em seguida, um dos ligantes X do paládio, no caso X = OAc, por exemplo, pode se aproximar do hidrogênio *orto* da fenila e ligar-se ao mesmo, estabilizando o intermediário **(e)**. De forma semelhante ao que se verifica ocorrer na substituição eletrofílica, o ligante X pode atuar como ligante propriamente dito e, também, como uma espécie de base intramolecular capaz de desprotonar.

5.1.1.1. Caracterização química dos dímeros derivados do Diazepam (DZP)

Após a obtenção dos complexos diméricos, foram realizadas análises espectroscópicas de IV e RMN de ^1H e ^{13}C com o intuito de comprovar a formação dos compostos. Foram observadas nos espectros de IV, bandas referentes aos grupos CH_2 e CH_3 nas faixas de $2926\text{-}2819\text{ cm}^{-1}$ e $2988\text{-}2854\text{ cm}^{-1}$, para os complexos $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$ e $[(\text{DZP})\text{PdCl}]_2$, respectivamente. No IV, o dímero contendo cloro coordenado ao metal possui estiramento (ν) característico para a ligação C=O em 1685 cm^{-1} , enquanto que no dímero contendo acetato esse mesmo estiramento aparece em 1687 cm^{-1} . Normalmente, esses dados de estiramentos já confirmam a presença do ligante Diazepam na estrutura dos complexos. No Diazepam, o estiramento (ν) característico para a ligação C=O é observado em 1685 cm^{-1} , confirmando a presença do anel benzodiazepínico na estrutura. Além disso, observa-se no IV do dímero $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$ o estiramento correspondente ao grupo COO em 1417 cm^{-1} , o que reforça a formação efetiva desse complexo.

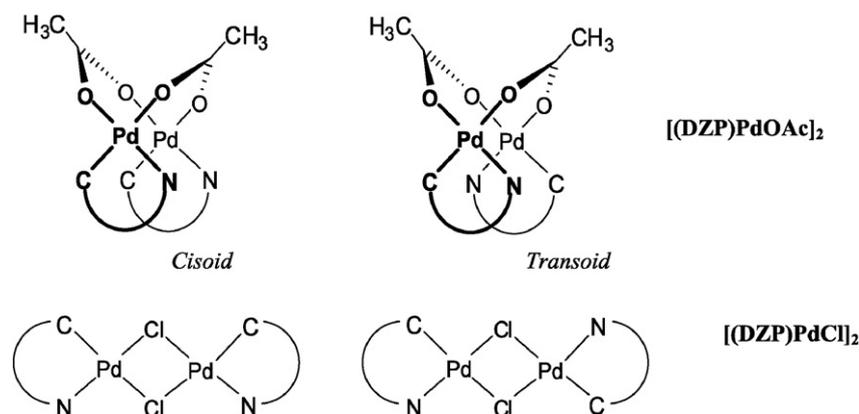
No RMN de ^1H , é possível identificar a metila do anel benzodiazepínico com deslocamento químico (δ) em 3,31 e 3,30 ppm para os dímeros $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$ e $[(\text{DZP})\text{PdCl}]_2$, respectivamente, ambos levemente deslocados para um campo alto, quando comparados ao mesmo deslocamento químico da metila do ligante, em 3,39 ppm. A metila do grupo acetato, no primeiro dímero, aparece em 2,22 ppm. Os sete hidrogênios aromáticos provenientes do ligante Diazepam podem ser observados na faixa de 6,77-7,54 ppm e 7,04-7,76 ppm, respectivamente, para os complexos com acetato e cloro. A ausência do oitavo hidrogênio aromático, antes presente no ligante, confirma a formação da ligação Pd-C, uma vez que para esta ser formada, haverá a eliminação redutiva do H_{orto} presente na fenila do Diazepam.

Uma característica importante do ligante, e que permanece nos demais compostos derivados, é a multiplicidade dos hidrogênios metilênicos, CH_2 , presentes na posição 3 do anel benzodiazepínico. Poderíamos esperar a multiplicidade de um simpleto para esses hidrogênios, em virtude da inexistência de outros hidrogênios nos átomos vizinhos. Entretanto, são vistos dois dupletos, cada um com integral de 1 hidrogênio, referentes a esses átomos. Tal efeito se deve tanto ao fato desses hidrogênios serem diastereotópicos, quanto também à presença da carbonila ao lado desses hidrogênios metilênicos, na qual a nuvem π exerce um efeito conhecido como “cone de blindagem”, fazendo com que esses hidrogênios estejam em ambientes magnéticos distintos, associando-os também ao efeito anisotrópico sobre esses hidrogênios (PAVIA et al., 2015; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Por fim, mas não menos importante, ainda há um possível efeito do centro de quiralidade existente no anel diazepínico que pode contribuir para a observação dessa multiplicidade nos hidrogênios metilênicos. No dímero com acetato, os dois dupletos do CH_2 aparecem em 3,30 e 4,34 ppm. Já no dímero com cloro, esses sinais aparecem mais desblindados, em 3,95 e 4,63 ppm. As análises de RMN do dímero acetato foram realizadas em clorofórmio deuterado, já as do dímero com cloro, em DMSO deuterado. Vale ressaltar que, apesar de serem solventes distintos, foi possível realizar RMN de ^1H do dímero com cloro também em clorofórmio deuterado e as características já aqui discutidas em relação ao hidrogênio estar mais blindado ou desblindado não se alteraram, uma vez que as pequenas alterações em função do deslocamento químico do solvente não foram pronunciadas.

Nas ressonâncias dos dois complexos, foi possível observar, ainda, a presença de sinais minoritários. Tal característica reforça a formação de isômeros desses dímeros, podendo os mesmos serem formados na forma cisoide ou transoide (Figura 19). Estudos já

realizados por Barros (2012) revelaram que a razão entre os isômeros cisoid:transoid é de 1:1 e 14:1 para os dímeros com acetato e cloro, respectivamente. A seguir, é possível observar essas formas para esses complexos.

Figura 19 – Conformação cisoid e transoid para os complexos [(DZP)PdOAc]₂ e [(DZP)PdCl]₂



Fonte: Barros et. al, 2016.

O dímero $[(DZP)PdOAc]_2$, devido à ponte acetato, exibe uma conformação espacial de *open book*, dado comprovado por difração de raio-X, demonstrado por Correia (2017). Nessa configuração espacial, a proximidade das porções do Diazepam amplia as interações entre os hidrogênios e, conseqüentemente, os sinais de 1H no RMN desse dímero são vistos como vários sinais múltiplos. A ressonância de ^{13}C já revela que esse mesmo efeito não é pronunciado para os deslocamentos químicos de ^{13}C . Já o dímero com cloro exibe a conformação plana, mantendo as duas porções de Diazepam mais afastadas no complexo, o que não permite observar esses desdobramentos de sinais nesse último composto.

Nos espectros de RMN de ^{13}C , observa-se que o carbono da metila do Diazepam praticamente não sofre deslocamento químico, comparando os complexos com o ligante livre. São verificados deslocamentos mais pronunciados nos carbonos que estão mais próximos do paládio, no caso, o carbono do grupo imino (C=N) e, logicamente, aquele diretamente ligado ao paládio(II) (Pd-C). O carbono imínico apresenta deslocamento químico (δ) de 177,94 e 178,05 ppm (nos dímeros com acetato e com cloro, respectivamente) comparados com o deslocamento de 169,90 para o mesmo carbono, no Diazepam. Tal efeito pode ser explicado em virtude de, no Diazepam, o nitrogênio possuir um par de elétrons livres e, quando observado nos complexos, esse par de elétrons passa a estabelecer uma

ligação coordenada com o paládio. No carbono coordenado ao paládio(II), é possível observar uma variação considerável no deslocamento químico, uma vez que no ligante livre, esse carbono tem deslocamento de 129,53 ppm, mas nos complexos apresenta deslocamentos de 156,65 e 153,94 ppm para [(DZP)PdOAc]₂ e [(DZP)PdCl]₂, respectivamente, ou seja, observa-se uma alteração do deslocamento químico para uma região mais desblindada, característico para carbonos ligados a metais (CINELLU et. al, 1991). Vale ressaltar, ainda, que são verificados mais dois sinais no dímero com acetato, em 24,60 e 181,87 ppm, atribuídos à metila e à carbonila do grupo acetato, respectivamente.

Além de RMN de ¹H e ¹³C, foram também realizados experimentos de COSY, HSQC e HMBC que confirmaram os sinais atribuídos aos complexos.

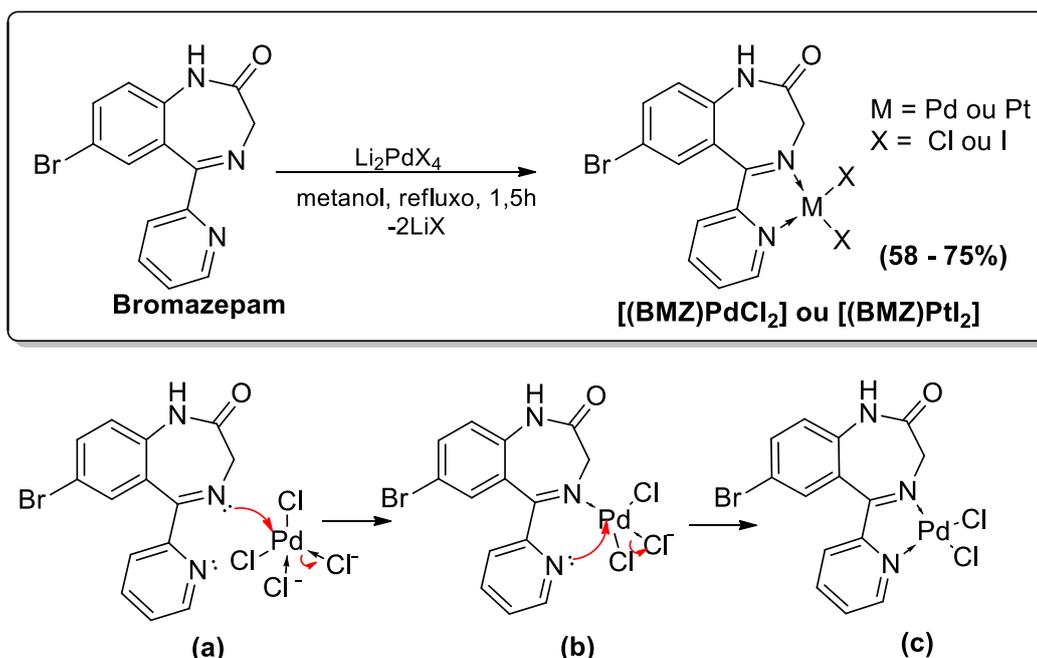
5.1.2. Síntese dos complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂] derivados do Bromazepam (BMZ)

O mecanismo envolvido na formação dos complexos de paládio(II) ou platina(II) derivados de Bromazepam é mostrado na Figura 20. Neste mecanismo, o processo se inicia com a coordenação do nitrogênio imínico do anel diazepínico ao centro metálico que, nesse momento, encontra-se tetracoordenado por um halogênio. Esse ataque eletrofílico do nitrogênio e sua posterior coordenação, faz com que um dos cloros carregado negativamente seja eliminado na forma de cloreto, (*a*). O íon cloreto (Cl⁻) liberado é estabilizado pelo cátion lítio (Li⁺) presente na solução, formando o cloreto de lítio, estável. Em seguida, o paládio sofre um ataque nucleofílico do par de elétrons livres do nitrogênio piridínico, favorecendo a eliminação do segundo íon cloreto (*b*). Dessa forma, ocorre a formação do complexo bidentado derivado do Bromazepam (*c*) (Figura 20).

Nos complexos derivados do Bromazepam sintetizados nesse trabalho, verifica-se que o ligante se coordena ao metal, seja paládio ou platina, de forma bidentada, ou seja, ocorre a coordenação de dois átomos doadores de elétrons, no caso o nitrogênio (DUPONT; PFEFFER, 2008; SPESSARD; MIESSLER, 2009). Essa característica impede o composto de formar um complexo dimérico, que são observados nos compostos com Diazepam, por exemplo. Isso também explica o fato de, nas etapas para formar os intermediários em (*a*) e em (*b*) no mecanismo reacional proposto, ser verificado a eliminação dos halogênios que estão coordenados via ligação covalente dativa e não ser verificada nenhuma eliminação de algum halogênio coordenado via ligação covalente clássica, pois para que o metal mantenha

seu estado de oxidação mais estável, no caso +2, com a coordenação de um átomo doador de elétrons, a eliminação de outro átomo consequentemente deverá ocorrer com a saída de um átomo que esteja coordenado com essa mesma característica.

Figura 20 – Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂] derivados do Bromazepam.



Fonte: Autor, 2023.

5.1.2.1. Caracterização química dos complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂] derivados do Bromazepam (BMZ)

Após a síntese dos complexos, foram realizados experimentos de RMN de ¹H e ¹³C, com o objetivo de comprovar a formação dos compostos. Além disso, foram também realizados outros experimentos de RMN que confirmam as atribuições de cada sinal verificado nos espectros. Os dois compostos foram solubilizados em DMSO deuterado, inclusive o ligante. Diferente do que se verificou no Diazepam, a amida do anel diazepínico, no Bromazepam, não possui uma metila, apenas um hidrogênio. No espectro de ¹H, o sinal correspondente à amida (NH) é observado com um deslocamento químico (δ) em 10,65 ppm, no ligante, passando para 11,10 e 11,11 ppm, quando da formação dos complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂], respectivamente. A adição de água deuterada (D₂O) à amostra

e sua posterior análise, comprovou a redução desse sinal, pois o deutério trocou de lugar com o hidrogênio amídico, reduzindo a intensidade do pico (ANTOLINI et al., 1992).

Outra mudança interessante é observada nos hidrogênios metilênicos, antes presentes em 4,22 ppm como um simpleto largo e, nos complexos, aparecem como dois dupletos em 3,97 e 5,35 ppm, para o [(BMZ)PdCl₂] e 4,39 e 6,33 ppm, para o [(BMZ)PtI₂]. Essa alteração no deslocamento químico está diretamente relacionada à coordenação do ligante aos sais metálicos empregados nas reações. A presença do centro metálico próximo desses hidrogênios, faz com que estes sejam mais influenciados pelo metal e se desloquem mais, comparados a outros núcleos de hidrogênio localizados mais distantes dessa região da molécula. Além disso, o efeito anisotrópico dos elétrons π da carbonila também contribui para que esses hidrogênios fiquem em ambientes magnéticos distintos e sejam observados como dupletos, efeito já observado também no Diazepam.

O sinal do hidrogênio vizinho ao nitrogênio do anel piridínico, em 8,56 ppm no ligante, se desloca para 9,17 e 10,14 ppm nos complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂], respectivamente. Tal mudança para região mais desblindada (campo baixo), como já mencionado, está associado à presença do centro metálico nos compostos. Comparando os deslocamentos químicos (δ) desse hidrogênio e dos hidrogênios metilênicos do BMZ puro com os complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PtI₂], verifica-se maiores alterações nos deslocamentos nos hidrogênios do complexo [(BMZ)PtI₂], pois tanto a platina quanto o iodo são átomos com densidades eletrônicas maiores, além de serem menos eletronegativos e de caráter mais doador de elétrons. Esta última característica promove a ampliação da densidade eletrônica no anel piridínico, desblindando ainda mais os hidrogênios aromáticos (JACOBSEN, 2017; PAVIA et al., 2015).

No RMN de ¹³C, os sinais que apresentaram um deslocamento químico mais pronunciado foram os carbonos da carbonila (C=O), do grupo alquila (CH₂) e do carbono hidrogenado ligado ao nitrogênio piridínico (CH). Os sinais dos demais carbonos praticamente não se deslocaram após a complexação, o que já era previsto, pois são carbonos mais distantes do centro metálico. O sinal do carbono CH ao lado do nitrogênio da piridina, no composto [(BMZ)PdCl₂], aparece em 151,07 ppm. Entretanto, no composto [(BMZ)PtI₂], esse mesmo carbono apresenta um sinal mais deslocado para a esquerda do espectro (campo baixo), em 152,81 ppm, o que é compreensível, dado ao caráter mais doador de elétrons, quando comparado ao análogo contendo paládio e cloro no centro metálico.

5.1.3. Síntese dos complexos [(DZP)PdI]₂ e [(BMZ)PdI]₂, obtidos por metátese halogênica

Por meio da metátese halogênica, foi possível obter análogos iodados, [(DZP)PdI]₂ e [(BMZ)PdI]₂, a partir com compostos clorados, [(DZP)PdCl]₂ e [(BMZ)PdCl]₂, a partir da adição de iodeto de potássio (KI) sobre os respectivos compostos clorados. O uso de KI como fonte de íons iodetos é importante, pois apresenta uma razoável solubilidade no meio reacional (solvente acetona), sendo que o KCl formado é bem menos solúvel, favorecendo, assim, a reação. Ambas reações foram realizadas à temperatura ambiente e em menos de 1 hora de reação.

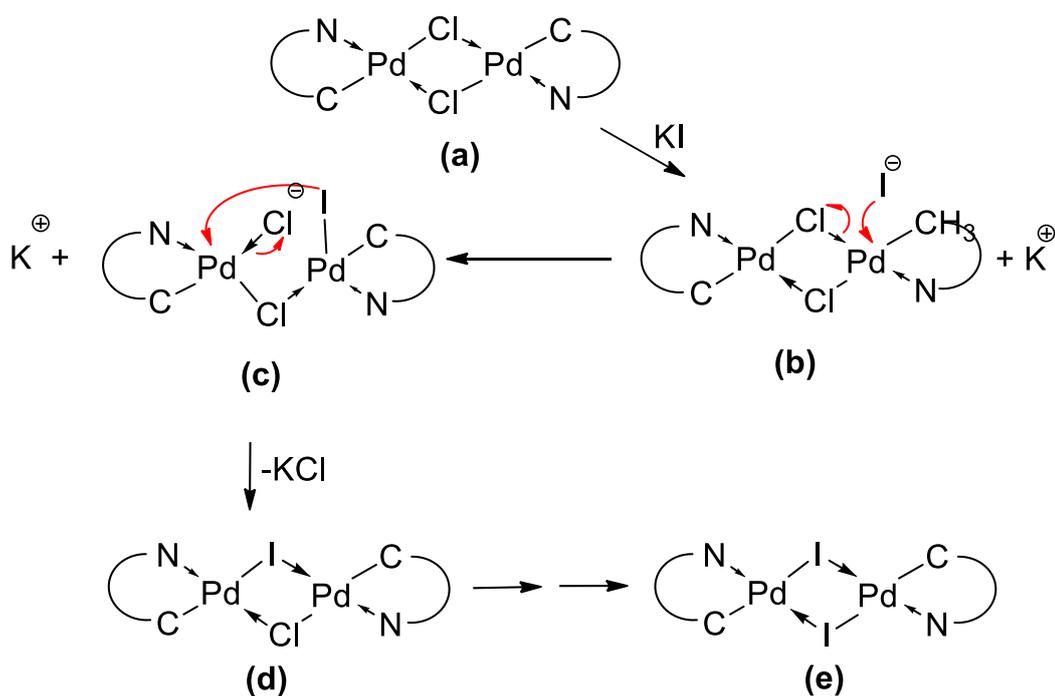
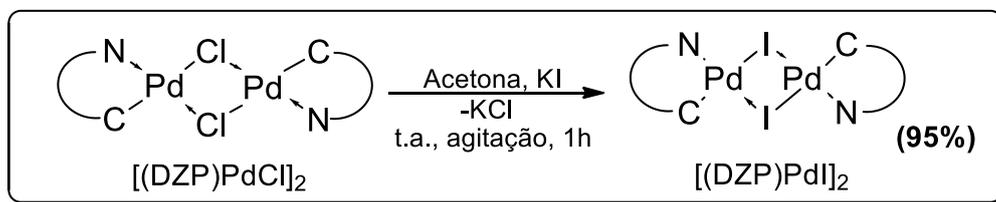
No mecanismo proposto para a troca de halogênios (metátese halogênica), o complexo contendo cloro, (**a**) sofre facilmente um ataque eletrofílico do ânion iodeto. A maior afinidade desses metais por iodo pode ser facilmente explicada pela concepção de associações ácido-base duros e macios em interações típicas do tipo ácido-base de Lewis (ATKINS et al., 2010).

De modo mais específico, após ocorrer a coordenação do iodeto ao metal, rompe-se a ligação covalente com o cloro, (**b**), passando este último a possuir a carga negativa, o que já é previsto dada a maior eletronegatividade do cloro.

Pelas mesmas propriedades já citadas anteriormente, um dos pares de elétrons do iodo já coordenado a um dos átomos de paládio ataca nucleofilicamente o Pd da outra porção do dímero, favorecendo a eliminação do cloreto até então coordenado nesse segundo átomo do metal, (**c**), e formando a ponte com iodeto no novo dímero formado, (**d**) (Figura 21). Nesse momento, a formação do cloreto de potássio (KCl) é mais favorável do que a formação de iodeto de potássio, uma vez que ΔH_f^0 para o KCl é de -436,75 kJ/mol e para o KI é de -327,90 kJ/mol (ATKINS; JONES, 2012). Por fim, com a interação de mais um ânion iodeto, tem-se a formação do produto final, obtido através de metátese halogênica.

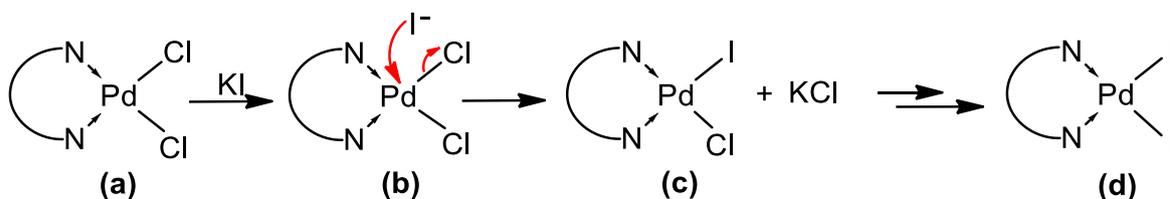
Por meio desse mesmo mecanismo, tem-se a obtenção do monômero derivado do Bromazepam, [(BMZ)PdI]₂ (Figura 22), excluindo apenas do mecanismo anterior a etapa de formação do intermediário obtido por meio do ataque nucleofílico de um dos pares de elétrons do iodo. Vale ressaltar, ainda, que nesse complexo, não é possível a formação de um dímero, tendo em vista que o ligante Bromazepam se coordena ao paládio de forma bidentada, efeito no qual os dois nitrogênios (doadores de elétrons) se coordenam a um mesmo metal (DUPONT; PFEFFER, 2008; SPESSARD; MIESSLER, 2009).

Figura 21 – Mecanismo reacional proposto para a obtenção do dímero [(DZP)PdI]₂ obtido por metátese halogênica.



Fonte: Autor, 2023.

Figura 22 – Mecanismo reacional proposto para a obtenção do complexo [(BMZ)PdI]₂ obtido por metátese halogênica.



Fonte: Autor, 2023.

5.1.3.1. Caracterização química dos complexos obtidos por metátese halogênica

Após as sínteses, experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C foram realizados para comprovação da formação do complexo $[(\text{BMZ})\text{PdI}_2]$, obtido a partir do seu análogo com cloro coordenado ao paládio. No espectro de ^1H , foi possível observar alterações no deslocamento químico (δ) dos hidrogênios metilênicos (CH_2), os quais eram 3,97 e 5,35 ppm, no $[(\text{BMZ})\text{PdCl}_2]$, e passaram para 4,21 e 6,00 ppm, no análogo com iodo. Já o hidrogênio do carbono vizinho ao nitrogênio piridínico, se deslocou de 9,17 ppm, no $[(\text{BMZ})\text{PdCl}_2]$, para um campo baixo (para a esquerda), em 9,78 ppm, no complexo contendo iodo. Tal efeito se atribui, como já mencionado anteriormente, ao caráter mais doador de elétrons do iodo, o que favorece o efeito de ressonância no anel piridínico e a desblindagem dos hidrogênios do mesmo. Os demais sinais de hidrogênio praticamente não sofreram alterações com a troca dos halogênios. No RMN de ^{13}C , verificou-se alterações apenas nos deslocamentos químicos do carbono metilênico e no carbono hidrogenado vizinho ao nitrogênio piridínico, o que já era esperado, deslocando-se de 56,16 e 151,07 ppm, respectivamente, no complexo com cloro para 59,01 e 153,98 ppm, no complexo com iodo. Os demais sinais de carbono se mantiveram sem deslocamento químico considerável.

No espectro de IV do dímero $[(\text{DZP})\text{PdI}_2]$, é possível verificar as bandas correspondentes aos estiramentos $\text{C}=\text{O}$ e CH_3/CH_2 em 1688 cm^{-1} e $2951\text{-}2866\text{ cm}^{-1}$, respectivamente, que confirmam a presença do Diazepam na estrutura do complexo. No RMN de ^1H , observou-se uma variação mais discreta nos deslocamentos dos hidrogênios metilênicos, variando de 3,95 e 4,63 ppm, no $[(\text{DZP})\text{PdCl}_2]$, para 3,89 e 4,68 ppm, no dímero com iodo. Um efeito mais pronunciado foi verificado no hidrogênio vizinho ao carbono da ligação Pd-C , variando de 7,69 ppm, no complexo $[(\text{DZP})\text{PdCl}_2]$, para 8,36 ppm, no complexo $[(\text{DZP})\text{PdI}_2]$. Tal efeito (de deslocar esse sinal para um campo baixo) já foi discutido anteriormente (de ser mais doador de elétrons), dispensando maiores discussões. No RMN de ^{13}C , quase todos os carbonos mantiveram os sinais sem deslocamentos significativos, sendo mais evidentes nos carbonos $\text{C}=\text{O}$, CH_2 e CH vizinho ao carbono da ligação Pd-C , justamente por sofrerem mais a influência da troca dos halogênios, variando de 167,09 ppm ($\text{C}=\text{O}$), 54,47 ppm (CH_2) e 136,63 ppm (CH), no $[(\text{DZP})\text{PdCl}_2]$, para 169,20 ppm, 53,52 ppm e 144,52 ppm para os mesmos respectivos carbonos no análogo com iodo. Vale ressaltar que foram também realizados outros experimentos de RMN que corroboram e confirmam os sinais atribuídos a cada H e C desses compostos.

5.1.4. Síntese dos monômeros derivados do Diazepam (DZP)

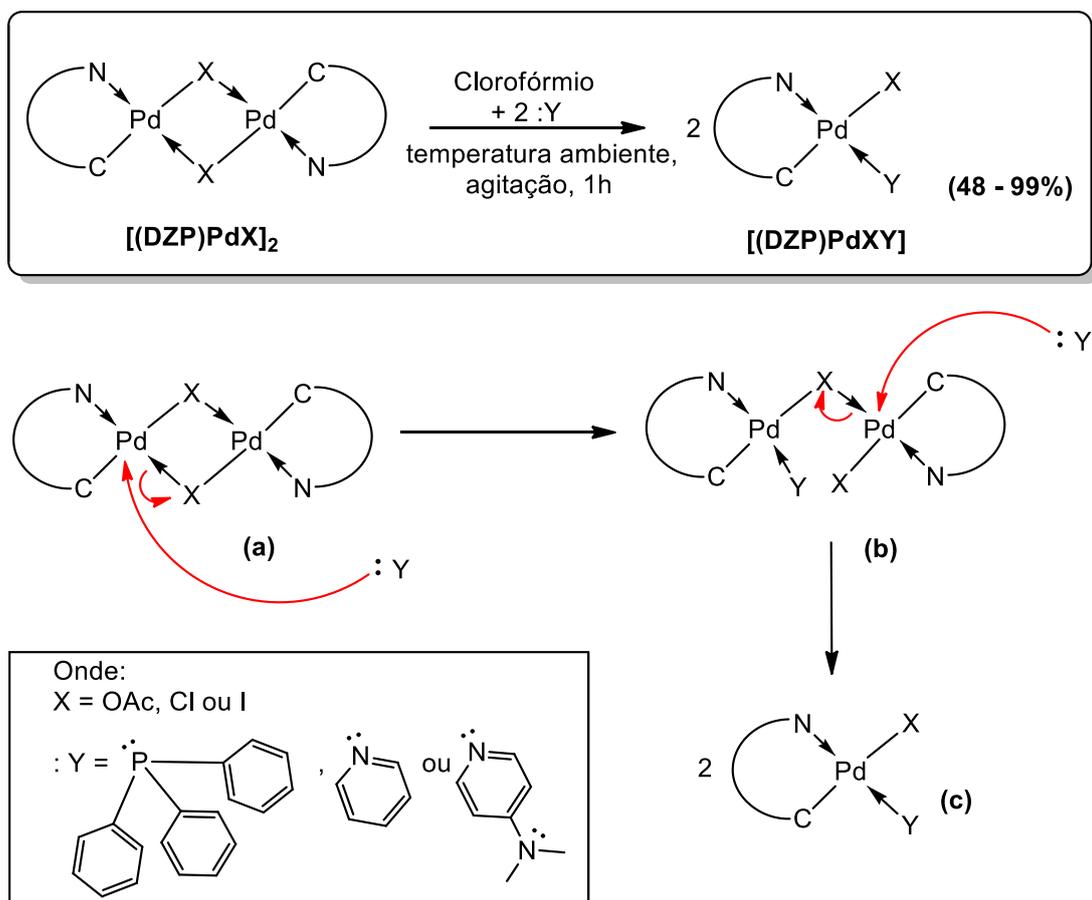
A síntese de formação dos monômeros a partir dos dímeros derivados do Diazepam é possível através da adição de um composto passível de se coordenar ao centro metálico. Essa característica está diretamente associada à presença de um par de elétrons livres no átomo que será coordenado ao metal. Dentre os compostos com essa característica coordenante, foram utilizados 4-dimetilaminopiridina (DMAP), piridina (Py) e trifenilfosfina (PPh₃).

Inicialmente, o par de elétrons do grupo coordenante ataca eletrofilicamente o paládio que, ao receber esse ligante com um par de elétrons, rompe a ligação dativa de um dos grupos X (onde X = acetato, cloro ou iodo) que estava antes coordenado, (*a*). Essa troca de ligantes mantendo a característica da ligação, faz com que o metal permaneça com seu estado de oxidação mais estável (+2). Uma vez que a reação acontece na proporção de 1:2 (dímero/composto coordenante), uma segunda molécula ataca o outro paládio presente no dímero, levando a um novo rompimento da ligação dativa do outro grupo X, separando o dímero em dois monômeros, (*b*) e (*c*) (Figura 23). Os rendimentos foram considerados de moderados a bons, exceto para o complexo [(DZP)PdIPPh₃], que foi obtido com 48% de rendimento.

É importante destacar que foram realizadas sínteses dos monômeros com os três dímeros ([(DZP)PdOAc]₂, [(DZP)PdCl]₂ e [(DZP)PdI]₂) e com cada um dos três compostos coordenantes (DMAP, Py e PPh₃). Adicionando PPh₃, todos os dímeros reagiram e foram bem caracterizados, obtendo um rendimento maior para o monômero com cloro (99%). Já para o acetato e iodo foram 52 e 48%, respectivamente. Com piridina, foi possível obter monômeros com cloro e iodo (com 69 e 65% em rendimento, respectivamente), mas com acetato só foi verificado a formação do monômero quando em solução. Utilizando DMAP, todos os dímeros reagiram, mas só foi possível obter o monômero com cloro (99% em rendimento) de forma isolada, pois os demais foram observados nas análises de RMN com sinais duplicados, levando a crer que havia uma mistura de isômeros, dificultando a obtenção dos mesmos separadamente. Nesse contexto, é provável que, devido ao átomo de cloro ser menos volumoso quando comparado ao átomo de iodo e ao grupo acetato, foi permitida uma coordenação mais efetiva nas três sínteses realizadas, levando a uma possível estabilidade do respectivo monômero, característica que não foi verificada nas sínteses empregando os

outros dímeros, o que fortalece a ideia da influência do efeito estérico da ponte estabelecida entre os átomos de Pd e os ligantes (acetato, iodo ou cloro) na formação dos monômeros.

Figura 23 – Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos monômeros derivados do Diazepam.



Fonte: Autor, 2023.

5.1.4.1. Caracterização química dos monômeros derivados do Diazepam (DZP)

Após as sínteses, análises espectroscópicas dos monômeros confirmaram as sínteses.

No IV do monômero [(DZP)PdCIDMAP], foi possível identificar a banda referente ao estiramento (ν) característico da ligação C-N do grupo amino presente no DMAP, em 1596 cm^{-1} , além dos estiramentos (ν) da carbonila (C=O) em 1657 cm^{-1} e do CH_3/CH_2 , na faixa de $2884\text{-}2778 \text{ cm}^{-1}$, presentes no anel diazepínico. Esses estiramentos são suficientes para confirmar a formação do complexo por IV. No RMN de ^1H , foi possível observar o

simpleto correspondente aos seis hidrogênios das metilas do grupo amino do DMAP, em 3,08 ppm, e os sinais da metila do anel diazepínico, em 3,38 ppm, estes mais desprotegidos por estarem ligados a um nitrogênio amídico, sofrendo, conseqüentemente, o efeito de desblindagem da carbonila. Os quatro hidrogênios do anel piridínico são vistos como dois dupletos, o que já era esperado, com constante de acoplamento $J = 7,14$ Hz, em 6,54 e 8,34 ppm, sendo estes últimos mais desblindados, pois estão próximos ao heteroátomo, o que retém mais a densidade eletrônica para si, desprotegendo mais esses hidrogênios. O sinal do hidrogênio aromático vizinho ao carbono da ligação Pd-C é observado em 6,49 ppm, mais protegido, característico dos complexos contendo Cl coordenado ao metal, efeito já discutido anteriormente nesse trabalho. No RMN de ^{13}C , é possível identificar todos os sinais característicos do complexo, dentre os quais destacam-se os deslocamentos químicos (δ) em 34,97 e 39,33 ppm, do $\text{CH}_3(\text{Diazepam})$ e $\text{CH}_3(\text{DMAP})$, respectivamente, além dos sinais em 55,78 ppm (C_{CH_2}), 158,94 ppm ($\text{C}_{\text{Pd-C}}$) e 168,88 ppm ($\text{C}_{\text{C=O}}$).

Nos monômeros sintetizados com piridina (Py), [(DZP)PdClPy] e [(DZP)PdIPy], verifica-se alterações bem discretas nos espectros de IV, com a banda correspondente ao grupo C=O em 1682 e 1683 cm^{-1} , respectivamente. Da mesma forma, as bandas relativas aos estiramentos C-H dos grupos alquila (CH_3/CH_2) são observadas na faixa de 2969-2853 cm^{-1} (para o complexo com cloro) e 2963-2856 cm^{-1} (para o complexo com iodo). No RMN de ^1H , ao comparar os espectros dos dois monômeros, verifica-se alterações apenas nos sinais dos hidrogênios metilênicos, em 3,80 e 5,90 ppm, no [(DZP)PdClPy], e 3,76 e 6,29 ppm, no [(DZP)PdIPy], além do hidrogênio vizinho ao carbono da ligação Pd-C, variando de 6,24 ppm, no [(DZP)PdClPy], para 5,88 ppm, [(DZP)PdIPy]. Tais alterações são mais evidentes nesses núcleos, em virtude da troca dos halogênios ocorrer próxima a esses hidrogênios. Em ambos os complexos, os sinais dos 5 hidrogênios piridínicos aparecem entre 7,40 e 8,90 ppm. No RMN de ^{13}C , verifica-se alterações nos carbonos $\underline{\text{C}}\text{H}_2$, Pd- $\underline{\text{C}}$, e Pd-C- $\underline{\text{C}}\text{H}$ e $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{N}-\underline{\text{C}}'\text{H}$, este último presente no anel piridínico, com deslocamentos químicos (δ), respectivamente, em 55,94, 158,73, 132,51 e 153,20 ppm para o [(DZP)PdClPy], e 55,38, 155,37, 124,90 e 151,91 ppm para o [(DZP)PdIPy].

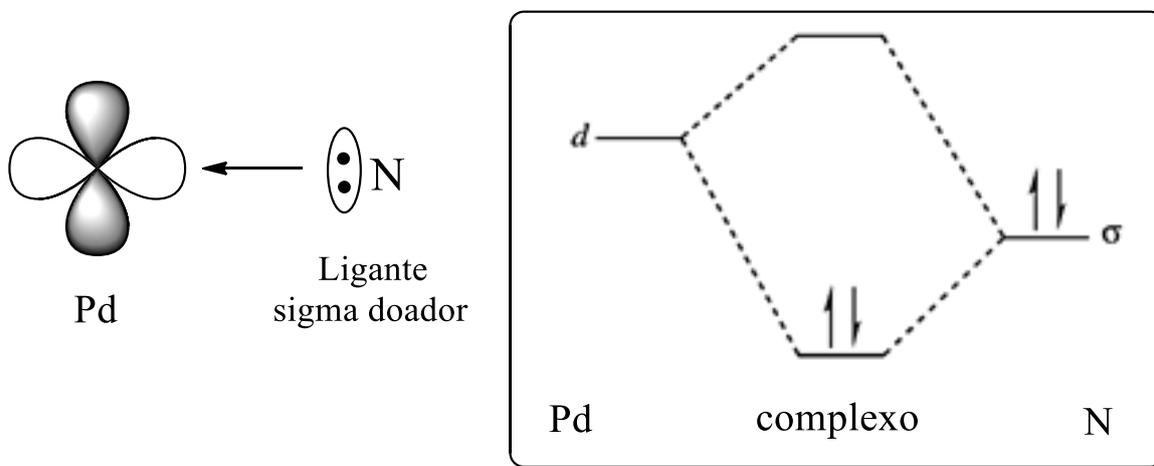
Nos complexos com trifenilfosfina (PPh_3), algumas características são bem peculiares e que a torna um ligante coordenante diferente dos outros dois empregados nesse trabalho. Com este ligante, foi possível sintetizar monômeros a partir dos três dímeros precursores. Em todos os produtos obtidos, no espectro de IV, verificou-se que os estiramentos da ligação C=O aparecem em 1686 cm^{-1} , além dos estiramentos C-H_(aromáticos)

que aparecem em bandas na faixa de 3100-3000 cm^{-1} . Mesmo possuindo ligantes diferentes (acetato, cloro ou iodo coordenados ao paládio), esses estiramentos não sofreram variações consideráveis. No caso do complexo com acetato, observou-se também os estiramentos em 1574 e 1386 cm^{-1} , correspondentes ao grupo O-C=O (no acetato). Esse último monômero, [(DZP)PdOAcPPh₃], juntamente com o [(DZP)PdIPPh₃], foram obtidos com rendimentos menores (52 e 48%, respectivamente), provavelmente devido ao efeito estérico de grupos mais volumosos como o acetato e o átomo de iodo, o que comprometeu a coordenação mais efetiva da trifenilfosfina ao centro metálico. No RMN de ¹H, foram comprovadas alterações apenas nos deslocamentos químicos (δ) dos hidrogênios metilênicos em 3,79, 3,75 e 3,99 ppm para o hidrogênio CH_{2(a)} e 4,90, 6,14 e 6,66 ppm para o hidrogênio CH_{2(b)} dos complexos [(DZP)PdOAcPPh₃], [(DZP)PdClPPh₃] e [(DZP)PdIPPh₃], respectivamente. No complexo [(DZP)PdOAcPPh₃], observa-se o sinal da metila referente ao grupo acetato em 1,42 ppm. Em todos os complexos os 15 hidrogênios aromáticos aparecem entre 7,35 - 7,80 ppm, confirmando a presença da trifenilfosfina. No RMN de ¹³C dos três compostos, verifica-se o sinal do carbono coordenado ao metal entre 156 e 161 ppm, além dos sinais mais intensos referentes aos C_{orto} das fenilas, em torno de 135,40 ppm e dos C_{meta}, próximos de 128,10 ppm. Vale ressaltar que esses sinais aparecem como dupletos, devido ao acoplamento desses carbonos com o átomo de fósforo (BARROS et al., 2016). No complexo com acetato, também são vistos dois sinais em 179,60 e 23,42 ppm referentes ao C_{C=O} e ao C_{CH₃} do grupo acetato.

É válido destacar algumas características dos ligantes empregados nesse trabalho contendo nitrogênio (Py e DMAP) e fósforo (PPh₃) como os átomos capazes de se coordenarem ao metal, no caso o paládio (Pd).

Os ligantes Py e DMAP possuem um par de elétrons em um orbital preenchido do nitrogênio piridínico, passíveis de serem doados diretamente ao metal, em um orbital vazio do mesmo. Pela teoria do orbital molecular (TOM), esse par de elétrons é estabilizado através da formação de um orbital ligante, enquanto que o orbital antes vazio do metal contribuirá mais para a formação do orbital antiligante, no complexo. Nesse tipo de interação, o nitrogênio contribui com um par de elétrons em uma interação tipo sigma (σ), sendo, portanto, chamado de ligante σ doador (Figura 24).

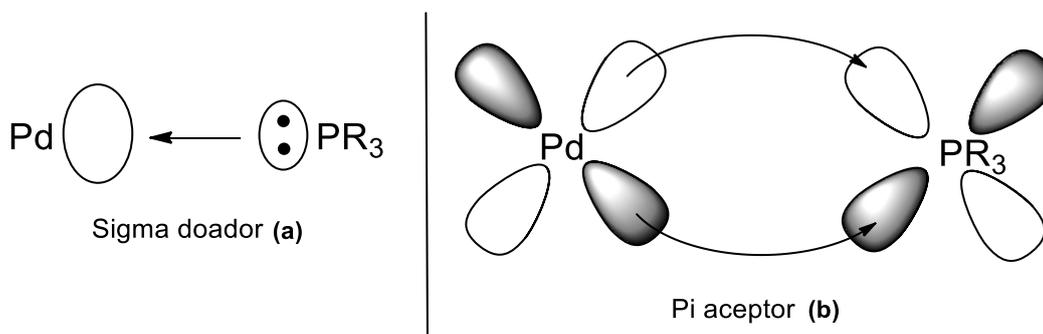
Figura 24 – Nitrogênio se coordenando ao paládio como ligante sigma doador de elétrons.



Fonte: Adaptado de SPESSARD; MIESSLER, 2009.

No caso do ligante PPh_3 , o fósforo além de doar o par de elétrons para o paládio, via interações σ , ele também possui a capacidade de aceitar a densidade de elétrons do metal, desde que hajam orbitais e orientações adequadas dos mesmos. Na PPh_3 , ocorre a formação da interação σ , sendo esta ainda complementada pela aceitação de densidade eletrônica (efeito conhecido como retrodoação), fazendo com que o ligante atue com dupla função: σ doador e π acceptor de elétrons. Essa característica do fósforo ser acceptor de elétrons acontece em virtude de ele possuir orbitais d vazios (ou para orbitais σ^* P-C) e confere estabilidade ao composto (Figura 25). (SPESSARD; MIESSLER, 2009).

Figura 25 – Fósforo se coordenando ao paládio como ligante σ doador (a) e π acceptor (b) de elétrons.



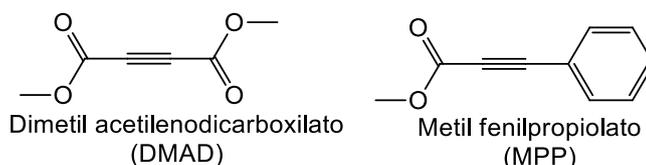
Fonte: Adaptado de SPESSARD; MIESSLER, 2009.

5.1.5. Síntese dos complexos modificados por meio de reações de inserção de alcinos

As reações de inserção de alcinos, apesar de existirem vários compostos reportados na literatura confirmando a formação dos mesmos, são reações cujos mecanismos ainda são pouco esclarecidos. Os poucos mecanismos relatados são baseados em estudos de Química Computacional, com simulações de cálculos de energia e estabilidade dos intermediários reativos. Em um dos trabalhos reportados, Meneghetti et al., (2012) descreveram etapas das reações de polimerização do eteno. Foram avaliadas as estruturas moleculares e as energias envolvidas nessas reações. As estruturas intermediárias e de estado de transição foram também consideradas combinando a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) e da Mecânica Molecular (MM), dentro da abordagem ONIOM. Em outro trabalho, foi discutida a conformação do ligante em torno do sítio ativo nas etapas da reação de polimerização, complexo π e a formação de ramificações na cadeia polimérica (MENEGETTI et al., 2011).

Neste trabalho, foram realizadas inserções de dois alcinos (dimetil acetilenodicarboxilato, DMAD, e metil fenilpropiolato, MPP) (Figura 26) na esfera de coordenação, sendo possível obter compostos por monoinserção (no caso de um alcino ser inserido na ligação Pd-C) e por di-inserção (quando há a inserção de dois alcinos na ligação Pd-C).

Figura 26 – Alcinos utilizados nas sínteses de modificação estrutural do complexo [(DZP)PdI]₂.



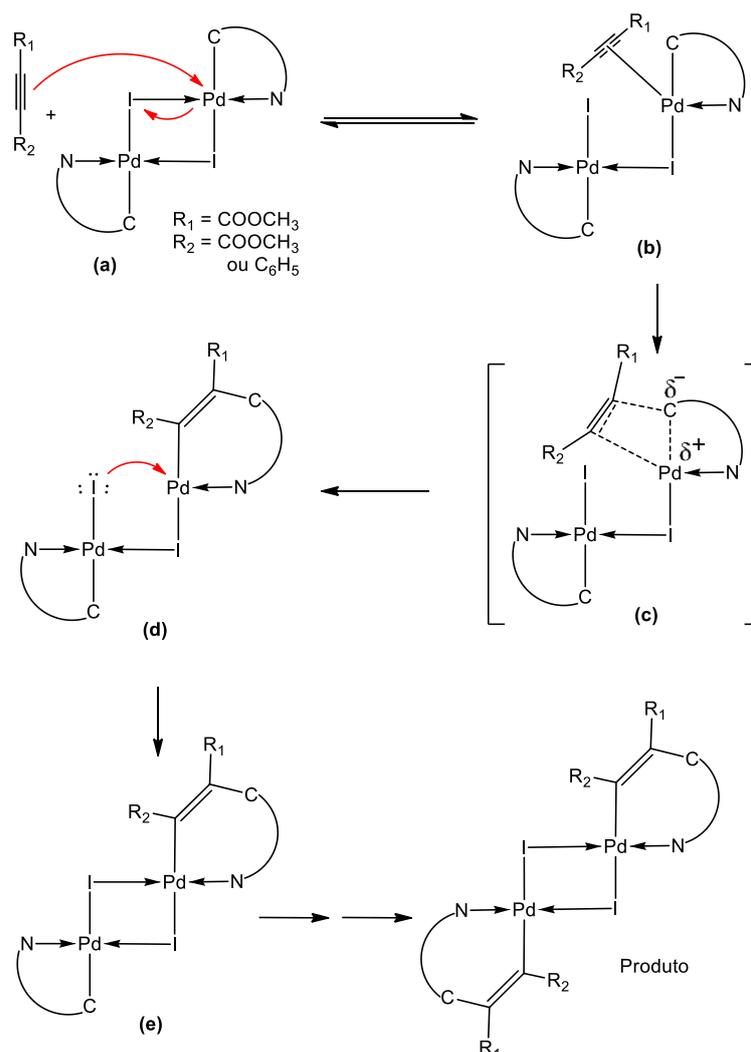
Fonte: Autor, 2023.

Nas reações de monoinserção, foi possível obter produtos com rendimentos de 82 e 58% para o DMAD e o MPP, respectivamente. A fenila presente nesse último alcino provavelmente contribui para dificultar sua entrada na esfera de coordenação através do impedimento estérico, reduzindo o rendimento da reação.

Sugere-se que o mecanismo de reação de inserção (ver Figura 27) inicia-se com a coordenação do alcino ao metal através de um ataque eletrofílico no qual é necessário que a densidade eletrônica, concentrada na ligação tripla dos carbonos acetilênicos, esteja

orientada corretamente para que haja uma interação efetiva entre os orbitais desses carbonos com o orbital vazio do metal (*a*). Entretanto, para que haja a coordenação do alcino, há a necessidade do rompimento das ligações Pd-I via ligação dativa (*b*). Após o alcino estar coordenado ao centro metálico, forma-se um intermediário (*c*) que conduz a ocorrência de um ataque nucleofílico intramolecular do carbono da ligação Pd-C sobre um dos carbonos sp do alcino e o outro carbono sp faz uma nova ligação Pd-C (*c*). Isso leva a formação de um metalacido, cujo ciclo tem mais dois membros, ou seja, um aumento do ciclo (*d*) e ao reestabelecimento da dupla ponte de iodo (*e*). A partir de então, novas etapas se sucedem, na outra porção do dímero, permitindo uma nova inserção do alcino, obtendo, dessa forma, o produto final (Figura 27) (RYABOV et al., 1993).

Figura 27 – Mecanismo reacional proposto para a monoinserção de alcinos na ligação Pd-C.



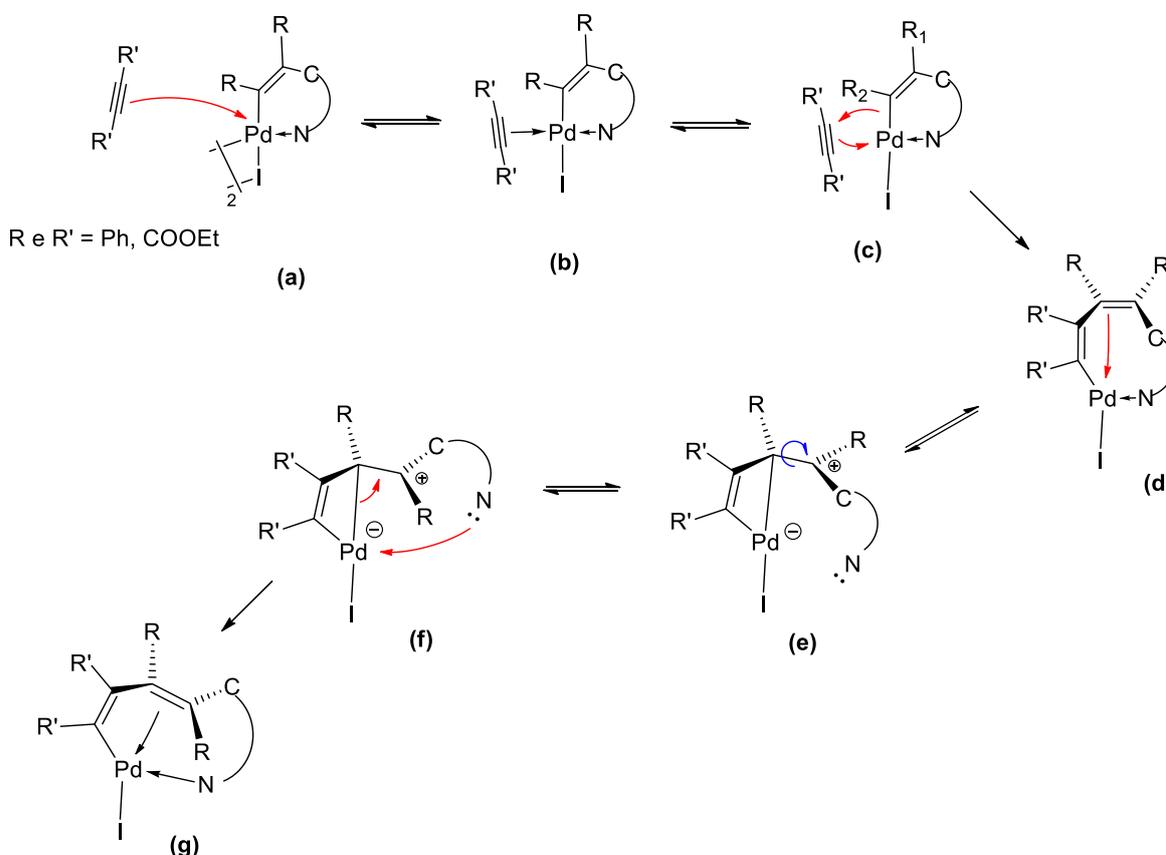
FONTE: Adaptado de RYABOV et al., 1993.

Ryabov e colaboradores (1993) verificaram que a inserção ocorre na ligação Pd-C e não na ligação Pd-N, uma vez que não são observadas reações de inserção em compostos monoméricos e nem em dímeros via ligação Pd-N. Em contrapartida, as inserções na ligação Pd-C nos dímeros demonstra a importância da estrutura em ponte para a coordenação da instauração, uma vez que a clivagem dessa ponte (ligação dativa do iodo com o paládio) cria imediatamente uma vaga para a insaturação se coordenar ao centro metálico.

As reações de monoinservação foram possíveis com os dois alcinos, DMAD e MPP, sendo que este último demonstrou ser mais reativo, dispensando a necessidade de temperatura de refluxo durante a síntese. Provavelmente, a diferença de polaridade na ligação $C\equiv C$, no MPP, permite uma interação mais rápida com o metal, diferente do alcino DMAD que, por ser simétrico, praticamente não apresenta diferença de polaridade nessa mesma ligação.

O mecanismo para a inserção de uma segunda molécula de alcino não é totalmente elucidado (Figura 28). Vale aqui destacar que a presença do iodo (em vez de cloro) na estrutura do paladaciclo, favorece a ocorrência de duas ou mais inserções de alcinos na ligação Pd-C. Assim, o mecanismo de duas moléculas de alcino pode ser visto como uma sequência do mecanismo já mostrado na Figura 27. Assim, partindo-se de uma paladaciclo formado a partir da primeira inserção de alcino, um segundo alcino se aproxima da esfera de coordenação do Pd (*a*) e coordena-se ao metal (*b*). De forma semelhante ao mecanismo mostrado na figura anterior, há a formação de um intermediário semelhante ao de um ataque nucleofílico intramolecular do carbono da ligação Pd-C (*c*), que se converte no produto de di-inserção (um metalaciclo de 7 membros, *d*). Nessa condição, a estereoquímica das duas ligações duplas formadas, a partir da inserção de dois alcinos, apresentam a configuração *cis*. Essa condição não é favorável estruturalmente, levando usualmente a uma isomerização da dupla ligação mais afastada do metal. Isso ocorre a partir de um intermediário que se forma com o deslocamento de elétrons da ligação π para o metal e, conseqüentemente, com a formação de um carbocátion (*e*). Este pode girar livremente, formando o intermediário (*f*). Nessa condição, a dupla ligação é refeita na outra estereoquímica, neste caso, *trans*, podendo, agora, ocorrer a coordenação da dupla ligação e do átomo de nitrogênio ao metal (*g*) (Figura 28). Vale ressaltar que, em nosso trabalho, a di-inserção foi possível apenas com o alcino MPP.

Figura 28 – Proposta de mecanismo reacional para a di-inserção de alcinos na ligação Pd-C.



FONTE: Adaptado de RYABOV et al., 1993.

5.1.5.1. Caracterização química dos complexos modificados por meio de inserção de alcinos

Após os procedimentos de síntese com as inserções dos alcinos, foram realizados experimentos de IV e RMN de ^1H e ^{13}C para caracterização dos mesmos. Vale destacar que só foi verificado a inserção dos alcinos na ligação Pd-C do dímero $[(\text{DZP})\text{PdI}]_2$, provavelmente devido ao caráter menos retirador de elétrons do iodo, o que aumenta a polarização da ligação Pd-C, favorecendo a inserção dos alcinos. Os rendimentos das reações foram de moderados a bons, obtendo um maior rendimento para a inserção do alcino DMAD, o que corrobora com dados reportados na literatura (MAASSARANI; PFEFFER; LE BORGNE, 1987a; MAASSARANI; PFEFFER; LE BORGNE, 1987b; KARAMI et al., 2014).

No IV do complexo $[(DZP)PdI(DMAD)]_2$ é possível identificar uma banda mais larga com dois sinais em 1741 e 1699 cm^{-1} , referentes aos estiramentos da ligação $C=O$ do grupo éster (no alcino) e da amida (no anel diazepínico), respectivamente. Também é possível identificar bandas na faixa de 2995 e 2840 cm^{-1} , referentes aos estiramentos dos grupos alquila (CH_2 e CH_3), o que confirma a presença do ligante e dos grupos funcionais provenientes do alcino empregado na inserção. Esses estiramentos característicos do alcino DMAD corroboram com dados obtidos em outras sínteses de monoinserção realizadas por Maassarani, Pfeffer e Le Borgne (1987a) e Karami e colaboradores (2014), os quais obtiveram complexos de Pd(II) a partir de reações de monoinserção com DMAD e verificaram estiramentos para a ligação $C=O$ entre 1710 e 1722 cm^{-1} . No RMN de 1H , é possível identificar os deslocamentos químicos (δ) referentes à metila do Diazepam, em $3,44$ ppm, e às metoxilas do DMAD, em $4,13$ e $4,19$ ppm, estes como dois simpletos. Isso é possível devido ao fato dos sinais das metoxilas serem observados em campo mais baixo do que o sinal de metilas, o que é totalmente compreensível, dado ao efeito de desblindagem ser maior no grupo metoxilado, uma vez que o grupo alquila está ligado ao oxigênio do grupo éster (PAVIA et al., 2015). Antes, no alcino, as duas metoxilas eram observadas como um simpleto com integral 6, já no complexo, aparecem como dois simpletos com integral 3 em cada. Essa mudança ocorre provavelmente devido à proximidade de uma das metoxilas com o centro metálico, estando, portanto, em ambientes magnéticos levemente diferentes. Essa pequena diferença nesses deslocamentos químicos é confirmada nos trabalhos de Maassarani, Pfeffer e Le Borgne (1987a) e (1987b), Pfeffer, Pereira e Rotteveel (1989) e Karami e colaboradores (2014). Uma alteração interessante é verificada com relação aos hidrogênios metilênicos do Diazepam, antes observados em $3,89$ e $4,68$ ppm, no dímero $[(DZP)PdI]_2$, e no complexo $[(DZP)PdI(DMAD)]_2$, passaram para $5,41$ e $5,65$ ppm, ficando mais desblindados. É provável que o efeito retirador de elétrons dos grupos ésteres provenientes do alcino exerça influência na desblindagem desses hidrogênios. No RMN de ^{13}C , é possível verificar o sinal da metila, em $35,12$ ppm, e das metoxilas, em $54,61$ e $55,39$ ppm, além do sinal do carbono (CH_2) em $59,20$ ppm. As carbonilas, por sua vez, aparecem entre 160 e 166 ppm.

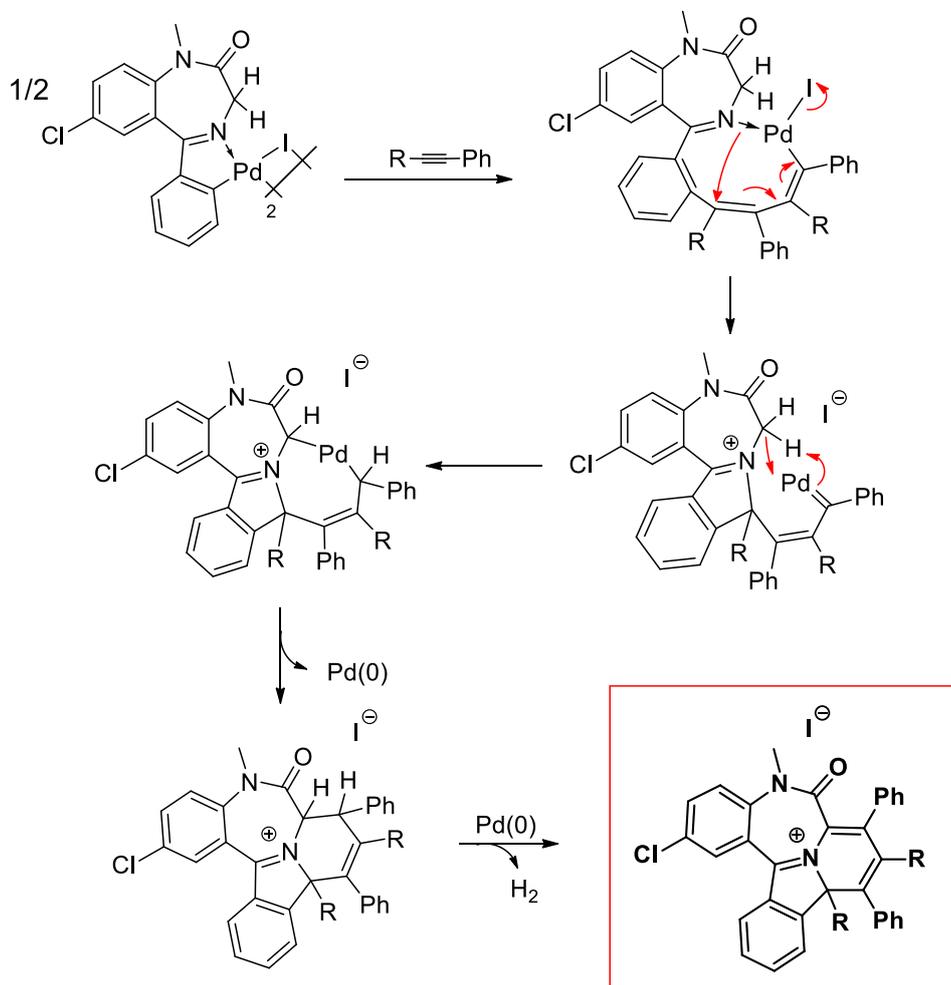
No IV do complexo $[(DZP)PdI(MPP)]_2$ é possível identificar a banda em 1738 cm^{-1} , referente ao estiramento $C=O$, proveniente do alcino, além de outra banda em 1692 cm^{-1} , característica da ligação $C=O$ da amida (no anel diazepínico). Os estiramentos dos grupos alquila são observados na faixa de 2947 e 2877 cm^{-1} . Ao observar o RMN de 1H , é possível

identificar os simpletos correspondentes à metila da amida em 3,47 ppm, e a metoxila em 3,82 ppm. É possível identificarmos, ainda, os hidrogênios metilênicos em 5,26 ppm e 5,64 ppm, efeito semelhante ao análogo obtido com DMAD. Os sinais dos 12 hidrogênios aromáticos provenientes da fenila do alcino e do Diazepam foram identificados na faixa de 7,37 e 8,45 ppm. Esse complexo demonstrou necessitar de um tempo de reação menor, comparado ao dímero com DMAD, pois dispensou condições de reação sob refluxo, sendo obtido à temperatura ambiente por 1 hora, sob agitação. Tal efeito se deve em virtude de ser um alcino assimétrico, levando a ligação $C\equiv C$ a possuir uma diferença de polaridade, o que a torna mais reativa em comparação ao alcino DMAD. Entretanto, outras caracterizações ainda necessitam ser feitas, como RMN de ^{13}C , e bidimensionais $^1H-^{13}C$, como HSQC e HMBC, para atribuir, de forma mais precisa, os sinais já observados no RMN de 1H e bidimensionais $^1H-^1H$. Vale ressaltar que mais estudos estão sendo feitos para verificar a regioquímica em que o alcino foi inserido, embora estudos na literatura reportem complexos obtidos por inserção do alcino MPP nos quais, em todos os compostos relatados, a fenila foi inserida mais próxima do metal (MAASSARANI; PFEFFER; LE BORGNE, 1987a; MAASSARANI; PFEFFER; LE BORGNE, 1987b).

Ao realizar a reação do dímero $[(DZP)PdI]_2$ com o alcino metil fenilpropiolato (MPP) na proporção de 1:4 (dímero:alcino), é possível obter um produto de uma di-inserção. No espectro de RMN de 1H , foi possível identificar os sinais referentes à metila do anel diazepínico em 3,70 ppm, e às metoxilas provenientes das duas moléculas de alcino inseridas no paladaciclo, em 2,87 e 4,28 ppm. É possível identificar no espectro de RMN de 1H as integrais dos 17 hidrogênios aromáticos, sendo: 7 hidrogênios provenientes da porção do ligante Diazepam e 10 hidrogênios correspondentes às duas fenilas dos alcino inseridos. Ainda se faz necessário a realização de outros experimentos, tanto de RMN quanto das demais análises de espectroscopia, a fim de confirmar, de forma mais efetiva, a formação do composto.

Acredita-se, ainda, que nesse composto haja a descoordenação de todo o fragmento orgânico do paládio(II), pois observou-se a formação de um precipitado cinza (durante a reação), típico da formação de paládio metálico. Dessa forma, é sugerido um possível rearranjo na estrutura do complexo, levando à formação de um produto orgânico catiônico, conforme proposto na Figura 29:

Figura 29 – Possível mecanismo para a possível estrutura obtida por di-inserção após rearranjo do composto seguida de descomplexação do paládio(II), “DZP(MPP)₂”.



Fonte: Autor, 2023.

Uma verificação importante foi observada ao retirar alíquotas em diferentes intervalos de tempo, para realização de análises de RMN de ¹H, durante a reação do dímero [(DZP)PdI]₂ com MPP na proporção de 1:4 (dímero:alcino) durante 24 horas. Tal verificação encontra-se representada na Figura 30.

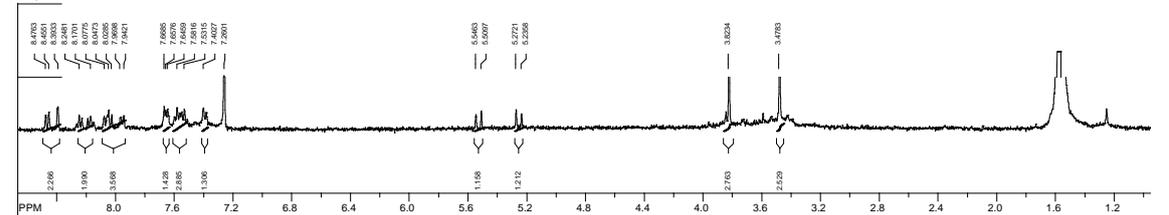
Cada alíquota foi rapidamente filtrada, seca sob vácuo e feita a preparação das mesmas com clorofórmio deuterado. O dímero de partida (de coloração esverdeada) mostrou-se completamente solúvel em acetona e o alcino (incolor) também é solúvel no referido solvente, facilitando a formação do produto em solução. Após cerca de 15 minutos, a solução começou a mudar de tonalidade, passando de esverdeado para marrom escuro. Nos minutos seguintes, observou-se uma completa mudança na tonalidade da solução, tornando-

se cada vez mais escura. Após os primeiros 30 minutos de reação, retirou-se a primeira alíquota para obtenção do espectro de RMN de ^1H para verificar o andamento da reação. Observa-se claramente os sinais referentes a metila do nitrogênio amídico do anel benzodiazepínico (em $\delta = 3,4$ ppm) e o sinal referente a metoxila (em $\delta = 3,8$ ppm), do alcino empregado na inserção. Vale ressaltar que a presença de apenas um sinal da metoxila comprova a inserção de apenas uma molécula do alcino em cada paladaciclo do dímero neste momento da reação, mesmo havendo sido utilizada a proporção de 4 moléculas de alcino para cada molécula do dímero. Neste espectro, também é possível identificar os hidrogênios metilênicos em regiões mais desblindadas (5,2 e 5,5 ppm), comparadas às mesmas regiões dos respectivos sinais no ligante Diazepam e no dímero com iodo.

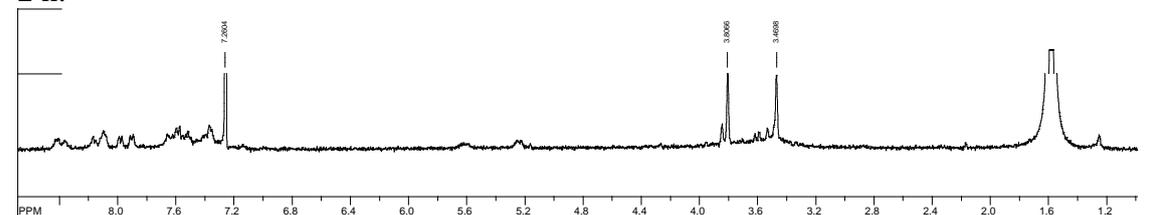
Entretanto, a reação não se finda neste momento, pois ressonâncias de acompanhamento da inserção comprovam o prosseguimento da mesma para inserir uma segunda molécula do alcino em cada paladaciclo do dímero. Após 4 horas de reação, é possível verificar a permanência dos sinais referentes à monoinserção e o surgimento de novos simpletos referentes à di-inserção, em 2,8, 3,7 e 4,2 ppm (em concentração mais baixa comparado ao produto da monoinserção). Identifica-se claramente a presença dos hidrogênios metilênicos ainda presentes da monoinserção, mas não é possível identificar os mesmos hidrogênios provenientes da di-inserção. Apesar da pequena proporção do complexo obtido após dupla inserção de alcino, já é possível observar sinais característicos das fenilas desse composto, como o dubleto em torno de $\delta = 7,0$ ppm. Após 5 horas do início da reação, é perceptível como a reação ainda prossegue com as inserções, uma vez que há quantidade estequiométrica de alcino suficiente para a di-inserção. Transcorridas 6 horas de reação, observa-se sinais referentes aos complexos da monoinserção e da di-inserção obtidos em solução. Entretanto, os dois produtos encontram-se misturados, possivelmente em proporções semelhantes, de forma que não há como identificar com clareza os hidrogênios aromáticos e os hidrogênios metilênicos de ambos os complexos formados e presentes na mistura analisada. Nesse momento, observa-se a presença de dois dubletos, entre 5,2 e 5,7 ppm, referentes aos hidrogênios metilênicos, oriundos do produto da monoinserção, em frequências praticamente idênticas às da ressonância do produto com uma molécula de alcino por paladaciclo no complexo. Verifica-se, ainda, os três sinais das metoxilas, sendo uma proveniente da monoinserção e duas provenientes da di-inserção. Além dos dois sinais das metilas do anel benzodiazepínico, uma do complexo com monoinserção e a outra do composto da di-inserção.

Figura 30 – Acompanhamento da reação do dímero [(DZP)PdI]₂ com metil fenilpropiolato (MPP) por RMN de ¹H em CDCl₃ durante 24 horas.

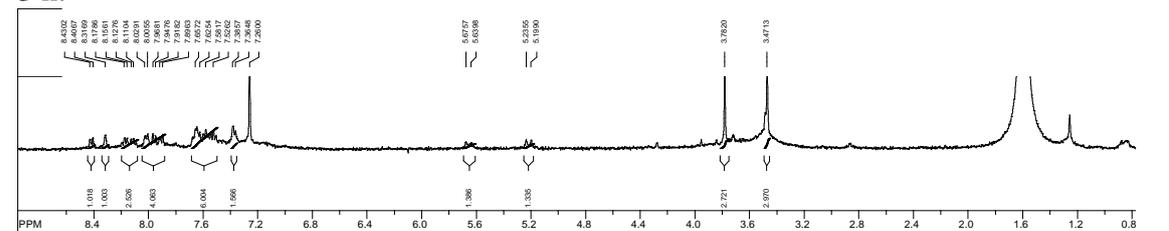
0,5 h:



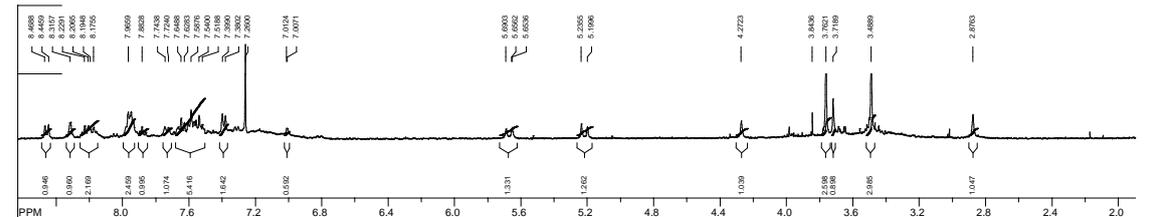
2 h:



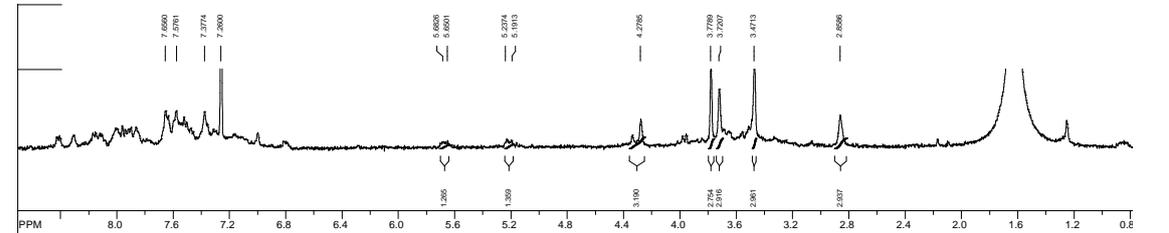
3 h:



4 h:



5 h:



solução, interferindo na ressonância. Praticamente não são observados sinais dos hidrogênios metilênicos, pois os mesmos são vistos somente como pequenos sinais alargados, entre 5,2 e 5,8 ppm. Com 10 horas de reação, a ressonância comprova a existência somente do produto da di-inserção, o que sugere uma completa inserção do alcino existente antes na proporção estequiométrica correspondente a duas moléculas do mesmo por paladaciclo. Verifica-se, ainda, o desaparecimento dos sinais correspondentes à metila e ao grupo metóxi do complexo da monoinserção.

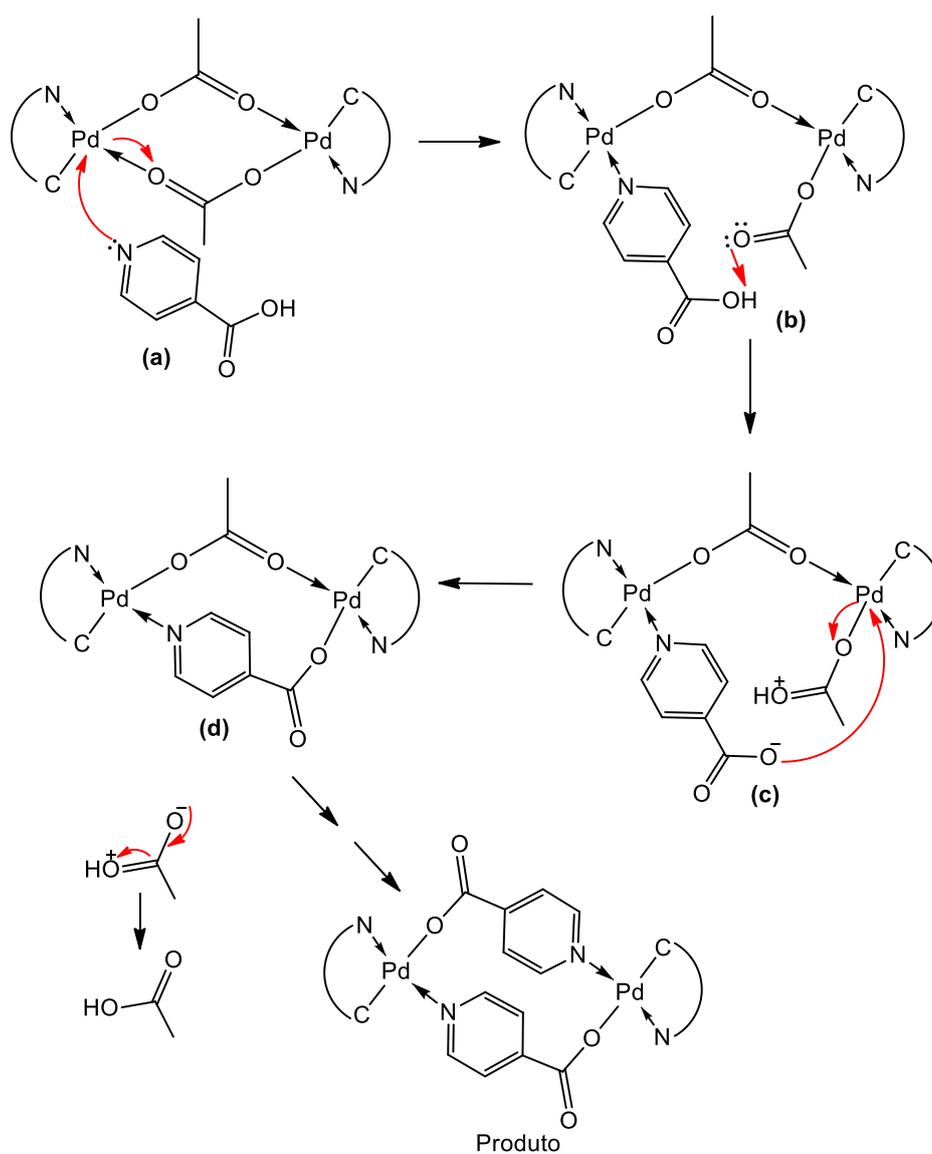
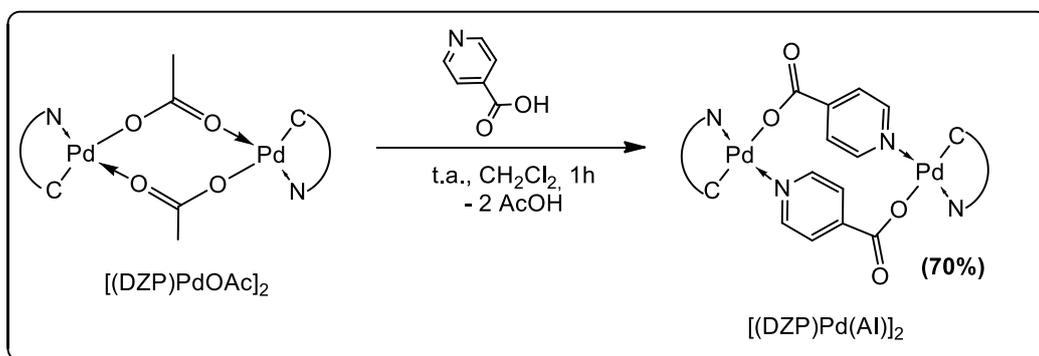
As ressonâncias de ^1H do complexo após a di-inserção não permitem a identificação dos sinais dos hidrogênios metilênicos. Possivelmente, dado ao rearranjo ocasionado pela descomplexação do paládio(II). Após 24 horas de reação, os sinais do complexo permanecem os mesmos que na ressonância com 10 horas. Isso permite concluir que para a di-inserção utilizando a acetona como solvente são necessárias apenas 10 horas de duração, otimizando o tempo anteriormente empregado, que era de 24 horas.

5.1.6. Síntese dos compostos híbridos a partir de modificações no dímero $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$

A síntese dos compostos híbridos a partir dos ácidos isonicotínico (AI) e nicotínico (AN) (Figura 31), aparentemente ocorre de forma semelhante às sínteses de formação dos monômeros com piridina e trifenilfosfina. Os produtos das duas reações (com AI e com AN) foram obtidos com bons rendimentos e em um tempo reacional relativamente curto, em torno de 1 hora à temperatura ambiente.

Inicialmente, o paládio sofre um ataque eletrofílico do par de elétrons do nitrogênio do anel piridínico do AI ou do AN. Nesse momento, um dos oxigênios (antes coordenado ao paládio via ligação dativa) se descoordena do metal, rompendo a ponte com o acetato (**a**). A partir de então, acredita-se que o ambiente químico semelhante e a proximidade existente entre a porção do ácido carboxílico e o grupo acetato faz com que este último capture o próton do grupo ácido (**b**), permitindo que o oxigênio (agora desprotonado) ataque nucleofílicamente o paládio da outra porção do complexo, levando conseqüentemente à eliminação do grupo acetato (**c**). Esse acetato é eliminado na reação sob a forma de ácido acético, enquanto que o composto híbrido agora é formado a partir da coordenação do nitrogênio do anel piridínico (a um dos átomos de Pd) e da coordenação de um dos átomos de oxigênio do grupo ácido ao outro átomo de paládio (**d**) (Figura 31).

Figura 31 – Mecanismo reacional proposto para a obtenção dos complexos híbridos com AI e AN, mas exemplificado apenas com AI.



Fonte: Autor, 2023.

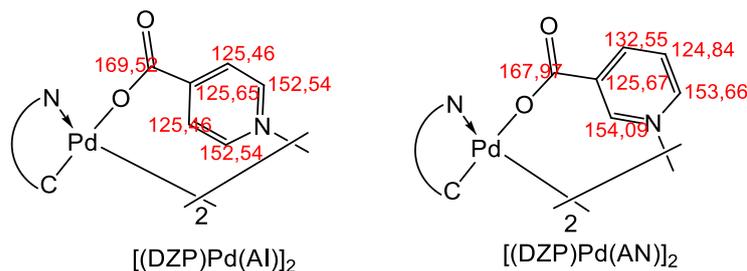
5.1.6.1. Caracterização química dos compostos híbridos a partir de modificações no dímero [(DZP)PdOAc]₂

Após as sínteses, foram realizados experimentos de RMN para caracterização dos compostos. Vale ressaltar que outros experimentos estão sendo executados, como IV, a fim de corroborar os dados de caracterização. É importante destacar que em relação ao dímero empregado como precursor, [(DZP)PdOAc]₂, a única alteração que o composto sofreu foi a troca do ligante acetato pelo ácido isonicotínico (AI) ou nicotínico (AN). Apesar de ter sido, aparentemente, uma simples troca de ligantes, os produtos obtidos são chamados de híbridos em virtude de possuir dois ligantes com atividade biológica conhecida, coordenados ao centro metálico. De um lado temos o Diazepam, amplamente conhecido e empregado no tratamento de convulsões, ansiedade e depressão, dada a sua atividade frente ao Sistema Nervoso Central (SNC). De outro lado temos os ácidos isonicotínico e nicotínico, os quais participam de várias reações importantes para a manutenção da homeostase do organismo (BRITO et al., 2017; SILVA, 2018).

No RMN de ¹H, foi possível verificar alterações significativas nos sinais dos novos complexos sintetizados, quando comparados ao dímero de partida [(DZP)PdOAc]₂. Neste último, era possível observar a metila do grupo acetato em 2,22 ppm, sinal que desapareceu nos espectros dos híbridos, uma vez que os AI e AN não possuem esse grupo alquila. Verificou-se, também, que os hidrogênios metilênicos ficaram mais desblindados nos híbridos, saindo dos deslocamentos químicos (δ) de 3,29 e 4,34 ppm, no [(DZP)PdOAc]₂, para 3,81 e 4,80 ppm, em ambos os híbridos. Tal efeito pode ser explicado em virtude da coordenação tanto do grupo éster quanto do anel piridínico, por meio do nitrogênio, ambos com caráter retirador de elétrons, o que contribui para desblindar esses hidrogênios. Outra característica importante diz respeito à redução considerável dos sinais minoritários antes observado no complexo de partida, o que leva a crer em uma conformação espacial diferente nos compostos híbridos, o que conseqüentemente também altera o ambiente químico. Nos demais sinais de ¹H não são observadas alterações significativas. No complexo [(DZP)Pd(AI)]₂, foi possível identificar dois sinais de ¹H largos com integral 2 cada, correspondentes aos hidrogênios do anel piridínico do AI, em 7,96 ppm (H_{meta}) e 8,94 ppm (H_{orto}). Já para o [(DZP)Pd(AN)]₂, foram identificados quatro sinais largos, com integral 1 cada, tendo em vista que nesse ácido, cada hidrogênio piridínico está em um ambiente magnético distinto dos demais, variando de 7,41 a 9,52 ppm. Também é possível destacar o

desaparecimento do sinal da hidroxila, antes observado nos espectros dos ácidos isolados, o que reforça a formação da ligação Pd-O na outra porção da estrutura dos AI e AN, mantendo a ponte com o grupo éster formado com um dos átomos de Pd. No RMN de ^{13}C , verifica-se o desaparecimento dos sinais do C_{CH_3} e $\text{C}_{\text{C=O}}$, ambos do grupo acetato, no $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$, em 24,60 e 181,87 ppm, respectivamente. No composto $[(\text{DZP})\text{Pd}(\text{AI})]_2$, o sinal da carbonila proveniente do AI aparece em 169,52 ppm, enquanto que os carbonos hidrogenados do anel piridínico aparecem em 125,46 e 152,54 ppm, correspondendo aos C_{meta} e C_{orto} , respectivamente, sendo cada sinal referente a dois carbonos cada, uma vez que são simétricos. No composto $[(\text{DZP})\text{Pd}(\text{AN})]_2$, a carbonila proveniente do ácido aparece em 167,97 ppm, e os quatro carbonos hidrogenados são observados em 124,84, 139,55, 153,66 e 154,09 ppm. Em ambos os híbridos, o sinal do carbono não hidrogenado do anel piridínico e ligado à carbonila é observado próximo de 125,66 ppm (Figura 32).

Figura 32 – Valores correspondentes aos sinais de RMN de ^{13}C atribuídos aos carbonos dos ácidos isonicotínico (AI) e nicotínico (AN).

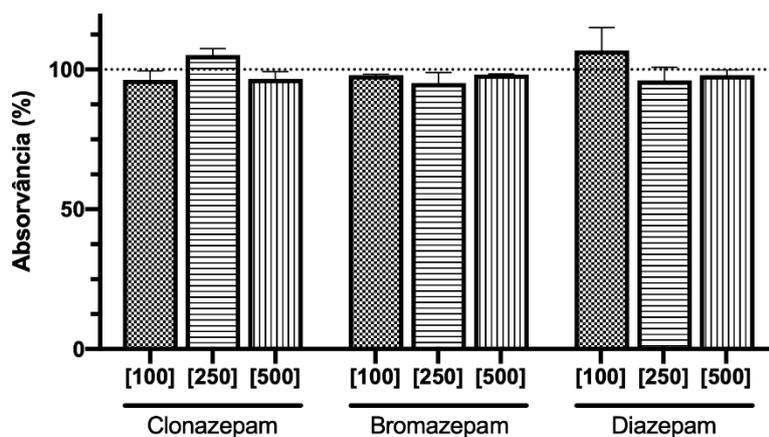


Fonte: Autor, 2023.

5.2. Avaliação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH·

Inicialmente, foi verificada a atividade antioxidante dos ligantes benzodiazepínicos utilizados nesse trabalho, além do Clonazepam, outro benzodiazepínico. Os valores foram expressos em porcentagem considerando o valor de referência da absorvância do DPPH· como 100%. A partir dos dados, foi possível observar que os ligantes não demonstraram possuir atividade frente ao radical DPPH· em nenhuma das concentrações testadas (Figura 33).

Figura 33 – Capacidade antioxidante de alguns benzodiazepínicos frente ao radical DPPH·.

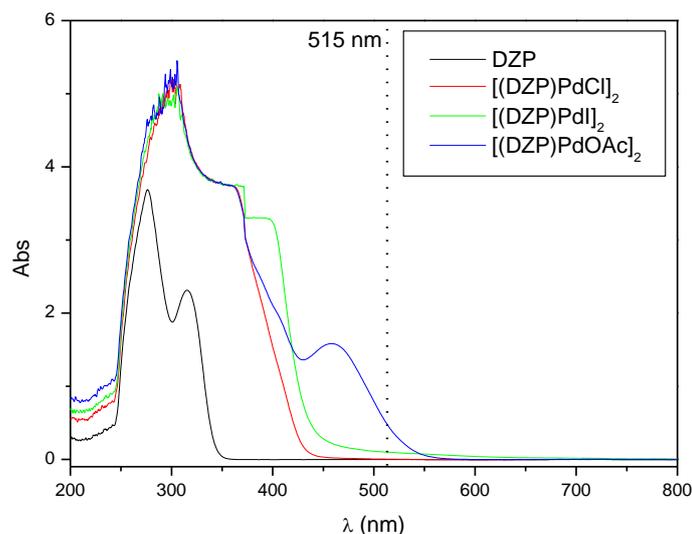


Nota: Efeito do Clonazepam, Bromazepam e Diazepam no ensaio de sequestro do radical DPPH· nas concentrações de [100], [250] e [500] μM . Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão dos grupos comparados ao controle (solução de DPPH·) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Fonte: Autor, 2023.

Em seguida, verificou-se a capacidade antioxidante dos dímeros derivados do Diazepam, [(DZP)PdCl]₂, [(DZP)PdI]₂ e [(DZP)PdOAc]₂. Ao analisar a faixa de absorção dos dímeros, foi notado que o dímero com acetato absorve na mesma região que o radical DPPH· (515 nm) (Figura 34).

Figura 34 – Faixa de absorção do Diazepam e dos complexos diméricos derivados do Diazepam.

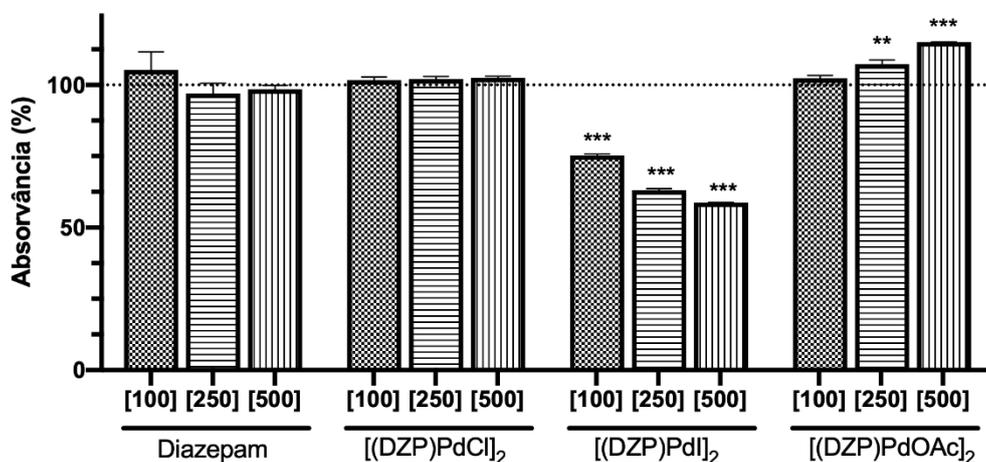


Fonte: Autor, 2023.

Apesar do dímero [(DZP)PdOAc]₂ absorver na mesma região do radical DPPH·, não chegou a comprometer os dados obtidos de UV-vis, pois esse complexo não demonstrou capacidade de sequestrar o radical, efeito também observado com o dímero [(DZP)PdCl]₂. Em contrapartida, foi perceptível o sequestro do radical quando em contato com o dímero contendo iodo, [(DZP)PdI]₂, nas três concentrações testadas, [100], [250] e [500] μM (Figura 35). Vale ressaltar que são dados verificados após 1 hora de interação entre o radical e os compostos.

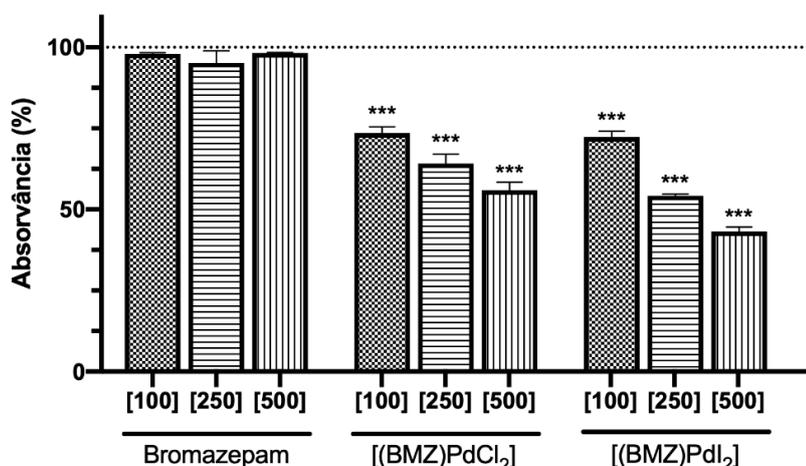
No que se refere aos complexos derivados do Bromazepam, verificou-se que tanto o complexo com cloro quanto o complexo contendo iodo sequestraram consideravelmente o radical DPPH·, nas três concentrações testadas (Figura 36). Tal efeito pode estar associado também ao tamanho das moléculas dos compostos, uma vez que os complexos com Bromazepam formam monômeros, enquanto que os derivados do Diazepam formam dímeros, sendo capaz de apresentar atividade antioxidante um pouco mais pronunciada apenas para o dímero [(DZP)PdI]₂.

Figura 35 – Capacidade antioxidante dos dímeros [(DZP)PdCl]₂, [(DZP)PdI]₂ e [(DZP)PdOAc]₂ frente ao radical DPPH·.



Nota: Efeito do Diazepam, [(DZP)PdCl]₂, [(DZP)PdI]₂ e [(DZP)PdOAc]₂ no ensaio de sequestro do radical DPPH· nas concentrações de [100], [250] e [500] μM. Os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão dos grupos comparados ao controle (solução de DPPH·) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando **p < 0,01 e ***p < 0,001. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Fonte: Autor, 2023.

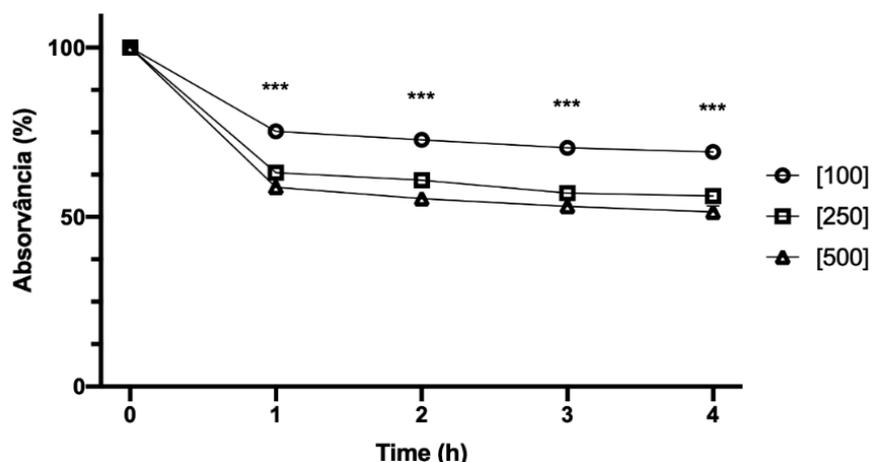
Figura 36 – Capacidade antioxidante dos complexos [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PdI₂] frente ao radical DPPH·.



Nota: Efeito do Bromazepam, [(BMZ)PdCl₂] e [(BMZ)PdI₂] no ensaio de sequestro do radical DPPH· nas concentrações de [100], [250] e [500] µM. Os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão dos grupos comparados ao controle (solução de DPPH·) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando ***p < 0,001. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Fonte: Autor, 2023.

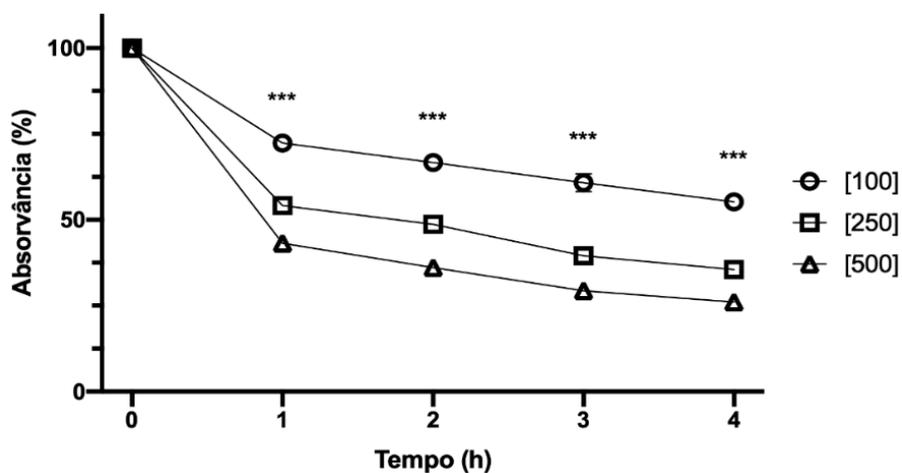
Foi também analisada a influência do tempo de reação entre o radical DPPH· e cada um dos complexos que apresentaram atividade sequestradora de radical. Para o complexo [(DZP)PdI₂] (Figura 37), verificou-se que o mesmo interage com o radical na primeira hora de reação, mantendo-se praticamente estável nas horas seguintes. Já o complexo com Bromazepam, [(BMZ)PdI₂] (Figura 38), demonstrou também uma boa atividade na primeira hora de reação, sendo ainda capaz de continuar interagindo com o DPPH· nas horas seguintes, mantendo-se pouco variável somente após 3 horas de reação. Entretanto, ao analisar o complexo [(BMZ)PdCl₂] (Figura 39), é possível observar que esse composto reage com o radical consideravelmente, chegando a sequestrá-lo em quase 90% nas quatro horas de reação analisadas. O gráfico ainda sugere que é possível a continuação dessa reação após as 4 horas analisadas para esse último complexo.

Figura 37 – Influência do tempo de reação entre o complexo [(DZP)PdI]₂ e o radical DPPH·.



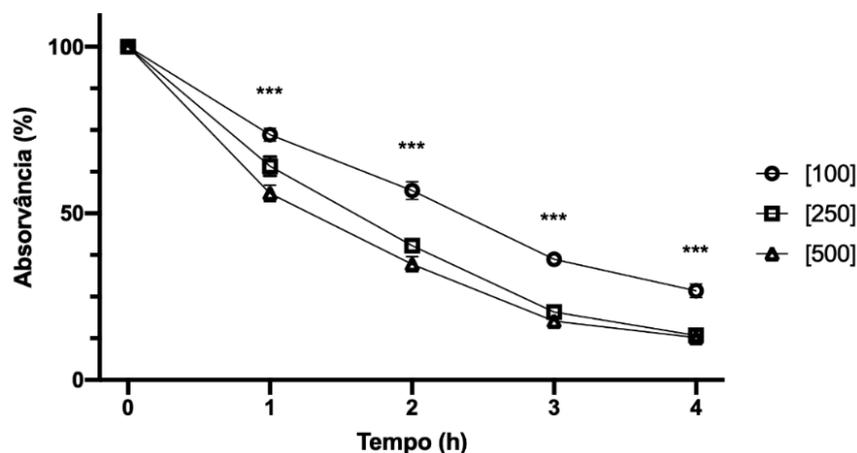
Nota: Efeito do [(DZP)PdI]₂ no ensaio com DPPH· nas concentrações de [100], [250] e [500] μM após análises nos tempos de 1, 2, 3 e 4 h. Os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão dos grupos comparados ao controle (solução de DPPH· no tempo 0 h) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando ***p < 0,001. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.
Fonte: Autor, 2023.

Figura 38 – Influência do tempo de reação entre o complexo [(BMZ)PdI]₂ e o radical DPPH·.



Nota: Efeito do [(BMZ)PdI]₂ no ensaio com DPPH· nas concentrações de [100], [250] e [500] μM após análises nos tempos de 1, 2, 3 e 4 h. Os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão dos grupos comparados ao controle (solução de DPPH· no tempo 0 h) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando ***p < 0,001. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.
Fonte: Autor, 2023.

Figura 39 – Influência do tempo de reação entre o complexo [(BMZ)PdCl₂] e o radical DPPH·.



Nota: Efeito do [(BMZ)PdCl₂] no ensaio com DPPH· nas concentrações de [100], [250] e [500] μM após análises nos tempos de 1, 2, 3 e 4 h. Os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão dos grupos comparados ao controle (solução de DPPH· no tempo 0 h) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando ***p < 0,001. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Fonte: Autor, 2023.

Na Tabela 5 a seguir, estão mostrados os resultados obtidos para a atividade sequestradora de radicais, expressa em porcentagem (% ASR). Nela é possível verificar que, como já observado nas figuras anteriores, os complexos [(DZP)PdI₂], [(BMZ)PdI₂] e [(BMZ)PdCl₂], foram os que apresentaram valores maiores comparados aos outros complexos e aos respectivos ligantes.

Dentre os complexos derivados do Diazepam, apenas o dímero com iodo apresentou valores maiores, praticamente inalterados nas horas seguintes de reação. Dentre os complexos derivados do Bromazepam, após 1 hora de reação, o complexo com iodo demonstrou maiores valores comparado ao seu análogo com cloro. No entanto, nas horas seguintes, o complexo com cloro apresenta atividade sequestradora de radicais maior que a do complexo com iodo, dados que são confirmados a partir da análise das figuras com os gráficos da influência do tempo de reação entre esses complexos e o radical DPPH·.

O desequilíbrio entre reações mediadas por radicais livres pode desencadear o estresse oxidativo, que frequentemente resulta em graves efeitos nocivos às células. Alguns estudos já relatam a associação entre a produção de radicais livres e a lesão nas estruturas celulares e a patogênese de muitos distúrbios neurológicos (LI et al., 2013). Um dos maiores impactos está, por exemplo, em quadros de epilepsia (AGUIAR et al., 2012). Alguns estudos sugeriram propriedades antioxidantes de fármacos, dentre os quais estava o Clonazepam, um

benzodiazepínico, demonstrando que o mesmo pode até proteger contra danos cerebrais ocasionados por radicais livres em um processo de estresse oxidativo (WAYHS et al., 2013a; WAYHS et al., 2013b).

Tabela 5 – Capacidade antioxidante sequestradora de radicais (DPPH•) considerando 1 hora de reação.

Concentração [] = μM	Ligantes		
	% ASR – Clonazepam	% ASR – Diazepam	% ASR – Bromazepam
[100]	$3,8 \pm 3,3$	$6,8 \pm 8,2$	$2,0 \pm 0,3$
[250]	$5,1 \pm 2,4$	$3,9 \pm 4,7$	$4,8 \pm 3,8$
[500]	$3,4 \pm 2,6$	$2,0 \pm 1,8$	$1,7 \pm 0,1$
Complexos derivados do Diazepam			
	% ASR – [(DZP)PdCl ₂]	% ASR – [(DZP)PdI ₂]	% ASR – [(DZP)PdOAc] ₂
[100]	$2,0 \pm 1,1$	$24,5 \pm 0,5$	$2,6 \pm 1,0$
[250]	$2,4 \pm 0,9$	$36,7 \pm 0,6$	$7,6 \pm 1,5$
[500]	$2,8 \pm 0,5$	$41,0 \pm 0,1$	$15,3 \pm 0,1$
Complexos derivados do Bromazepam			
	% ASR – [(BMZ)PdCl ₂]	% ASR – [(BMZ)PdI ₂]	
[100]	$24,6 \pm 1,9$	$27,7 \pm 1,7$	
[250]	$35,9 \pm 2,9$	$45,9 \pm 0,6$	
[500]	$44,1 \pm 2,5$	$56,8 \pm 1,4$	

Nota: Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão dos grupos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Fonte: Autor, 2023.

Fonteles e colaboradores (2016) também demonstraram, em modelo in vitro, a capacidade antioxidante do Levetiracetam e do Clonazepam, ambos com atividade anticonvulsivante conhecida. Apesar do trabalho de Fonteles ter sido direcionado para a epilepsia, o Clonazepam também atua como um fármaco no combate à ansiedade. Os resultados puderam inferir a participação do efeito antioxidante no mecanismo neuroprotetor desses fármacos.

Até o presente momento, havia apenas um registro na literatura a respeito da avaliação da atividade antioxidante envolvendo complexos benzodiazepínicos associados à

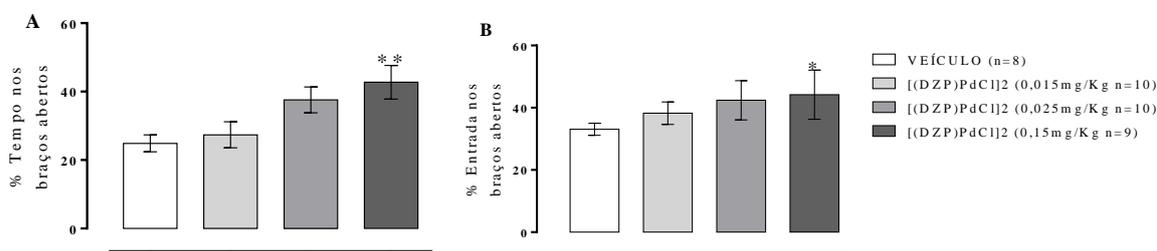
atividade neuronal, no caso a epilepsia, na qual um dos complexos avaliados apresentou um potencial efeito neuroprotetor, uma vez que foi capaz de aumentar significativamente os níveis de GSH (CORREIA, 2017). Vale destacar que esses testes foram realizados coletando amostras de cérebro dos animais, metodologia diferente da empregada neste trabalho, mas que a avaliação de biomarcadores do estresse oxidativo faz parte dos objetivos ainda a serem alcançados nesta pesquisa.

5.3. Principais resultados de atividade biológica com o complexo [(DZP)PdCl]₂

5.3.1. Labirinto em cruz elevado (LCE)

A administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ na dose de 0,15 mg/kg / 0,176 μmol/kg, aumentou a %TBA ($F_{3,33} = 4,487$; $P = 0,0095$; Figura 40A) e a %EBA ($F_{3,33} = 3,057$; $P = 0,0418$; Figura 40B) de maneira significativa quando comparada ao grupo controle (Veículo). Em relação aos parâmetros etológicos observados no LCE, não houve diferença significativa em relação aos parâmetros observados entre o grupo controle e os grupos das diferentes doses do complexo [(DZP)PdCl]₂ [uHD ($F_{3,33} = 1,252$); $P = NS$, pSAP ($F_{3,33} = 2,058$; $P = NS$) e REA ($F_{3,33} = 0,4948$; $P = NS$) Tabela 6]. Não foi detectada diferença significativa em relação ao número de entradas nos braços fechados (EBF) entre as doses do complexo e o grupo controle ($F_{3,33} = 2,394$; $P = NS$; Tabela 6).

Figura 40. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) no labirinto em cruz elevado (LCE).



Porcentagem de tempo (A) e de entradas (B) nos braços abertos do LCE. Resultados expressos em média ± E.P.M. * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ em relação ao grupo controle (Veículo) (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

Tabela 6. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 µmol/kg) no número de entradas nos braços fechados (EBF) e nos parâmetros etológicos avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE).

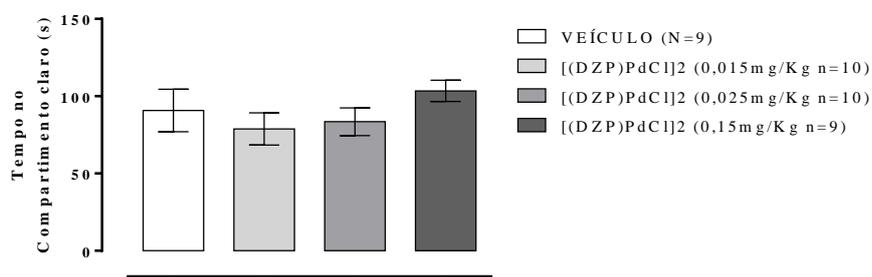
Tratamento	Parâmetros avaliados do LCE			
	EBF	uHD	pSAP	REA
Veículo (n=8)	13,0 ± 1,1	11,6 ± 2,0	2,6 ± 0,6	14,5 ± 1,9
[(DZP)PdCl] ₂ 0,015 (n=10)	10,8 ± 1,0	7,6 ± 1,1	1,2 ± 0,3	11,6 ± 1,2
[(DZP)PdCl] ₂ 0,025 (n=10)	13,0 ± 0,8	9,7 ± 1,5	1,9 ± 0,5	13,9 ± 1,3
[(DZP)PdCl] ₂ 0,15 (n=9)	10,2 ± 0,8	8,2 ± 1,7	1,4 ± 0,3	12,8 ± 0,7

uHD= *unprotected head-dipping* não protegido, pSAP= *stretch-attend posture* protegido, REA= *rearings*, CRUZ= cruzamentos. . Resultados expressos em média ± E.P.M. P=NS (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

5.3.2. Caixa claro-escuro (CCE)

Na CCE, a ANOVA uma via não detectou diferença significativa entre o grupo controle e as diferentes doses do complexo nos parâmetros temporais [TCC ($F_{3, 34} = 1,081$; $P = NS$; Figura 41 e LECE [$F_{3, 34} = 1,253$, $P = NS$; Tabela 7] e espaciais [nECE ($F_{3, 34} = 0,4581$, $P = NS$; Tabela 8] e CRUZ [$F_{3, 34} = 2,626$, $P = NS$; Tabela 7].

Figura 41. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 µmol/kg) no tempo de permanência no compartimento claro no teste da caixa claro-escuro (CCE).



Resultados expressos em média ± E.P.M. P=NS (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

Tabela 7. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) nos parâmetros espaço-temporais da caixa claro-escuro (CCE).

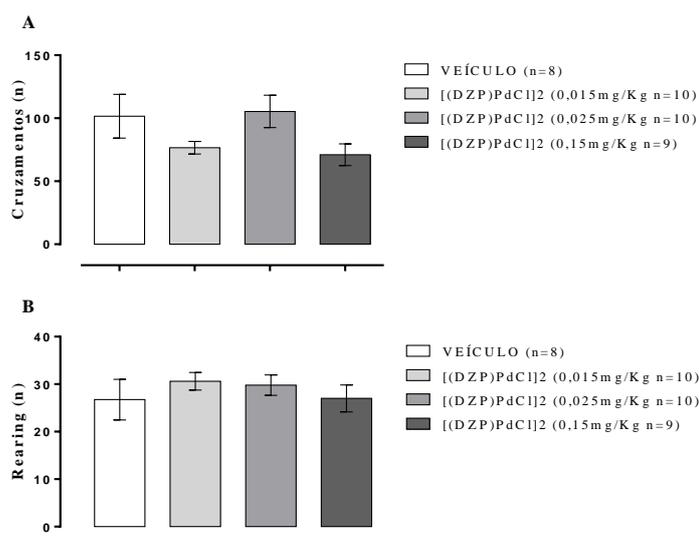
Tratamento	Parâmetros da CCE		
	LECE	nECE	CRUZ
Veículo (n=9)	8,1 ± 2,0	8,2 ± 0,9	27,7 ± 3,7
[(DZP)PdCl] ₂ 0,015 (n=10)	4,0 ± 1,2	8,3 ± 1,0	30,3 ± 4,6
[(DZP)PdCl] ₂ 0,025 (n=10)	8,5 ± 1,9	8,0 ± 0,7	29,4 ± 3,7
[(DZP)PdCl] ₂ 0,15 (n=9)	8,1 ± 2,6	9,2 ± 0,3	41,8 ± 3,3

LECE= latência para entrar no compartimento escuro, nECE= número de entradas no compartimento escuro, CRUZ= cruzamentos totais no compartimento claro. Resultados expressos em média ± E.P.M. P=NS (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

5.3.3. Teste do campo aberto (CA)

Em relação ao teste do campo aberto (CA), a ANOVA uma via não detectou diferença significativa entre os animais tratados com as diferentes doses do complexo e o grupo controle, tanto em relação ao número de cruzamentos ($F_{3, 33} = 2,344$; $P = NS$; Figura 42A) quanto em relação ao número de *rearings* ($F_{3, 33} = 0,4948$; $P = NS$; Figura 42B).

Figura 42. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol/kg) no teste do campo aberto (CA).



Resultados expressos em média ± E.P.M. P=NS (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

5.3.4. Efeito do tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂

Nossos resultados demonstram que o complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂, na dose de 0,15 mg/kg / 0,176 μmol/kg, apresentou um efeito do tipo ansiolítico em camundongos *Swiss* fêmeas submetidos ao LCE, por aumentar a %TBA e %EBA, quando comparados ao grupo controle. Ambos os parâmetros representam medidas espaço-temporais já bem validadas avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade (BOURIN et al., 2007; UYS et al., 2003). LOLLI et al. (2006) relataram o efeito tipo ansiolítico induzido por extratos da *Passiflora actínia* em camundongos *Swiss* que foram submetidos ao LCE e, assim como o [(DZP)PdCl]₂, apresentaram maior %TBA e %EBA quando comparado ao grupo controle (LOLLI et al., 2006). Resultado semelhante também ao obtido por BRITO et al. (2017) com um composto cíclico derivado da piperazina [LQFM032] (BRITO et al., 2017).

Em relação aos parâmetros etológicos do LCE, os resultados não mostraram diferença significativa entre as diferentes doses do complexo e o grupo controle. Esses parâmetros têm a finalidade de garantir maior sensibilidade ao teste, dentre eles, o uHD e o pSAP analisam o comportamento natural do animal de avaliar situações de risco quando se sentem ameaçados. O aumento do número de uHD e de pSAP pode ser um indicativo de comportamento do tipo ansioso de forma que a ausência de diferença significativa entre os animais tratados com o complexo [(DZP)PdCl]₂ não apresentaram esse comportamento quando comparados ao grupo controle (KAESERMANN, 1986; WALF; FRYE, 2007).

A análise do número EBF consiste em uma medida indireta da interferência de uma substância na atividade locomotora. Além disso, o número de entradas nos braços fechados pode ser utilizado para avaliar se o efeito ou ausência do efeito do tipo ansiolítico pode estar associado a uma interferência na locomoção dos animais (CRYAN; HOLMES, 2005; UYS et al., 2003). Observa-se, ainda, que não houve diferença significativa no número de EBF entre os animais que receberam doses do complexo metálico e o grupo controle que recebeu apenas o veículo, demonstrando que o efeito ansiolítico apresentado não tem interferência da atividade locomotora.

A análise dos resultados obtidos na CCE não demonstrou o efeito do tipo ansiolítico em nenhuma das doses do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂. Neste teste, o efeito do tipo ansiolítico é verificado pela maior permanência do animal no

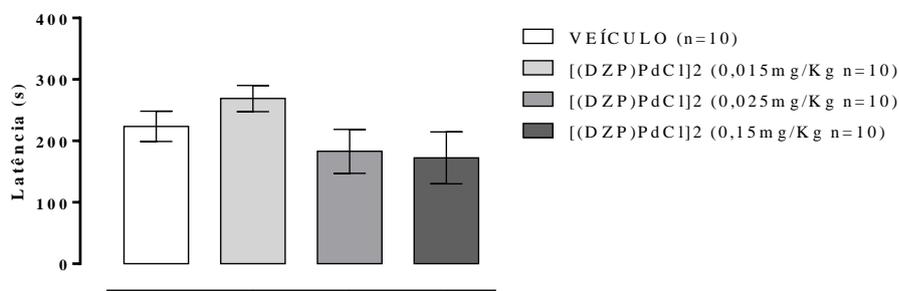
compartimento claro da caixa, a latência para entrada e o número de entrada no compartimento escuro. O modelo da caixa claro-escuro é baseado na aversão de roedores a ambientes iluminados de forma que esses animais normalmente tendem a permanecer por mais tempo no ambiente escuro (BOURIN et al., 2007; GRAEFF; ZANGROSSI JR, 2002).

A utilização de mais de um teste animal para ansiedade em um ensaio farmacológico é baseada no fato de que a reprodutibilidade da ansiedade humana fica limitada em apenas um teste (RAMOS, 2008; STEIMER, 2011). Embora o LCE e a CCE sejam modelos que se baseiam na resposta etológica de animais expostos a situações de conflito, o ambiente aversivo ao qual o animal é exposto é diferente, enquanto no LCE esse ambiente consiste em uma área aberta e elevada, a CCE consiste em um ambiente bastante iluminado (CRYAN; HOLMES, 2005; RAMOS et al., 2008; STEIMER, 2011). Tais fatores podem estar relacionados com as repostas diferentes do complexo no LCE e na CCE e também foi observado na avaliação do efeito ansiolítico do óleo essencial de *Juniperus virginiana* (ZHANG; YAO, 2018).

5.4. Step-down (SD)

No teste do step-down, a ANOVA uma via não detectou diferença significativa entre os grupos que receberam as doses do composto e o grupo controle no tempo de latência para descer da plataforma ($F_{3,36} = 1,864$; $P = NS$; Figura 43).

Figura 43. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μ mol/kg) no step-down (SD).



Resultados expressos em média \pm E.P.M. $P=NS$ (ANOVA uma via seguida do teste de Newman Keuls). Fonte: Autor, 2023.

5.4.1. Efeito do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ sobre a atividade locomotora e na memória

O uso dos BZDs no tratamento da ansiedade tem sido limitado pela variedade de efeitos adversos associados ao seu uso. Dentre esses efeitos, a interferência psicomotora e o prejuízo na memória interferem diretamente na execução de tarefas cotidianas pelos indivíduos em tratamento (CHEN et al., 2018; FARACH et al., 2012).

O teste do campo aberto é o modelo mais utilizado e validado para avaliação da atividade locomotora de animais. A interferência na locomoção é medida através da avaliação do número de cruzamentos e de *rearings* executados pelos animais, uma diminuição no número desses parâmetros é caracterizado como hipolocomoção (GRIEBEL; HOLMES, 2013; RODGERS et al., 1997). Os dados demonstram que não houve diferença significativa entre os grupos das diferentes doses do complexo metálico e o grupo controle e, dessa forma, pode-se inferir que o tratamento com [(DZP)PdCl]₂ não promove alterações na atividade locomotora.

A associação do estudo da atividade locomotora a testes que avaliam o efeito tipo ansiolítico de substâncias que atuem de modo semelhante aos BZDs é bastante realizada em virtude do efeito sobre a locomoção apresentado pelos mesmos. De modo semelhante ao observado como o complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂, estudo de outras substâncias também apresentaram efeito do tipo ansiolítico sem interferência da atividade locomotora, *e.g.*, o ácido ursólico (COLLA et al., 2015), o extrato de *Passiflora actínia* (LOLLI et al., 2006) e o derivado cíclico da piperazina (BRITO et al., 2017).

Por sua vez, a análise dos resultados do SD também demonstrou que a administração do complexo metálico, nas diferentes doses, não promoveu efeito amnésico, visto que não houve diferença significativa na latência para descer da plataforma. O SD é bastante empregado como modelo de avaliação de prejuízo da memória pelo tratamento agudo se substâncias, o efeito amnésico é observado pelo menor tempo de latência entre os animais que não receberam tratamento com a substância em estudo e o grupo controle (DUARTE et al., 2012; KAMEYAMA; NABESHIMA; KOZAWA, 1986).

O efeito amnésico dos BZDs tem sido amplamente demonstrado em vários estudos que avaliam possível efeito amnésico de substâncias. LOLLI e col. demonstraram o efeito ansiolítico promovido pelo Diazepam ao analisar o efeito ansiolítico de um derivado oxidazol (LOLLI et al., 2006). TABATABAI e col., por sua vez demonstrou que o efeito

amnésico do Diazepam é dose-dependente no qual a dose de 1 mg/kg, dose ansiolítica do fármaco, já foi capaz de reduzir significativamente a latência para descer da plataforma do SD (TABATABAI et al., 2015).

5.5. Modulação gabaérgica do efeito tipo ansiolítico pelo bloqueio com o flumazenil (antagonista dos benzodiazepínicos)

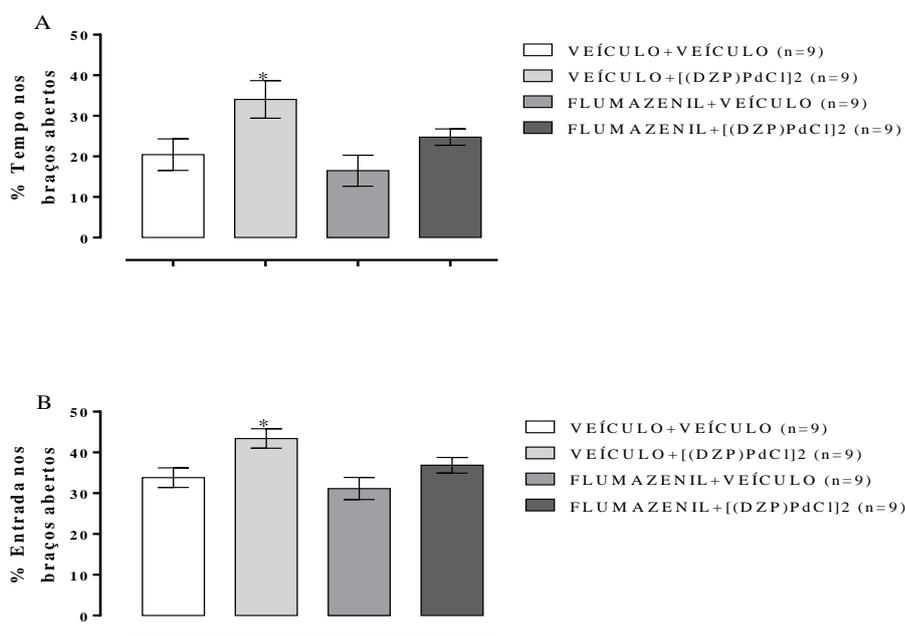
5.5.1. Labirinto em cruz elevado (LCE)

A análise por ANOVA uma via, seguida do post-hoc, revelou que o complexo [(DZP)PdCl]₂ (Grupo VEÍCULO+[(DZP)PdCl]₂) aumentou de forma significativa a %TBA ($F_{3, 32} = 4,120$, $P=0,014$; Figura 44A) e a %EBA ($F_{3, 32} = 4,926$; $P = 0,0063$; Figura 44B), quando comparado ao grupo controle no LCE.

A análise post-hoc não revelou nenhuma diferença significativa entre os animais tratados com flumazenil (Grupo FLUMAZENIL+VEÍCULO) e o grupo controle na %TBA e %EBA no LCE (Figuras 44A e 44B, respectivamente). De modo semelhante, a ANOVA uma via também não detectou diferença significativa entre o grupo que recebeu o pré-tratamento com o flumazenil e o tratamento com o complexo metálico (Grupo FLUMAZENIL+[(DZP)PdCl]₂) e o grupo controle nos parâmetros espaço-temporais do LCE (Figura 44).

Em relação aos parâmetros etológicos do LCE, a ANOVA uma via não detectou diferença significativa entre os diferentes grupos analisados [uHD ($F_{3, 32} = 0,8634$; $P = NS$), pSAP ($F_{3, 32} = 2,125$; $P = NS$) e REA ($F_{3, 32} = 1,478$; $P = NS$); Tabela 8]. Também não foi detectada diferença significativa entre os grupos analisados no EBF do LCE (EBF, $F_{3, 32} = 1,160$; $P = NS$; Tabela 8).

Figura 44. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,15 mg/kg) (0,176 μmol/kg) e do flumazenil (2 mg/kg) (6,59 μmol/kg) no labirinto em cruz elevado (LCE).



Porcentagem de tempo (A) e de entradas (B) nos braços abertos do LCE. Resultados expressos em média \pm E.P.M. e * $P < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

Tabela 8. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,15 mg/kg) (0,176 μmol/kg) e do flumazenil (2 mg/kg) (6,59 μmol/kg) no número de entradas dos braços fechados (EBF) e nos parâmetros etológicos avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE).

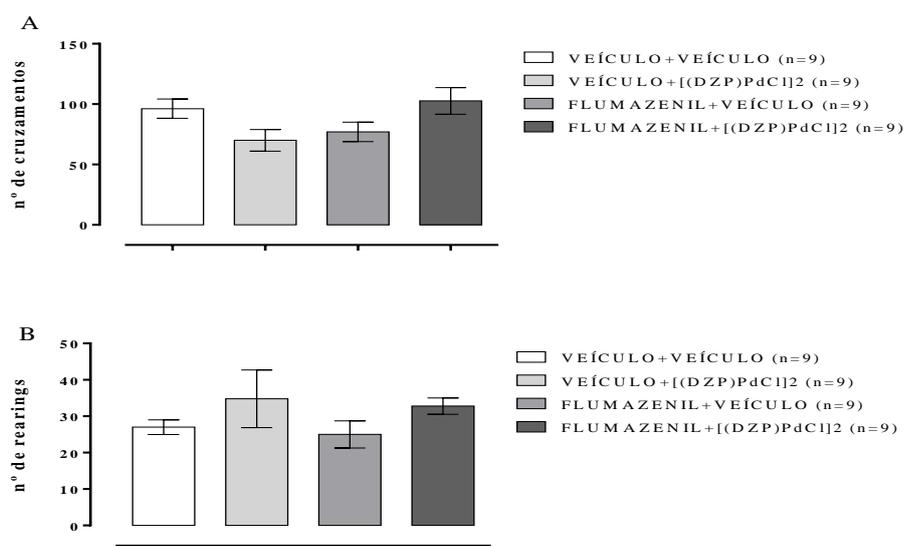
Tratamento	Parâmetros avaliados do LCE			
	EBF	uHD	pSAP	REA
Veículo + Veículo (n=9)	11,6 \pm 0,6	16,2 \pm 1,6	4,3 \pm 0,7	16,7 \pm 0,9
Veículo + [(DZP)PdCl] ₂ (n=9)	11,4 \pm 0,9	15,9 \pm 1,0	2,2 \pm 0,7	20,8 \pm 1,7
Flumazenil + Veículo (n=9)	9,9 \pm 1,1	13,3 \pm 1,9	3,4 \pm 0,7	16,8 \pm 2,0
Flumazenil + [(DZP)PdCl] ₂ (n=9)	11,8 \pm 0,4	16,6 \pm 1,6	2,6 \pm 0,5	16,8 \pm 1,8

uHD= unprotected head-dipping não protegido, pSAP= stretch-attend posture protegido, REA= rearings, CRUZ= cruzamentos. Resultados expressos em média \pm E.P.M. $P = NS$ (ANOVA uma via seguida do teste de *Newman Keuls*). Fonte: Autor, 2023.

5.5.2. Teste do campo aberto (CA)

Em relação ao teste do campo aberto, a ANOVA uma via não detectou nenhuma diferença significativa em relação ao número de cruzamentos ($F_{3, 32} = 2,891$; $P=NS$; Figura 45A) e de *Rearing* ($F_{3, 32} = 1,005$; $P=NS$, Figura 45B) entre os grupos analisados.

Figura 45. Efeitos da administração do complexo [(DZP)PdCl]₂ (0,15 mg/kg) (0,176 μmol/kg) e do flumazenil (2 mg/kg) (6,59 μmol/kg) no teste do campo aberto (CA).



Resultados expressos em média ± E.P.M. $P=NS$ (ANOVA uma via seguida do teste de Newman Keuls). Fonte: Autor, 2023.

5.5.3. Modulação gabaérgica no efeito do tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂

O neurotransmissor GABA é considerado a maior fonte de neurotransmissão inibitória envolvida com os comportamentos relacionados ao medo e a ansiedade. Vários estudos em modelos animais têm demonstrado que a administração do próprio neurotransmissor ou de um agonista do GABA é capaz de promover a redução de diversos parâmetros de avaliação de comportamento semelhante à ansiedade (CHEN et al., 2018). Os BZDs possuem um sítio específico no receptor GABA_A cuja ativação aumenta o tempo de ligação do GABA ao receptor (CALHOON; TYE, 2015; CHEN et al., 2017)

Nossos resultados demonstraram que o efeito do tipo ansiolítico encontrado no LCE com o complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ na dose de 0,15 mg/kg

(0,176 $\mu\text{mol/kg}$) foi bloqueado com o flumazenil (antagonista competitivo dos BZDs). Estes dados são indicaivos que o efeito ansiolítico previamente encontrado foi promovido pelo mesmo mecanismo de modulação do receptor GABA_A dos BZDs. Nossos dados também demonstraram que o flumazenil *per se* não apresentou efeito algum, visto que não houve diferença significativa entre esse grupo e o grupo controle.

Como já demonstrado anteriormente, o efeito do tipo ansiolítico promovido pelo complexo metálico não tem interferência da atividade locomotora, visto que não houve diferença significativa no número de EBF entre os grupos analisados. A avaliação da atividade locomotora no CA mais uma vez demonstraram que o complexo metálico $[(\text{DZP})\text{PdCl}]_2$ não promove alteração na atividade locomotora dos animais na dose de 0,15 mg/kg (0,176 $\mu\text{mol/kg}$), efeito positivo em relação aos BZDs atualmente disponíveis.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1. Considerações Finais

O planejamento de compostos candidatos à fármacos se configura como uma importante estratégia na descoberta de alternativas terapêuticas no tratamento de diversas patologias. Dentre as possibilidades de tratamento, os benzodiazepínicos se destacam como fármacos de primeira escolha, mas o efeito a longo prazo dos mesmos leva uma parcela significativa de pacientes a abandonarem o tratamento. De forma relacionada, o estresse oxidativo vem sendo associado cada vez mais aos transtornos de ansiedade, uma vez que o mesmo pode estar ligado a processos de desencadeamento desses quadros patológicos.

Neste trabalho, foram sintetizados complexos de paládio(II) e platina(II) derivados do Diazepam e do Bromazepam a fim de avaliar as atividades biológicas dos mesmos no combate à ansiedade e ao estresse oxidativo.

Foram sintetizados complexos organometálicos derivados de benzodiazepínicos com rendimentos considerados de moderados a bons. Em alguns complexos, foi possível realizar modificações estruturais nos mesmos, como reações de metátese halogênica (trocando o cloro pelo iodo no complexo) e reações de inserção de alcinos. Reações de formação de compostos híbridos foram também realizadas e os compostos foram obtidos com bons rendimentos, empregando o dímero [(DZP)PdOAc]₂, o qual possui o ligante Diazepam, junto com os ácidos isonicotínico (AI) e nicotínico (AN), dois compostos com atividade biológica já conhecida na homeostase do corpo humano.

Todos os complexos foram bem caracterizados por espectroscopia de RMN e outras técnicas de caracterização, exceto os compostos modificados por inserção de alcinos, os quais necessitam de maiores estudos a fim de aprimorar as rotas de síntese e obtenção dos mesmos. A partir dos dímeros derivados do Diazepam, [(DZP)PdCl]₂, [(DZP)PdOAc]₂ e [(DZP)PdI]₂, foram obtidos seis monômeros empregando ligantes coordenantes como 4-dimetilaminopiridina, piridina e trifenilfosfina. Este último, foi complexado aos três dímeros com sucesso, graças ao efeito da retrodoação que o fósforo é capaz de formar com metais como o paládio.

Os testes para verificação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH demonstraram resultados bastante significativos e promissores. Dentre os dímeros derivados do Diazepam, o complexo [(DZP)PdI]₂ demonstrou melhor capacidade

de sequestrar o radical DPPH·. Já entre os complexos derivados do Bromazepam, o [(BMZ)PdCl₂] e o [(BMZ)PdI₂] apresentaram uma boa atividade, sobressaindo-se em relação ao dímero [(DZP)PdI₂].

Ao analisar o tempo de reação entre os complexos e o radical DPPH·, o complexo [(BMZ)PdCl₂] reagiu melhor, sendo capaz de sequestrar quase 90% do radical ao longo das 4 horas de monitoramento da reação por UV-vis. Vale destacar que os monômeros derivados do Diazepam não foram ainda avaliados, bem como os compostos modificados por meio de inserção de alcinos e os híbridos obtidos por reações com os AI e AN. Entretanto, são necessários outros ensaios simulando o efeito antioxidante no organismo, a fim de verificar, de forma mais consistente, a atividade antioxidante dos compostos.

Os resultados demonstram, inicialmente, a produção de um efeito do tipo ansiolítico em camundongos *Swiss* fêmeas submetidos ao teste do LCE, com a administração do complexo [(DZP)PdCl₂] (0,15 mg/kg, i.p.), e que esse efeito não foi observado em animais submetidos a CCE, podendo estar associado aos diferentes parâmetros da ansiedade abordados no teste.

Observou-se, também, que o complexo na dose de 0,15 mg/kg (0,176 μmol) não promove alterações na atividade locomotora e nem efeito amnésico, comum aos benzodiazepínicos. Além disso, os resultados obtidos no LCE demonstram que o efeito do tipo ansiolítico promovido pelo complexo é mediado via receptor GABA_A.

Novos estudos são necessários para analisar aspectos farmacocinéticos do composto. A investigação da toxicidade do complexo [(DZP)PdCl₂] também se faz necessária para garantir maior segurança. Apesar disso, os dados apontam o composto como uma possível alternativa no tratamento dos transtornos de ansiedade.

7. PERSPECTIVAS

Diante dos resultados obtidos e, visando os próximos passos desse trabalho, tem-se como perspectivas:

- Sintetizar outros complexos organometálicos de platina(II) e, se possível, de outros metais, análogos aos derivados obtidos de Diazepam com paládio;
- Otimizar as sínteses de modificação do dímero [(DZP)PdI]₂ por meio de inserção de alcinos, buscando melhores condições reacionais como menor tempo de reação, solventes alternativos com melhor custo/benefício;
- Sintetizar compostos híbridos com moléculas bioativas como a gabapentina e a quetiapina, ambas com atividade neural promissora;
- Elucidar, de forma mais efetiva, o mecanismo de inserção de alcinos na ligação Pd-C, com o auxílio de estudos de Química Computacional;
- Realizar estudos com biomarcadores do estresse oxidativo a fim de verificar a atividade antioxidante dos compostos em meio biológico;
- Divulgar os dados obtidos com este trabalho em eventos e revistas científicas da área.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. C. T. et al. Oxidative Stress and Epilepsy: Literature Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. Volume 2012, p. 1-13, 2012.
- ALBERT, J. et al. Monoinsertion of but-2-ynedioic acid dimethyl ester into palladium–carbon r bonds of cyclopalladated compounds derived from biphenyl-2-ylamine: X-ray molecular structure of biphenyl-2-yl-(2,4,6-trimethoxy-benzylidene)-amine. **Polyhedron**. Vol. 25, p. 793–800, 2006.
- ALBERT, J. et al. Reactivity of cyclopalladated compounds derived from biphenyl-2-ylamine towards carbon monoxide, t-butyl isocyanide and alkynes. **Journal of Organometallic Chemistry**. Vol 692, p. 4895-4902, 2007.
- ALBERT, J.; GRANELL, J.; SALES, J. Insertions of diphenylacetylene into cyclopalladated compounds. Crystal structure of [Pd{(PhC=CPh),C,H,CH,N=CH(2,6-C6HC12)} B r]. **Journal of Organometallic Chemistry**. Vol. 379, p. 177-185, 1989.
- ALBRECHT, M. C-H bond activation. In: DUPONT, J.; PFEFFER, M. **Plladacycles: synthesis, characterization and applications**. Weinheim: WILEY-VCH, 2008.
- AMARAL, B. D. A.; MACHADO, K. L. **Benzodiazepínicos: uso crônico e dependência**. Monografia de Especialização. Londrina, 2012.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-V: Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais** (5a Ed.). [s.l: s.n.], 2014.
- ANDREATINI, R.; LACERDA, R. B.; ZORZETTO FILHO, D. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. Vol. 23, p. 233-242, 2001.
- ANTOLINI, L. et al. Palladium(II) complexes of benzodiazepines. Crystal structure and reactivity in dimethylsulphoxide of [Pd(Bromazepam)]. **Polyhedron**. Vol. II, N° 21, p. 2795-2801, 1992.
- ARORA, N. et al., Recent Advances in Synthesis and Medicinal Chemistry of Benzodiazepines. **Bioorganic Chemistry**. 2020.
- ATKINS, P. et al., **Shiver and Atkins: Inorganic Chemistry**. Fifth Edition. W. H. Freeman and Company. New York, 2010.
- ATKINS, P.; JONES, L.; **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Porto Alegre. Bookman, 2012.
- AVERSA, Maria C. et al. Metal complexes of benzodiazepines. Part 3. Synthesis and characterization of organometallic complexes of platinum (II). **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**. n. 12, p. 3431-3434, 1991.

- BANDELOW, Borwin; MICHAELIS, Sophie. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. **Dialogues in clinical neuroscience**. v. 17, n. 3, p. 327-335, 2015.
- BANDELOW, Borwin; MICHAELIS, Sophie; WEDEKIND, Dirk. Treatment of anxiety disorders. **Dialogues in clinical neuroscience**. v. 19, n. 2, p. 93, 2017.
- BARALDI, P. G. et al. Synthesis, in Vitro Antiproliferative Activity, and DNA-Binding Properties of Hybrid Molecules Containing Pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine and Minor-Groove-Binding Oligopyrrole Carriers. **Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 42, p. 5131-5141, 1999.
- BARALDI, P. G. et al., Design, synthesis and biological activity of a pyrrolo [2,1-c][1,4]benzodiazepine (pbd)-distamycin hybrid. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. Vol. 8, p. 3019-3024, 1998.
- BARAN, E.J. Suplementação de elementos traços. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. Nº 6, p. 7 – 12, 2005.
- BARROS, W. B. Z. G. **Síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade anticonvulsivante de complexos de paládio (II) derivado do Diazepam**. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2012.
- BARROS, Walleska Bismaida Zacarias Galvão et al. Palladium–benzodiazepine derivatives as promising metallodrugs for the development of antiepileptic therapies. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 155, p. 129-135, 2016.
- BARRULAS, R. A. V. **Fármacos Híbridos com Atividade Antineoplásica**. Dissertação do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Algarve. 2014.
- BASAVARAJU, B.; NAIK; PRABHAKARA. Transition Metal Complexes of Quinolino[3,2-b]benzodiazepine and Quinolino[3,2-b]benzoxazepine: Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Studies. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, 2007.
- BENEDETTI, Adriano et al. Structural and spectral study of 7-bromo-1, 3-dihydro-5-(2-pyridyl)-2H-1, 4-benzodiazepin-2-one (Bromazepam) platinum (II) dichloride bisdimethylsulfoxide. **Journal of crystallographic and spectroscopic research**. v. 17, n. 6, p. 771-781, 1987.
- 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.
- BERALDO, H; MORTIMER, E. F. Introdução. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p. 3, 2005.
- BERALDO, Heloisa. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 6, p. 4-6, 2005.

BLAY, Sergio L. et al. 12-month prevalence and concomitants of DSM-IV depression and anxiety disorders in two violence-prone cities in Brazil. **Journal of affective disorders**. v. 232, p. 204-211, 2018.

BOURIN, M. et al. Animal models of anxiety in mice. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 21, n. 6, p. 567–574, 2007.

BRAGA, J. E. F. Ansiedade Patológica: Bases Neurais E Avanços Na Abordagem Psicofarmacológica. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. v. 14, n. 2, p. 93–100, 2010.

BRITO, A. F. et al. Anxiolytic-like effect of 2-(4-((1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)ethan-1-ol is mediated through the benzodiazepine and nicotinic pathways. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 90, n. 3, p. 432–442, 2017.

BRITO, A. F. et al. Anxiolytic-like effect of 2-(4-((1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)ethan-1-olis mediated through the benzodiazepine and nicotinic pathways. **Chemical Biology & Drug Design**. Vol. 90, p. 432–442, 2017.

BULUT, M. et al. Reduced PON1 enzymatic activity and increased lipid hydroperoxide levels that point out oxidative stress in generalized anxiety disorder. **Journal of Affective Disorders**. Vol. 150, p. 829–833, 2013.

CALHOON, G. G.; TYE, K. M. Resolving the neural circuits of anxiety. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. 10, p. 1394–1404, 2015.

CASTILLO, A. et al. Transtornos de ansiedad. **Revista Brasileira de Psiquiatria (Supl II)**. v. 22, p. 22–25, 2000.

CHEN, X. et al. Human pharmacology of positive GABA-A subtype-selective receptor modulators for the treatment of anxiety. **Acta Pharmacologica Sinica**, n. October, p. 1–12, 2018.

CHEN, X. et al. Pharmacodynamic response profiles of anxiolytic and sedative drugs. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, p. 1028–1038, 2017.

CHRISTENSEN; BATTERHAM; CALEAR. Online interventions for anxiety disorders. **Current Opinion in Psychiatry**. Vol. 27, p. 7–13, 2014.

CINELLU, M. A. et al. Cyclometallated derivatives of palladium(II) with 1,4-benzodiazepin-2-ones: crystal structure of (L-H)Pd(PPh₃)Cl·CHCl₃ (L = prazepam: 7-chloro-1-cyclopropylmethyl-1,3-dihydro-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one); synthesis of isoindolo[2,1d][1,4]benzodiazepine derivatives by reaction of [(L-H)PdCl]₂ species with carbonmonoxide. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 401, n. 3, p. 371-384, 1991.

CINELLU, M. A.; GANADU, M. L.; MINGHETTI, G. Adducts and Cyclometallated Derivatives of Palladium(II) with some 1,4-Benzodiazepin-2-ones. Crystal and Molecular Structure of trans-Dichlorobis[7chloro-1 -(cyclopropylmethyl)-1,3dihydro-5-phenyl-2H-

1,4- benzodiazepin-2-one]palladium(II). **Inorganica Chimica Acta**. Vol. 143, p. 197-207, 1988.

COLLA, A. R. S. et al. Anxiolytic-like effects of ursolic acid in mice. **European journal of pharmacology**, v. 758, p. 171–176, 2015.

CORREIA, Walleska Bismaida Galvão Barros. **Síntese, caracterização e avaliação das propriedades antiepilépticas de complexos de paládio(II) derivados do Diazepam**. 2017. 95 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2017.

CRASKE, Michelle G. et al. Correction: Anxiety disorders. **Nature Reviews Disease Primers**. v. 3, n. 17024, p. 1-19, 2017.

CRYAN, J. F.; HOLMES, A. Model organisms: The ascent of mouse: Advances in modelling human depression and anxiety. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 9, p. 775–790, 2005.

CSUPAK, Brian et al. A population-based examination of the co-occurrence and functional correlates of chronic pain and generalized anxiety disorder. **Journal of anxiety disorders**. v. 56, p. 74-80, 2018.

CUSUMANO, M. et al. Metal complexes of benzodiazepines: part 2; the reaction of 1,4-benzodiazepines with halide-bridged complexes of palladium(II) [Pd₂X₄(PPrn₃)₂] (X = Cl or I). **Journal of Chemical Society, Dalton Transactions**. p.1581-1584, 1991.

DAVIES, K. J. A., Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. **Life**. Vol. 50, p. 279–289, 2000.

DE WAELE, et al. First line management of prolonged convulsive seizures in children and adults: good practice points. **Acta Neurol Belg**. Vol. 113, p. 375–380, 2013.

DEMICHELI, C; FRÈZARD, F. Novas embalagens para medicamentos à base de antimônio usados no tratamento de Leishmaniose e esquistossomose. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. Nº 6, 2005.

DIAS, R. A. L. **Compostos híbridos: Uma estratégia promissora para descobrir novos fármacos antitumorais**. Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade de Lisboa. 2017.

DIAS, S. P. C. B. M. **Síntese de fármacos híbridos antimaláricos. Uma nova estratégia terapêutica envolvendo esteroides**. Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2015

Disorders: Current Treatments and Future Directions. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 26, p. 833–843, 2012.

DUARTE, F. S. et al. Anxiogenic-like profile of Wistar adult rats based on the pilocarpine model: an animal model for trait anxiety? **Psychopharmacology**, v. 227, n. 2, p. 209–219,

2012.

DUPONT, J.; PFEFFER, M. One-pot synthesis of heterocyclic compounds through insertion of alkynes into the Pd-C bond of activated Cyclopalladated benzyl methyl sulphide. **Journal of Organometallic Chemistry**. Vol. 321, p. C13-C16, 1987.

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

EKLUND, P. C. et al. Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans. **Organic and Biomolecular Chemistry**. Vol. 3, p. 3336 – 3347, 2005.

EMHAN, A., et al., Evaluation of oxidative and antioxidative parameters in generalized anxiety disorder. **Psychiatry Research**, 2015.

ESER, H. Y. et al., Prevalence and Associated Features of Anxiety Disorder Comorbidity in Bipolar Disorder: A Meta-Analysis and Meta-Regression Study. **Frontiers in Psychiatry**. Vol.9, p. 229, 2018.

FARACH, F. J. et al. Pharmacological and Brain Stimulation Treatment of Anxiety

FARIA, J. S. S. Benzodiazepínicos: revendo o uso para o desuso. **Revista de Medicina**. Vol. 98, p. 423-426, 2019.

FERREIRA, D. A. C. ; MENEGHETTI, S. M. P. ; OLIVEIRA NETO, M. de ; ROCHA, W. R. ; MENEGHETTI, M. R. . Quantum mechanics/molecular mechanics investigation of the ethene polymerization mechanism catalyzed by a bulky diimine-Ni(II) complex. **Journal of the Brazilian Chemical Society** , v. 22, p. 428-436, 2011.

FERREIRA, D. A. C. ; MORAIS, S. F. A. ; MENEGHETTI, S. M. P. ; MENEGHETTI, M. R. . Ethylene Polymerization Catalyzed by a Cyclophane-Diimine-Based Ni (II) Complex, a Quantum/Molecular Mechanic Study. **Journal of Molecular Catalysis. A, Chemical**, v. 363-364, p. 1-9, 2012.

FIGUEROA, Ana et al. **Ansiedade de separação**. Tratado de Saúde Mental da Infância e Adolescência da IACAPAP. Capítulo F2. p. 1-25, 2015.

FINKEL, T.;HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**. Vol 408, 2000.

FOLHA DE SÃO PAULO. Disponível em:

<https://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2014/02/1418499-venda-de-calmantes-sobe-42-no-brasil-nos-ultimos-cinco-anos.shtml> . Acesso em 03. Abril. 2020.

FONTELES, M. M. F. et al. Antioxidant properties of antiepileptic drugs Levetiracetam and Clonazepam in mice brain after in vitro-induced oxidative stress. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. Vol. 10, p. 278-288, 2016.

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.

FONZO, Gregory A. et al. Early life stress and the anxious brain: evidence for a neural mechanism linking childhood emotional maltreatment to anxiety in adulthood. **Psychological Medicine**, Vol. 46, n. 5, p. 1037-1054, 2016.

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

FOX, Andrew S.; KALIN, Ned H. A translational neuroscience approach to understanding the development of social anxiety disorder and its pathophysiology. **American Journal of Psychiatry**, Vol. 171, n. 11, p. 1162-1173, 2014.

GEIGER, Maximilian J. et al. Arousal and the attentional network in panic disorder. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, Vol. 29, n. 6, p. 599-603, 2014.

GIUNTINI, P. B. **Avaliação do estado de ansiedade em pacientes submetidos a cirurgias eletivas sob regime ambulatorial ou sob regime de internação**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2006.

GOLAN, D. E. et al., **Princípios de Farmacologia: a base fisiopatológica da farmacologia**. Terceira edição. Guanabara Koogan. 2005.

GRAEFF, F. G.; ZANGROSSI JR, H. Anxiety Disorders Animal Models of Anxiety Disorders. **Biological Psychiatry**, v. 779–893, 2002.

GRAEFF, G. F. On serotonin and experimental anxiety. **Psychopharmacology**. Vol. 163, p. 467–476, 2002.

GRAEFF, G. F. Serotonina, matéria cinzenta periaquedutal e transtorno do pânico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. Vol. 25 (Supl II), p. 42-45, 2003.

GRIEBEL, G.; HOLMES, A. 50 Years of Hurdles and Hope in Anxiolytic Drug Discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 12, n. 9, p. 667–687, 2013.

GRIEBEL, G.; HOLMES, A. 50 Years of Hurdles and Hope in Anxiolytic Drug Discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, Vol. 12, n. 9, p. 667–687, 2013.

GUTIÉRREZ; CHILPA; JAIME. Medicinal plants for the treatment of “nervios”, anxiety, and depression in Mexican Traditional Medicine. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 24, p. 591-608, 2014.

HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **Journal of Neurochemistry**. Vol. 97, p. 1634–1658, 2006.

HERRINGA, R. J., Childhood maltreatment is associated with altered fear circuitry and increased internalizing symptoms by late adolescence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol.110. Nº 47, p.19119-19124, 2013.

JACOBSEN, N. E. **NMR Data Interpretation Explained – Understanding 1D and 2D NMR Spectra os Organic Compounds and Natural Products**. 1ª ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons Ltda, 2017.

KAESERMANN, H. P. Stretched attend posture, a non-social form of ambivalence, is sensitive to a conflict-reducing drug action. **Psychopharmacology**, v. 89, n. 1, p. 31–37, 1986.

KAMEYAMA, T.; NABESHIMA, T.; KOZAWA, T. Step-down-type Passive Avoidance- and Escape-learning Method. **Journal of Pharmacological Methods**, v. 16, p. 39–52, 1986.

KARAMI, K. et al. Structural and theoretical studies of mono and di-insertion of symmetric alkynes into the Pd-C bond of cyclopalladated secondary (tert-butyl and ethyl) benzylamines. **Journal of Organometallic Chemistry**, Vol. 752, p. 152-160, 2014.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. Tradução: Ademar Valadares Fonseca ... et al.; [revisão técnica: Almir Lourenco da Fonseca]. – 13. ed. – Porto Alegre : AMGH, 2017.

KESSLER, Ronald C. et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of mental disorders in the World Health Organization's World Mental Health Survey Initiative. **World Psychiatry**. Vol. 6, n. 3, p. 168, 2007.

LACH, G. et al. Anxiety, Depression, and the Microbiome: A Role for Gut Peptides. **Neurotherapeutics**. Vol. 15, n. 1, p. 36–59, 2018.

LI, J. et al. Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**. Vol. 14, p. 24438 – 24475, 2013.

LI, Qiuping; LOKE, Alice Yuen. A spectrum of hidden morbidities among spousal caregivers for patients with cancer, and differences between the genders: A review of the literature. **European Journal of Oncology Nursing**, v. 17, n. 5, p. 578-587, 2013.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, **Química Nova**. Vol. 30, No. 6, p. 1456-1468, 2007.

LOLLI, L. F. et al. Possible involvement of GABAA-benzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by Passiflora actinia extracts in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 308–314, 2006.

LULLMANN, H. et al., **Color Atlas of Pharmacology**. 3ª Edition. 2005.

MAASSARANI, F.; PFEFFER, M.; LE BORGNE. Controlled Synthesis of Heterocyclic Compounds through Ring Enlargement by Alkyne Insertions into the Pd-C Bonds of Cyclopalladated Amines Followed by Subsequent Ring Closure. **Organometallics**. Vol. 6, p. 2029-2043, 1987a.

MAASSARANI, F.; PFEFFER, M.; LE BORGNE. Stepwise Insertion of One, Two, and Three Alkyne Molecules into the Pd-C Bond of a Six-Membered Palladocycle. 'One-Pot Synthesis of Spirocyclic Compounds. **Organometallics**. Vol. 6, p. 2043-2053, 1987b.

MANGOLINI; ANDRADE; WANG. Epidemiologia dos transtornos de ansiedade em regiões do Brasil: uma revisão de literatura. **Revista de Medicina**. Vol. 98, n° 6, p. 415-422, 2019.

MELO, A. D. F. **Avaliação de propriedades químico-estruturais de fármacos benzodiazepínicos por modelagem computacional**. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2014.

METZLER, Danielle H.; MAHONEY, David; FREEDY, John R. Anxiety disorders in primary care. **Primary Care: Clinics in Office Practice**. Vol. 43, n. 2, p. 245-261, 2016.

MINGHETTI, G. et al. C(3) aurated 1,4-benzodiazepin-2-ones: synthesis and characterization; crystal structure of (L)Au[P(C₆H₄CH₃-4)₃] (HL = 7-chloro-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one, Diazepam). **Journal of Organometallic Chemistry**. Vol. 553, p. 405-415, 1998.

MOHSIN, N. A.; QADIR, M. I. Recent Structure Activity Relationship Studies of 1,4-Benzodiazepines. **Open Journal of Chemistry**. Vol. 1, N° 1, p. 008-012, 2015.

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

MURROUGH, J. W. et al. Emerging Drugs for the Treatment of Anxiety. **Expert Opin Emerg Drugs**. Vol. 20, n. 2, p. 1393-406, 2016.

NG, F. et al., Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **International Journal of Neuropsychopharmacology**. Vol. 11, p. 851-876, 2008.

NOBILE, G. F. G.; GARCIA, V. A.; SILVA, A. T. B.. Análise sequencial dos comportamentos do terapeuta em psicoterapia com universitários com transtorno de ansiedade social. **Perspectivas em análise do comportamento**. Vol. 8, n. 1, p. 16-31, 2017.

OLIVEIRA, M. R. et al., Oxidative stress in the hippocampus, anxiety-like behavior and decreased locomotory and exploratory activity of adult rats: Effects of sub acute vitamin A supplementation at therapeutic doses. **NeuroToxicology**. Vol. 28, p. 1191-1199, 2007.

- OMAE, I. Intramolecular five-membered ring compounds and their applications. *Coordination Chemistry Reviews*. Vol. 248, n. 11-12, p. 995-1023, 2004. In: **Organometallics**. Vol. 21, n. 24, p. 5437-5438, 2002.
- PAULA, W. X. et al., A química inorgânica no planejamento de fármacos usados no controle da hipertensão. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. Vol 6, 2005.
- PAVIA, L. D. et al. **Introduction to Spectroscopy**. Fifth Edition. Cengage, USA, 2015.
- PEEDICAYIL, J. The Potential Role of Epigenetic Drugs in the Treatment of Anxiety Disorders. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, 2020.
- PÉREZ, J. et al. Synthesis and structure of the first ruthenated benzodiazepines. **Organometallics**. Vol. 21, p. 5437-5438, 2002.
- PFEFFER, M.; PEREIRA, M. T.; ROTTEVEEL, M. A. Reactivity of cyclopalladated compounds. XXI – Direct palladation of the prochiral CH₂ group of the α -trimethylsilyl-8-methylquinoline ligand by palladium(II), and reactions of the resulting Pd-C bond with alkynes. **Journal of Organometallic Chemistry**. Vol 375, p. 139-145, 1989.
- PORTO, P. et al., Evidências científicas das neurociências para a terapia cognitivo-comportamental. **Paidéia**. Vol. 18, N° 41, p. 485-494, 2008.
- PRETI, C.; TOSI, G. A novel series of palladium(II) and platinum(II) complexes with 1,4-benzodiazepines as ligands, **Journal of Coordination Chemistry**. Vol. 8, N° 4, p. 223-229, 1979.
- PRETSCH, E.; BUHLMANN, P.; BADERTSCHER, M. **Structure Determination of Organic Compounds – Tables of Spectral Data**. 4^a Ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.
- RAMOS, A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, n. 10, p. 493–498, 2008.
- ROCHA, M. D.; VIEGAS JUNIOR, C. Síntese de novos candidatos a fármacos híbridos carbamoilacilidrazônicos planejados como antiinflamatórios e anticolinesterásicos. **Resumo 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. 2008.
- RODGERS, R. J. et al. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 289–304, 1997.
- RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico online**. Vol. 127, 2007.
- RYABOV, A. D. et al. Insertion of Alkynes into the Pd-C Bond of Palladacycles. Mechanistic Information from High-pressure Kinetic and X-ray Structural Data. **Organometallics**. Vol. 12, p. 1386-1393, 1993.

SABATINELLI, D. et al., Emotional perception: Meta-analyses of face and natural scene processing. **NeuroImage**. Vol. 54, p. 2524–2533, 2011.

SANTOS, J. L. **Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de compostos híbridos potencialmente ativos para o tratamento da anemia falciforme**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". 2007.

SANTOS, P. **Efeitos ansiolíticos da n-acetilcisteína e de compostos moduladores de estresse oxidativo, neuroinflamação e transmissão glutamatérgica**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2017.

SCHMIDT, Cameron K. et al. Neuroanatomy of Anxiety: A Brief Review. **Cureus**. Vol. 10, n. 1, 2018.

SHADER, R. I.; GREENBLATT, D. J. Use of benzodiazepines in anxiety disorders. **The New England Journal of Medicine**. Vol. 328, Nº 19, p. 1398-1405, 1993.

SHIM, Eun-Jung et al. Prevalence, correlates, and impact of depressive and anxiety disorder in cancer: Findings from a multicenter study. **Palliative and Supportive Care**. P. 1-14, 2017.

SHIMADA-SUGIMOTO, M.; OTOWA, T.; HETTEMA, J. M. Genetics of anxiety disorders: genetic epidemiological and molecular studies in humans. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**. Vol. 69, n. 7, p. 388-401, 2015.

SIES, H. Oxidative Stress: Oxidants And Antioxidants. Physiological Society Symposium: Impaired Endothelial And Smooth Muscle Cell Function In Oxidative Stress. **Experimental Physiology**. Vol. 82, p. 291-295, 1997.

SILVA, A. D. S. **Síntese, caracterização, avaliação citotóxica e antitumoral de complexos organometálicos derivados de núcleos nicotínicos**. Tese de Doutorado. Maceió, Alagoas, 2018.

SILVA, O. B. S. **Avaliação dos efeitos do complexo metálico derivado do diazepam [(DZP)PdCl]₂ nos comportamentos relacionados com medo, ansiedade e memória em camundongos swiss**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Alagoas. 2019.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7^a Ed. Nova Iorque: John Wiley & Sons Ltda, 2005.

SIMMONS, A. et al., Anticipation of Aversive Visual Stimuli Is Associated With Increased Insula Activation in Anxiety-Prone Subjects. **Biological Psychiatry**. Vol. 60, p. 402 – 409, 2006.

SOLOMON, R. V. et al. GABA allosteric modulators: An overview of recente developments in non-benzodiazepine modulators. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 171, p. 434 - 461, 2019.

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

SPENCER, j. et al. Regioselectivity of the Insertion of 4,4-Dimethyl-Z-Pentye into the Pd-C Bond of Cyclopalladated Complexes. **Organometallics**. Vol. 14, p. 2214 - 2224, 1995.

SPENCER, J.; PFEFFER, M. The Fate of the Stereogenic Centre Linked to Palladium Upon Reaction with an Alkyne. **Tetrahedron: Asymmetry**. Vol. 6, No. 2, p. 419 - 426, 1995

SPESSARD, G. O.; MIESSLER, G. L. **Organometallic Chemistry**. 2^a Ed. Oxford. 2009.

STEEL, Zachary et al. The global prevalence of common mental disorders: a systematic review and meta-analysis 1980–2013. **International Journal of Epidemiology**. Vol. 43, n. 2, p. 476 - 493, 2014.

STEIMER, T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues Thierry. v. 13, p. 495–506, 2011.

STEIN, M. B.; SAREEN, J. Generalized Anxiety Disorder. **New England Journal of Medicine**. Vol. 373, N° 21, p. 2059 – 2068, 2015.

STERNBACH, Leo H. The benzodiazepine story. **Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 22, n. 1, p. 1-7, 1979.

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-2H-1,4-benzodiazepin-2-one, Diazepam), a molecule containing a neutral and a deprotonated 1,4-benzodiazepin-2-one. **Inorganica Chimica Acta**. Vol. 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**. Vol. 5, n. 3, p. 627-633, 2008.

TABATABAI, S. A. et al. Evaluation of anxiolytic, sedative-hypnotic and amnesic effects of novel 2-phenoxy phenyl-1,3,4-oxadizole derivatives using experimental models. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 14, n. December 2014, p. 51–57, 2015.

UYS, J. D. K. et al. Animal Models of Anxiety Disorders. **Anxiety Disorders**, v. 5, p. 274–281, 2003.

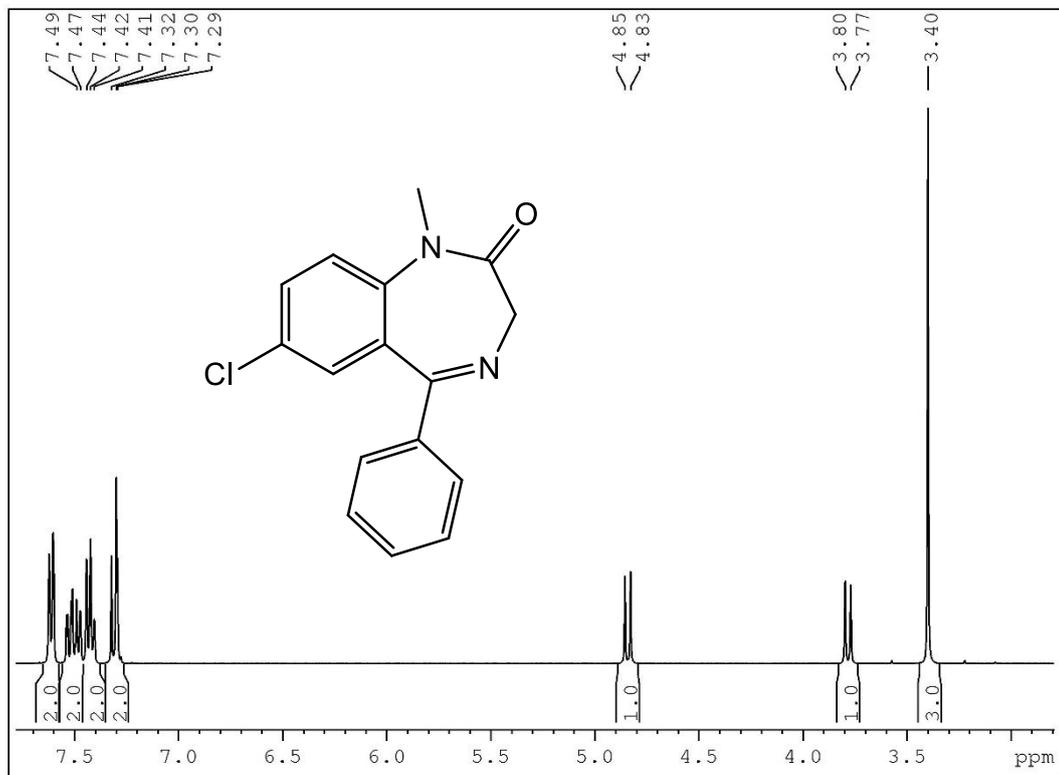
VALKO, M. et al., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**. Vol. 39, p. 44–84, 2007.

VIANNA; CAMPOS; LANDEIRA-FERNANDEZ. Transtornos de ansiedade na infância e adolescência: uma Revisão. **Revista Brasileira de Terapias Cognitivas**. Vol. 5, N° 1, 2009.

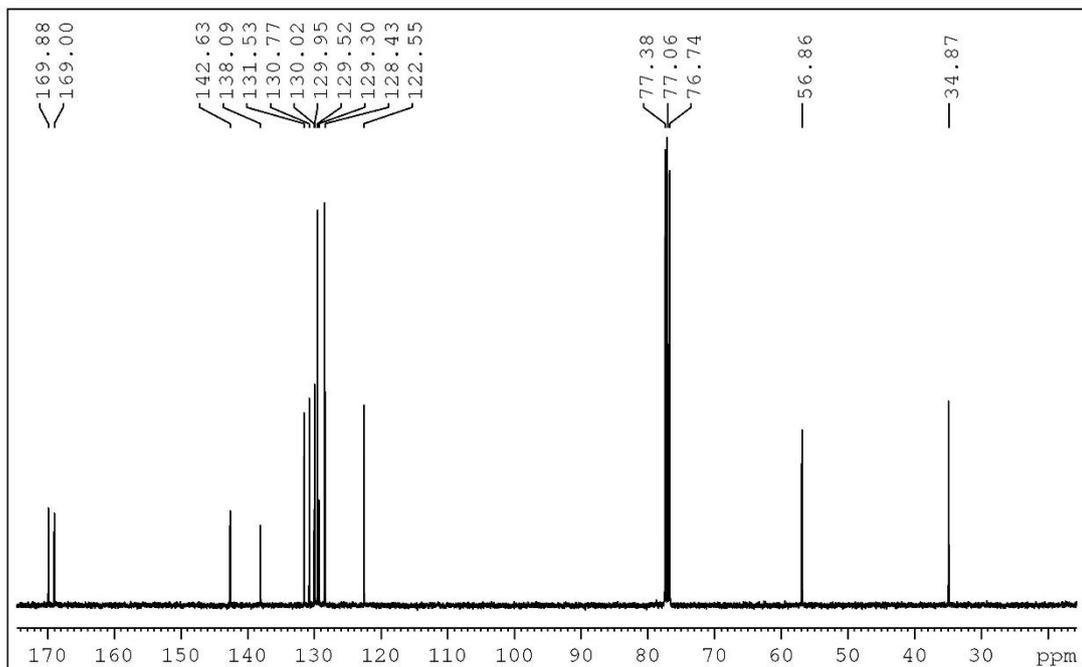
- VIŠNJEVAC, A. et al. Copper(II)-promoted chemical transformations of 3-substituted 5-(2'-pyridyl)-1,4-benzodiazepin-2-one derivatives: crystal structures and spectroscopic characterization of metal complexes. **European Journal of Inorganic Chemistry**. p. 2647-2654, 2001.
- VIŠNJEVAC, A. et al. Synthesis, 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**. Vol. 21, p. 2567-2577, 2002.
- WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. v. 2, n. 2, p. 322–328, 2007.
- WAYHS, C. A. Y. et al. Brain effect of insulin and clonazepam in diabetic rats under depressive-like behavior. **Metabolic Brain Disease**. Vol. 28, p. 563-570, 2013a.
- WAYHS, C. A. Y. et al. The association effect of insulin and clonazepam on oxidative stress in liver of an experimental animal model of diabetes and depression. **Pharmaceutical Biology**. Vol. 51, n° 5, p. 533-538, 2013b.
- WIERSEMA, C.; VAN ZELST, W.; VOSHAAR, R. O. Case Report: When a patient with depression is feeling sleepy, be aware of sleep apnoea. **BMJ Case Report**. p. 1-4, 2018.
- XAVIER, J. A. **Avaliação da capacidade antioxidante e perfil químico de própolis do Nordeste da Bahia**. Dissertação de Mestrado. Maceió, Alagoas, 2015.
- ZAMIGNANI, D. R.; BANACO, R. A. Um panorama analítico-comportamental sobre os transtornos de ansiedade. **Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva**. Vol. 7, n. 1, p. 77-92, 2005.
- ZHANG, K.; YAO, L. The anxiolytic effect of Juniperus virginiana L. essential oil and determination of its active constituents. **Physiology and Behavior**. Vol. 189, p. 50–58, 2018.
- ZHANG, S. et al. Bimetallic (iron or cobalt) complexes bearing 2-methyl-2,4-bis(6-iminopyridin-2-yl)-1H-1,5-benzodiazepines for ethylene reactivity. **Organometallics**. Vol. 26, n. 9, p. 2456 - 2460, 2007.
- ZHOU, Y. et al. Comorbid generalized anxiety disorder and its association with quality of life in patients with major depressive disorder. **Scientific reports**. Vol. 7, p. 1-8, 2017.

APÊNDICE A – Experimentos de RMN do Diazepam (DZP) em CDCl₃.

Espectro de RMN de ¹H

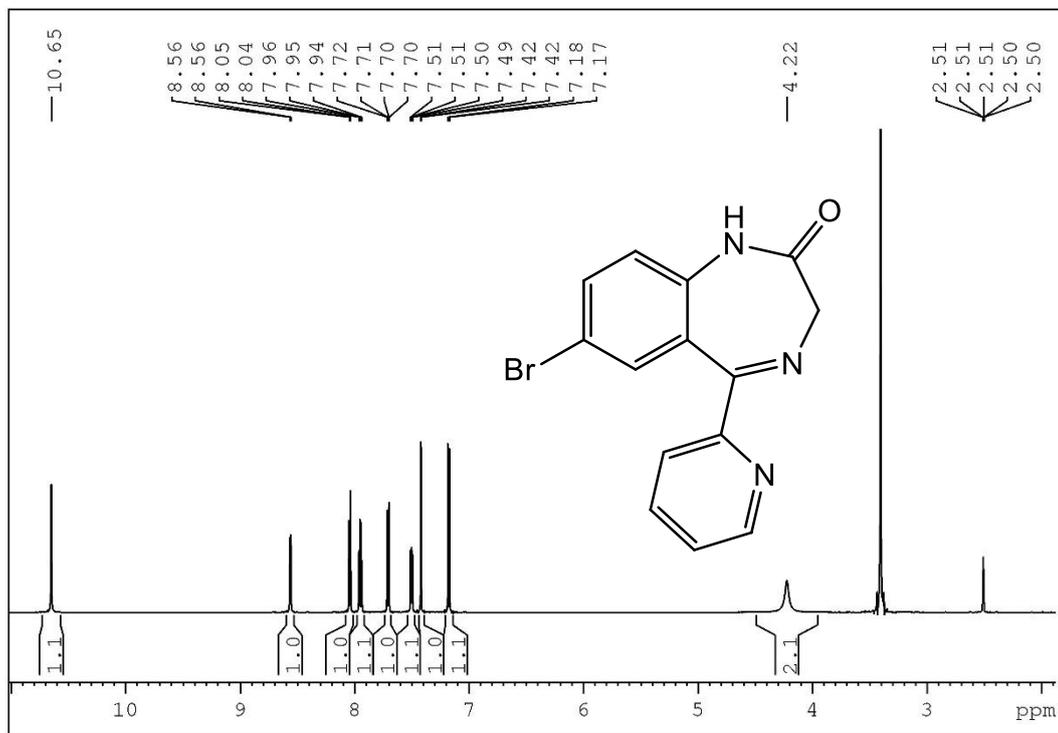


Espectro de RMN de ¹³C

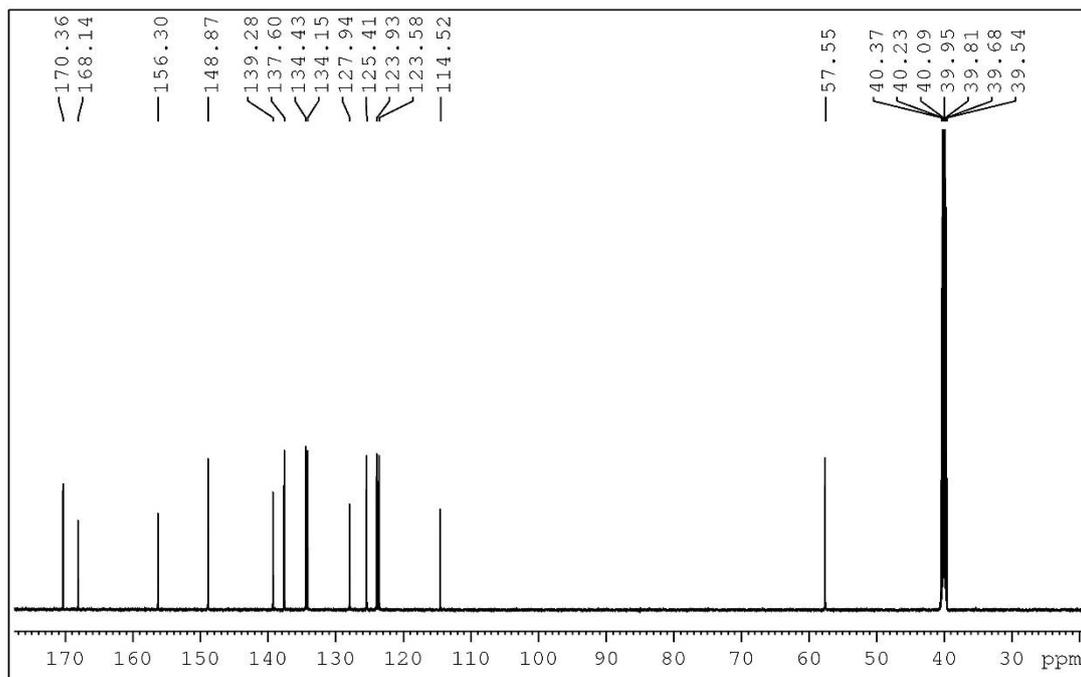


APÊNDICE B – Experimentos de RMN do Bromazepam (BMZ) em DMSO-d₆.

Espectro de RMN de ¹H

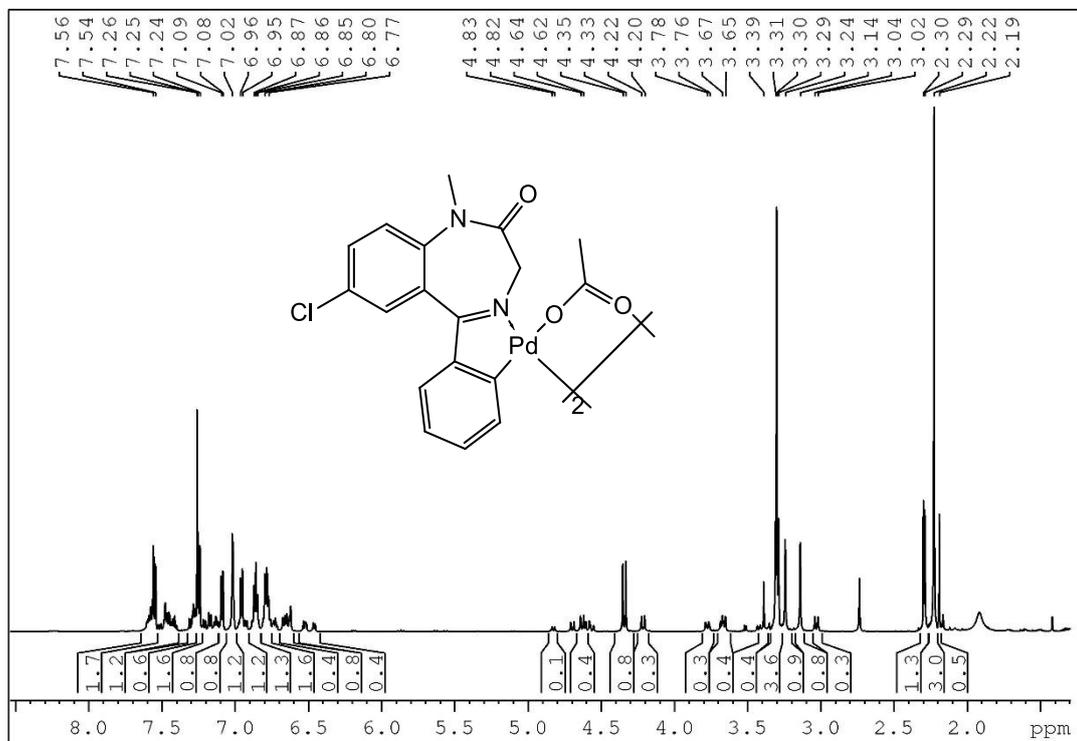


Espectro de RMN de ¹³C

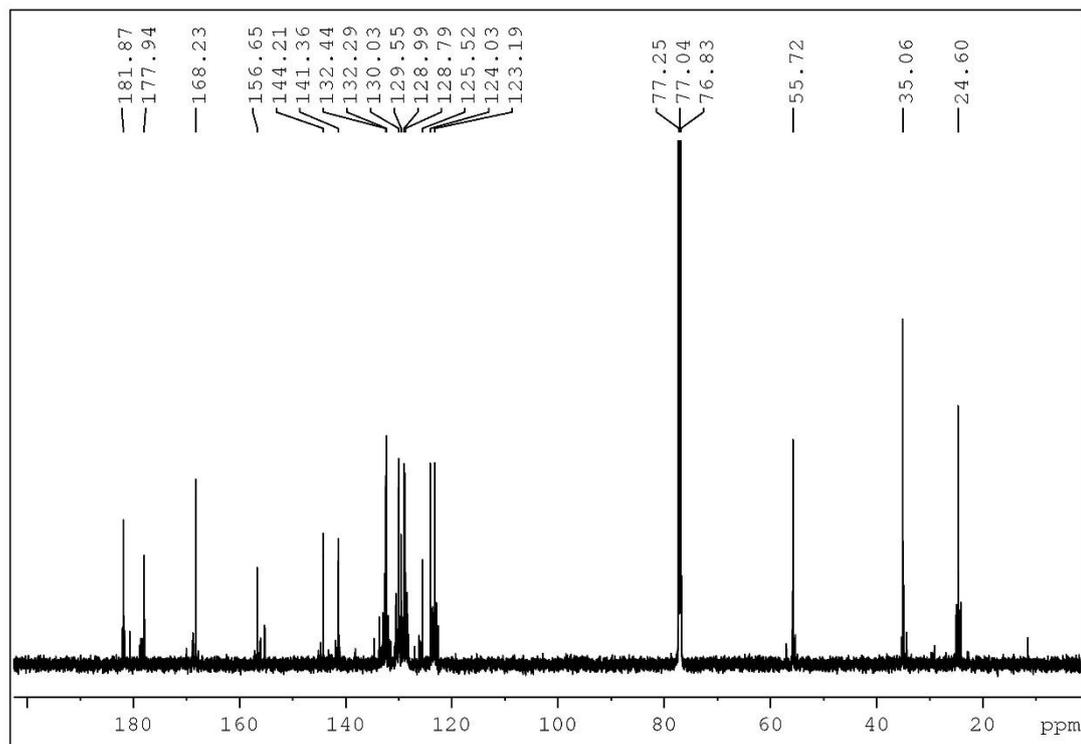


APÊNDICE C – Experimentos de RMN do [(DZP)PdOAc]₂ em CDCl₃.

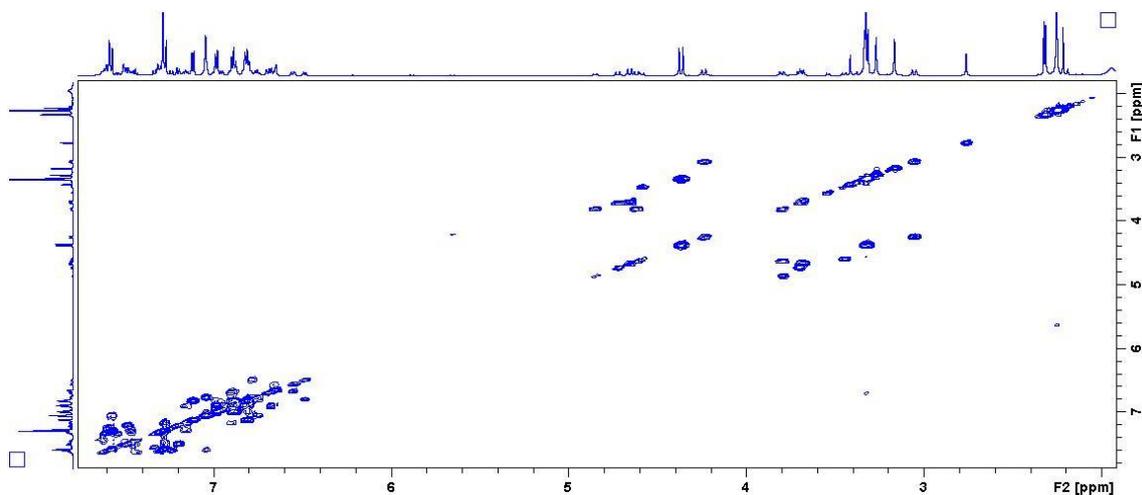
Espectro de RMN de ¹H



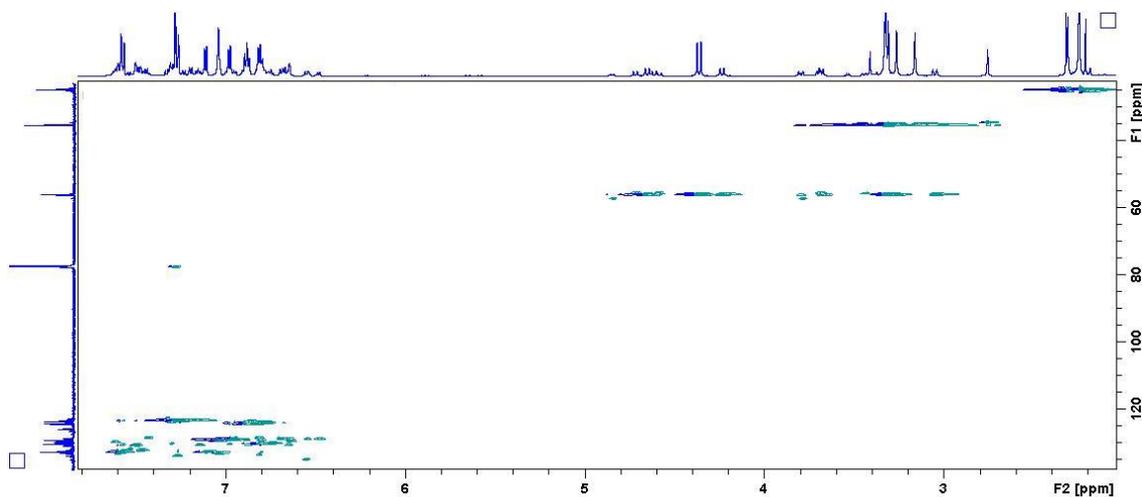
Espectro de RMN de ¹³C



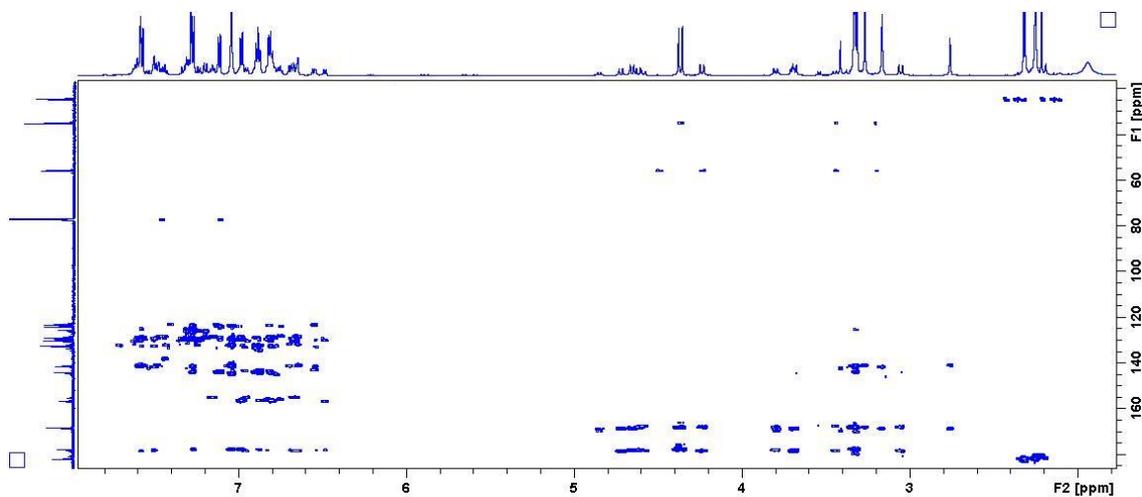
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

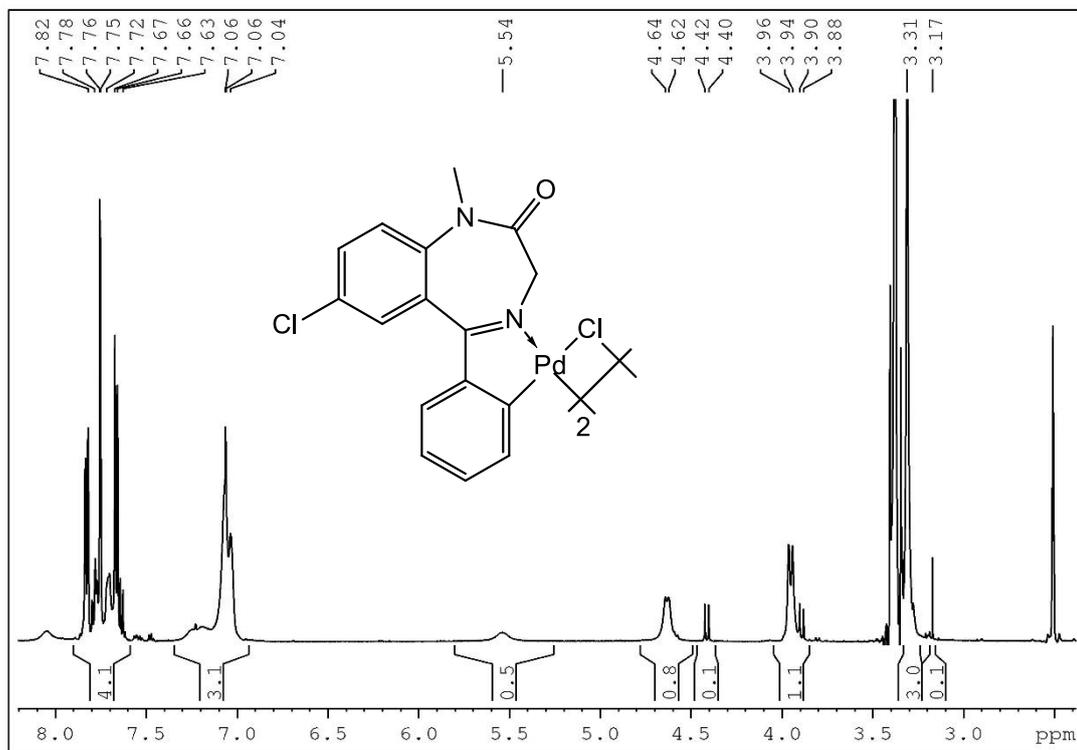


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

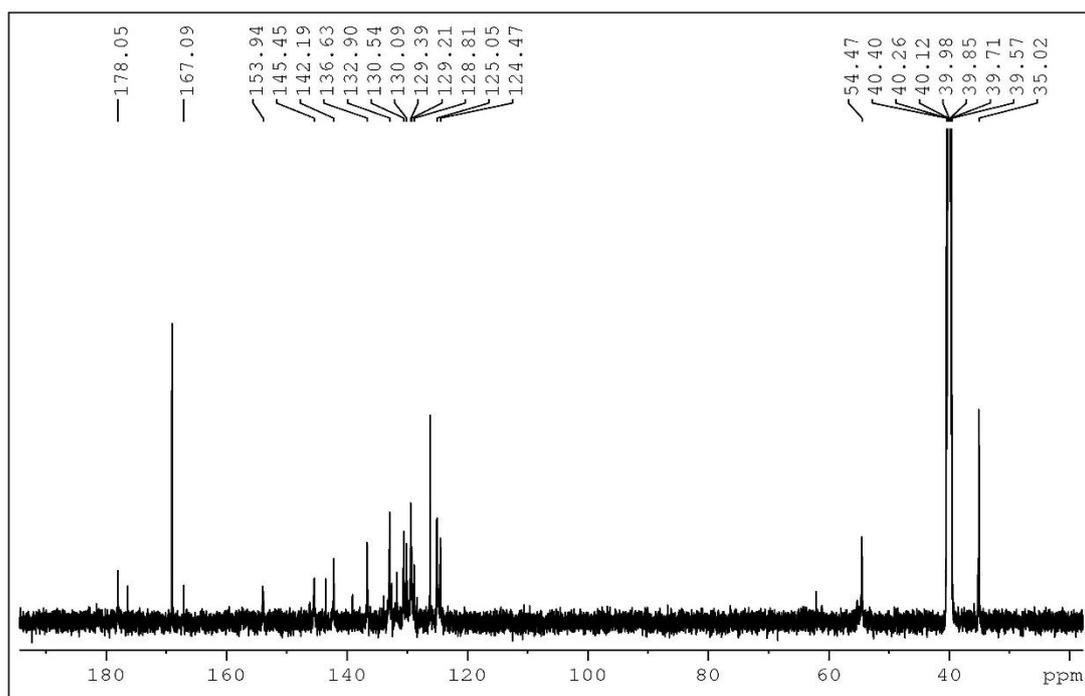


APÊNDICE D – Experimentos de RMN do [(DZP)PdCl]₂ em DMSO-d₆.

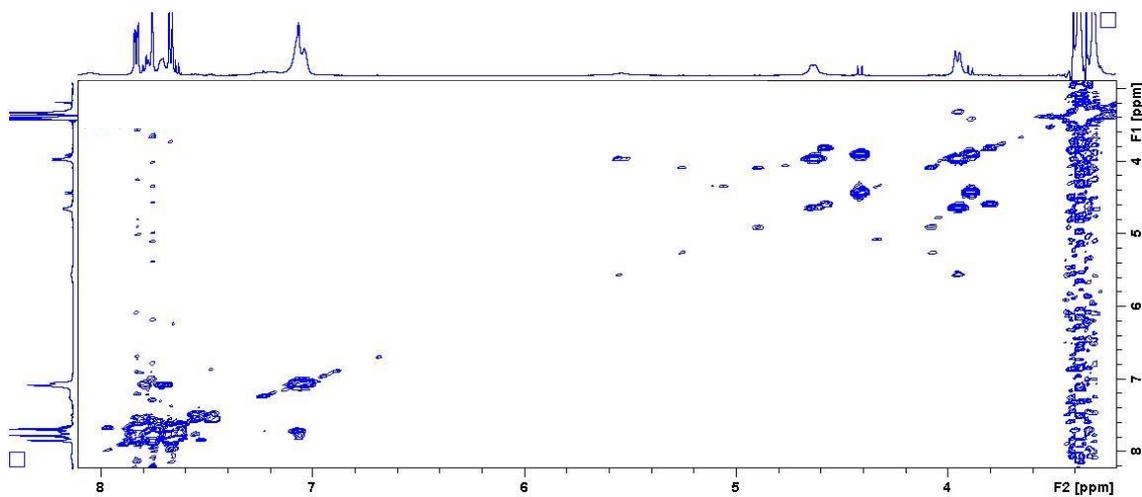
Espectro de RMN de ¹H



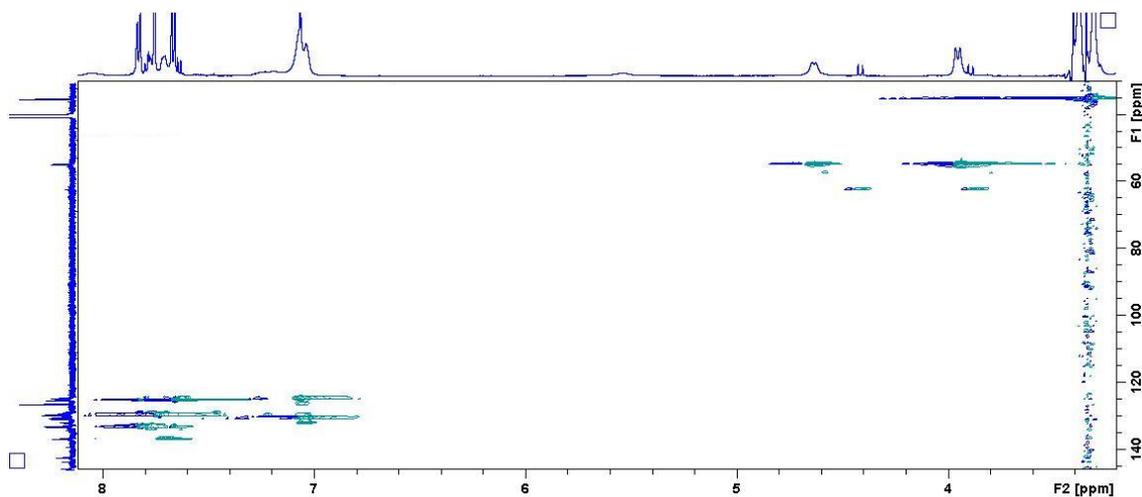
Espectro de RMN de ¹³C



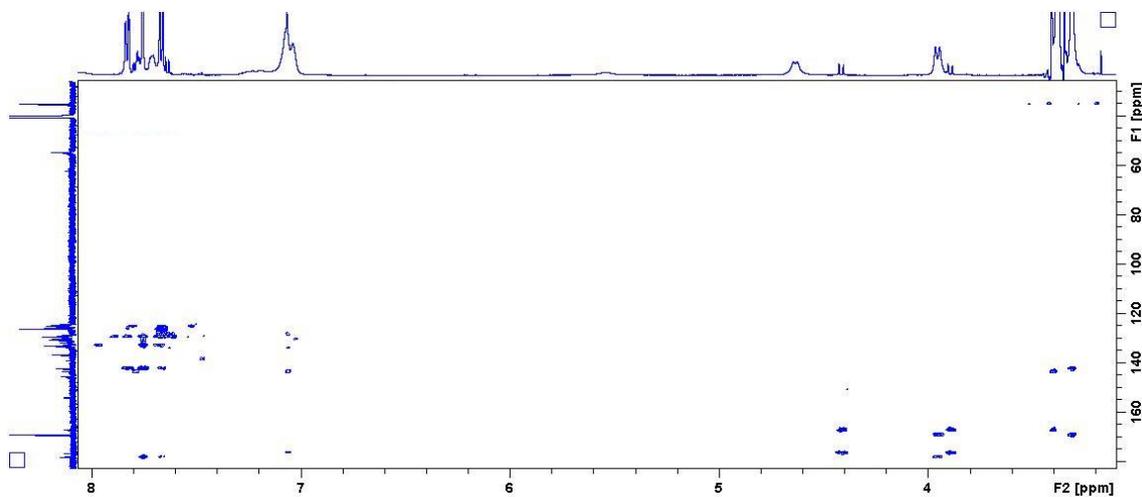
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



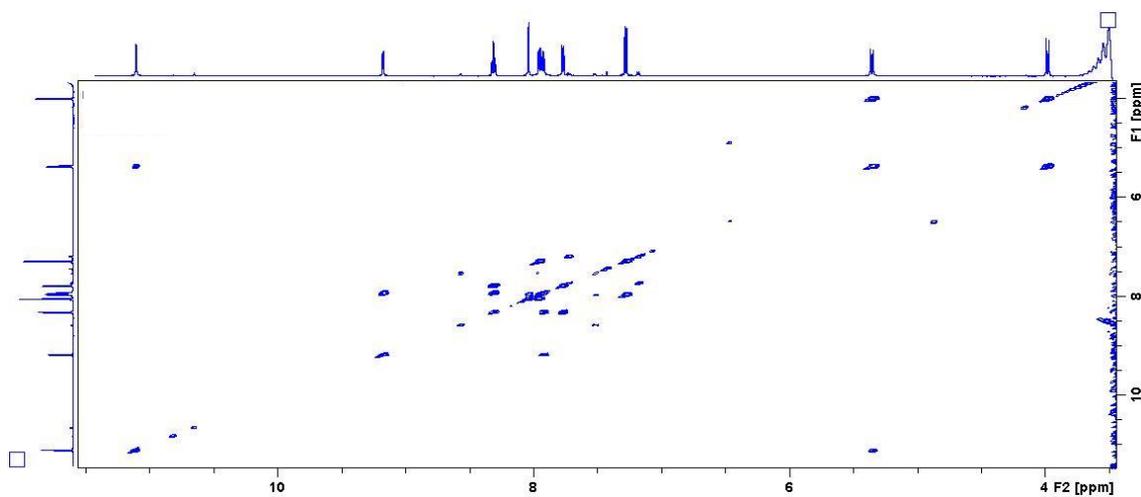
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC



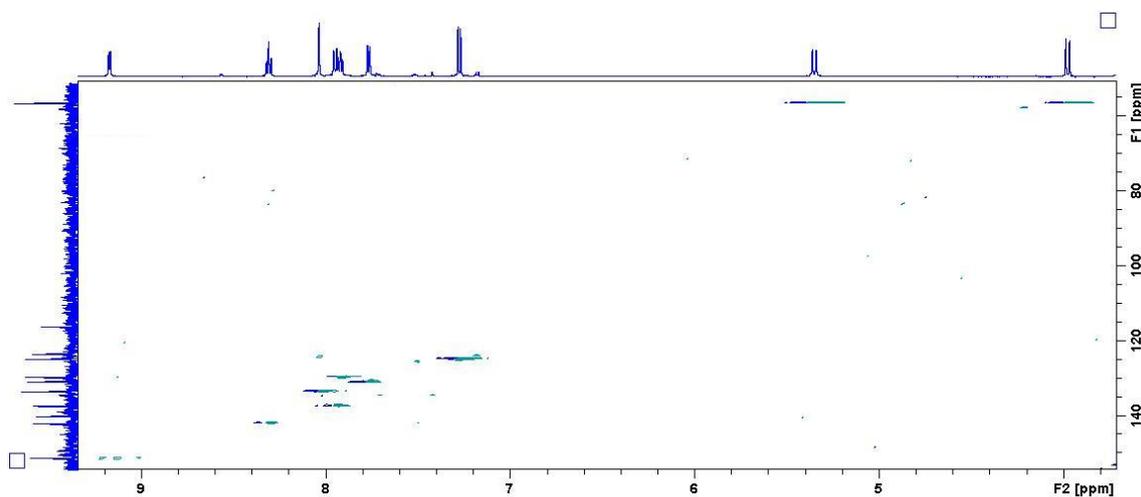
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC



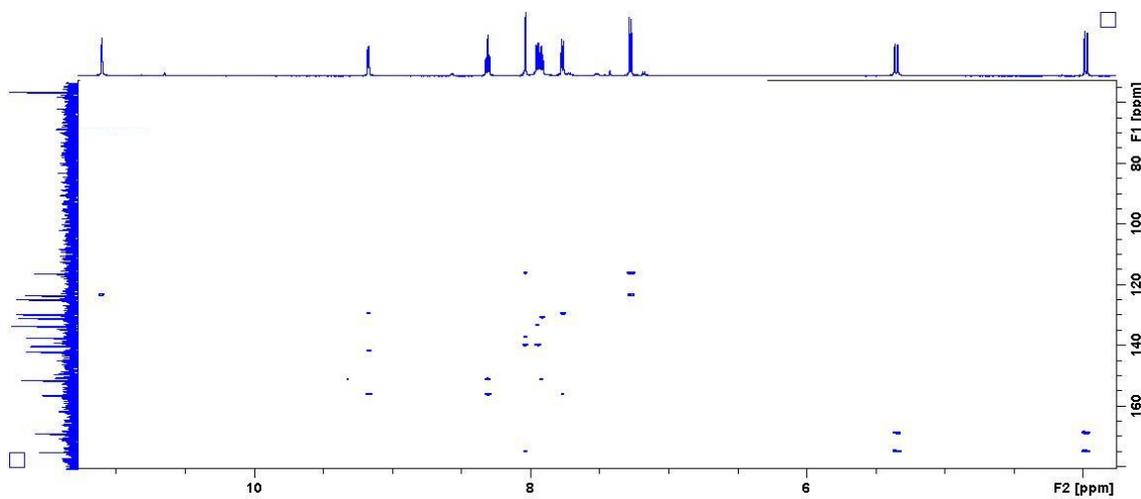
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

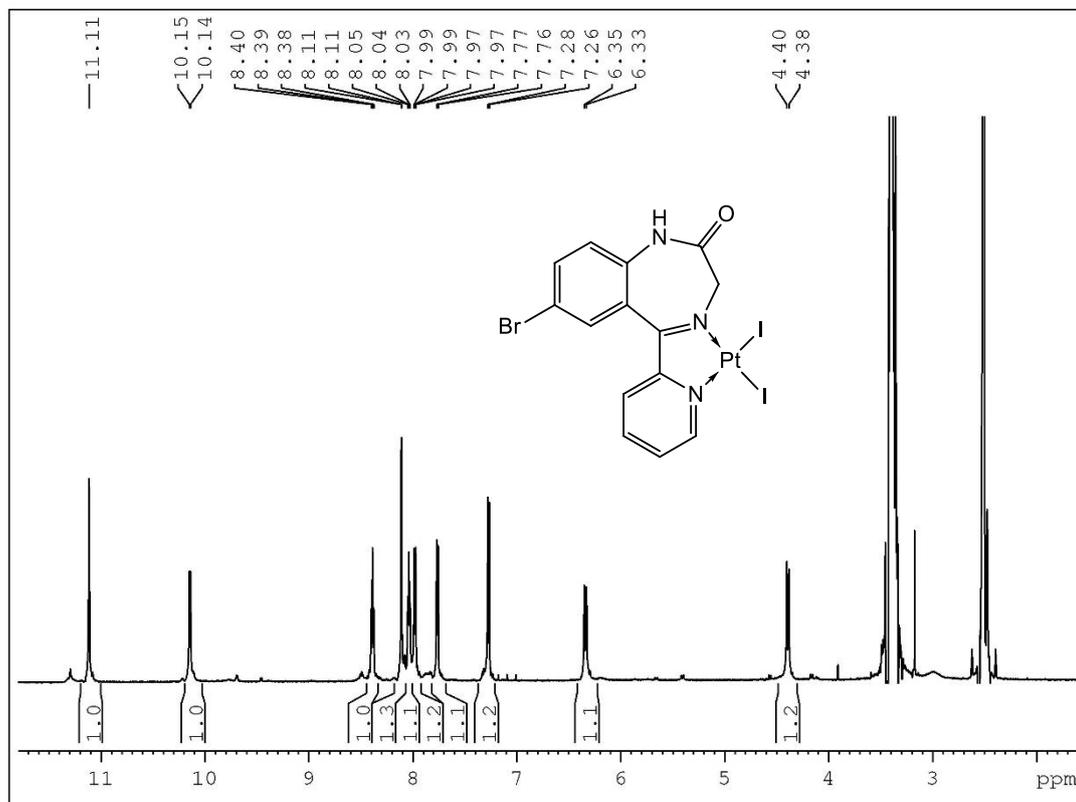


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

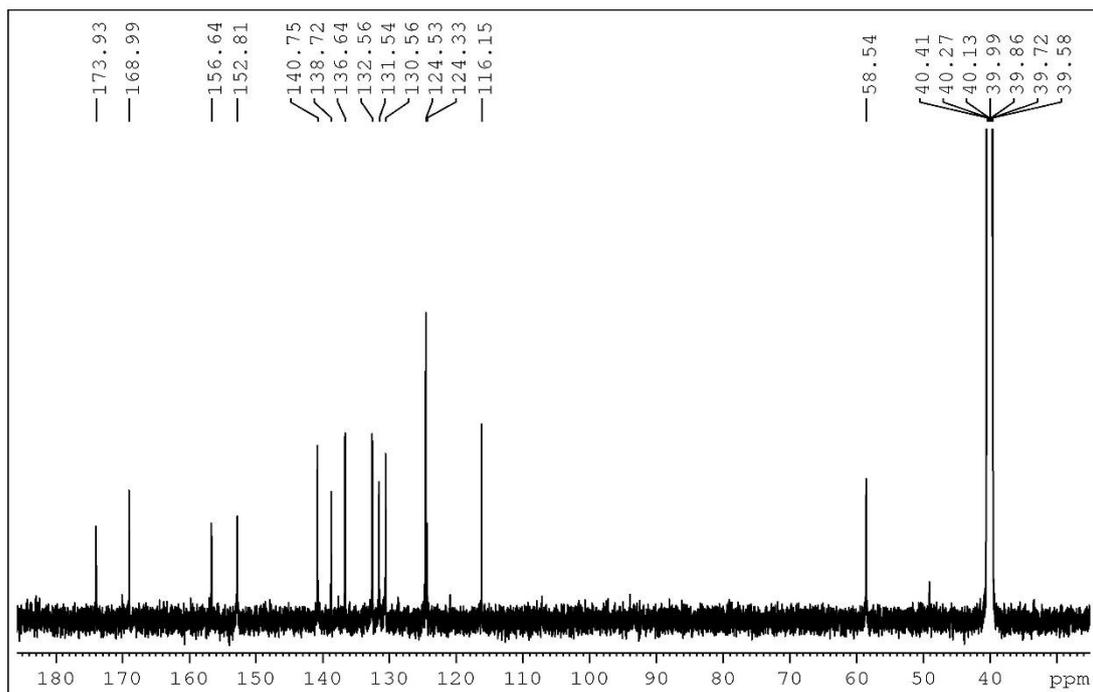


APÊNDICE F – Experimentos de RMN do [(BMZ)PtI₂] em DMSO-d₆.

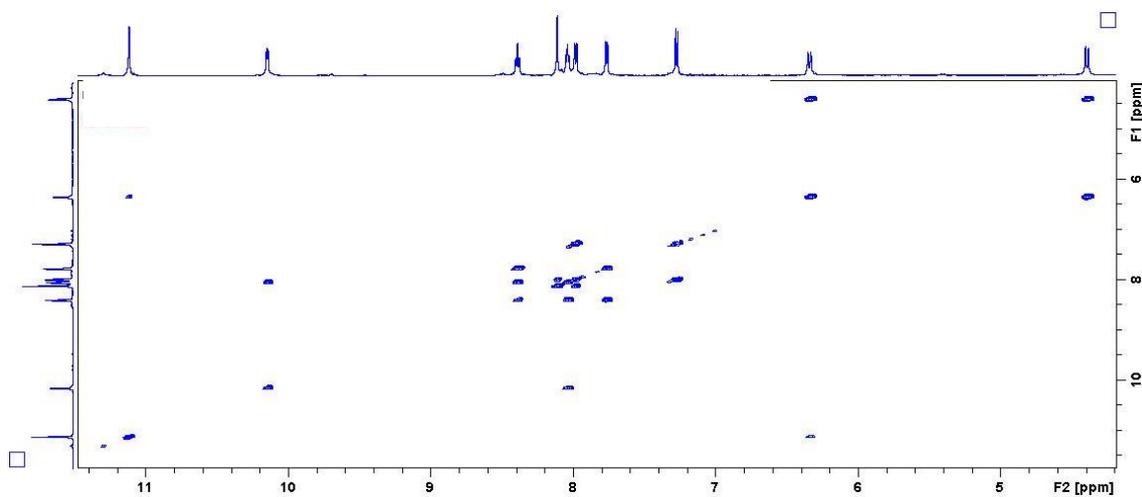
Espectro de RMN de ¹H



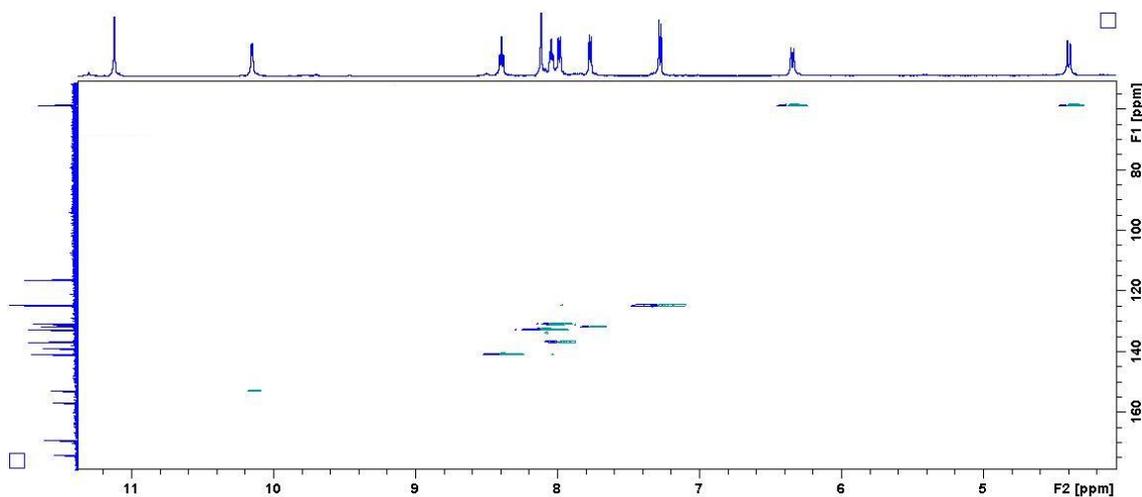
Espectro de RMN de ¹³C



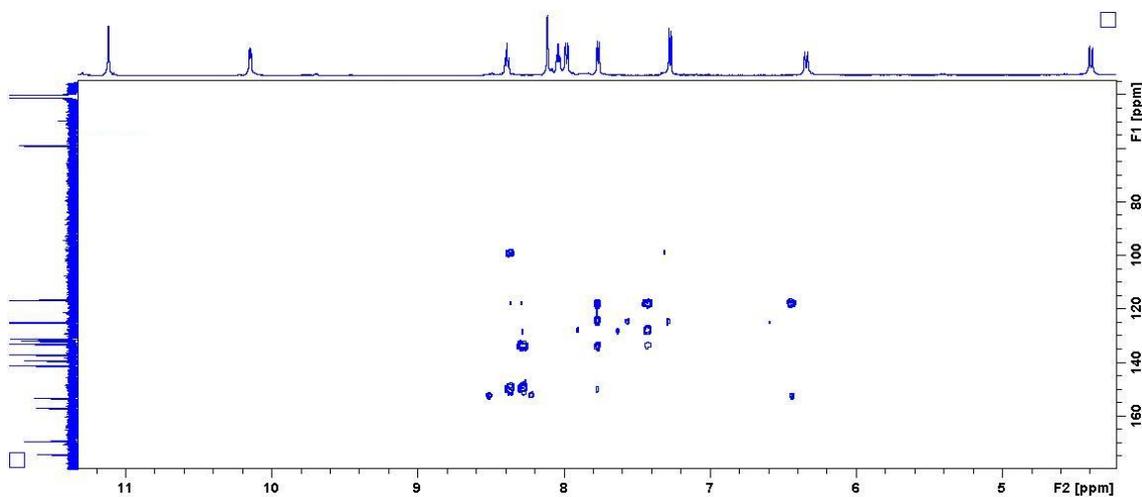
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

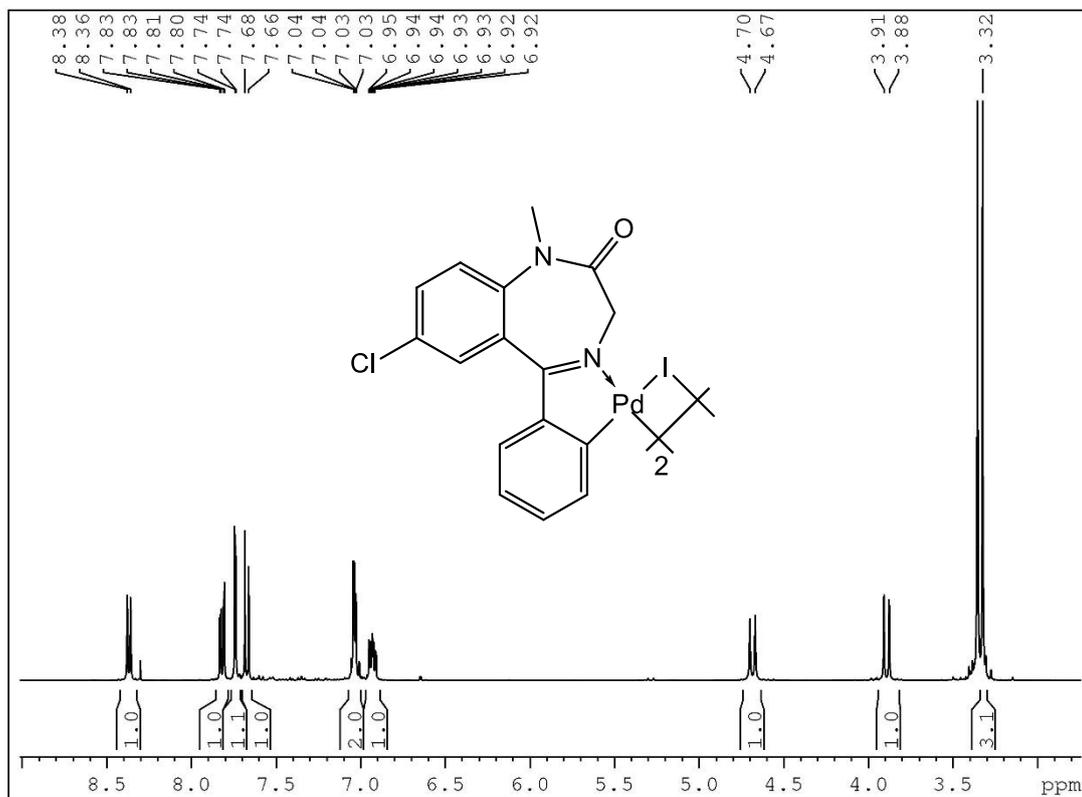


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

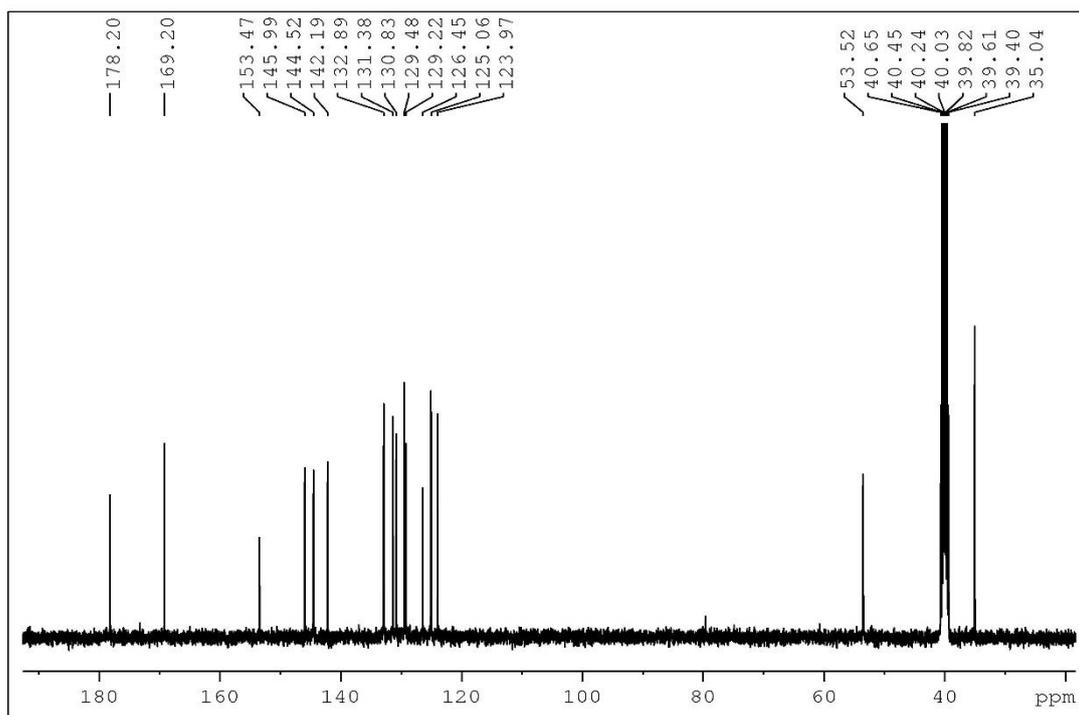


APÊNDICE G – Experimentos de RMN do [(DZP)PdI]₂ em DMSO-d₆.

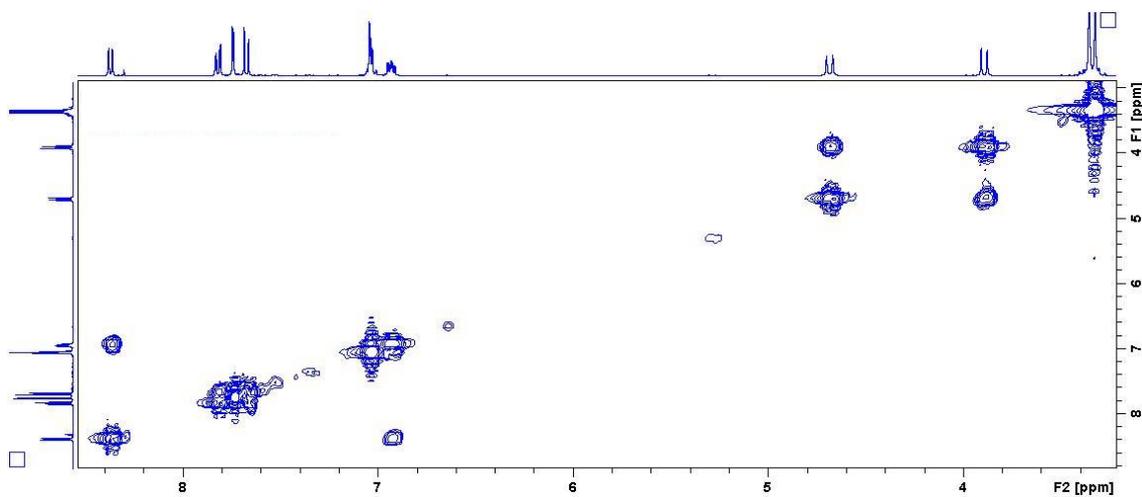
Espectro de RMN de ¹H



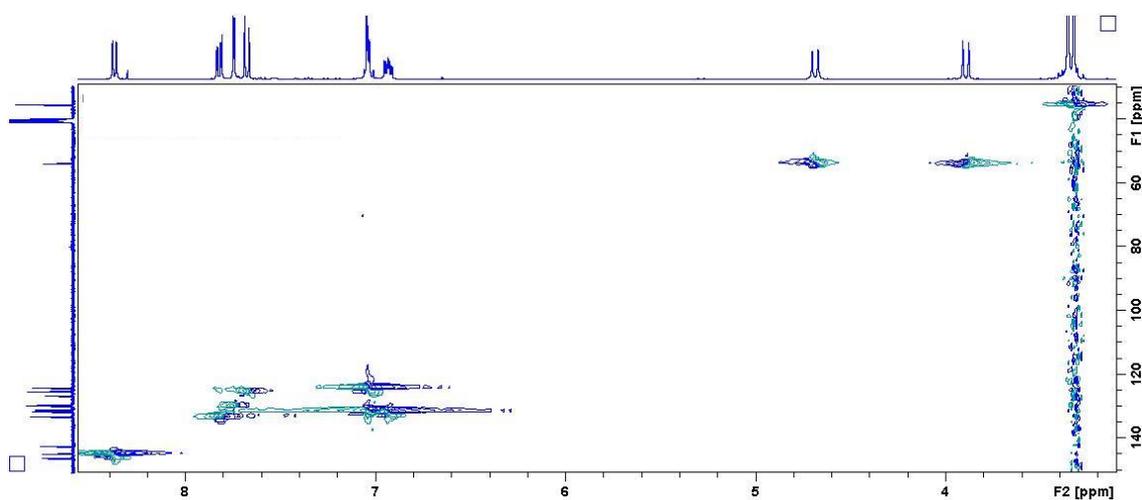
Espectro de RMN de ¹³C



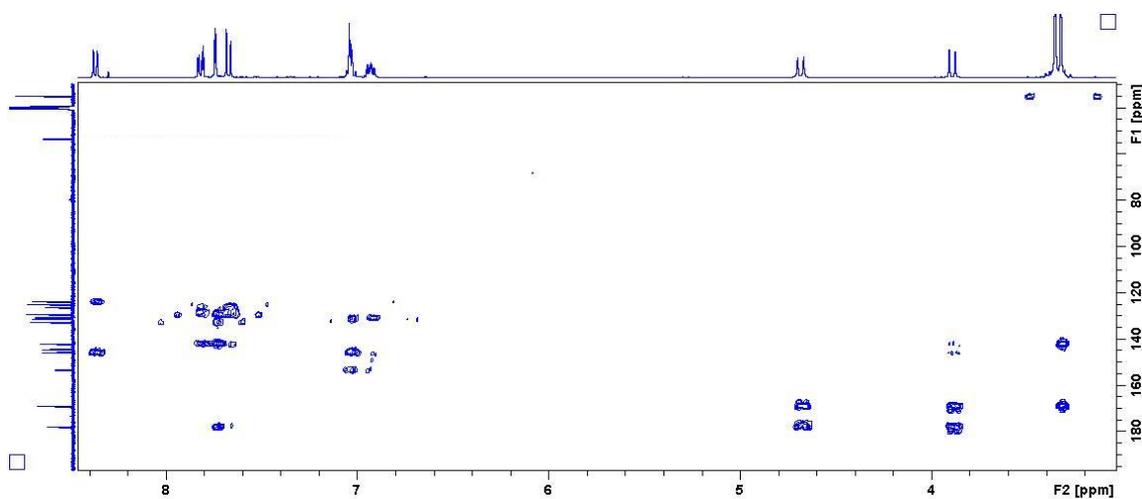
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

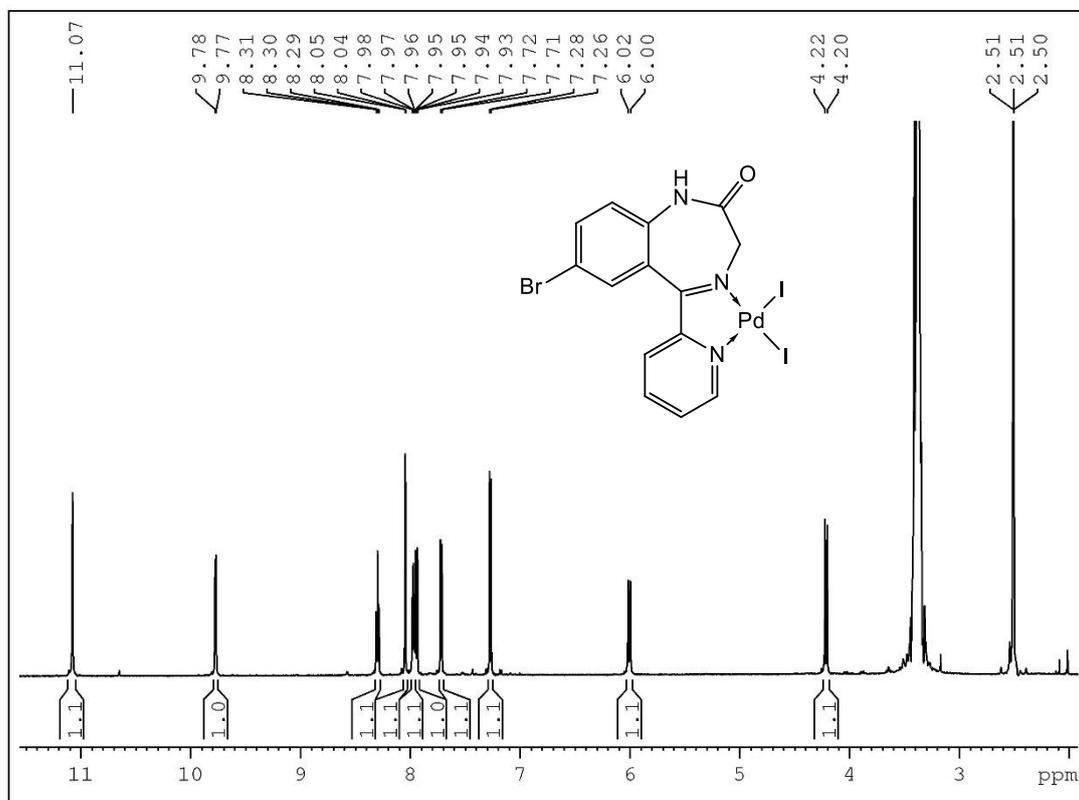


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

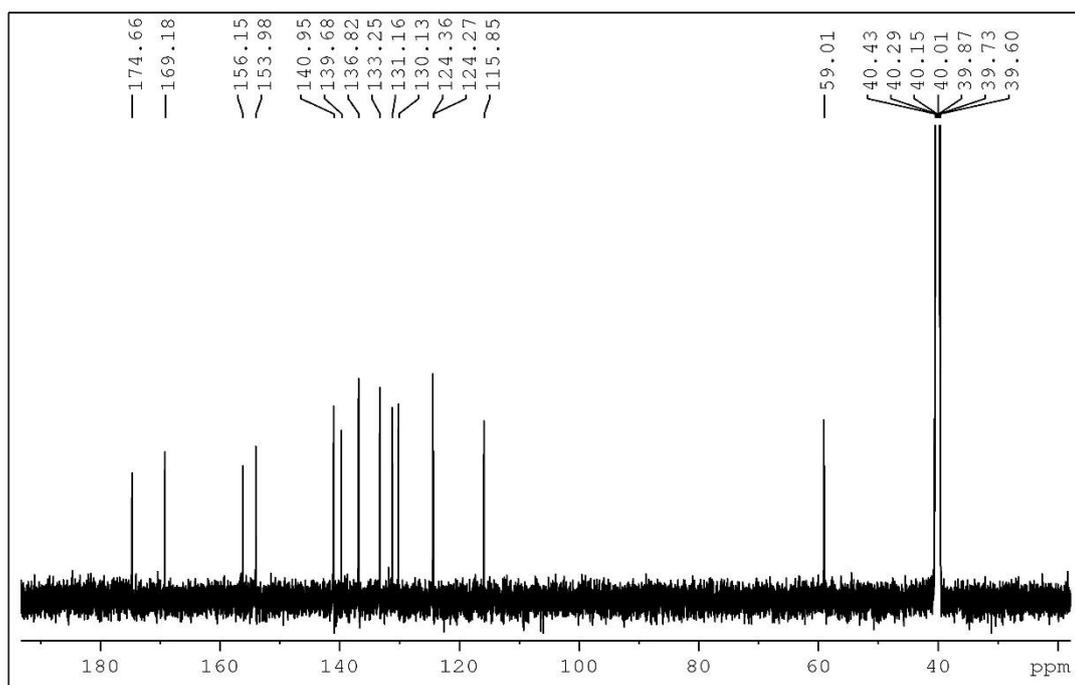


APÊNDICE H – Experimentos de RMN do [(BMZ)PdI₂] em DMSO-d₆.

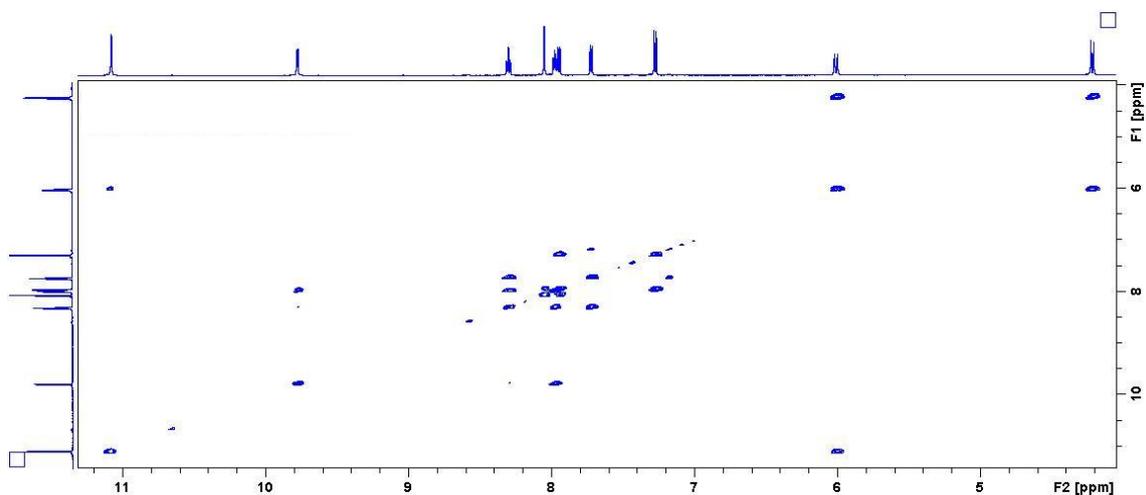
Espectro de RMN de ¹H



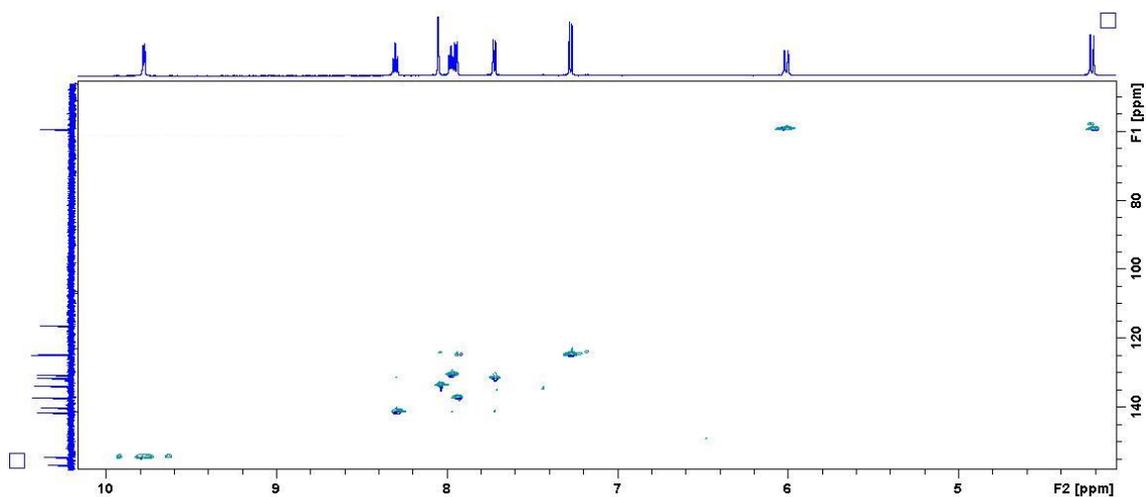
Espectro de RMN de ¹³C



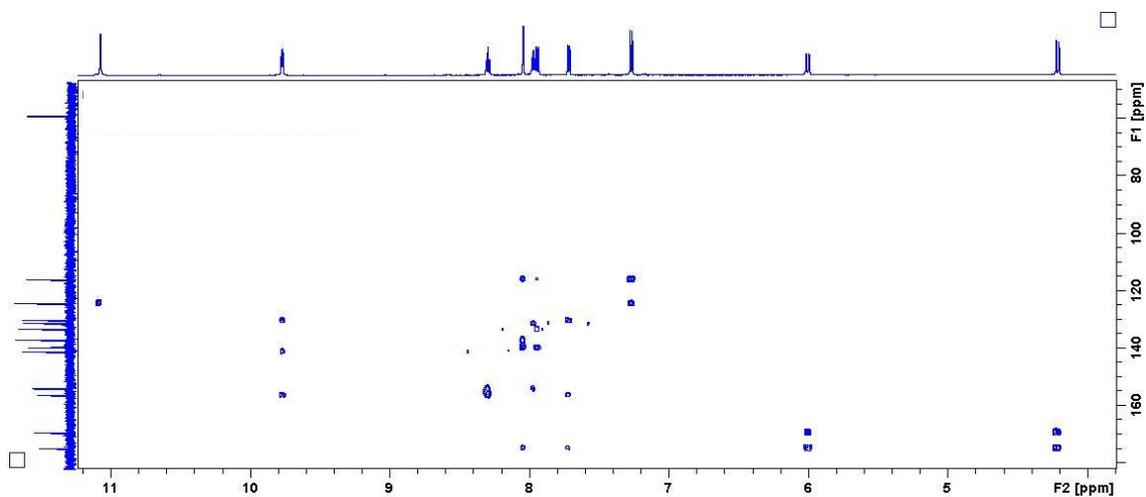
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

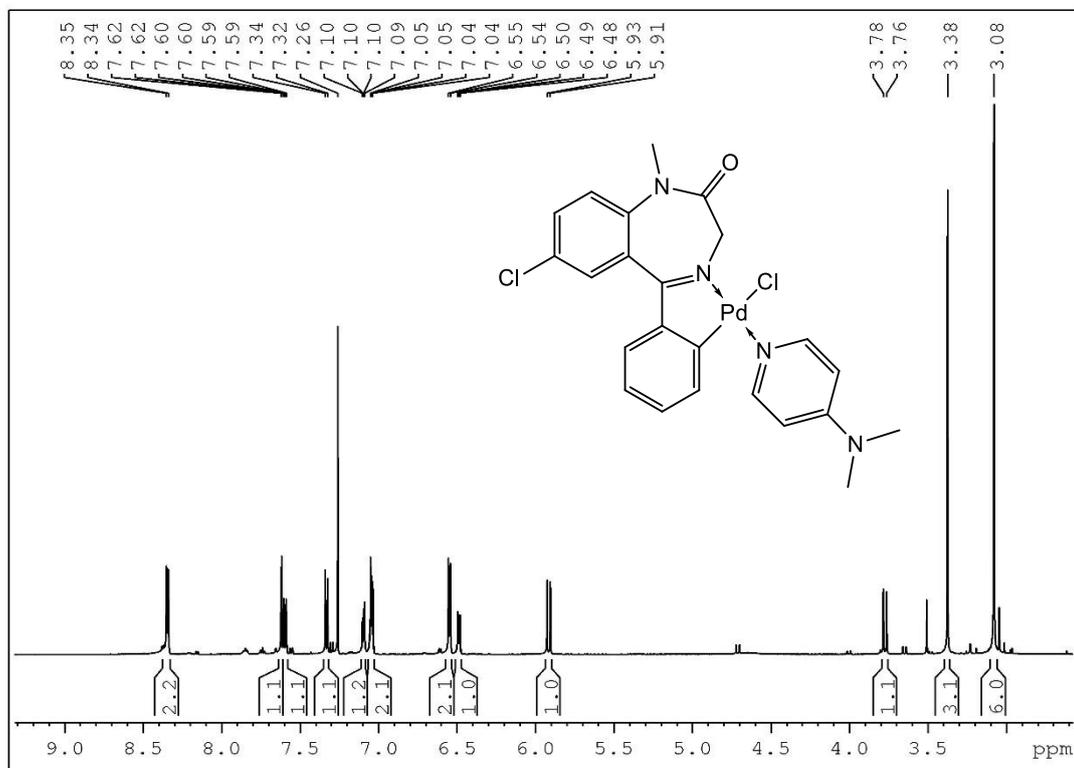


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

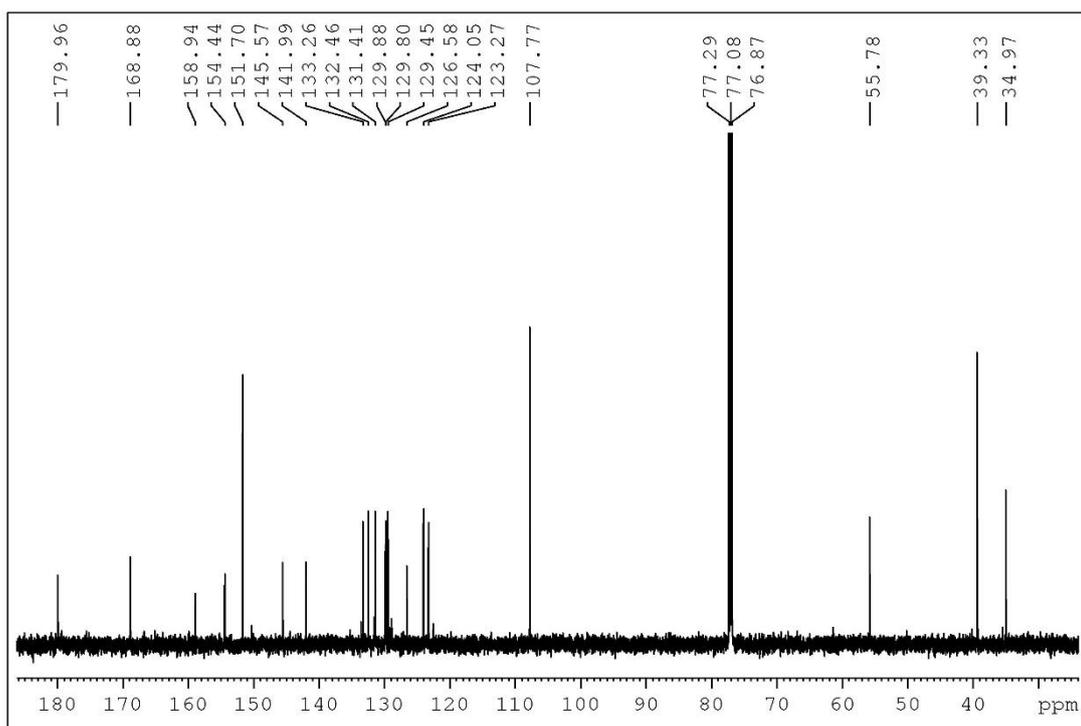


APÊNDICE I – Experimentos de RMN do [(DZP)PdCIDMAP] em CDCl₃.

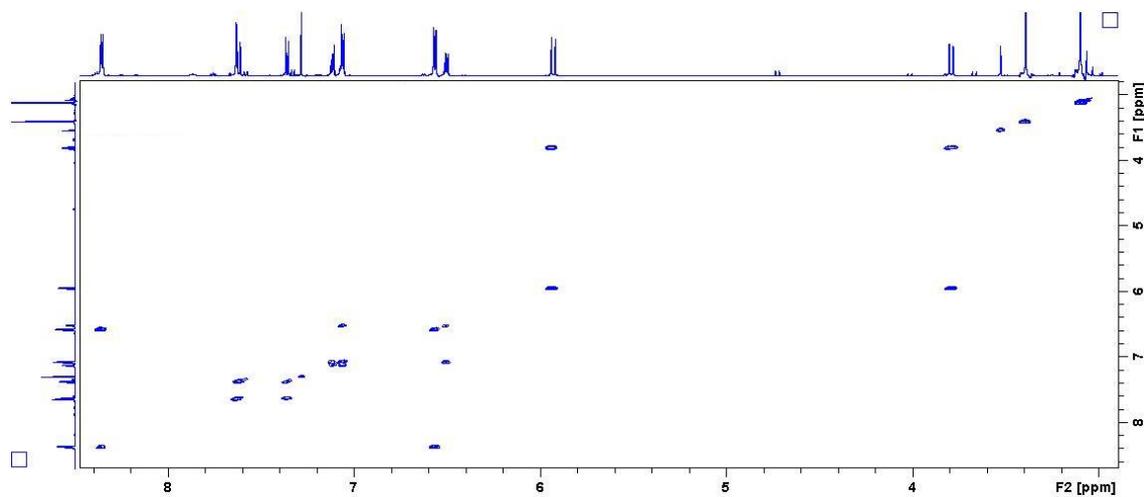
Espectro de RMN de ¹H



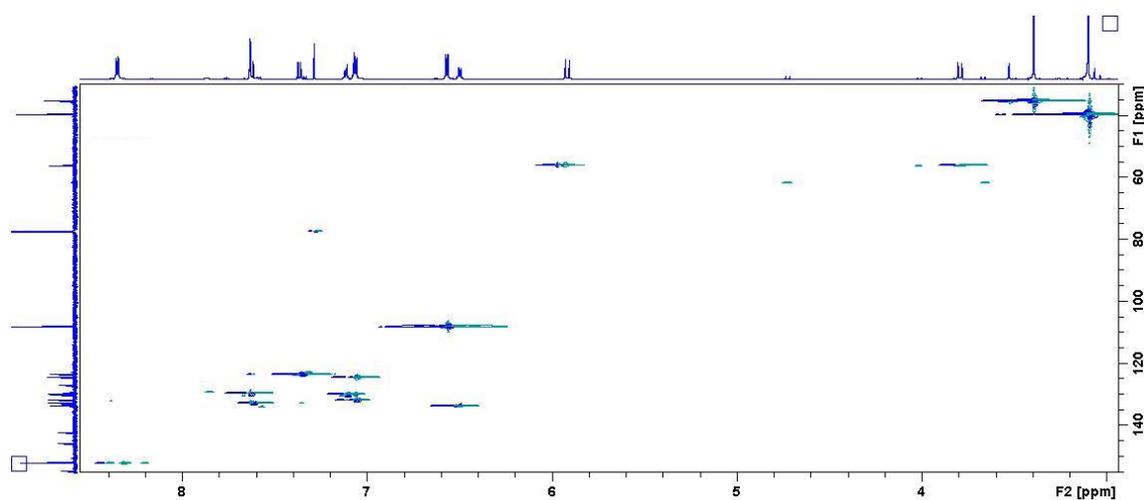
Espectro de RMN de ¹³C



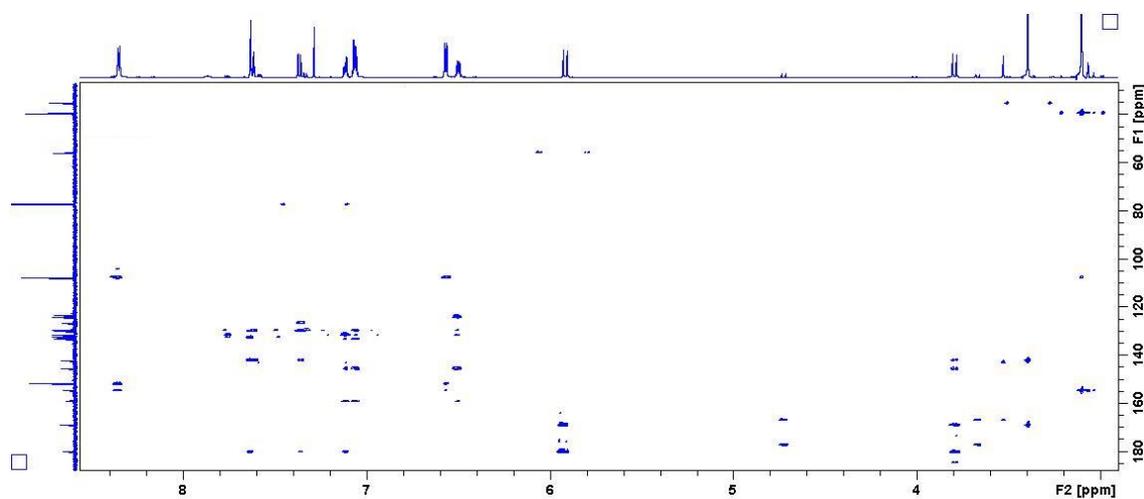
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

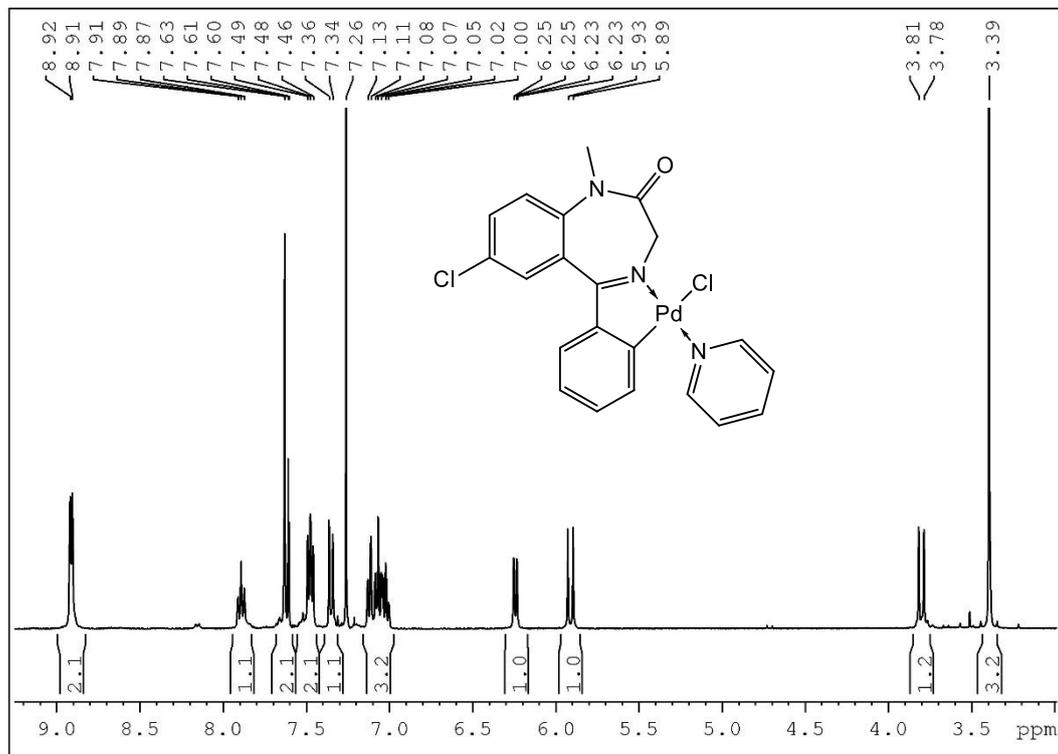


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

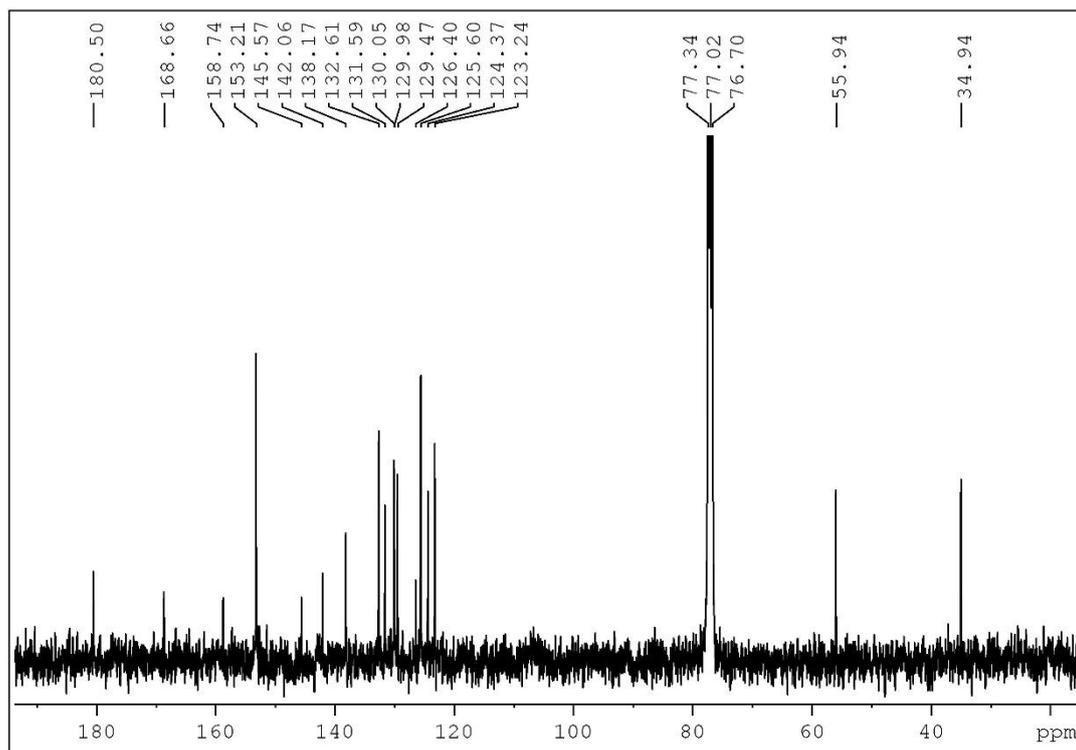


APÊNDICE J – Experimentos de RMN do [(DZP)PdClPy] em CDCl₃.

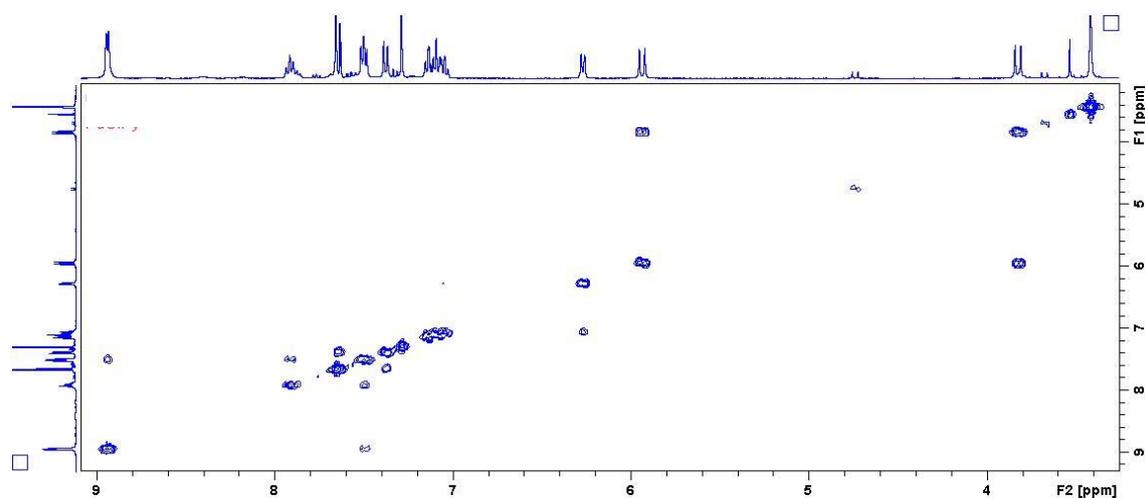
Espectro de RMN de ¹H



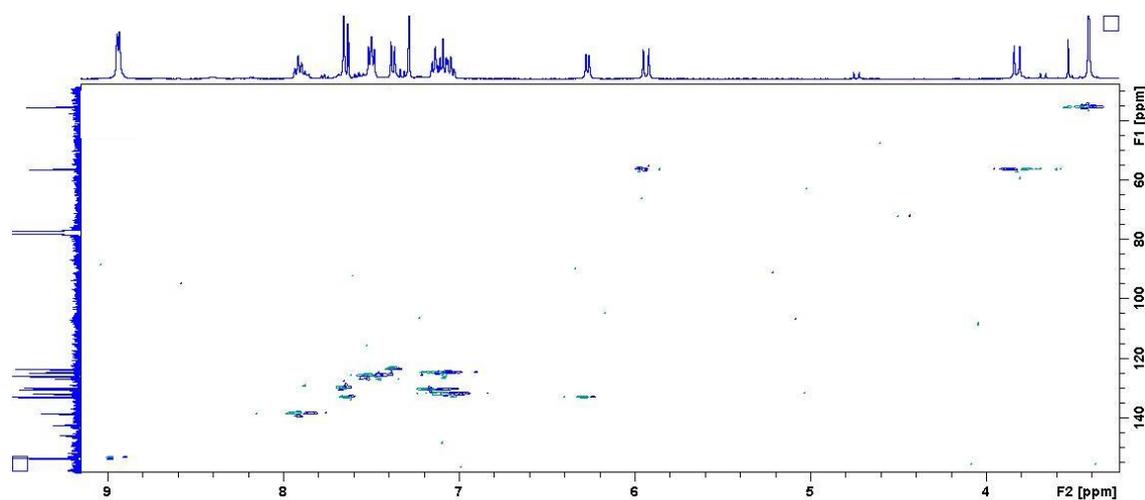
Espectro de RMN de ¹³C



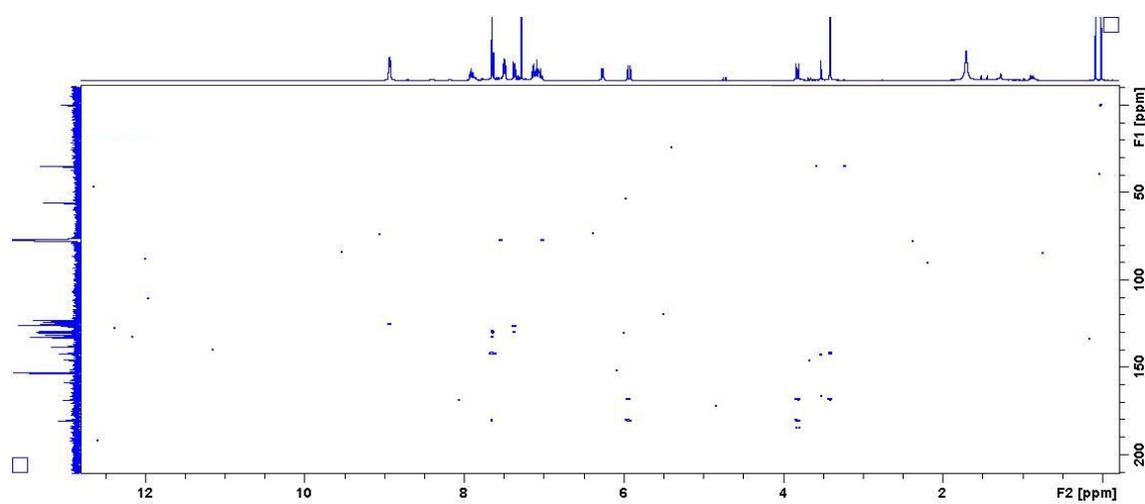
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY

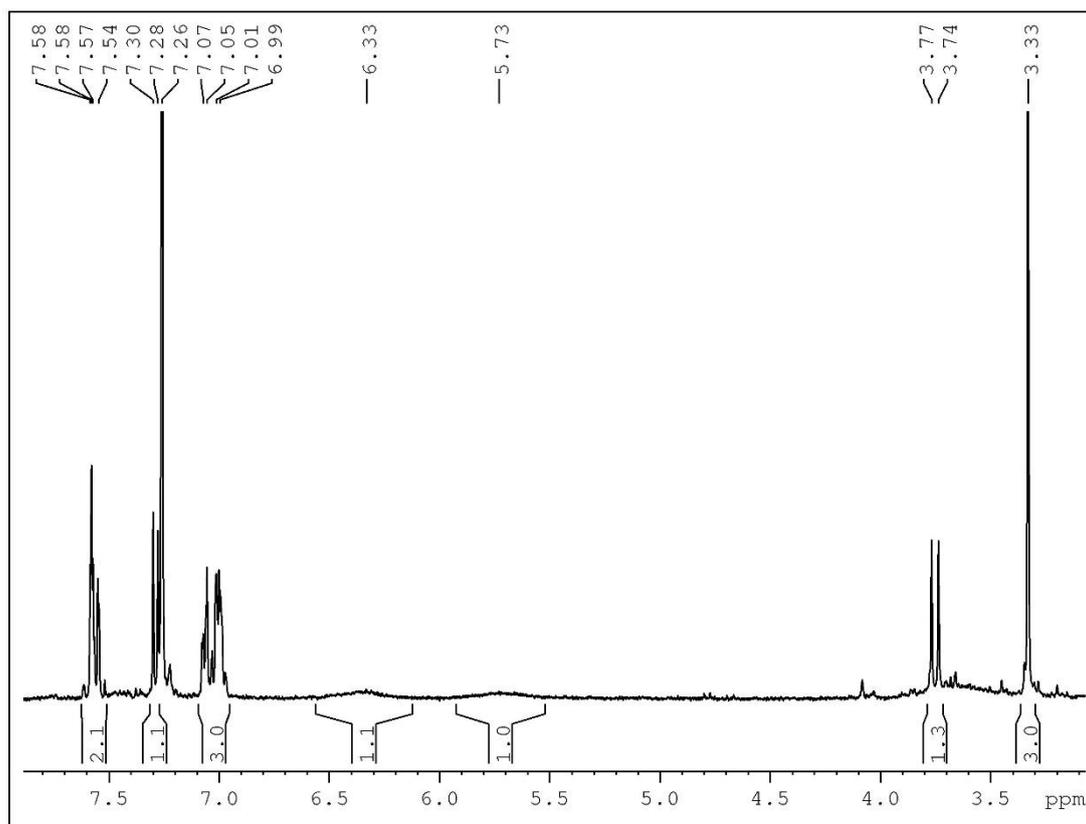


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC



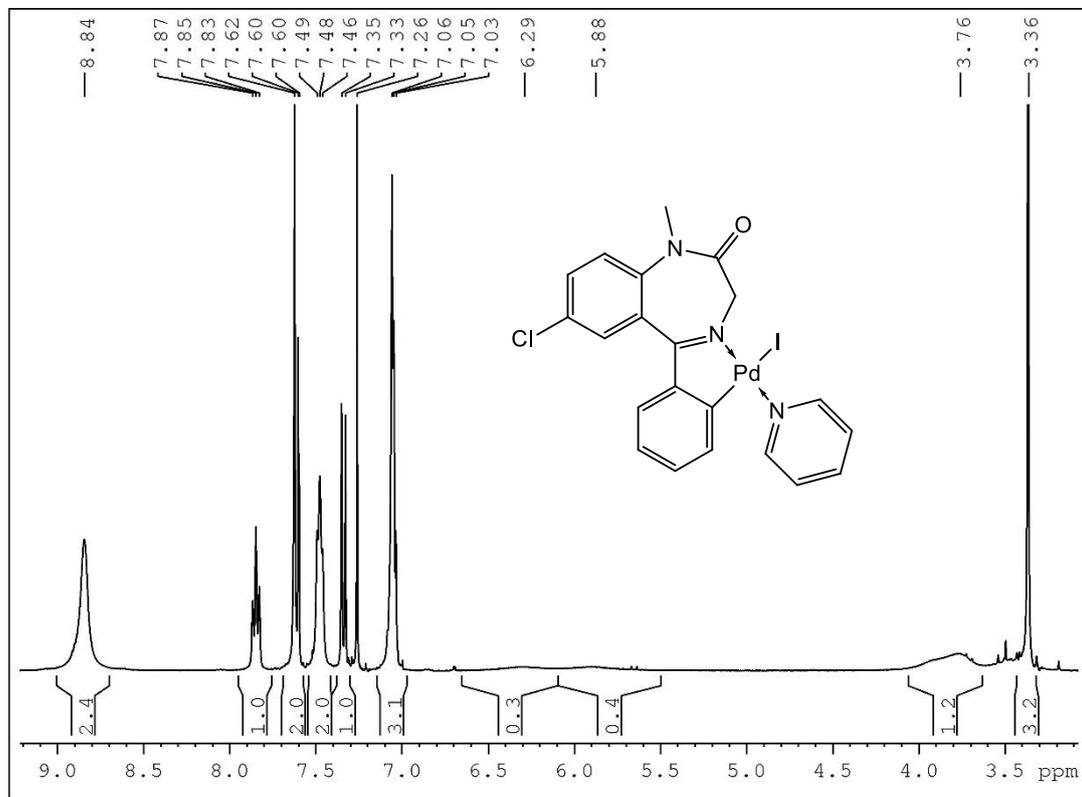
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC



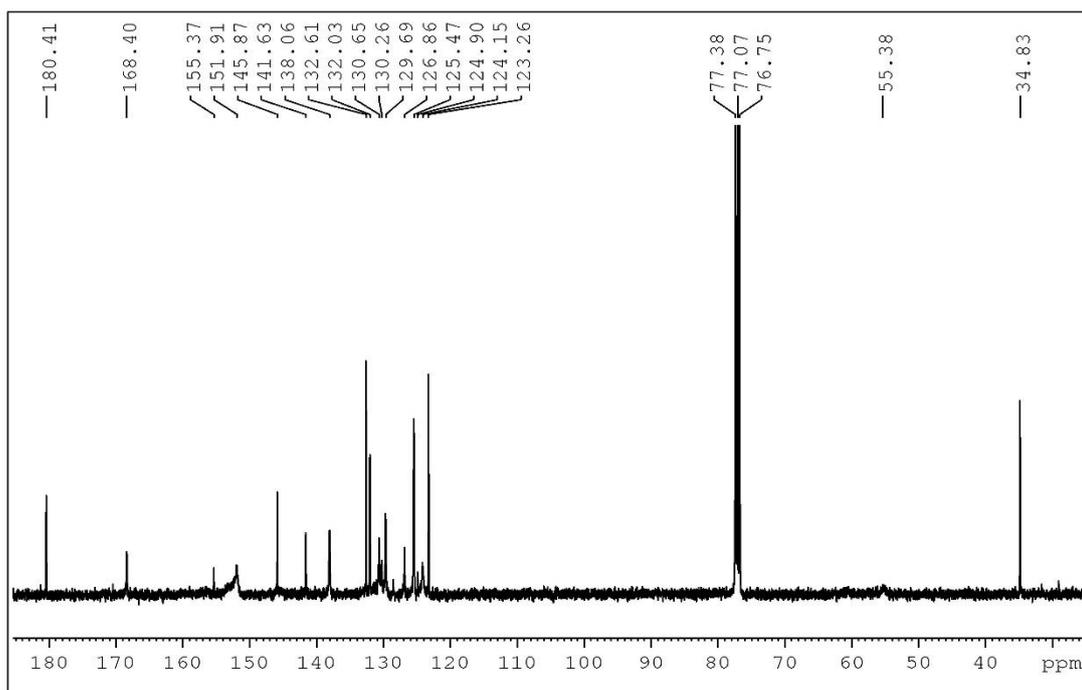
Espectro de RMN de ^1H do dímero $[(\text{DZP})\text{PdCl}]_2$ com piridina deuterada em CDCl_3 

APÊNDICE K – Experimentos de RMN do [(DZP)PdIPy] em CDCl₃.

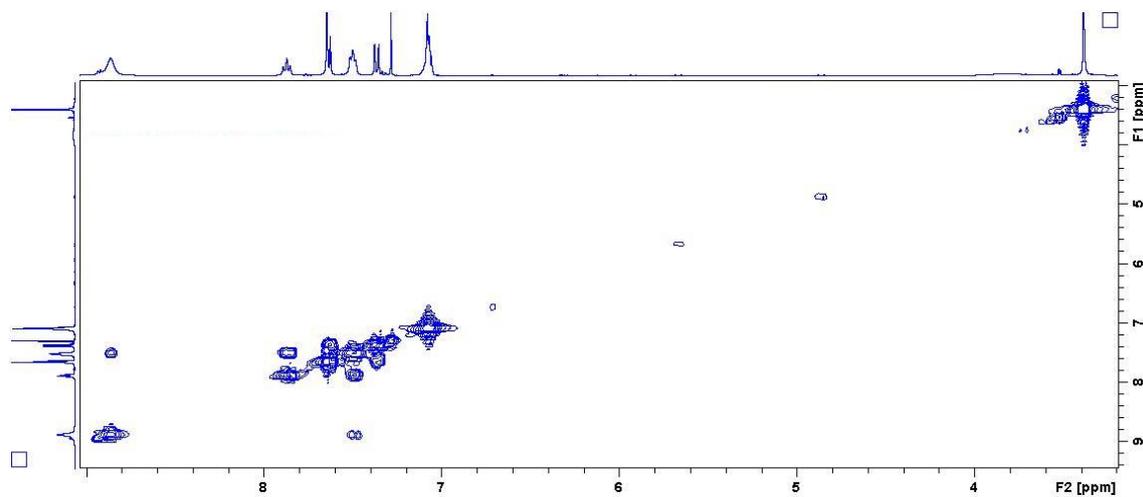
Espectro de RMN de ¹H



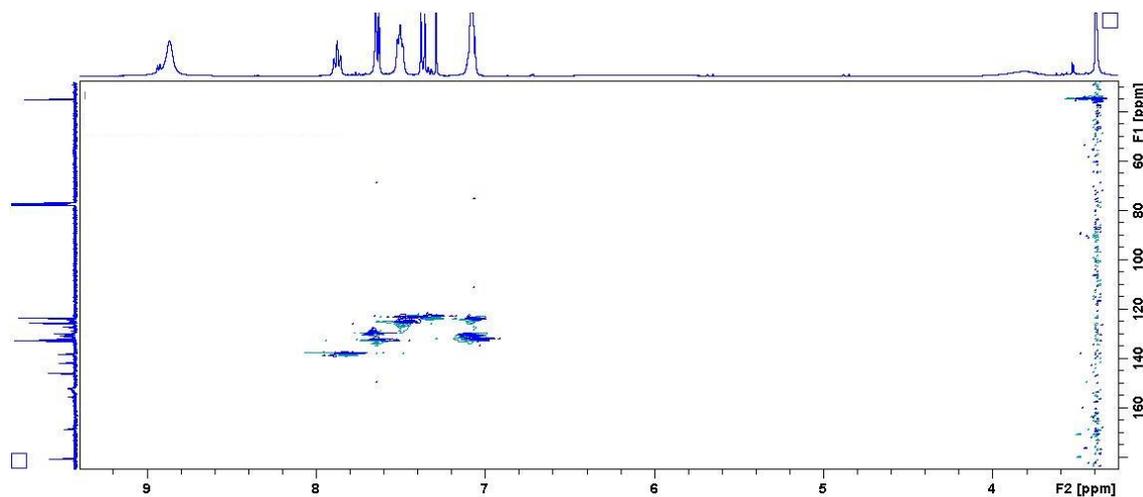
Espectro de RMN de ¹³C



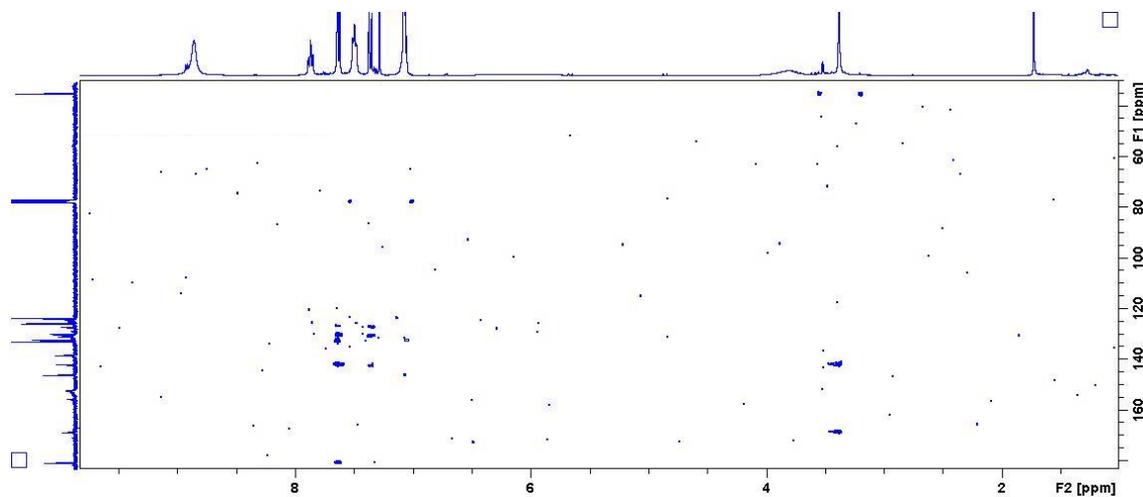
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



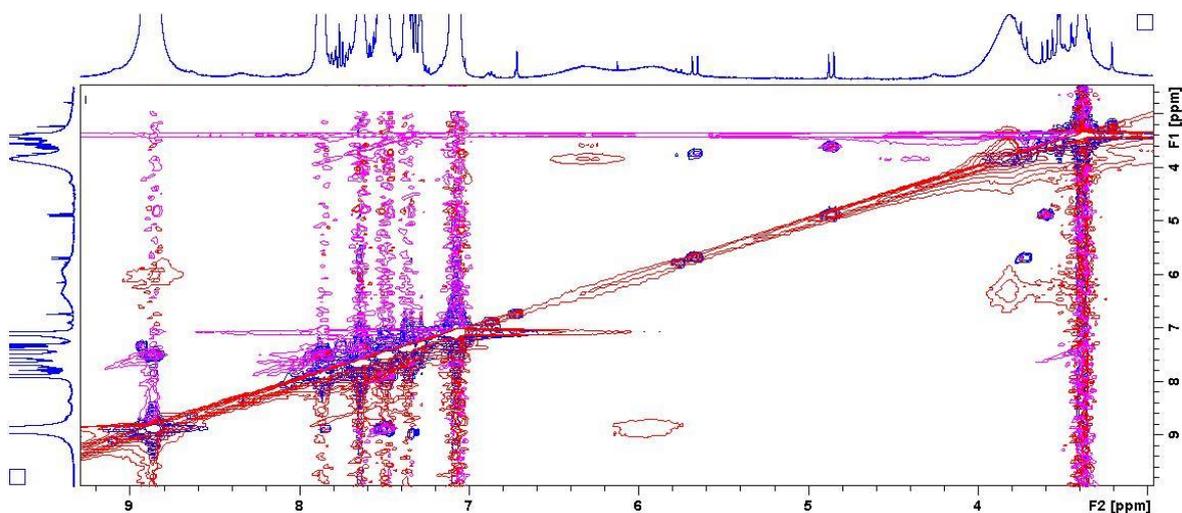
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC



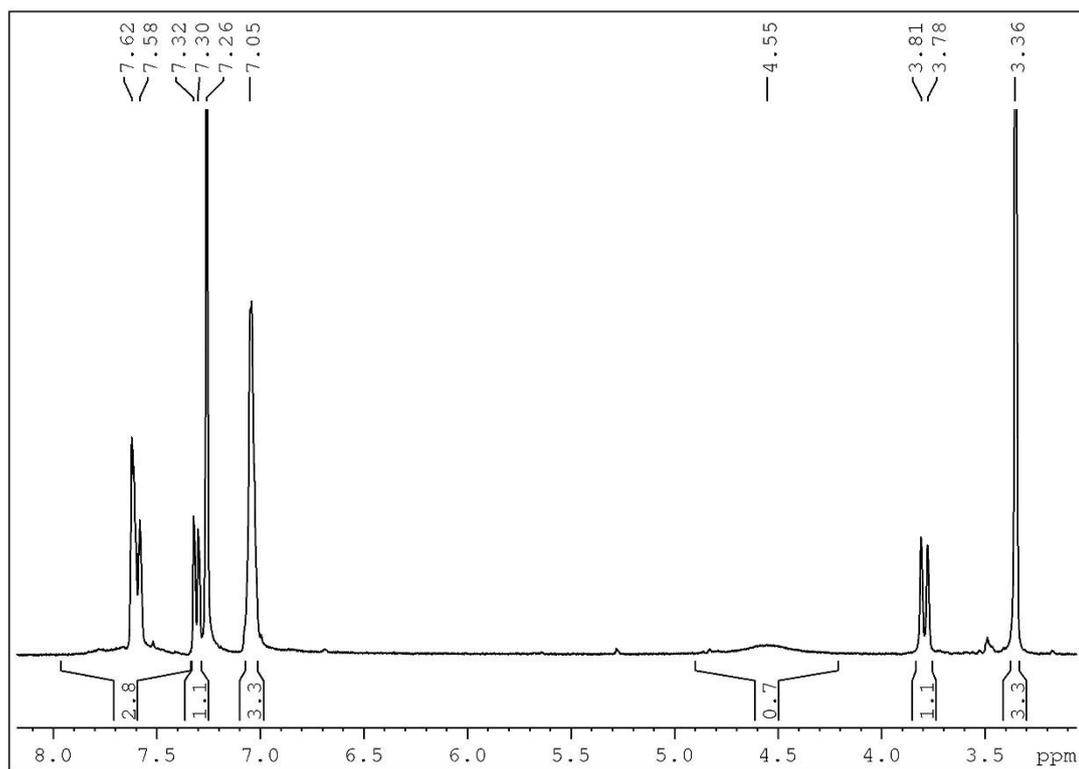
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC



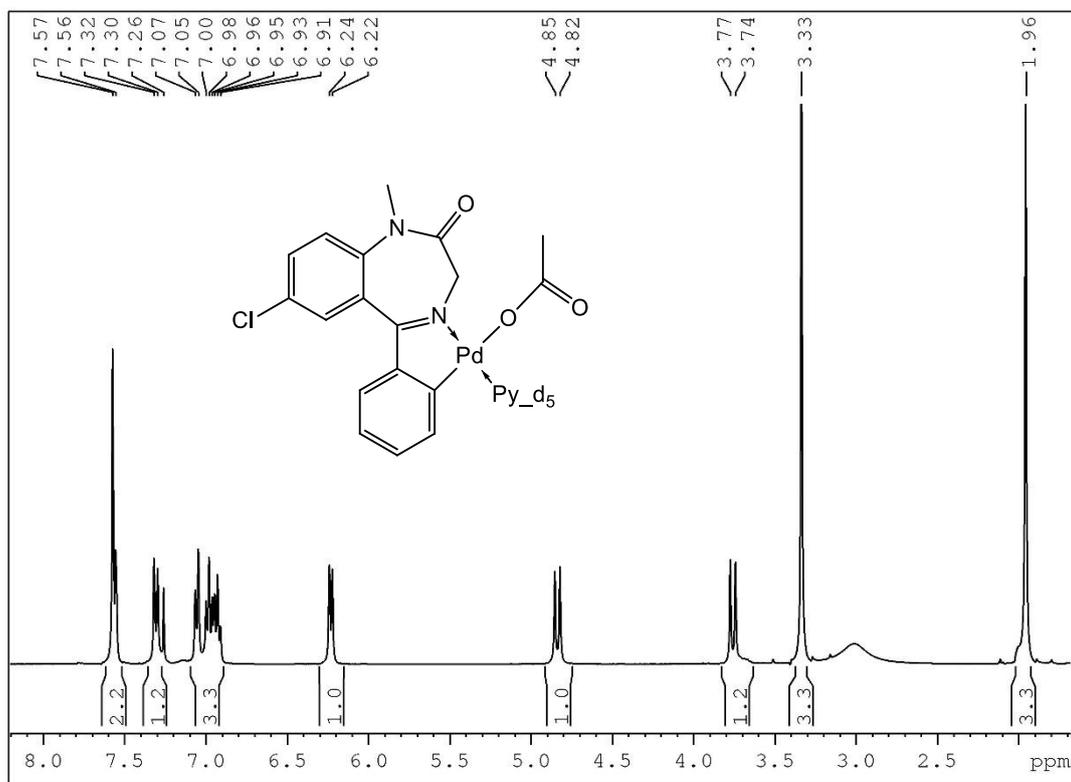
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY sobreposto com o experimento NOESY



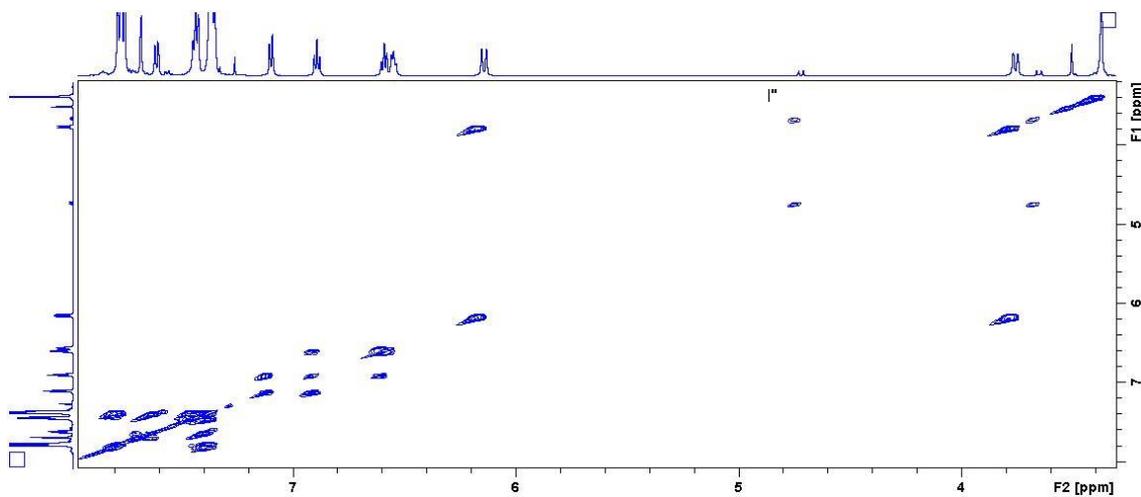
Espectro de RMN de ^1H do dímero $[(\text{DZP})\text{PdI}]_2$ com piridina deuterada em CDCl_3



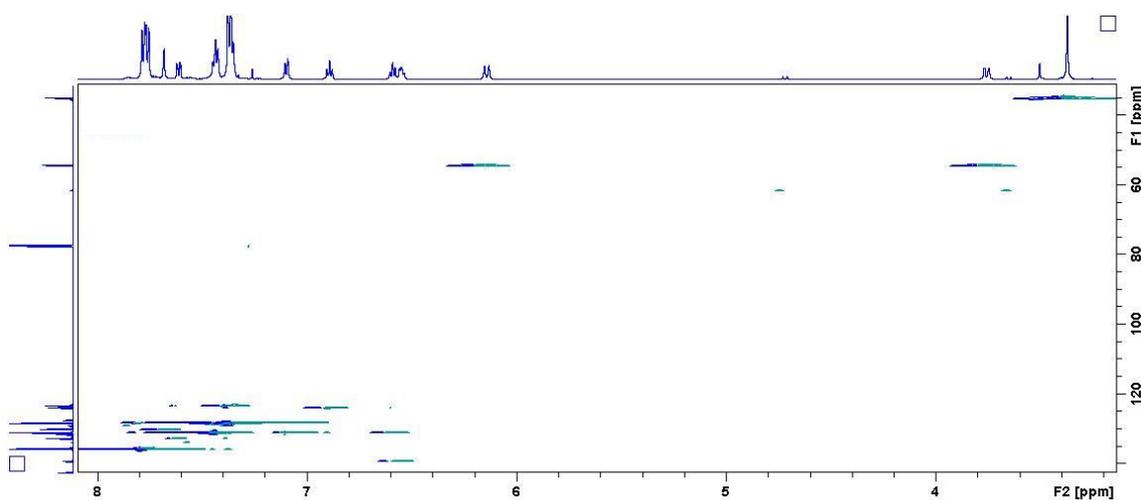
APÊNDICE L – Espectro de RMN de ^1H do dímero $[(\text{DZP})\text{PdOAc}]_2$ com piridina deuterada em CDCl_3 .



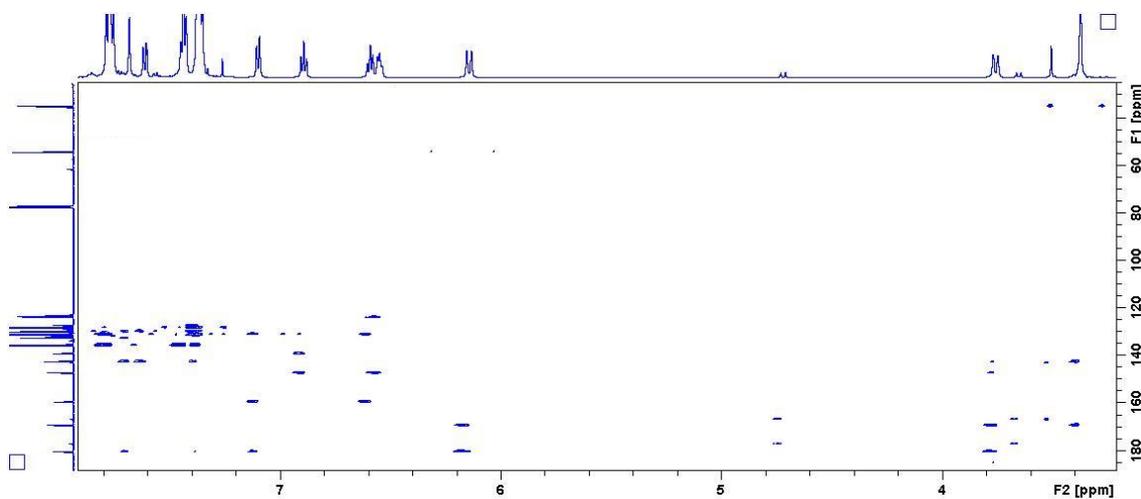
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



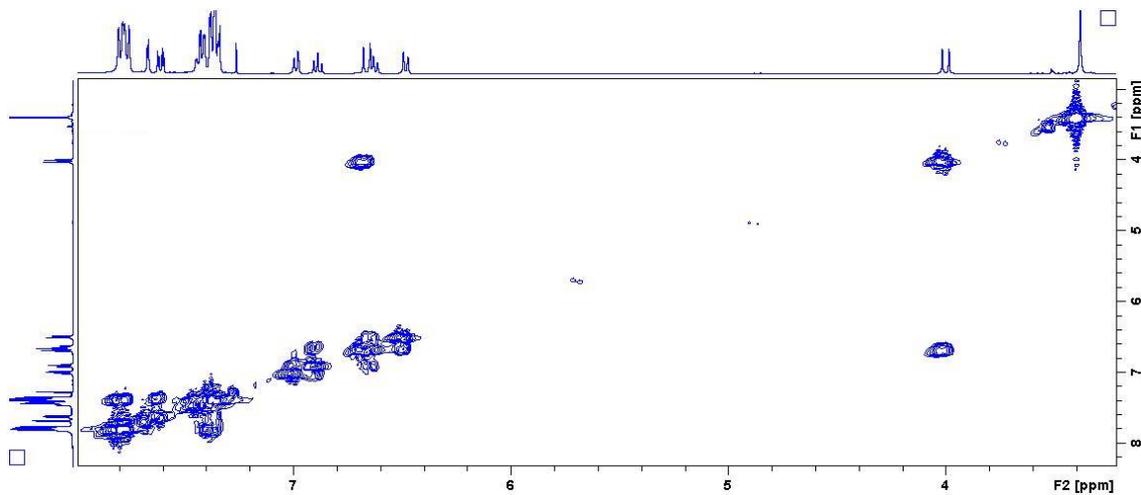
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC



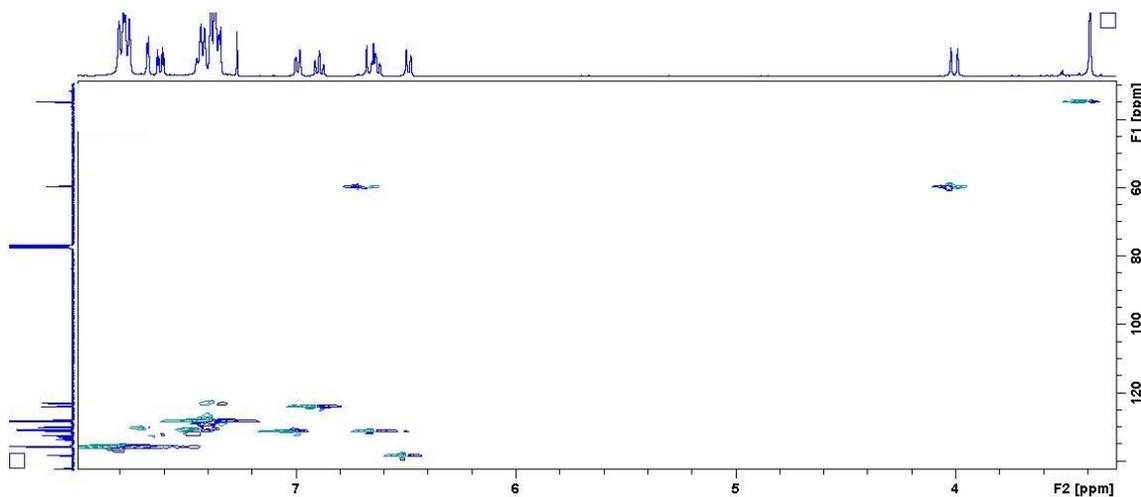
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC



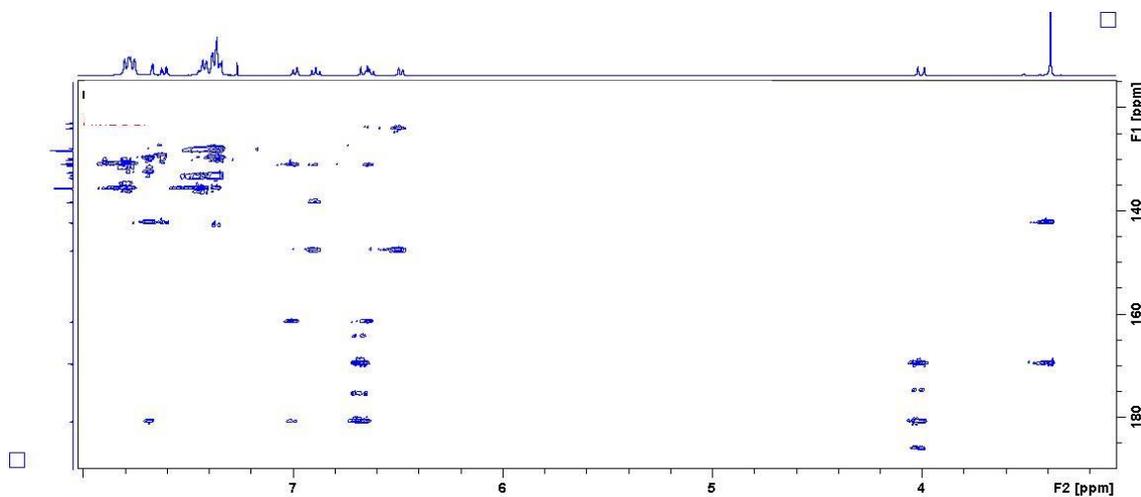
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

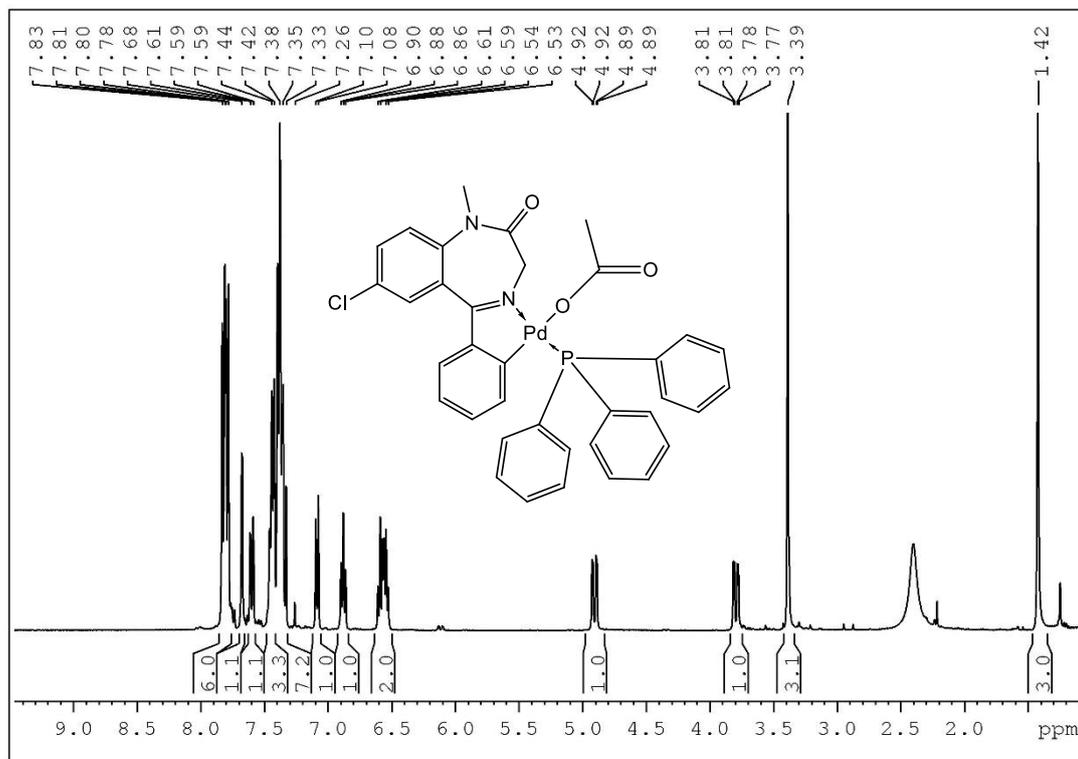


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

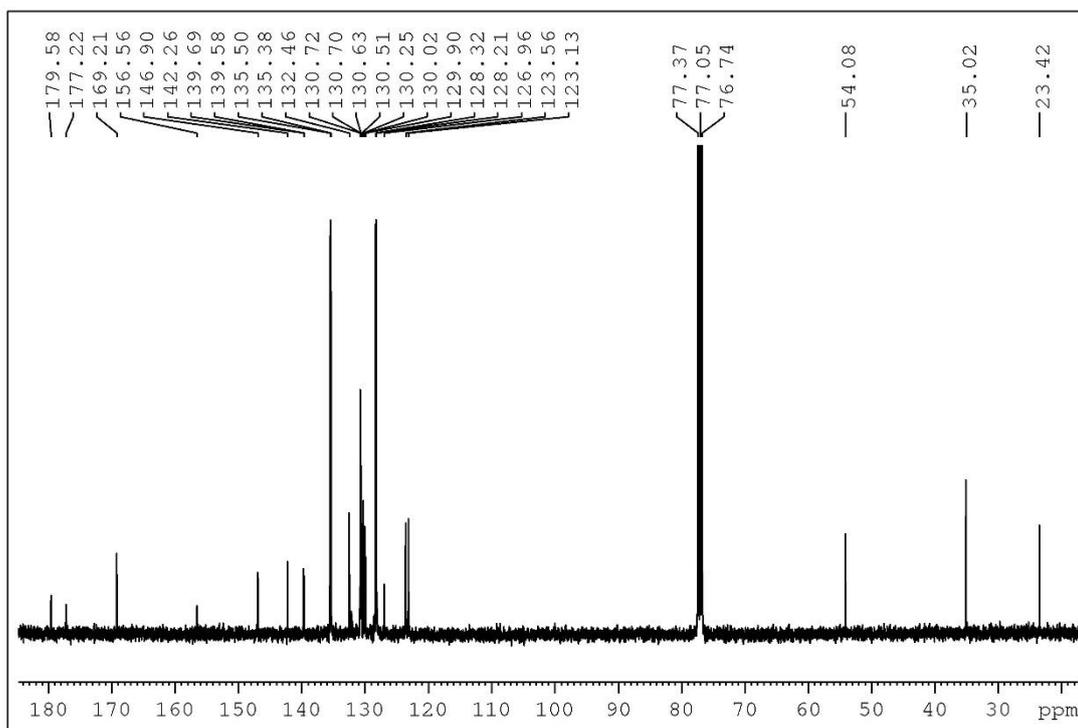


APÊNDICE O – Experimentos de RMN do [(DZP)PdOAcPPh₃] em CDCl₃.

Espectro de RMN de ¹H

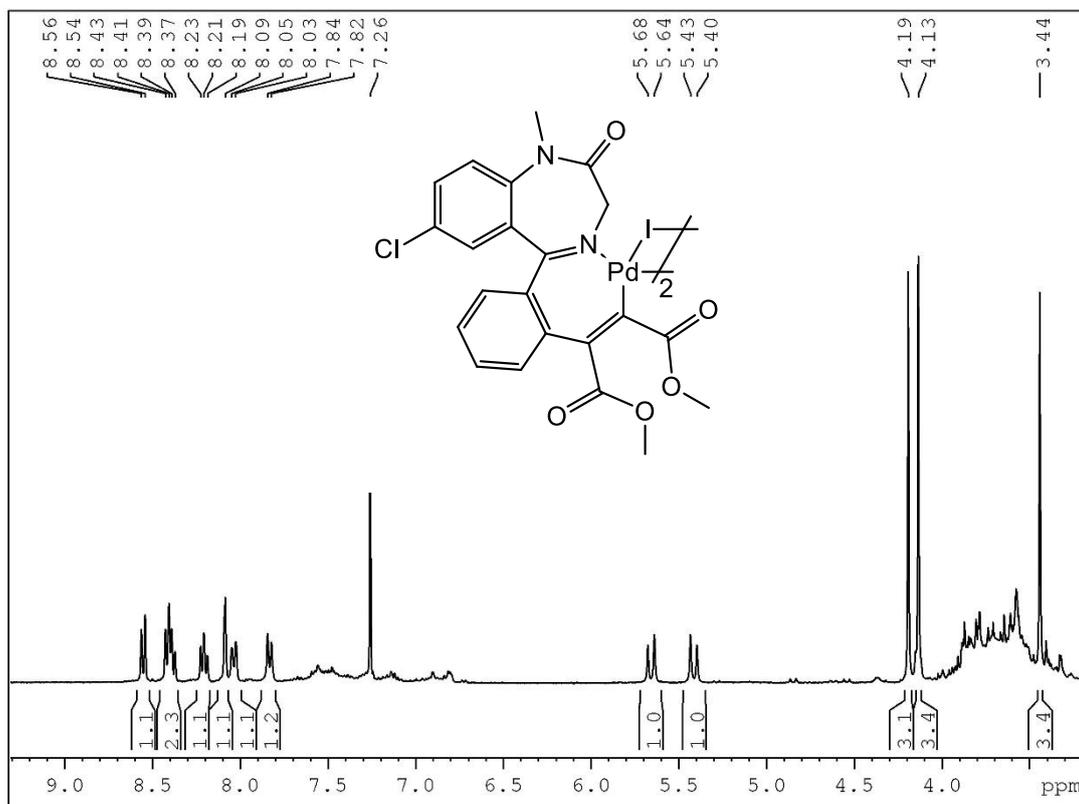


Espectro de RMN de ¹³C

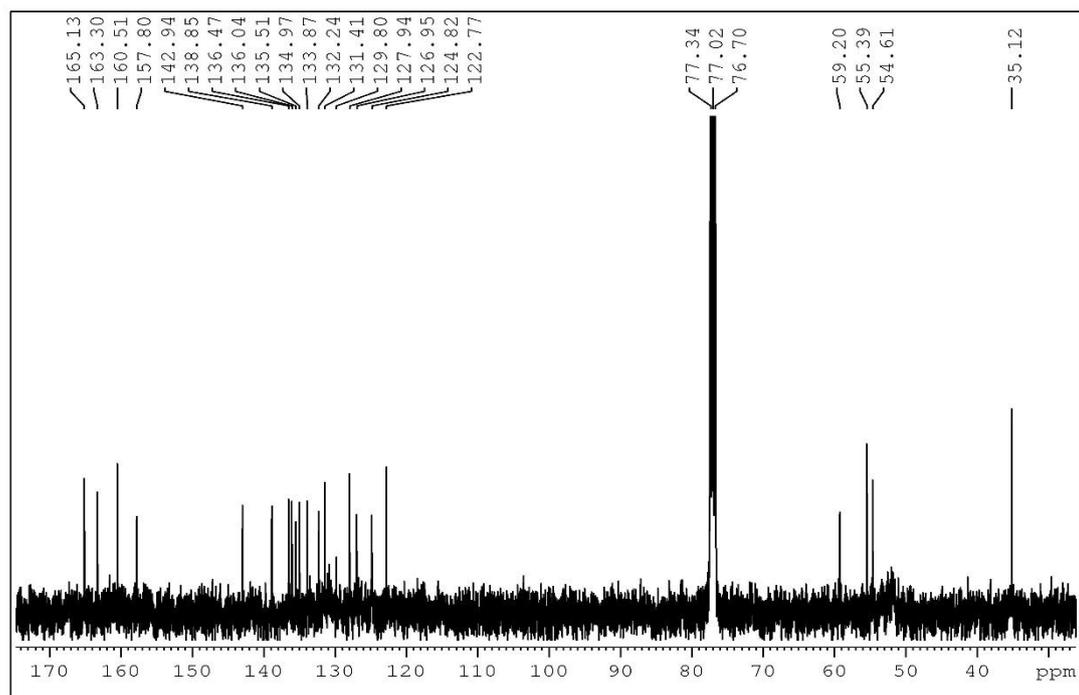


APÊNDICE P – Experimentos de RMN do [(DZP)PdI(DMAD)]₂ em CDCl₃.

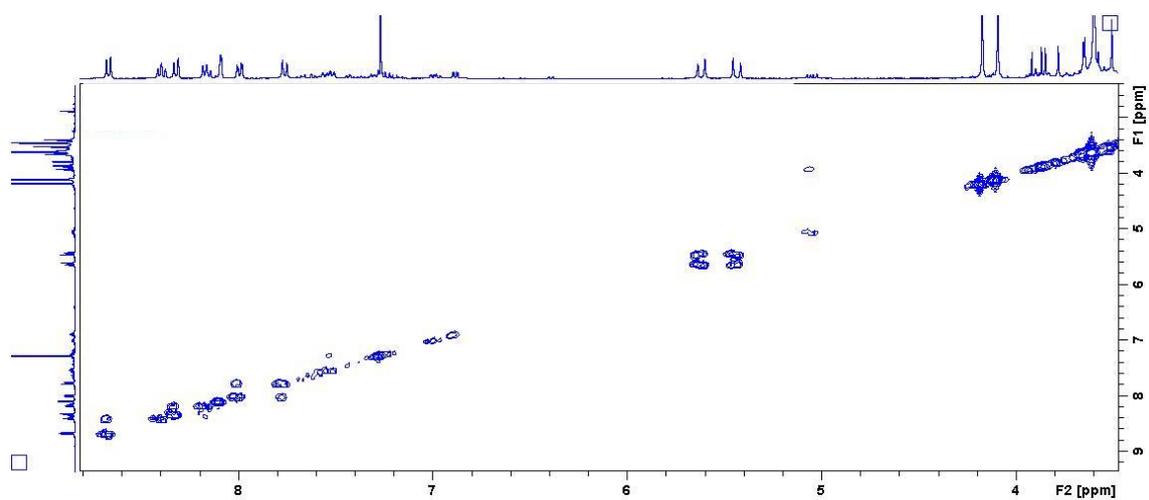
Espectro de RMN de ¹H



Espectro de RMN de ¹³C

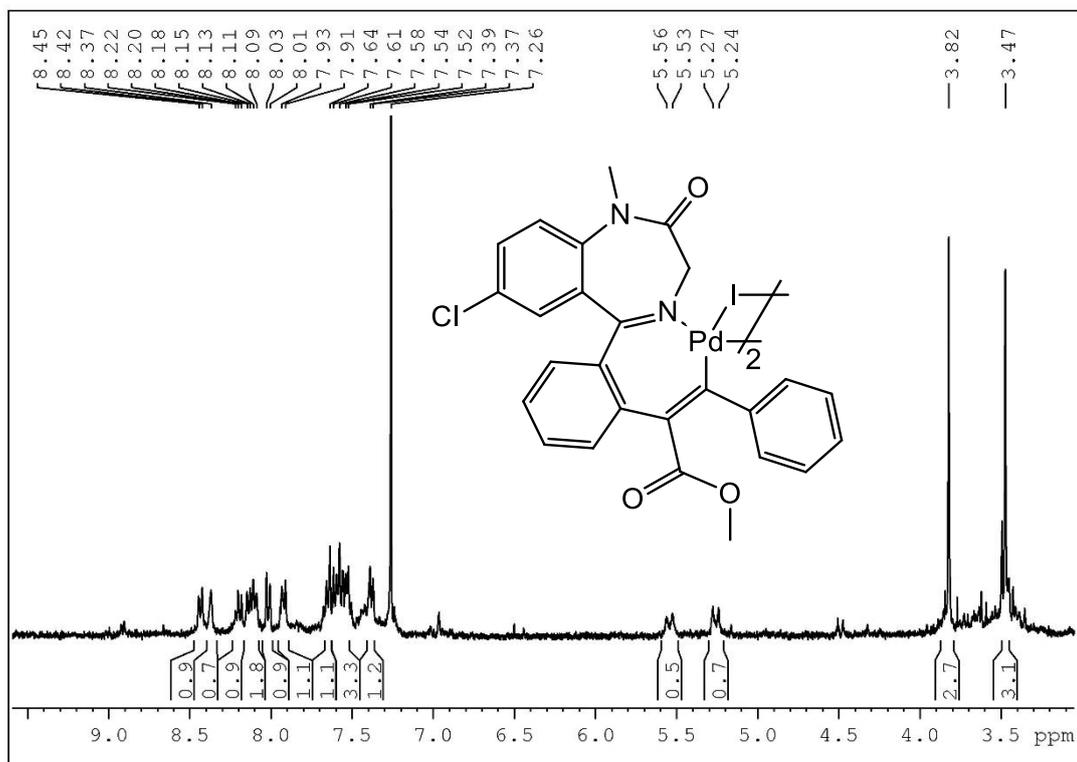


Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY

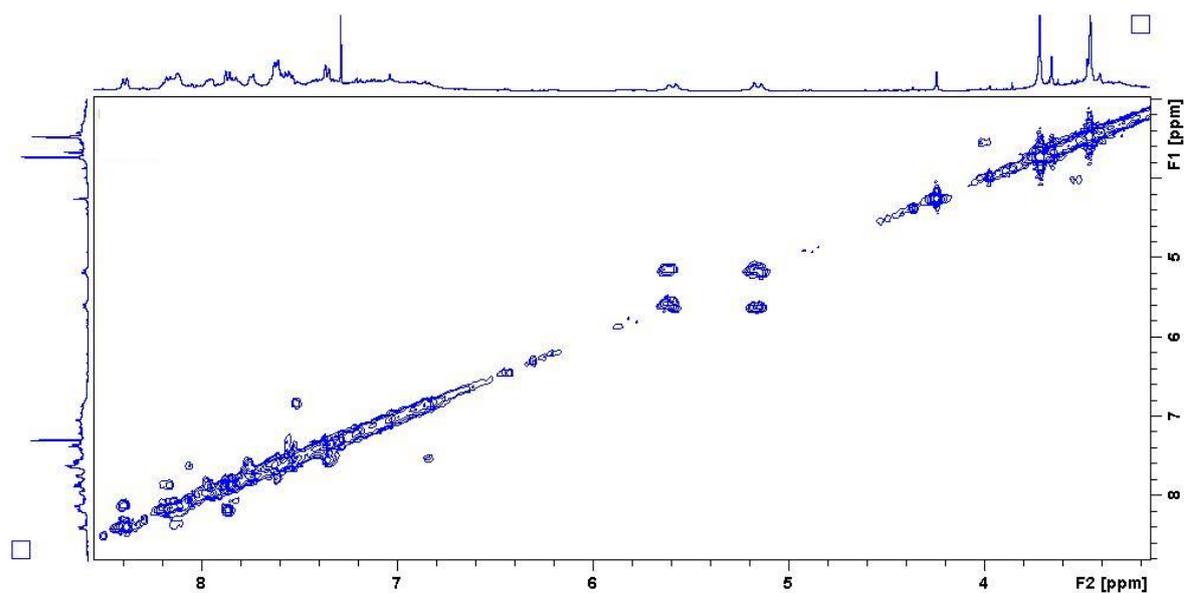


APÊNDICE Q – Experimentos de RMN do [(DZP)PdI(MPP)]₂ em CDCl₃.

Espectro de RMN de ¹H

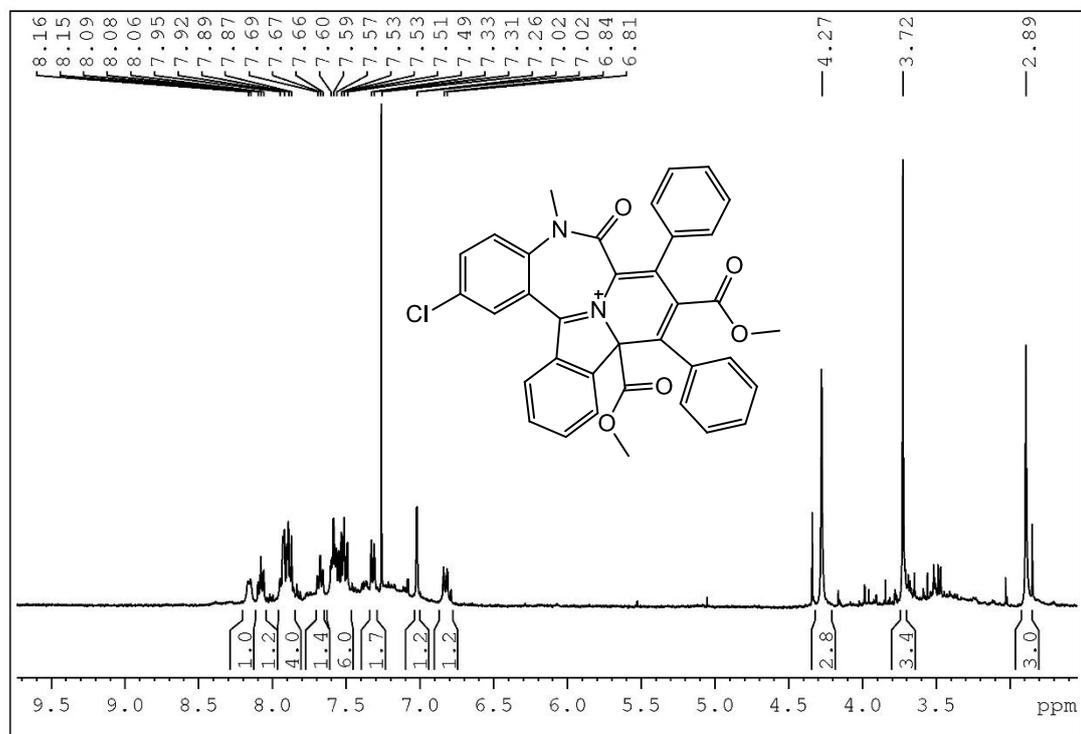


Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY

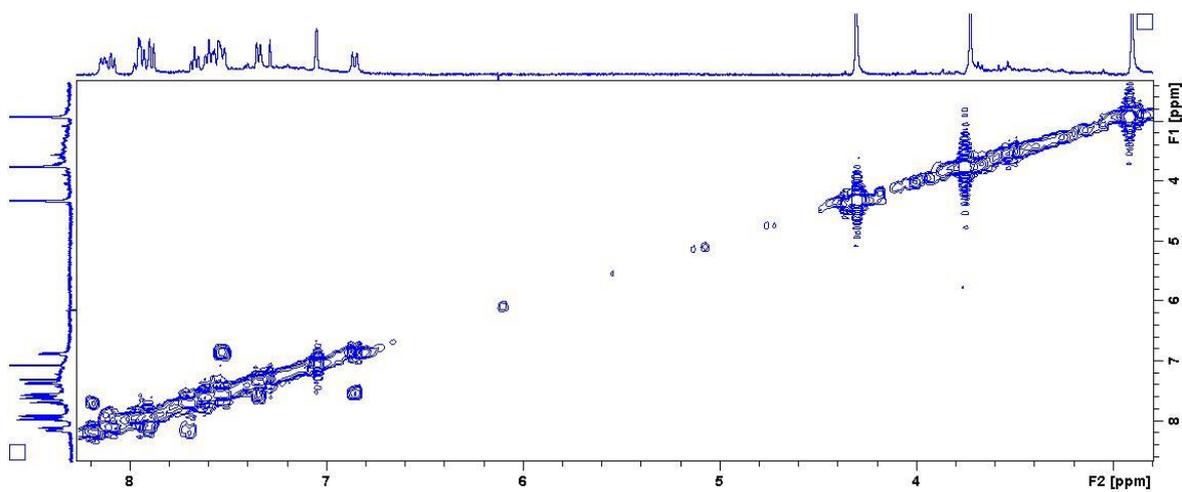


APÊNDICE R – Experimentos de RMN do “DZP(MPP)₂” em CDCl₃.

Espectro de RMN de ¹H

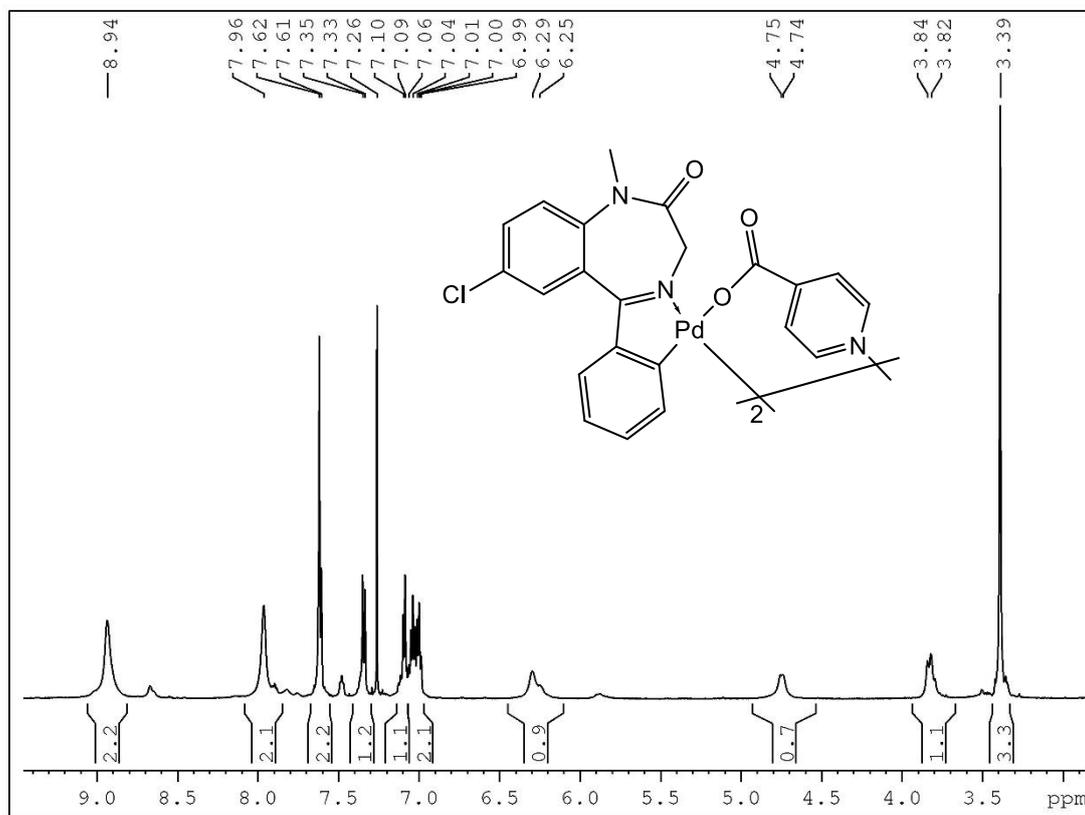


Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY

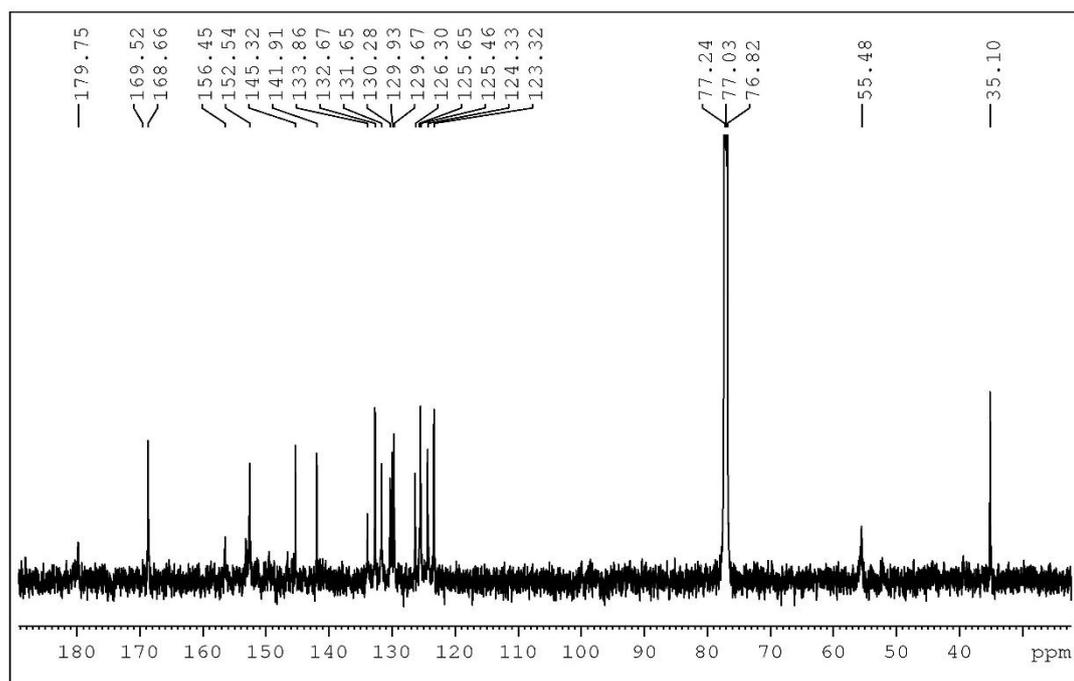


APÊNDICE S – Experimentos de RMN do [(DZP)Pd(Al)]₂ em CDCl₃.

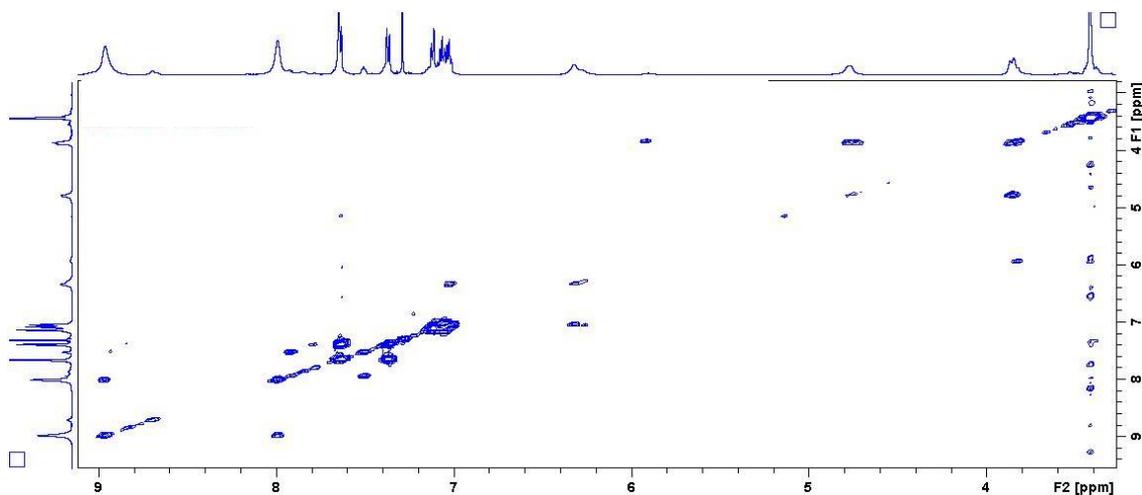
Espectro de RMN de ¹H



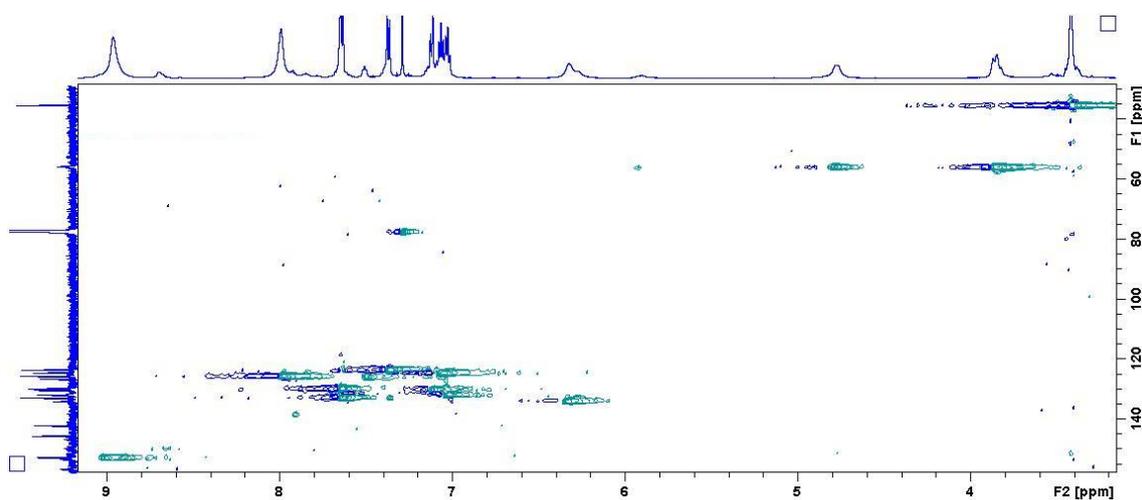
Espectro de RMN de ¹³C



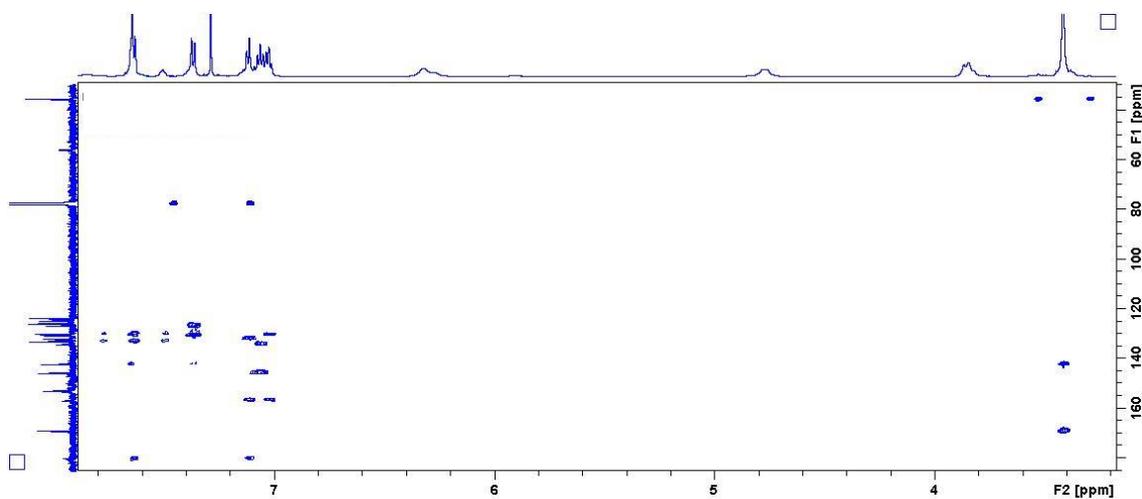
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY



Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

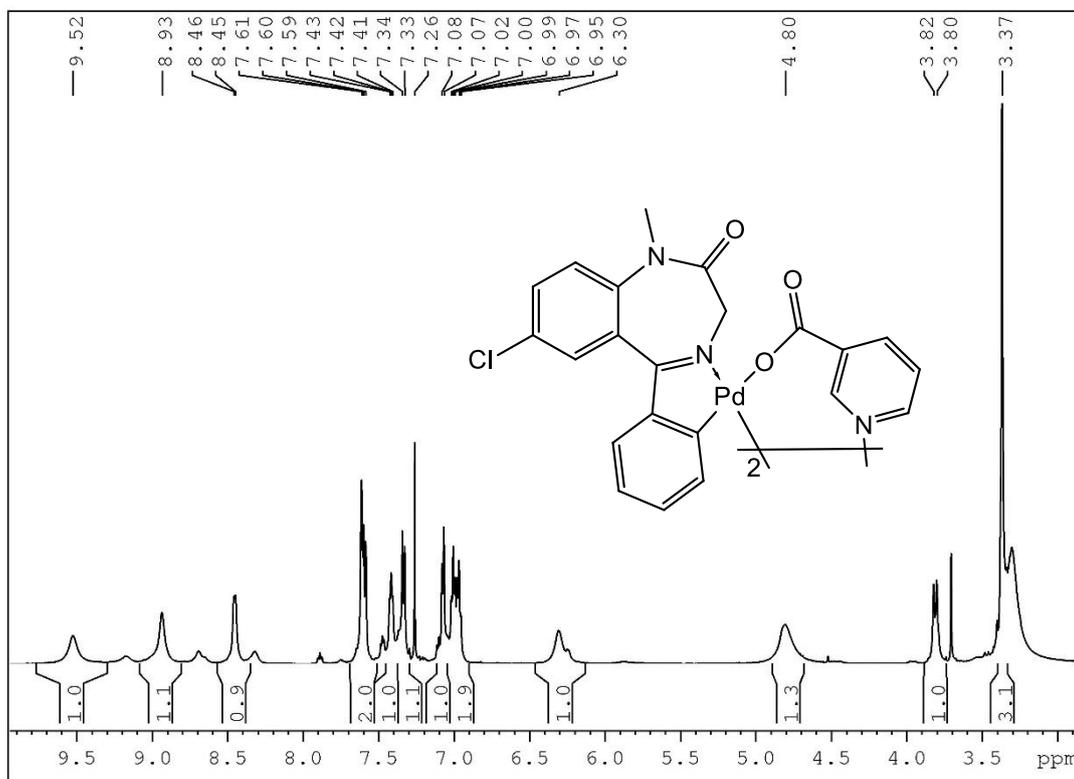


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

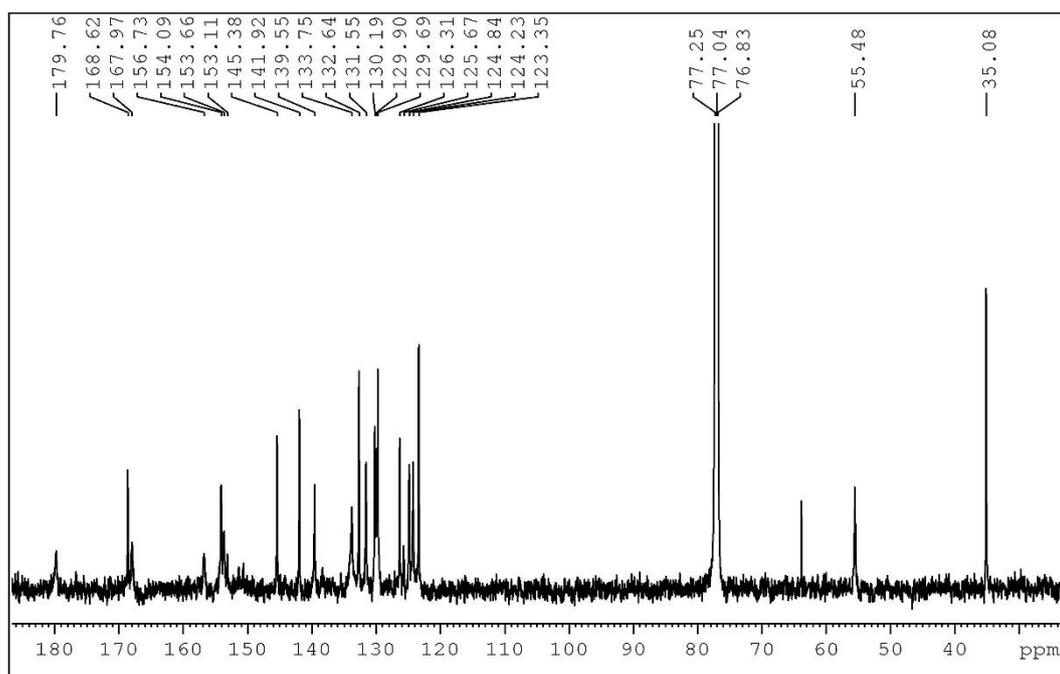


APÊNDICE T – Experimentos de RMN do [(DZP)Pd(AN)]₂ em CDCl₃.

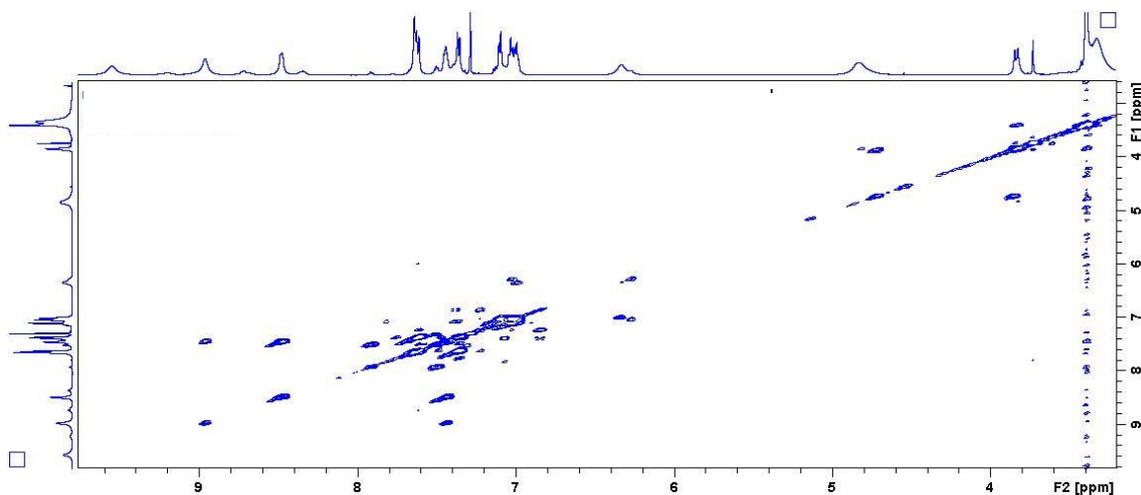
Espectro de RMN de ¹H



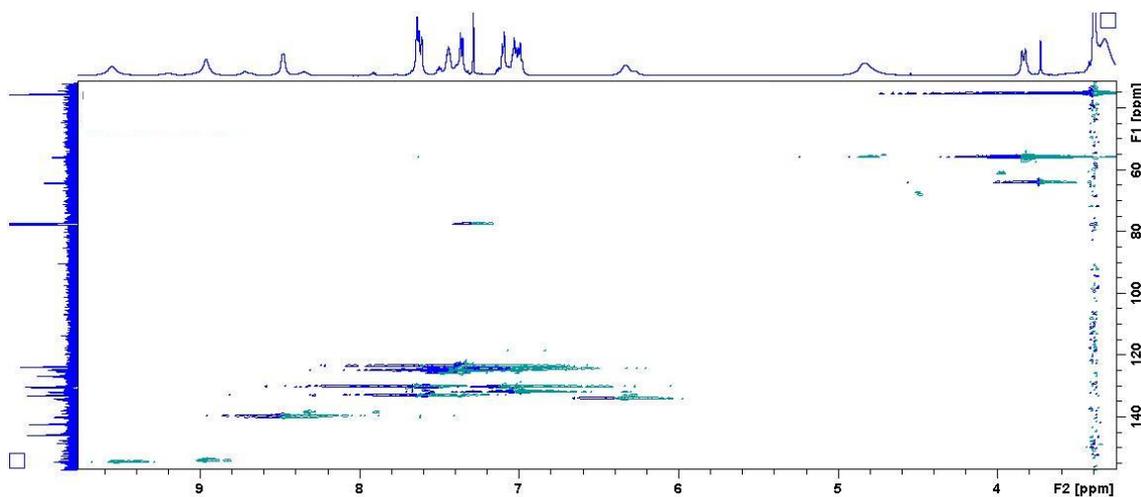
Espectro de RMN de ¹³C



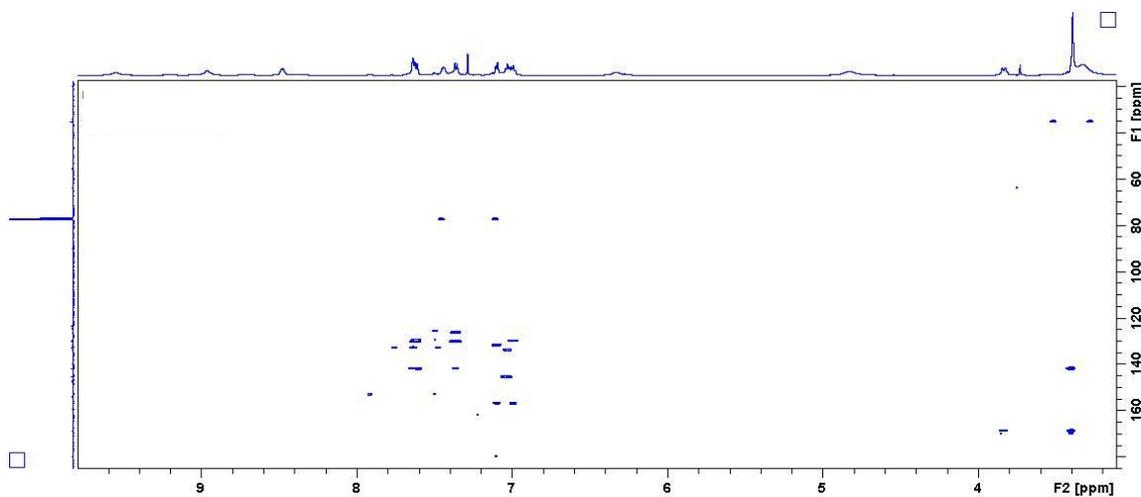
Mapa do contorno gerado a partir do experimento COSY

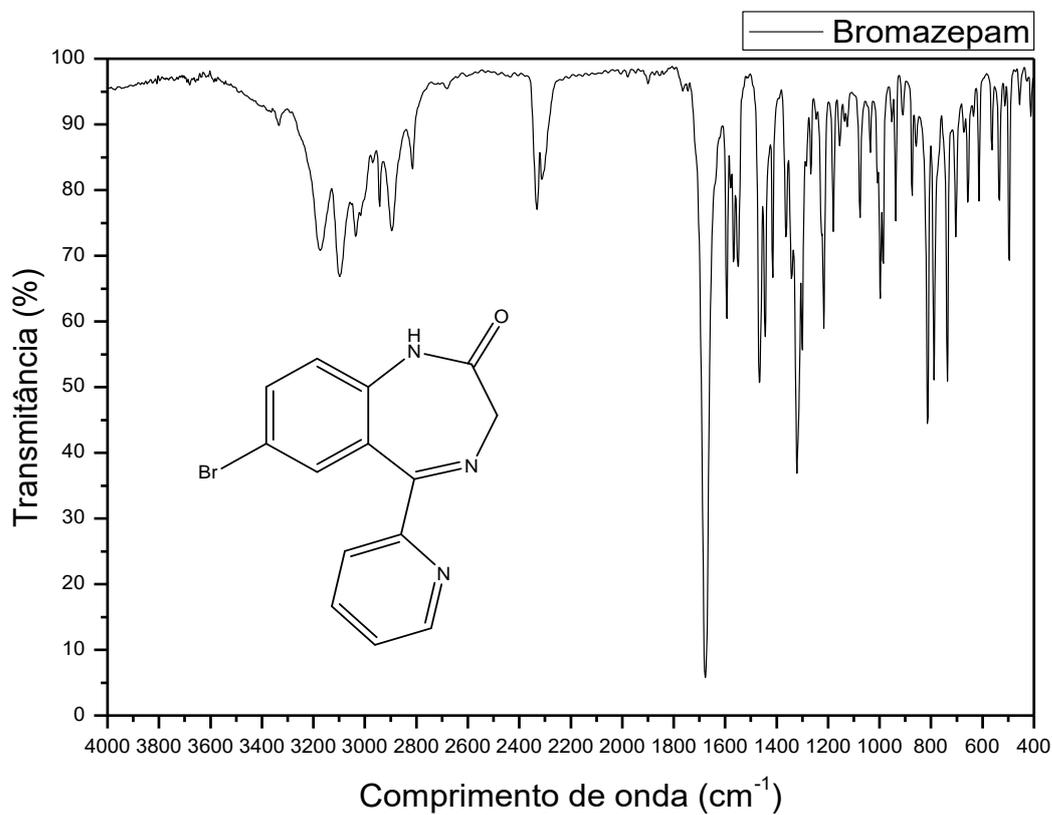
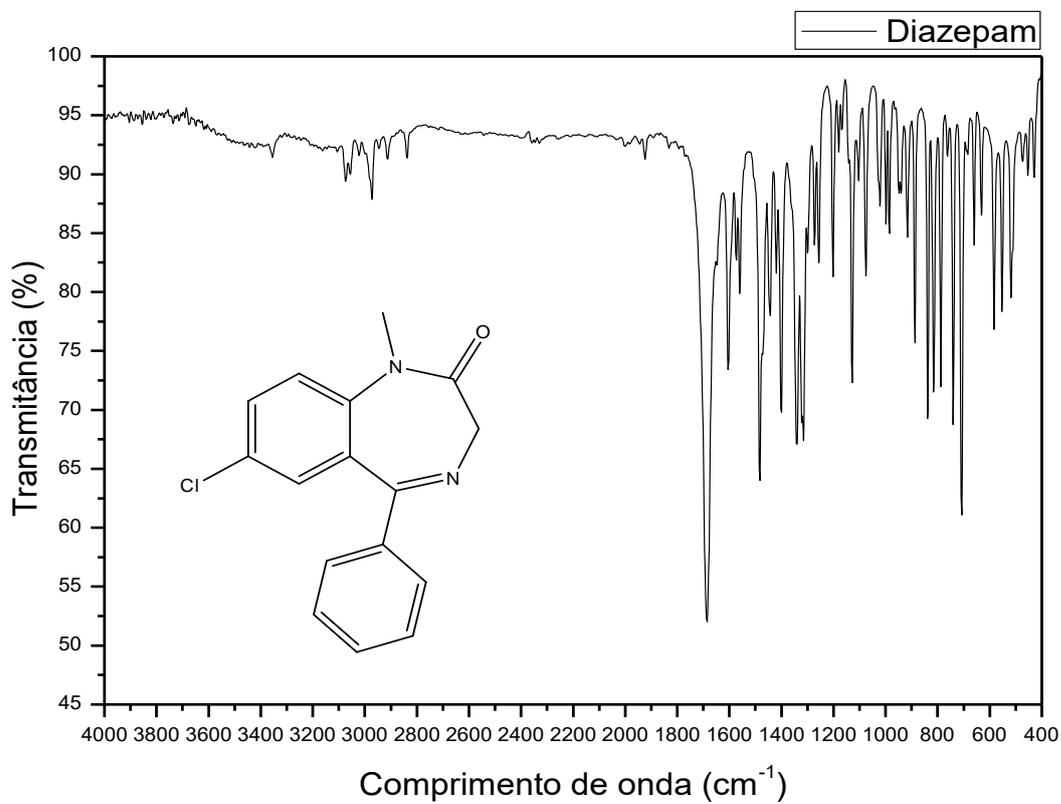


Mapa do contorno gerado a partir do experimento HSQC

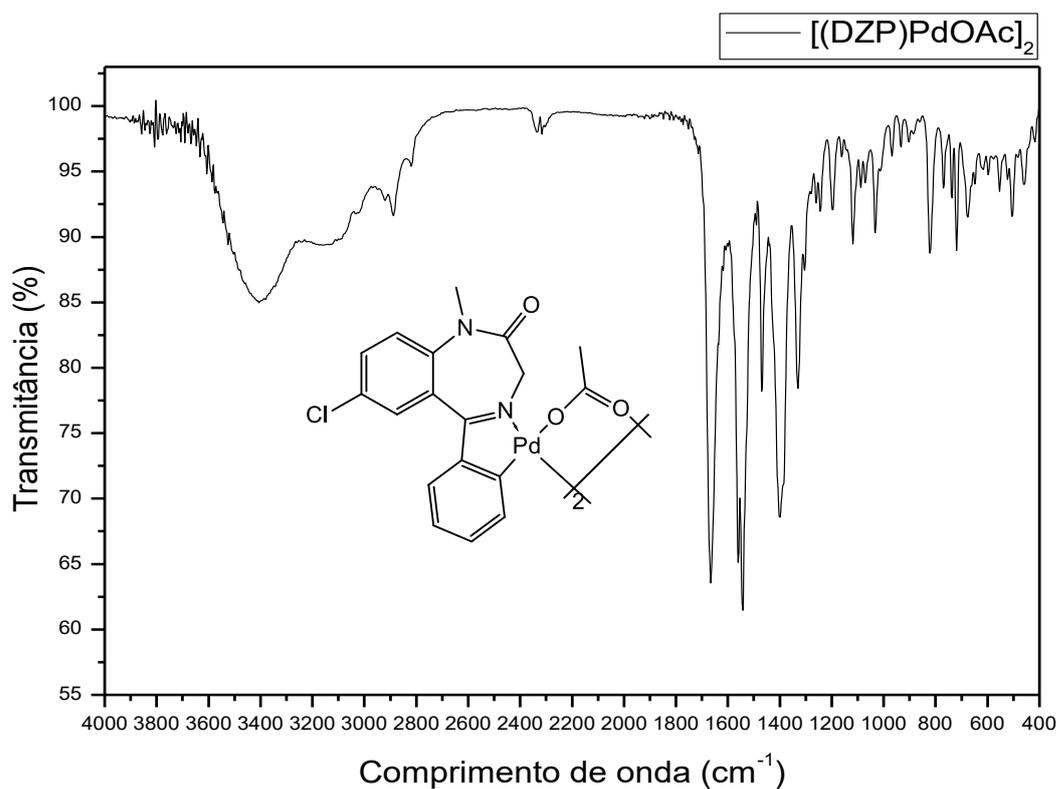
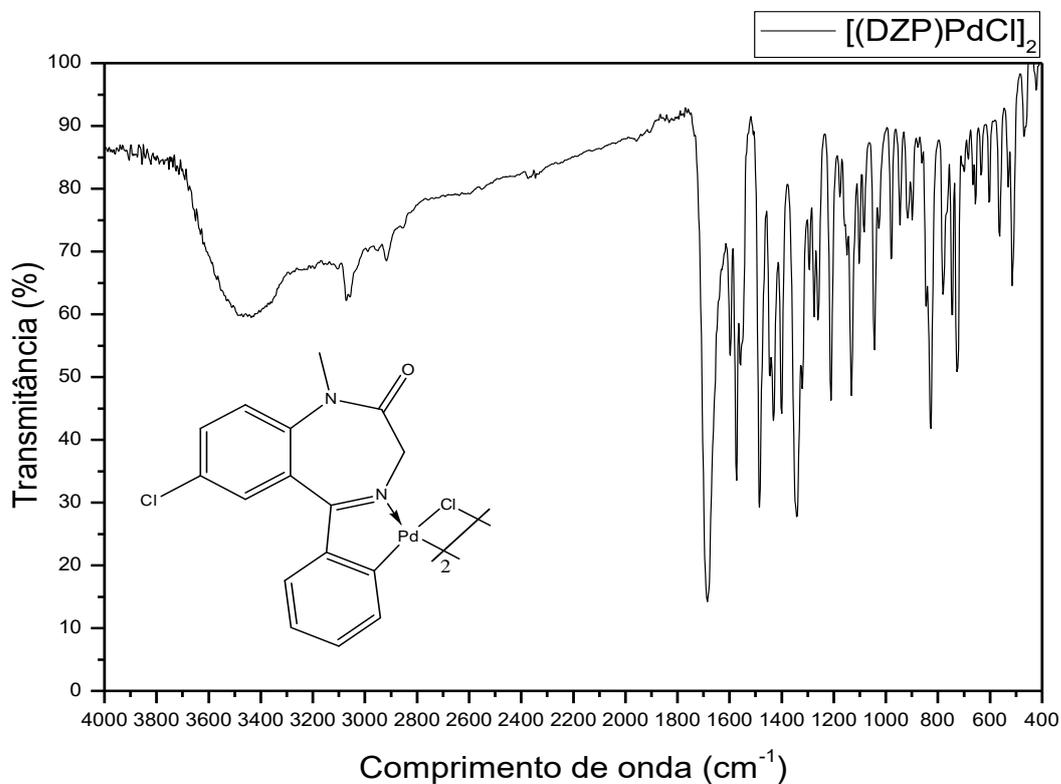


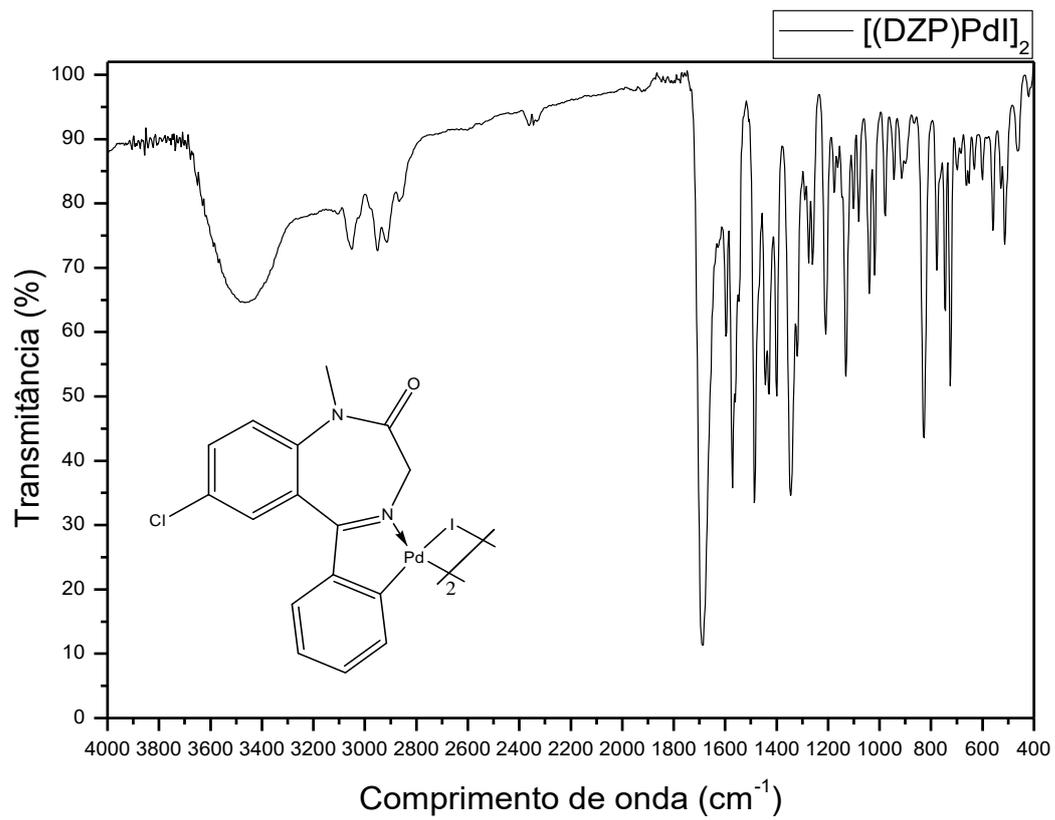
Mapa do contorno gerado a partir do experimento HMBC

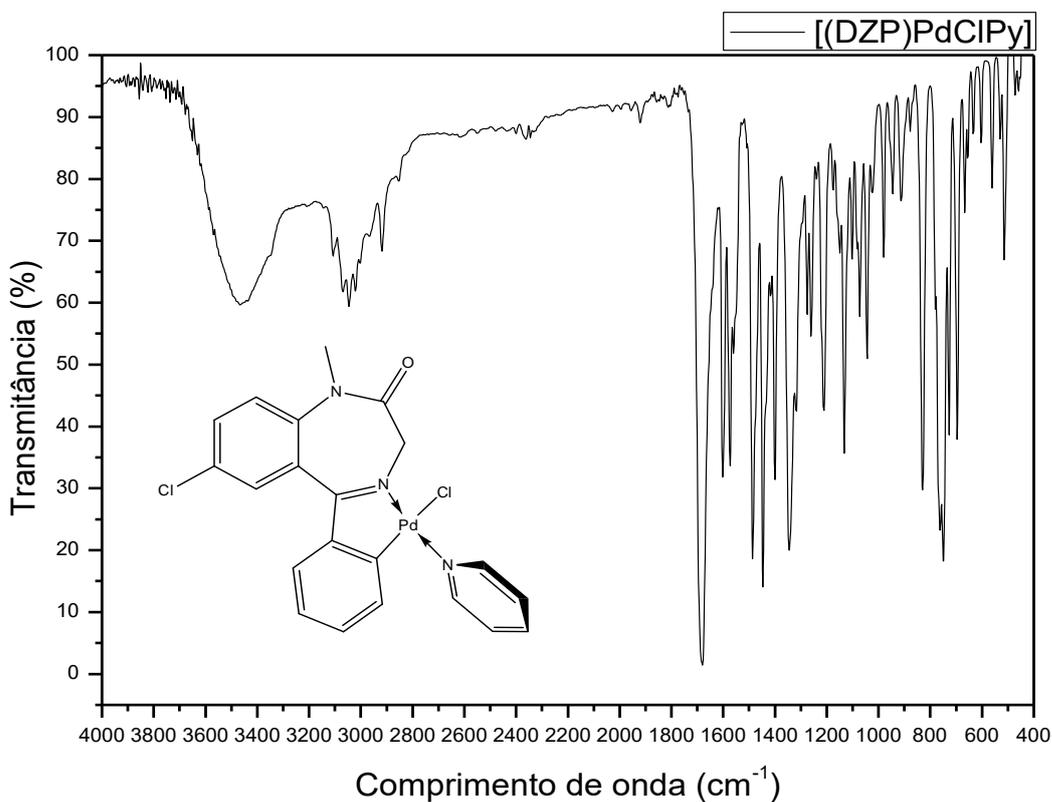
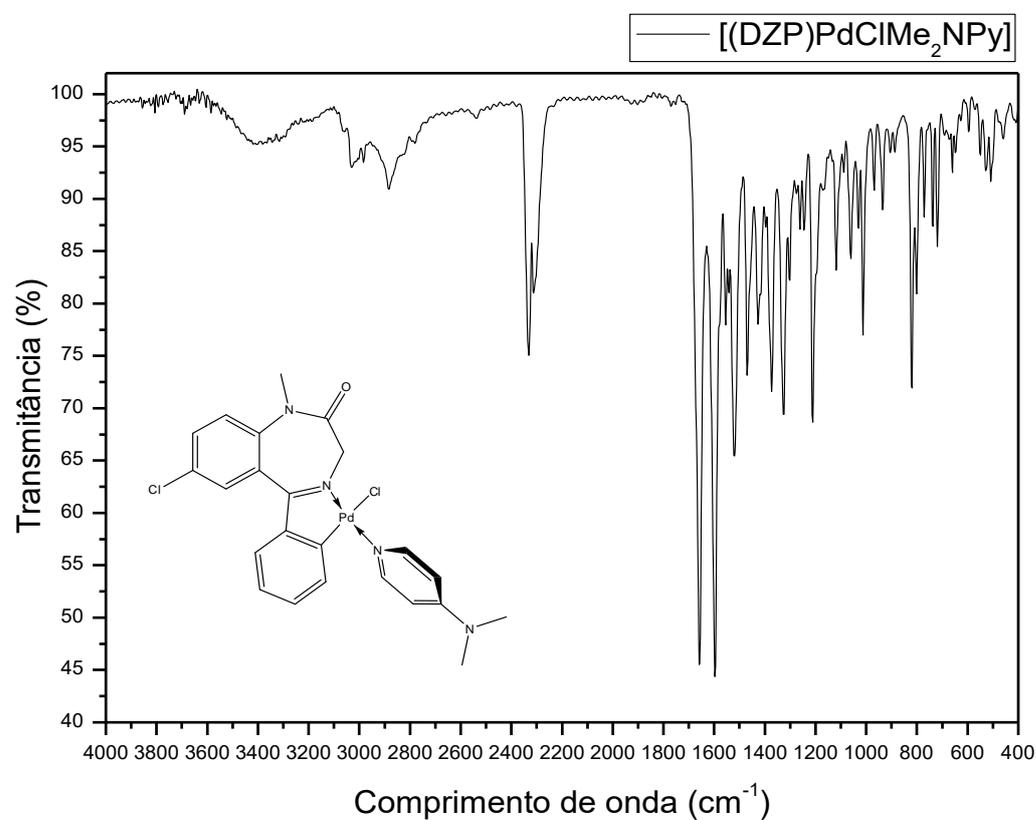


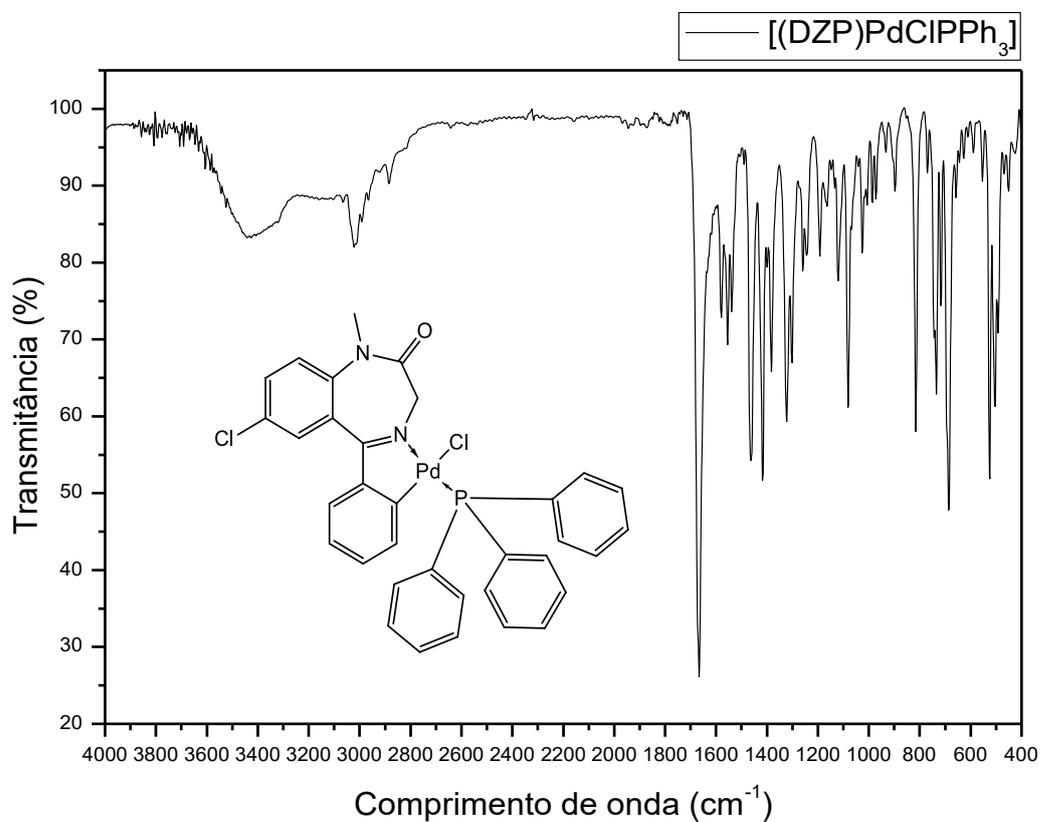
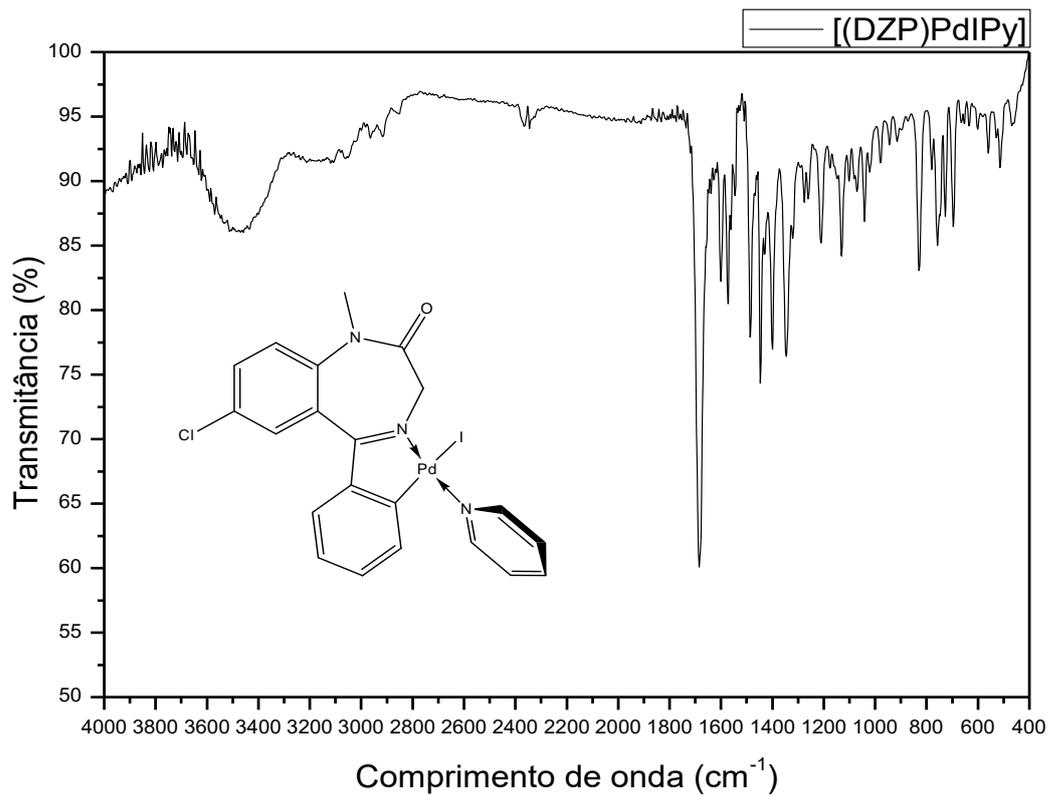
APÊNDICE U – Espectros de FTIR dos ligantes Diazepam e Bromazepam.

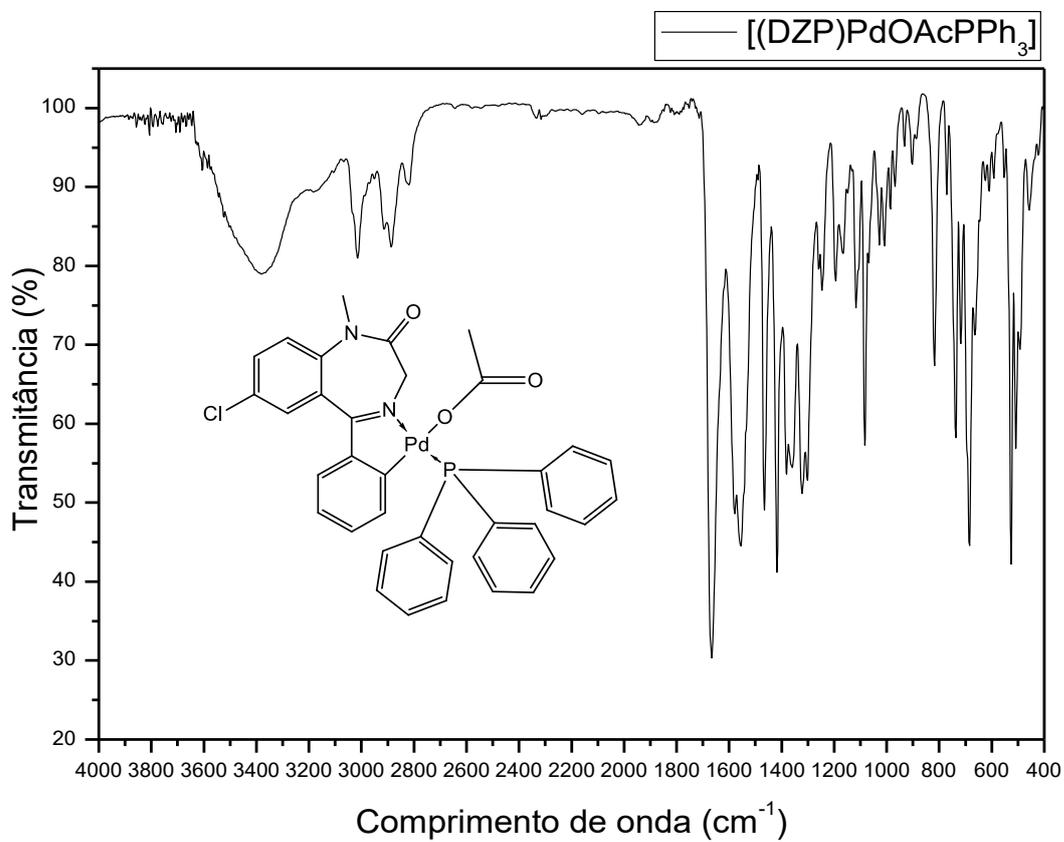
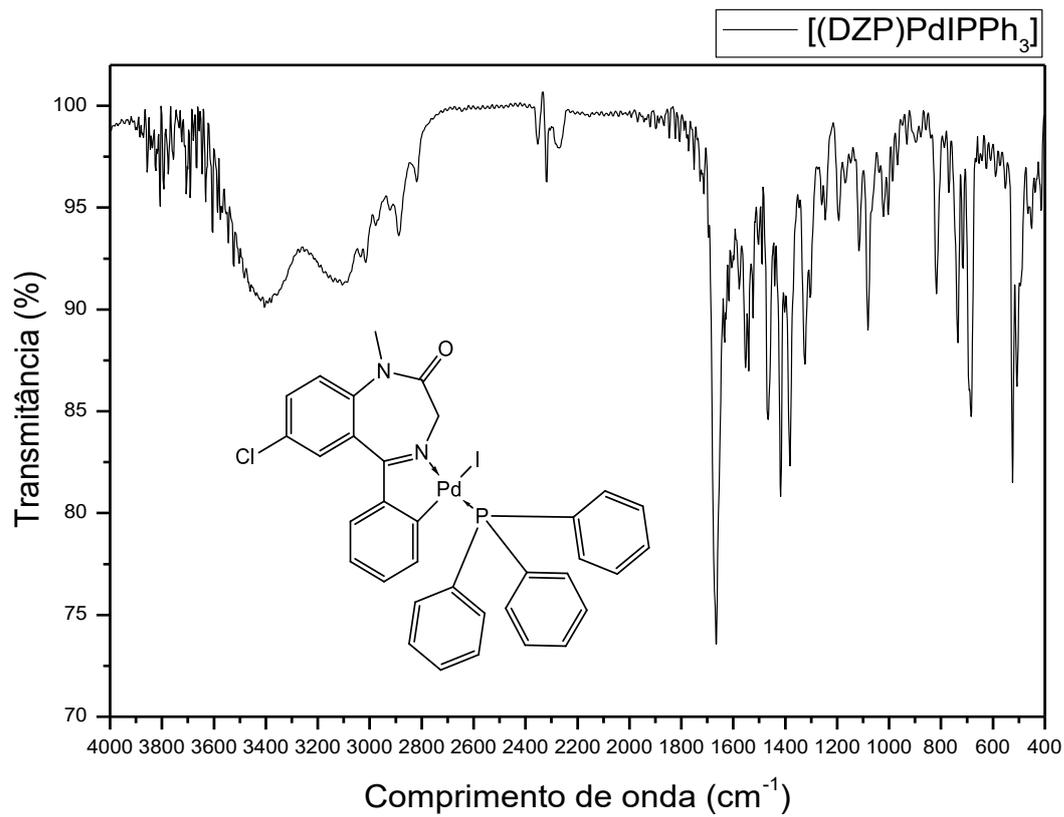
APÊNDICE V – Espectros de FTIR dos dímeros [(DZP)PdCl]₂, [(DZP)PdOAc]₂ e [(DZP)PdI]₂, derivados do Diazepam.



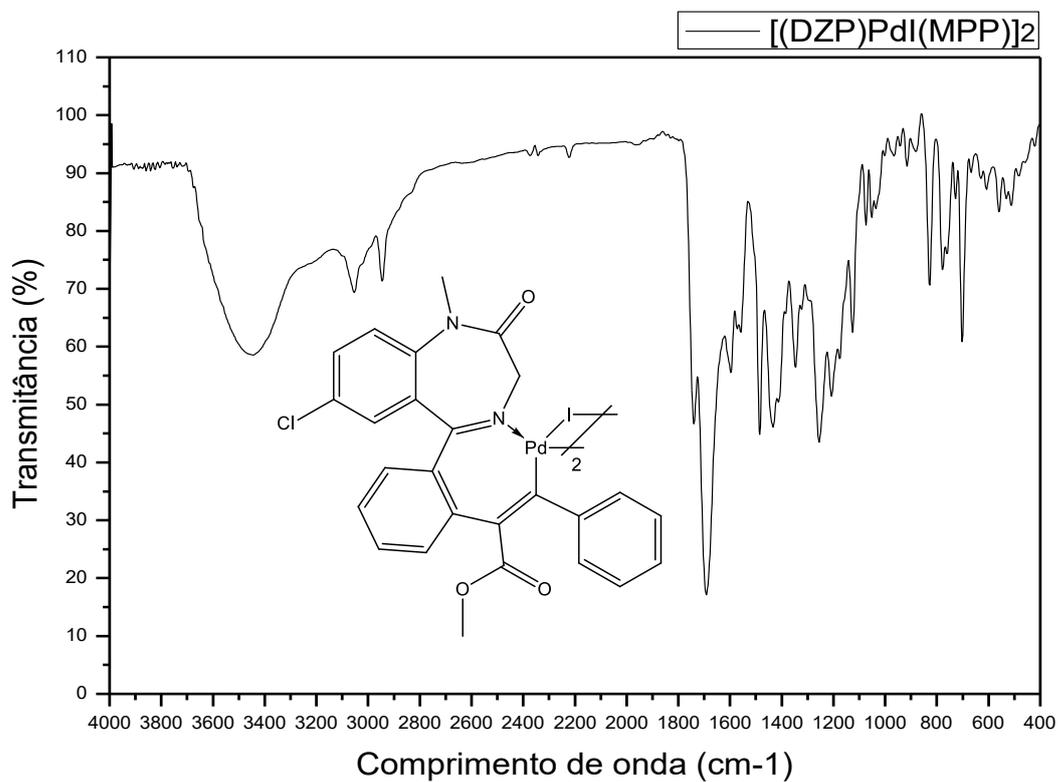
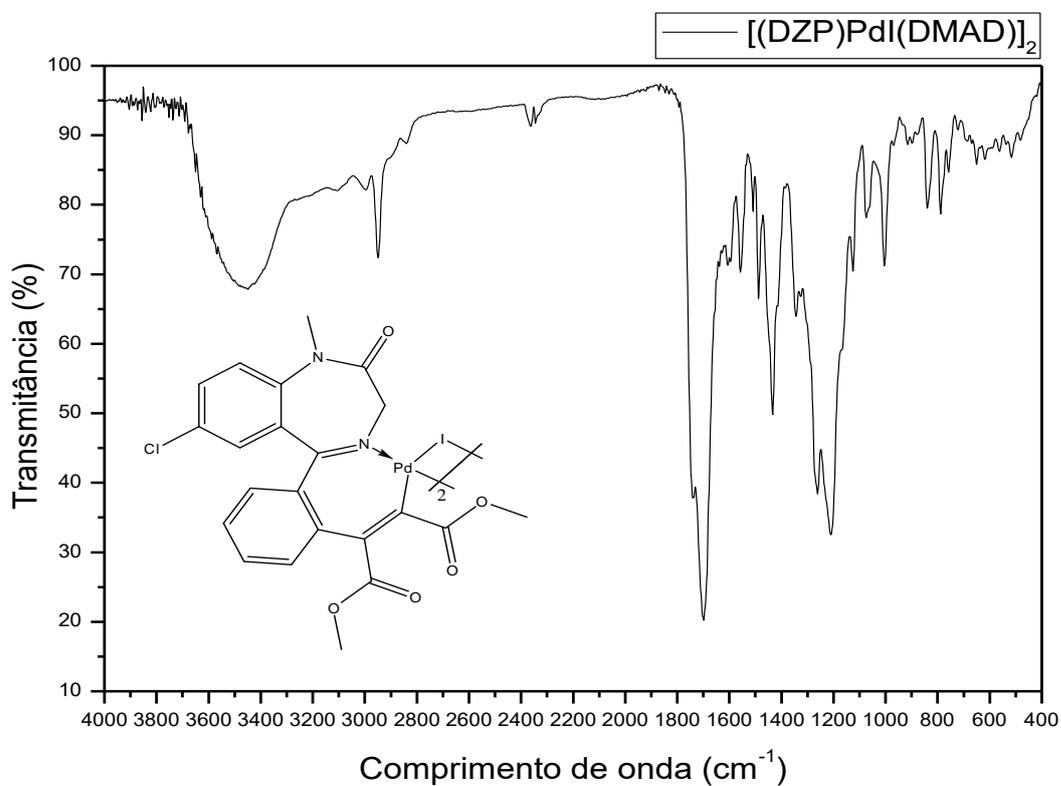


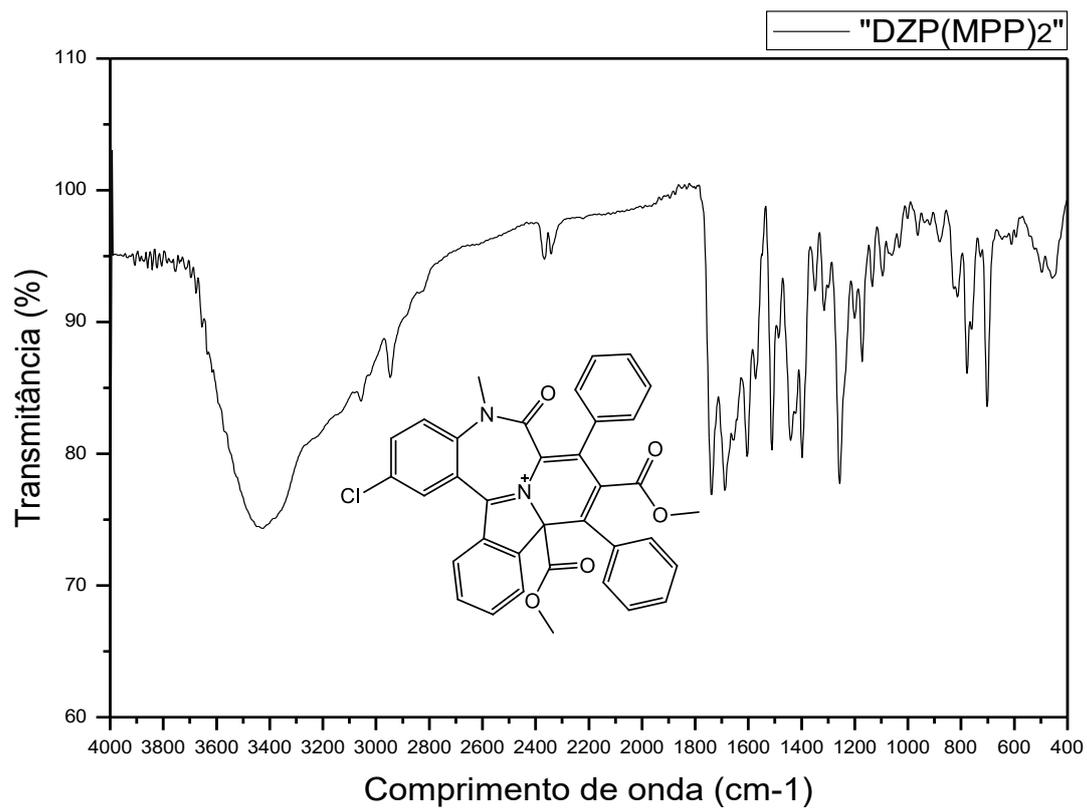
APÊNDICE W – Espectros de FTIR dos monômeros obtidos a partir dos dímeros.



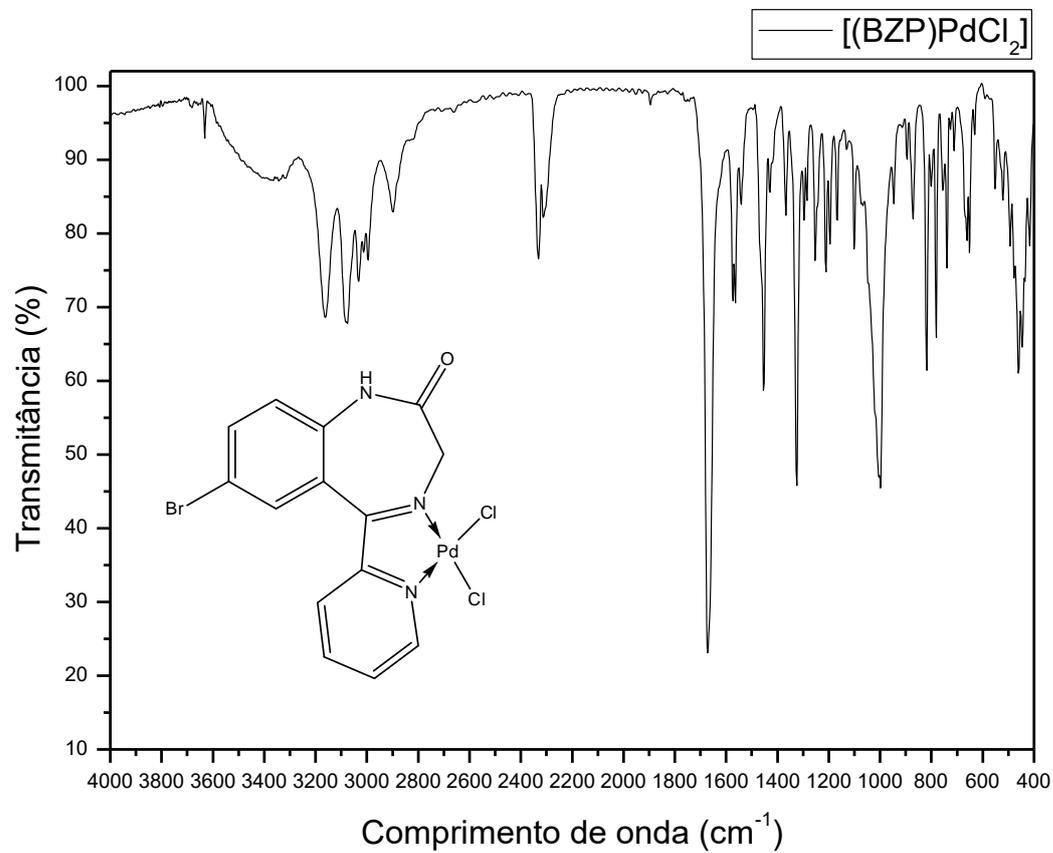


APÊNDICE X – Espectros de FTIR dos complexos modificados por meio de inserção de alcinos.





APÊNDICE Y – Espectro de FTIR do complexo [(BMZ)PdCl₂] derivado do bromazepam.



APÊNDICE Z – Testes Comportamentais Utilizados.

1. Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

O LCE é um dos testes etologicamente fundamentados, baseado nas respostas inatas de medo/ansiedade de diferentes espécies animais diante de situações naturalmente aversivas, enfatizando padrões relativamente estáveis de comportamento que são herdados para garantir a reprodução e a sobrevivência de cada espécie. Os parâmetros etológicos avaliados no LCE têm grande utilidade no estudo de drogas ansiolíticas/ansiogências e serão utilizados neste trabalho, associados aos parâmetros clássicos (espaço-temporais), para aumentar a sensibilidade do método, como proposto por RODGERS e colaboradores (1997). O LCE (Insight®, Brasil) é confeccionado em acrílico e consiste de dois braços fechados (30 x 5 x 25 cm) e dois abertos (30 x 5 cm), opostos em forma de cruz e elevados a 38,5 cm do nível do chão. Os braços abertos possuem barras laterais de 0,25 cm de altura para evitar a queda do animal (Figura AP1). Ao final do experimento, o LCE foi limpo com álcool a 10%.

Figura AP1. Teste do labirinto em cruz elevado (LCE) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).

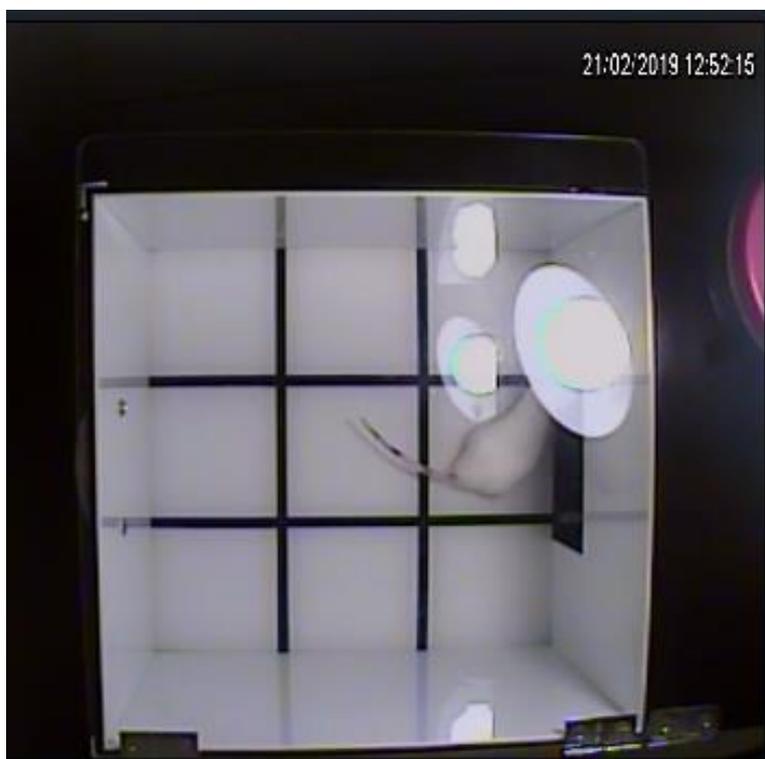


Fonte: Registro do programa Intelbras media player (LNFI/UFAL)

2. Teste da caixa claro-escuro (CCE)

A CCE permite avaliar a aversão inata que os roedores possuem por áreas iluminadas. A CCE consiste em uma caixa dividida em dois compartimentos (claro e escuro) separados por uma divisória com abertura para o movimento transitório do animal (Figura AP2). O número de entradas e o tempo gasto pelo animal no compartimento claro são os parâmetros indicativos da atividade ansiolítica frequentemente analisados. Ao final do experimento, a CCE foi limpa com álcool a 10%.

Figura AP2. Teste da caixa claro-escuro (CCE) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).



Fonte: Registro do programa Intelbras media player (LNFI/UFAL)

3. Teste do campo aberto (CA).

O CA (Insight®, Brasil) consiste de uma arena circular de acrílico (30 cm de altura e 30 cm de diâmetro), com o piso dividido em doze partes que permite avaliar a atividade locomotora espontânea (Figura AP3). Uma redução no número de cruzamentos, com as quatro patas, entre as divisões do campo e controle, pode ser interpretada como prejuízo na

atividade locomotora espontânea. Por outro lado, um aumento nesse parâmetro pode ser interpretado como melhora no desempenho motor. Ao final do experimento, o CA foi limpo com álcool a 10%.

Figura AP3. Teste do campo aberto (TCA) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).



Fonte: Registro do programa Intelbras media player (LNFI/UFAL)

4. Step-down (SD).

O SD permite avaliar a esquia passiva e respostas referentes ao aprendizado e/ou memória dos animais (KAMEYAMA; NABESHIMA; KOZAWA, 1986). O aparato foi constituído em alumínio com o assoalho constituído de barras de aço ligado a um gerador de corrente elétrica de 127/220 V e com uma área de fuga de 260 mm x 100 mm (plataforma, Figura AP4). Os animais, quando descem para o assoalho de aço, levam um choque de intensidade baixa. Posteriormente, são inseridos novamente no aparato e uma redução no tempo de latência de descida para o assoalho pode ser interpretada como prejuízo da memória.

Figura AP4. Teste do step-down (SD) do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL).



Fonte: Registro do programa Intelbras media player (LNFI/UFAL)

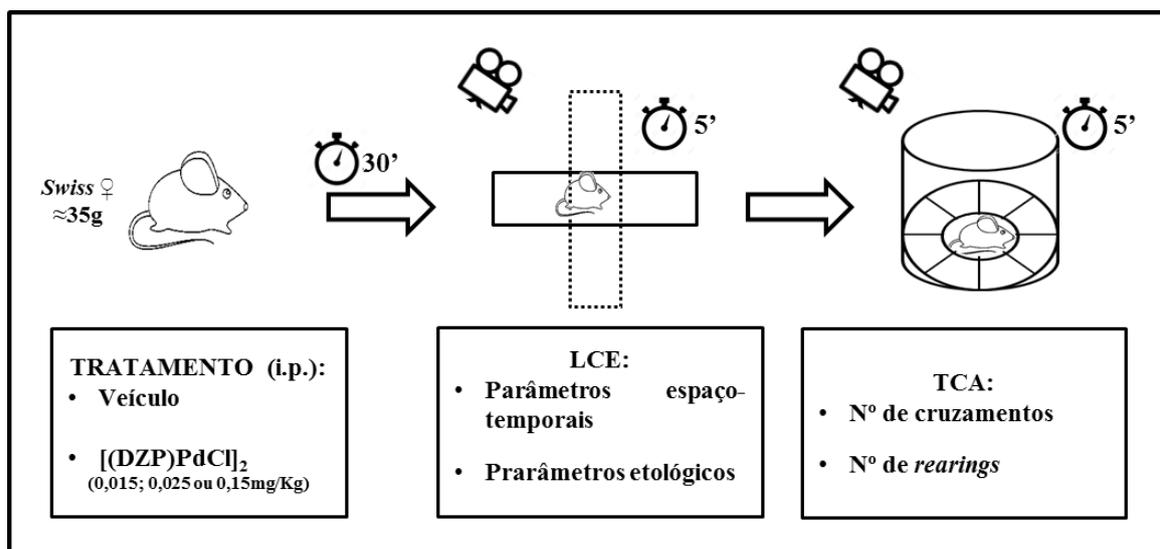
5. Delineamento experimental

5.1.1. Experimento 1 - Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal (i.p.) do complexo metálico derivados do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol) nos comportamentos relacionados com medo e ansiedade em camundongos Swiss fêmeas submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado.

Os animais foram tratados (i.p.) com: veículo (NaCl 0,9% + 0,5% Tween 80; grupo controle) ou complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol). Passados 30 minutos do tratamento, os animais foram submetidos ao LCE. No LCE, os animais foram colocados na plataforma central do aparato com a cabeça voltada para um dos braços fechados, e o seu comportamento foi avaliado durante 5 min para registro das seguintes medidas comportamentais: tempo de permanência e número de entradas nos braços abertos e fechados (considera-se a entrada em um dos

braços quando a maior parte do corpo do animal está dentro do respectivo braço), medidas etológicas de avaliação de risco tais como imersões de cabeça desprotegidas (unprotected head-dipping), estiramentos corporais protegidos (protected stretch-attend postures) e comportamento de levantar (rearing) (Figura AP5).

Figura AP5. Delineamento experimental realizado para avaliar a atividade do tipo ansiolítica no LCE e a atividade locomotora no CA do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015; 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol).



LCE = Labirinto em cruz elevado; TCA = Teste do campo aberto; i.p. = administração intraperitoneal.

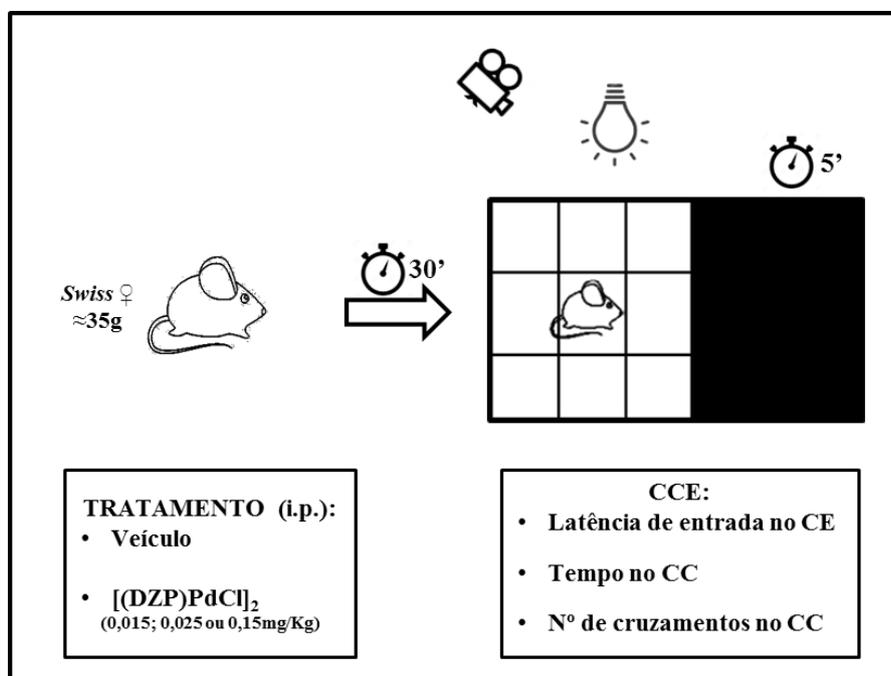
5.1.2. Experimento 2 - Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal (i.p.) do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol) na atividade locomotora espontânea de camundongos Swiss fêmeas submetidos ao teste do campo aberto.

Imediatamente o LCE (Experimento 1), cada animal foi submetido individualmente ao CA para avaliação da atividade locomotora espontânea, onde foi registrado o número de cruzamentos e de levantar (*rearing*) de cada animal durante 5 min (Figura AP5).

5.1.3. Experimento 3 - Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal (i.p.) do $[(DZP)PdCl]_2$ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μ mol) nos comportamentos relacionados com medo e ansiedade em camundongos Swiss fêmeas submetidos ao teste da caixa claro-escuro.

Os animais foram tratados (i.p.) com: veículo (NaCl 0,9% + 0,5% Tween80; grupo controle) ou complexo metálico derivado do Diazepam $[(DZP)PdCl]_2$ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μ mol). Passados 30 minutos do tratamento, os animais foram submetidos a CCE. Cada animal foi colocado individualmente no compartimento claro da caixa e com a cabeça voltada para o compartimento escuro e o seu comportamento foi avaliado durante 5 min através do registro das seguintes medidas comportamentais: tempo de permanência no compartimento claro e número de entradas no compartimento escuro (Figura AP6).

Figura AP6. Delineamento experimental para avaliar a atividade ansiolítica na CCE do complexo metálico derivado do Diazepam $[(DZP)PdCl]_2$ (0,015; 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μ mol).

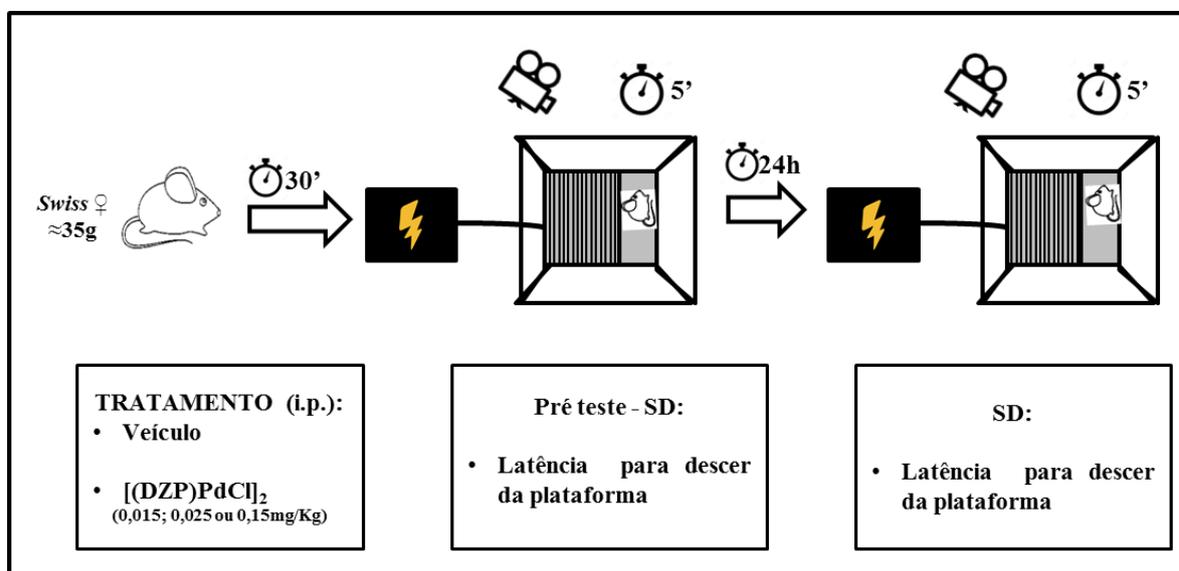


CCE = Caixa claro-escuro; CE = Compartimento escuro; CC = Compartimento claro; i.p. = administração intraperitoneal.

5.1.4. Experimento 4 - Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal (i.p.) do complexo metálico derivados do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol) nos comportamentos relacionados com a memória em camundongos Swiss fêmeas submetidos ao teste do step-down.

Os animais foram tratados (i.p.) com: veículo (NaCl 0,9% +0,5% Tween80; grupo controle) ou complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015, 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol). Passados 30 minutos do tratamento, os animais foram submetidos ao SD. Quando o animal desceu para o assolo de barras de ferro recebeu um choque de intensidade de 0,4 mA (sessão do treino, 3s). 24h após o treino, o animal foi novamente inserido no teste (sessão teste) e foi avaliado a latência do animal para descer da plataforma para o assolo de barras de ferro. Na sessão de teste, o animal não levou mais o choque (Figura AP7).

Figura AP7. Delineamento experimental realizado para avaliar efeito amnésico no SD do complexo metálico derivado do Diazepam [(DZP)PdCl]₂ (0,015; 0,025 ou 0,15 mg/kg) (0,018, 0,029 ou 0,176 μmol).

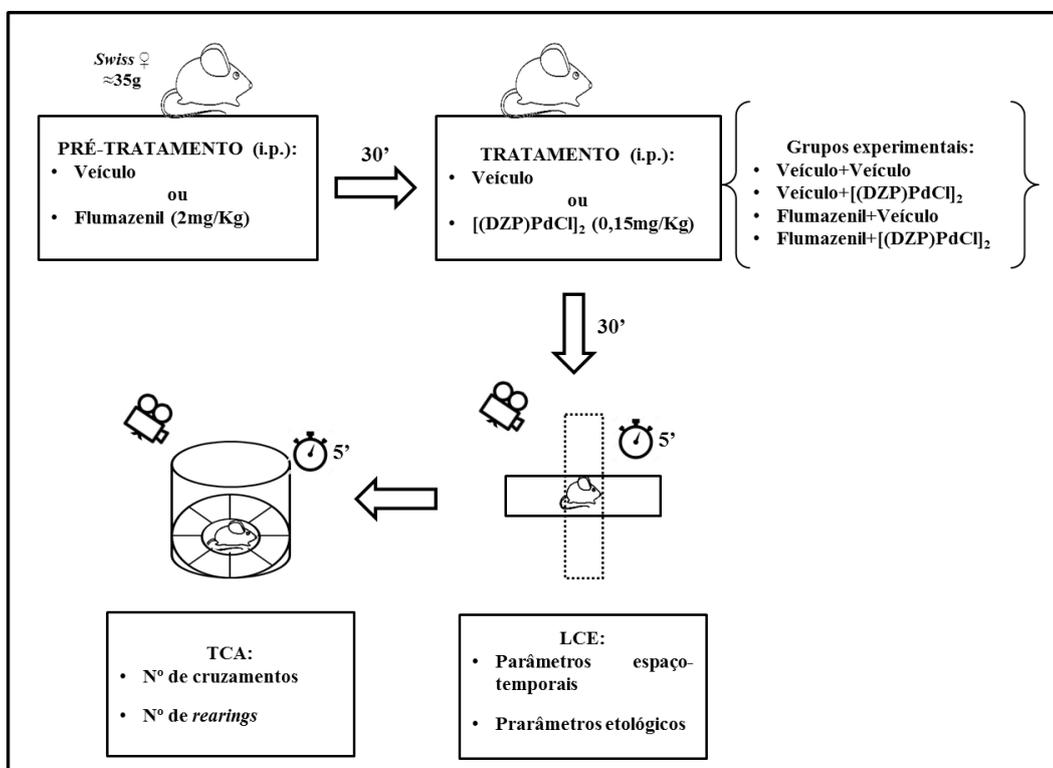


SD = Step-down; i.p. = Administração intraperitoneal

5.1.5. Experimento 5 - Avaliar se o efeito do tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam $[(DZP)PdCl]_2$ em camundongos Swiss fêmeas ocorre via receptores GABA(A), através do pré-tratamento com flumazenil [antagonista competitivo do sítio BZD do receptor GABA(A)].

Os animais foram pré-tratados (i.p.) com veículo (NaCl 0,9% + 0,1% Tween 80) ou flumazenil (2 mg/kg) (6,59 μ mol). Passados 30 minutos, os animais foram tratados com veículo ou $[(DZP)PdCl]_2$ (0,15 mg/kg) (0,176 μ mol) formando os seguintes grupos experimentais: Veículo + veículo (Grupo controle); Salina + $[(DZP)PdCl]_2$; Flumazenil + Salina; e Flumazenil + $[(DZP)PdCl]_2$. Após 30 minutos do último tratamento, os animais foram submetidos ao LCE para avaliação dos comportamentos relacionados com medo e ansiedade durante 5 min. Imediatamente após o LCE, os animais foram submetidos ao CA para avaliação da atividade locomotora espontânea (Figura AP8).

Figura AP8. Delineamento experimental realizado para avaliar possível modulação gabaérgica no efeito tipo ansiolítico do complexo metálico derivado do Diazepam $[(DZP)PdCl]_2$ (0,15 mg/kg) (0,176 μ mol).



LCE = Labirinto em cruz elevado; TCA = Teste do campo aberto; i.p. = administração intraperitoneal.

5.1.6. Análise estatística

Todos os resultados obtidos foram inicialmente organizados em tabelas no Microsoft Office Excel[®] Version 2010 e posteriormente foram plotados no programa GraphPad Prism[®] Version 5.01 para obtenção dos gráficos. Para a realização das análises estatísticas dos dados, foi utilizado o teste ANOVA One-way, seguido do post-hoc de *Newman keuls*, assumindo um valor de $P \leq 0,05$.

APÊNDICE A1 - Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Nº 29/2018.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal do complexo metálico derivado do diazepam [(DZP)PdCl]₂ nos comportamentos relacionados com medo, ansiedade e memória em camundongos Swiss fêmeas”, registrada com o nº 29/2018, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Marcelo Duzzioni**, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), **para fins de pesquisa científica**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), em reunião de 06 de julho de 2018.

Vigência da autorização	20.07.2018 a 20.07.2020
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico / Swiss
Nº de animais	190
Peso/idade	35 g / 3 meses
Sexo	Fêmeas
Origem/Local de manutenção	Biotério Central da Ufal / Biotério do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI/UFAL)
Colaboradores	Fernanda M. A. de Souza, Danyele C. S. P. Nicácio, José G. S. Neto, Gabriela T. S. Cavalcante, Mirella P. S. Vieira, Ozileudiane B. S. da Silva e Gabriela F. De Souza

Maceió, 16 de julho de 2018.

Elvan Nascimento dos Santos Filho

Coordenador da CEUA

SIAPÉ 1756479