

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Síntese, caracterização e avaliação de complexos de
paládio contendo chalconas sobre células de
adenocarcinoma gástrico e *Helicobacter pylori***

**Synthesis, characterization and evaluation of palladium complexes containing chalcones
on gastric adenocarcinoma cells and *Helicobacter pylori***

Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot

Tese de Doutorado em Química

**Vitória
2025**

Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Química

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Química de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rezende Kitagawa

Coorientador(a): Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

B735s Borlot, Jessica Rodrigues Pereira de Oliveira, 1991-
Síntese, caracterização e avaliação de complexos de paládio contendo chalconas sobre células de adenocarcinoma gástrico e *Helicobacter pylori* / Jessica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot. - 2025.
165 f. : il.

Orientador: Rodrigo Rezende Kitagawa.
Coorientador: Ricardo Machado Kuster.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Complexos metálicos. 2. Chalconas. 3. Paládio. 4. Câncer gástrico. 5. *Helicobacter pylori*. 6. Urease. I. Kitagawa, Rodrigo Rezende. II. Kuster, Ricardo Machado. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

Síntese, caracterização e avaliação de complexos de paládio contendo
chalconas sobre células de adenocarcinoma gástrico e *Helicobacter
pylori*

Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências
Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a
obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 25/11/2025 por:

Prof.(a) Dr.(a) Rodrigo Rezende Kitagawa
Orientador(a)
UFES

Prof.(a) Dr.(a) Ricardo Machado Kuster
Coorientador(a)
UFES

Prof.(a) Dr.(a) Najeh Maissar Khalil
UNICENTRO

Prof.(a) Dr.(a) Marcio Fronza
UVV

Prof.(a) Dr.(a) Reginaldo Bezerra dos Santos
UFES

Prof.(a) Dr.(a) Marcos Antônio Ribeiro
UFES

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, novembro de 2025





Documentos de Defesa de Doutorado_Aluna Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira

Data e Hora de Criação: 01/12/2025 às 14:40:53

Documentos que originaram esse envelope:

- AtaAprovação_Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)
- FolhaRegistro_Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot (1).pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)
- FolhaAssinaturas_Jéssica Rodrigues Pereira de Oliveira Borlot.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)



Hashs únicas referente à esse envelope de documentos

[SHA256]: 30cedb66c2cba034042e33551cb4b0cddb5ebff0741ac3f1bdfb4c85c56a136d

[SHA512]: 60c9551fb3363a215e068747d8a22a68851527fed630a5eb023f57c85972d5aaaa0adc7eeb9059fbc26dd936ccc717bc290f71f18e1abb9fec79ff11ddf2251

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope

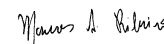


ASSINADO - Marcos Antonio Ribeiro (marcos.a.ribeiro@ufes.br)

Data/Hora: 01/12/2025 - 18:36:02, IP: 200.137.65.107, Geolocalização: [-20.3194, -40.3378]

[SHA256]: 6768f38b10c7875a6c9c7db685ef194d6302337a2c6af1a4ffa69218d4195264

Assinatura Eletrônica Avançada (Conforme Lei nº 14.063/20, art. 4º, II)



ASSINADO - Marcio Fronza (msfronza@gmail.com)

Data/Hora: 01/12/2025 - 14:42:54, IP: 177.221.125.131

[SHA256]: 645e4f863fec1af02d5be0905832d07be2f0762952ed95f19ea99e0730041336

Assinatura Eletrônica Avançada (Conforme Lei nº 14.063/20, art. 4º, II)



ASSINADO - Najeh Maissar Khalil (najeh@unicentro.br)

Data/Hora: 01/12/2025 - 15:07:30, IP: 179.186.225.13

[SHA256]: 2e4b37ed618a350c4d6e326ce837bb46f4f7dfbcb6ef12329cf969a5234ea63e

Assinatura Eletrônica Avançada (Conforme Lei nº 14.063/20, art. 4º, II)



ASSINADO - Reginaldo Bezerra dos Santos (reginaldo.santos@ufes.br)

Data/Hora: 01/12/2025 - 18:58:59, IP: 177.158.246.246, Geolocalização: [-20.2828, -40.2868]

[SHA256]: 2588deedd3f3930f5456eeab5672e11df1b137f1a57f8be09e6eab97380ec7a5

Assinatura Eletrônica Avançada (Conforme Lei nº 14.063/20, art. 4º, II)



ASSINADO - Ricardo Machado Kuster (ricardo.m.kuster@ufes.br)

Data/Hora: 01/12/2025 - 15:08:18, IP: 177.145.27.224

[SHA256]: 315e27fff8a6dc39d3ac20dcb43ad414a7fcc3dd6bf959a7d89ef6847c9e3f9d

Assinatura Eletrônica Avançada (Conforme Lei nº 14.063/20, art. 4º, II)



ASSINADO - Rodrigo Rezende Kitagawa (rodrigo.kitagawa@ufes.br)

Data/Hora: 01/12/2025 - 15:12:23, IP: 200.137.65.102, Geolocalização: [-20.297960, -40.316716]

[SHA256]: 0e3855933dd82a951f30e3a77a7db69906ba59e36bcb98ce97f500e509256d31

Assinatura Eletrônica Avançada (Conforme Lei nº 14.063/20, art. 4º, II)

Histórico de eventos registrados neste envelope

- 01/12/2025 18:58:59 - Envelope finalizado por reginaldo.santos@ufes.br, IP 177.158.246.246
- 01/12/2025 18:58:59 - Assinatura realizada por reginaldo.santos@ufes.br, IP 177.158.246.246
- 01/12/2025 18:36:02 - Assinatura realizada por marcos.a.ribeiro@ufes.br, IP 200.137.65.107
- 01/12/2025 18:35:53 - Envelope visualizado por marcos.a.ribeiro@ufes.br, IP 200.137.65.107
- 01/12/2025 15:12:23 - Assinatura realizada por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 200.137.65.102
- 01/12/2025 15:12:19 - Envelope visualizado por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 200.137.65.102
- 01/12/2025 15:08:18 - Assinatura realizada por ricardo.m.kuster@ufes.br, IP 177.145.27.224
- 01/12/2025 15:07:30 - Assinatura realizada por najeh@unicentro.br, IP 179.186.225.13
- 01/12/2025 14:42:54 - Assinatura realizada por msfronza@gmail.com, IP 177.221.125.131
- 01/12/2025 14:41:31 - Envelope registrado na Blockchain por michel.chaves@ufes.br, IP 187.36.172.130
- 01/12/2025 14:41:30 - Envelope encaminhado para assinaturas por michel.chaves@ufes.br, IP 187.36.172.130
- 01/12/2025 14:40:55 - Envelope criado por michel.chaves@ufes.br, IP 187.36.172.130

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a **Deus**, que sempre esteve presente em minha vida, guiando minhas decisões e me fortalecendo para que fosse possível buscar novos desafios e conquistas.

Aos meus pais, **Claudia e Eduardo**, por estarem sempre ao meu lado, me incentivando, me impulsionando a seguir em frente e me ensinando a manter a cabeça erguida independentemente das dificuldades. A vocês, minha eterna gratidão pelo amor e apoio incondicionais.

Ao meu marido **Wanderson**, por caminhar ao meu lado, me apoiar em todas as decisões e ser meu porto seguro em cada etapa desta jornada.

À minha família, pelo carinho, torcida e confiança para que eu pudesse tornar meus sonhos realidade. Não sou capaz de dimensionar a minha gratidão por todo o amor que recebi.

Aos meus colegas do **Laboratório de Triagem Biológica de Produtos Naturais**, pelos momentos compartilhados, pelo companheirismo e pelas valiosas trocas de conhecimento que tornaram esta caminhada mais leve e enriquecedora.

Ao professor **Dr. Rodrigo Rezende Kitagawa**, por ter aceitado o desafio de me orientar mais uma vez, pela paciência, pelo compartilhamento de conhecimento, pelo apoio constante e por todos os aprendizados adquiridos ao longo desses anos. Para mim, você é um exemplo de serenidade, competência e dedicação.

Ao professor **Dr. Ricardo Machado Kuster**, meu coorientador, pela disponibilidade e atenção constante, sempre de prontidão para me auxiliar na resolução de dúvidas e na condução deste trabalho. Sua orientação e apoio foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao professor **Reginaldo Bezerra dos Santos**, por ter gentilmente cedido o laboratório para a síntese das substâncias necessárias ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Rodrigo Romagna**, pelo generoso gesto de ceder algumas das chalconas utilizadas na síntese dos complexos, contribuindo de forma significativa para o avanço desta pesquisa.

Ao **Vinicius S. Cunha**, pela disposição em compartilhar seus conhecimentos em síntese e pelo auxílio técnico prestado.

Ao **Laboratório CMVV**, por todo o suporte e auxílio na obtenção dos espectros de

massas.

Agradeço também à disponibilidade e atenção dos **membros da banca de defesa**, pela leitura cuidadosa e pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Por fim, agradeço à **Universidade Federal do Espírito Santo** e ao **Programa de Pós-Graduação em Química**, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional, e por oferecerem o ambiente necessário para a realização deste estudo.

MUITO OBRIGADA!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.
Madre Teresa de Calcutá

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química do docetaxel.....	24
Figura 2- Núcleo básico da chalcona	25
Figura 3 - Biossíntese de chalcona	26
Figura 4- Complexos dinuclear de cobre(II) com um ligante de ponte bis(chalcona) 30	
Figura 5 - Complexo de Zn(II) com ligante híbrido de chalcona-tiossemicarbazona .	31
Figura 6 - Complexos metálicos de 4-hidroxi-3-[3-(4-hidroxifenil)-acrilóil]-6-metil-2H-piran-2-ona	31
Figura 7 - Chalconas de ferrocenil com vanilinas O-alquiladas.....	32
Figura 8- Complexos rutênio (II) com chalconas	32
Figura 9 - Complexos de ferrocenil e chalconas	33
Figura 10 - Complexos de ouro, platina e paládio com derivados de chalconas.....	33
Figura 11 - Mecanismo associativo	34
Figura 12- Imagem em 3D de <i>Helicobacter pylori</i>	36
Figura 13 - Prevalência de infecção por <i>H. pylori</i> em adultos e crianças.	37
Figura 14- Cascata inflamatória de <i>H. pylori</i>	39
Figura 15 - Moléculas alvo do projeto	42
Figura 16 – Mecanismo de formação de chalconas sob condições básicas	58
Figura 17 – (E)-3-(2-clorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (9).....	59
Figura 18 – Espectros de FTIR da chalcona 9, registrados na região de 200–4000 cm^{-1} , em evidencia as principais bandas vibracionais.	60
Figura 19 - Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 ;400MHz) da chalcona 9.....	61
Figura 20 - Espectro de RMN de ^1H expandido (DMSO- d_6 ;400MHz) da chalcona 9	62
Figura 21 – Espectro de FTIR do ligante 11, registrado na região de 4000–400 cm^{-1}	66
Figura 22 - Espectros de FTIR do ligante chalcona 11 e de seu respectivo complexo de paládio(II) (11C), registrados na região de 4000–400 cm^{-1}	67
Figura 23- Espectro de absorção UV-Vis do ligante 9 e do complexo 9C em solução de acetonitrila ($10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).....	69
Figura 24- Espectros de RMN de ^1H do ligante 10 e complexo 10C obtido em DMSO- d_6 (400 MHz).	72
Figura 25 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B)	

do complexo 7C	80
Figura 26 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 8C	80
Figura 27 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 9C	81
Figura 28 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 10C	81
Figura 29 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 11C.....	82
Figura 30 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 12C	82
Figura 31 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 13C	83
Figura 32 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo 14C	83
Figura 33 - Estruturas representativas dos complexos 9C e 12C	90
Figura 34- Estrutura do complexo 13C.....	92
Figura 35 – Principais interações do S55746 em 2D no sítio ativo da Bcl-2 (PDB:6GL8).	95
Figura 36 - Validação do modelo de <i>docking</i> desenvolvido por <i>redocking</i> (RMSD=0,5932 Å) no sítio ativo da Bcl-2 PDB:6GL8. Ligante cristalográfico representado com átomos de carbono em marrom e a pose de <i>docking</i> com estrutura representada por átomos em cinza.	96
Figura 37 - Estrutura química do ABT-199, lonchocarpina e de compostos bioativos da <i>Annona muricata</i> Linn.	98
Figura 38 - Principais interações do complexo 7C em 2D no sítio ativo da Bcl-2.....	99
Figura 39 - Principais interações do complexo 8C em 2D no sítio ativo da Bcl-2....	100
Figura 40 - Principais interações do complexo 9C em 2D no sítio ativo da Bcl-2....	100
Figura 41 - Principais interações do complexo 10C em 2D no sítio ativo da Bcl-2..	101
Figura 42 - Principais interações do complexo 11C em 2D no sítio ativo da Bcl-2..	101
Figura 43 - Principais interações do complexo 12C em 2D no sítio ativo da Bcl-2..	102
Figura 44 - Principais interações do complexo 13C em 2D no sítio ativo da Bcl-2..	102
Figura 45 - Principais interações do complexo 14C em 2D no sítio ativo da Bcl-2..	103
Figura 46 - Estrutura dos complexos mais ativos frente <i>H. pylori</i>	106

Figura 47 - Estrutura dos complexos com maior atividade para inibição da enzima urease	110
Figura 48- Redocking do AHA e suas principais interações	112
Figura 49- Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo 8C	113
Figura 50 – Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo 7C	113
Figura 51 - Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo 9C	114
Figura 52 – Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo 10C	115
Figura 53 – Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo 12C	116
Figura 54 - Diagramas 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações dos complexos 13C (A), 11C (B) e 14C (C)	116
Figura 55 - Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações da chalcona 8	117

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Síntese das chalconas fenólicas (7–10) e naftólicas (11–14).....	57
Esquema 2 – Síntese dos complexos de paládio(II) (7C–14C) derivados de chalconas fenólicas (7–10) e naftólicas (11–14) em acetonitrila.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais bandas de FTIR (cm^{-1}) dos ligantes e respectivos complexos de Pd(II).	65
Tabela 2- Dados de Absorção UV-Vis dos Ligantes Chalconas e seus Complexos de Paládio	69
Tabela 3 - Deslocamentos químicos observados por RMN ^1H	71
Tabela 4 - Dados termogravimétricos (TG) dos complexos de paládio, incluindo faixa de decomposição, perda de massa e resíduos finais.....	75
Tabela 5 - Resultados de análise elementar (CHN) dos complexos de paládio: comparação entre valores experimentais e teóricos.	78
Tabela 6 – Valores de PA e PI do PASS	85
Tabela 7 - Análise e Previsão In Silico das Propriedades Físico-Químicas, Farmacocinéticas (ADMET) e de Drug-Likeness dos Complexos.....	86
Tabela 8 – Citotoxicidade para complexos, ligantes e cisplatina índice de seletividade (IS).	88
Tabela 9 – Atividade anti- <i>H. pylori</i> dos Ligantes e Complexos determinada pela CIM e CBM	104
Tabela 10 – Atividade de inibição da enzima urease dos Ligantes e Complexos....	108

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Efeito do núcleo e dos substituintes sobre a citotoxicidade (IC_{50} , μM) dos complexos de Pd(II) frente à linhagem AGS.....	91
Gráfico 2 - Comparação entre potência (IC_{50}) e seletividade (IS) dos complexos de Pd(II) frente às linhagens AGS e L-929.....	92

LISTA DE ABREVIACOES

AGS	Adenocarcinoma Gástrico
AHA	Ácido acetohidroxâmico
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BabA	<i>Blood group antigen adhesin gene</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CagA	<i>Cytotoxin associated gene A</i>
cag-PAI	<i>Cytotoxin associated gene pathogenicity island</i>
CBM	Concentração Bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
DMEN	<i>Dulbecco's modified eagle medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and Drug administration</i>
IC₅₀	Índice citotóxico 50%
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-8	Interleucina 8
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IS	Índice de Seletividade
LMCT	Transferência de carga de ligante para metal
MDL	MOLFILE
MLCT	Transferência de carga de metal para ligante
MTT-tetrazólio	<i>Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide</i>
PA	Probabilidade de atividade
PASS	Predição de Espectros de Atividade para Substâncias
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
Pi	Probabilidade de inatividade
RMSD	<i>Root mean square deviation</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
VacA	<i>Vacuolating cytotoxin A</i>

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

δ	Deslocamento químico
°C	Graus Celsius
Å	Angstrom
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
g	Grama
h	Horas
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamento
kcal	Quilocaloria
m	Multiplete
M	Molar
mg	Miligrama
MHz	Mega-hertz
mL	Mililitro
mmol	Milimol
m/z	Razão massa carga
s	Singleto
t	Triplete
td	Triplo dubleto
UV	Ultravioleta
V	Volt
v/v	Volume por volume
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micromolar

RESUMO

As chalconas são uma classe de compostos α,β -insaturados reconhecida pelo potencial farmacológico, destacando-se pelas atividades antitumoral e antibacteriana associadas à sua estrutura conjugada, capaz de interagir com diversas biomoléculas e modular processos biológicos. A coordenação com metais de transição, como o paládio(II), tem se mostrado uma estratégia eficaz para potencializar propriedades bioativas, modificando características eletrônicas, lipofílicas e estruturais. Considerando a elevada incidência de câncer gástrico e sua estreita associação com a infecção por *Helicobacter pylori*, neste trabalho, foram sintetizados e caracterizados oito complexos de paládio(II) contendo ligantes derivados de chalconas, com o objetivo de avaliar suas propriedades estruturais, espectroscópicas e atividades biológicas frente a células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS), fibroblastos murinos (L-929), *H. pylori* e a enzima urease. As estruturas foram caracterizadas por FTIR, UV-Vis, RMN ^1H , espectrometria de massas, análise termogravimétrica e análise elementar. Nos ensaios *in vitro* observou-se aumento da citotoxicidade frente a linhagem AGS (adenocarcinoma gástrico), reduzindo os valores de IC_{50} de 28–64 μM (ligantes) para 6–26 μM (complexos). O complexo **9C** foi o mais ativo e seletivo (IC_{50} = 6,38 μM ; IS= 4), superando inclusive a cisplatina (IC_{50} = 8,42 μM). Estudos de *docking* frente à proteína Bcl-2 mostraram interações com resíduos críticos do sítio ativo, compatíveis com o mecanismo apoptótico intrínseco. Na avaliação antibacteriana, todos os complexos apresentaram atividade superior aos ligantes livres, com CIM= 1–4 $\mu\text{g/mL}$ e CBM= 1–8 $\mu\text{g/mL}$. O complexo **9C** exibiu o melhor perfil (CIM e CBM = 1 $\mu\text{g/mL}$), seguido por **14C** e **12C**, cujas variações refletem efeitos eletrônicos e de lipofilicidade. Nos ensaios de inibição da urease, apenas os complexos metálicos foram ativos (IC_{50} = 9,72–33,29 μM), sugerindo que o Pd(II) possa competir com o Ni^{2+} no sítio catalítico, reduzindo a função enzimática. Em conjunto, os resultados demonstram que a coordenação ao metal amplia significativamente a atividade biológica das chalconas, conferindo potencial antitumoral e anti-*H. pylori* de maneira integrada. As variações estruturais nos núcleos aromáticos e nos padrões de substituição modulam a seletividade e a potência biológica, evidenciando os complexos **7C**, **9C** e **14C** como os que apresentaram o desempenho mais consistente entre os derivados avaliados, com potencial aplicação no contexto do câncer gástrico e de infecções associadas à *H. pylori*.

Palavras-chave: complexos metálicos; chalconas; paládio; câncer gástrico; *Helicobacter pylori*; urease.

ABSTRACT

Chalcones are a class of α,β -unsaturated compounds widely recognized for their pharmacological potential, particularly due to their antitumor and antibacterial activities associated with a conjugated structure capable of interacting with diverse biomolecules and modulating biological processes. Coordination with transition metals such as palladium(II) has proven to be an effective strategy to enhance bioactive properties by modifying electronic, lipophilic, and structural characteristics. Considering the high incidence of gastric cancer and its close association with *H. pylori* infection, in this study, eight palladium(II) complexes containing chalcone-derived ligands were synthesized and characterized, aiming to evaluate their structural, spectroscopic, and biological properties against human gastric adenocarcinoma (AGS) cells, murine fibroblasts (L-929), *H. pylori*, and the urease enzyme. The structures were characterized by FTIR, UV-Vis, ^1H NMR, mass spectrometry, thermogravimetric, and elemental analyses. In *in vitro* assays, an increase in cytotoxicity against the AGS cell line was observed, reducing IC_{50} values from 28–64 μM (ligands) to 6–26 μM (complexes). Complex 9C was the most active and selective ($\text{IC}_{50} = 6.38 \mu\text{M}$; SI = 4), surpassing even cisplatin ($\text{IC}_{50} = 8.42 \mu\text{M}$). Docking studies against the Bcl-2 protein showed interactions with critical residues in the active site, consistent with an intrinsic apoptotic mechanism. In the antibacterial evaluation, all complexes exhibited higher activity than the free ligands, with MIC = 1–4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and MBC = 1–8 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Complex 9C displayed the best profile (MIC and MBC = 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), followed by 14C and 12C, whose variations reflect electronic and lipophilic effects. In urease inhibition assays, only the metal complexes were active ($\text{IC}_{50} = 9.72\text{--}33.29 \mu\text{M}$), suggesting that Pd(II) may compete with Ni^{2+} at the catalytic site, thereby reducing enzymatic function. Overall, the results demonstrate that metal coordination significantly enhances the biological activity of chalcones, conferring integrated antitumor and anti-*H. pylori* potential. Structural variations in the cores and substituents modulate selectivity and potency, highlighting complexes 7C, 9C, and 14C as promising candidates for the development of new compounds targeting gastric cancer and *H. pylori*-associated infections.

Keywords: metal complexes; chalcones; palladium; gastric cancer; *Helicobacter pylori*; urease.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	42
2.1	Geral	42
2.2	Específicos.....	42
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	43
3.1	Métodos de análise e caracterização química	43
3.1.1	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	43
3.1.2	Espectrofotometria de absorção na região do UV-vis.....	43
3.1.3	Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho	43
3.1.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H e (RMN de ¹ H).....	43
3.1.5	Análise Termogravimétrica.....	44
3.2	Síntese dos compostos.....	44
3.2.1	Metodologia geral para preparação dos ligantes	44
3.2.2	Metodologia geral para preparação dos complexos	48
3.2.3	Espectrometria de Massas	52
3.2.4	CHN.....	52
3.3	Métodos <i>in silico</i>	52
3.3.1	Criação de base de dados dos compostos.....	52
3.3.2	Avaliação do espectro de atividade dos compostos	53
3.3.3	Avaliação da propriedades farmacocinéticas.....	53
3.3.4	Busca por complexos cristalográficos de enzimas e inibidores	53
3.3.5	Cálculos de <i>docking</i> e validação.....	53
3.4	Métodos <i>in vitro</i>	53
3.4.1	Avaliação da atividade anti- <i>H. pylori</i>	53
3.4.2	Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i>	55

3.4.3	Análise Estatística	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	Síntese e caracterização dos derivados de chalcona	57
4.2	Síntese e caracterização dos complexos	62
4.3	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	65
4.4	Espectrofotometria de absorção na região do UV-vis	68
4.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H (RMN de ¹ H) ...	71
4.6	Análise termogravimétrica (TG)	74
4.7	Análise Elementar	78
4.8	Espectrometria de massas	79
5	ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	84
5.1	Predição de espectros de atividade dos complexos	84
5.2	Propriedades farmacocinéticas (ADME)	86
6	ESTUDOS <i>IN VITRO</i>	88
6.1	Citotoxicidade dos ligantes e complexos	88
6.2	<i>Docking</i> molecular do sítio ativo da proteína Bcl-2	93
6.3	Avaliação da atividade anti- <i>H. Pylori</i>	103
6.4	Avaliação da atividade sobre a enzima urease	108
6.5	<i>Docking</i> molecular no sítio ativo da enzima urease de <i>H. pylori</i>	111
7	CONCLUSÃO	119
8	REFERÊNCIAS	121
9	ANEXOS	135
9.1	Caracterização por Infravermelho	135
9.2	Caracterização por UV-vis	142
9.3	Caracterização por espectroscopia de RMN	146
9.4	Análise termogravimétrica (TG)	153
9.5	Cálculos termogravimétricos dos complexos	157

9.5.1	Complexo 7C – $C_{30}H_{24}Cl_2O_4Pd$	157
9.5.2	Complexo 8C – $C_{30}H_{20}F_2O_4Pd$	157
9.5.3	Complexo 9C – $C_{30}H_{22}Cl_4O_4Pd$	157
9.5.4	Complexo 11C – $C_{38}H_{28}Cl_2O_4Pd$	158
9.5.5	Complexo 12C – $C_{38}H_{24}F_2O_4Pd$	158
9.5.6	Complexo 13C – $C_{38}H_{24}Cl_2O_4Pd$	158
9.5.7	Complexo 14C – $C_{40}H_{30}O_6Pd$	159
9.6	Caracterização por Espectrometria de Massas	159
9.7	CHN	163
9.8	Docking molecular.....	164

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais desempenham um papel importante no desenvolvimento de novos fármacos, de fato, muitos fármacos atualmente aprovados se originaram de compostos que foram identificados pela primeira vez na natureza. Já que eles oferecem uma fonte ilimitada de compostos bioativos que apresentam grande potencial para o tratamento de doenças como câncer, malária, infecções bacterianas e fúngicas, doenças neurológicas e cardiovasculares e distúrbios autoimune¹⁻⁵.

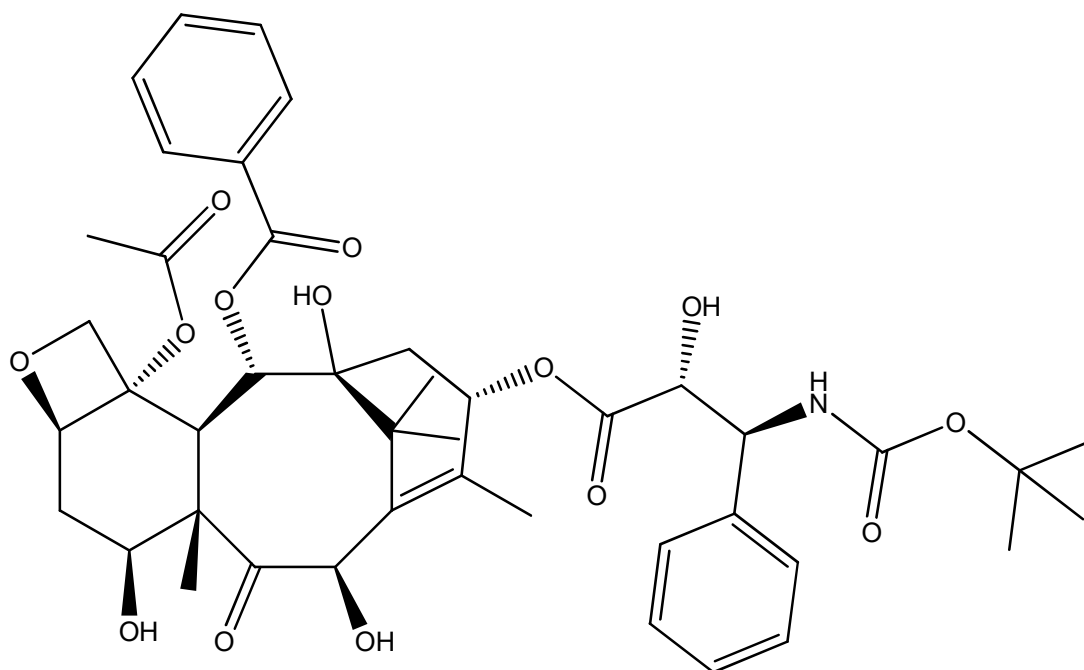
Uma das fontes mais importantes de compostos biologicamente ativos é o reino vegetal. Atualmente, há mais de 350.000 espécies de plantas vasculares registradas no mundo, e novas espécies são adicionadas a cada ano⁶.

No século XX, com o surgimento da ideia de que o efeito dos fármacos no corpo humano é mediado por interações específicas entre o fármaco e macromoléculas biológicas, levaram à conclusão de que compostos químicos individuais em extratos, são os fatores necessários para atividade biológica do fármaco^{7,8}.

Esse avanço conceitual impulsionou a transição da farmacognosia clássica para a química medicinal moderna, favorecendo o isolamento, caracterização e modificação estrutural de compostos naturais com potencial terapêutico⁸. A partir desse momento, substâncias isoladas de plantas, microrganismos e organismos marinhos passaram a ser investigadas não apenas quanto à sua atividade biológica, mas também em relação ao seu mecanismo de ação em nível molecular. Esse movimento abriu caminho para o desenvolvimento de derivados semissintéticos e análogos estruturais, com o objetivo de otimizar a eficácia farmacológica, reduzir efeitos adversos e ampliar as possibilidades terapêuticas⁹.

Um exemplo notável nesse contexto é o docetaxel, um derivado semissintético do paclitaxel, inicialmente isolado do *Taxus brevifolia*, que revolucionou a quimioterapia antineoplásica ao atuar na estabilização dos microtúbulos e bloqueio da divisão celular. Assim como o docetaxel (Figura 1), diversos outros fármacos antitumorais tiveram sua origem em produtos naturais, evidenciando a relevância das fontes naturais como ponto de partida para a descoberta e o desenvolvimento de agentes quimioterápicos inovadores^{10,11}.

Figura 1- Estrutura química do docetaxel.



Fonte : próprio autor

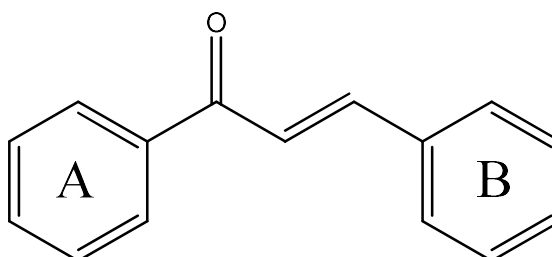
As plantas têm sido usadas como remédios há milhares de anos, sendo que nos últimos 30 anos houve um aumento no número de produtos naturais que tiveram aprovação de agências regulamentadoras ¹². Nesse sentido Newman e Craig (2020) avaliaram o papel dos produtos naturais nos fármacos aprovados pela FDA entre 1981 e 2019. Esse estudo revelou que 71 eram produtos naturais inalterados, 14 eram produtos naturais botânicos (mistura), 356 eram derivados de um produto natural, geralmente semissintético, 217 eram drogas totalmente sintéticas, mas mimetizando um produto natural, 65 eram drogas sintéticas, mas com farmacóforo de produtos naturais e 207 eram drogas feitas por síntese imitando o farmacóforo de um produto natural ⁷.

Devido à grande quantidade de metabólitos secundários presentes nas plantas e seu potencial biológico, elas foram e continuam sendo muito exploradas pelo homem, apresentando grande potencial para a indústria farmacêutica ^{13,14}.

Dentre os produtos naturais pode-se destacar as chalconas (Figura 2) que são cetonas aromáticas encontradas na natureza como núcleo central de muitos compostos biológicos, são precursoras estruturais dos flavonoides e isoflavonoides. A estrutura básica das chalconas compreende 1,3-difenil-2-propen-1-ona que ocorre em formas *trans* e *cis* isoméricas. O isômero *trans* é termodinamicamente mais estável que o isômero *cis* e é a configuração mais predominante ¹⁵⁻¹⁷. A química das chalconas

continua sendo um fascínio entre os pesquisadores do século 21 devido ao grande número de hidrogênios substituíveis que permitem a geração de um grande número de derivados e uma variedade de atividades biológicas promissoras ^{18,19}.

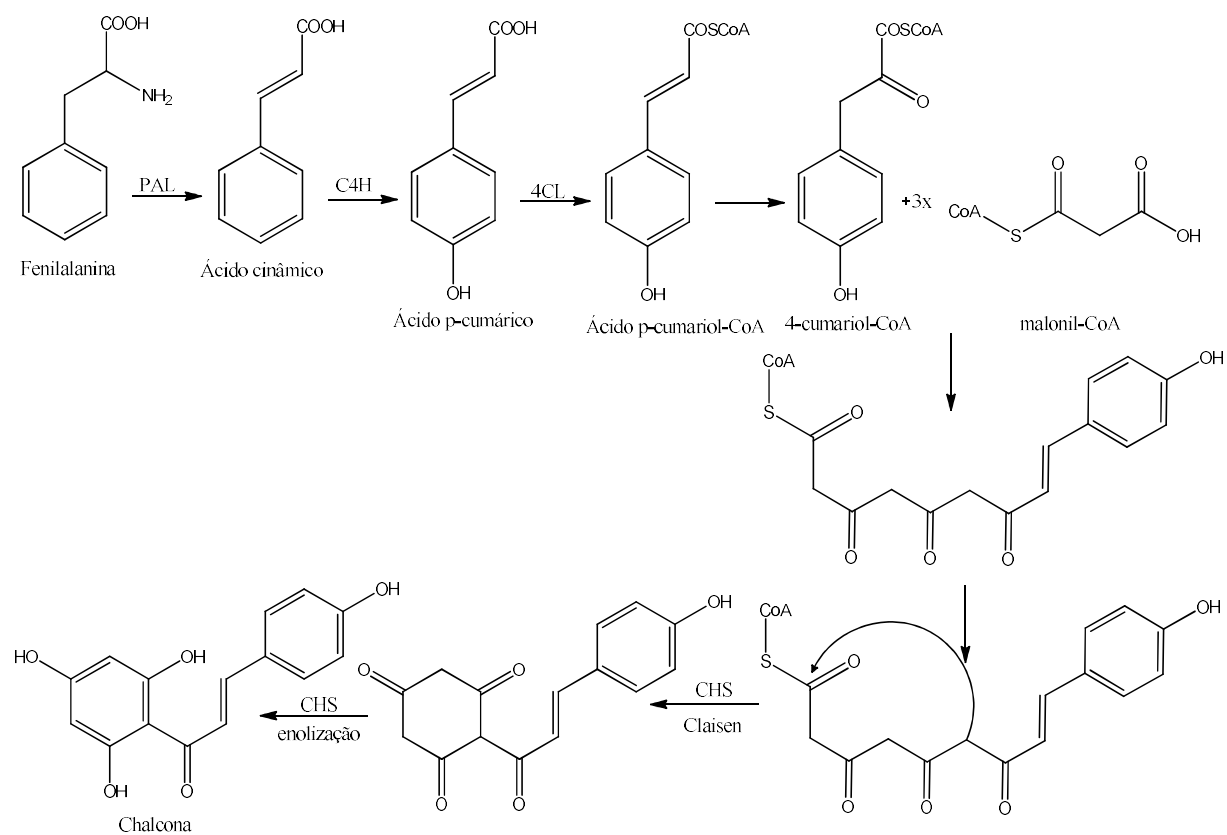
Figura 2- Núcleo básico da chalcona



Fonte : próprio autor

As chalconas são produtos de condensação de cinamoil-CoA ou 4-cumaroil CoA da via do chiquimato com três moléculas de malonil-CoA, catalisado pela chalcona sintase (CHS), sendo ela a enzima chave da via da biossíntese flavonoide/isoflavonoide (Figura 3)²⁰. A chalcona formada é um precursor biossintético de várias classes de flavonoides, como flavanonas, flavonois, diidroflavonois, isoflavonas, flavonas, isoflavonoides, auronas e antocianidinas ²¹.

Figura 3 - Biossíntese de chalcona



PAL-Fenilalanina amônia liase
 C4H-Cinamato 4-hidroxilase
 4CL-4-Cumarato-Coa ligase

Fonte : (Adaptado de CHEN et al., 2023)²²

As chalconas despertam considerável interesse científico na química medicinal devido à sua química simples, facilidade em sintetizar uma variedade de derivados, além de exibir uma ampla gama de atividades farmacológicas promissoras modulando vários alvos moleculares²³. Estes metabólitos e seus correspondentes derivados sintéticos têm demonstrado inúmeras atividades biológicas com potencial clínico como antitumoral, anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano²⁴⁻²⁸.

O principal método utilizado para síntese dessas substâncias é a reação de condensação aldólica, que é uma reação entre um aldeído aromático e uma cetona aromática e pode ser conduzida por duas vias distintas: em meio básico, onde um enolato nucleofílico ataca o aldeído, ou em meio ácido, onde um enol ataca o aldeído ativado, é chamada de condensação de *Claisen-Schmidt*²⁹. Ambas as abordagens são valorizadas pela sua eficiência na produção de uma vasta gama de análogos. No entanto, o repertório de métodos sintéticos para a obtenção de chalconas é diversificado e inclui outras técnicas importantes, como a reação de *Wittig* e a acilação de *Friedel-Crafts*, que permitem a construção do esqueleto da chalcona a partir de diferentes precursores. Além disso, métodos mais modernos, como a olefinação de *Julia-Kocienski* e a utilização de catalisadores ácidos sólidos, oferecem alternativas eficazes para a síntese, ampliando as possibilidades de funcionalização e de otimização de rotas sintéticas^{30,31}.

A reação de *Claisen-Schmidt* é o principal método para a síntese dessas substâncias. Trata-se de uma condensação aldólica que une uma cetona e um aldeído aromáticos em meio básico. Este método se destaca por sua eficiência, simplicidade e baixo custo, utilizando reagentes amplamente disponíveis e de fácil manuseio.

A presença da dupla ligação conjugada e do grupo carbonílico nas chalconas confere a essas moléculas, grande versatilidade química, especialmente no que diz respeito à coordenação com íons metálicos. Tais grupos funcionais atuam como sítios doadores de elétrons, possibilitando a formação de complexos estáveis por meio de interações com metais de transição. Nesse contexto, a química de coordenação desempenha um papel fundamental, uma vez que a ligação metal-ligante pode modificar significativamente as propriedades eletrônicas, estruturais e biológicas das chalconas, ampliando seu potencial de aplicação em catálise e em sistemas bioativos.

Atualmente, diversos compostos orgânicos utilizados na medicina não apresentam modo de ação puramente orgânico e requerem vestígios de íons metálicos, direta ou indiretamente, para ativação ou biotransformação ^{32,33}.

A inclusão de metais em estruturas já conhecidas pode, portanto, contribuir para surgimento ou aprimoramento das atividades biológicas apresentadas pelo composto de partida ³⁴⁻³⁸.

Durante décadas, os metalofármacos têm atraído pesquisadores de todo o mundo devido ao seu efeito terapêutico/modulador amplificado, alterando as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos complexos em relação aos receptores biológicos ³³.

O desenvolvimento da química de coordenação, especificamente no que tange aos compostos de coordenação metálicos, é marcado por uma evolução teórica e experimental que transformou a compreensão da ligação química. Embora compostos como o azul da Prússia fossem conhecidos desde o século XVIII, a sua estrutura e as ligações subjacentes eram um enigma. A primeira explicação coerente e revolucionária surgiu com a Teoria da Coordenação de Alfred Werner, em 1893. Ele postulou a existência de dois tipos de valência: uma valência primária (o estado de oxidação do metal) e uma valência secundária (o número de ligantes ao redor do íon metálico). Para validar suas ideias, Werner sintetizou e isolou isômeros ópticos, provando a natureza espacial das ligações e recebendo o Prêmio Nobel de Química em 1913³⁹.

Ao longo do século XX, o trabalho de Werner foi aprofundado por teorias como a do Campo Cristalino e a do Campo Ligante, que ofereceram uma descrição mais detalhada da interação entre os orbitais d do metal e os ligantes, elucidando as cores e as propriedades magnéticas dos complexos. Na segunda metade do século, o campo se expandiu com a descoberta do ferroceno em 1951, um complexo "sanduíche" que abriu as portas para a química organometálica, uma nova área de pesquisa⁴⁰. Além disso, a aplicação terapêutica desses compostos se tornou evidente com o uso da cisplatina na quimioterapia, que foi aprovada pela FDA para uso clínico a partir de 1978 no tratamento de câncer testicular, ovariano e de bexiga⁴¹. O estudo dos complexos metálicos, portanto, evoluiu de uma disciplina puramente descritiva

para uma área teórica robusta e com vastas aplicações, desde a catálise até a medicina.

Após a descoberta da atividade antitumoral da cisplatina por Rosenberg et al. (1969), despertou-se o interesse por estudos de complexos metálicos ⁴¹. A cisplatina e seus derivados por exemplo, oxaliplatina, nedaplatina, carboplatina, heptaplatina e lobaplatina tem grande importância por suas atividades anticâncer ⁴². A cisplatina é utilizada em diversos tratamentos quimioterápicos, sendo eficaz no combate de diferentes tipos de neoplasias, incluindo cabeça, pescoço, testículo, ovário, pulmão, estômago, esôfago, linfomas, osteossarcoma, melanoma, leucemia, mama, cérebro, rim e cervix. Entretanto, por causa dos efeitos colaterais dos agentes à base de platina, o interesse por outros complexos metálicos aumentou. Dentre os principais problemas causados por eles pode-se citar toxicidade e o desenvolvimento de resistência das células tumorais ^{34,43,44}.

Além disso, outros compostos de coordenação já são aplicados no tratamento de doenças, como o Salvarsan®, que é um composto de arsênio empregado no tratamento da sífilis, compostos de bismuto que são utilizados como anti-úlceras, o nitroprussiato de sódio que é um potente vasodilatador, complexos de ferro que são utilizados em emergências hipertensivas e muitos outros ⁴⁵⁻⁴⁷.

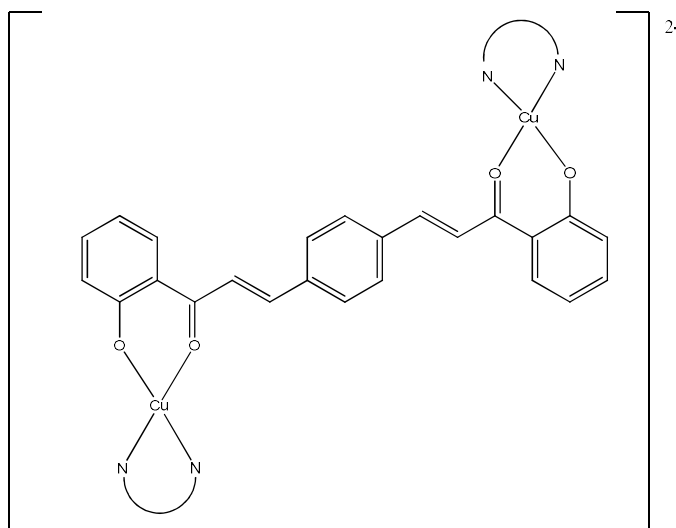
Considerando a característica estrutural das chalconas, como a presença de carbonila, hidroxila, oxigênio fenólico e/ou heteroátomo no sistema de anel heterocíclico, as tornam excelentes ligantes quelantes para coordenação ao centro metálico. Os complexos contendo chalconas ganharam importância na química medicinal, em virtude do aumento da potência de suas atividades farmacológicas como antitumoral, antimicrobiano, antiviral, antiamebiana, antimalárica, antituberculose e antioxidante ⁴⁸⁻⁵².

Há relatos a cerca de chalconas naturais e sintéticas que possuem uma ampla variedade de efeitos farmacológicos, modulando diversos alvos moleculares ^{15,33,53,54}. Devido a isso, complexos de chalcona tem sido estudados na química medicinal bioinorgânica devido à sua propriedade quelante e coordenação com uma variedade de metais e mostrando efeito modulador em vários alvos.

Em um estudo, Travnicek et. al.(2024) sintetizaram complexos de cobre(II) ⁵⁵,

e avaliaram a citotoxicidade frente a linhagens de câncer de ovário (A2780), ovário resistente à cisplatina (A2780R), próstata (PC3), osteossarcoma (HOS), mama (MCF7) e pulmão (A549) e fibroblastos normais (MRC-5), sendo apresentada citotoxicidade significativa para as células tumorais na maioria dos casos, com $IC_{50} \approx 0,35-7,8 \mu M$ (Figura 4).

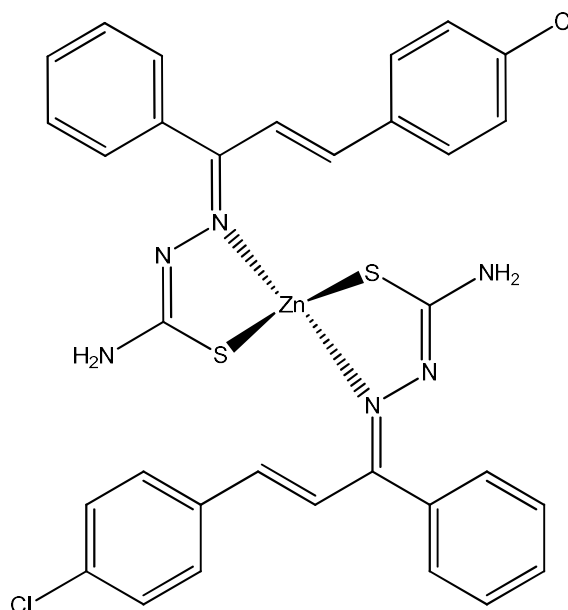
Figura 4- Complexos dinuclear de cobre(II) com um ligante de ponte bis(chalcona)



Fonte: Travnicek et. al. (2024)

Campos et.al. (2023) sintetizaram complexo Zn(II) com chalconas e tiossemicarbazona (Figura 5) e testaram frente a células de leucemia infectadas pelo vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1) (MT-2) e relataram que o complexo Zn(II) é mais citotóxico que o ligante, com o valor correspondente de IC_{50} de 30,01 e 47,06 μM . Além disso seus compostos apresentaram um efeito pró-apoptótico sem a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e interação com o DNA ⁵⁶.

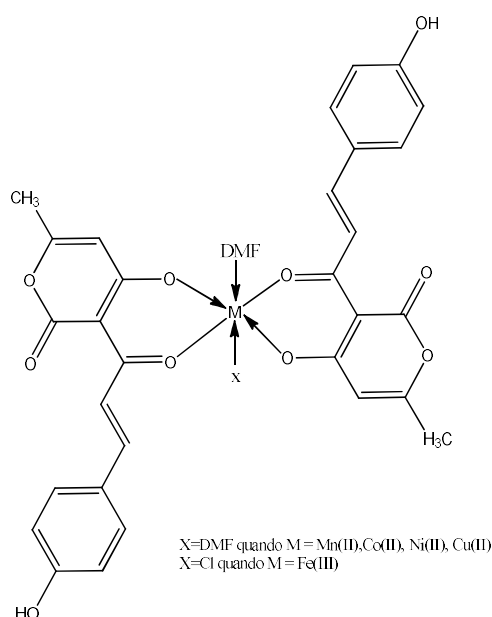
Figura 5 - Complexo de Zn(II) com ligante híbrido de chalcona-tiossemicarbazona



Fonte: Campos et.al. (2023)

Patange et al.(2011) testaram atividades antibacterianas e antifúngicas *in vitro* de uma série de chalconas metoxi e nitro substituídas e seus complexos metálicos (Figura 6), evidenciando a influência da complexação nos ligantes ao aumento ou redução da atividade apresentada ⁵⁷.

Figura 6 - Complexos metálicos de 4-hidroxi-3-[3-(4-hidroxifenil)-acrilóil]-6-metil-2H-piran-2-ona

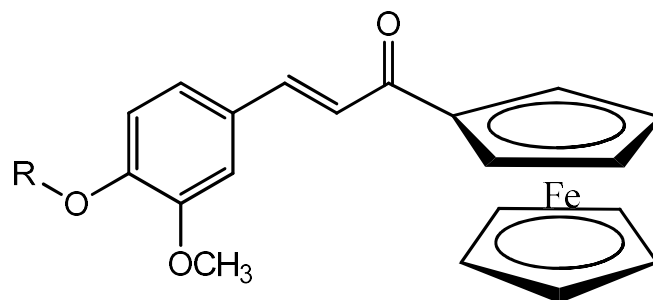


Fonte: Patange et al.(2011)

Muskinja et. al.(2016), sintetizaram complexos de ferrocenil com chalconas

(Figura 7) e os mesmos foram testados quanto à sua atividade biológica e demonstraram relativamente significativa atividade antimicrobiana *in vitro* para diferentes cepas de bactérias e fungos ⁵⁸.

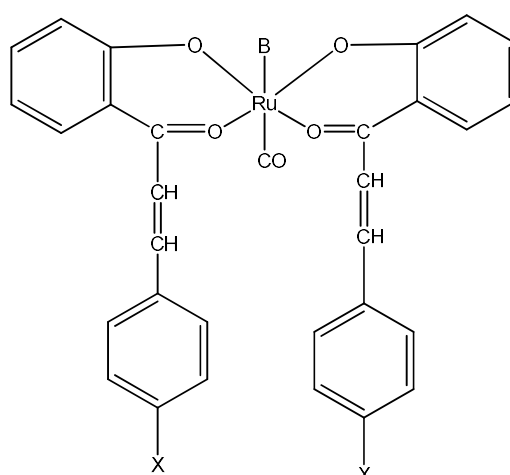
Figura 7 - Chalconas de ferrocenil com vanilinas O-alkiladas



Fonte: Muskinja et. al. (2016)

Prajapati et al. (2010) testaram compostos de rutênio contendo chalconas (Figura 8) e flavonas e observaram a atividade antitumoral ⁴⁸. Muthukumar, Viswanathamurthi e Natarajan (2008) também sintetizaram compostos de rutênio com chalconas e demonstraram que a inserção do metal na chalcona poderia potencializar o caráter lipofílico do átomo central, o que subseqüentemente favorece sua permeação através das camadas lipídicas da membrana celular melhorando a bioatividade ⁵⁰.

Figura 8- Complexos rutênio (II) com chalconas

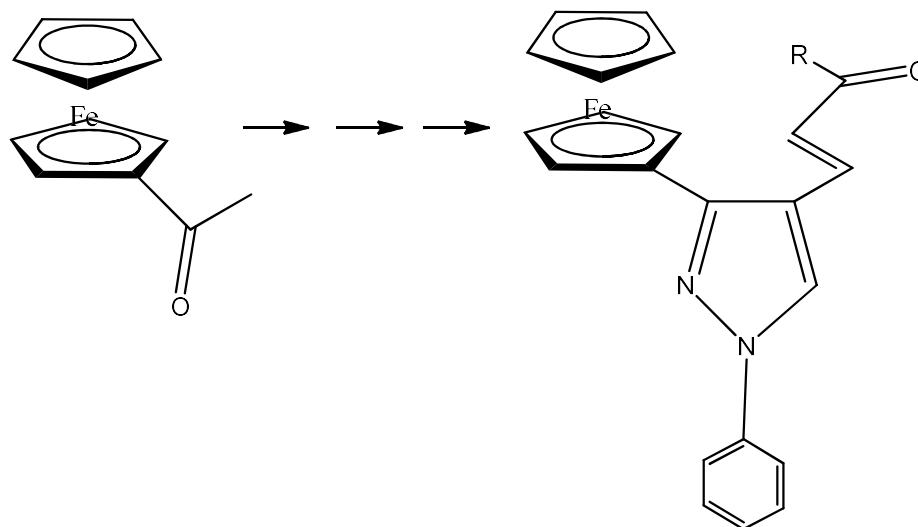


B=PPh₃, AsPh₃ ou Py; X=H, CH₃, OCH₃ ou Cl

Fonte: Muthukumar, Viswanathamurthi e Natarajan (2008)

Ratković et al., (2010) realizaram estudos com composto de chalconas com ferrocenil (Figura 9) que demonstraram melhora da atividade citotóxica na linhagem celular K562 em comparação a cisplatina, composto de referência ⁵⁹. Já El-sayed e Gaber (2015) realizaram estudos com complexos de cobre com chalconas mostrando melhora da atividade antioxidante ⁵².

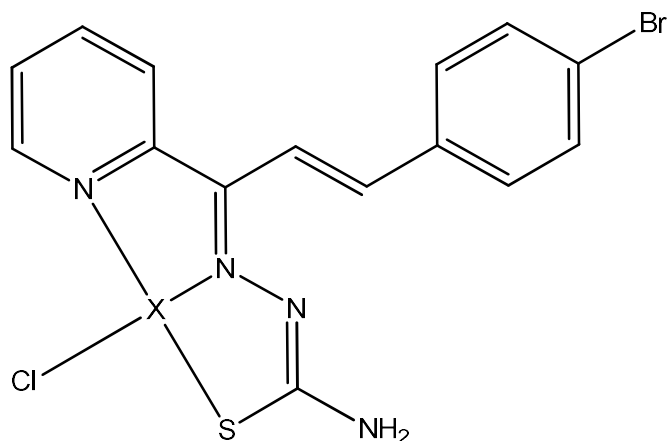
Figura 9 - Complexos de ferrocenil e chalconas



Fonte: Ratković et al., (2010)

Sâmia et al.(2016) sintetizaram complexos de coordenação de paládio, platina, ouro e cobre (Figura 10) e exploraram o potencial citotóxico contra linhagens de células HL-60 (leucemia humana), THP-1 (leucemia monocítica humana), MDA-MB-231 e MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano), sendo que alguns complexos demonstraram melhora da atividade em comparação com o análogo original⁶⁰.

Figura 10 - Complexos de ouro, platina e paládio com derivados de chalconas



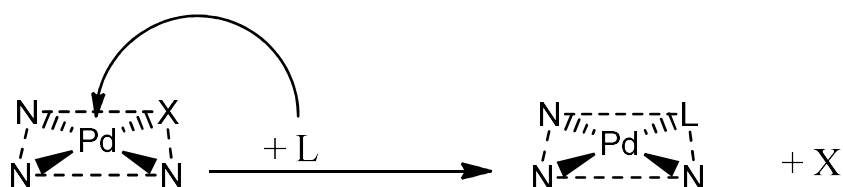
X=Pd, Pt ou Au

Fonte : Sâmia et al.(2016)

Nesse contexto, observa-se que estudos relatam determinada atividade conforme a escolha do metal para a síntese dos complexos de coordenação. O uso do paládio, platina, por exemplo, estão relacionados com a atividade citotóxica, o que pode ser interessante no desenvolvimento de novos antitumorais.

O paládio (Pd) destaca-se, por pertencer ao grupo da platina (Pt) e a sua química de coordenação é similar esse metal. As propriedades catalíticas únicas do paládio na formação da ligação C-C e na clivagem da ligação CO são devidas à presença de uma geometria quadrado-planar de complexos de Pd (II) (d8) com locais de coordenação extras nas posições axiais, que podem acomodar diversos ligantes^{61,62}. Por causa do baixo número de oxidação, o mecanismo de substituição de ligantes nestes complexos quadrado-planares ocorre pelo mecanismo associativo (Figura 11)⁶³.

Figura 11 - Mecanismo associativo



Fonte: Próprio autor

Dessa forma, o paládio(II) tem atraído grande interesse na química bioinorgânica aplicada ao desenvolvimento de agentes antitumorais, em razão de sua capacidade de formar complexos estáveis e estruturalmente diversificados com ligantes nitrogenados e oxigenados. Apesar do número crescente de estudos experimentais, nenhum complexo de paládio foi ainda aprovado para uso clínico, permanecendo como candidatos promissores em fase pré-clínica⁶⁴. A elevada labilidade cinética do Pd(II), quando comparada a outros metais do mesmo grupo, favorece trocas rápidas de ligantes e uma reatividade mais dinâmica frente a biomoléculas, o que pode potencializar sua interação com alvos celulares específicos⁶⁵. Entretanto, essa característica também pode comprometer a estabilidade *in vivo*, exigindo o emprego de ligantes que controlem a reatividade e melhorem o perfil farmacológico.

Além disso, pesquisas recentes evidenciam que os complexos de Pd(II) podem exercer ação antitumoral por múltiplos mecanismos complementares, indo além da simples interação com o DNA. Entre esses mecanismos, destacam-se a modulação de proteínas reguladoras da apoptose, como Bcl-2 e caspases, e a geração controlada de espécies reativas de oxigênio (ROS), responsáveis por induzir estresse oxidativo e disfunção mitocondrial seletiva em células neoplásicas. Adicionalmente, diversos estudos indicam a capacidade desses complexos em interferir com enzimas essenciais ao ciclo celular, incluindo topoisomerases e tirosina-quinases, comprometendo os processos de replicação e sinalização intracelular^{66,67}. Dessa forma, a integração entre o núcleo metálico reativo e os ligantes bioativos pode resultar em complexos de Pd(II), capazes de atuar por diferentes mecanismos e de apresentar seletividade superior, destacando-se como protótipos relevantes com ação antitumoral.

Considerando o câncer como uma das principais causas de morte em todo o mundo, estudos nessa linha de pesquisa se tornam imprescindíveis.

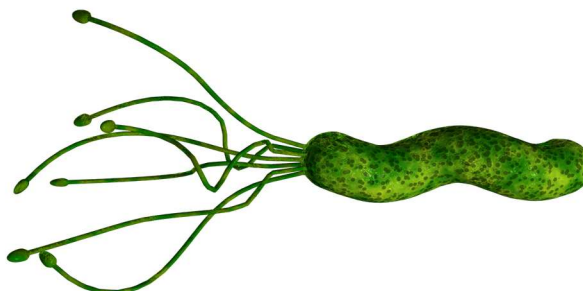
A IARC, em dezembro de 2020, estimou que o impacto do câncer foi de 19,3 milhões de novos casos. Sendo que o INCA estimou que o Brasil terá 704 mil novos casos de câncer a cada ano do triênio 2023-2025⁶⁸. No que diz respeito à mortalidade, o câncer é a segunda causa mundial de morte depois da doença isquêmica do coração, mas provavelmente se tornará a primeira até 2060 (~ 18,63 milhões de

mortes). Pulmão, fígado e estômago são os três tipos de câncer mais mortais na população em geral ⁶⁹.

Dentre os tipos de câncer destaca-se o câncer gástrico que é a quinta doença mais diagnosticada no mundo, com mais de 1 milhão de novos casos estimados anualmente, sendo responsável por cerca de 783.000 mortes em todo o mundo, tornando-se o terceiro tipo de câncer mais letal ⁷⁰⁻⁷².

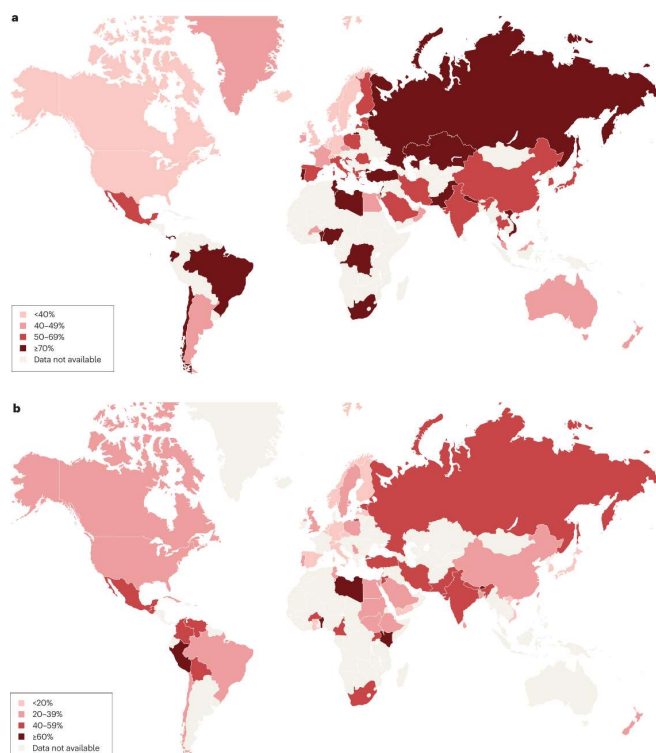
Vários fatores foram observados como tendo um impacto significativo no aumento do risco de desenvolver câncer gástrico, como história familiar, consumo de álcool, tabagismo, elevado consumo de sal, ingestão de anti-inflamatórios não-esteroidais e infecções por *Helicobacter pylori* ⁷³, sendo que 75% dos casos são mediados pela infecção ⁷⁴. O *H. pylori* foi descrito pela primeira vez em 1994 como carcinógeno de classe I pela Organização Mundial da Saúde (OMS) ⁷⁵ e, assim, também é classificado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) ⁷⁶.

Figura 12- Imagem em 3D de *Helicobacter pylori*



H. pylori é um bacilo Gram-negativo, com formato de hélixe espiralado que coloniza o ambiente gástrico (Figura 10). Apesar de infecção por essa bactéria ser grave, ainda não há certeza de como a infecção costuma ser transmitida, mas a proposta de infecção continua sendo a via oral-oral ou fecal-oral, sendo, o alimento e água principais responsáveis, além da transmissão intrafamiliar ⁷⁷. A sua prevalência permanece alta na maioria dos países em desenvolvimento e geralmente está relacionada ao status socioeconômico e aos níveis de higiene (Figura 13) ⁷⁸.

Figura 13 - Prevalência de infecção por *H. pylori* em adultos e crianças.



a, b, Mapa global da prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* em adultos durante 1970–2016 (parte a) e em crianças e adolescentes (<20 anos) durante 2000–2021 (parte b). Fonte: Malfertheiner et. al,(2023)⁷⁹

O espectro das doenças gastroduodenais associadas à evolução do *H. pylori* a infecção é ampla. Embora mais de 80% dos indivíduos infectados sejam assintomáticos, a infecção pode causar úlcera péptica, gastrite e câncer gástrico ^{74,80,81}.

A gravidade das doenças relacionadas ao *H. pylori* está associada a vários fatores de virulência; um genótipo específico da cepa de *H. pylori* desempenha um papel crucial. Além disso, o que é de maior importância é uma interação entre o hospedeiro, o microambiente gástrico, bem como os fatores de virulência bacterianos. Os fatores de virulência do *H. pylori* não estão apenas envolvidos na indução de respostas inflamatórias, mas também controlam e regulam essas respostas, mantendo a inflamação crônica. Os fatores de virulência de *H. pylori* permitem a colonização e a sobrevivência da bactéria dentro da mucosa gástrica, levando a um maior escape imunológico e, finalmente, à indução de alterações pré-malignas. *H. pylori* exibe um complexo conjunto de mecanismos que altera as respostas celulares do hospedeiro e as vias de sinalização^{82,83}.

Um dos fatores de virulência mais essenciais do *H. pylori* é a urease que está envolvida no metabolismo bacteriano e na colonização dentro da mucosa gástrica, ela

é a proteína mais abundantemente expressa pela bactéria. A urease de *H. pylori* pode ser encontrada no compartimento citoplasmático bacteriano e na superfície da bactéria, assim, dois tipos de urease podem ser distinguidos com base em sua localização — interna e externa⁸⁴.

A urease é um fator crítico que facilita a colonização bacteriana dentro da mucosa gástrica, ela protege a bactéria da acidez gástrica devido à liberação aumentada de amônia, promove a nutrição bacteriana através da liberação dos metabólitos do hospedeiro e gera a força motriz do próton durante a hidrólise da ureia. Além disso, a urease modula as respostas imunes do hospedeiro através de vários mecanismos, incluindo opsonização alterada, quimiotaxia aumentada de neutrófilos e monócitos, apoptose facilitada devido à ligação aos receptores do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II ou liberação aumentada de citocinas pró-inflamatórias. Maior atividade da urease pode estar associada a um maior risco de indução de alterações histopatológicas na mucosa gástrica e posterior carcinogênese gástrica. A inibição da urease é considerada uma estratégia terapêutica potencial para a prevenção de doenças relacionadas ao *H. pylori*^{83,85}.

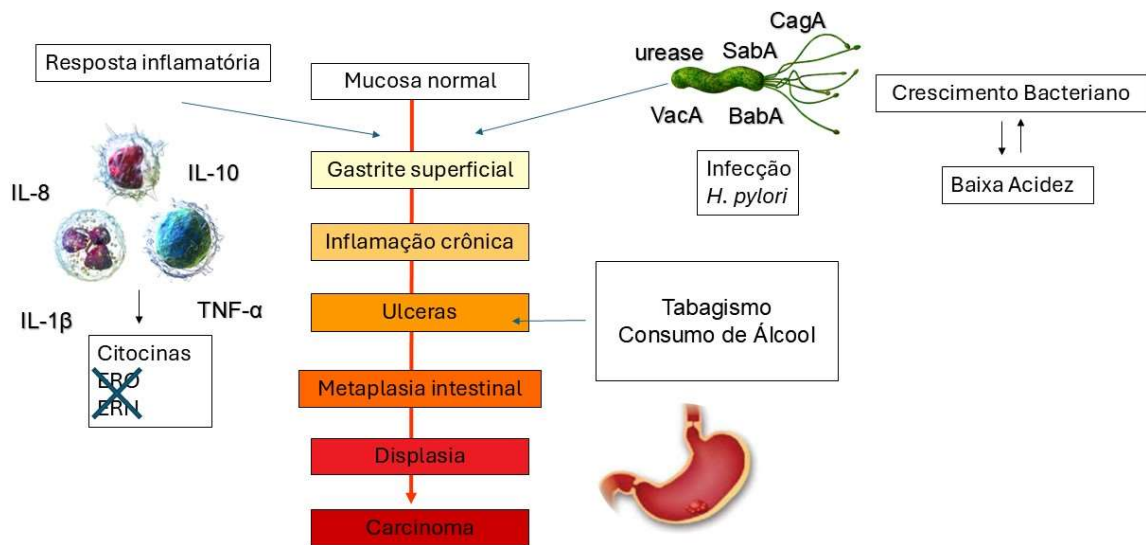
O fato de pacientes infectados por *H. pylori* não desenvolverem sintomas levou a cientistas a possibilidade de existência de cepas que são mais virulentas do que outras. A CagA é um gene induz a produção de uma citotoxina chamada de proteína cagA. A proteína CagA é codificada pela ilha de patogenicidade Cag-PAI⁸⁶. Essa proteína atua como um antígeno altamente imunogênico, e como existem cepas cagA positivas e negativas, descobriu-se que as positivas são mais virulentas e induzem maior expressão de citocinas, como IL-8 e IL-1 β .

O aumento de IL-8 é importante para a quimiotaxia e ativação de neutrófilos, ocasionando intensa resposta inflamatória e a produção de radicais livres, estando seu nível de expressão gênica relacionado à intensidade da gastrite e ocorrência de câncer gástrico^{87,88}.

Além disso, as espécies reativas de oxigênio (EROS) (Figura 14) medeiam a expressão de IL-8 ativando fatores de transcrição sensíveis ao oxidante, como o fator de transcrição nuclear Kappa B (NF- κ B)^{89,90}. O NF- κ B está profundamente envolvido no controle da transcrição de vários mediadores pró-inflamatórios, incluindo IL-8, levando ao agravamento das condições inflamatórias^{91,92}.

As EROs são subprodutos de metabolismos celulares, mas a grande concentração destes no tecido pode gerar distúrbios no sistema antioxidante, morte celular ou ainda gerar danos ao DNA, estando este associado à carcinogênese, e no caso da infecção por *H. pylori*, ao câncer gástrico ⁹³⁻⁹⁷.

Figura 14- Cascata inflamatória de *H. pylori*



Fonte: baseado em: Wroblewski et al., 2010

A incidência do câncer gástrico na população é reduzida pela erradicação do *H. pylori*, ensaios clínicos randomizados e estudos observacionais sugerem que a terapia de erradicação de *H. pylori* reduz a incidência de câncer gástrico em indivíduos saudáveis, com uma redução geral do risco de 46%. Já para pessoas com histórico de câncer gástrico em parentes de primeiro grau, o tratamento de erradicação do *H. pylori* diminui o risco de câncer gástrico, com uma redução geral do risco de 55% ⁹⁸⁻¹⁰⁰.

O tratamento clínico padrão para combater a infecção por *H. pylori* é uma terapia tripla, que combina o uso de dois antibióticos como amoxicilina ou metronidazol e claritromicina, com um inibidor de bomba de prótons. Esta terapia é realizada em um período que varia de 7 a 14 dias, duas vezes por dia ¹⁰¹. No entanto, o aumento da resistência microbiana à claritromicina, cuja prevalência varia com o

tempo e região geográfica, está levando a mudanças no esquema terapêutico. Globalmente, as taxas de resistência primária e secundária de claritromicina, levofloxacino e metronidazol foram todas superiores a 15% em todas as regiões da Organização Mundial da Saúde (OMS). O mecanismo subjacente à resistência a antibióticos por *H. pylori* é frequentemente devido a mutações genéticas que podem inibir a ativação intracelular de antibióticos ou alterar completamente o local alvo do medicamento^{102,103}. Além disso o uso indiscriminado de azitromicina e eritromicina no tratamento de infecções respiratórias e resistência cruzada entre antibióticos macrolídeos quimicamente semelhantes pode ser responsável pelo aumento da resistência microbiana à claritromicina^{104,105}.

Problemas como o elevado número de medicamentos e o alto custo da terapia dificultam a eficácia do tratamento, além disso amoxicilina e claritromicina são degradados pelo ácido gástrico, necessitando o uso de doses mais elevadas para alcançarem doses efetivas, porém, promovem diversos efeitos colaterais, ocasionando a dificuldade na adesão ao tratamento, além disso a erradicação da *H. pylori* é fator limitante no tratamento devido à crescente prevalência das formas multirresistentes do patógeno¹⁰⁶⁻¹¹⁰. Uma alternativa para o problema de adesão e resistência microbiana ao tratamento é a busca de protótipos mais efetivos de substâncias de origem vegetal. Os compostos organometálicos já demonstraram possuir ação antibacteriana, revelando-se promissores para o emprego na terapia. Também demonstraram potencial antitumoral e antioxidante, as quais podem atuar sinergicamente no combate à *H. pylori* e ao câncer gástrico, além de que, complexos formados podem apresentar características distintas de ligante original exibindo atividades biológicas antes não apresentadas ou até mais potentes. Tendo em vista o potencial patogênico de *H. pylori* no desenvolvimento de gastrites, úlceras e câncer gástrico, é importante investigar novos agentes, com ação antibacteriana, imunomoduladora e antitumoral, que possam resultar na redução dos agravos da infecção por *H. pylori*.

Aliado a isso ressalta-se que o número de mortes em decorrência do câncer pode ser reduzido caso ocorra uma prevenção e detecção precoce, além da utilização de um tratamento adequado e eficiente. A forma mais empregada no tratamento do câncer é a remoção cirúrgica, a radioterapia, imunoterapia ou quimioterapia. Dentre

as intervenções mencionadas, a quimioterapia é a mais utilizada e representa o tratamento sistêmico do câncer através da administração, em intervalos regulares, de um ou mais medicamentos, que são denominados quimioterápicos ou antineoplásicos que visam a inibição, controle e/ou a destruição das células tumorais ¹¹¹.

A descoberta de novos fármacos pode gerar alto custo e longa duração. Assim, o emprego das técnicas de bioinformática aplicada a triagem de compostos, sejam eles naturais ou sintéticos, pode ser uma metodologia eficiente e menos dispendiosa para a busca de novos fármacos com potencial bioativo, pois permite utilizar de forma mais racional toda a etapa experimental, proporcionando assim uma busca mais extensiva em seu espectro de atividade ¹¹². Aliado a isso, destaca-se que o docking molecular tem se consolidado como uma das ferramentas mais relevantes da bioinformática aplicada à prospecção de novos fármacos. Essa técnica permite prever, em nível molecular, a interação entre compostos candidatos e alvos biológicos específicos, fornecendo informações importantes sobre o modo de ligação, afinidade e estabilidade do complexo formado. Com isso, é possível selecionar de forma mais criteriosa os compostos mais promissores para posterior validação experimental, otimizando recursos e acelerando o processo de descoberta de moléculas bioativas^{113,114}.

Portanto, o presente trabalho teve como propósito investigar o potencial antibacteriano e antitumoral de complexos de paládio contendo chalconas como ligantes, ressaltando a relevância dessa classe de compostos pela ampla diversidade estrutural e reconhecida bioatividade. A escolha do paládio como centro metálico se justifica por suas propriedades de coordenação favoráveis, capazes de modificar e potencializar os efeitos biológicos dos ligantes. Nesse contexto, buscou-se sintetizar e caracterizar os complexos obtidos, avaliar a influência da complexação metálica frente à bactéria *Helicobacter pylori* e analisar seus efeitos citotóxicos sobre células tumorais gástricas e células normais.

2 OBJETIVOS

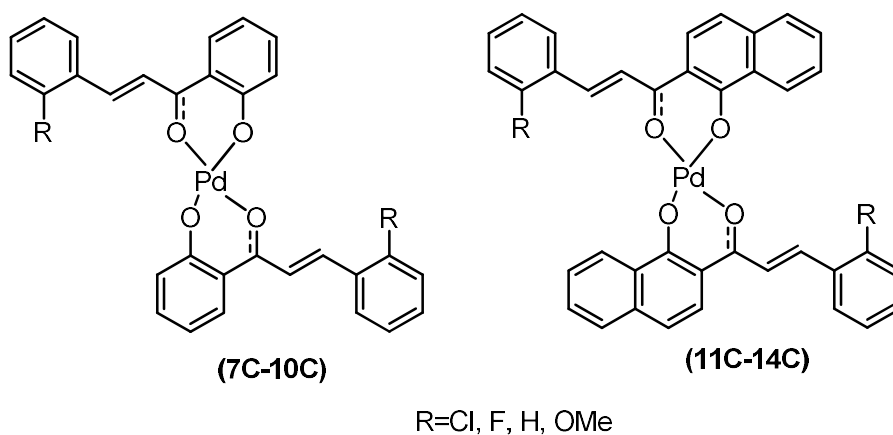
2.1 Geral

Investigar a influência da coordenação metálica sobre a atividade biológica de chalconas por meio da síntese de complexos metálicos e sua análise preliminar via triagem virtual.

2.2 Específicos

- Sintetizar complexos metálicos contendo chalconas, conforme a figura 15.

Figura 15 - Moléculas alvo do projeto



Fonte: próprio autor

- Caracterizar os complexos obtidos por métodos espectroscópicos e espectrométricos;
- Estudo *in silico* com os compostos obtidos;
- Avaliação *in vitro* das atividades anti-*Helicobacter pylori* e citotóxica frente a células de adenocarcinoma gástrico (AGS).

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Métodos de análise e caracterização química

3.1.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As análises de cromatografia em camada delgada foram realizadas utilizando cromatofolhas de alumínio recobertas com sílica gel UV 254 (250 µm, 20 x 20 cm). As amostras foram diluídas em diclorometano, aplicadas sobre a placa com o auxílio de um capilar de vidro e eluídas com mistura de solventes apropriados. Sua revelação foi efetuada por exposição à luz ultravioleta (250 e 300 nm) e, quando necessário, utilização de revelador químico (vanilina) sob aquecimento.

3.1.2 Espectrofotometria de absorção na região do UV-vis

Os espectros de absorbância na região do UV-vis foram obtidos através do uso do espectrofotômetro Marca Biotek® modelo Epoch, na região compreendida entre 0 a 999 nm, utilizando concentrações 1×10^{-5} mol L⁻¹ em acetonitrila.

3.1.3 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos utilizando o espectrômetro Perkin Elmer Spectrum 400. Todas as análises foram feitas utilizando o modo de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal horizontal de seleneto de zinco (ZnSe), com média de 16 scans e resolução de 2 cm⁻¹. A janela espectral a ser utilizada foi de 4000 a 400 cm⁻¹, região compreendida pelo infravermelho médio (MIR).

3.1.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e (RMN de ¹H)

Os espectros de RMN de hidrogênio foram obtidos no espectrômetro Varian de 400 MHz com sonda Broadband ¹H/X/D de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em parte por milhão (ppm) em relação a um padrão interno. Foram utilizados DMSO-d₆ e CDCl₃ como solventes e TMS como padrão interno. Adotou-se as seguintes convenções para descrição de multiplicidade dos sinais dos espectros de ¹H: s (singleto), d (dubleto), (dubleto de dubleto), ddd (dubleto de dubleto de

dubleto), t (triplete), dt (dubleto de triplete), td (triplete de dubleto), dtd (dubleto de triplete de dubleto) e m (multiplete).

3.1.5 Análise Termogravimétrica

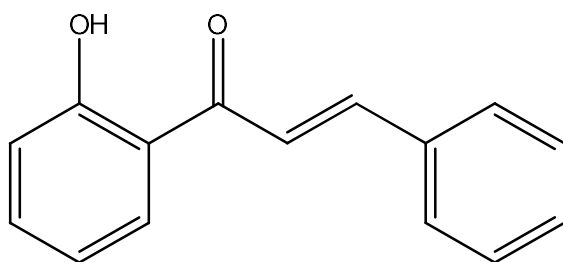
As medidas foram feitas no equipamento DTG-60H da Shimadzu, com fluxo de 50 ml/min de nitrogênio 5.0 e 50 ml/min de oxigênio industrial. As amostras foram submetidas a aquecimento a partir da temperatura ambiente até a temperatura de 1000 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

3.2 Síntese dos compostos

3.2.1 Metodologia geral para preparação dos ligantes

Em um balão de fundo redondo de 25 mL contendo 12 mL de etanol, foi adicionada a cetona (3,0 mmol), LiOH (140 mol%, 180mg) e a solução agitada à temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida, o aldeído foi adicionado (3,0 mmol) e a mistura agitada por 12-72 horas. Em seguida, o conteúdo reacional foi vertido em um béquer com gelo e misturado até a precipitação quantitativa. O sólido formado foi filtrado a vácuo e lavado com água fria para obter os produtos puro¹¹⁵.

(E)-1-(2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (7)



Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

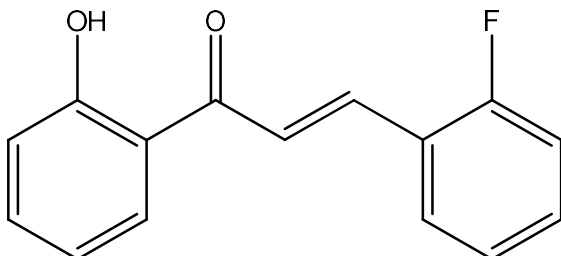
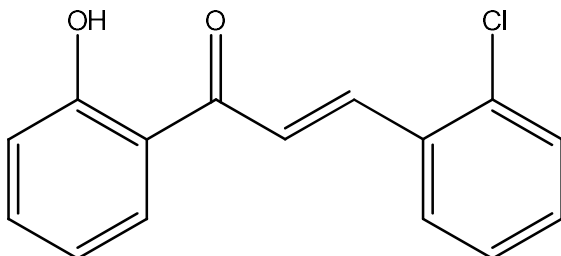
Massa molar: 224,2546 g.mol⁻¹

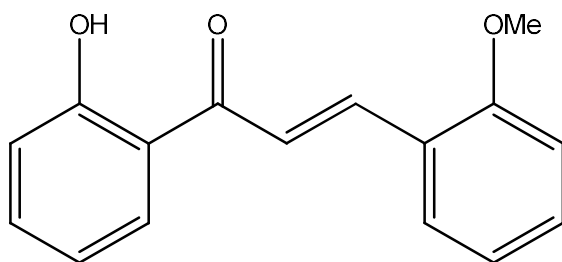
Estado físico: sólido amarelo

Rendimento:75%

I.V. ν_{\max} (cm⁻¹, ATR): 3045 (v O-H);1635 (v C=O); 1566 (v C=C).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.80 (dt, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 7.63 – 7.53 (m, 2H), 7.45 – 7.39 (m, 2H), 7.16 – 7.06 (m, 1H), 5.68 (dt, *J* = 12.9, 2.6 Hz, 1H).

(E)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (8)**Fórmula molecular:** C₁₅H₁₁FO₂**Massa molar:** 242,07 g.mol⁻¹**Estado físico:** sólido amarelo**Rendimento:**60%**I.V. ν_{\max} (cm⁻¹, ATR):** 3040 (v O-H);1639 (v C=O); 1609 (v C=C).**RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.13 (dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz, 1H), 8.12 – 8.03 (m, 2H), 7.88 (dd, *J* = 15.7, 1.9 Hz, 1H), 7.68 (td, *J* = 7.7, 1.9 Hz, 1H), 7.60 (ddd, *J* = 8.8, 5.6, 1.9 Hz, 1H), 7.58 – 7.42 (m, 2H), 7.38 – 7.24 (m, 3H), 7.12 (ddd, *J* = 10.5, 8.0, 2.4 Hz, 2H), 7.03 – 6.91 (m, 2H), 2.50 (q, *J* = 1.9 Hz, 2H).**(E)-3-(2-clorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (9)****Fórmula molecular:** C₁₅H₁₁ClO₂**Massa molar:** 258,69 g.mol⁻¹**Estado físico:** sólido amarelo**Rendimento:**60%**I.V. ν_{\max} (cm⁻¹, ATR):** 3055 (v O-H);1620 (v C=O); 1605 (v C=C).**RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.24 (s, 1H), 8.21 (d, 2H), 8.12 (dd, *J* = 15.3, 2.1 Hz, 1H), 8.06 (dd, *J* = 15.4, 2.0 Hz, 1H), 7.62 – 7.54 (m, 2H), 7.54 – 7.42 (m, 2H), 7.02 (d, *J* = 8.2, 5.1, 1.7 Hz, 2H), 3.33 (s, 2H), 2.50 (dt, *J* = 3.6, 1.7 Hz, 2H).**(E)-1-(2-hidroxifenil)-3-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (10)**



Fórmula molecular: $C_{16}H_{14}O_3$

Massa molar: $254,28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

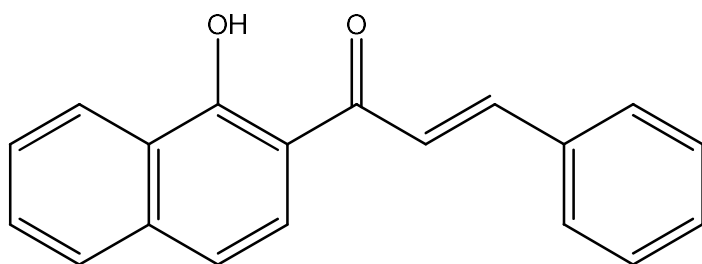
Estado físico: sólido amarelo

Rendimento: 73%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3076 (ν O-H); 1686 (ν C=O); 1599 (ν C=C).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.19 – 8.09 (m, 1H), 8.04 – 7.94 (m, 1H), 7.80 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, 1H), 7.64 – 7.54 (m, 2H), 7.38 (d, $J = 0.9$ Hz, 0H), 7.12 – 7.08 (m, 3H), 7.04 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 5.82 (dd, $J = 13.3, 2.8$ Hz, 1H), 2.53 – 2.44 (m, 1H).

(E)-1-(1-hidroxinaftalen-2-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona (11)



Fórmula molecular: $C_{19}H_{14}O_2$

Massa molar: $274,31 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

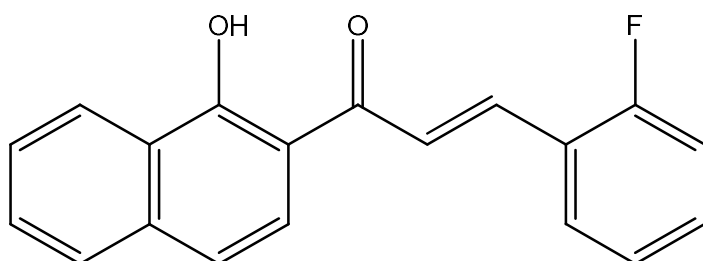
Estado físico: sólido laranja

Rendimento: 37%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3058 (ν O-H); 1630 (ν C=O); 1610 (ν C=C).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8.51 (ddt, $J = 8.3, 1.4, 0.7$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.80 – 7.68 (m, 3H), 7.65 (ddd, $J = 8.1, 6.8, 1.3$ Hz, 1H), 7.55 (ddd, $J = 8.2, 6.9, 1.3$ Hz, 1H), 7.46 (dd, $J = 5.0, 1.9$ Hz, 3H), 7.32 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.26 (s, 1H).

(E)-3-(2-fluorofenil)-1-(1-hidroxinaftalen-2-il)prop-2-en-1-ona (12)



Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}FO_2$

Massa molar: $292,30 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

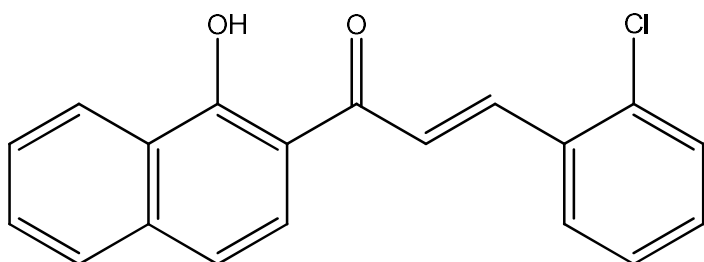
Estado físico: sólido laranja

Rendimento: 16%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3040 (ν O-H); 1632 (ν C=O); 1610 (ν C=C).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.39 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 8.36 (s, 0H), 7.97 (s, 1H), 7.80 (dd, $J = 10.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.70 – 7.61 (m, 2H), 7.50 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.45 – 7.39 (m, 2H), 7.32 – 7.26 (m, 2H), 7.22 (s, 1H).

(E)-3-(2-clorofenil)-1-(1-hidroxi-naftalen-2-il)prop-2-en-1-ona (13)



Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClO}_2$

Massa molar: $308,76 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

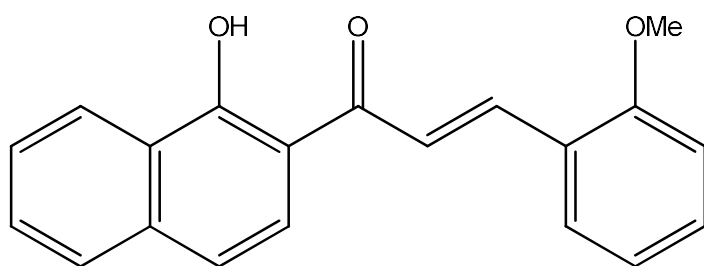
Estado físico: sólido vermelho

Rendimento: 52%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3061 (v O-H); 1629 (v C=O); 1603 (v C=C).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.39 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 8.34 (dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H), 7.63 – 7.24 (m, 6H), 6.67 (s, 1H), 3.33 (s, 29H), 2.50 (q, $J = 1.9$ Hz, 3H).

(E)-1-(1-hidroxi-naftalen-2-il)-3-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (14)



Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_3$

Massa molar: $304,34 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Estado físico: sólido laranja

Rendimento: 16%

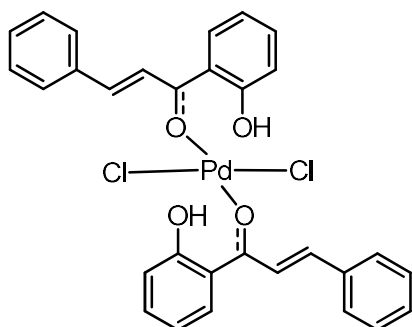
I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3045 (v O-H); 1623 (v C=O); 1608 (v C=C).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.37 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.29 (d, $J = 15.8$ Hz, 2H), 8.25 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 9.3$ Hz, 0H), 7.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.52 (td, $J = 1.6$ Hz, 0H), 7.47 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.07 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H).

3.2.2 Metodologia geral para preparação dos complexos

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, equipado com barra magnética, dissolveu-se a chalcona correspondente (0,50 mmol) em 5,0 mL de acetonitrila sob agitação magnética. Dependendo da chalcona utilizada, o meio reacional foi ativado previamente com hidróxido de sódio (NaOH, 0,50 mmol) solubilizado em água, sendo a mistura mantida sob agitação por aproximadamente 5 minutos, até a observação de mudança de coloração característica. Posteriormente, adicionou-se K_2PdCl_4 (0,25 mmol) solubilizado em água e a suspensão resultante foi deixada sob agitação contínua à temperatura ambiente por 48 h. Ao término da reação, o precipitado formado foi coletado por filtração a vácuo, lavado sucessivamente com acetonitrila, etanol e água, e seco sob vácuo.

Dicloro-bis[(E)-1-(2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona]paládio(II) (7C)



Formula molecular: $C_{30}H_{24}Cl_2O_4Pd$

Massa molar: $625,84 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

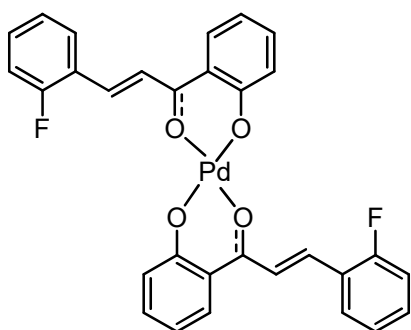
Estado físico: sólido marrom

Rendimento: 39%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3045 (v O-H); 1616 (v C=O conjugado); 1602 (v C=C).

RMN de ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.26 (dd, $J = 8.4, 1.7 \text{ Hz}$, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.96 – 7.90 (m, 2H), 7.85 (d, $J = 15.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.53 – 7.46 (m, 3H), 7.05 – 6.98 (m, 2H).

Bis[(E)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-onato-O,O']paládio(II) (8C)



Formula molecular: $C_{30}H_{20}F_2O_4Pd$

Massa molar: $588,89 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Estado físico: sólido vinho

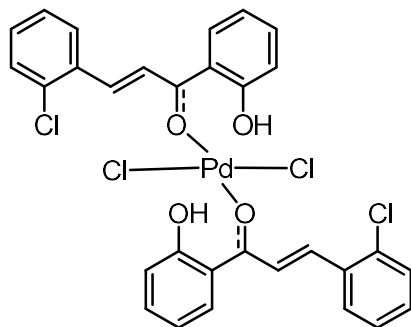
Rendimento: 32%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3080 (v O-H); 1617 (v C=O conjugado); 1605 (v C=C).

RMN de ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.19 – 8.11 (m, 1H), 8.07 (d, $J = 15.8 \text{ Hz}$, 1H),

7.91 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.87 – 7.81 (m, 1H), 7.62 – 7.52 (m, 2H), 7.21 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.04 – 6.99 (m, 2H).

Dicloro[(*E*)-3-(2-clorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona]paládio(II) (9C)



Formula molecular: $C_{30}H_{22}Cl_4O_4Pd$

Massa molar: $694,7253 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

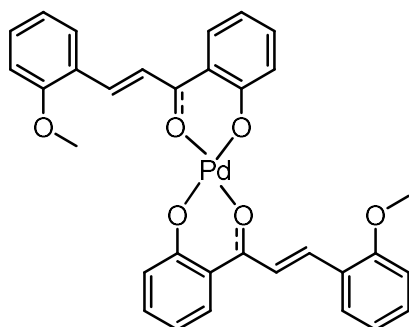
Estado físico: sólido marrom

Rendimento: 57%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3055 (ν O-H); 1638 (ν C=O); 1572 (ν C=C).

RMN de ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.23 (s, 1H), 8.26 – 8.19 (m, 2H), 8.13 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 2H), 7.53 – 7.46 (m, 2H), 7.05 – 7.00 (m, 2H), 3.33 (s, 8H), 2.51 (q, $J = 1.9$ Hz, 2H)

Bis[(*E*)-1-(2-hidroxifenil)-3-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-onato-O,O']paládio(II) (10C)



Formula molecular: $C_{32}H_{26}O_6Pd$

Massa molar: $612,97 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

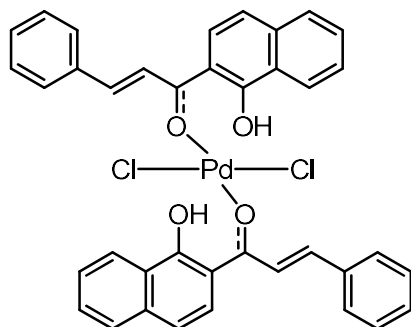
Estado físico: sólido verde escuro

Rendimento: 27%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3155 (ν O-H); 1636 (ν C=O conjugado); 1617 (ν C=C).

RMN de ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.19 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 8.01 – 7.96 (m, 2H), 7.56 (ddd, $J = 8.5, 7.2, 1.6$ Hz, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 1H), 7.13 (dd, $J = 8.4, 1.0$ Hz, 1H), 7.08 – 6.96 (m, 2H).

Dicloro-bis[(E)-1-(1-hidroxi-naftalen-2-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona]paládio(II) (11C)



Formula molecular: $C_{38}H_{28}Cl_2O_4Pd$

Massa molar: $725,95 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

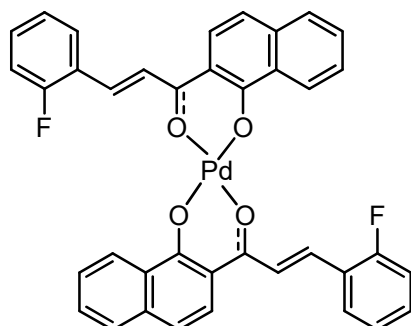
Estado físico: sólido vinho

Rendimento: 70%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3058 (ν O-H); 1623 (ν C=O conjugado); 1610 (ν C=C).

RMN de ^1H : (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-}d$) δ 8.51 (dq, $J = 8.4, 0.7$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.81 – 7.68 (m, 4H), 7.67 – 7.60 (m, 1H), 7.55 (ddd, $J = 8.3, 6.9, 1.3$ Hz, 1H), 7.46 (dt, $J = 4.6, 3.1$ Hz, 3H), 7.32 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H).

Bis[(E)-3-(2-fluorofenil)-1-(1-hidroxi-naftalen-2-il)prop-2-en-1-onato-O,O']paládio(II) (12C)



Formula molecular: $C_{38}H_{24}F_2O_4Pd$

Massa molar: $689,01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

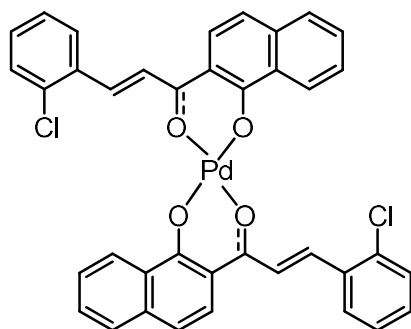
Estado físico: sólido vinho

Rendimento: 72%

I.V. ν_{max} (cm^{-1} , ATR): 3057 (ν O-H); 1624 (ν C=O conjugado); 1611 (ν C=C).

RMN de ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.37 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.27 – 8.24 (m, 1H), 8.24 – 8.19 (m, 2H), 8.04 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.64 – 7.44 (m, 4H), 7.37 – 7.30 (m, 2H).

Bis[(E)-3-(2-clorofenil)-1-(1-hidroxinaftalen-2-il)prop-2-en-1-onato-O,O']paládio(II) (13C)



Formula molecular: C₃₈H₂₄Cl₂O₄Pd

Massa molar: 721,92 g.mol⁻¹

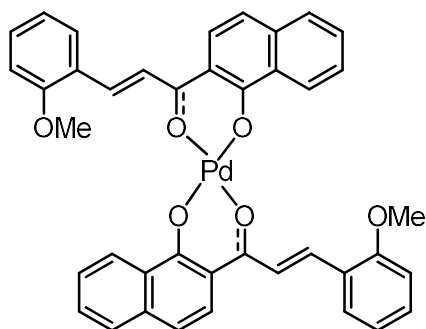
Estado físico: sólido marrom

Rendimento: 55%

I.V. ν_{\max} (cm⁻¹, ATR): 3057 (v O-H); 1625 (v C=O conjugado); 1572 (v C=C).

RMN de ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.38 (dd, *J* = 8.3, 1.3 Hz, 1H), 8.36 – 8.33 (m, 1H), 8.32 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.75 (ddd, *J* = 8.2, 6.9, 1.3 Hz, 1H), 7.65 – 7.58 (m, 2H), 7.54 – 7.46 (m, 3H), 3.32 (d, *J* = 2.0 Hz, 4H), 2.50 (p, *J* = 1.8 Hz, 2H).

Bis[(E)-1-(1-hidroxinaftalen-2-il)-3-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-onato-O,O']paládio(II) (14C)



Formula molecular: C₄₀H₃₀O₆Pd

Massa molar: 713,08 g.mol⁻¹

Estado físico: sólido marrom

Rendimento: 39%

I.V. ν_{\max} (cm⁻¹, ATR): 3078 (v O-H); 1627 (v C=O conjugado); 1601 (v C=C).

RMN de ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.59 – 7.52 (m, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 1H), 7.35 – 7.25 (m, 1H), 7.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.93 – 6.88 (m, 0H), 6.79 (ddd, *J* = 8.2, 6.8, 1.2 Hz, 1H), 6.71 – 6.61 (m, 1H), 6.33 (dd, *J* = 8.5, 1.0 Hz, 1H), 6.24 (d, *J* = 7.5 Hz, 0H), 3.12 (s, 1H).

3.2.3 Espectrometria de Massas

A espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) por ionização por *electrospray* de infusão direta (ESI) permitiu a caracterização precisa de complexos metálicos. As amostras foram dissolvidas em 1 mL de metanol e analisadas em modo de íons positivos, ESI(+), utilizando um espectrômetro de massas Orbitrap Exploris™ 120 (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha). As análises foram realizadas com faixa de varredura de m/z 100–1000, resolução de 120.000 (m/z 200), tensão de spray de 3500 V, temperatura da fonte de 320 °C e temperatura do vaporizador de 275 °C. O gás de nebulização (sheath gas) foi ajustado para 35 unidades arbitrárias e o gás auxiliar para 7. A infusão direta foi realizada a uma vazão de 5 μ L/min durante 1 minuto. Os espectros foram processados no MZmine¹¹⁶ e Xcalibur, com atribuição de íons moleculares baseados na massa monoisotópica e formação de adutos do tipo [M+H]⁺, [M+Na]⁺ e [M+K]⁺, com erro de massa inferior a 10 ppm.

3.2.4 CHN

Os conteúdos de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes nas amostras carregadas com fármaco foram avaliados por meio da medida de análise elementar em um equipamento da CHNSO da Perkin-Elmer, modelo 2400. O equipamento foi previamente calibrado com acetanilida como padrão orgânico certificado, seguindo os procedimentos recomendados pelo fabricante.

3.3 Métodos *in silico*

3.3.1 Criação de base de dados dos compostos

Os compostos avaliados tiveram sua estrutura química codificada para os formatos de entrada necessários aos programas de modelagem molecular¹¹⁷. Inicialmente, foi desenhada sua estrutura química na forma bidimensional (2D), utilizando-se o programa Marvin Sketch (<https://www.chemaxon.com/products/marvin/>) salvando-a no formato MDL MOLFILE (MDL Information Systems (MDL)). O conjunto destes arquivos MDL Molfile foram utilizados para a criação da base de dados de compostos no formato de arquivo SDF.

3.3.2 Avaliação do espectro de atividade dos compostos

O espectro de atividades foi avaliado através do servidor on-line PASS (Predição de Espectros de Atividade para Substâncias)^{118,119}.

3.3.3 Avaliação da propriedades farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas e de “drug-likeness” dos complexos metálicos de chalconas foram avaliadas usando o servidor SwissADME. As estruturas foram inseridas no formato SMILES e foram analisadas características físico-químicas (massa molecular, lipofilicidade, polaridade e solubilidade) e parâmetros farmacocinéticos, como absorção intestinal, permeabilidade da barreira hematoencefálica e interação com enzimas do citocromo P450¹²⁰.

3.3.4 Busca por complexos cristalográficos de enzimas e inibidores

As estruturas cristalográficas dos alvos biológicos, determinadas por cristalografia de raios X, foram obtidas a partir do banco de dados Protein Data Bank (PDB)¹²¹, que disponibiliza estruturas tridimensionais experimentais para diversos alvos moleculares. Paralelamente, foi realizado um levantamento dos inibidores previamente reportados para os alvos estudados utilizando os bancos de dados de ligantes BindingDB e ChEMBL^{122,123}.

3.3.5 Cálculos de *docking* e validação

Foi utilizado para o *docking*, o programa GOLD¹²⁴. A escolha do tamanho de raio, função de escore e número de poses obtidas foi determinada após o processo de validação do modelo desenvolvido, realizada pelo processo de redocking¹²⁵.

3.4 Métodos *in vitro*

3.4.1 Avaliação da atividade anti-*H. pylori*

3.4.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração

Bactericida Mínima (CBM)

A atividade anti- *H. pylori* foi avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) através da técnica de microdiluição em caldo de acordo com a norma estabelecida pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (M7-A10, 2024), com modificações. A cada poço da microplaca foram adicionados 100 µL de meio de cultura líquido Brain Heart Infusion (BHI) (Merck Millipore cod. 110493, Darmstadt, Alemanha) suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (SIGMA cod.F2561; St. Louis, MO, USA), com diversas concentrações das substâncias (0,5 µg/mL – 256 µg/mL), e o mesmo volume de uma suspensão de *H. pylori* ATCC 43504, cepa sensível à amoxicilina e resistente ao metronidazol (10^6 - 10^7 bactérias/mL). A microplaca foi submetida à leitura espectrofotométrica em 620 nm e, a seguir, incubada a temperatura de 36°C – 37 °C, em atmosfera contendo 10 % de CO₂, por 72 horas. Após esse período, a microplaca foi homogeneizada e nova leitura realizada para determinação da CIM. A amoxicilina (SIGMA cod. A8523; St. Louis, MO, USA) foi o padrão utilizado para o ensaio, nas concentrações variando de 5 - 0.078 µg/mL. A CIM foi definida como a menor concentração das amostras que promoverá um brusco declínio no crescimento bacteriano (90%). A CBM foi determinada pela menor concentração da substância que inibir a formação de colônias em placas de ágar Columbia contendo sangue de carneiro 5% (incubada a 37 °C por 72 h), correspondente ao poço da microplaca sem crescimento aparente em BHI.

3.4.1.2 Avaliação da atividade sobre a enzima urease

A atividade de inibição da urease foi determinada conforme descrito por Tanaka; Kawase e Tani (2004)¹²⁶, com modificações. Em microplaca de 96 poços foram adicionados 25 µL de urease 4UI (*Jack Bean* urease tipo III, Sigma cod. U1500; St. Louis, MO, USA) e 25 µL da amostra em diferentes concentrações variando de 4 µg/mL – 128 µg/mL, incubada por 2 horas em temperatura ambiente. Após esse período foram adicionados, 25 µL de vermelho de fenol 0,02% e 200 µL de ureia 50 mM em tampão fosfato 100 mM (pH 6,8). A cinética da reação foi avaliada através de leituras espectrofotométricas em 540 nm a partir do tempo 0 até 30 minutos, com intervalo de 10 minutos entre cada leitura. Como controle positivo de inibição foi utilizado o ácido acetohidroxâmico como padrão.

3.4.2 Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

3.4.2.1 Linhagens celulares

Fibroblastos L929 (ATCC CCL-1™) e células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS) (ATCC CRL -1739) foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram mantidas em meio DMEM (*Dulbecco's modified eagle medium*) (Vitrocell cod. 02037, São Paulo, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (v/v) e incubadas em estufa a 37°C com atmosfera contendo 5 % de CO₂ em diferentes períodos até atingirem confluência de aproximadamente 70-90%. Após, as células foram removidas com uma solução de tripsina e contadas em câmara de Neubauer para obtenção dos valores de concentração celular.

3.4.2.2 Procedimento

200 µL de DMEM suplementado com aproximadamente 6 x 10⁴ células/mL (AGS) e 10 x 10⁴ células/mL (L292) foram distribuídos em microplacas de 96 orifícios para cultura de tecido e incubados a 37°C/5% CO₂ por 24h. Após esse período, o meio foi removido e as células aderidas foram tratadas com 200 µL de diferentes concentrações das substâncias em DMEM suplementado e incubadas por 48h a 37°C/5 % CO₂. Após incubação, as placas foram preparadas para o teste do MTT-tetrazólio (MOSMANN, 1983). Cisplatina foi o padrão citotóxico. Os testes foram acompanhados de crescimento controle (sem tratamento), realizados em triplicata e repetidos no mínimo 3 vezes.

3.4.2.3 Índice de Seletividade

O índice de seletividade (IS) indica a seletividade de uma substância entre células neoplásicas e não neoplásicas, e é determinado pela relação dos valores obtidos de IC₅₀ (índice citotóxico 50%) destas linhagens. A relação é obtida através da seguinte fórmula:

$$IS = \frac{IC_{50} \text{ célula não neoplásica}}{IC_{50} \text{ célula neoplásica}}$$

onde célula não neoplásica é a linhagem de macrófagos RAW 264.7 e célula neoplásica, a linhagem de adenocarcinoma gástrico humano (AGS).

O IS indica o potencial destas substâncias para testes pré-clínicos e clínicos. É considerado significativo valor de IS maior ou igual a 2,0 demonstrando que a substância é mais ativa em células neoplásicas ¹²⁷.

3.4.3 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média de três ensaios realizados \pm desvio padrão. A interpretação dos resultados foi realizada através da análise de variância (ANOVA) de duas vias com teste post-hoc de Bonferroni, onde o nível de significância estabelecido foi de $p \leq 0,05$.

A curva dose-efeito (concentração x absorvância) para determinação do índice citotóxico (IC_{50}), concentração do agente que reduz em 50% a absorvância espectrofotométrica, foi obtida através de análise de regressão linear e não linear.

Para realização da análise de dados, foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism 5 (versão 5.01, CA, USA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

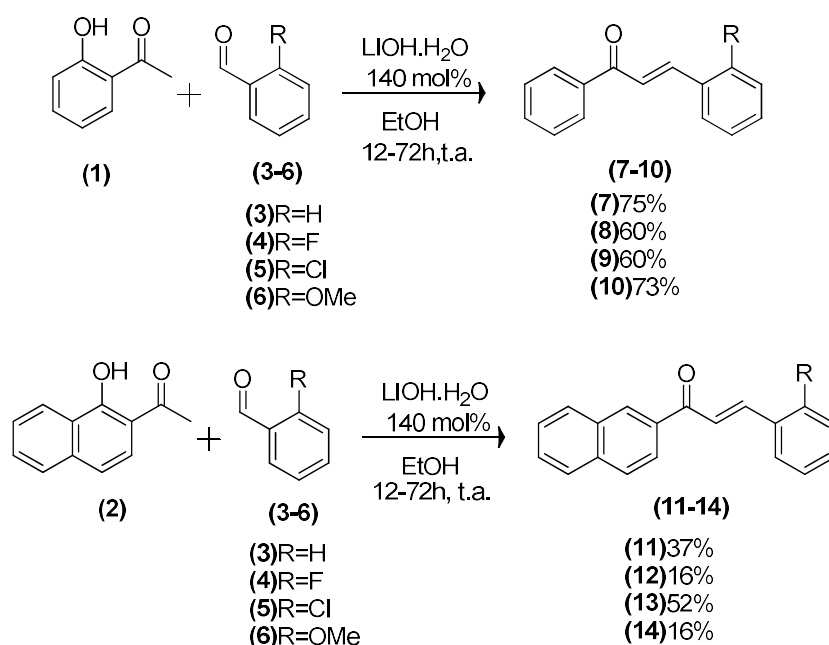
No presente trabalho, foram obtidos oito complexos de paládio a partir de ligantes com diferentes núcleos (fenólico e naftólico) e padrões de substituição aromática, com o objetivo de investigar como variações eletrônicas e estéricas impactam não apenas o modo de coordenação ao centro metálico, mas também o desempenho biológico dos compostos. As diferenças estruturais influenciaram de a citotoxicidade, a inibição da urease e a ação antimicrobiana, indicando que a natureza eletrônica e estérica dos ligantes desempenha papel determinante na atividade biológica dos complexos.

4.1 Síntese e caracterização dos derivados de chalcona

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando luz UV (254nm) como revelador, ao final de cada reação os produtos foram recristalizados com solvente orgânico. Todos os compostos foram caracterizados por ponto de fusão, espectroscopia na região do infravermelho e RMN de hidrogênio.

As oito chalconas sintetizadas foram obtidas por meio da condensação aldólica de *Claisen-Schimidt* (Esquema 1) em meio etanólico básico com aldeído aromático com diferentes substituições no anel e acetofenonas com núcleo naftólico ou fenólico.

Esquema 1 – Síntese das chalconas fenólicas (7–10) e naftólicas (11–14).

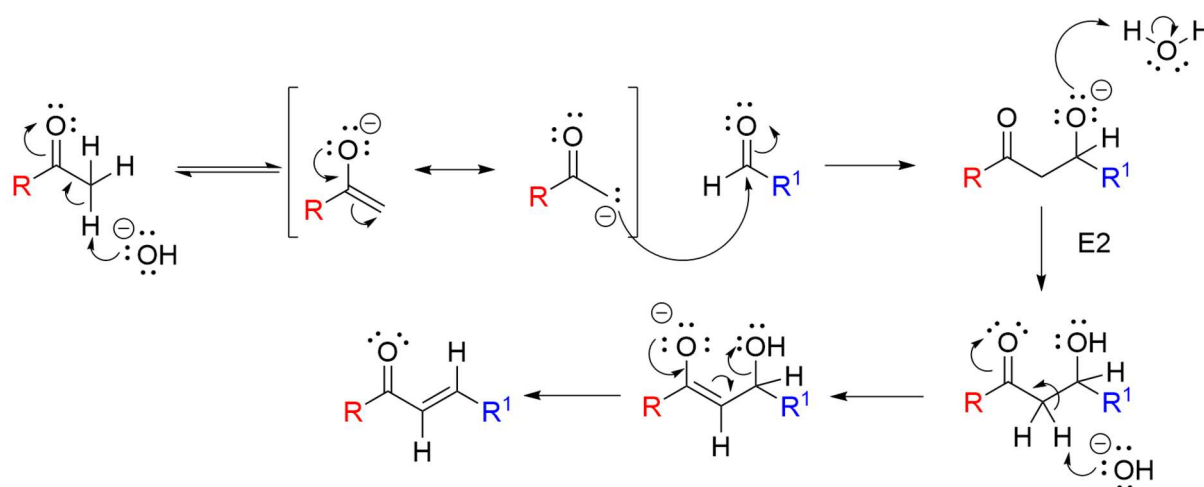


Fonte: próprio autor

O mecanismo de condensação de *Claisen-Schmidt* é bem elucidado e é mostrado no esquema a seguir (Figura 16). O mecanismo geral da reação de *Claisen-Schmidt* inicia-se com a formação do enolato, resultante da abstração do próton α -carbonílico da cetona pelo catalisador básico. Em seguida, o par de elétrons do enolato ataca o carbono eletrofílico da carbonila do aldeído, promovendo o deslocamento do par de elétrons da carbonila para o átomo de oxigênio e originando um ânion alcóxido. Esse intermediário é então estabilizado por meio da captação de um próton proveniente de uma molécula de água ou do próprio catalisador.

Na sequência, ocorre um processo de eliminação, em que a base abstrai novamente o hidrogênio α -carbonílico, gerando um novo enolato. A instabilidade desse intermediário leva à regeneração da carbonila, ao mesmo tempo que a deslocalização eletrônica que desloca a dupla ligação para o carbono adjacente. Por fim, a hidroxila é eliminada de forma espontânea, resultando na formação da chalcona.

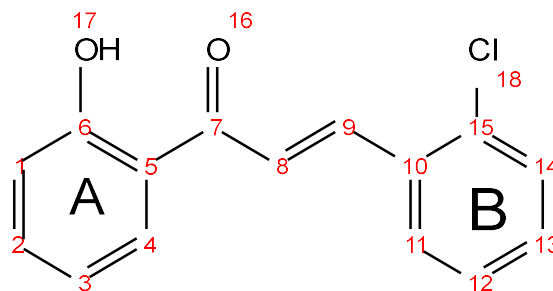
Figura 16 – Mecanismo de formação de chalconas sob condições básicas



Fonte: próprio autor

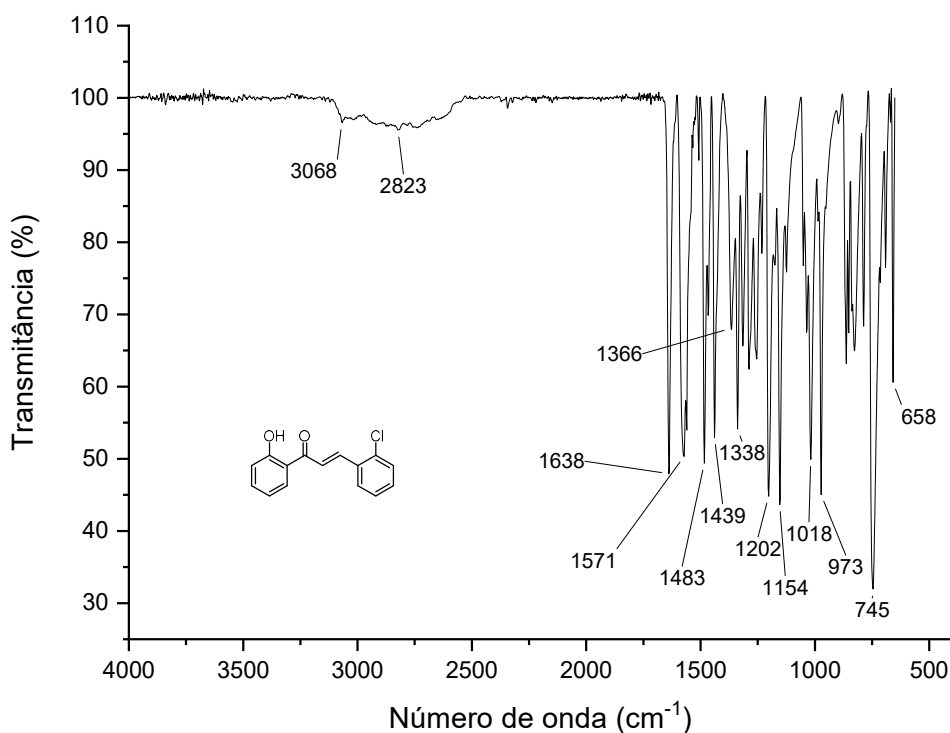
A caracterização estrutural das chalconas foi realizada por meio de diferentes técnicas, cujos resultados possibilitaram a identificação dos grupos funcionais e a confirmação das estruturas propostas. Para exemplificar as atribuições realizadas escolheu-se a chalcona **9** (Figura 17).

Figura 17 – (E)-3-(2-clorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (9)



No espectro de FTIR (Figura 18) observou-se uma banda em 3068 cm^{-1} , de fraca a média intensidade, atribuída ao estiramento C–H aromático, que é compatível com a presença dos anéis benzênicos da estrutura. Uma banda intensa em 1638 cm^{-1} corresponde ao estiramento da carbonila α,β -insaturada, deslocada para menor número de onda em relação a cetonas saturadas, sendo compatível com o efeito de conjugação eletrônica com a dupla C=C e com os sistemas aromáticos. As absorções em 1571 , 1483 e 1439 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos C=C aromáticos, compatíveis com a extensa delocalização do sistema π característico das chalconas. As bandas em 1202 e 1154 cm^{-1} foram associadas ao estiramento C–O fenólico, compatíveis com a presença do grupo hidroxila no anel aromático. A deformação C–H vinílico trans foi identificada em 973 cm^{-1} , sendo compatível com a configuração trans da dupla enônica. Além disso, a deformação fora do plano de C–H aromático em 745 cm^{-1} é compatível com o padrão de substituição no anel, enquanto a absorção em 658 cm^{-1} corresponde ao estiramento C–Cl arílico, compatível com a presença do átomo de cloro no anel substituído. Em conjunto, estas atribuições confirmam a estrutura α,β -insaturada e o caráter fenólico da chalcona, coerentes com sua proposta estrutural.

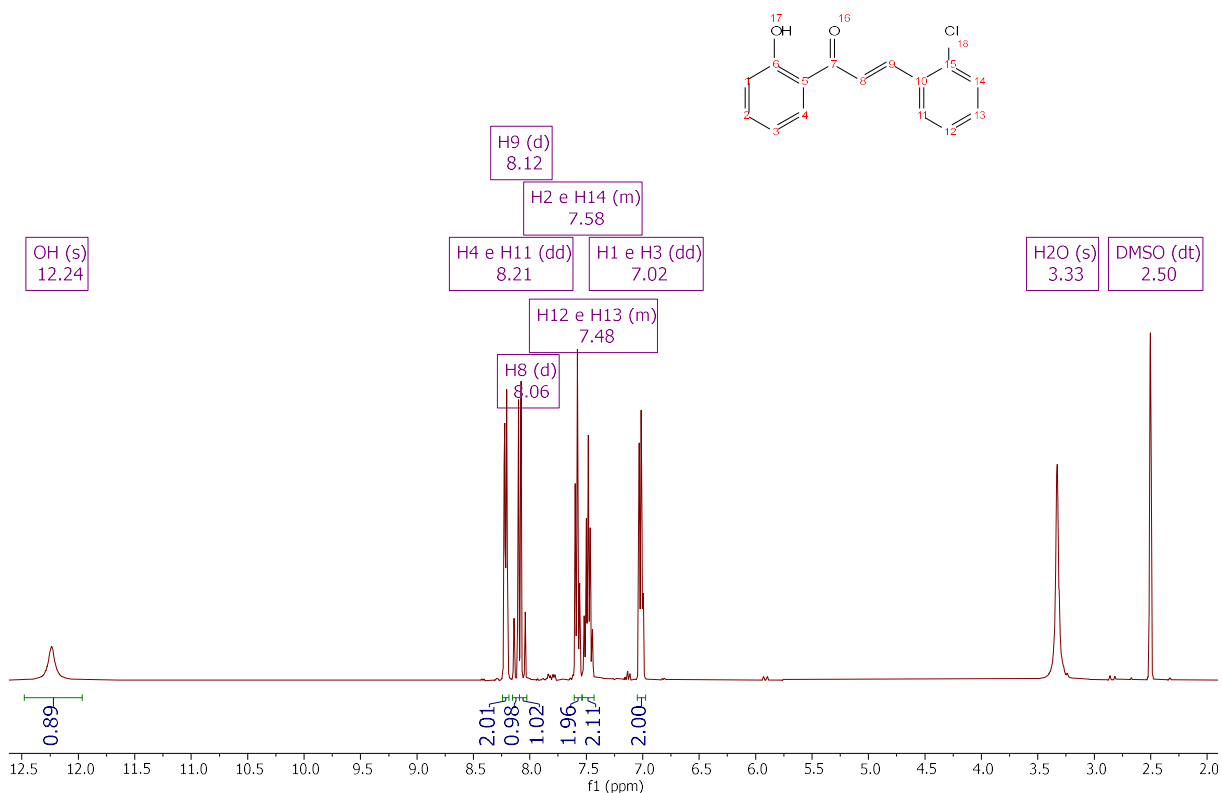
Figura 18 – Espectros de FTIR da chalcona **9**, registrados na região de 200–4000 cm^{-1} , em evidência as principais bandas vibracionais.



No espectro de RMN de ^1H (Figura 19) observou-se a presença de dois dubletos bem definidos, centrados em 8,12 e 8,06 ppm, correspondentes aos hidrogênios olefínicos H-9 e H-8, respectivamente, ambos com constante de acoplamento (J) de 16,0 Hz¹²⁸. O hidrogênio β -carbonílico (H-9) apresentou sinal em maior deslocamento químico, o que pode ser atribuído à maior desblindagem do núcleo em função do efeito indutivo exercido pelo grupo carbonila, bem como da contribuição dos efeitos de ressonância da molécula. Já o hidrogênio fenólico pode ser observado em um simpleto alargado em 12,24 ppm.

Figura 19 - Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO-}d_6$;400MHz) da chalcona **9**

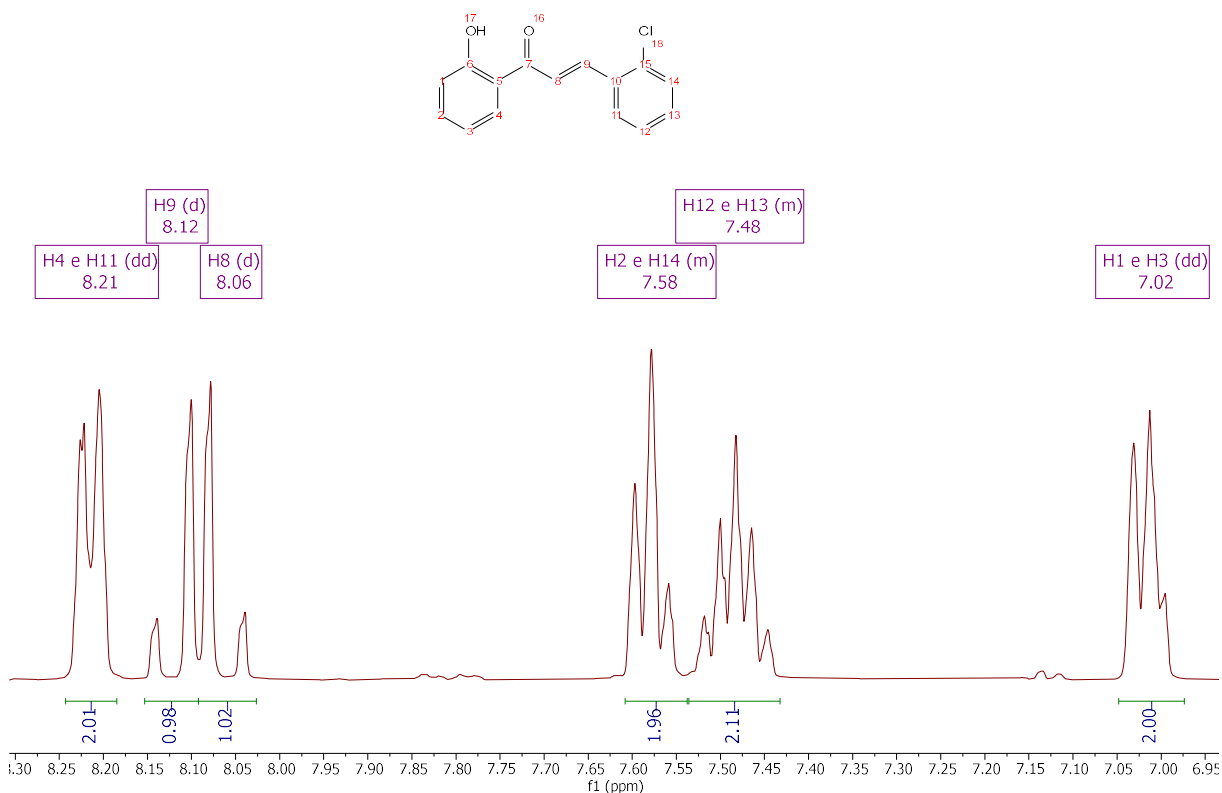
PROTON_01



Os sinais referentes aos anéis aromáticos A e B apresentaram, em sua maioria, sobreposição entre si, dificultando a distinção individual dos hidrogênios. O sinal observado em 8,21 ppm, integrado para dois prótons, foi atribuído aos hidrogênios H-4 (anel A) e H-11 (anel B), apresentando perfil semelhante a um duplo dubleto com constantes de acoplamento de $J = 8,0$ e $1,7$ Hz. Em 7,58 ppm verificou-se um multipletto, resultante da sobreposição dos hidrogênios H-2 (anel A) e H-14 (anel B). Já em 7,48 ppm observou-se um quinteto, atribuído aos hidrogênios H-12 e H-13 (anel B), com constante de acoplamento de $J = 7,3$ Hz. Por fim, em 7,02 ppm identificou-se um multipletto correspondente aos hidrogênios H-1 e H-3 (anel A), conforme ilustrado na Figura 20.

Figura 20 - Espectro de RMN de ^1H expandido ($\text{DMSO-}d_6$;400MHz) da chalcona **9**

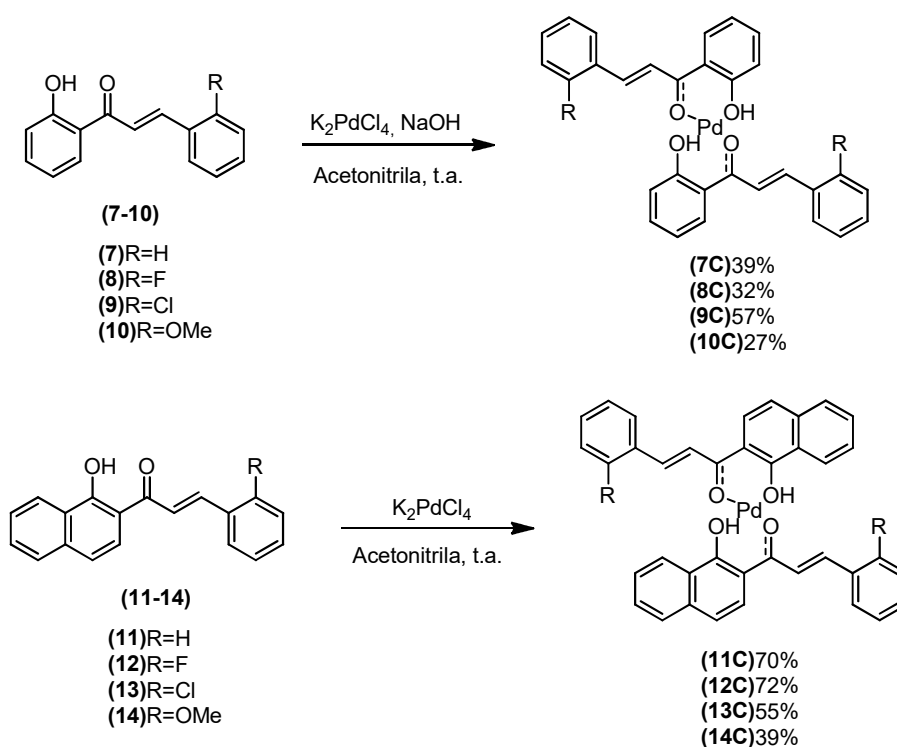
PROTON_01



4.2 Síntese e caracterização dos complexos

Para síntese dos complexos (Esquema 2) solubilizou-se a chalcona correspondente em acetonitrila. Em seguida adicionou-se uma solução de Tetracloropaladato (K_2PdCl_4) e deixou-se em agitação por 48 horas. O fim da reação foi marcado pela formação de precipitado, que por sua vez foi lavado com acetonitrila, etanol e água. Os rendimentos variaram da 27 a 72%. Em todos os complexos derivados da chalconas com núcleo fenólico (7C-10C) houve a necessidade da adição de NaOH, a fim de garantir a complexação.

Esquema 2 – Síntese dos complexos de paládio(II) (7C–14C) derivados de chalconas fenólicas (7–10) e naftólicas (11–14) em acetonitrila.



Fonte: próprio autor

Durante a caracterização estrutural, observou-se que os complexos apresentaram dois modos principais de coordenação podendo ser bidentada via oxigênio carbonílico e grupo fenólico desprotonado, com substituição total dos íons cloreto do precursor ou coordenação monodentada apenas via oxigênio carbonílico, mantendo dois íons de cloro coordenados ao paládio. Esses diferentes modos de coordenação foram inferidos a partir de evidências espectroscópicas obtidas por FTIR, UV-Vis, RMN e espectrometria de massas. Destaca-se ainda que, apesar de algumas sínteses terem sido conduzidas em meio básico com presença de NaOH, favorecendo a desprotonação dos grupos fenólicos, nem todos os ligantes conduziram à formação de complexos bidentados. Essa observação sugere que a coordenação efetiva depende não apenas da disponibilidade de sítios doadores, mas também do arranjo espacial e da interação eletrônica entre os ligantes e o centro metálico.

Avaliou-se os espectros vibracionais na região do infravermelho observando principalmente as bandas na região compreendida entre 1668-1645 cm^{-1} são atribuídas às frequências vibracionais do grupo C=O ¹²⁹, as bandas da ligação do

alceno em geral ficam na região de 1602 cm^{-1} ¹³⁰ e as bandas entre 3400 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} , que são características do grupo hidroxila, ligados a anéis aromáticos¹³¹, deslocamentos observados nessas regiões podem indicar o modo de coordenação do paládio.

A análise espectrofotométrica na região do UV-Vis dos ligantes chalcona (01 a 08) e de seus respectivos complexos com paládio revelou padrões espectrais que são compatíveis com a formação dos complexos e com a modificação do ambiente eletrônico dos ligantes. Em todos os casos, os ligantes livres apresentaram bandas de absorção características, majoritariamente atribuídas a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, localizadas geralmente entre 280 e 460 nm, associadas à presença de sistemas eletrônicos conjugados envolvendo grupos carbonila, hidroxila, anéis aromáticos e duplas ligações do tipo C=C¹³².

A complexação com o paládio(II) promoveu, de forma recorrente, deslocamentos hipsocrômicos (para menores comprimentos de onda) nas bandas $\pi \rightarrow \pi^*$, indicando uma redução da conjugação eletrônica no ligante devido à coordenação dos átomos doadores — especialmente os oxigênios da hidroxila e da carbonila — ao centro metálico³⁹. Além disso, foi frequentemente observado o surgimento de novas bandas de absorção, geralmente entre 400 e 460 nm, atribuídas a transições do tipo LMCT (transferência de carga do ligante para o metal) ou MLCT (transferência de carga de metal para ligante), comuns em complexos de metais de transição como o paládio(II)¹³³. Essas bandas adicionais reforçam a existência de interação eletrônica entre os orbitais do ligante e os do íon metálico, confirmando a formação efetiva dos complexos.

Além disso, os espectros de RMN foram utilizados a fim de verificar possíveis deslocamentos nas ligações que indiquem também a coordenação. Nos espectros das chalconas os hidrogênios ligados a carbonos sp^2 devem-se apresentar entre 8,1-7,0 ppm. Os hidrogênios aromáticos aparecem como duplo dubleto com valores de constante de acoplamento de aproximadamente $J = 8,0\text{ Hz}$ para hidrogênios em *orto* e $J = 2,0\text{ Hz}$ para acoplamento em *meta*. Os hidrogênios α e β carbonílicos se apresentam como dubletos por volta de 8,0 ppm e constante de acoplamento vicinal $J = 15,0\text{ Hz}$, indicando o isômero E. Vale destacar que pelo fato de a técnica utilizar de solventes deuterado há a possibilidade de não haver a banda hidroxila no espectro o que pode dificultar a inferência desse modo de coordenação. Ainda assim, deslocamentos químicos observados para os prótons α e β carbonílicos após a

complexação sugerem alterações no ambiente eletrônico do ligante decorrentes da coordenação ao paládio.

Por fim a espectrometria de massas de alta resolução foi utilizada para a caracterização dos complexos metálicos, demonstrando-se uma ferramenta complementar e essencial para elucidação estrutural. Essa técnica contribui para a identificação dos compostos com base nos valores de m/z , além da observação de fragmentos relacionados tanto ao ligante quanto ao centro metálico. A análise do padrão isotópico característico do paládio, com seis isótopos estáveis com abundâncias significativas (principalmente ^{106}Pd , ^{108}Pd e ^{110}Pd), contribuiu para a confirmação da presença do metal nos complexos, por meio de padrões de múltiplos (M, M+2, M+4) picos bem definidos nos espectros.

4.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Para avaliar as alterações estruturais decorrentes da complexação dos ligantes com Pd(II), foram registrados os espectros de FTIR de todos os complexos e de seus respectivos ligantes livres. Os principais valores das bandas associadas aos grupos funcionais analisados incluem: o estiramento O–H (região 3500–3200 cm^{-1}), o estiramento C–H aromático (3100–3000 cm^{-1}), o estiramento da carbonila conjugada C=O (1650–1620 cm^{-1}), as bandas de C=C aromático/conjugado (1600–1500 cm^{-1}), o estiramento C–O fenólico (aprox. 1250–1150 cm^{-1}), a deformação fora do plano C–H vinílico trans ($\sim 970 \text{ cm}^{-1}$) — estão resumidos na Tabela 1.

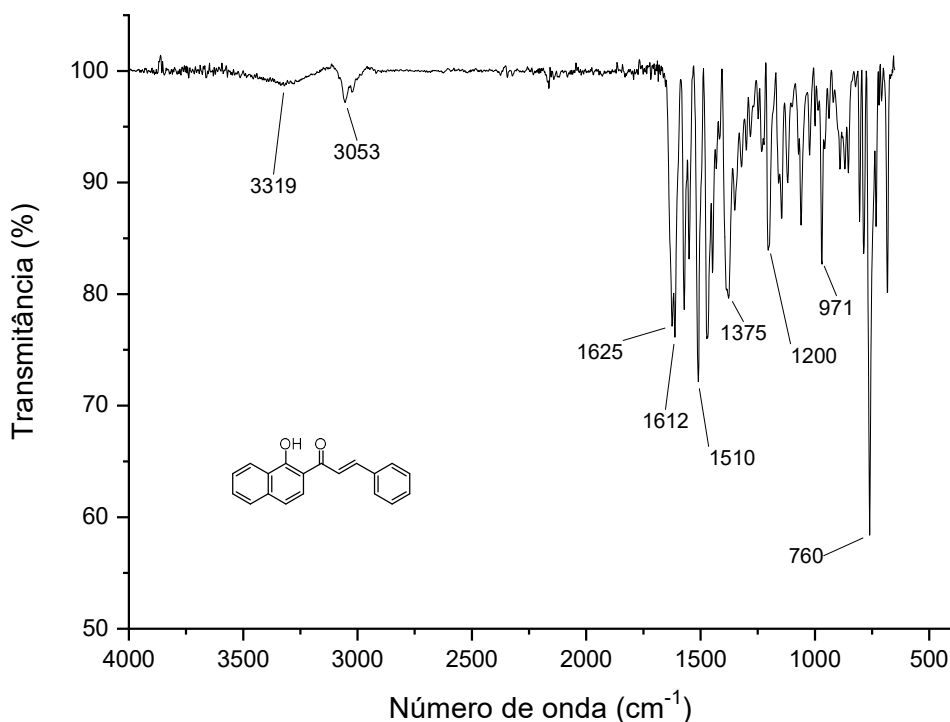
Tabela 1 - Principais bandas de FTIR (cm^{-1}) dos ligantes e respectivos complexos de Pd(II).

	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C-H})$ aromático (cm^{-1})	$\nu(\text{C=O})$ conjugado (cm^{-1})	$\nu(\text{C=C})$ arom./conj. (cm^{-1})	$\nu(\text{C-O})$ (fenol/Ar-O) (cm^{-1})	$\gamma(\text{C-H})$ vinílico trans (cm^{-1})
7	—	3056/ 3026	1636	1567	1199 / 1151	975
7C	3348	3056/ 3021	1618 / 1605	1536/1605	1195	972
8	—	3042	1685	1636 / 1560	1263	986
8C	—	3081	1618 / 1605	1535 / 1483	1193 / 1137	— (mascarada)
9	—	3068	1638	1571 / 1483 / 1439	1202 / 1154	973

9C	—	3058	1621	1606 / 1549 / 1510	1196 / 1161	967
10	3151	—	1636/1618	1583/1518	1022	—
10C	3077	—	1685	1638/1569/1 486	1022	—
11	3319	3053	1625	1612 / 1510	1200	971
11C	—	3056	1631	1612 / 1519	1245	971
12	3352	3042	1632 / 1610	1559	1195	—
12C	—	3057	1613 / 1511 / 1473	1511 / 1473 / 1394	1199	—
13	3422	3066 / 3042	1631	1606 / 1562	1144	—
13C	3314	3055	1627	1573 / 1467	1060	—
14	—	3053	1623	1571	1196 / 1148 / 1062	745
14C	—	3045	1627	1608 / 1558	1241 / 1142	977 / 745

A análise comparativa dos espectros de FTIR das chalconas e de seus respectivos complexos de Pd(II) evidenciou alterações em bandas associadas aos principais grupos funcionais. O estiramento O–H, bem definido nos ligantes **10**, **11**, **12** e **13** (3151–3422 cm^{-1}), tende a desaparecer ou apresentar-se reduzido nos complexos correspondentes, o que é compatível com a participação do oxigênio fenólico no processo de coordenação ao metal¹³⁴. Em relação ao estiramento C–H aromático, todos os ligantes apresentaram sinais em torno de 3040–3068 cm^{-1} , enquanto nos complexos foi observado um deslocamento discreto, com bandas entre 3045 e 3081 cm^{-1} , indicando alteração do ambiente eletrônico dos anéis aromáticos após a complexação. A fim de exemplificar a observação do estiramento O–H apresenta-se a figura 21.

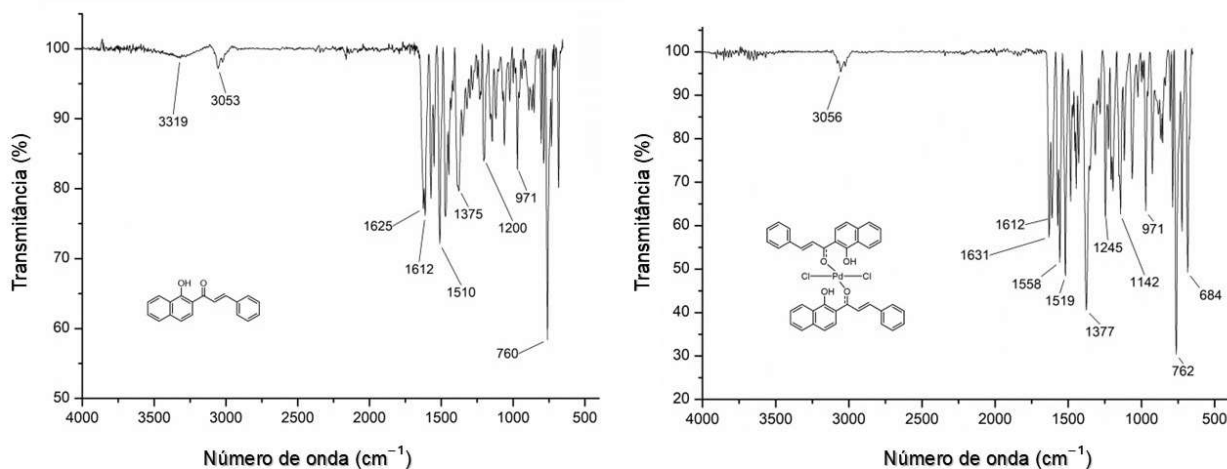
Figura 21 – Espectro de FTIR do ligante **11**, registrado na região de 4000–400 cm^{-1}



As maiores modificações foram verificadas no estiramento da carbonila α,β -insaturada (C=O), que nos ligantes aparece em 1623–1685 cm^{-1} , deslocando-se sistematicamente para valores mais baixos nos complexos (1613–1631 cm^{-1}). Esse comportamento confirma a coordenação da carbonila ao centro metálico, reduzindo a densidade eletrônica da ligação C=O^{135,136}. De forma semelhante, os modos de C=C aromático/conjugado sofreram reorganização: enquanto os ligantes mostraram absorções entre 1560–1571 cm^{-1} , os complexos exibiram múltiplos sinais distribuídos na faixa de 1535–1608 cm^{-1} , reflexo da perturbação do sistema π conjugado após a ligação ao Pd(II). Essas alterações são mostradas na figura 22.

Figura 22 - Espectros de FTIR do ligante chalcona **11** e de seu respectivo complexo de paládio(II)

(11C), registrados na região de 4000–400 cm^{-1} .



As bandas de C–O fenólico ($1144\text{--}1263\text{ cm}^{-1}$) também apresentaram variações importantes. Nos ligantes, os valores concentram-se entre 1144 e 1263 cm^{-1} , enquanto nos complexos há deslocamentos e redistribuições ($1060\text{--}1245\text{ cm}^{-1}$), reforçando o envolvimento do oxigênio fenólico na coordenação. A deformação fora do plano C–H vinílico trans, registrada de forma clara nos ligantes ($975\text{--}986\text{ cm}^{-1}$), em alguns complexos aparece levemente deslocada (967 cm^{-1} , complexo **9C**; 972 cm^{-1} , complexo **7C**) ou mascarada (complexo **8C**), sugerindo que a configuração trans da enona é em geral mantida, ainda que com variações de intensidade.

De modo geral, os deslocamentos observados em $\nu(\text{C}=\text{O})$ e $\nu(\text{C}-\text{O})$, associados à supressão ou modificação de $\nu(\text{O}-\text{H})$, constituem fortes evidências de que a complexação das chalconas com Pd(II) ocorre predominantemente via carbonila e grupo fenólico. A manutenção das bandas de $\nu(\text{C}-\text{H})$ aromático e $\gamma(\text{C}-\text{H})$ trans demonstra que a integridade estrutural do sistema conjugado é preservada após a coordenação, ainda que com alterações eletrônicas detectáveis nos espectros.

4.4 Espectrofotometria de absorção na região do UV-vis

A espectroscopia de absorção na região ultravioleta-visível (UV-Vis) foi utilizada para complementar a análise estrutural dos complexos de paládio derivados das chalconas. Esta técnica permite investigar alterações no ambiente eletrônico dos ligantes, especialmente em sistemas conjugados envolvendo carbonilas, duplas ligações C=C e anéis aromáticos, fornecendo informações sobre interações metal-

ligante e mudanças na distribuição eletrônica^{137,138}. A Tabela 2 resume os principais comprimentos de onda observados para os ligantes livres e seus complexos, destacando os efeitos da complexação sobre os sistemas eletrônicos conjugados.

Tabela 2- Dados de Absorção UV-Vis dos Ligantes Chalconas e seus Complexos de Paládio

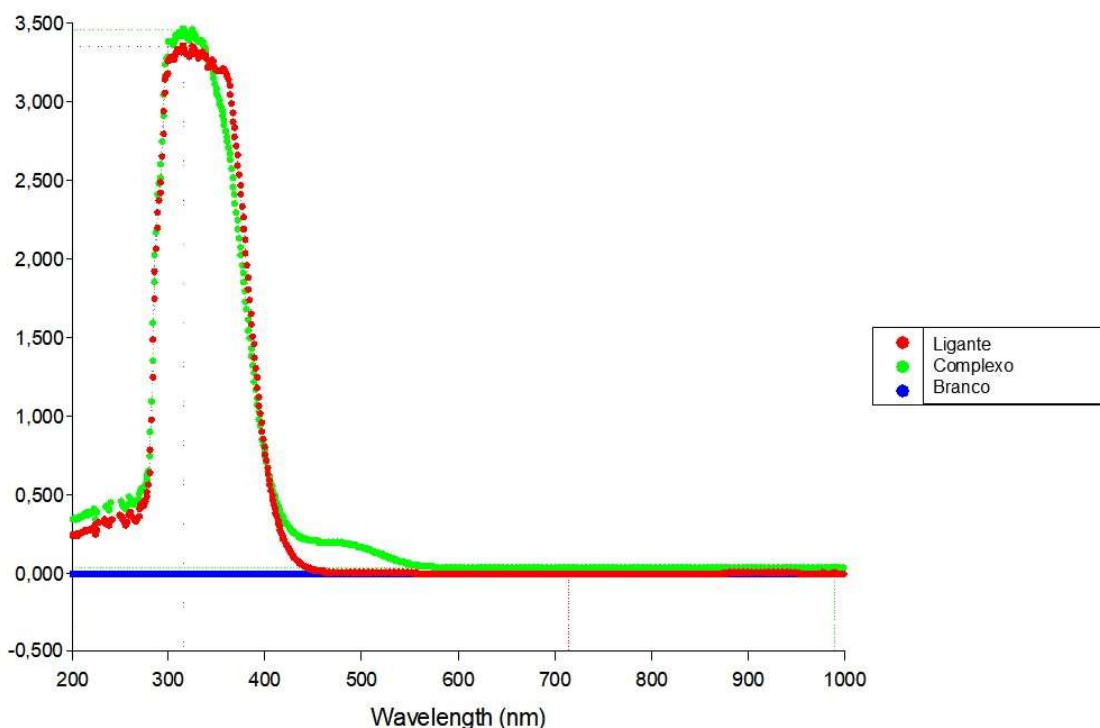
Número	Ligante (λ_{max} , nm)	Complexo (λ_{max} , nm)	Observações
7	~340	~320	Deslocamento hipsocrômico
8	~340	~320, 450	Deslocamento hipsocrômico e MLCT
9	322	319, 455	Hipercromico e MLCT
10	~280, 370-390	~310-330, 360-370	Deslocamento hipsocrômico e MLCT
11	<350, 350-500	Bandas deslocadas	Hipsocrômico e deslocamento hipsocrômico
12	325, 460	~300, 325, 400	Múltiplas bandas e MLCT
13	373, 455	353, 428	Deslocamento hipsocrômico e MLCT
14	330, 440	320, 410	Deslocamento hipsocrômico sem perda de intensidade

*MLCT- transferências de carga metal-ligante

A análise dos espectros revela que a complexação com Pd(II) provoca deslocamentos hipsocrômicos em diversos complexos, como **7C**, **8C**, **10C**, **13C** e **14C**, refletindo aumento da energia das transições $\pi \rightarrow \pi^*$. Este efeito pode ser interpretado como resultado da influência do paládio sobre a conjugação eletrônica do ligante, afetando a distribuição de densidade nos orbitais π e π^* . A interação com o centro metálico pode desestabilizar o orbital π^* do ligante ou estabilizar o orbital π , aumentando o GAP energético entre HOMO e LUMO, resultando em transições de maior energia¹³⁹.

Além dos deslocamentos, a presença de bandas adicionais em regiões de maior comprimento de onda, típicas de transferências de carga metal-ligante (MLCT), foi observada em complexos como **8C**, **9C**, **10C**, **12C** e **13C**. Essas transições envolvem a excitação de elétrons do orbital d do paládio para orbitais π^* do ligante e são indicativas da formação efetiva dos complexos. A Figura 23 é apresentada para exemplificar esses efeitos, demonstrando o aumento da intensidade da banda e o surgimento das bandas características de MLCT nos espectros eletrônicos obtidos.

Figura 23- Espectro de absorção UV-Vis do ligante **9** e do complexo **9C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L⁻¹).



Fonte: dados da pesquisa

Comparando os complexos monodentados (**7C**, **9C** e **11C**) com os bidentados, nota-se que os monodentados apresentam padrões mais simples de deslocamento, geralmente hipsocrômico, com intensidade variável, e em alguns casos bandas de MLCT discretas ou ausentes (como em **7C**). Já os complexos bidentados exibem múltiplas bandas, deslocamentos hipsocrômicos combinados com MLCT e alterações mais complexas na intensidade, refletindo maior influência do paládio sobre diferentes regiões conjugadas do ligante.

Observações específicas reforçam essa interpretação: **7C** apresenta deslocamento hipsocrômico de ~340 nm para ~320 nm sem bandas MLCT visíveis, indicando que a conjugação é afetada, mas a transferência de carga para a região visível é mínima. Em **11C**, o deslocamento de banda acompanhado de diminuição de intensidade evidencia uma interação distinta entre ligante e metal, sugerindo reorganizações eletrônicas particulares.

Em resumo, a análise por UV-vis sugere a formação dos complexos de paládio e demonstra que a coordenação altera a distribuição eletrônica dos ligantes. Os deslocamentos hipsocrômicos refletem mudanças na conjugação e na energia dos orbitais moleculares, enquanto as bandas MLCT indicam a ocorrência de transferência de carga metal-ligante. Esses resultados complementam as observações de FTIR,

fornecendo uma visão mais completa das interações metal-ligante e das alterações eletrônicas induzidas nos complexos.

4.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN de ^1H)

Em conjunto com as análises por FTIR e UV-Vis, a espectroscopia de RMN ^1H foi utilizada para investigar alterações nos ambientes eletrônicos dos hidrogênios presentes nos ligantes chalconas após a complexação com Pd(II). Essa técnica fornece informações detalhadas sobre os prótons contidos na molécula, permitindo identificar mudanças sutis nos deslocamentos químicos decorrentes da interação com o centro metálico.

Enquanto FTIR evidenciou alterações no ambiente eletrônico dos grupos funcionais e UV-Vis revelou mudanças na distribuição eletrônica global dos ligantes, a RMN ^1H oferece uma visão local das modificações eletrônicas, permitindo observar deslocamentos de sinais e alterações nos padrões de acoplamento que refletem a influência da coordenação do paládio sobre os ligantes. A análise destes deslocamentos fornece indícios sobre possíveis interações metal-ligante e sobre a manutenção ou reorganização de grupos funcionais específicos durante a formação dos complexos.

Portanto, a RMN ^1H constitui uma etapa fundamental na caracterização estrutural, complementando as técnicas previamente aplicadas e permitindo uma interpretação mais detalhada da influência do Pd(II) sobre os ligantes chalconas. Os deslocamentos químicos observados nos ligantes e seus respectivos complexos (tabela 3) fornecem informações sobre alterações do ambiente eletrônico, especialmente nos prótons α e β da unidade α,β -insaturada e nos prótons fenólicos ou naftólicos.

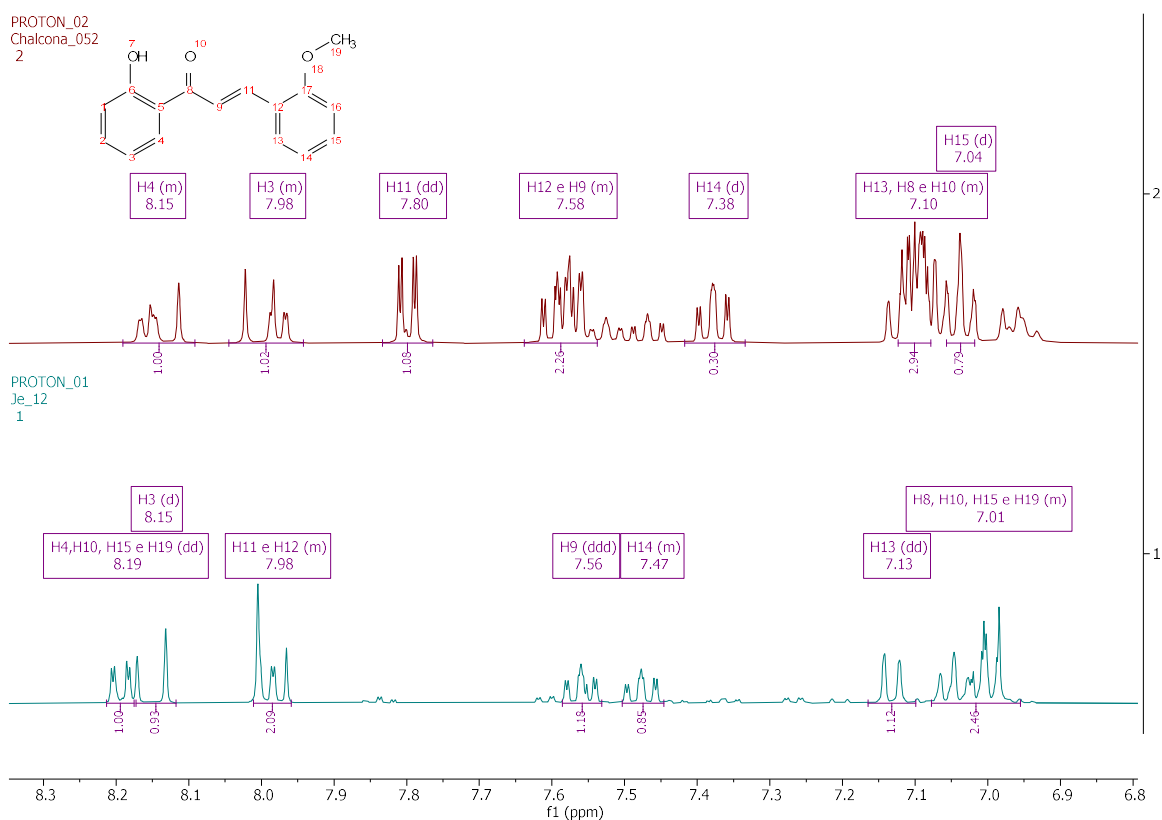
Tabela 3 - Deslocamentos químicos observados por RMN ^1H

Amostra	$\delta(\text{OH})$	$\delta(\text{H}\alpha \text{ carbonílico})$	$\delta(\text{H}\beta \text{ carbonílico})$
7	–	7,42	7,57
7C	12,45	7,83	8,01
8	–	7,88	8,08

8C	-	7,91	8,07
9	12,24	8,06	8,12
9C	12,23	8,07	8,13
10	-	7,58	7,80
10C	-	7,56	7,98
11	-	7,73	8,00
11C	-	7,73	7,99
12	-	7,65	8,39
12C	-	8,04	8,22
13	-	7,91	8,39
13C	-	8,25	8,25
14	-	8,18	8,29
14C	-	7,29	7,46

A comparação entre os ligantes e os respectivos complexos evidencia alterações nos deslocamentos químicos, particularmente nos prótons adjacentes ao grupo carbonila (H α e H β).

Nos derivados fenólicos (**7C–10C**), observa-se o aparecimento ou a manutenção do sinal do próton hidroxílico em $\delta \approx 12$ ppm (casos de **7C**, **8C** e **9C**), indicando que o grupo OH permanece protonado após a complexação. Esse comportamento indica que as alterações observadas decorrem de interações indiretas entre o grupo hidroxila e o entorno de coordenação, e não de ligação direta ao centro metálico. No complexo **10C**, por outro lado, o sinal do OH não é detectado, fato que pode estar relacionado a coordenação bidentada. Os deslocamentos registrados para H α e H β nesses derivados indicam tanto blindagem quanto desblindagem relativa, refletindo alterações na densidade eletrônica da unidade α,β -insaturada em consequência da complexação. A fim de exemplificar os possíveis efeitos da coordenação a figura 24 apresenta uma comparação entre o ligante e o complexo **10**. **Figura 24-** Espectros de RMN de ^1H do ligante **10** e complexo **10C** obtido em DMSO- d_6 (400 MHz).



A comparação entre os espectros de RMN¹H do ligante livre e do respectivo complexo revelou perfis de sinais semelhantes, diferindo principalmente nos deslocamentos químicos induzidos pela coordenação ao paládio. O próton H α carbonílico apresentou um leve deslocamento para campo alto, de 7,58 para 7,56 ppm ($\Delta\delta = 0,02$ ppm), indicando um discreto efeito de blindagem associado à redistribuição eletrônica do sistema conjugado após a coordenação. Em contraste, o próton H β carbonílico exibiu um deslocamento mais pronunciado para campo baixo, de 7,80 para 7,98 ppm ($\Delta\delta = 0,18$ ppm), sugerindo desblindagem decorrente da polarização eletrônica induzida pela interação metal–ligante. Esses resultados indicam que a coordenação ao centro metálico afeta de forma diferenciada os prótons do sistema α,β -insaturado, refletindo alterações locais na densidade eletrônica sem modificação estrutural do ligante.

Nos derivados naftólicos (**11C–14C**), não foram observados sinais de OH em nenhum dos ligantes ou complexos, em consonância com a maior acidez intrínseca e a propensão à troca protônica característica desse tipo de hidroxila. Apesar disso, os deslocamentos de H α e H β são observados, sugerindo que a coordenação ao paládio afeta o ambiente eletrônico da enona conjugada. Em especial, destaca-se o complexo **14C**, no qual os sinais de H α e H β sofrem deslocamentos, evidenciando uma

redistribuição significativa da densidade eletrônica.

Logo, os dados de RMN¹H sugerem que a carbonila é o sítio predominante de coordenação, e que a complexação ao paládio promove alterações sistemáticas na densidade eletrônica da unidade α,β -insaturada das chalconas.

4.6 Análise termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica (TGA) foi empregada para avaliar o comportamento térmico dos complexos de paládio(II) sintetizados, permitindo identificar as etapas de decomposição, as faixas de temperatura e as porcentagens de perda de massa correspondentes a cada evento térmico.

As massas iniciais (m_i) e finais (m_f) das amostras foram registradas automaticamente pelo analisador termogravimétrico. As porcentagens de perda de massa ($\% \Delta m$) e de resíduo ($\% R$) foram calculadas de acordo com as expressões:

$$\% \Delta m = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \cdot 100$$

$$\% R = \frac{m_f}{m_i} \cdot 100$$

Para fins de comparação, as perdas de massa teóricas foram determinadas a partir da relação entre as massas molares dos fragmentos eliminados e do complexo metálico, conforme a equação:

$$\% \Delta m_{\text{calc}} = \frac{M_{\text{fragmento}}}{M_{\text{complexo}}} \cdot 100$$

onde $M_{\text{fragmento}}$ corresponde à massa molar do grupo eliminado (por exemplo, HCl, HF, fragmentos orgânicos) e M_{complexo} é a massa molar total do composto.

A partir da comparação entre os valores experimentais e teóricos, foi possível identificar as etapas de perda de solvente, eliminação de espécies halogenadas voláteis (HCl, HF), degradação do ligante orgânico e oxidação final de resíduos carbonáceos. Os estágios de decomposição, a faixa de temperatura, as porcentagens de perda de massa, bem como os produtos de decomposição, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Etapas de decomposição térmica (TG) dos complexos de paládio, incluindo faixa de decomposição, perda de massa e resíduos finais.

Complexo	Faixa de TG (°C)	DTG máx. (°C)	Perda de massa (%)	Atribuição / Produto de decomposição
7C	30–150	—	0,3	Eliminação de traços de solvente ou umidade
	150–220	195	10,2	Liberação de HCl e início da decomposição do ligante
	220–300	256	34,0	Decomposição do ligante aromático com perda de fragmentos orgânicos (CO, CO ₂ , C ₆ H ₄)
	300–500	421	20,9	Oxidação parcial da matriz orgânica e formação de PdO + C
	800–950	854	4,8	Oxidação final do carbono residual → resíduo: PdO + 5C (29,2%)
8C	30–150	147	0,3	Eliminação de umidade adsorvida
	150–230	190	30,6	Início da decomposição do ligante com saída de HF e fragmentos β-insaturados
	230–800	259	48,0	Decomposição principal do esqueleto aromático com liberação de CO ₂ e voláteis fluorados
	800–950	847	3,3	Oxidação do carbono residual → resíduo: Pd metálico (17,8%)
9C	30–150	149	1,2	Remoção de solvente / umidade
	150–260	226	68,7	Eliminação de HCl e decomposição inicial do ligante
	260–500	261	17,2	Degradação da estrutura aromática (formação de CO ₂ e fragmentos clorados)
	500–1000	995	2,1	Oxidação final de carbono → resíduo: PdO + C (10,8%)
10C	150–220	215	20,7	Decomposição inicial de grupos laterais e β-insaturados do ligante
	220–300	276	49,1	Decomposição principal do esqueleto aromático (liberação de CO ₂ e fragmentos C ₆ H ₆)
	300–400	306	8,5	Oxidação parcial da matriz carbonácea
	800–950	843	4,3	Oxidação final → resíduo: Pd metálico (17,7%)
11C	30–150	54	2,3	Perda de umidade e solvente

	150–300	275	47,0	Eliminação de HCl e início da degradação do ligante
	300–400	304	39,5	Decomposição principal do sistema aromático conjugado (CO, CO ₂ , fragmentos C ₆ H ₄ Cl)
	400–1000	844	2,9	Oxidação final → resíduo: Pd/PdO (8,3%)
12C	30–150	—	0,7	Remoção de solvente / umidade adsorvida
	150–250	—	14,5	Início da decomposição do ligante, com liberação de HF e fragmentos orgânicos
	250–350	—	32,4	Decomposição principal do esqueleto aromático (CO ₂ , C ₆ H ₆ , CO)
	350–430	—	37,6	Oxidação complementar do carbono → resíduo: Pd metálico (15,2%)
13C	30–150	—	0,8	Eliminação de traços de solvente
	150–300	290	34,2	Início da decomposição do ligante e saída de HCl
	300–500	440	54,6	Decomposição do esqueleto aromático (CO ₂ e voláteis clorados)
	500–1000	860	2,1	Oxidação final → resíduo: Pd/PdO (8,2%)
14C	30–150	—	1,0	Remoção de umidade residual
	150–250	248	19,1	Decomposição inicial de grupos laterais do ligante
	250–350	300	60,5	Decomposição principal do sistema π-conjugado e oxidação orgânica
	350–450	351	10,7	Degradação complementar e formação de PdO + C
	450–1000	886	2,9	Oxidação final → resíduo: Pd/PdO (5,9%)

A fim de exemplificar, o procedimento de interpretação e cálculo das variações de massa utilizou-se o complexo **10C**. A amostra apresentou comportamento térmico típico de complexos de paládio(II) contendo ligantes orgânicos do tipo chalcona, exibindo quatro estágios principais de decomposição, conforme indicado na Tabela 4.

A partir da curva TG, observou-se que a massa inicial (m_i) da amostra foi de 2,147 mg e a massa final (m_f), obtida após 950 °C, foi de 0,380 mg. Assim, a perda total de massa experimental ($\Delta m\%$) foi calculada pela Equação:

$$\% \Delta m = \frac{(2,147 - 0,380)}{2,147} \cdot 100 = 82,3\%$$

Esse valor é compatível com o comportamento esperado para a eliminação da fração orgânica do complexo, indicando que cerca de 17,7 % da massa inicial permanece como resíduo inorgânico ao final da decomposição térmica.

A massa molar do complexo $C_{32}H_{26}O_6Pd$ é $M = 612,97 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, sendo a fração teórica correspondente ao metal calculada pela razão:

$$\%Pd_{\text{teórico}} = \frac{106,42}{612,97} \cdot 100 = 17,4\%$$

O valor experimental obtido (17,7 %) é compatível com o teórico, confirmando que o resíduo final é constituído por paládio metálico (Pd^0), resultante da oxidação completa da matriz orgânica.

O mesmo procedimento de cálculo foi aplicado a todos os demais complexos da série (anexos 8.5), permitindo comparar a estabilidade térmica e a natureza dos resíduos entre os sistemas fenólicos, naftólicos, clorados e fluorados.

Eles apresentaram boa estabilidade térmica até aproximadamente 200 °C, sem perdas de massa significativas, o que indica a ausência de moléculas de solvente coordenadas ou de hidratação. A decomposição dos ligantes iniciou-se entre 200 e 250 °C, com as principais etapas de degradação ocorrendo até cerca de 400 °C, associadas à ruptura do sistema π -conjugado e à oxidação progressiva do esqueleto aromático. Esse comportamento é típico de compostos de coordenação contendo grupos carbonílicos e insaturados conjugados ao centro metálico.

Os complexos de núcleo fenólico (**7C–10C**) exibiram perfis de decomposição bem definidos, com resíduos entre 17 e 30%, compatíveis com a formação de Pd^0 , PdO ou $PdO + C$. Dentro desse grupo, o complexo 8C apresentou maior estabilidade térmica e resíduo final próximo ao valor teórico, enquanto os sistemas clorados (**7C e 9C**) mostraram perdas de massa mais acentuadas e resíduos inferiores. O complexo **10C**, contendo grupos metoxila, apresentou decomposição mais gradual, com resíduo coerente com a presença de Pd metálico, refletindo o efeito estabilizador de substituintes doadores de elétrons.

Por outro lado, os complexos de núcleo naftólico (**11C–14C**) apresentaram resíduos menores, variando entre 5 e 15%, indicando maior susceptibilidade à oxidação e à volatilização de fragmentos orgânicos^{140,141}. Esse comportamento é coerente com a maior extensão do sistema aromático conjugado, que, embora favoreça a deslocalização eletrônica, também intensifica a degradação oxidativa em

temperaturas elevadas. Os sistemas fluorados (**12C**) mantiveram resíduos próximos aos valores teóricos para Pd metálico, enquanto os clorados (**11C e 13C**) mostraram valores abaixo dos teóricos, associados à volatilização parcial de PdO_x e PdCl₂ em atmosfera oxidante^{141,142}.

Apesar das variações, o conjunto dos resultados demonstra que os complexos apresentam perfis térmicos consistentes e que a decomposição controlada dos ligantes conduz à formação de resíduos compostos majoritariamente por paládio metálico ou PdO. Assim, as análises termogravimétricas reforçam a estabilidade térmica e a robustez estrutural dos sistemas coordenados, além de evidenciar a influência dos substituintes aromáticos sobre a resistência térmica e o modo de decomposição.

4.7 Análise Elementar

A análise elementar (CHN) dos complexos de paládio foi realizada para avaliar a composição química e a pureza das espécies obtidas. Os resultados experimentais foram comparados com os valores teóricos calculados a partir das fórmulas moleculares dos complexos, permitindo uma avaliação detalhada da correspondência entre a síntese e a estrutura prevista (Tabela 5).

Tabela 5 - Resultados de análise elementar (CHN) dos complexos de paládio: comparação entre valores experimentais e teóricos.

Amostra	Carbono (%) experimental	Carbono (%) teórico	Hidrogênio (%) experimental	Hidrogênio (%) teórico	Nitrogênio (%)
7C	55,219	57,57	3,056	3,87	0
8C	60,017	61,19	3,159	3,42	0
9C	64,506	51,87	3,574	3,19	0
10C	72,153	62,7	5,3	4,28	0
11C	68,893	62,87	3,831	3,89	0
12C	66,102	66,24	3,437	3,51	0
13C	64,588	63,22	3,764	3,35	0
14C	70,743	67,37	4,074	4,27	0

A comparação entre os valores experimentais e teóricos evidencia que, embora alguns resultados apresentem boa compatibilidade com as fórmulas moleculares

propostas, parte das amostras exibe desvios superiores ao intervalo clássico de $\pm 0,3$ a $\pm 0,5\%$ usualmente citado para C e H em análises elementares. Tais variações podem estar associadas a fatores inerentes à técnica, como retenção residual de solventes, hidratação parcial, heterogeneidade da amostra ou limitações do processo de combustão, especialmente em complexos metálicos contendo metais pesados¹⁴³.

Nos complexos fenólicos (**7–10C**), o complexo **7C** apresenta pequenas diferenças em relação ao teórico (C: 55,22% experimental vs. 57,57% teórico; H: 3,06% vs. 3,87%), dentro do intervalo aceitável. O complexo **9C** apresenta diferença mais acentuada no carbono (64,51% experimental vs. 51,87% teórico), ligeiramente acima do esperado, possivelmente devido a variações na homogeneidade da amostra ou pequenas impurezas orgânicas. O complexo **10C** apresenta valores de C e H superiores aos teóricos (72,15% e 5,3% vs. 62,7% e 4,28%), indicando que a amostra pode ter retido solvente ou conter pequenas impurezas, justificando o desvio maior.

Nos complexos naftólicos (**11–14C**), os valores experimentais de carbono e hidrogênio estão ligeiramente acima dos teóricos, mas permanecem dentro de limites aceitáveis para análises elementares de complexos metálicos. A ausência de nitrogênio em todas as amostras confirma que os ligantes e complexos não contêm grupos nitrogenados, em concordância com a composição estrutural das chalconas utilizadas.

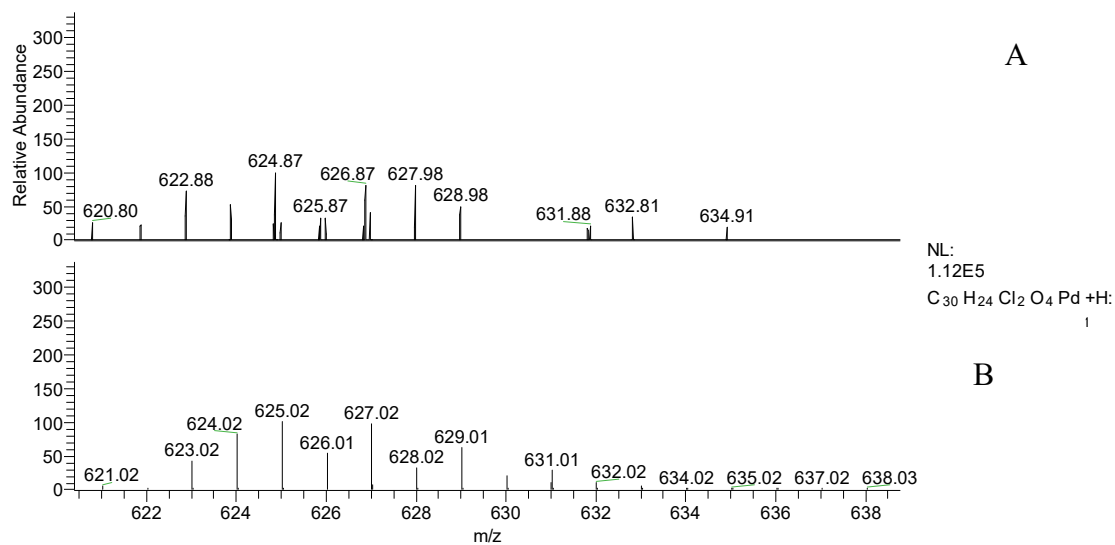
De maneira geral, a análise CHN corrobora a fórmula química dos complexos de paládio e indica que a síntese foi bem-sucedida, produzindo compostos com boa pureza. Pequenas diferenças entre os valores experimentais e teóricos podem ser atribuídas a fatores como traços de solventes residuais, hidratação parcial ou limitações inerentes à técnica analítica.

4.8 Espectrometria de massas

A caracterização dos complexos de paládio foi complementada pela espectrometria de massas, permitindo confirmar a formação das espécies sintetizadas e a integridade das suas fórmulas moleculares. Para todos os complexos estudados, foram observados os íons correspondentes ao aduto de hidrogênio $[M+H]^+$, coerentes com as massas esperadas para suas respectivas fórmulas químicas.

O complexo **7C** apresentou o íon molecular em m/z 625,838, compatível com a fórmula $C_{30}H_{24}Cl_2O_4Pd$ (Figura 25).

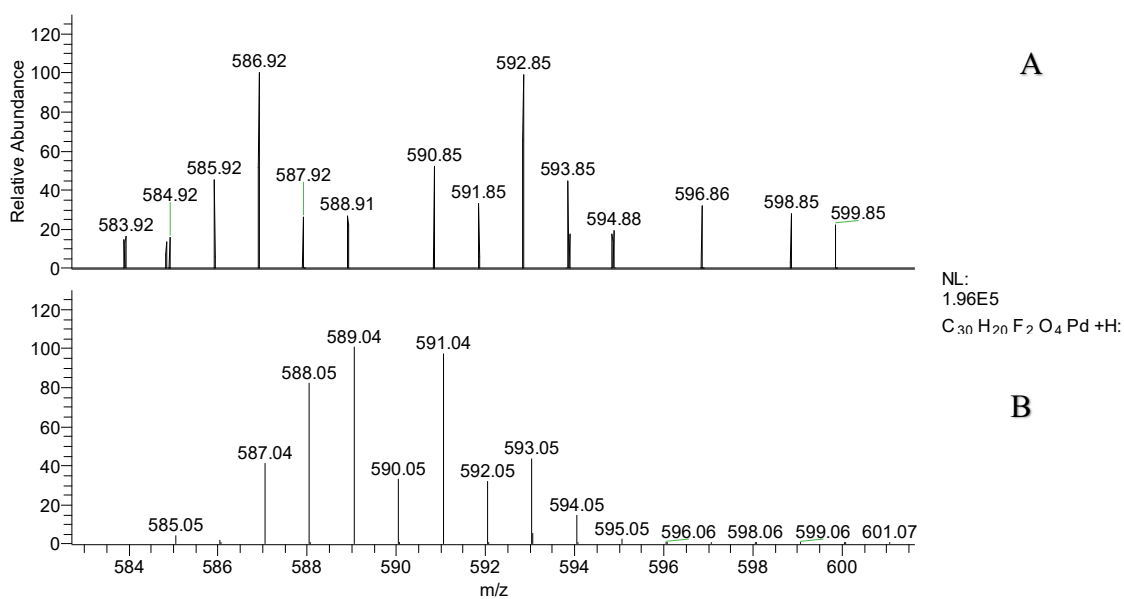
Figura 25 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **7C**



Fonte: dados da pesquisa

E o complexo **8C** exibiu m/z 588,91, correspondente a $C_{30}H_{20}F_2O_4Pd$ (Figura 26).

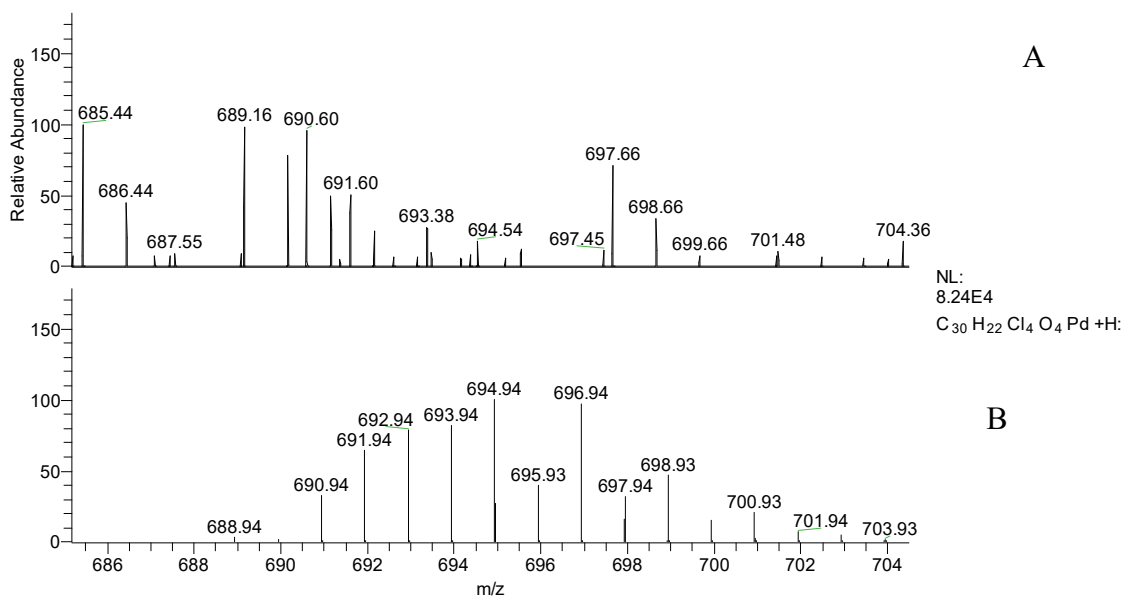
Figura 26 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **8C**



Fonte: dados da pesquisa

Em seguida, o complexo **9C** apresentou o íon molecular em m/z 694,54, coerente com $C_{30}H_{22}Cl_4O_4Pd$ (Figura 27).

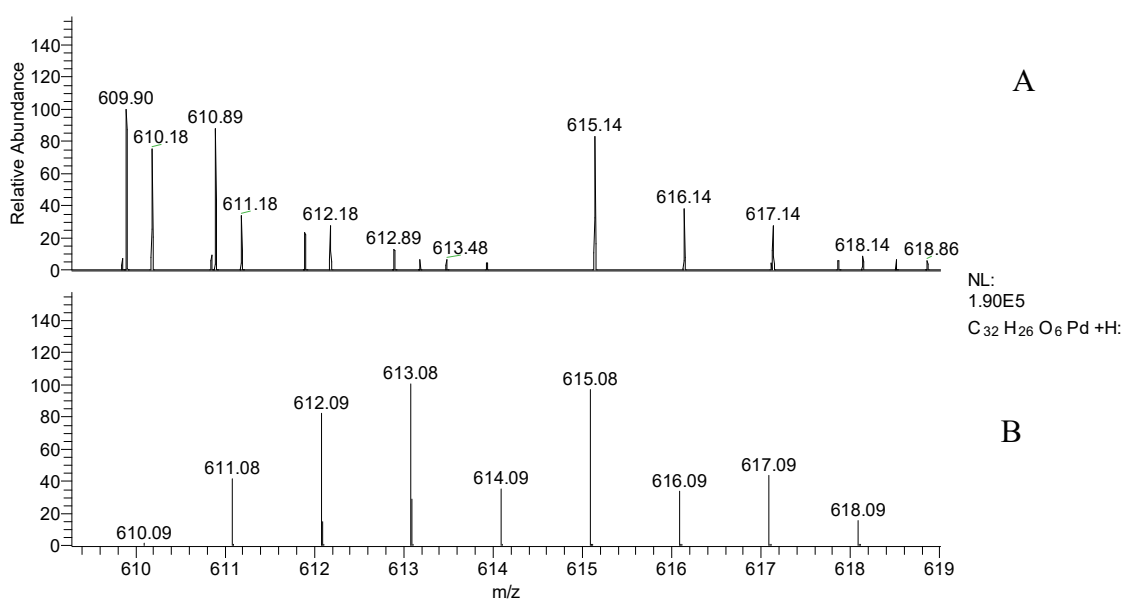
Figura 27 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **9C**



Fonte: dados da pesquisa

O complexo **10C** mostrou o sinal em m/z 613,48, compatível com a fórmula $C_{32}H_{26}O_6Pd$ (Figura 28).

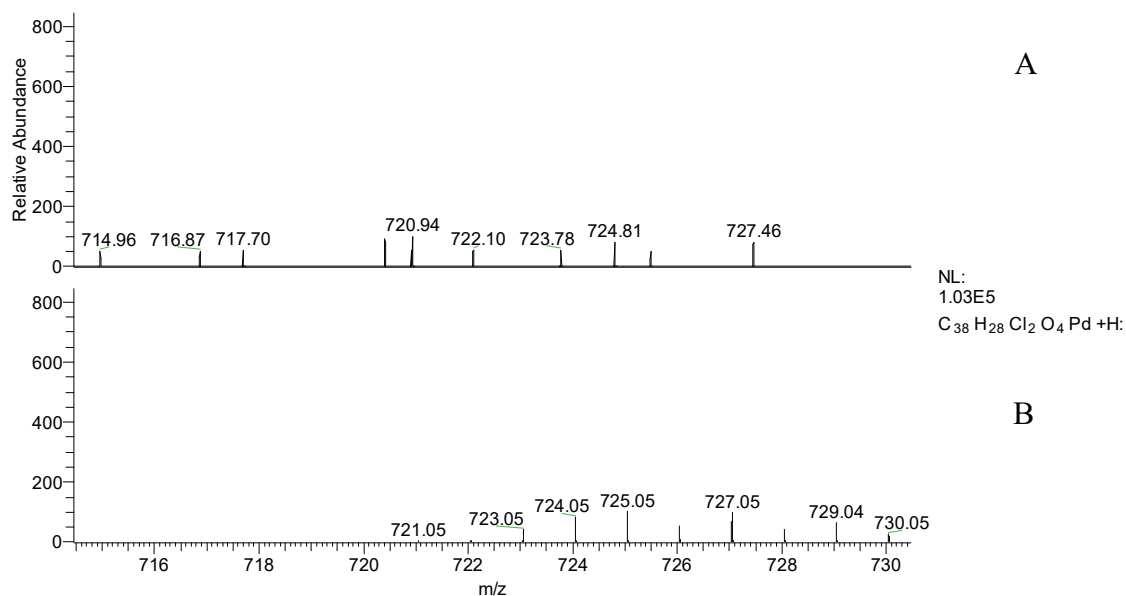
Figura 28 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **10C**



Fonte: dados da pesquisa

De forma similar, o complexo **11C** apresentou m/z 725,17, correspondendo a $C_{38}H_{28}Cl_2O_4Pd$ (Figura 29).

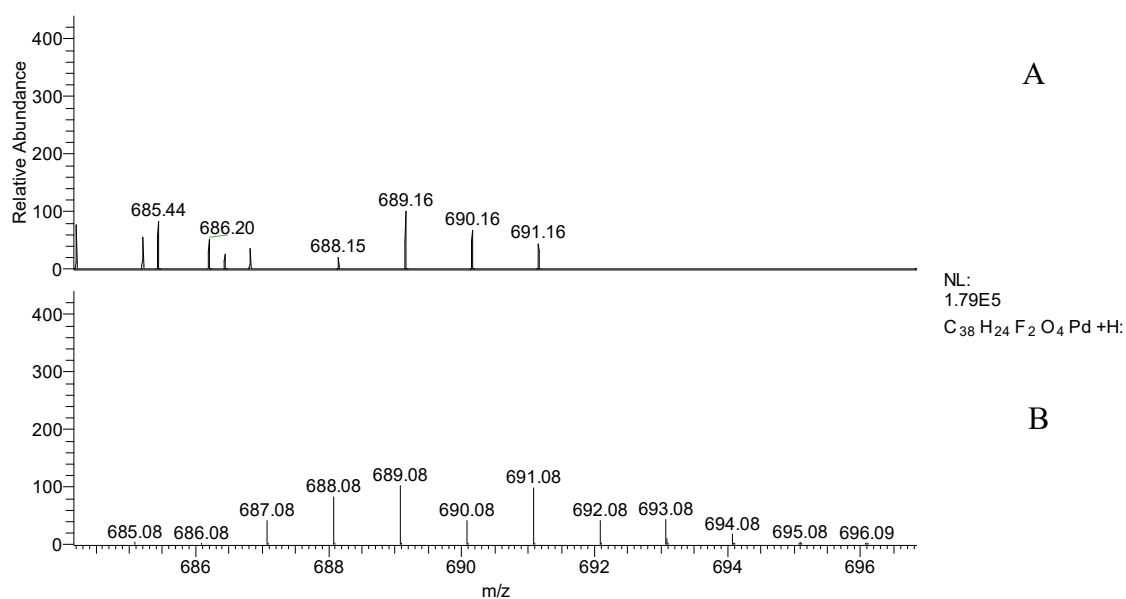
Figura 29 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **11C**



Fonte: dados da pesquisa

Enquanto o **12C** exibiu m/z 689,16, consistente com $C_{38}H_{24}F_2O_4Pd$ (Figura 30).

Figura 30 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **12C**

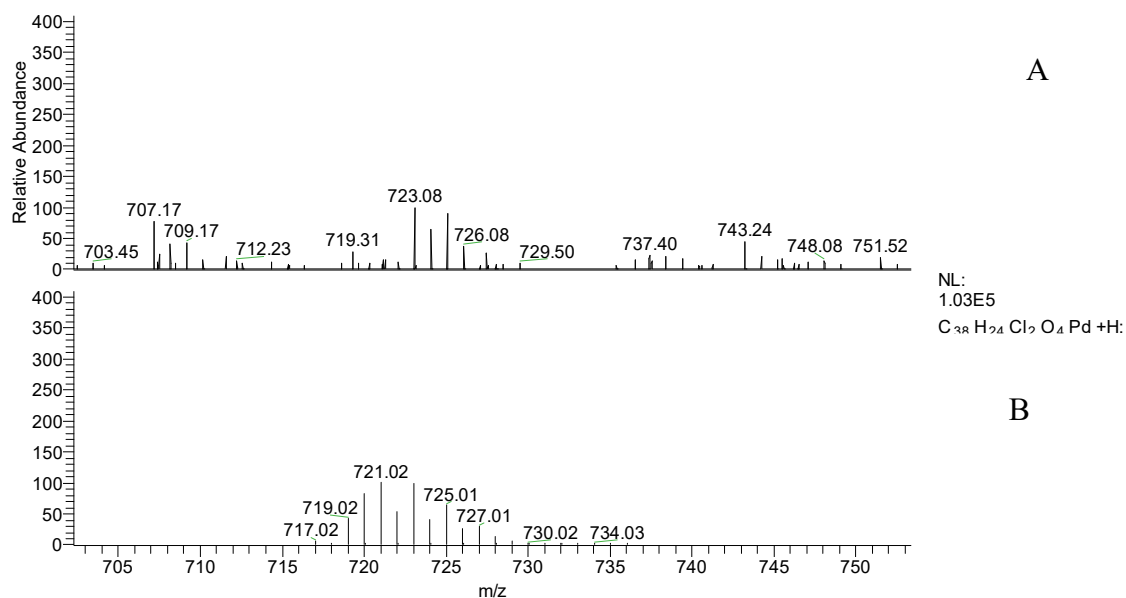


Fonte: dados da pesquisa

O complexo **13C** revelou o íon molecular em m/z 721,08, confirmando a

composição $C_{38}H_{24}Cl_2O_4Pd$ (Figura 31).

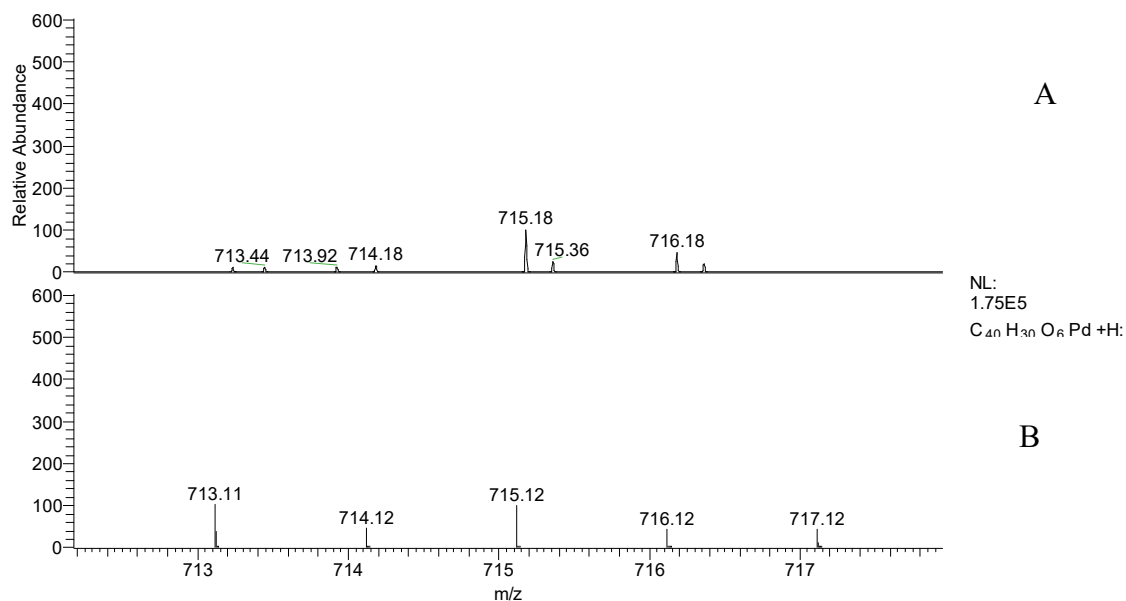
Figura 31 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **13C**



Fonte: dados da pesquisa

E o complexo **14C** apresentou m/z 713,44, coerente com $C_{40}H_{30}O_6Pd$ (Figura 32).

Figura 32 - Comparação entre os espectros de massas experimental (A) e teórico(B) do complexo **14C**



Fonte: dados da pesquisa

Além da correspondência dos sinais de m/z com os valores esperados para as

espécies propostas, a análise dos espectros de massas revelou padrões isotópicos distintos entre os complexos, compatíveis com a composição elementar específica de cada sistema e com a presença do centro metálico. Embora os padrões isotópicos não sejam idênticos entre as amostras, a distribuição dos sinais observados é consistente com a ocorrência de múltiplos isótopos naturais do paládio e com diferentes combinações de fragmentação e adutos. Adicionalmente, foram identificados íons fragmentários atribuídos a perdas parciais da cadeia orgânica, típicas de processos de fragmentação em espectrometria de massas de complexos metálicos (vide anexo 9.6).

Em conjunto, os dados de espectrometria de massas corroboram a formação dos complexos de paládio estudados, indicando suas massas moleculares, a presença do metal na estrutura e a integridade das estruturas propostas.

5 ESTUDOS *IN SILICO*

5.1 Predição de espectros de atividade dos complexos

Com a finalidade de direcionar e realizar os experimentos de atividade biológica de maneira mais assertiva, realizou-se uma busca através do servidor online PASS prediction¹⁴⁴, onde o PASS (*Predição de Espectros de Atividade para Substâncias*) é um software projetado como uma ferramenta para avaliar o potencial biológico geral de uma molécula. O PASS fornece previsões simultâneas de muitos tipos de atividade biológica com base na estrutura de compostos orgânicos.

O PASS utiliza relação de estrutura atividade para poder prever as possíveis atividades biológicas para cada composto e apresenta os dados em tabelas com colunas como Pa, Pi e IEP que significam “probabilidade de ser ativo”, “probabilidade de inatividade” e “erro invariante da previsão”, respectivamente. Esses valores variam de 0 a 1 onde quanto mais próximo a 1 maior é a probabilidade de o composto apresentar determinado tipo de atividade. A seleção das atividades considerou relevância farmacológica das atividades sugeridas, priorizando aquelas relacionadas ao perfil terapêutico de interesse — como ação antineoplásica, inibição de urease e atividade antibacteriana — de modo a integrar as previsões computacionais com os ensaios biológicos realizados experimentalmente.

Tabela 6 – Valores de PA e PI do PASS

Substância	Apoptose		Antitumoral		Integridade da membrana bacteriana	
	PA	PI	PA	PI	PA	PI
7	0,787	0,009	0,704	0,025	0,913	0,008
7C	0,998	0,001	0,995	0,003	0,781	0,04
8	0,528	0,036	0,57	0,052	0,842	0,026
8C	0,491	0,042	0,521	0,065	0,715	0,052
9	0,537	0,034	0,512	0,068	0,882	0,016
9C	0,997	0,001	0,979	0,004	0,629	0,068
10	0,786	0,009	0,676	0,03	0,86	0,022
10C	0,796	0,008	0,673	0,036	0,782	0,04
11	0,736	0,012	0,684	0,029	0,873	0,018
11C	0,997	0,001	0,992	0,003	0,596	0,076
12	0,492	0,042	0,558	0,055	0,713	0,053
12C	0,515	0,038	0,555	0,055	0,516	0,098
13	0,5	0,04	0,504	0,07	0,813	0,033
13C	0,208	0,108	0,487	0,076	0,639	0,066
14	0,738	0,012	0,649	0,035	0,781	0,04
14C	0,8	0,008	0,664	0,032	0,588	0,078

Os resultados apresentados na Tabela 6 demonstram que a complexação dos ligantes tem um impacto profundo e multifacetado nas suas propriedades biológicas. A análise comparativa revelou que, para as atividades de apoptose e antitumoral, a complexação é frequentemente uma estratégia eficaz para aumentar a probabilidade de atividade. Este efeito pode estar relacionado à estabilização conformacional, aumento da biodisponibilidade ou melhoria na especificidade de ligação a alvos biológicos relevantes. No entanto, é crucial notar que a complexação nem sempre é benéfica, como evidenciado pela redução da PA em alguns pares, ressaltando a necessidade de uma otimização cuidadosa da estrutura molecular. Por outro lado, para a integridade da membrana bacteriana, a complexação geralmente resulta em uma diminuição da atividade. Esta observação é de particular interesse, pois a diminuição na probabilidade de inativação da membrana não implica necessariamente na ausência de atividade antibacteriana. É possível que os complexos ajam na célula bacteriana por um mecanismo alternativo, que não envolva a desestabilização da membrana, como a inibição de enzimas metabólicas, ação sobre fatores de virulência

ou a interferência na síntese de DNA ou proteínas.

A partir da busca realizada pelo PASS foi possível constatar que os complexos sintetizados apresentariam possível atividade antitumoral, além de indução de apoptose e possível interferência no mecanismo de permeabilidade celular. A partir desses resultados, testes *in vitro* foram realizados a fim de corroborar os dados encontrados. Considerando a incidência de casos de câncer gástrico no mundo e no Brasil e a relevância da infecção por *Helicobacter pylori* como principal fator para ocorrência deste tipo de câncer, os testes *in vitro* foram direcionados para linhagem de célula tumoral gástrica e para a bactéria *H. pylori*.

5.2 Propriedades farmacocinéticas (ADME)

As propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (ADME) foram avaliadas para os complexos usando o servidor do SwissADME e revelaram um perfil característico de metalofármacos, marcado por baixa solubilidade aquosa e, na maioria dos casos, absorção intestinal limitada, com exceção do complexo **10C**, que apresentou previsão de absorção elevada. Esse comportamento está associado ao elevado peso molecular e à natureza lipofílica conferida pela coordenação metálica e pelos ligantes aromáticos, dificultando a solubilização em meio aquoso, mas potencialmente favorecendo a interação com membranas biológicas (tabela 7).

Tabela 7 - Análise e Previsão In Silico das Propriedades Físico-Químicas, Farmacocinéticas (ADMET) e de Drug-Likeness dos Complexos.

	Abs. GI	Subst. Pgp	Inibição					Violação	
			CYP 1A2	CYP2 C19	CYP 2C9	CYP 2D6	CYP 3A4	Lipinski	Veber
7C	baixa	sim	não	não	sim	não	sim	2	0
8C	baixa	sim	não	não	sim	não	não	2	0
9C	baixa	sim	não	não	não	sim	não	2	0
10C	alta	sim	não	não	sim	não	não	1	0
11C	baixa	sim	não	não	não	não	não	2	0
12C	baixa	sim	não	não	não	não	não	2	0
13C	baixa	sim	não	não	não	não	não	2	0
14C	baixa	sim	não	não	sim	não	não	1	0

Os complexos apresentaram múltiplas violações das regras de Lipinski indicando baixa probabilidade de comportamento ideal como pequenas moléculas

orais convencionais. No entanto, todos atenderam à regra de Veber, baseada na contagem de ligações rotacionáveis e na área de superfície polar, o que sugere rigidez estrutural e polaridade moderada, condições favoráveis à permeabilidade passiva. Essa observação evidencia que, apesar das limitações segundo filtros clássicos, os complexos possuem características estruturais que podem permitir atividade biológica, similar ao observado em fármacos antitumorais consolidados que violam Lipinski, como a doxorubicina, que apresenta peso molecular elevado, mas atende Veber e mantém alta eficácia clínica¹⁴⁵.

Em relação à glicoproteína-P (P-gp), a maioria dos complexos foi prevista como substrato dessa bomba de efluxo, o que sugere que, após penetração inicial nas células, parte dos compostos poderia ser eliminada ativamente, reduzindo a biodisponibilidade. Contudo, os valores positivos de biodisponibilidade observados em alguns complexos indicam que propriedades favoráveis de absorção podem coexistir com esse potencial de efluxo. O estudo também avaliou a interação com enzimas do sistema CYP (Citocromo P450), superfamília de hemoproteínas responsáveis pelo metabolismo oxidativo de fármacos e xenobióticos. Entre as isoformas mais relevantes, destacam-se CYP3A4, responsável pelo metabolismo de aproximadamente metade dos fármacos disponíveis, além de CYP2C9, CYP2D6, CYP1A2 e CYP2C19. Observou-se que apenas alguns complexos apresentaram previsão de inibição seletiva, principalmente frente a CYP3A4, CYP2C9 e CYP2D6, enquanto a maioria não apresentou atividade inibitória significativa. Esse perfil sugere que os riscos de interação metabólica seriam restritos e que diferentes complexos podem apresentar comportamento metabólico distinto, conferindo diversidade funcional dentro da série.

Todos os complexos apresentam geometria quadrado planar típica do paládio(II), mantendo constante a arquitetura de coordenação ao longo da série. Essa geometria confere rigidez estrutural, o que ajuda a explicar o cumprimento universal da regra de Veber, mesmo diante de múltiplas violações de Lipinski. Além disso, a analogia com outros metalofármacos de geometria quadrado planar, como a cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, reforça que desvios das regras clássicas de *drug-likeness* (similaridade com fármacos) não impedem atividade biológica, especialmente em contextos antitumorais.

Dentro da série, alguns complexos se destacam por seu potencial farmacocinético. O complexo **10C** destacou-se por apresentar absorção intestinal alta,

menor número de violações de Lipinski e biodisponibilidade, configurando-se como o candidato mais promissor para biodisponibilidade oral. De forma semelhante, o complexo **14C** apresentou valores mais favoráveis de biodisponibilidade e menor número de violações, posicionando-se como candidato relevante. Os complexos **8C** e **12C** chamam a atenção pela boa acessibilidade sintética e menor número de violações em *lead-likeness* (características compatíveis com moléculas modelo para desenvolvimento de fármacos), o que pode facilitar ajustes estruturais futuros. Por outro lado, os complexos **7C** e **9C** mostraram previsão de inibição seletiva frente a isoformas do sistema CYP, característica que pode representar um diferencial farmacológico dentro da série, embora não generalizado.

Em síntese, esta análise *in silico* sugere que a série de complexos apresenta desafios típicos de metalofármacos, como insolubilidade e potencial de efluxo por P-gp, mas também exibe características promissoras, incluindo conformidade com a regra de Veber, baixa inibição enzimática generalizada e perfis distintos entre os compostos. Entre eles, **10C** e **14C** se destacam como candidatos mais promissores, enquanto outros, como **7C** e **9C**, podem oferecer interesse farmacológico complementar devido à interação enzimática seletiva. Esses achados fornecem uma visão abrangente da diversidade farmacocinética da série e reforçam que, mesmo com violações das regras clássicas de *drug-likeness*, é possível identificar compostos com potencial biológico relevante, comparável a fármacos antitumorais consolidados.

6 ESTUDOS *IN VITRO*

6.1 Citotoxicidade dos ligantes e complexos

Os resultados evidenciaram atividade citotóxica dos complexos, com valores de IC₅₀ que indicam um perfil de resposta diferenciado em relação aos ligantes livres e à cisplatina. Os valores de IC₅₀ e a seletividade dos complexos para células tumorais (AGS) frente a células normais (fibroblastos L-929) são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Citotoxicidade para complexos, ligantes e cisplatina

Substância	IC ₅₀ (Ligante) (µM)		IS [#]	IC ₅₀ (Complexo) (µM)		IS [#]
	AGS	L-929		AGS	L-929	
7 (7C)	159,55 ± 2,64	404,55 ± 5,64	2,54	11,94 ± 0,9*	23,07 ± 1,0*	1,9 [#]

8 (8C)	74,22 ± 5,52	175,40 ± 4,21	2,36	18,93 ± 1,0*	37,44 ± 1,2*	2 [#]
9 (9C)	34,48 ± 1,96	63,70 ± 3,8	1,85	6,38 ± 0,6*	25,56 ± 1,2*	4 [#]
10 (10C)	42,20 ± 0,04	120,03 ± 2,32	2,84	17,86 ± 1,0*	34,91 ± 1,3*	2 [#]
11 (11C)	25,34 ± 0,13	95,55 ± 0,1	3,77	14,74 ± 0,9*	49,91 ± 1,5*	3,4 [#]
12 (12C)	21,90 ± 0,8	105,92 ± 1,4	4,84	20,99 ± 1,1*	110,30 ± 1,8*	5,3 [#]
13 (13C)	28,70 ± 4,39	303,67 ± 2,89	10,6	11,50 ± 0,9*	36,43 ± 1,3*	3,2 [#]
14 (14C)	135,74 ± 3,76	43,18 ± 2,88	0,32	15,93 ± 0,8*	44,96 ± 1,5*	2,8 [#]
Cisplatina	15,06 ± 0,2	13,74 ± 1,8	0,61	---	---	0,6

IC₅₀ - índice citotóxico; IS - índice de seletividade

*p < 0,0001 comparado ao valor de IC₅₀ da cisplatina

*p < 0,05 comparado entre os valores dos ligantes e complexos.

#p < 0,05 comparado ao IS da cisplatina

Com base nos resultados apresentados, observa-se que os complexos de paládio mostraram, de modo geral, maior atividade citotóxica frente às duas linhagens celulares em comparação aos seus respectivos ligantes. A análise estatística (ANOVA, $p < 0,05$) confirmou diferenças significativas entre os valores de IC₅₀ dos ligantes e dos complexos em ambas as linhagens, indicando que a coordenação metálica ao Pd(II) altera o perfil biológico das moléculas.

Os complexos apresentaram valores de IC₅₀ menores frente à linhagem tumoral AGS, sugerindo maior potência antitumoral. Entretanto, essa maior potência não se traduziu necessariamente em aumento da seletividade (IS). Em diversos casos, a coordenação metálica ampliou a citotoxicidade também para células normais (L-929), o que reduziu o ganho relativo de seletividade.

A complexação ao paládio(II) não apenas amplia a eficácia biológica em relação ao ligante livre, mas também orienta o mecanismo de ação, cuja natureza e intensidade dependem fortemente das características eletrônicas e estéricas do ligante precursor⁶⁷. Diversos autores relatam que os compostos de coordenação de paládio podem induzir danos ao DNA por mecanismos distintos daqueles observados para complexos de Pt(II), como a cisplatina. Essa diferença de comportamento decorre, em grande parte, da maior labilidade do centro metálico e da arquitetura do ligante, fatores que modulam a afinidade e o modo de ligação às biomoléculas. Assim, a coordenação ao metal altera profundamente as interações do sistema com o DNA e com proteínas ou enzimas, tornando os derivados metálicos frequentemente mais ativos que o ligante original^{146,147}.

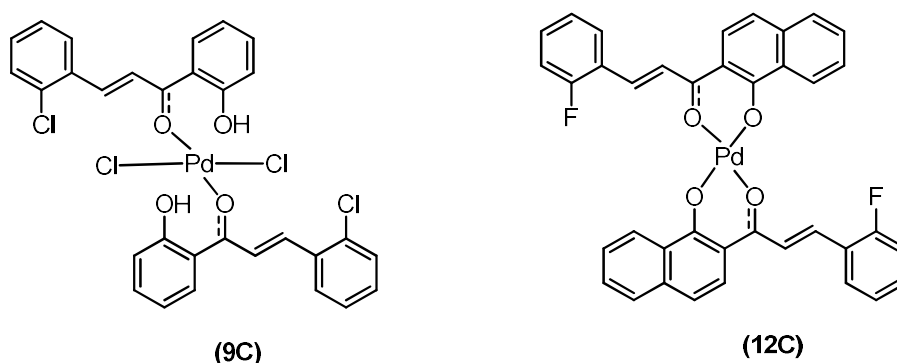
Como consequência, o mecanismo de ação dos complexos de paládio(II) revela-se multifacetado e passível de ajuste por modificações estruturais no ligante.

Entre os processos biológicos envolvidos destacam-se as interações com o DNA, a ativação intrínseca e extrínseca de vias apoptóticas, o bloqueio da progressão do ciclo celular e a indução de superprodução de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), responsáveis por intensos processos oxidativos em biomoléculas essenciais¹⁴⁸.

Logo, analisou-se os complexos sintetizados com a finalidade de observar se as mudanças estruturais exercem influência na atividade citotóxica e na seletividade. Complexos com o mesmo tipo de substituinte, mas núcleos aromáticos diferentes, apresentam diferenças notáveis nos parâmetros biológicos, indicando que a extensão da conjugação e o volume estérico do sistema aromático modulam diretamente o perfil farmacológico.

Todos os complexos de paládio analisados mostraram atividade significativamente diferente da cisplatina (ANOVA, $p < 0,0001$), evidenciando que a complexação de paládio modula tanto a potência quanto a seletividade das moléculas. Embora a cisplatina apresente IC_{50} baixo para AGS (15,06 μM), seu índice de seletividade é limitado ($IS = 0,61$), indicando toxicidade semelhante para células normais. Em contraste com a cisplatina, os complexos mantiveram IC_{50} comparáveis ou inferiores para AGS e apresentaram toxicidade menores para L-929, refletindo uma melhor seletividade. Por exemplo, **9C** apresentou IC_{50} de 6,38 μM para AGS e $IS = 4,01$, enquanto **12C** um IS elevado (5,26) (Figura 33), indicando que a formação do complexo pode otimizar a discriminação entre células tumorais e normais quando comparados ao padrão.

Figura 33 - Estruturas representativas dos complexos **9C** e **12C**

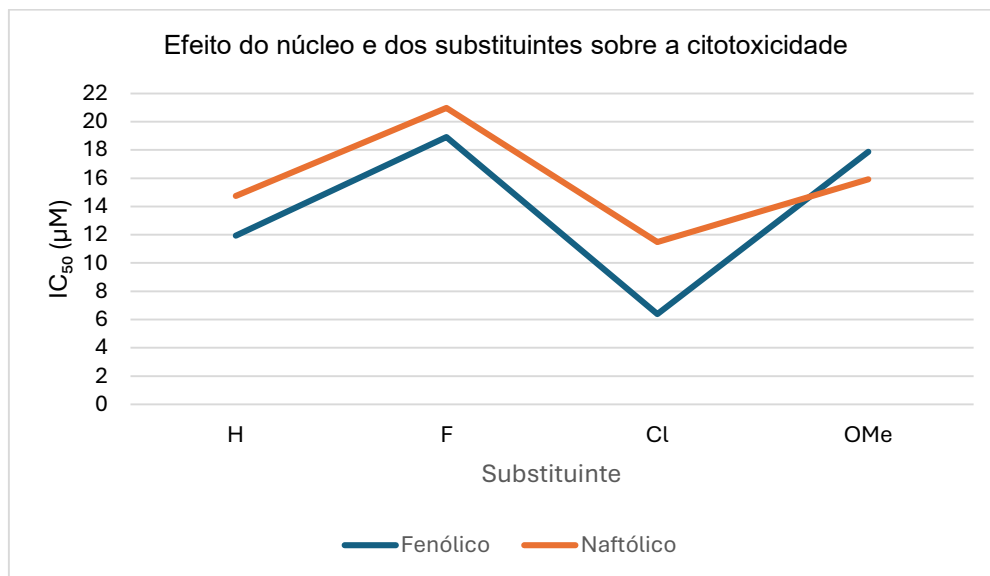


Fonte : próprio autor

A influência conjunta do núcleo aromático (fenólico ou naftólico) e dos substituintes eletrônicos (H, F, Cl, OMe) sobre a citotoxicidade foi avaliada por meio

de análise de interação, como pode ser observado no Gráfico 1.

Gráfico 1- Efeito do núcleo e dos substituintes sobre a citotoxicidade (IC_{50} , μM) dos complexos de Pd(II) frente à linhagem AGS.



Fonte : Dados da pesquisa

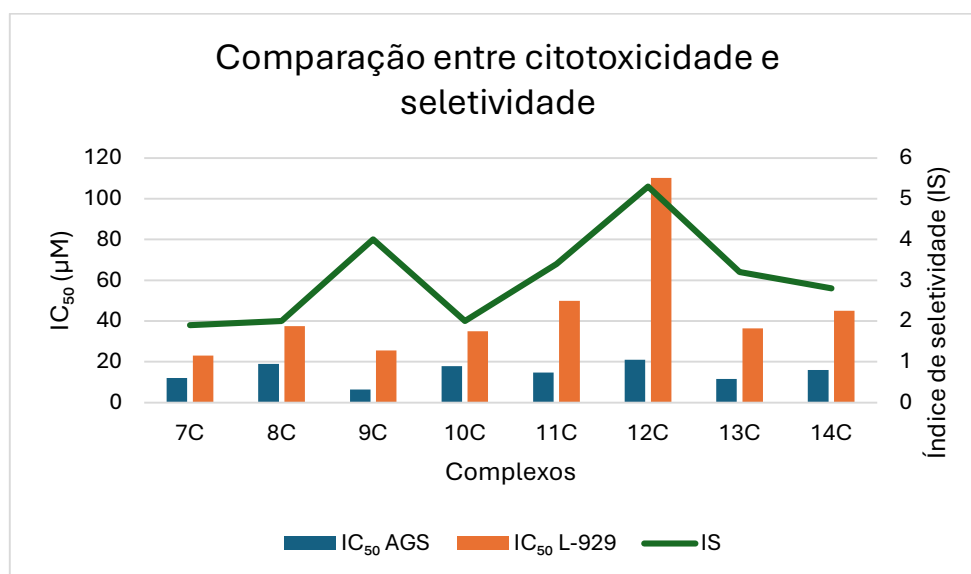
O gráfico 1 evidencia que o núcleo fenólico confere maior atividade citotóxica em quase todos os substituintes avaliados, enquanto o núcleo naftólico resulta em valores de IC_{50} mais elevados e comportamento mais heterogêneo. Essa diferença pode estar associada à maior conjugação π do sistema naftólico, que reduz a densidade eletrônica disponível para coordenação e, conseqüentemente, a reatividade frente a biomoléculas¹⁴⁹.

Entre os substituintes, os grupos eletronegativos (Cl, F) mostraram efeito positivo sobre a potência, possivelmente pela retirada de densidade eletrônica do sistema aromático, o que aumenta a acidez dos sítios doadores e fortalece as interações metal–ligante–biomolécula. O que se observa no complexo **9C** (fenólico, Cl) o mais ativo da série. Por outro lado, os substituintes doadores de elétrons, como a metoxila, exibiram efeito variável, reduzindo a seletividade em alguns casos (**14C**, IS = 2,8) (Figura 34).

Esses resultados indicam que substituintes retiradores moderados de elétrons, em combinação com o núcleo fenólico, favorecem a obtenção de complexos mais potentes e seletivos, enquanto sistemas altamente conjugados ou com substituintes fortemente doadores podem reduzir a especificidade celular.

A relação entre a citotoxicidade (IC_{50}) e seletividade (IS) dos complexos de Pd(II) pode ser observada no gráfico 2.

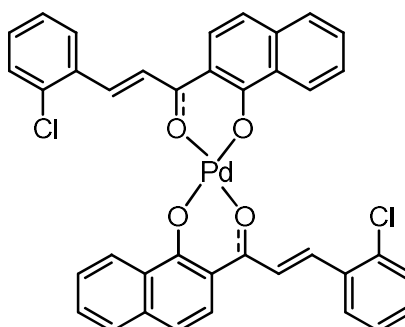
Gráfico 2 - Comparação entre potência (IC_{50}) e seletividade (IS) dos complexos de Pd(II) frente às linhagens AGS e L-929.



Fonte : Dados da pesquisa

O gráfico reforça que a redução do IC_{50} não implica necessariamente aumento do IS. O complexo **13C** (Figura 34), por exemplo, apresentou expressiva redução do IC_{50} em relação ao ligante (28,70 \rightarrow 11,50 μ M), mas com queda do IS (10,6 \rightarrow 3,2), refletindo uma ampliação da toxicidade geral. Em contraste, o complexo **9C** manteve alta potência e seletividade (IS = 4,0), configurando-se como o composto mais promissor da série.

Figura 34- Estrutura do complexo **13C**



Fonte : próprio autor

De forma semelhante, **12C** preservou seletividade elevada (IS = 5,3) com potência comparável à cisplatina, indicando que o equilíbrio entre caráter eletrônico e polaridade da molécula pode otimizar a discriminação celular. Esses resultados sugerem que o aumento da potência pela coordenação metálica precisa ser

acompanhado por ajustes estruturais finos para preservar a seletividade, ressaltando a importância de estratégias de design racional no desenvolvimento de metalofármacos.

De modo geral, os dados demonstram que a atividade citotóxica e a seletividade dos complexos são influenciadas por interação do núcleo aromático e seus substituintes. O núcleo fenólico, menos conjugado, favorece a reatividade e o acoplamento metal-ligante, enquanto os substituintes eletronegativos moderados (Cl, F) intensificam a interação com biomacromoléculas tumorais. Em contrapartida, o núcleo naftólico e os substituintes doadores de elétrons tendem a aumentar a lipofilicidade e reduzir a especificidade celular.

Entre os compostos avaliados, o complexo **9C** destaca-se como o mais promissor, combinando baixa IC_{50} (6,38 μ M), alto IS (4,0) e estrutura otimizada (núcleo fenólico + substituinte Cl), o que sugere o melhor equilíbrio entre eficácia antitumoral e segurança celular dentro da série estudada. Esses achados demonstram que a simples redução do IC_{50} não garante seletividade, e que o desempenho biológico ideal resulta de ajustes coordenados entre eletronegatividade, conjugação e polaridade, abrindo caminho para o desenvolvimento racional de novos complexos de Pd(II) com potencial antitumoral aprimorado.

6.2 Docking molecular do sítio ativo da proteína Bcl-2

Considerando os resultados obtidos na predição *in silico* pela plataforma PASS, aliados aos dados experimentais *in vitro*, levantou-se a hipótese de que os complexos de paládio(II) atuem sobre alvos envolvidos na regulação das vias apoptóticas. Esses achados sugerem que a citotoxicidade observada pode estar relacionada à modulação de proteínas-chave do processo de morte celular programada.

A morte celular é um processo fundamental e crucial para o desenvolvimento, manutenção dos tecidos e saúde geral de organismos multicelulares. Envolve tanto a proliferação quanto a eliminação celular para manter o equilíbrio fisiológico em organismos adultos. Esse processo serve para remover células indesejadas durante a metamorfose, embriogênese e renovação dos tecidos, e em resposta a ameaças patogênicas^{150,151}. Existem dois mecanismos primários de morte celular: morte celular programada e necrose.

A morte celular programada ou apoptose constitui um dos mecanismos mais relevantes e desejáveis na ação de agentes antineoplásicos, uma vez que possibilita a eliminação controlada e seletiva de células tumorais, minimizando efeitos inflamatórios e danos colaterais aos tecidos saudáveis.

A desregulamentação da apoptose celular é um evento-chave na carcinogênese gástrica induzida por *H. pylori*, sendo esta bactéria capaz de manipular a apoptose em células epiteliais gástricas para favorecer a sobrevivência e expansão do tumor¹⁵². O papel duplo de *H. pylori* na modulação da apoptose depende, portanto, do estágio da infecção, com efeitos pró-apoptóticos mais proeminentes durante a infecção inicial e mecanismos anti-apoptóticos se tornando dominantes à medida que a doença progride em direção à malignidade¹⁵³.

H. pylori regula o nível apoptótico em células epiteliais gástricas por meio de múltiplas vias regulatórias, uma delas são as proteínas da família Bcl-2, aumentando a expressão de moléculas anti-apoptóticas, incluindo Bcl-2/Bcl-xL, enquanto reduz moléculas pró-apoptóticas como Bax/Bak¹⁵⁴.

A apoptose pode ser desencadeada por duas vias principais: a extrínseca e a intrínseca. A via extrínseca é ativada por sinais externos, mediada pela ligação de ligantes específicos a receptores de morte localizados na membrana celular, o que leva à ativação inicial da caspase-8. Já a via intrínseca, também conhecida como mitocondrial, é regulada pela família de proteínas Bcl-2 e desencadeada por estímulos internos, como danos ao DNA ou estresse oxidativo, resultando na liberação de citocromo c pela mitocôndria e ativação da caspase-9. Ambas as rotas convergem para a ativação das caspases efetoras, responsáveis pelas alterações morfológicas e bioquímicas características da morte celular programada¹⁵⁵.

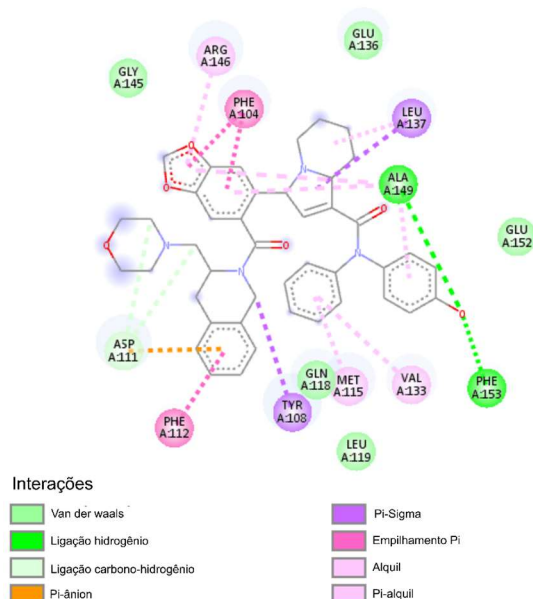
A superexpressão da Bcl-2 em diversos tipos de câncer está associada à resistência e à morte celular programada, representando, assim, um dos principais mecanismos de evasão tumoral frente a quimioterápicos convencionais.

Diante desse cenário, compostos capazes de interagir com o sulco hidrofóbico BH3 da Bcl-2 apresentam potencial terapêutico, pois podem competir com proteínas pró-apoptóticas endógenas, liberando Bax/Bak e reativando a cascata apoptótica mitocondrial. Assim, a realização de estudos de *docking* molecular no sítio ativo da Bcl-2 justifica-se como uma estratégia essencial para compreender as possíveis interações em nível atômico e prever a afinidade dos derivados sintetizados. Essa abordagem permite correlacionar dados experimentais de citotoxicidade com a

modulação de vias moleculares específicas, fornecendo indícios do mecanismo de ação dos complexos avaliados e contribuindo para a seleção racional de candidatos promissores no desenvolvimento de novas terapias anticâncer.

As análises dos modos de ligação no sítio ativo da proteína Bcl-2 foram realizadas por meio de cálculos de *docking* molecular. O complexo cristalográfico utilizado para realizar este estudo foi obtido no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB) com código 6GL8¹⁵⁶. O ligante cristalográfico encontrado no sítio ativo foi o S55746 que para inibir a enzima realiza interações com os aminoácidos de ALA149, PHE153/112/104, TYR108, MET115, GLN118, VAL133, LEU137/119 (Figura 35), os quais auxiliam, assim, a ancoragem no sítio ativo relatado, conforme Casara et al.¹⁵⁶.

Figura 35 – Principais interações do S55746 em 2D no sítio ativo da Bcl-2 (PDB:6GL8).



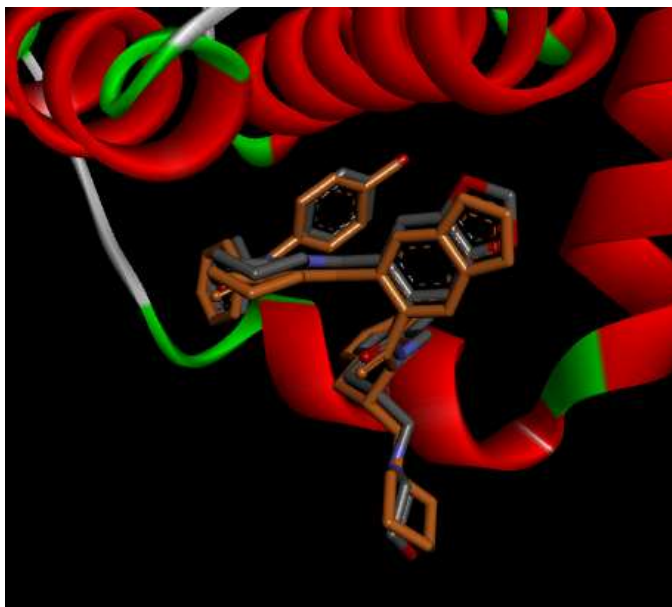
Fonte : Dados da pesquisa

Os cálculos de *docking* foram realizados em uma esfera de 10 Å centrada no ligante do complexo cristalográfico, utilizando a função de escore ChemScore com 30 repetições por molécula, a qual apresentou melhor reprodução da conformação bioativa. As poses obtidas foram analisadas visualmente.

Para validação do *docking*, o *redocking* foi realizado a fim de avaliar a acurácia

do programa em reproduzir a conformação bioativa. As poses de *docking* obtidas nos cálculos foram comparadas com a conformação bioativa a fim de obter o RMSD. A média de RMSD obtida foi de 4,069 Å, e o menor RMSD encontrado foi de 0,5932 Å (Figura 36). De modo geral, valores de RMSD $\leq 2,0$ Å indicam boa concordância entre a conformação experimental e a predita, validando o protocolo empregado e garantindo que o algoritmo seja capaz de reproduzir corretamente a orientação do ligante no sítio ativo¹⁵⁷. Assim, o método utilizado mostrou-se adequado para a investigação das interações entre os complexos de paládio(II) e o alvo molecular selecionado (Bcl-2)

Figura 36 - Validação do modelo de *docking* desenvolvido por *redocking* (RMSD=0,5932 Å) no sítio ativo da Bcl-2 PDB:6GL8. Ligante cristalográfico representado com átomos de carbono em marrom e a pose de *docking* com estrutura representada por átomos em cinza.

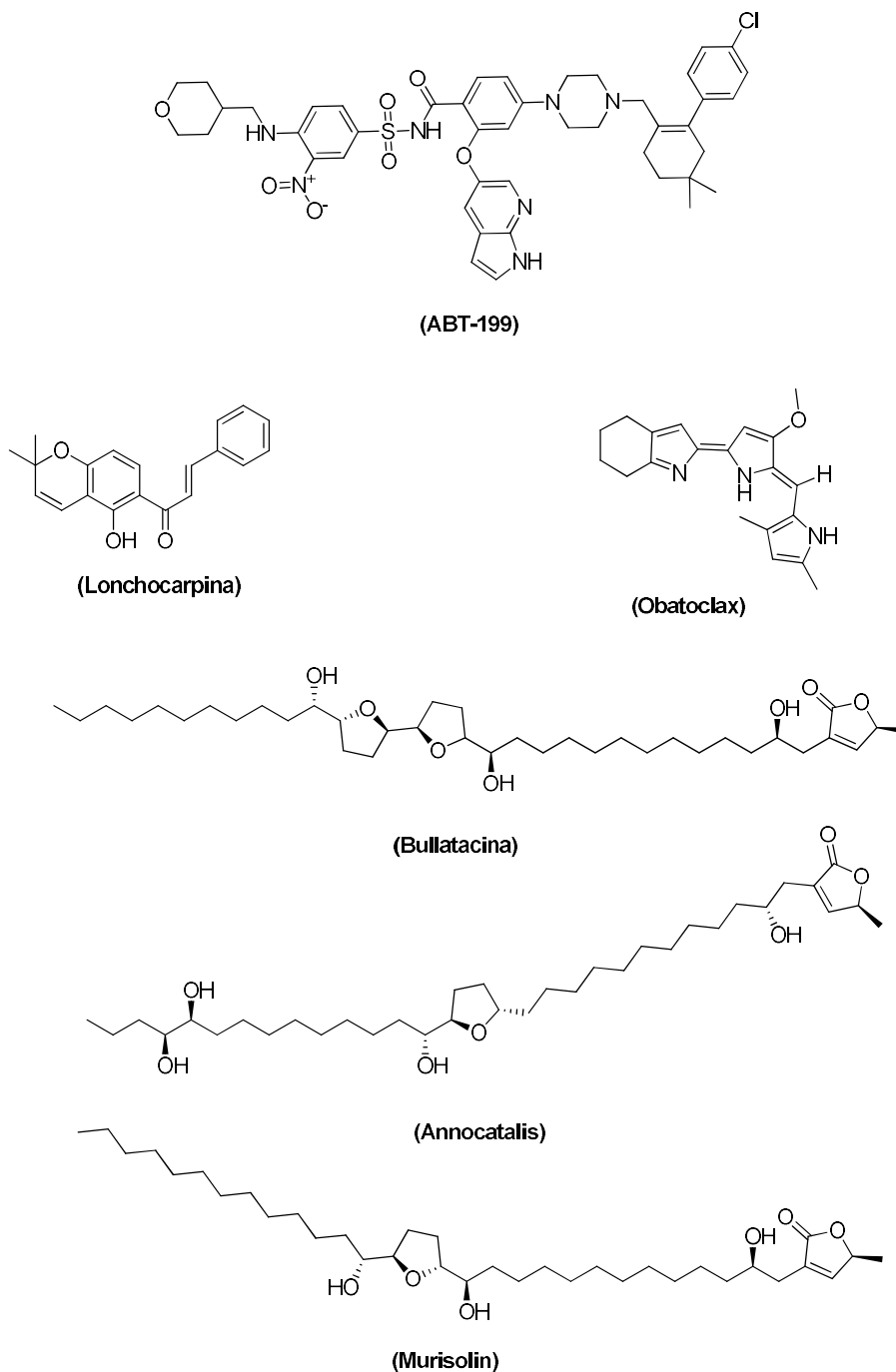


Fonte : Dados da pesquisa

Com o objetivo de investigar a possibilidade de outras interações no sítio ativo da Bcl-2, estudos prévios também foram considerados. Souers et al. relataram que a ABT-199 (Figura 37) estabelece uma ligação de hidrogênio com o resíduo ASP103, considerado crucial para a seletividade do inibidor, além de interações hidrofóbicas

com PHE104 e GLY101, que estabilizam o sulco hidrofóbico no qual o ligante se encaixa¹⁵⁸. CHEN et al. relataram que a lonchocarpina (Figura 37), realiza interações hidrofóbicas com Phe101, Phe109, Met112, Val130, Leu134, Ala146, Phe150 e Val153, além de uma interação π - π com Arg143¹⁵⁹. Por sua vez, MOHAMAD ROSDI et al. demonstraram que compostos bioativos (Figura 37) de *Annona muricata* Linn atuam principalmente através de interações hidrofóbicas com Phe101, Met112, Val130 e Leu134, sem participação de ligações de hidrogênio¹⁶⁰.

Figura 37 - Estrutura química do ABT-199, lonchocarpina e de compostos bioativos da *Annona muricata* Linn.



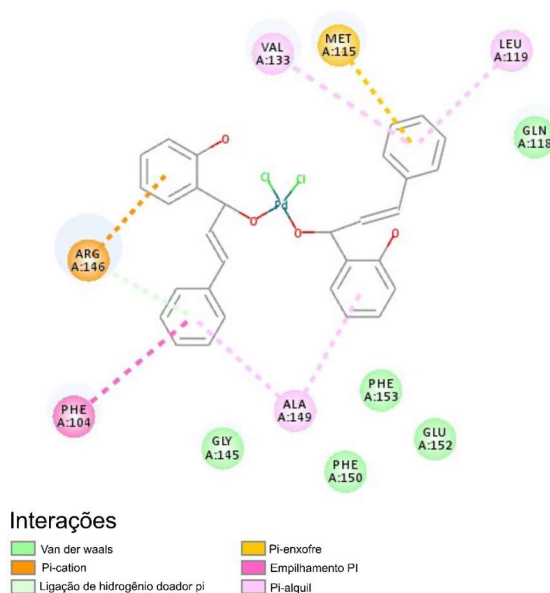
Fonte : Souers et al., CHEN et al. e MOHAMAD ROSDI et al.

Os possíveis modos de ligação dos complexos no sítio ativo da Bcl-2 foram analisados a partir das poses obtidas nos cálculos de docking. Os resultados revelaram que os complexos de paládio(II) são capazes de se acomodar de forma estável no sítio ativo, estabelecendo interações consistentes com os resíduos críticos da proteína, de modo semelhante ao ligante cristalográfico S55746 e aos compostos

de referência. Em especial, destacam-se contatos recorrentes com **Phe104**, **Met115**, **Leu119**, **Val133**, **Ala149** e **Phe153**, os quais também participam da ancoragem do ligante e são reconhecidos como determinantes para a estabilidade do complexo inibitório. Além disso, interações adicionais com **Arg146**, **Gln118**, **Glu136** e **Tyr108** foram observadas em alguns complexos, reforçando a combinação de forças hidrofóbicas, π - π , π -sulfur e polares que caracterizam o sítio de ligação da Bcl-2. Esses achados indicam que os complexos de paládio podem mimetizar, em parte, o padrão de reconhecimento do S55746, sustentando seu potencial como moduladores da proteína e possíveis indutores da via apoptótica intrínseca.

O complexo **7C** (Figura 38) apresenta ancoragem polar via Arg146 com o grupo carbonílico do ligante, enquanto Met115 interage com o anel aromático por π -sulfur. Ligações hidrofóbicas envolvendo Phe104, Leu119, Val133, Ala149 e Phe153 estabilizam os anéis aromáticos, espelhando parcialmente o padrão observado para S55746. Gln118 e Glu152 contribuem com contatos polares secundários.

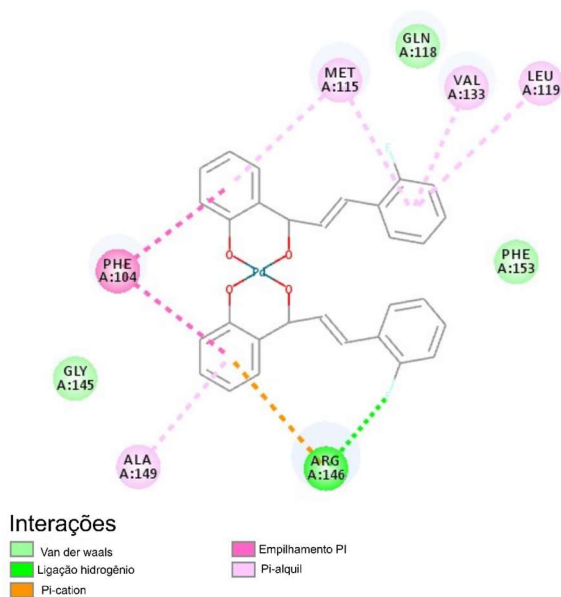
Figura 38 - Principais interações do complexo **7C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2



Fonte : Dados da pesquisa

Já o complexo **8C** (Figura 39) mantém a ponte de hidrogênio com Arg146 e extensa rede hidrofóbica (Phe104, Ala149, Met115, Val133, Leu119, Phe153), reproduzindo de forma equilibrada o padrão dos ligantes padrão.

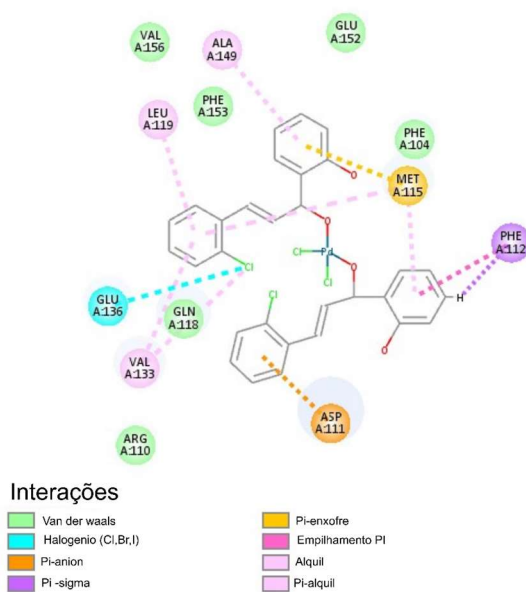
Figura 39 - Principais interações do complexo **8C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2



Fonte : Dados da pesquisa

Para o complexo **9C** (Figura 40) observa-se ligação hidrogênio com Asp111 e interação indireta via Glu136 através do cloro coordenado. Contatos hidrofóbicos com Phe104, Phe112, Phe153, Leu119, Val133 e Ala149 criam um “bolso” aromático robusto. Met115 também contribui com π -sulfur.

Figura 40 - Principais interações do complexo **9C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2

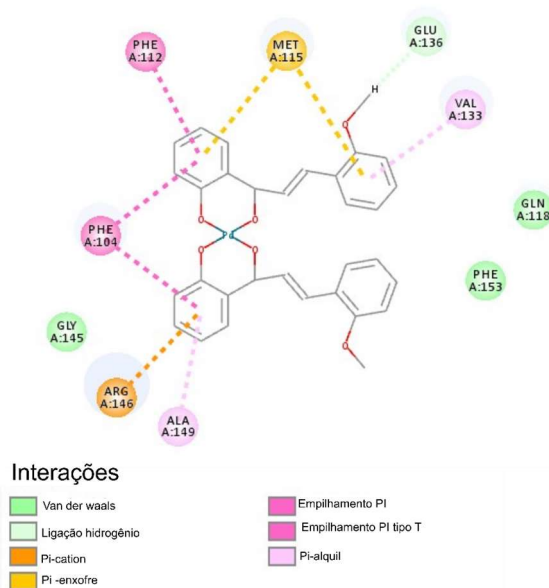


Fonte : Dados da pesquisa

No complexo **10C** (Figura 41) observa-se interação com a Arg146 e contatos hidrofóbicos com Phe104, Phe112, Val133 e Ala149. Met115 mantém interação π -

sulfur e Glu136 participa de forma secundária.

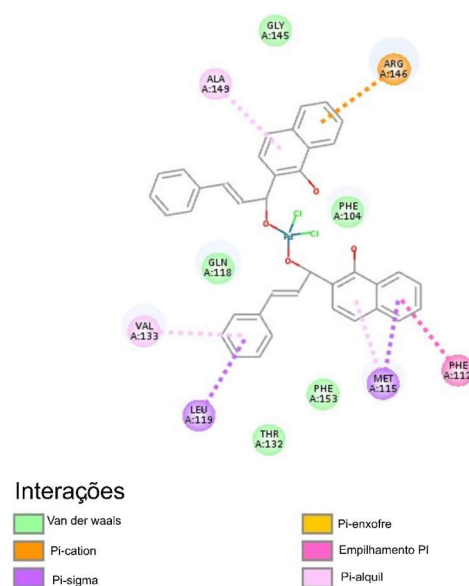
Figura 41 - Principais interações do complexo **10C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2



Fonte : Dados da pesquisa

No complexo **11C** (Figura 42) observa-se interação do tipo pi com Arg146 e rede hidrofóbica envolvendo Phe104, Phe112, Met115, Leu119, Val133 e Ala149. Thr132 e Gln118 podem formar contatos polares secundários.

Figura 42 - Principais interações do complexo **11C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2

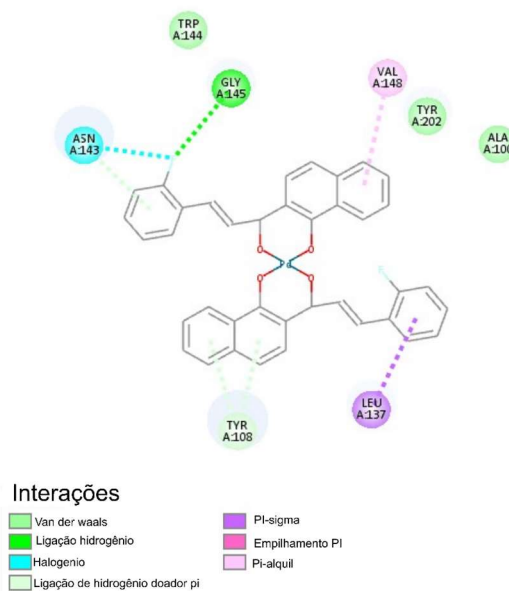


Fonte : Dados da pesquisa

Para o complexo **12C** (Figura 43) observa-se interações de hidrogênio duplas com Asn143 e Gly145, além de contato adicional com Tyr108. Hidrofobicidade é

conferida por Val148 e Leu137, e o substituinte fluorado participa de interações hidrofóbicas.

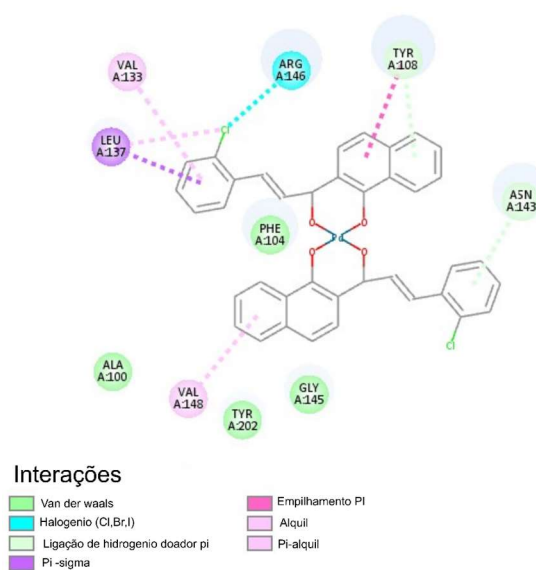
Figura 43 - Principais interações do complexo **12C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2



Fonte : Dados da pesquisa

Observa-se que o complexo **13C** (Figura 44) apresenta interações hidrofóbicas (Val133, Leu137, Val148, Phe104, Tyr202) e pontes de hidrogênio/polares (Tyr108, Asn143, Arg146), reproduzindo o perfil típico da Bcl-2.

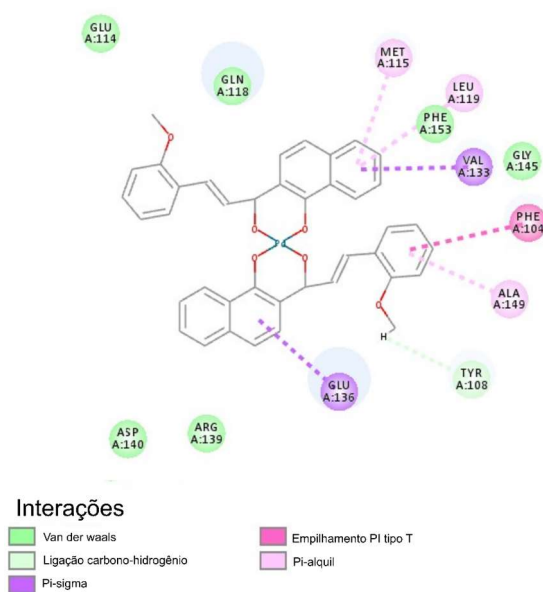
Figura 44 - Principais interações do complexo **13C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2



Fonte : Dados da pesquisa

Por fim observou-se que o complexo **14C** (Figura 45) apresenta interações π - π ou π -alquil com Phe104 e Phe153, contatos Alquil/hidrofóbicos com Met115, Leu119 e Val133, além de interações com Ala149 e Glu136. Este padrão evidencia a formação de uma rede combinada hidrofóbica e polar, coerente com os ligantes padrão.

Figura 45 - Principais interações do complexo **14C** em 2D no sítio ativo da Bcl-2



Fonte : Dados da pesquisa

Sendo assim destaca-se que os complexos estabeleceram interações-chave consistentes com os ligantes cristalográficos, destacando-se Arg146 e os resíduos hidrofóbicos Phe104, Phe112, Met115, Leu119, Val133, Ala149 e Phe153 como elementos essenciais para o reconhecimento do sítio ativo. Esses resultados indicam que os complexos de paládio podem ocupar de forma estável o sítio ativo da Bcl-2, estabelecendo uma rede de contatos hidrofóbicos, π - π e polares que sustentam seu potencial como moduladores da proteína. Considerando que a inibição da Bcl-2 compromete a sua função anti-apoptótica, é possível que a indução de morte celular associada à ação desses complexos seja a apoptose.

6.3 Avaliação da atividade anti-*H. Pylori*

Tendo em vista que 75% dos adenocarcinomas gástricos há o envolvimento de *H. pylori*¹⁶¹, realizou-se teste com os ligantes e complexos frente à esta bactéria. Os resultados são apresentados na tabela 9, onde é possível observar que os complexos apresentaram atividade significativa frente à *H. pylori*, com valores de CIM variando

entre 1-16 µg/mL, além apresentarem atividade bactericida.

Tabela 9 – Atividade anti-*H. pylori* dos Ligantes e Complexos determinada pela CIM e CBM

Substância	(Ligante) µg/mL (µM)		(Complexo) µg/mL (µM)	
	CIM	CBM	CIM	CBM
7 (7C)	16(71,35)	16(71,35)	4(6,39)	4(6,39)
8 (8C)	4(16,51)	8(33,02)	2(3,40)	2(3,40)
9 (9C)	2 (7,73)	2(7,73)	1(1,44)	1(1,44)
10 (10C)	4(15,73)	4(15,73)	4(6,53)	4(6,53)
11 (11C)	4(14,58)	8(29,19)	4(5,51)	4(5,51)
12 (12C)	2(6,84)	2(6,84)	1(1,45)	8(11,61)
13 (13C)	8(25,91)	8(25,91)	4(5,54)	4(5,54)
14 (14C)	8(26,29)	16(52,57)	1(1,40)	2(2,80)
Amoxicilina	0,0625(0,17)	0,125(0,34)	--	--

De modo geral, os complexos apresentaram um perfil de atividade antimicrobiana distinto em relação aos ligantes livres, evidenciada pela redução das CIM e CBM, indicando que a complexação com paládio potencializa a interação com as células bacterianas e aumenta a eficácia antimicrobiana.

Tal comportamento pode ser compreendido à luz dos efeitos eletrônicos e estruturais introduzidos pela coordenação metálica, que ampliam o espectro de ação e modulam diferentes alvos biológicos.

A incorporação do centro metálico Pd(II) confere aos complexos uma capacidade ampliada de interação com microrganismos como *Helicobacter pylori*, uma vez que íons de transição podem interferir em múltiplas vias críticas do metabolismo bacteriano. Entre os mecanismos envolvidos destacam-se a inibição de enzimas metalo-dependentes, o desequilíbrio redox provocado pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e o comprometimento da integridade de membranas e do DNA bacteriano. No caso específico de *H. pylori*, que depende fortemente da urease (Ni²⁺-dependente) para sobreviver em meio ácido, o Pd(II) pode competir com o níquel no sítio ativo dessa enzima, reduzindo sua atividade e dificultando a neutralização do pH gástrico. Assim, a presença do metal interfere diretamente em vias metabólicas essenciais, levando à perda de homeostase e consequente morte celular bacteriana ^{135,162–164}.

Quando coordenado à chalcona, observa-se um efeito sinérgico entre o metal

e o ligante orgânico. O Pd(II) atua como um centro de ativação eletrônica, polarizando o grupo carbonílico e ampliando o caráter eletrofílico da molécula, enquanto o sistema α,β -insaturado da chalcona mantém sua capacidade de reagir com grupos nucleofílicos de proteínas bacterianas, como tióis e aminas. Essa combinação favorece interações múltiplas com alvos celulares — como enzimas urease, proteínas redox e DNA bacteriano — e aumenta a lipofilicidade, facilitando a difusão através da membrana. Diversos estudos relatam que complexos metálicos com chalconas ou ligantes correlatos apresentam atividade antibacteriana superior à dos ligantes livres, principalmente para Pd(II), Cu(II) e Ag(I), o que é atribuído à maior geração de EROs, inibição enzimática e perturbação de membranas^{33,135,164}. Assim, os resultados sugerem que a coordenação ao Pd(II) amplia o espectro e a potência antimicrobiana dos derivados de chalcona, permitindo múltiplas vias de ação que justificam a inibição observada frente à *H. pylori*.

Entre os complexos com núcleo fenólico (**7C–10C**), **7C** apresentou CIM e CBM de 4 $\mu\text{g/mL}$, quatro vezes menores que o ligante correspondente (16 $\mu\text{g/mL}$), enquanto **8C** reduziu seus valores de 4–8 $\mu\text{g/mL}$ para 2 $\mu\text{g/mL}$ nos complexos. O complexo **9C** destacou-se como o mais ativo entre os fenólicos, com CIM e CBM de 1 $\mu\text{g/mL}$ frente a 2 $\mu\text{g/mL}$ nos ligantes, indicando potente efeito inibitório e bactericida. Já **10C** manteve valores iguais de CIM e CBM em ligante e complexo (4 $\mu\text{g/mL}$), sugerindo que a complexação não alterou significativamente a atividade nesse caso.

Para os complexos com núcleo naftólico (**11C–14C**), os resultados foram mais heterogêneos. O complexo **11C** apresentou CIM e CBM de 4 $\mu\text{g/mL}$, com redução parcial em relação aos ligantes (CIM 4 $\mu\text{g/mL}$, CBM 8 $\mu\text{g/mL}$). O complexo **12C** mostrou CIM de 1 $\mu\text{g/mL}$, porém CBM de 8 $\mu\text{g/mL}$, indicando forte efeito inibitório, mas menor bactericida imediato. O complexo **13C** apresentou CIM e CBM de 4 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando aumento da atividade frente ao ligante (8 $\mu\text{g/mL}$). O complexo **14C** destacou-se como o mais potente entre os naftólicos, com CIM de 1 $\mu\text{g/mL}$ e CBM de 2 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando alta eficácia antimicrobiana mesmo em comparação aos ligantes correspondentes, que apresentavam CIM de 8 $\mu\text{g/mL}$ e CBM de 16 $\mu\text{g/mL}$.

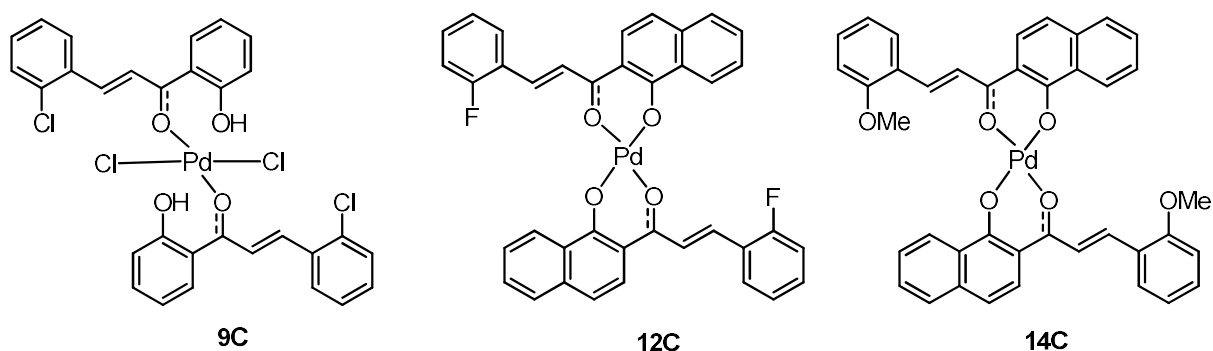
A comparação com a amoxicilina, antibiótico de referência, evidencia que, embora esta apresente CIM e CBM extremamente baixos (0,0625 e 0,125 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), os complexos de paládio demonstram atividade relevante. Em termos absolutos, a amoxicilina é mais potente; contudo, observa-se aumento expressivo na taxa de resistência de *H. pylori* a esse fármaco em diferentes regiões

do mundo, atribuída principalmente a mutações no gene que codifica a proteína de ligação à penicilina (PBP1A), reduzindo a afinidade pelo antibiótico, além da possível expressão de enzimas β -lactamases, bombas de efluxo e formação de biofilmes, que limitam sua eficácia^{102,165,166}.

Assim, a atividade observada para os complexos de Pd(II) torna-se particularmente relevante, uma vez que esses compostos possivelmente atuam por mecanismos distintos dos β -lactâmicos, o que os torna menos suscetíveis aos mesmos processos de resistência que comprometem a eficácia da amoxicilina. Dessa forma, os resultados obtidos reforçam o potencial desses complexos como alternativas terapêuticas promissoras frente a cepas de *H. pylori* resistentes aos antibióticos convencionais.

A análise detalhada dos complexos mais ativos (**9C**, **12C** e **14C**) (Figura 46) evidencia que, embora todos apresentem CIM igual a 1 $\mu\text{g/mL}$, a atividade bactericida (CBM) é modulada tanto pela natureza do substituinte quanto pela geometria de coordenação.

Figura 46 - Estrutura dos complexos mais ativos frente *H. pylori*



Fonte: próprio autor

O complexo **9C**, com núcleo fenólico e dois átomos de cloro não coordenados, apresentou CBM igual à CIM (1 $\mu\text{g/mL}$), indicando ação bactericida eficiente e próxima da capacidade inibitória. A preservação dos átomos de cloro pode favorecer interações lipofílicas ou com alvos bacterianos específicos, diferenciando seu comportamento dos demais complexos. O complexo **12C**, com núcleo naftólico e substituinte com átomo de flúor, manteve CIM baixa, mas apresentou CBM elevada (8 $\mu\text{g/mL}$), sugerindo que, embora iniba o crescimento, necessita de maior concentração para efeito bactericida. Esse comportamento pode estar relacionado ao caráter fortemente eletronegativo do flúor, que reduz a densidade eletrônica do anel aromático e a lipofilicidade global do complexo, limitando sua difusão passiva através da membrana

bacteriana. Além disso, a menor polarizabilidade do substituinte fluorado pode enfraquecer interações hidrofóbicas e π - π com proteínas e lipídios da parede celular, o que reduz sua capacidade de promover lise ou danos oxidativos, explicando a maior CBM observada^{33,135}. O complexo **14C**, também naftólico, com substituinte OMe, apresentou CBM intermediária (2 $\mu\text{g/mL}$), mostrando efeito bactericida superior ao complexo **12C** (com -F), mas levemente inferior ao complexo **9C** (com -Cl). A presença do grupo metoxila, doador de elétrons, tende a aumentar a densidade eletrônica e a lipofilicidade local, favorecendo a interação do complexo com alvos hidrofóbicos e contribuindo para seu desempenho intermediário.

Esses resultados indicam que, enquanto o núcleo aromático e a presença do paládio determinam a capacidade inibitória, a natureza do substituinte e a geometria de coordenação influenciam principalmente a ação bactericida, reforçando a importância do desenho estrutural para otimizar complexos antimicrobianos seletivos.

Em resumo, os dados demonstram que a complexação com paládio aumenta de forma consistente a atividade antibacteriana dos ligantes, e que pequenas alterações estruturais nos núcleos, substituintes e na geometria de coordenação podem impactar significativamente tanto a inibição quanto a atividade bactericida. Complexos como **9C**, **12C** e **14C** combinam alta eficácia com seletividade, destacando-se como candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes antibacterianos frente a cepas de *H. pylori*, incluindo aquelas resistentes aos antibióticos convencionais.

Autores relatam que íons metálicos exibem mecanismos antibacterianos únicos e que podem afetar as atividades metabólicas de *H. pylori*, alterando sua permeabilidade de membrana ou produção de espécies reativas de oxigênio (ROS)¹⁶⁷⁻¹⁶⁹. Como uma estratégia eficaz os mecanismos anti-*H. pylori* envolvem principalmente a liberação de íons metálicos, a produção de ROS e a ruptura da membrana celular e do biofilme do *H. pylori*.

Camargo et al. sintetizaram um complexo à base de íons de prata e seus resultados mostraram que esses complexos exibiram alta eficácia contra *H. pylori* flutuante e *H. pylori* presentes em biofilmes, sem toxicidade *in vivo* para *Galleria mellonella*¹⁷⁰. Zhang et al. utilizaram o paládio em nanopartículas e observaram que, nanopartículas de paládio (Pd) podem absorver e liberar hidrogênio (que altera a permeabilidade da membrana celular e interfere no metabolismo de *H. pylori*), destacando além da atividade bactericida, inibição da resposta inflamatória e

reparação da mucosa danificada, ao inibir a secreção de fatores inflamatórios em macrófagos e remover EROs¹⁷¹.

6.4 Avaliação da atividade sobre a enzima urease

Helicobacter pylori pode sobreviver às condições de pH hostis devido à produção de grandes quantidades de urease (6–10% da proteína total), que converte ureia em amônia e carbamato, permitindo que a bactéria sobreviva no ambiente gástrico ácido por meio da geração de um microambiente neutro¹⁷². Sendo assim, devido ao seu papel na patogênese, a urease é um alvo importante na busca por agentes para tratar a infecção por *H. pylori*, uma vez que a sua deficiência pode limitar a colonização da bactéria no ambiente gástrico.

A urease, uma metaloenzima crucial na patogênese de diversas infecções bacterianas, em especial aquelas causadas por *H. pylori*, tem seu mecanismo catalítico dependente da presença de um centro ativo dinuclear de níquel (Ni^{2+})¹⁷³. Essa característica estrutural é a principal justificativa para a investigação de complexos metálicos como potenciais inibidores enzimáticos, uma estratégia de design promissora. A forte afinidade de compostos de coordenação por centros metálicos, como o níquel, permite que eles interajam de forma específica com o sítio ativo da urease, levando à inativação da enzima. Estudos recentes têm demonstrado a eficácia dessa abordagem, por exemplo, complexos de cobre(II) e zinco(II) com ligantes do tipo base de Schiff exibiram potente atividade inibitória contra a urease da *Jack bean*, com valores de IC_{50} na faixa micromolar¹⁷⁴.

Os efeitos sobre a urease foram avaliados com os complexos metálicos e seus ligantes, além do inibidor padrão, o ácido acetohidroxâmico (AHA) (Tabela 10).

Tabela 10 – Atividade de inibição da enzima urease dos Ligantes e Complexos

Substância	IC ₅₀ (μM)	
	Ligante	Complexo
7C	>500.00	9,72* ± 0,64
8C	>500.00	18,93* ± 1,20
9C	>500.00	33,29* ± 1,20
10C	>500.00	71,58* ± 1,67
11C	>500.00	>500,00
12C	>500.00	121,5* ± 1,4
13C	>500.00	>500,00

14C	>500.00	>500,00
AHA	>500.00	5,88* ± 1,20

*p <0,05 comparado ao valor de IC₅₀ do AHA

Os resultados demonstraram que os ligantes livres foram inativos frente à enzima, apresentando IC₅₀ superiores à concentração máxima testada, o que indica que a presença do centro metálico é essencial para a atividade biológica. O provável mecanismo de ação desses complexos metálicos envolve a coordenação com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da *H.pylori*, dificultando, assim, o mecanismo de catálise¹⁷⁵. Autores relatam que a coordenação de metais com compostos com atividades inibitórias conhecidas pode ser uma estratégia conveniente para explorar o caráter aditivo dessa interação^{176,177}.

Em contrapartida, os complexos de paládio apresentaram atividade, sendo que a atividade foi fortemente influenciada pela natureza dos substituintes presentes nos ligantes coordenados. Entre eles, **7C**, derivado de um ligante fenólico sem substituintes adicionais no anel aromático, exibiu a melhor atividade inibitória da série, com IC₅₀ de 9,72 µM. Esse resultado indica que a ausência de grupos volumosos ou modificadores eletrônicos permite uma melhor orientação do grupo hidroxila para interagir com o sítio catalítico da urease, favorecendo a formação de ligações de hidrogênio com os resíduos ativos.

A inserção de substituintes eletronegativos como flúor (**8C**, IC₅₀ = 18,93 µM) e cloro (**9C**, IC₅₀ = 33,29 µM), embora tenham mantido a atividade dos complexos, resultou em uma redução da potência inibitória quando comparada ao complexo **7C**. Esse comportamento sugere que, apesar de aumentarem a acidez da hidroxila fenólica, esses grupos podem introduzir efeitos estéricos ou alterar desfavoravelmente a densidade eletrônica do sistema aromático, impactando negativamente o reconhecimento molecular no sítio ativo da enzima. Portanto, neste sistema específico, a inserção de substituintes eletronegativos não resultou em melhora de atividade, mas sim em uma redução, o que ressalta a importância do balanço entre efeitos eletrônicos e estéricos.

O complexo **10C**, contendo uma metoxila no anel fenólico (grupo doador de elétrons), apresentou atividade mais modesta (IC₅₀ = 71,58 µM), reforçando que a introdução de grupos doadores reduz a acidez da hidroxila e desfavorece as

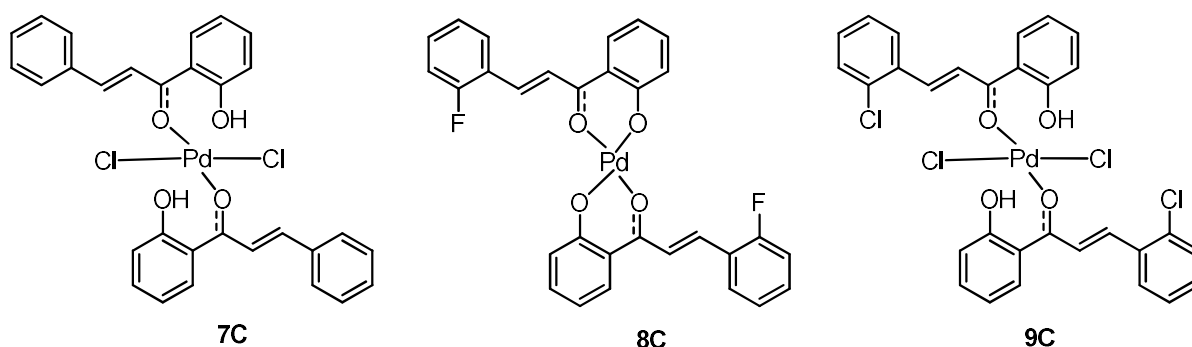
interações com a urease. Além disso, a presença do grupo metoxila pode dificultar o encaixe no sítio ativo devido ao aumento estérico.

Entre os complexos baseados nos ligantes com naftol, observou-se uma tendência clara de baixa ou ausente atividade inibitória. Os complexos **13C**, **11C** e **14C** foram inativos, independentemente da presença de cloro, metoxila ou ausência de substituintes. O complexo **12C**, contendo flúor no núcleo naftólico, apresentou atividade moderada ($IC_{50} = 121,50 \mu M$), indicando que o efeito eletrônico positivo do flúor não é suficiente para compensar o efeito estérico negativo do núcleo naftol, que é mais volumoso e rígido que o anel fenólico.

Dessa forma, os resultados demonstram que a atividade dos complexos depende fortemente do núcleo e da natureza e posição dos substituintes, sendo que a inserção de grupos eletronegativos não garantiu melhora da atividade frente à urease. Pelo contrário, quando comparados ao sistema mais simples e desobstruído (**7C**), os complexos **8C** (com F) e **9C** (com Cl) apresentaram menor atividade, sugerindo que a ausência de substituintes favorece interações mais eficientes com o sítio ativo da enzima.

Embora os complexos não tenham superado o AHA ($IC_{50} = 5,88 \mu M$), utilizado como controle positivo, os compostos **7C**, **8C** e **9C** (figura 47) demonstraram atividade relevante e oferecem uma base estrutural promissora para o desenvolvimento de inibidores de urease baseados em complexos metálicos. O entendimento detalhado da influência dos substituintes abre caminho para o planejamento racional de novas moléculas, com potencial otimização da interação enzimática.

Figura 47 - Estrutura dos complexos com maior atividade para inibição da enzima urease



Fonte: próprio autor

Inibidores de urease baseados em complexos de metais de transição tem

atraído grande interesse porque íons Ni^{2+} são encontrados no sítio ativo, e a inibição da enzima pelos compostos metálicos pode ser devido à reação dos ligantes orgânicos, bem como dos íons de metais de transição, com o grupo sulfidril no centro ativo da urease¹⁷⁸.

Para corroborar os resultados encontrados pelo ensaio *in vitro*, utilizou-se inibidor da urease reconhecido na literatura, o ácido acetohidroxâmico, para que fosse possível a realização de estudos *in silico* a fim de se compreender os modos de ligação no sítio ativo da enzima, comparando-os com os complexos avaliados.

6.5 Docking molecular no sítio ativo da enzima urease de *H. pylori*

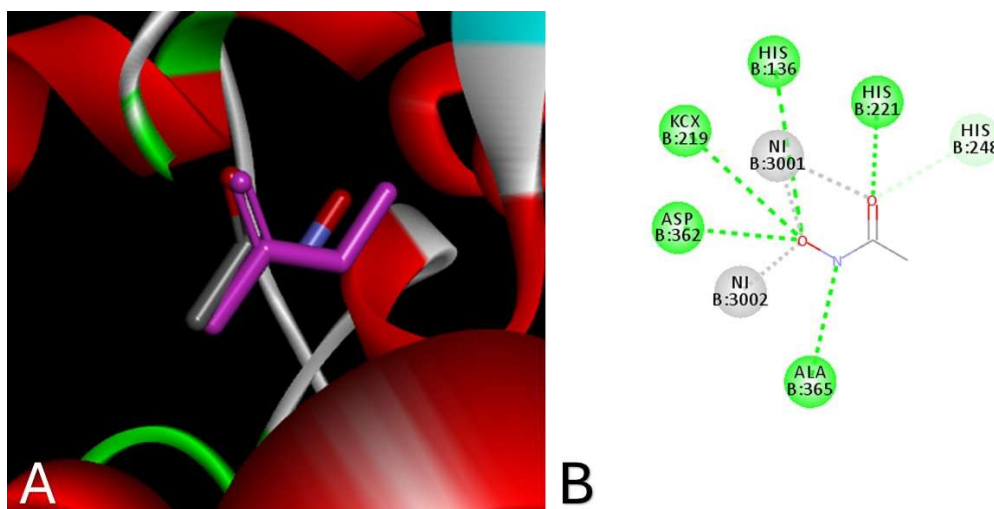
Com o objetivo de compreender em nível molecular os mecanismos responsáveis pela atividade inibitória frente à urease de *Helicobacter pylori*, foram realizados estudos de *docking* molecular dos complexos metálicos de paládio (II) e seus respectivos ligantes livres na enzima-alvo. O estudo permitiu correlacionar as interações estabelecidas por cada composto com o sítio ativo da urease e avaliar sua compatibilidade estrutural e eletrônica com os principais resíduos catalíticos, destacando as diferenças entre complexos ativos e inativos. Os dados obtidos corroboram com os ensaios *in vitro*, que indicaram ausência de atividade para os ligantes e eficácia variável entre os complexos.

Primeiramente, avaliou-se as interações no sítio ativo da enzima urease de *H. pylori*, a fim de compreender os possíveis modos de ligação do ácido acetohidroxâmico (AHA), inibidor padrão. Utilizou-se o complexo cristalográfico com o código 1E9Y depositado no PDB (*Protein Data Bank*) para realizar a análise do sítio ativo delimitando-se uma esfera de raio = 10 Å a partir do eixo central do ligante presente no interior do complexo cristalográfico. A função de escore selecionada foi *ChemScore* com 10 repetições para cada molécula. As análises das poses de *docking* foram realizadas meio de inspeção visual.

O AHA para inibir a enzima, realiza quatro ligações hidrogênio com os aminoácidos Asp362, Gly279, Ala365 e His221, e suas outras interações no sítio são coordenadas através da interação do oxigênio do ácido com os átomos de Ni presentes no sítio ativo da enzima, como relatado por Shi et al.¹⁷⁹, os quais interagem com os aminoácidos auxiliando, assim, a ancoragem no sítio ativo.

Realizou-se o *redocking* a fim de avaliar a predição do programa de *docking* da conformação do AHA, cuja conformação bioativa no sítio da urease já é conhecida¹⁸⁰ (Figura 48). Comparou-se as poses obtidas nos cálculos de *docking* com a conformação bioativa a fim de obter o RMSD que é uma medida que ilustra o quanto a poses difere da conformação cristalográfica. A média de RMSD obtida foi de 0,7607 Å, e o menor RMSD encontrado foi de 0,6528 Å (Figura 48), sendo que um valor até de 2,0 Å é considerado aceitável¹⁸¹.

Figura 48- Redocking do AHA e suas principais interações



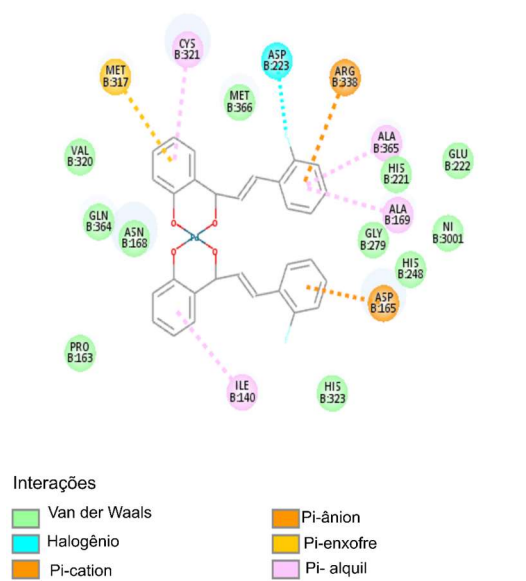
Nota: **(A)** Validação do modelo de *docking* por meio de *redocking* (RMSD= 0,5965 Å) no sítio ativo da urease (PDB:1E9Y). O ácido acetohidroxâmico, padrão de referência, encontra-se com os átomos de carbono em azul e o resultado do *redocking*, em cinza. **(B)** Representação em **2D** do sítio ativo da urease com as principais interações do ligante cristalográfico ácido acetohidroxâmico. Nota: hidrogênios estão ocultos.

Os complexos **9C**, **7C**, **8C**, **10C** e **12C**, os quais apresentaram os melhores resultados *in vitro*, foram também os que mais se aproximaram, em termos de padrão de interação, do mecanismo de inibição proposto para AHA, potente inibidor clássico da urease. Conforme descrito por Shi et al. o AHA realiza ligações de hidrogênio com os resíduos Asp362, Gly279, Ala365 e His221, além de coordenação direta com os íons Ni²⁺ presentes no centro catalítico da enzima. Dessa forma, a comparação com esse modelo de referência se mostra fundamental para avaliar a relevância das interações moleculares observadas nos complexos sintetizado¹⁷⁹.

O complexo **8C** (Figura 49) destacou-se como um dos candidatos mais completos em termos de ocupação do sítio ativo. Suas poses revelaram ligações de hidrogênio com Asp223, interações de van de Waals com Gly279, Ala365, His221 e His248, além de interações eletrostáticas com Asp165, Arg338 e Met317, e

coordenação potencial com os íons Ni^{2+} do centro catalítico. A geometria observada sugere que o átomo de paládio, coordenado a oxigênios carbonílicos e fenólicos, posiciona-se adequadamente para mimetizar a função coordenativa do AHA. Essas interações estão em perfeita consonância com seu desempenho *in vitro*, com IC_{50} de 18,93 μM , o segundo melhor da série.

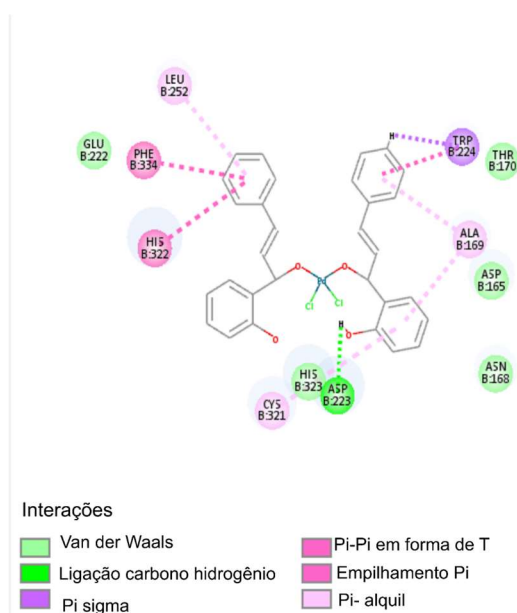
Figura 49- Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo **8C**



Fonte: dados da pesquisa

O complexo **7C** (Figura 50), que apresentou a maior atividade inibitória frente à urease ($\text{IC}_{50} = 9,72 \mu\text{M}$), também demonstrou interações significativas. Foram observadas ligações de hidrogênio com o resíduo Asp223, além de contatos hidrofóbicos e π - π stacking com resíduos aromáticos e sulfurados como Cys321, His322, Trp224, Phe334 e Leu252 e interações de van der Waals. Embora o complexo **7C** não tenha estabelecido ligação de hidrogênio com outros resíduos, sua posição dentro da cavidade catalítica, aliada às interações laterais de estabilização e proximidade com resíduos-chave, explica sua alta afinidade e eficácia. A ausência de coordenação direta com o Ni^{2+} pode ser compensada pelo conjunto robusto de interações secundárias, o que reforça a importância de um ancoramento multifatorial no sítio enzimático.

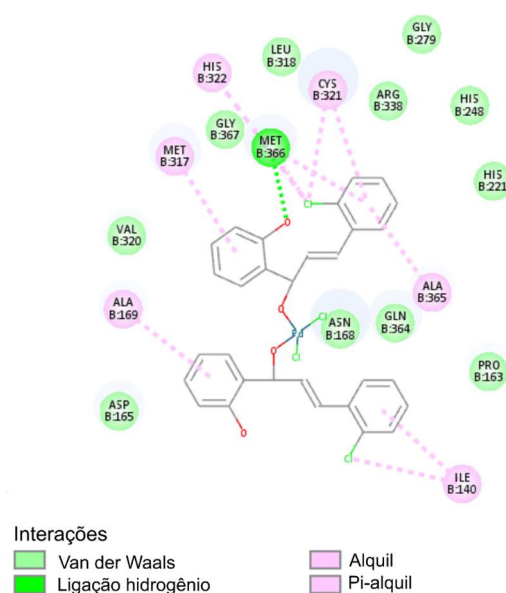
Figura 50 – Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo **7C**



Fonte: dados da pesquisa

O complexo **9C** (Figura 51) apresentou IC₅₀ de 33,29 µM apresentou ligação de hidrogênio com MET366, que pode contribuir para a estabilidade, além de diversas interações hidrofóbicas e van der Waals, dentre elas com resíduos-chave da cavidade catalítica como His221, Ala365, Gly279 e outros resíduos como His322, Met317, Ala169, Ile140 e Cys321. A ausência de interação com Ni²⁺ do sítio e interações mais fracas com resíduos-chave justificam a atividade encontrada *in vitro*.

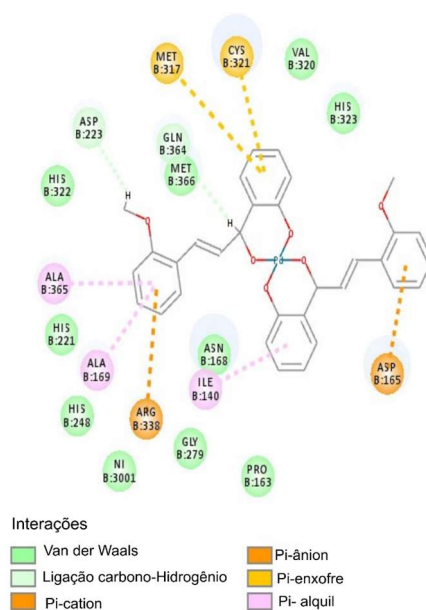
Figura 51 - Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo **9C**



Fonte: dados da pesquisa

Os complexos **10C** e **12C** apresentaram perfis intermediários, tanto *in vitro* quanto *in silico*. O complexo **10C** (Figura 52) realizou contatos hidrofóbicos e π - π *stacking* com Asp223, Ala365, His22, ala169, Ile140 e His248, bem como interações eletrostáticas com Arg338, Asp165, Met317 e Cys321. O paládio esteve orientado de forma a permitir possível coordenação com o níquel, reforçando seu potencial inibitório.

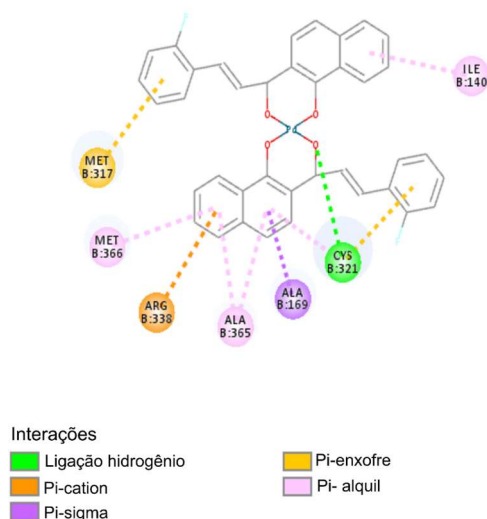
Figura 52 – Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo **10C**



Fonte: dados da pesquisa

O complexo **12C** (Figura 53), por sua vez, replicou dois dos quatro resíduos principais do AHA (Asp223 e His221), e ligações com His322 e Ala169, além de apresentar interações com Trp224, Cys321, Arg338 e Ala365 e Met366. A semelhança funcional e espacial com o inibidor padrão sugere que ambos podem atuar como inibidores competitivos eficazes, ainda que com menor potência relativa frente aos complexos **7C** e **8C**.

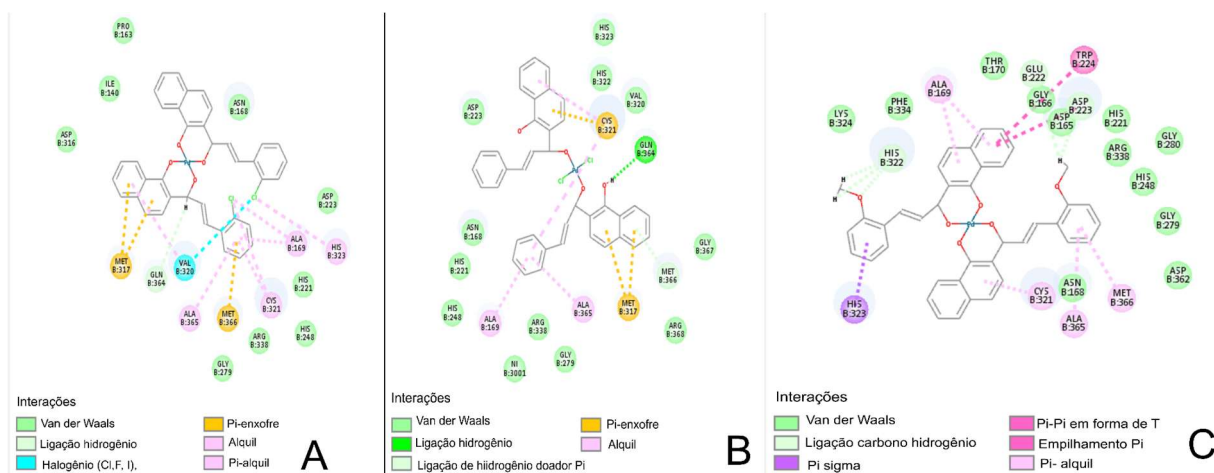
Figura 53 – Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações do complexo **12C**



Fonte: dados da pesquisa

Em contraste, os complexos **13C**, **11C** e **14C** (Figura 54), que exibiram nenhuma atividade inibitória, mostraram interações restritas com a cavidade catalítica. O complexo **14C**, por exemplo, não estabeleceu ligações de hidrogênio e demonstra contatos hidrofóbicos e π - π *stacking* com Cys321, Ala365, Met366, His323, Ala169, Trp224, Asp223 e His322, sem coordenação com os íons metálicos. De forma semelhante, os complexos **13C** e **11C** demonstraram ausência de coordenação com Ni^{2+} , e suas interações se limitaram a Ala365, Met317, e alguns resíduos laterais como Gln364, His323 e Ala169, o que explica seus valores de IC_{50} ausentes.

Figura 54 - Diagramas 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações dos complexos **13C (A)**, **11C (B)** e **14C (C)**



Fonte: dados da pesquisa

presença ou ausência de coordenação com os íons Ni^{2+} na região ativa, a orientação e o modo de encaixe do complexo dentro da cavidade catalítica, além da influência dos substituintes presentes na estrutura dos ligantes, que afetam diretamente o comportamento estérico e eletrônico das moléculas.

Tais achados reforçam de maneira contundente o papel central do íon paládio na modulação da atividade biológica dos complexos avaliados, evidenciando que o desenvolvimento racional de novos inibidores da urease deve ir além da simples presença de grupos funcionais ativos. É fundamental considerar a arquitetura tridimensional do complexo como um todo, de modo a favorecer o reconhecimento molecular eficiente, a coordenação com os íons metálicos presentes no sítio ativo e a mimetização precisa dos pontos de ancoragem do inibidor de referência, o ácido acetohidroxâmico. Nesse contexto, os complexos **9C**, **7C** e **8C** destacam-se como candidatos particularmente promissores, tanto pela forte convergência entre os dados teóricos e experimentais quanto pelo perfil de interação amplo e específico que estabelecem com os resíduos catalíticos e os íons Ni^{2+} no interior da cavidade ativa da urease.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a complexação das chalconas com paládio(II) promoveu modificações estruturais e eletrônicas relevantes, confirmadas por análises espectroscópicas, espectrométricas, térmicas e elementares. Foram identificados diferentes modos de coordenação, monodentados ou bidentados, modulados pela natureza do núcleo aromático e pelos substituintes, os quais influenciaram diretamente a estabilidade, o comportamento eletrônico e a atividade biológica dos complexos.

Em paralelo, os estudos de predição de atividade biológica (PASS) e de propriedades farmacocinéticas (SwissADME) revelaram que, apesar das limitações impostas pelas regras clássicas de *drug-likeness*, os complexos apresentam características compatíveis com metalofármacos clinicamente relevantes, especialmente pelo cumprimento da regra de Veber e pela diversidade funcional observada entre os derivados.

Do ponto de vista biológico, os complexos mostraram-se mais ativos e seletivos que seus ligantes livres frente à linhagem tumoral gástrica AGS, superando inclusive a cisplatina em termos de seletividade, com destaque para os complexos **9C**, **12C** e **14C**. Paralelamente, os estudos de *docking* na proteína Bcl-2 mostraram que os complexos são capazes de interagir com resíduos críticos do sítio ativo (Arg146, Phe104, Val133, Leu137, entre outros), sustentando a hipótese de indução de apoptose como um dos mecanismos de ação.

No âmbito antimicrobiano, os complexos exibiram atividade significativa frente à *H. pylori*, com valores de CIM variando entre 1–16 µg/mL, frequentemente superiores aos dos ligantes livres. Os complexos **9C**, **12C** e **14C** se destacaram como os mais promissores, apresentando efeito bactericida relevante. Além disso, os ensaios frente à urease confirmaram que a presença do centro metálico é determinante para a inibição enzimática, com destaque para o complexo **7C**, que apresentou IC₅₀ de 9,72 µM, aproximando-se do controle positivo (AHA). Os estudos de *docking* reforçaram tais achados, demonstrando interações consistentes com resíduos catalíticos e íons Ni²⁺ da enzima.

Logo observou-se, de maneira integrada, que a natureza eletrônica do núcleo (fenólico × naftólico), o tipo de substituinte e o modo de coordenação são determinantes no comportamento químico-biológico dos complexos. A presença de grupos eletronegativos (Cl, F) e o núcleo fenólico favoreceram a reatividade e a seletividade, enquanto substituintes doadores (OMe) ou sistemas excessivamente conjugados reduziram o desempenho global.

Conclui-se, portanto, que os complexos apresentam potencial significativo para o desenvolvimento de novos compostos de paládio com duplo perfil terapêutico — antitumoral e anti-*H. pylori* —, atuando por mecanismos múltiplos que envolvem interação com DNA, indução de apoptose, inibição da urease e interferência em processos redox bacterianos. Os complexos **7C**, **9C** e **14C** destacam-se como os candidatos mais promissores, oferecendo uma base estrutural sólida para o design racional de futuros metalofármacos multifuncionais.

Assim, embora **7C** e **9C** apresentem vantagens pontuais em parâmetros específicos, a análise integrada de todos os dados indica que o complexo **14C** reúne o melhor equilíbrio entre eficácia biológica e propriedades farmacocinéticas, configurando-se como o candidato mais indicado e robusto para o avanço em estudos posteriores, reforçando a relevância da química de coordenação como ferramenta estratégica na descoberta de novos agentes terapêuticos.

8 REFERÊNCIAS

1. Al-Tohamy, R. *et al.* Phytochemical analysis and assessment of antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plant species from Egyptian flora. *J. Appl. Biomed.* **16**, 289–300 (2018).
2. El-Shouny, W. A. *et al.* Syzygium aromaticum L.: Traditional herbal medicine against cagA and vacA toxin genes-producing drug resistant Helicobacter pylori. *J. Tradit. Complement. Med.* **10**, 366–377 (2020).
3. Baker, D. A. Plants against Helicobacter pylori to combat resistance: An ethnopharmacological review. *Biotechnology Reports* **26**, (2020).
4. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* **79**, 629–661 (2016).
5. Bills, G. F. & Gloer, J. B. Biologically Active Secondary Metabolites from the Fungi. in *The Fungal Kingdom* **4**, 1087–1119 (American Society of Microbiology, 2016).
6. Cadoná, F. C., Dantas, R. F., de Mello, G. H. & Silva-Jr, F. P. Natural products targeting into cancer hallmarks: An update on caffeine, theobromine, and (+)-catechin. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **62**, 7222–7241 (2022).
7. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **83**, 770–803 (2020).
8. Lahlou, M. The Success of Natural Products in Drug Discovery. *Pharmacol. & Pharm.* **04**, 17–31 (2013).
9. Atanasov, A. G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat. Rev. Drug Discov.* **20**, 200–216 (2021).
10. Hashemi, M. *et al.* Paclitaxel and docetaxel resistance in prostate cancer: Molecular mechanisms and possible therapeutic strategies. *Biomed. Pharmacother.* **160**, 114392 (2023).
11. Ma, Z. *et al.* Docetaxel remodels prostate cancer immune microenvironment and enhances checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Theranostics* **12**, 4965–4979 (2022).
12. Katz, L. & Baltz, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **43**, 155–176 (2016).
13. Safavi, M., Shams-Ardakani, M. & Foroumadi, A. Medicinal plants in the

- treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Pharm. Biol.* **53**, 939–960 (2015).
14. Wang, Y.-C. Medicinal plant activity on *Helicobacter pylori* related diseases. *World J. Gastroenterol.* **20**, 10368 (2014).
 15. K. Sahu, N., S. Balbhadra, S., Choudhary, J. & V. Kohli, D. Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: A Review. *Curr. Med. Chem.* **19**, 209–225 (2012).
 16. Malla, R. R., Siragam, S., Dadi, V. & Seetini, B. Natural Chalcones and Their Derivatives Target the Tumor Microenvironment in Colon Cancer. *Crit. Rev. Immunol.* **42**, 27–39 (2022).
 17. Mastachi-Loza, S. *et al.* Chalcones, a Privileged Scaffold: Highly Versatile Molecules in [4+2] Cycloadditions. *Chem. – An Asian J.* **17**, e202200706 (2022).
 18. Mastachi-Loza, S. *et al.* Chalcones, a Privileged Scaffold: Highly Versatile Molecules in [4+2] Cycloadditions. *Chem. – An Asian J.* **17**, (2022).
 19. Zhuang, C. *et al.* Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chem. Rev.* acs.chemrev.7b00020 (2017). doi:10.1021/acs.chemrev.7b00020
 20. Zhou, K., Yang, S. & Li, S.-M. Naturally occurring prenylated chalcones from plants: structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. *Nat. Prod. Rep.* **38**, 2236–2260 (2021).
 21. Martinez, R. M. *et al.* trans-Chalcone, a flavonoid precursor, inhibits UV-induced skin inflammation and oxidative stress in mice by targeting NADPH oxidase and cytokine production. *Photochem. Photobiol. Sci.* **16**, 1162–1173 (2017).
 22. Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H. & Chen, X. A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. *Molecules* **28**, 4982 (2023).
 23. Mahapatra, D. K., Bharti, S. K. & Asati, V. Chalcone Derivatives: Anti-inflammatory Potential and Molecular Targets Perspectives. *Curr. Top. Med. Chem.* **17**, 3146–3169 (2017).
 24. Rahman, M. a. Chalcone : A Valuable Insight into the Recent Advances and Potential. *Chem. Sci. J.* **29**, 1–16 (2011).
 25. Tran, T. D. *et al.* Synthesis and antibacterial activity of some heterocyclic chalcone analogues alone and in combination with antibiotics. *Molecules* **17**, 6684–6696 (2012).

26. Patil, C. B., Mahajan, S. K. & Katti, S. A. Chalcone: A versatile molecule. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **1**, 11–22 (2009).
27. Modzelewska, A. *et al.* Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. *Bioorganic Med. Chem.* **14**, 3491–3495 (2006).
28. Jin, C., Liang, Y.-J., He, H. & Fu, L. Synthesis and antitumor activity of novel chalcone derivatives. *Biomed. Pharmacother.* **67**, 215–7 (2013).
29. Claisen, L. & Claparède, A. Condensationen von Ketonen mit Aldehyden. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **14**, 2460–2468 (1881).
30. Menezes, R. A., Bhuvaneshwari, C. N., Venkatachalam, H. & Bhat, K. S. Focused review on applications of chalcone based compounds in material science. *Discov. Appl. Sci.* **7**, 814 (2025).
31. Elkanzi, N. A. A. *et al.* Synthesis of Chalcones Derivatives and Their Biological Activities: A Review. *ACS Omega* **7**, 27769–27786 (2022).
32. Thompson, K. H. & Orvig, C. Boon and Bane of Metal Ions in Medicine. *Science (80-.)*. **300**, 936–939 (2003).
33. Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., Asati, V. & Singh, S. K. Perspectives of medicinally privileged chalcone based metal coordination compounds for biomedical applications. *Eur. J. Med. Chem.* **174**, 142–158 (2019).
34. Kavukcu, S. B. *et al.* Synthesis and cytotoxic activities of organometallic Ru(II) diamine complexes. *Bioorg. Chem.* **99**, (2020).
35. Samsonowicz, M., Regulska, E. & Kalinowska, M. Hydroxyflavone metal complexes - molecular structure, antioxidant activity and biological effects. *Chemico-Biological Interactions* **273**, 245–256 (2017).
36. Kljun, J. *et al.* Synthesis and biological characterization of organoruthenium complexes with 8-hydroxyquinolines. *J. Inorg. Biochem.* **186**, 187–196 (2018).
37. Kowalski, K. Insight into the Biological Activity of Organometallic Acetylsalicylic Acid (Aspirin) Derivatives. *ChemPlusChem* **84**, 403–415 (2019).
38. Henry, E. J., Bird, S. J., Gowland, P., Collins, M. & Cassella, J. P. Ferrocenyl chalcone derivatives as possible antimicrobial agents. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **73**, 299–308 (2020).
39. Cotton, F. A. & Wilkinson, G. *Advanced inorganic chemistry: A comprehensive test.* (1969).
40. KEALY, T. J. & PAUSON, P. L. A New Type of Organo-Iron Compound. *Nature* **168**, 1039–1040 (1951).

41. ROSENBERG, B., VANCAMP, L., TROSKO, J. E. & MANSOUR, V. H. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature* **222**, 385–386 (1969).
42. Romero-Canelón, I., Salassa, L. & Sadler, P. J. The Contrasting Activity of Iodido versus Chlorido Ruthenium and Osmium Arene Azo- and Imino-pyridine Anticancer Complexes: Control of Cell Selectivity, Cross-Resistance, p53 Dependence, and Apoptosis Pathway. *J. Med. Chem.* **56**, 1291–1300 (2013).
43. Wong, E. & Giandomenico, C. M. Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs. *Chem. Rev.* **99**, 2451–2466 (1999).
44. Howell, S. B. Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy - Google Livros. (2013). Available at: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aKrzBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Platinum+and+Other+Metal+Coordination+Compounds+in+Cancer+Chemotherapy&ots=TWIOLsdlhe&sig=UR1tTnmCkAu62te7JU8MkOAogNg&redir_esc=y#v=onepage&q=Platinum+and+Other+Metal+Coordination+Compounds+in+Cancer+Chemotherapy&f=false. (Accessed: 29th April 2021)
45. Medici, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances. *Coord. Chem. Rev.* (2014). doi:10.1016/j.ccr.2014.08.002
46. CLARKE, M. J. The Potential of Ruthenium in Anticancer Pharmaceuticals. in 157–180 (1980). doi:10.1021/bk-1980-0140.ch010
47. Casini, A. Exploring the mechanisms of metal-based pharmacological agents via an integrated approach. (2012). doi:10.1016/j.jinorgbio.2011.12.007
48. Prajapati, R. *et al.* Structural characterization and cytotoxicity studies of ruthenium(II)-dmsO-chloro complexes of chalcone and flavone derivatives. *Polyhedron* **29**, 1055–1061 (2010).
49. Viswanathamurthi, P. & Muthukumar, M. *Ruthenium(II) carbonyl complexes containing chalconates and triphenylphosphine/arsine*. *J. Chem. Sci* **123**, (2011).
50. Muthukumar, M., Viswanathamurthi, P. & Natarajan, K. Synthesis and spectral characterization of 2'-hydroxy chalconate complexes of ruthenium(II) and their catalytic and biological applications. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **70**, 1222–1226 (2008).
51. Serobotse, K. R. N., Mwacham, · & Kabanda, M. Antioxidant and antimalarial

- properties of butein and homobutein based on their ability to chelate iron (II and III) cations: a DFT study in vacuo and in solution. *Eur Food Res Technol* **242**, 71–90 (2016).
52. El-Sayed, Y. S. & Gaber, M. Studies on chalcone derivatives: Complex formation, thermal behavior, stability constant and antioxidant activity. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **137**, 423–431 (2015).
 53. Nasir Abbas Bukhari, S., Jasamai, M. & Jantan, I. Synthesis and Biological Evaluation of Chalcone Derivatives (Mini Review). *Mini-Reviews Med. Chem.* **12**, 1394–1403 (2012).
 54. Nayak, S., Chakroborty, S., Bhakta, S., Panda, P. & Mohapatra, S. Recent advances of organocatalytic enantioselective Michael-addition to chalcone. *Res. Chem. Intermed.* **42**, 2731–2747 (2016).
 55. Trávníček, Z., Vančo, J., Belza, J., Zoppellaro, G. & Dvořák, Z. Dinuclear copper(II) complexes with a bridging bis(chalcone) ligand reveal considerable in vitro cytotoxicity on human cancer cells and enhanced selectivity. *J. Inorg. Biochem.* **252**, 112481 (2024).
 56. Campos, M. C. *et al.* Novel Zn(II)-complex with hybrid chalcone-thiosemicarbazone ligand: Synthesis, characterization, and inhibitory effect on HTLV-1-infected MT-2 leukemia cells. *J. Inorg. Biochem.* **245**, 112239 (2023).
 57. Patange, V. & Arbad, B. Synthesis, spectral, thermal and biological studies of transition metal complexes of 4-hydroxy-3-[3-(4-hydroxyphenyl)-acryloyl]-6-methyl-pyran-2-one. *J. Serbian Chem. Soc.* **76**, 1237–1246 (2011).
 58. Muškinja, J. *et al.* Ferrocenyl chalcones with O-alkylated vanillins: synthesis, spectral characterization, microbiological evaluation, and single-crystal X-ray analysis. *Med. Chem. Res.* **25**, 1744–1753 (2016).
 59. Ratković, Z. *et al.* Synthesis, characterization, electrochemical studies and antitumor activity of some new chalcone analogues containing ferrocenyl pyrazole moiety. *Bioorg. Chem.* **38**, 26–32 (2010).
 60. Sâmia, L. B. P. *et al.* Metal complexes of 3-(4-bromophenyl)-1-pyridin-2-ylprop-2-en-1-one thiosemicarbazone: cytotoxic activity and investigation on the mode of action of the gold(III) complex. *BioMetals* **29**, 515–526 (2016).
 61. Jbara, M., Maity, S. K. & Brik, A. Palladium in the Chemical Synthesis and Modification of Proteins. *Angew. Chemie Int. Ed.* **56**, 10644–10655 (2017).
 62. Rau, T. & van Eldik, R. Mechanistic insight from kinetic studies on the

- interaction of model palladium (II) complexes with nucleic acid components. *Met. Ions Biol. Syst.* **32**, 339–78 (1996).
63. Huheey, J. E., Keiter, E. A. & Keiter, R. L. *Chemistry Principles Of Structure And Reactivity*. (1993).
 64. Czarnomysy, R., Radomska, D., Szewczyk, O. K., Roszczenko, P. & Bielawski, K. Platinum and Palladium Complexes as Promising Sources for Antitumor Treatments. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 8271 (2021).
 65. Ehsan Zareian Jahromi, Adeleh Divsalar, Ali Akbar Saboury, Sara Khaleghizadeh, H. M.-T. & I. K. Palladium complexes: new candidates for anti-cancer drugs. *J IRAN CHEM SOC* **13**, 967–989 (2016).
 66. Carneiro, T. J., Martins, A. S., Marques, M. P. M. & Gil, A. M. Metabolic Aspects of Palladium(II) Potential Anti-Cancer Drugs. *Front. Oncol.* **10**, (2020).
 67. Scattolin, T., Voloshkin, V. A., Visentin, F. & Nolan, S. P. A critical review of palladium organometallic anticancer agents. *Cell Reports Phys. Sci.* **2**, 100446 (2021).
 68. INCA. ESTIMATIVA 2020- INCIDENCIA DE CANCER NO BRASIL. (2020). Available at: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>. (Accessed: 2nd July 2020)
 69. Mattiuzzi, C. & Lippi, G. Current cancer epidemiology. *J. Epidemiol. Glob. Health* **9**, 217–222 (2019).
 70. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* **68**, 394–424 (2018).
 71. Johnston, F. M. & Beckman, M. Updates on Management of Gastric Cancer. *Curr. Oncol. Rep.* **21**, 67 (2019).
 72. Smyth, E. C., Nilsson, M., Grabsch, H. I., van Grieken, N. C. & Lordick, F. Gastric cancer. *Lancet* **396**, 635–648 (2020).
 73. Machlowska, J., Baj, J., Sitarz, M., Maciejewski, R. & Sitarz, R. Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, (2020).
 74. Plummer, M., Franceschi, S., Vignat, J., Forman, D. & de Martel, C. Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *Int. J. Cancer* **136**, 487–490 (2015).

75. Ishaq, S. & Nunn, L. Helicobacter pylori and gastric cancer: a state of the art review. *Gastroenterol. Hepatol. from bed to bench* **8**, S6–S14 (2015).
76. IARC Helicobacter pylori Working Group. Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer. **8**, (2014).
77. Burucoa, C. & Axon, A. Epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* **22**, e12403 (2017).
78. Hooi, J. K. Y. *et al.* Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology* **153**, 420–429 (2017).
79. Malfertheiner, P. *et al.* Helicobacter pylori infection. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **9**, 19 (2023).
80. Blaser, M. J. Who are we? *EMBO Rep.* **7**, 956–960 (2006).
81. Marshall, B. & Warren, J. R. Unidentified Curved Bacilli in the Stomach of Patients With Gastritis and Peptic Ulceration. *Lancet* **323**, 1311–1315 (1984).
82. Šterbenc, A., Jarc, E., Poljak, M. & Homan, M. Helicobacter pylori virulence genes. *World J. Gastroenterol.* **25**, 4870–4884 (2019).
83. Baj, J. *et al.* Helicobacter pylori Virulence Factors—Mechanisms of Bacterial Pathogenicity in the Gastric Microenvironment. *Cells* **10**, 27 (2020).
84. Scott, D. R. *et al.* The role of internal urease in acid resistance of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* **114**, 58–70 (1998).
85. Tarsia, C. *et al.* Targeting Helicobacter pylori urease activity and maturation: In-cell high-throughput approach for drug discovery. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1862**, 2245–2253 (2018).
86. Wroblewski, L. E., Peek, R. M. & Wilson, K. T. Helicobacter pylori and gastric cancer: Factors that modulate disease risk. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**, 713–739 (2010).
87. Blaser, M. J. & Berg, D. E. Helicobacter pylori genetic diversity and risk of human disease. *J. Clin. Invest.* **107**, 767–73 (2001).
88. Naito, Y. & Yoshikawa, T. Molecular and cellular mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* **33**, 323–36 (2002).
89. Seo, J. H., Lim, J. W., Kim, H. & Kim, K. H. Helicobacter pylori in a Korean isolate activates mitogen-activated protein kinases, AP-1, and NF-kappaB and induces chemokine expression in gastric epithelial AGS cells. *Lab. Invest.* **84**, 49–62 (2004).

90. Kim, H. Oxidative stress in Helicobacter pylori-induced gastric cell injury. *Inflammopharmacology* **13**, 63–74 (2005).
91. H. Kim, J. W. Lim, K. H. K. Helicobacter pylori -induced Expression of Interleukin-8 and Cyclooxygenase-2 in AGS Gastric Epithelial Cells: Mediation by Nuclear Factor- κ B. *Scand. J. Gastroenterol.* **36**, 706–716 (2001).
92. Kim, J. M. *et al.* Inhibition of Helicobacter pylori-induced Nuclear Factor-kappa B Activation and Interleukin-8 Gene Expression by Ecabet Sodium in Gastric Epithelial Cells. *Helicobacter* **8**, 542–553 (2003).
93. Fukumura, D., Kashiwagi, S. & Jain, R. K. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer* **6**, 521–534 (2006).
94. Jenkins, D. C. *et al.* Roles of nitric oxide in tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92**, 4392–6 (1995).
95. Smoot, D. T. Influence of Helicobacter pylori on reactive oxygen-induced gastric epithelial cell injury. *Carcinogenesis* **21**, 2091–2095 (2000).
96. Obst, B., Wagner, S., Sewing, K. F. & Beil, W. Helicobacter pylori causes DNA damage in gastric epithelial cells. *Carcinogenesis* **21**, 1111–1115 (2000).
97. Liao, W., Ye, T. & Liu, H. Prognostic Value of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) in Human Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res. Int.* **2019**, 1–9 (2019).
98. Ford, A. C., Yuan, Y., Forman, D., Hunt, R. & Moayyedi, P. Helicobacter pylori eradication for the prevention of gastric neoplasia. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2020). doi:10.1002/14651858.CD005583.pub3
99. Ford, A. C., Yuan, Y. & Moayyedi, P. Helicobacter pylori eradication therapy to prevent gastric cancer: systematic review and meta-analysis. *Gut* **69**, 2113–2121 (2020).
100. Choi, I. J. *et al.* Family History of Gastric Cancer and Helicobacter pylori Treatment. *N. Engl. J. Med.* **382**, 427–436 (2020).
101. Graham, D. Y., Lu, H. & Yamaoka, Y. A report card to grade Helicobacter pylori therapy. *Helicobacter* **12**, 275–278 (2007).
102. Savoldi, A., Carrara, E., Graham, D. Y., Conti, M. & Tacconelli, E. Prevalence of Antibiotic Resistance in Helicobacter pylori: A Systematic Review and Meta-analysis in World Health Organization Regions. *Gastroenterology* **155**, 1372-1382.e17 (2018).
103. Tshibangu-Kabamba, E. & Yamaoka, Y. Helicobacter pylori infection and

- antibiotic resistance — from biology to clinical implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 613–629 (2021).
104. Diaconu, S., Predescu, A., Moldoveanu, A., Pop, C. S. & Fierbințeanu-Braticevici, C. Helicobacter pylori infection: old and new. *J. Med. Life* **10**, 112–117 (2017).
 105. Wani, F. A. *et al.* Antibiotic resistance in Helicobacter pylori: A mutational analysis from a tertiary care hospital in Kashmir, India. *Indian J. Med. Microbiol.* **36**, 265–272 (2018).
 106. Kim, S. Y. Antibiotic treatment for Helicobacter pylori : Is the end coming? *World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther.* **6**, 183 (2015).
 107. Huang, A. *et al.* IMPACT OF HELICOBACTER PYLORI ANTIMICROBIAL RESISTANCE ON THE OUTCOME OF 1-WEEK LANSOPRAZOLE-BASED TRIPLE THERAPY. *J Formos Med Assoc J Formos Med Assoc* **9999**, 704–9 (2000).
 108. Siddique, O., Ovalle, A., Siddique, A. S. & Moss, S. F. Helicobacter pylori Infection: An Update for the Internist in the Age of Increasing Global Antibiotic Resistance. *American Journal of Medicine* **131**, 473–479 (2018).
 109. Tharmalingam, N., Port, J., Castillo, D. & Mylonakis, E. Repurposing the anthelmintic drug niclosamide to combat Helicobacter pylori. *Sci. Rep.* **8**, 3701 (2018).
 110. U. Sahu, N. & S. Kharkar, P. Computational Drug Repositioning: A Lateral Approach to Traditional Drug Discovery? *Curr. Top. Med. Chem.* **16**, 2069–2077 (2016).
 111. Sudhakar, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J. Cancer Sci. Ther.* **1**, i–iv (2009).
 112. Larsson, S., Backlund, A. & Bohlin, L. Reappraising a decade old explanatory model for pharmacognosy. *Phytochem. Lett.* **1**, 131–134 (2008).
 113. Morris, G. M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* **30**, 2785–2791 (2009).
 114. Ferreira, L., Dos Santos, R., Oliva, G. & Andricopulo, A. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules* **20**, 13384–13421 (2015).
 115. de Almeida Romagna, R., dos Santos, R. B., de Cassia Ribeiro Gonçalves, R. & Kitagawa, R. R. Synthesis of Chalcones, Screening In silico and In vitro and Evaluation of Helicobacter pylori Adhesion by Molecular Docking. *Curr. Pharm.*

- Des.* **30**, 3350–3366 (2024).
116. Schmid, R. *et al.* Integrative analysis of multimodal mass spectrometry data in MZmine 3. *Nat. Biotechnol.* **41**, 447–449 (2023).
 117. Sant'Anna, C. M. R. Molecular modeling methods in the study and design of bioactive compounds: An introduction. *Rev. Virtual Química* **1**, (2009).
 118. Goel, R. K., Singh, D., Lagunin, A. & Poroikov, V. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products. *Med. Chem. Res.* **20**, 1509–1514 (2011).
 119. Filz, O. A. & Poroikov, V. V. Fragment-based lead design. *Russ. Chem. Rev.* **81**, 158–174 (2012).
 120. Daina, A., Michielin, O. & Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* **7**, 42717 (2017).
 121. Kirchmair, J. *et al.* The Protein Data Bank (PDB), its related services and software tools as key components for in silico guided drug discovery. *J. Med. Chem.* **51**, 7021–7040 (2008).
 122. Gaulton, A. *et al.* ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic Acids Res.* **40**, D1100–D1107 (2012).
 123. Liu, T., Lin, Y., Wen, X., Jorissen, R. N. & Gilson, M. K. BindingDB: a web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities. *Nucleic Acids Res.* **35**, D198–201 (2007).
 124. Verdonk, M. L., Cole, J. C., Hartshorn, M. J., Murray, C. W. & Taylor, R. D. Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins Struct. Funct. Genet.* **52**, 609–623 (2003).
 125. Morris, G. M. & Lim-Wilby, M. Molecular docking. *Methods Mol. Biol.* **443**, 365–382 (2008).
 126. Tanaka, T., Kawase, M. & Tani, S. α -Hydroxyketones as inhibitors of urease. *Bioorganic Med. Chem.* **12**, 501–505 (2004).
 127. Badisa, R. *et al.* Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. *Anticancer Res* **29**, 2993–2996 (2011).
 128. Pavia, D. L. ., Lampman, G. M. ., Kriz, G. S. . & Vyvyan, J. R. . *Introdução a espectroscopia*. (Cengage Learning., 2015).
 129. Nakamoto, K. *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds (Part A: Theory and applications in inorganic chemistry)*. John

- wiley & Sons (1997).
130. Anzaldo, B. *et al.* Ruthenocenyl phosphinated chalcones and their Pt(II) and Pd(II) complexes: Usual bidentate [PO] and unusual tridentate [PCO] coordination. *Inorganica Chim. Acta* **497**, 119074 (2019).
 131. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. & Vyvyan, J. R. *Introdução à Espectroscopia*. (CENGAGE Learning, 2010).
 132. MCMURRY, J. *Química Orgânica*. (CENGAGE Learning, 2016).
 133. HOUSECROFT, C. . & SHARPE, A. G. *Química inorgânica*. (LTC, 2013).
 134. Çolak, N., Savcı, A., Turan, N. & Buldurun, K. Preparation, Spectral Characterization and Antioxidant Activities of Aminothiophene-Containing Schiff Base and Co(II) and Pd(II) Complexes. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **39**, (2025).
 135. Gaber, M., Awad, M. K. & Atlam, F. M. Pd (II) complexes of bidentate chalcone ligands: Synthesis, spectral, thermal, antitumor, antioxidant, antimicrobial, DFT and SAR studies. *J. Mol. Struct.* **1160**, 348–359 (2018).
 136. Thaker, B. T. & Barvalia, R. S. Bidentate coordinating behaviour of chalcone based ligands towards oxocations: VO(IV) and Mo(V). *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **112**, 101–109 (2013).
 137. Janes, R. & Moore, E. Charge-transfer bands in the electronic spectra of transition-metal complexes. *Met. Bond.* 75–82 (2004).
doi:10.1039/9781847559456-00075
 138. Coia, A., Ruddick, J., Kuang, O. & Wang, L.-Q. Exploring the Role and Variability of 3d Transition Metal Complexes in Artistic Coloration through a Bottom-Up Scientific Approach. *Colorants* **3**, 152–174 (2024).
 139. Kateris, N., Xu, R. & Wang, H. HOMO-LUMO energy gaps of complexes of transition metals with single and multi-ring aromatics. *Combust. Flame* **257**, 112513 (2023).
 140. Jehn, H. High temperature behaviour of platinum group metals in oxidizing atmospheres. *J. Less Common Met.* **100**, 321–339 (1984).
 141. Wendlandt, W. W. *Thermal Methods of Analysis*. (Wiley-Interscience, 1974).
 142. Alcock, C. B. . & Hooper, G. W. Thermodynamics of the gaseous oxides of the platinum-group metals. *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.* **254**, 551–561 (1960).
 143. Meija, J. Solution to elemental analysis challenge. *Anal. Bioanal. Chem.* **416**,

- 3643–3644 (2024).
144. Filimonov, D. A. *et al.* Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chem. Heterocycl. Compd.* **50** (3), 444-457. (2014).
 145. Singh, M. B. *et al.* A comparative study of 5- fluorouracil, doxorubicin, methotrexate, paclitaxel for their inhibition ability for Mpro of nCoV: Molecular docking and molecular dynamics simulations. *J. Indian Chem. Soc.* **99**, 100790 (2022).
 146. Kruszewski, M. *et al.* Differential toxic effect of cis-platinum(II) and palladium(II) chlorides complexed with methyl 3,4-diamine-2,3,4,6-tetra-deoxy- β -L-lyxohexopyranoside in mouse lymphoma cell lines differing in DSB and NER repair ability. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* **23**, 1–11 (2003).
 147. Caires, A. C. F. Recent Advances Involving Palladium (II) Complexes for the Cancer Therapy. *Anticancer. Agents Med. Chem.* **7**, 484–491 (2007).
 148. Espino, J. *et al.* Synthesis and structure of a new thiazoline-based palladium(II) complex that promotes cytotoxicity and apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Sci. Rep.* **10**, 16745 (2020).
 149. Fernández, I. Understanding the reactivity of polycyclic aromatic hydrocarbons and related compounds. *Chem. Sci.* **11**, 3769–3779 (2020).
 150. Elmore, S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol. Pathol.* **35**, 495–516 (2007).
 151. Mustafa, M. *et al.* Apoptosis: A Comprehensive Overview of Signaling Pathways, Morphological Changes, and Physiological Significance and Therapeutic Implications. *Cells* **13**, 1838 (2024).
 152. Palrasu, M. *et al.* Helicobacter pylori pathogen inhibits cellular responses to oncogenic stress and apoptosis. *PLOS Pathog.* **18**, e1010628 (2022).
 153. Duan, Y., Xu, Y., Dou, Y. & Xu, D. Helicobacter pylori and gastric cancer: mechanisms and new perspectives. *J. Hematol. Oncol.* **18**, 10 (2025).
 154. Zhang, H. *et al.* Effect of Helicobacter pylori infection on expressions of Bcl-2 family members in gastric adenocarcinoma. *World J. Gastroenterol.* **10**, 227 (2004).
 155. Jan, R. & Chaudhry, G.-S. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. *Adv. Pharm. Bull.* **9**, 205–218 (2019).
 156. Casara, P. *et al.* S55746 is a novel orally active BCL-2 selective and potent

- inhibitor that impairs hematological tumor growth. *Oncotarget* **9**, 20075–20088 (2018).
157. Jones, G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R. & Taylor, R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking 1 Edited by F. E. Cohen. *J. Mol. Biol.* **267**, 727–748 (1997).
 158. Souers, A. J. *et al.* ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat. Med.* **19**, 202–208 (2013).
 159. Chen, G. *et al.* A natural chalcone induces apoptosis in lung cancer cells: 3D-QSAR, docking and an in vivo/vitro assay. *Sci. Rep.* **7**, 10729 (2017).
 160. Mohamad Rosdi, M. N. *et al.* Molecular docking studies of bioactive compounds from *Annona muricata* Linn as potential inhibitors for Bcl-2, Bcl-w and Mcl-1 antiapoptotic proteins. *Apoptosis* **23**, 27–40 (2018).
 161. Polk, D. B. & Peek, R. M. *Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond. *Nat. Rev. Cancer* **10**, 403–414 (2010).
 162. Frei, A. *et al.* Metal complexes as a promising source for new antibiotics. *Chem. Sci.* **11**, 2627–2639 (2020).
 163. Wu, S., Wang, M., Liu, Z. & Fu, C. Mechanisms Operating in the Use of Transition Metal Complexes to Combat Antimicrobial Resistance. *Microorganisms* **13**, 1570 (2025).
 164. Gaber, M., El-Ghamry, H. A. & Mansour, M. A. Pd(II) and Pt(II) chalcone complexes. Synthesis, spectral characterization, molecular modeling, biomolecular docking, antimicrobial and antitumor activities. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **354**, 163–174 (2018).
 165. Hasanuzzaman, M., Bang, C. S. & Gong, E. J. Antibiotic Resistance of *Helicobacter pylori* : Mechanisms and Clinical Implications. *J. Korean Med. Sci.* **39**, (2024).
 166. Kuo, C.-J. *et al.* Multiple amino acid substitutions in penicillin-binding protein-1A confer amoxicillin resistance in refractory *Helicobacter pylori* infection. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **56**, 40–47 (2023).
 167. Zhi, X. *et al.* Oral pH sensitive GNS@ab nanoprobe for targeted therapy of *Helicobacter pylori* without disturbance gut microbiome. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **20**, 102019 (2019).
 168. Saravanakumar, K. *et al.* Unveiling the potentials of biocompatible silver nanoparticles on human lung carcinoma A549 cells and *Helicobacter pylori*.

- Sci. Rep.* **9**, 5787 (2019).
169. Lai, Y., Wei, W., Du, Y., Gao, J. & Li, Z. Biomaterials for Helicobacter pylori therapy: therapeutic potential and future perspectives. *Gut Microbes* **14**, (2022).
170. Almeida Furquim de Camargo, B. *et al.* New Silver(I) Coordination Compound Loaded into Polymeric Nanoparticles as a Strategy to Improve In Vitro Anti-Helicobacter pylori Activity. *Mol. Pharm.* **17**, 2287–2298 (2020).
171. Zhang, W. *et al.* Metal–Organic-Framework-Based Hydrogen-Release Platform for Multieffective Helicobacter Pylori Targeting Therapy and Intestinal Flora Protective Capabilities. *Adv. Mater.* **34**, (2022).
172. Ansari, S. & Yamaoka, Y. Helicobacter pylori Virulence Factors Exploiting Gastric Colonization and its Pathogenicity. *Toxins (Basel)*. **11**, 677 (2019).
173. Fiori-Duarte, A. T., Rodrigues, R. P., Kitagawa, R. R. & Kawano, D. F. Insights into the Design of Inhibitors of the Urease Enzyme - A Major Target for the Treatment of Helicobacter pylori Infections. *Curr. Med. Chem.* **27**, 3967–3982 (2020).
174. Bonne, S. *et al.* Synthesis, Urease Inhibition, Molecular Docking, and Optical Analysis of a Symmetrical Schiff Base and Its Selected Metal Complexes. *Molecules* **29**, 4899 (2024).
175. Fiori-Duarte, A. T. *et al.* In silico design and in vitro assessment of anti-Helicobacter pylori compounds as potential small-molecule arginase inhibitors. *Mol. Divers.* (2022). doi:10.1007/s11030-021-10371-8
176. Habala, L., Devínsky, F. & Egger, A. E. REVIEW: metal complexes as urease inhibitors. *J. Coord. Chem.* **71**, 907–940 (2018).
177. Behzad, M. *et al.* Crystal structures and in vitro anticancer studies on new unsymmetrical copper(II) Schiff base complexes derived from meso-1,2-diphenyl-1,2-ethylenediamine: a comparison with related symmetrical ones. *J. Coord. Chem.* **69**, 2469–2481 (2016).
178. Song, W.-Q., Liu, M.-L., Li, S.-Y. & Xiao, Z.-P. Recent Efforts in the Discovery of Urease Inhibitor Identifications. *Curr. Top. Med. Chem.* **22**, 95–107 (2022).
179. Shi, W.-K. *et al.* 3-Arylpropionylhydroxamic acid derivatives as Helicobacter pylori urease inhibitors: Synthesis, molecular docking and biological evaluation. *Bioorg. Med. Chem.* **24**, 4519–4527 (2016).
180. Ha, N.-C. *et al.* Supramolecular assembly and acid resistance of Helicobacter

pylori urease. *Nat. Struct. Biol.* **8**, 505–509 (2001).

181. Yusuf, D., Davis, A. M., Kleywegt, G. J. & Schmitt, S. An Alternative Method for the Evaluation of Docking Performance: RSR vs RMSD. *J. Chem. Inf. Model.* **48**, 1411–1422 (2008).

9 ANEXOS

9.1 Caracterização por Infravermelho

Figura A1. Espectro de infravermelho da chalcona **7**

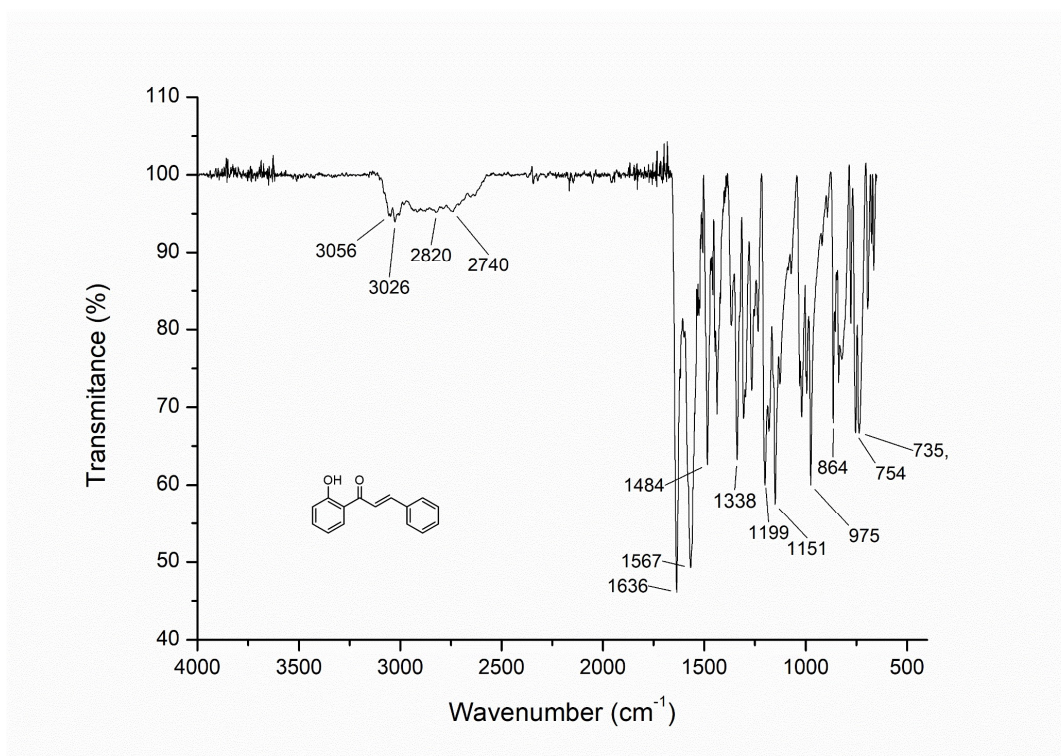


Figura A2. Espectro de infravermelho do complexo **7C**

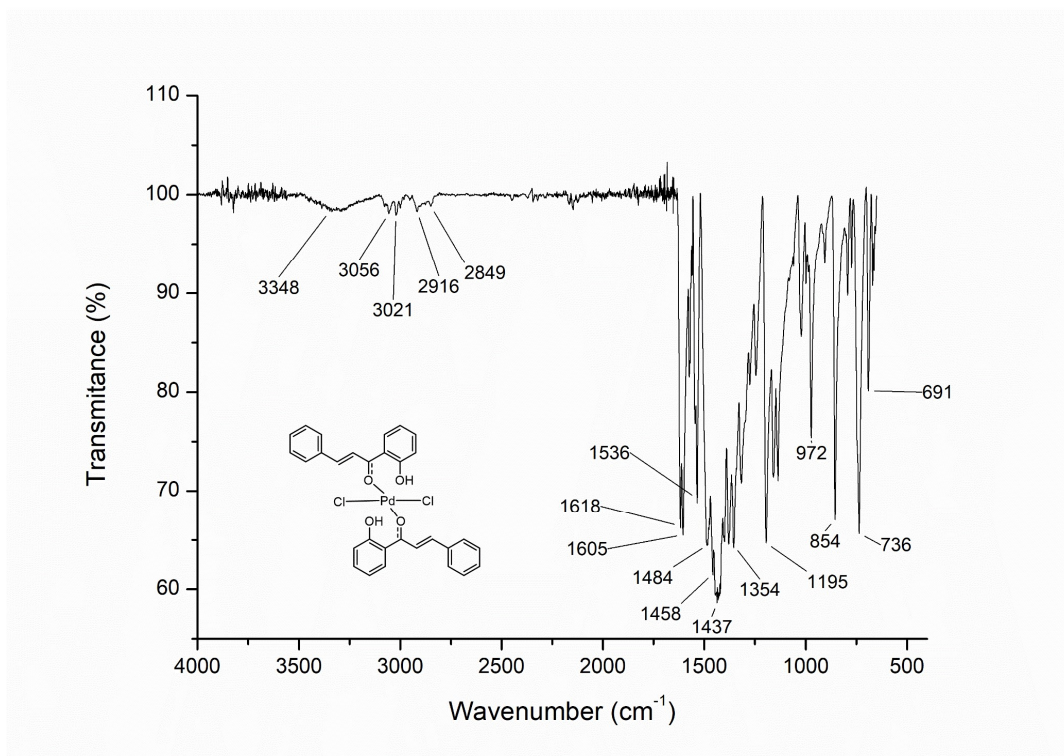


Figura A3. Espectro de infravermelho da chalcona **8**

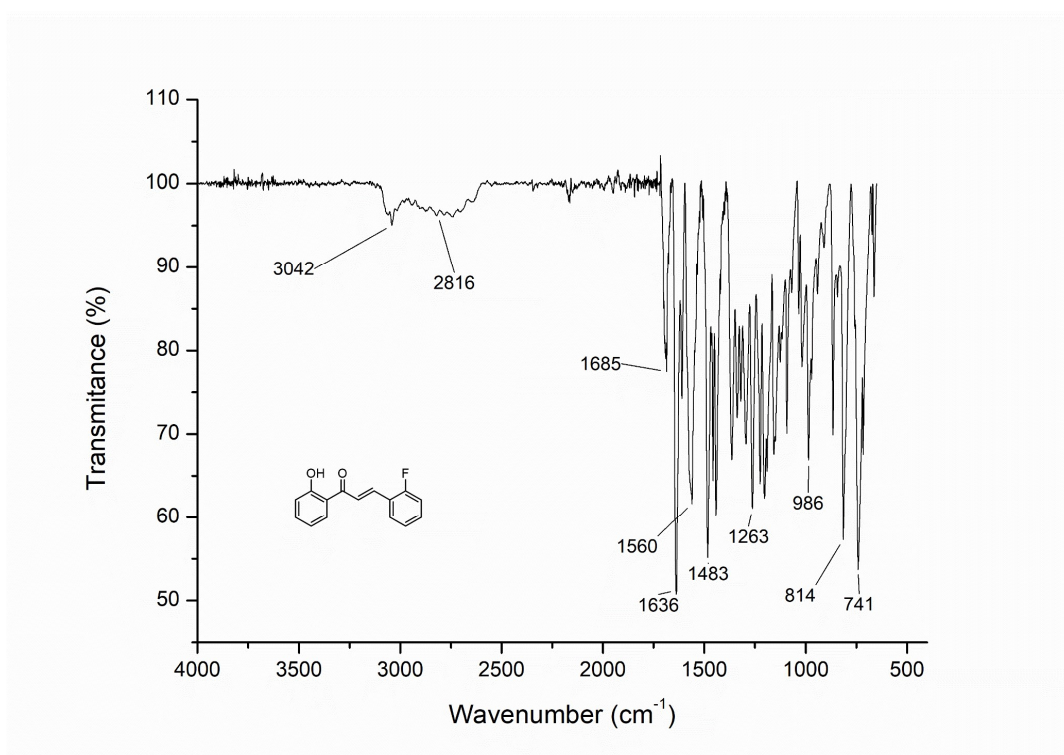


Figura A4. Espectro de infravermelho do complexo **8C**

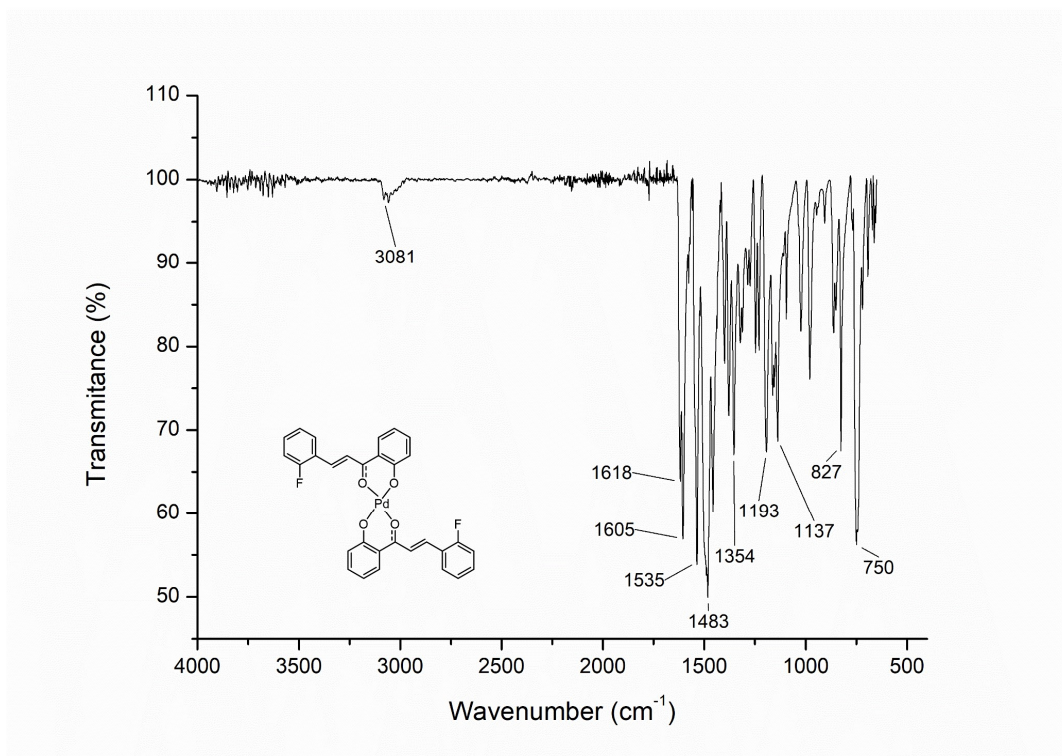


Figura A5. Espectro de infravermelho do complexo **9C**

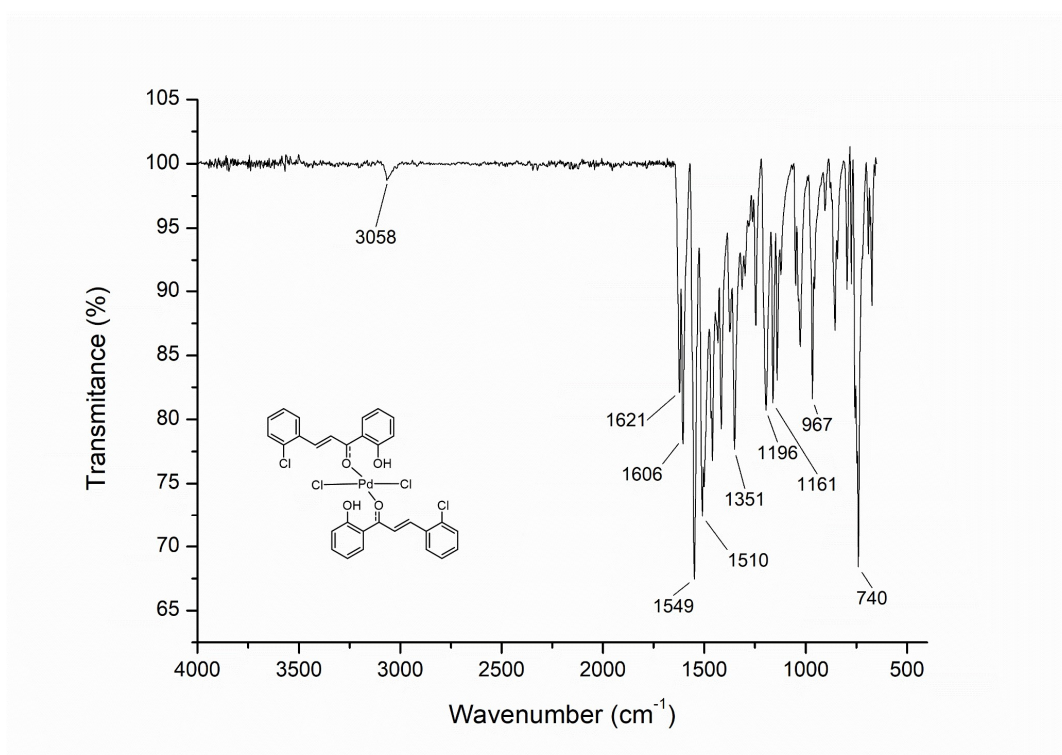


Figura A6. Espectro de infravermelho da chalcona **10**

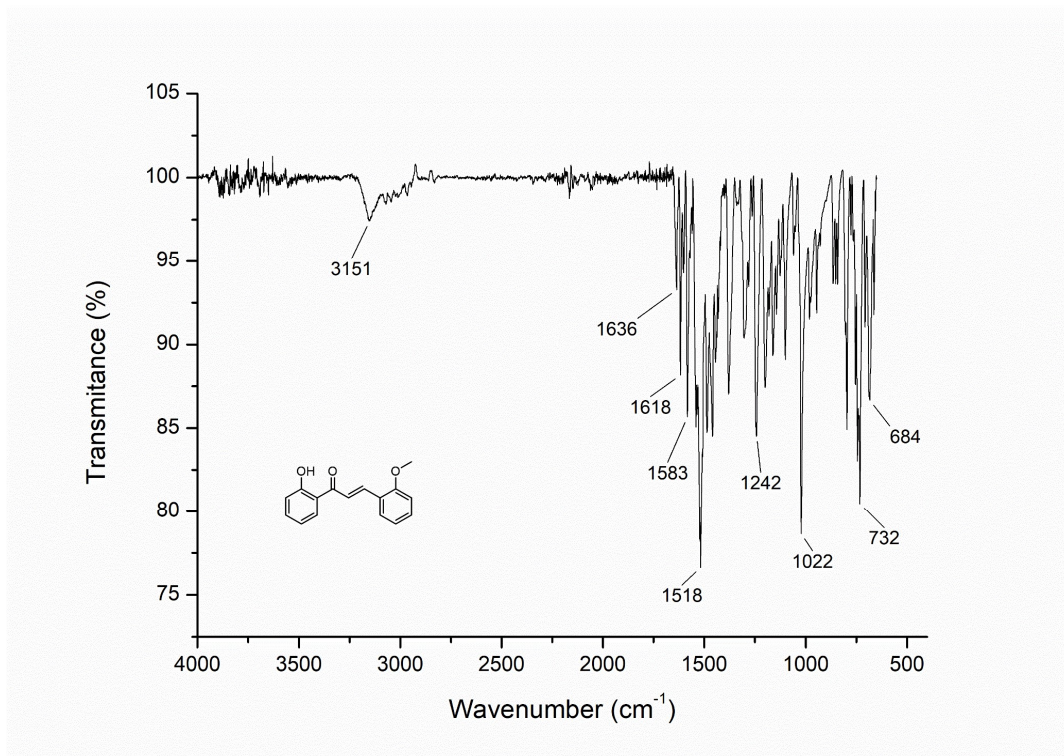


Figura A7. Espectro de infravermelho do complexo **10C**

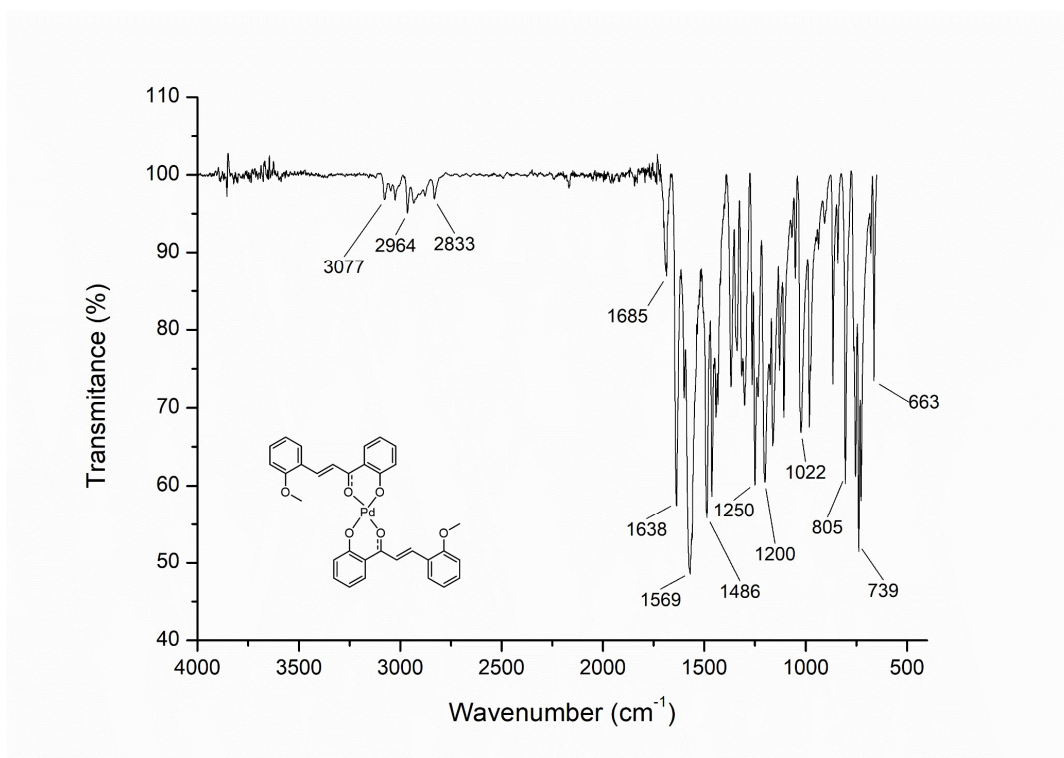


Figura A8. Espectro de infravermelho do complexo **12**

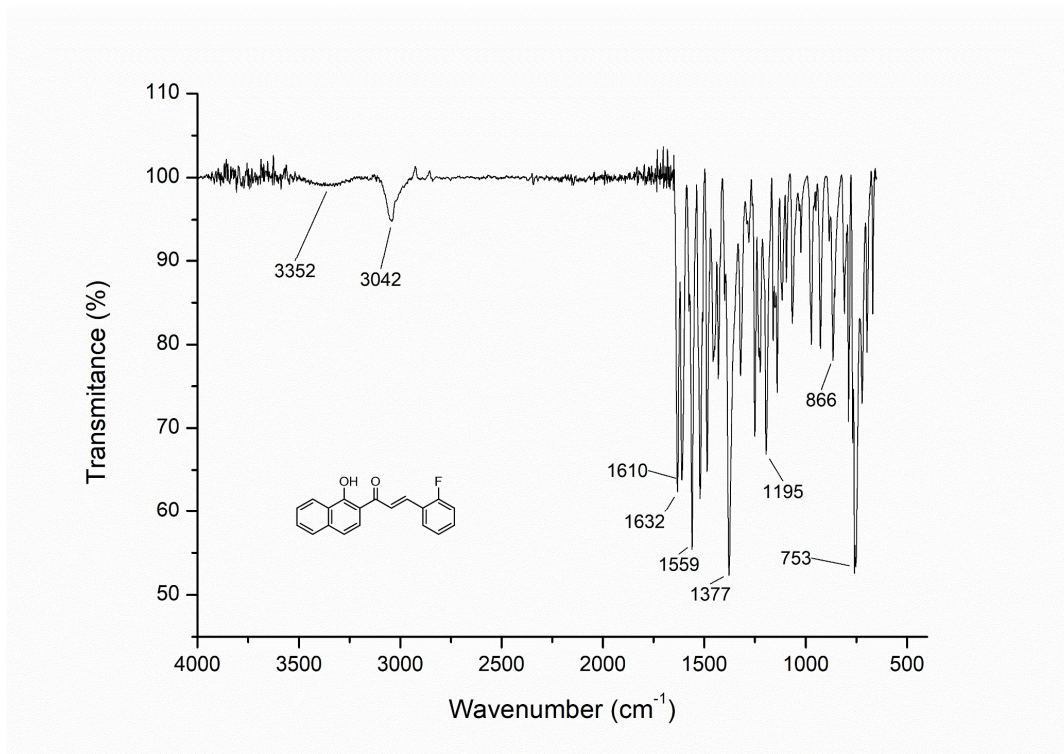


Figura A9. Espectro de infravermelho do complexo **12C**

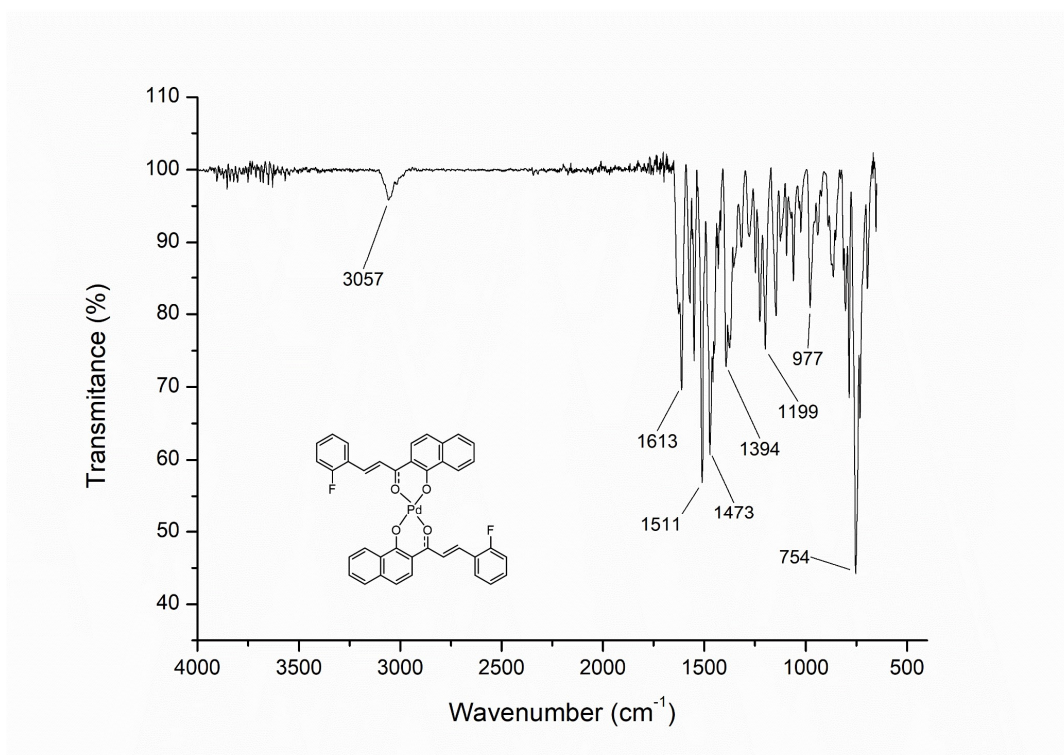


Figura A10. Espectro de infravermelho do complexo **13**

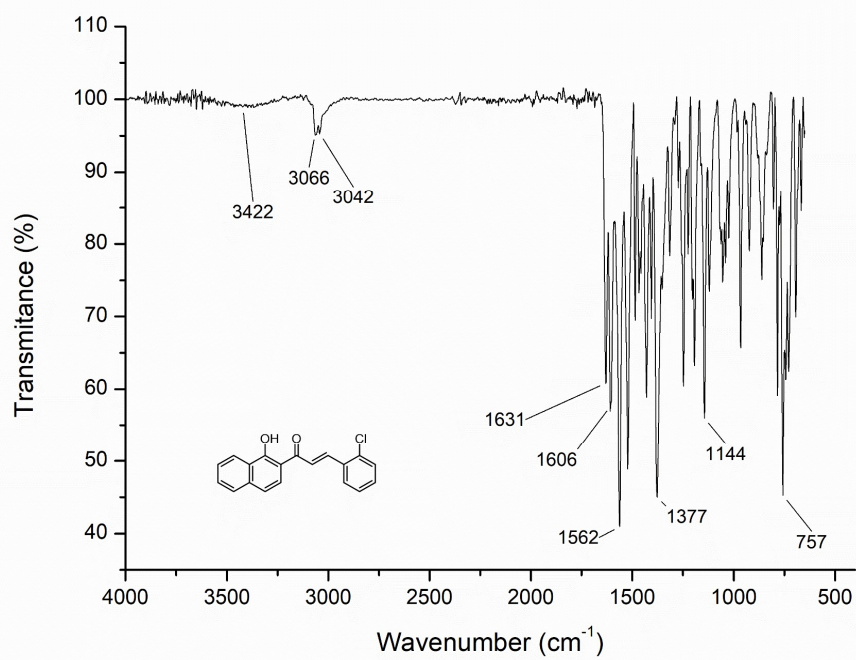


Figura A11. Espectro de infravermelho do complexo **13C**

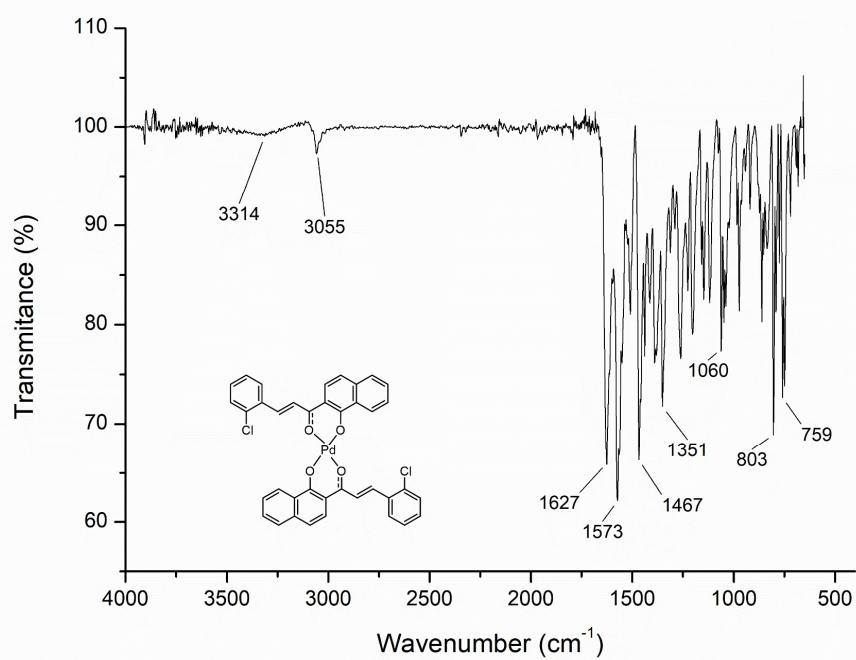
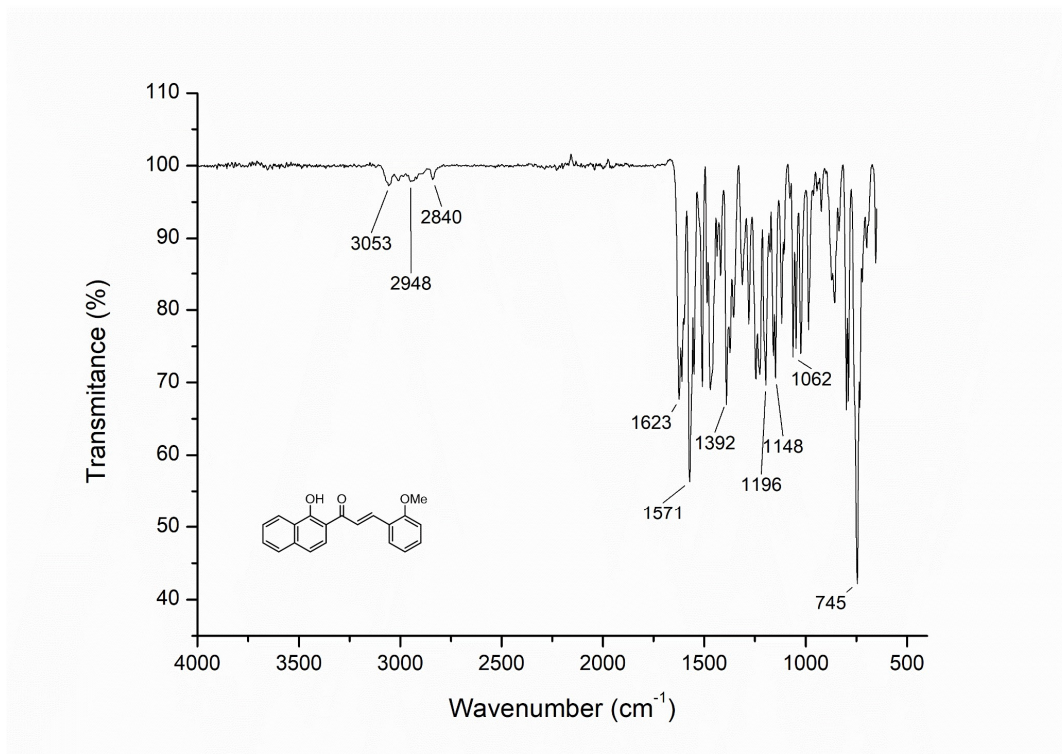
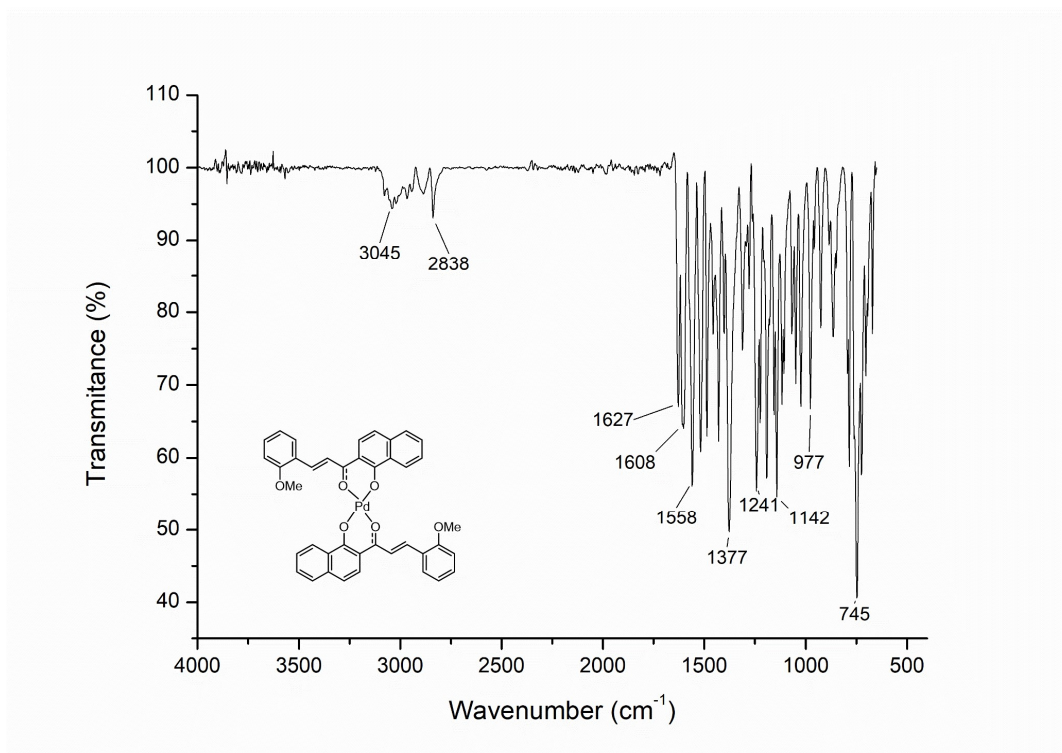


Figura A12. Espectro de infravermelho do complexo **14****Figura A13.** Espectro de infravermelho do complexo **14C**

9.2 Caracterização por UV-vis

Figura A14. Espectro de UV-vis do ligante **7** e o complexo **7C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

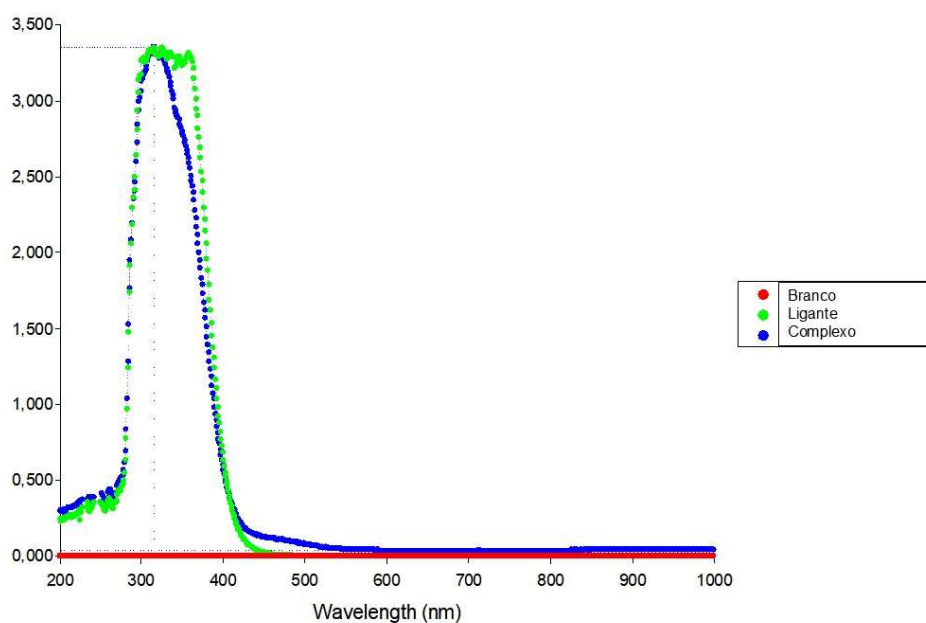


Figura A15. Espectro de UV-vis do ligante **8** e o complexo **8C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

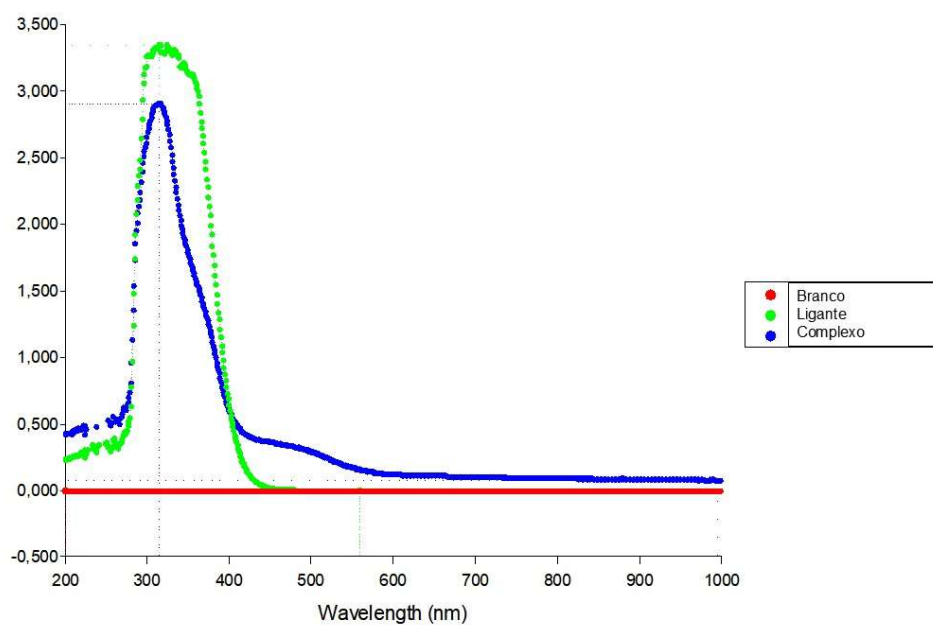


Figura A16. Espectro de UV-vis ligante **10** e o complexo **10C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

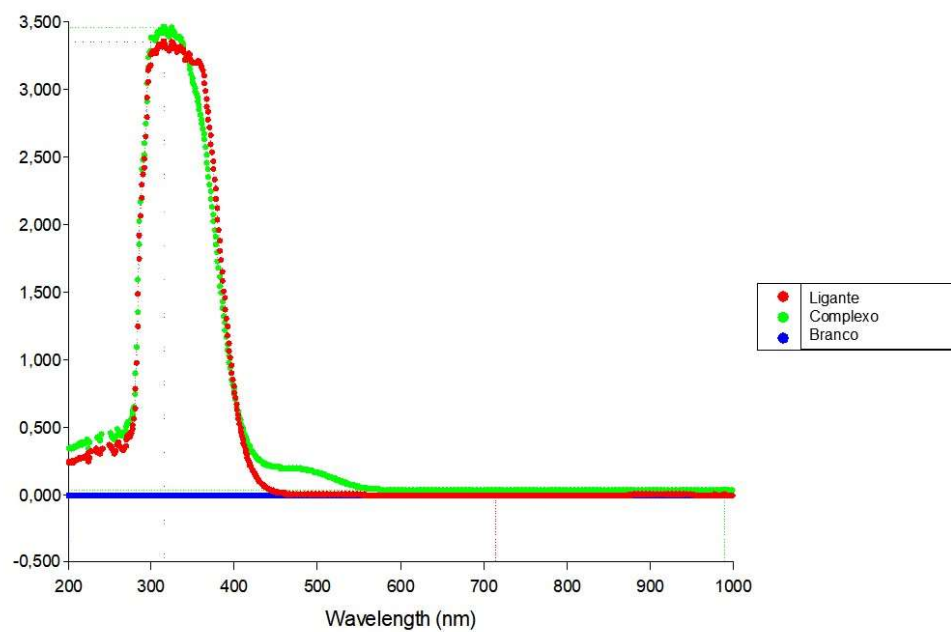


Figura A17. Espectro de UV-vis do ligante **11** e o complexo **11C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

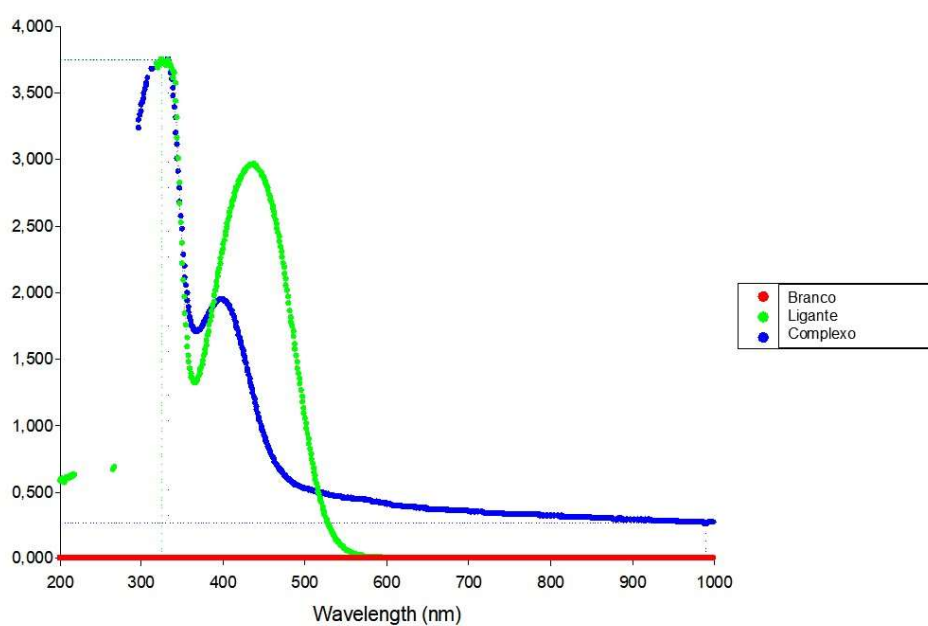


Figura A18. Espectro de UV-vis do ligante **12** e o complexo **12C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

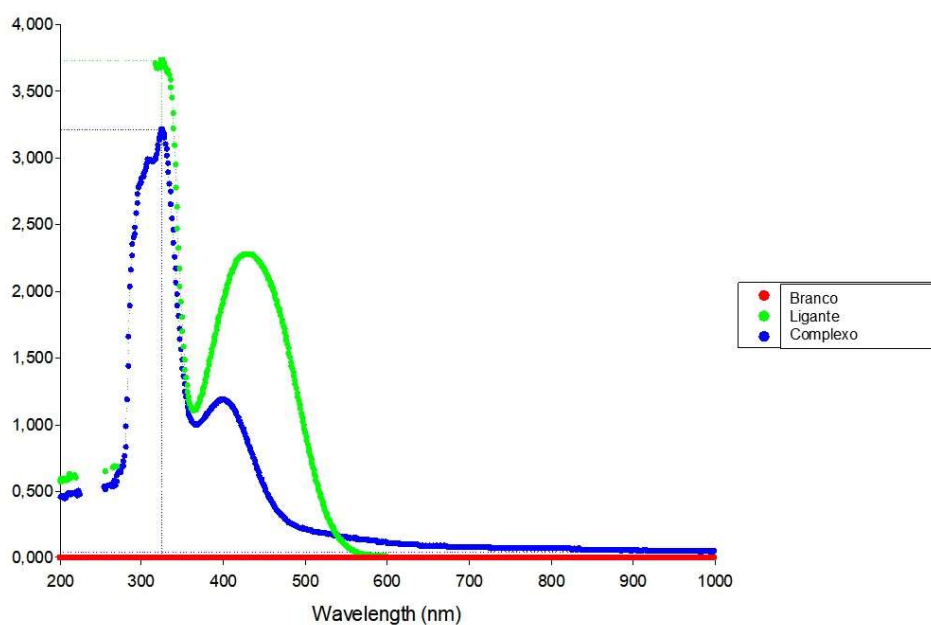


Figura A19. Espectro de UV-vis do ligante **13** e o complexo **13C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

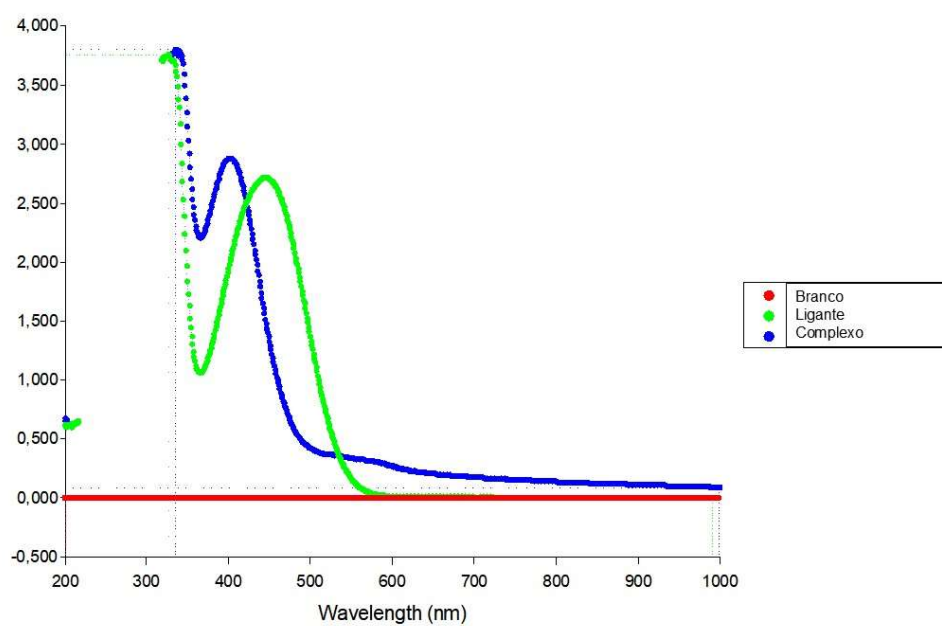
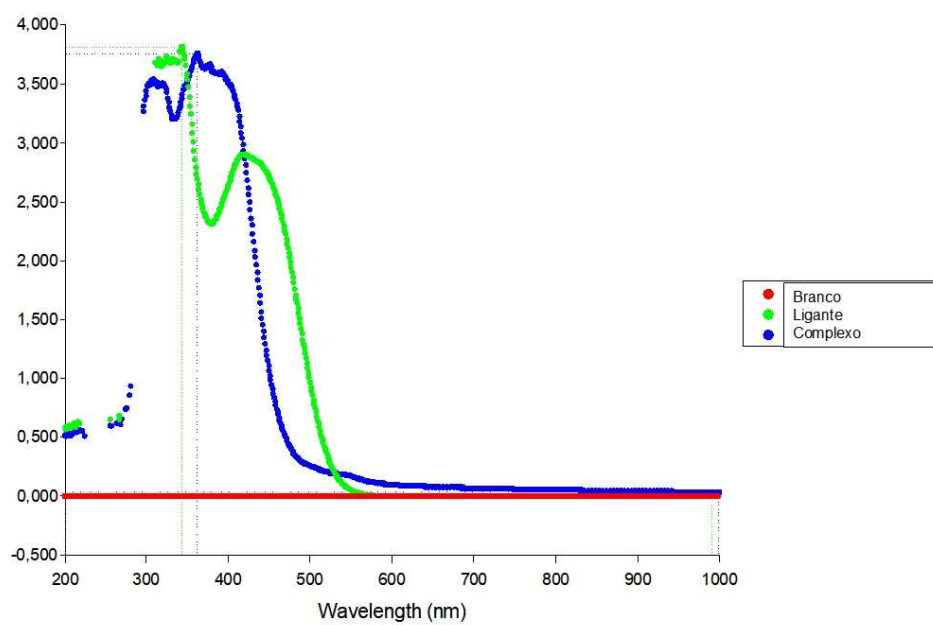


Figura A20. Espectro de UV-vis do ligante **14** e o complexo **14C** em solução de acetonitrila (10^{-5} mol L^{-1}).

L⁻¹).

9.3 Caracterização por espectroscopia de RMN

Figura A21. Espectros de RMN de ^1H do ligante **7** e complexo **7C** obtido em DMSO-d_6 (400 MHz).

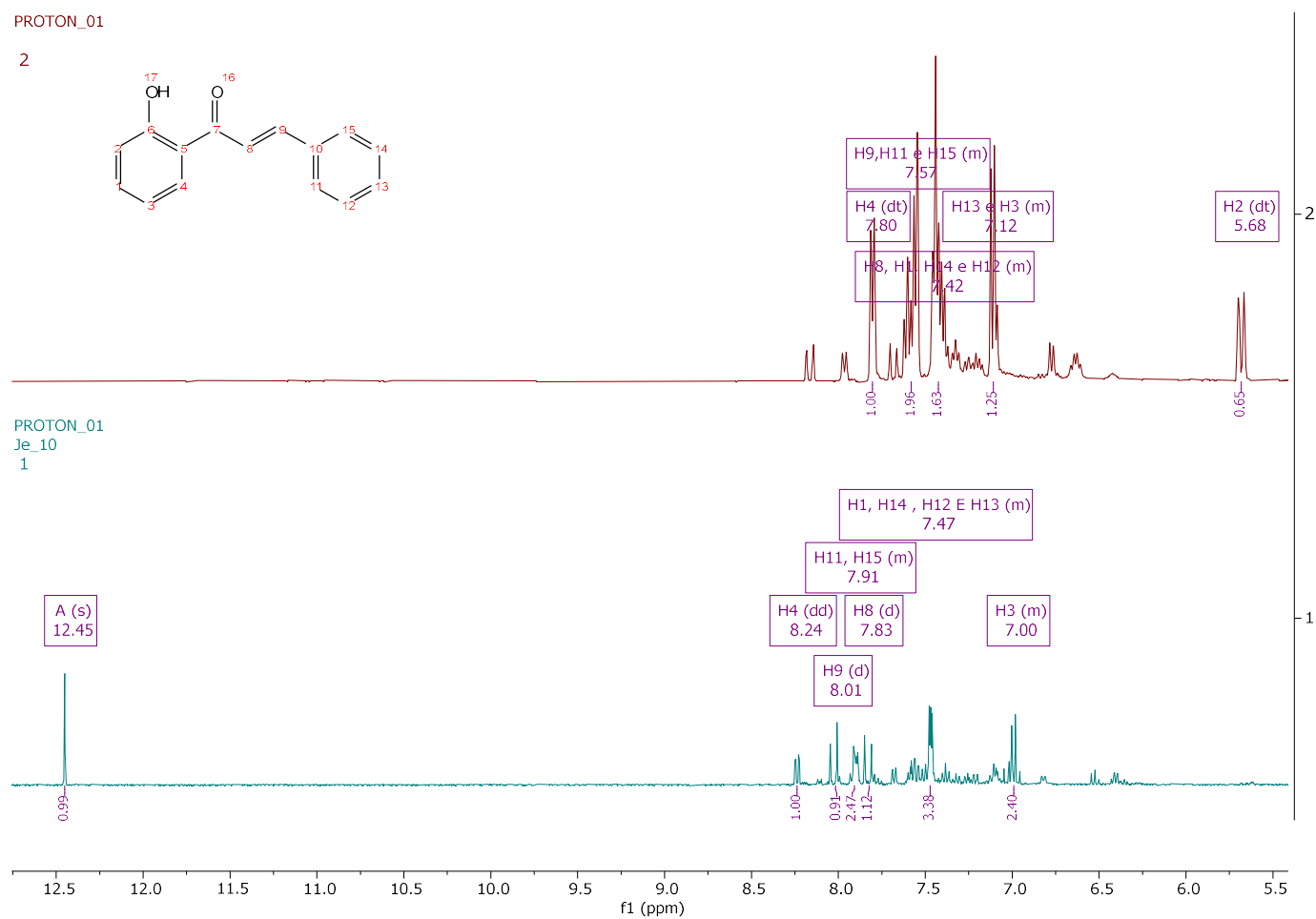


Figura A22. Espectros de RMN de ^1H do ligante **8** e complexo **8C** obtido em DMSO-d_6 (400 MHz).

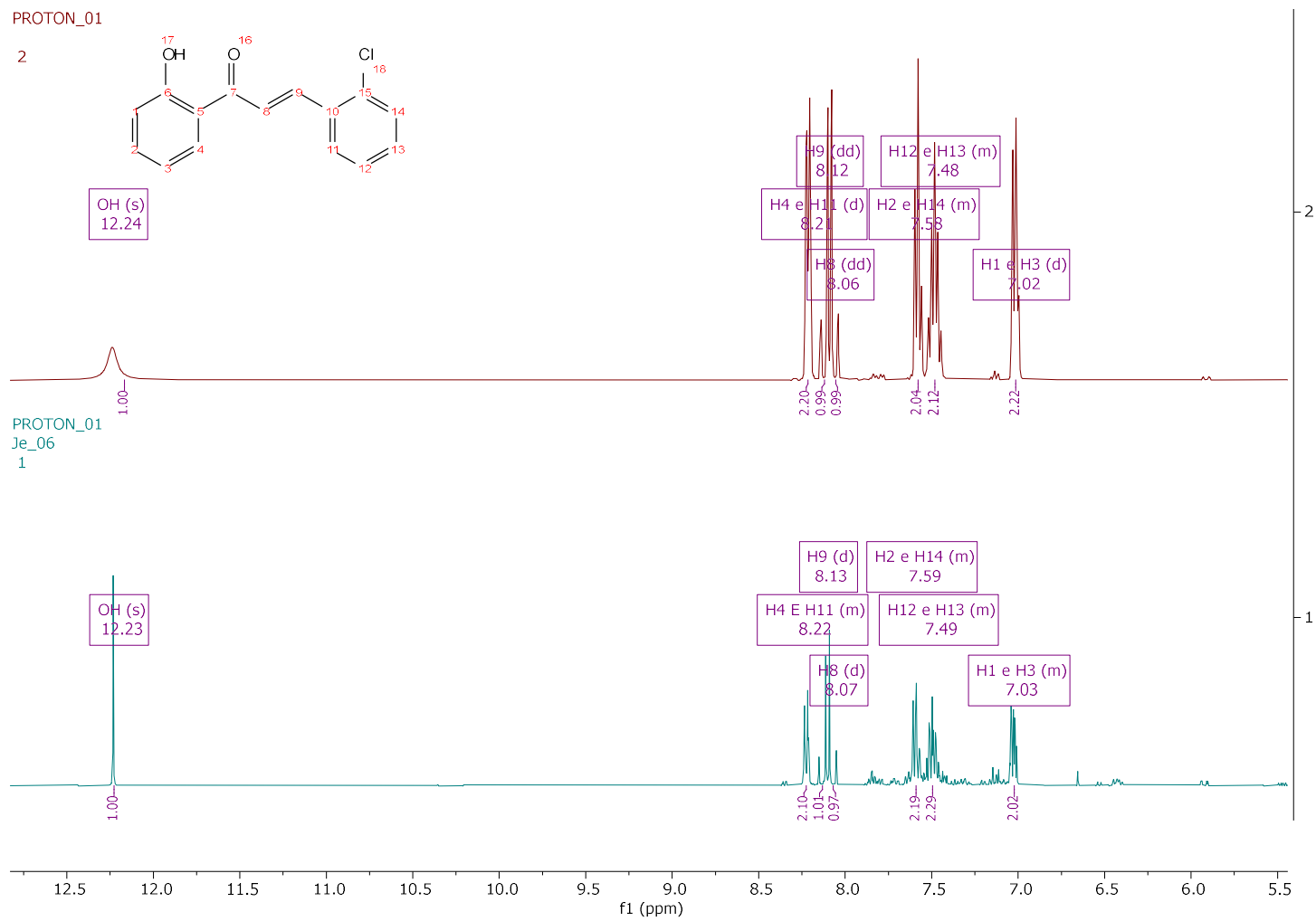
Figura A23. Espectros de RMN de ^1H do ligante **9** e complexo **9C** obtido em DMSO-d_6 (400 MHz).

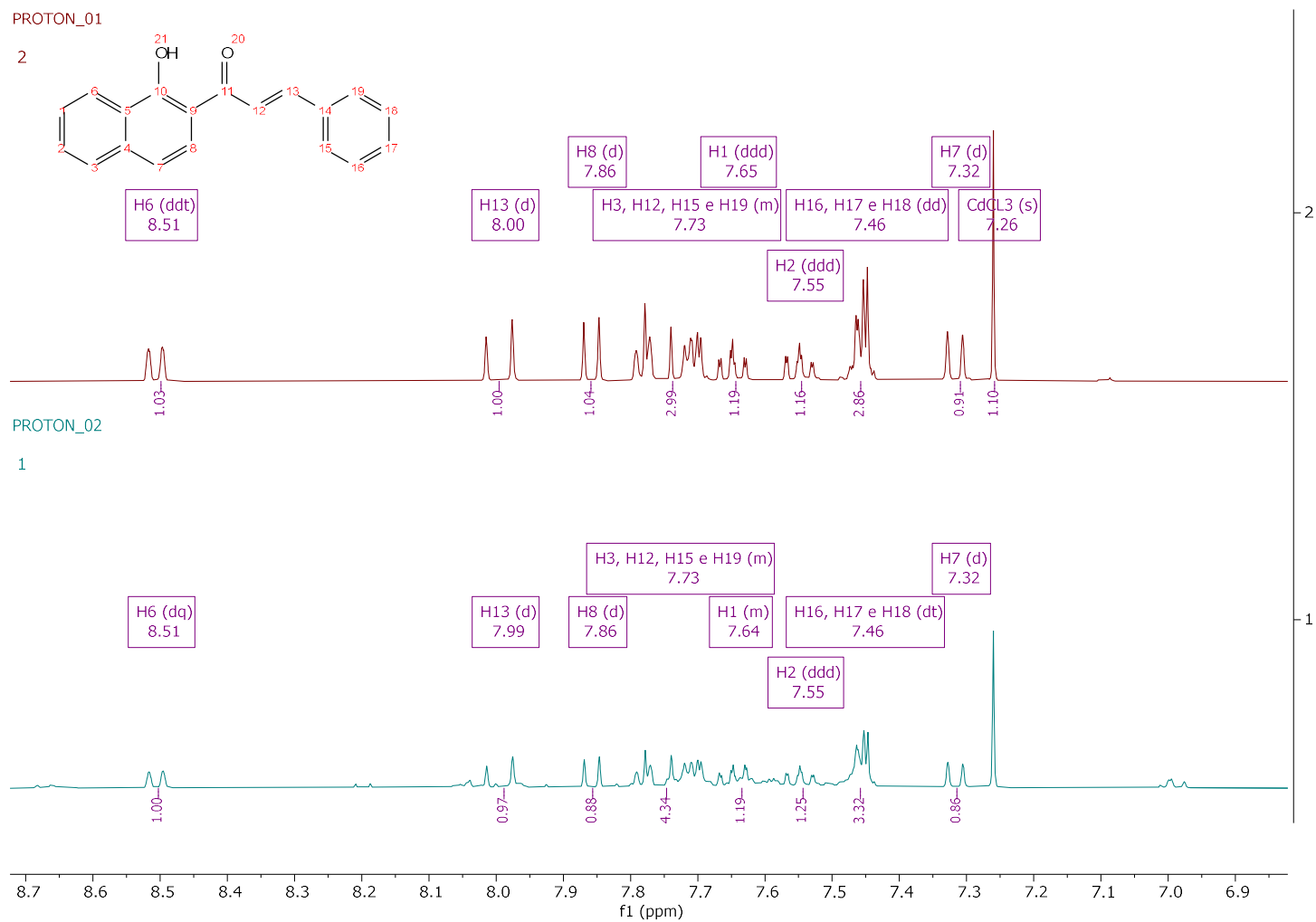
Figura A24. Espectros de RMN de ^1H do ligante **11** e complexo **11C** obtido em $\text{CDCl}_3\text{-d}$ (400 MHz).

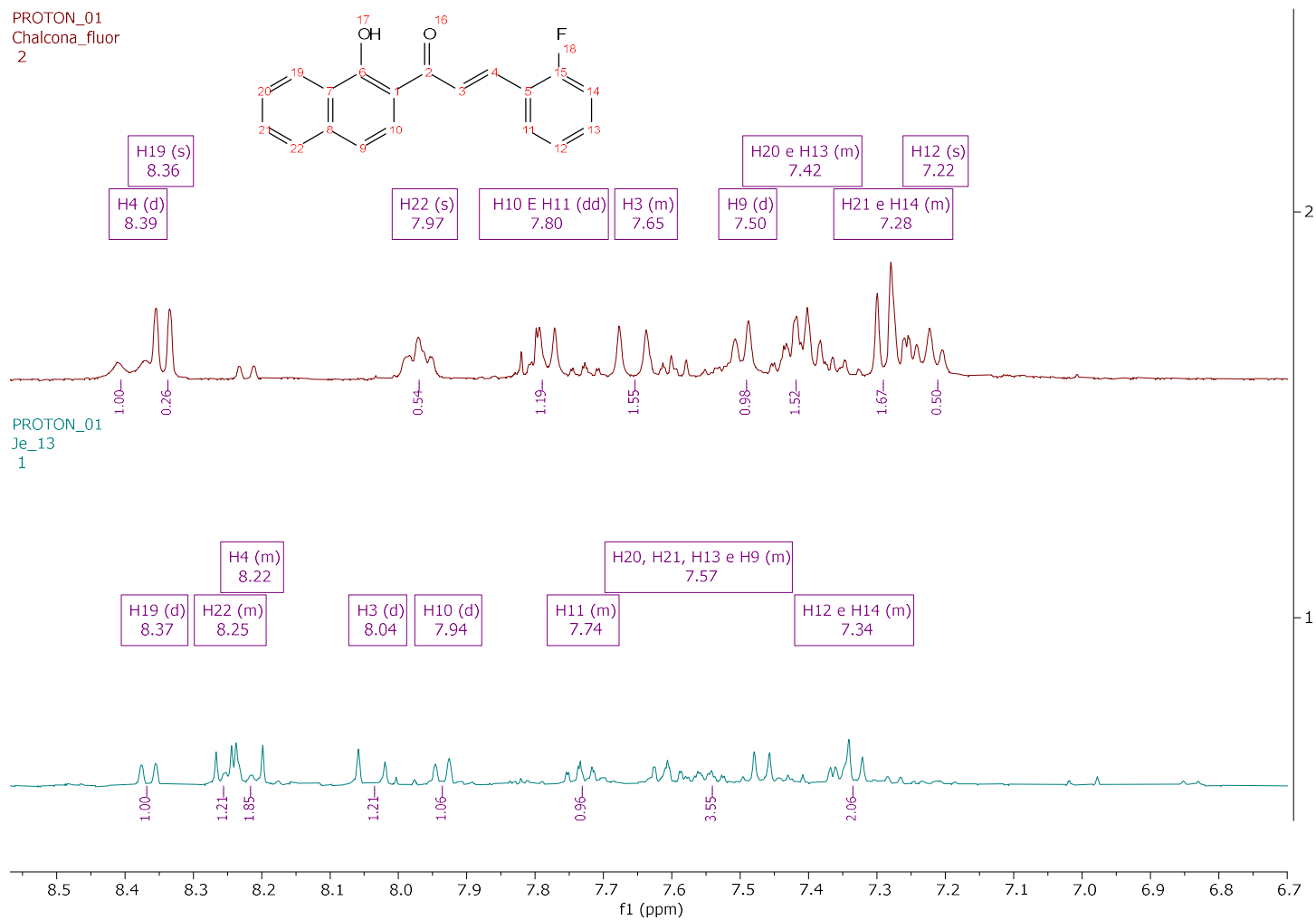
Figura A25. Espectros de RMN de ^1H do ligante **12** e complexo **12C** obtido em DMSO-d_6 (400 MHz).

Figura A26. Espectros de RMN de ^1H do ligante **13** e complexo **13C** obtido em DMSO-d_6 (400 MHz).

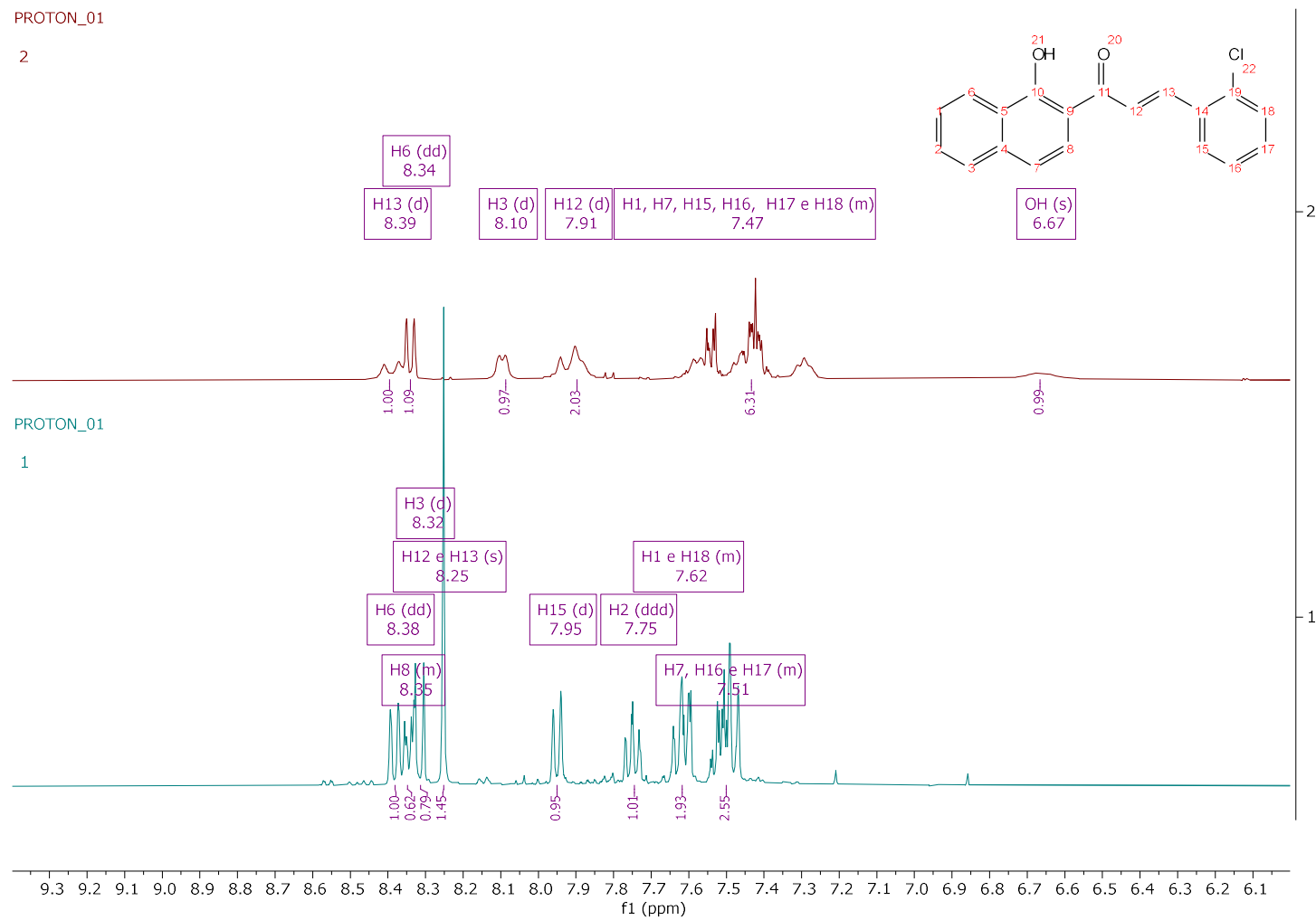
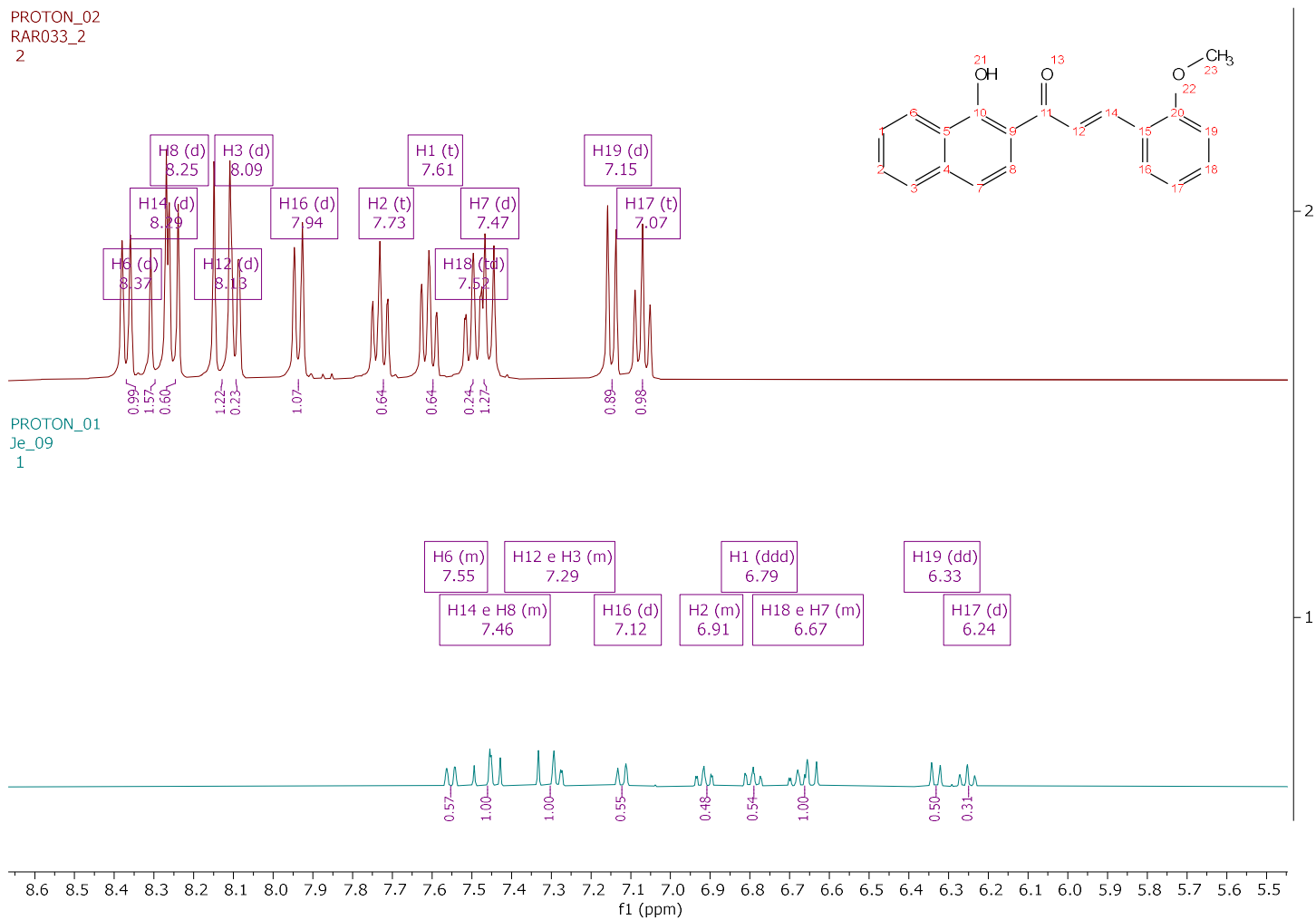


Figura A27. Espectros de RMN de ^1H do ligante **14** e complexo **14C** obtido em DMSO-d_6 (400 MHz).



9.4 Análise termogravimétrica (TG)

Figura A28. Curva TG do Complexo 7C

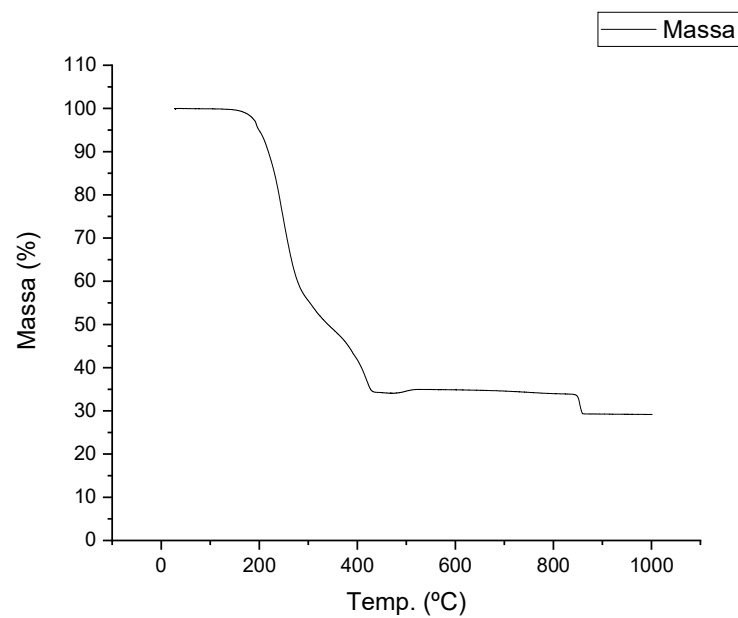


Figura A29. Curva TG do Complexo 8C

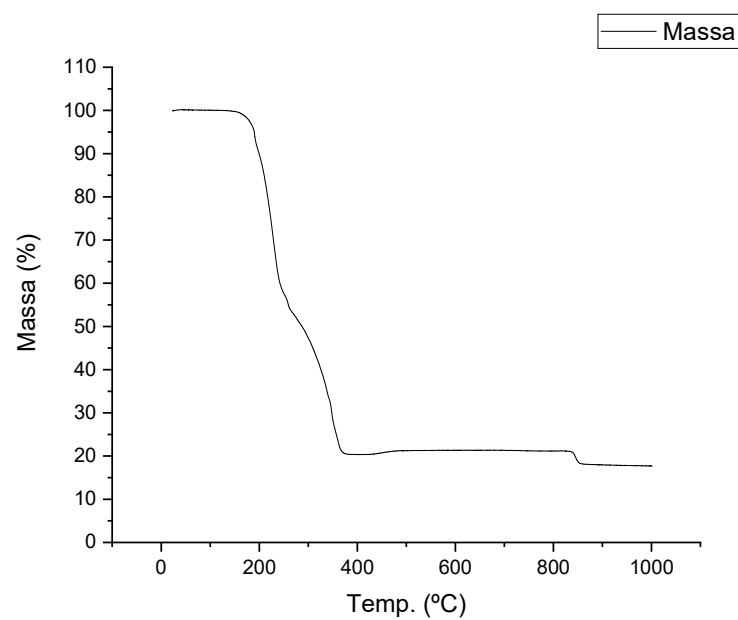


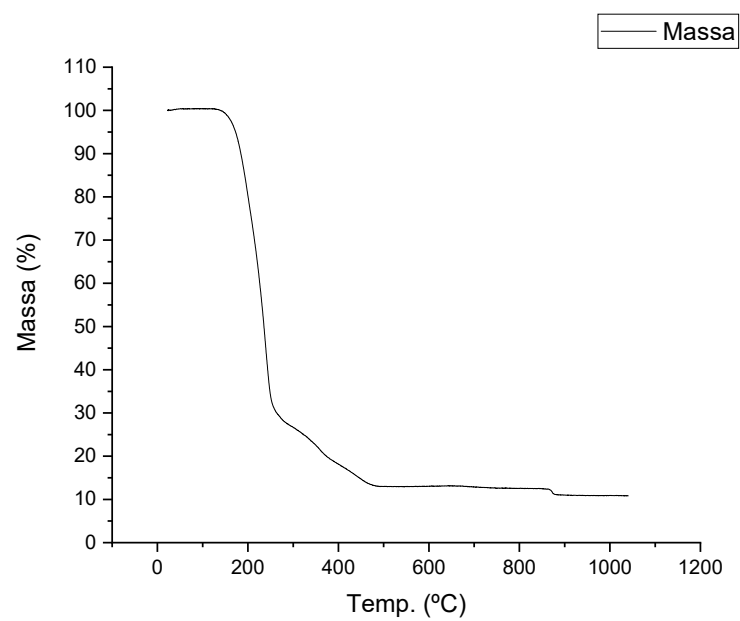
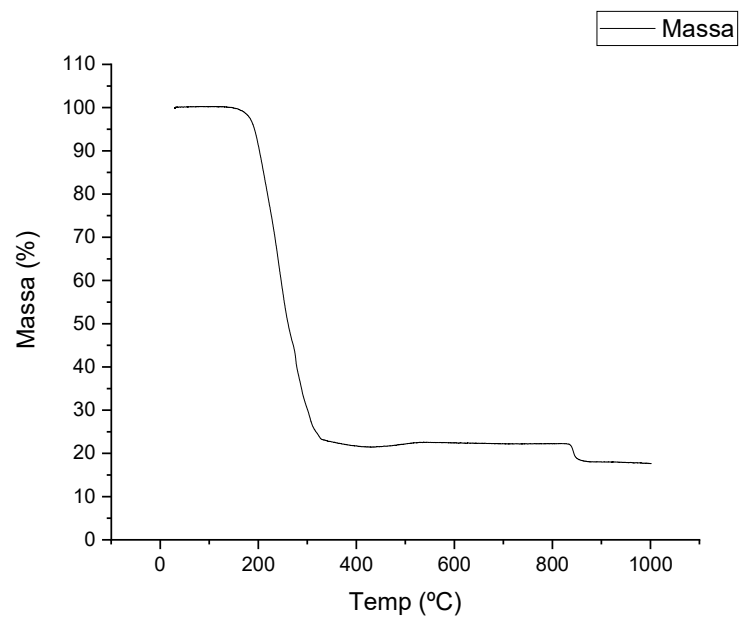
Figura A30. Curva TG do Complexo **9C****Figura A31.** Curva TG do Complexo **10C**

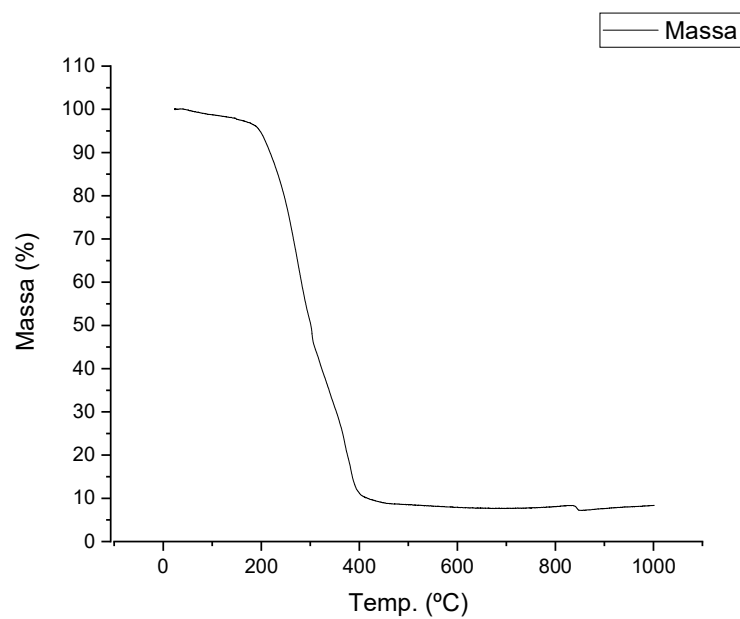
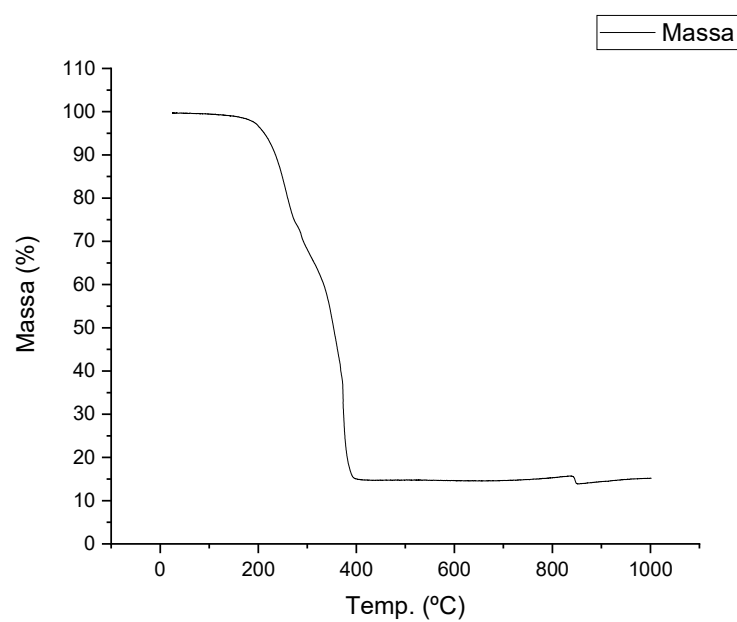
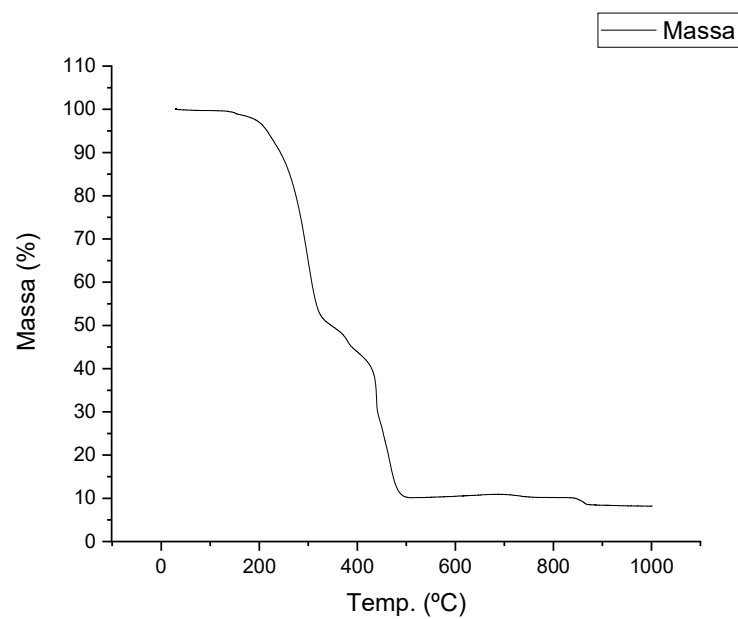
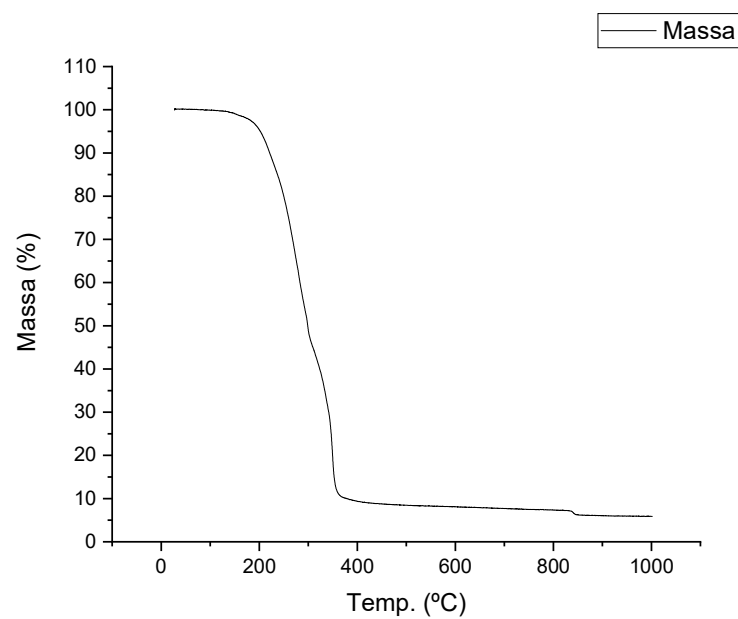
Figura A32. Curva TG do Complexo **11C****Figura A33.** Curva TG do Complexo **12C**

Figura A34. Curva TG do Complexo **13C****Figura A35.** Curva TG do Complexo **14C**

9.5 Cálculos termogravimétricos dos complexos

9.5.1 Complexo 7C – $C_{30}H_{24}Cl_2O_4Pd$

$$M_{7C} = 625,84g \cdot mol^{-1}$$

Pela TGA, o resíduo final correspondeu a 29,2 % da massa inicial, implicando uma perda total experimental de:

$$\% \Delta m_{exp} = 100 - 29,2 = 70,8\%$$

Com base na interpretação térmica, o resíduo foi atribuído a PdO + 5C. A massa molar desse resíduo é:

$$M_{PdO} = 106,42 + 16 = 122,42g \cdot mol^{-1}$$

$$M_{PdO+5C} = 122,42 + 5 \cdot (12) = 182,42g \cdot mol^{-1}$$

A fração teórica de resíduo é, então:

$$\%R = \frac{182,42}{625,84} \cdot 100 \approx 29,2\%$$

9.5.2 Complexo 8C – $C_{30}H_{20}F_2O_4Pd$

$$M_{8C} = 588,91g \cdot mol^{-1}$$

A TGA indicou um resíduo final de 17,8 %, logo:

$$\% \Delta m_{exp} = 100 - 17,8 = 82,2\%$$

Admitindo que o resíduo seja paládio metálico (Pd⁰), a fração teórica de Pd é:

$$\%Pd_{calc} = \frac{106,42}{588,89} \cdot 100 \approx 18,1\%$$

9.5.3 Complexo 9C – $C_{30}H_{22}Cl_4O_4Pd$

$$M_{9C} = 694,73g \cdot mol^{-1}$$

O resíduo obtido por TGA foi de 10,8 %, o que implica:

$$\% \Delta m_{exp} = 100 - 10,8 = 89,2\%$$

Se todo o metal permanecesse como Pd⁰, a fração teórica seria:

$$\%R = \frac{106,42}{694,73} \cdot 100 \approx 15,3\%$$

Diferença entre o valor experimental (10,8 %) e o teórico (~15,3 %).

9.5.4 Complexo 11C – C₃₈H₂₈Cl₂O₄Pd

$$M_{11C} = 725,95 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Resíduo experimental: 8,3 %

$$\% \Delta m_{\text{exp}} = 100 - 8,3 = 91,7\%$$

Teoricamente, se o resíduo fosse apenas Pd:

$$\%R = \frac{106,42}{725,95} \cdot 100 \approx 14,6\%$$

Diferença entre o valor experimental (8,3 %) e o teórico (~14,6 %).

9.5.5 Complexo 12C – C₃₈H₂₄F₂O₄Pd

$$M_{12C} = 689,01 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Resíduo experimental: 15,2 %

$$\% \Delta m_{\text{exp}} = 100 - 15,2 = 84,8\%$$

Teórico (Pd metálico):

$$\%Pd_{\text{calc}} = \frac{106,42}{689,01} \cdot 100 \approx 15,4\%$$

9.5.6 Complexo 13C – C₃₈H₂₄Cl₂O₄Pd

$$M_{13C} = 721,93 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Resíduo experimental: 8,2 %

$$\% \Delta m_{\text{exp}} = 100 - 8,2 = 91,8\%$$

Teoricamente, se apenas Pd permanecesse:

$$\%R = \frac{106,42}{721,93} \cdot 100 \approx 14,7\%$$

Diferença entre o valor experimental (8,2 %) e o teórico (~14,7 %).

9.5.7 Complexo 14C – C₄₀H₃₀O₆Pd

$$M_{14C} = 713,08 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Resíduo experimental: 5,9 %

$$\% \Delta m_{\text{exp}} = 100 - 5,9 = 94,1\%$$

Teoricamente, se apenas Pd permanecesse:

$$\%R = \frac{106,42}{713,08} \cdot 100 \approx 14,9\%$$

Diferença entre o valor experimental (5,9 %) e o teórico (~14,9 %).

9.6 Caracterização por Espectrometria de Massas

Figura A36. Espectros de massas, no modo positivo do complexo 7C

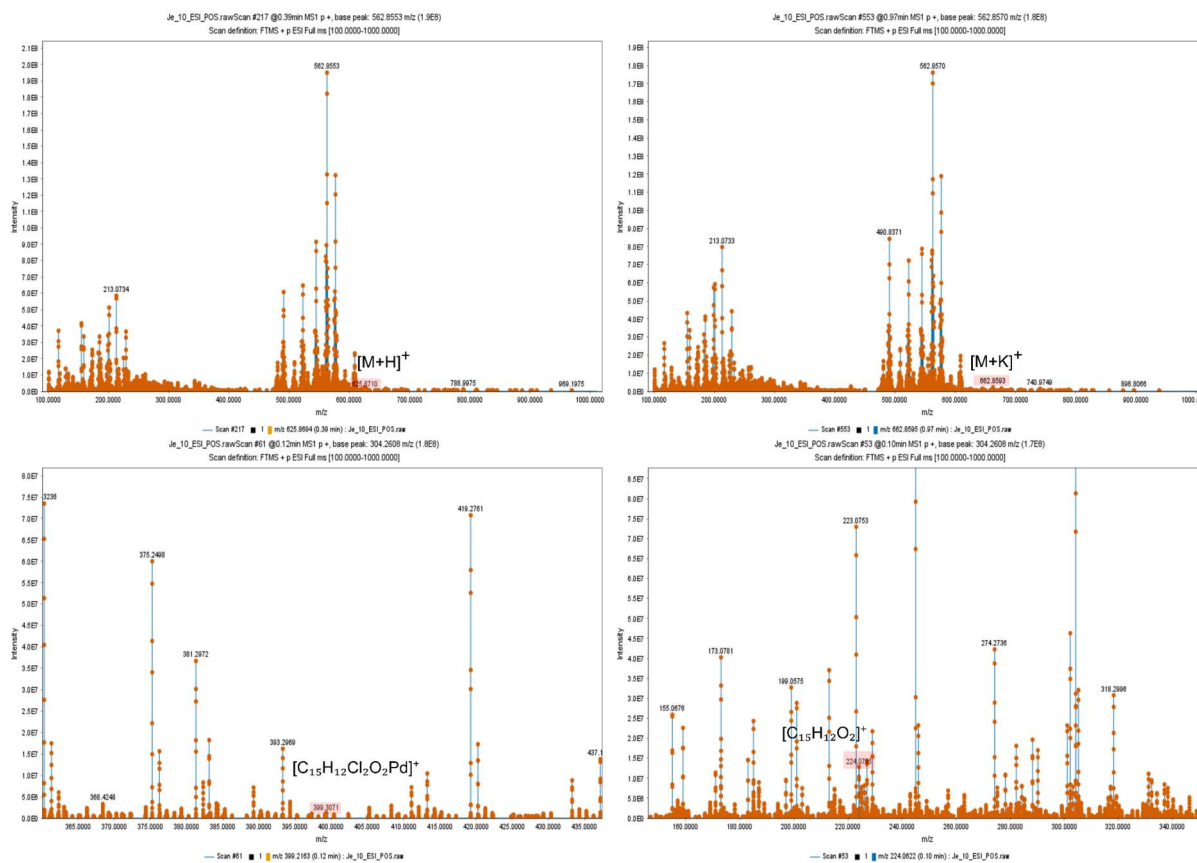


Figura A37. Espectros de massas, no modo positivo do complexo 8C

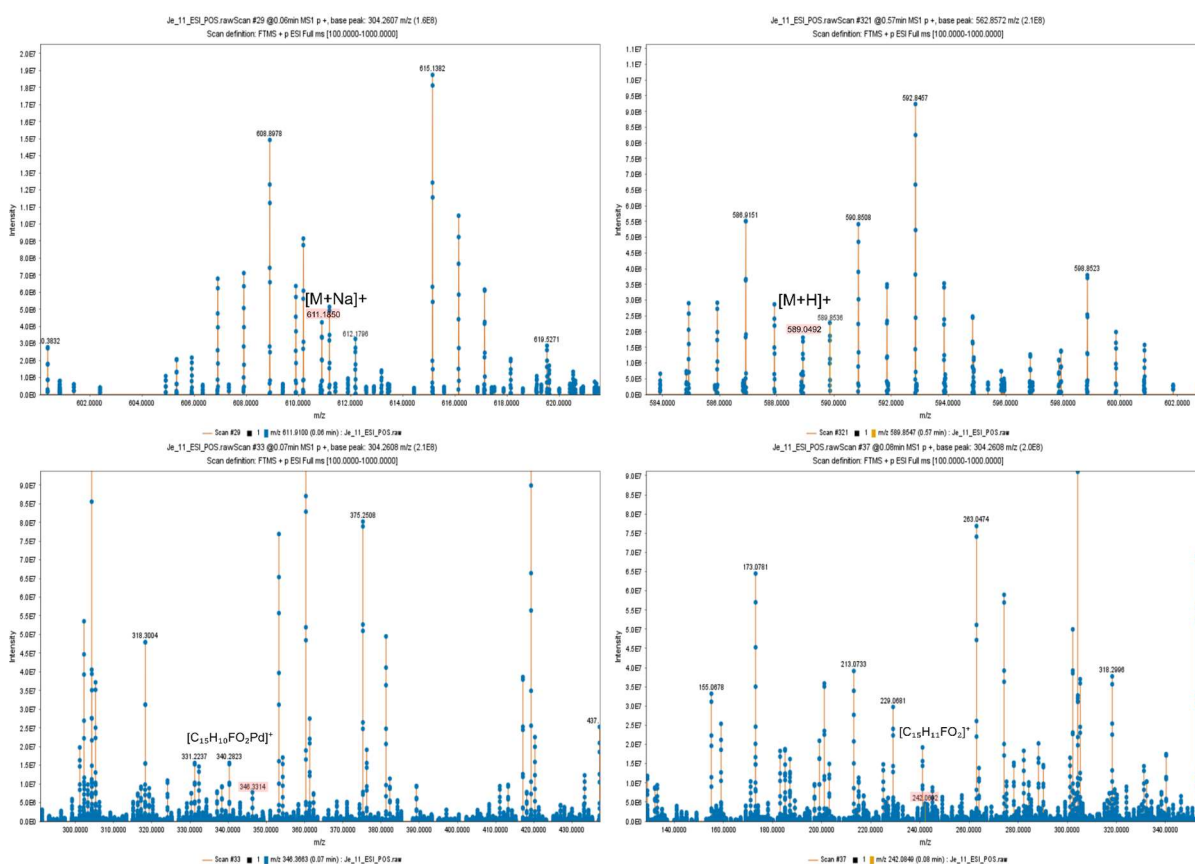


Figura A38. Espectros de massa, no modo positivo do complexo 9C

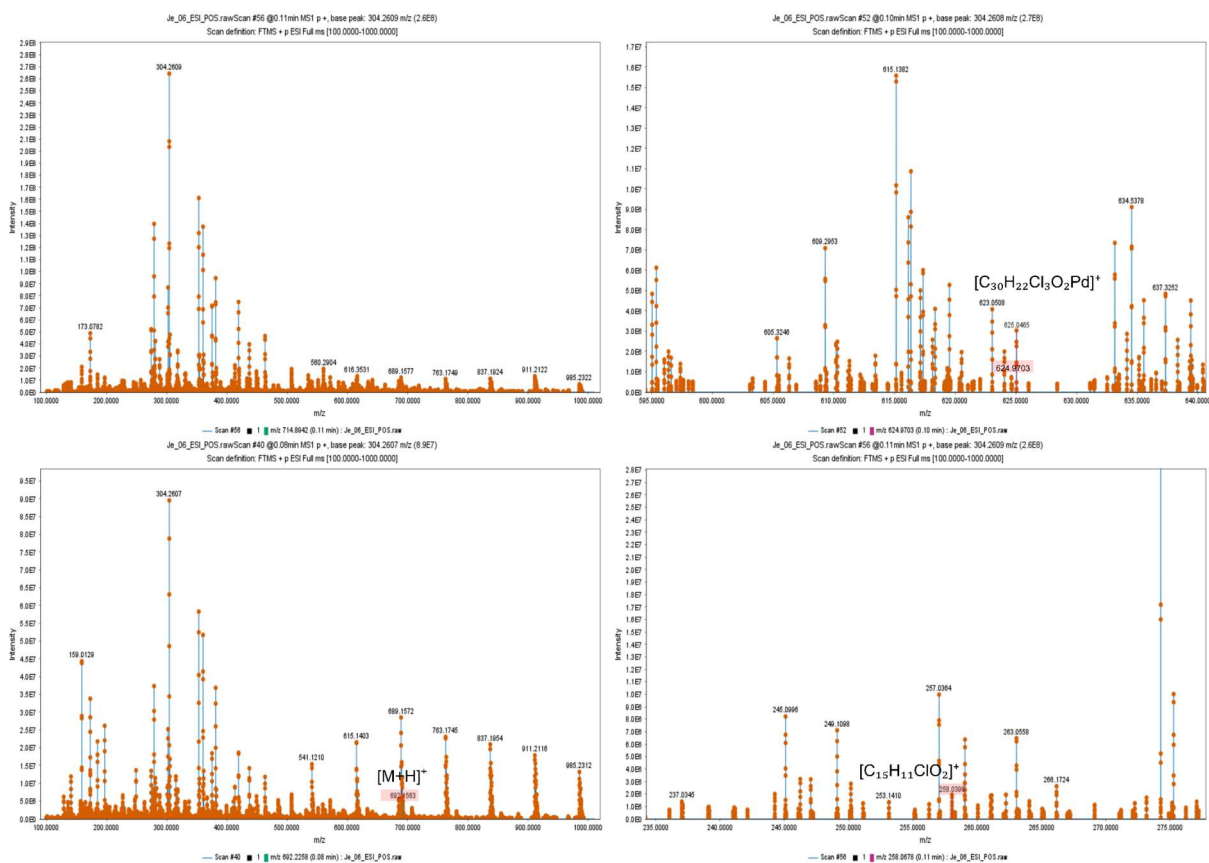


Figura A39. Espectros de massas, no modo positivo do complexo 10C

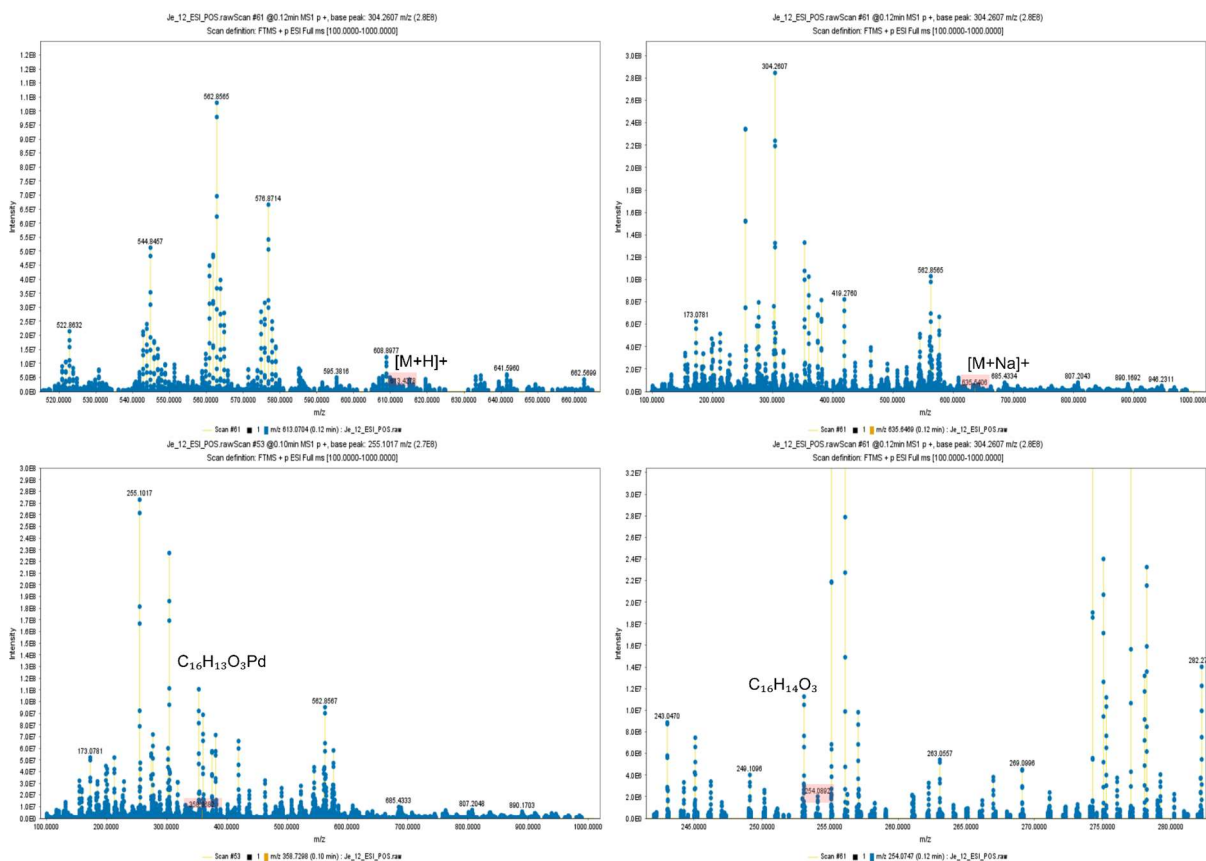


Figura A40. Espectros de massas, no modo positivo do complexo 11C

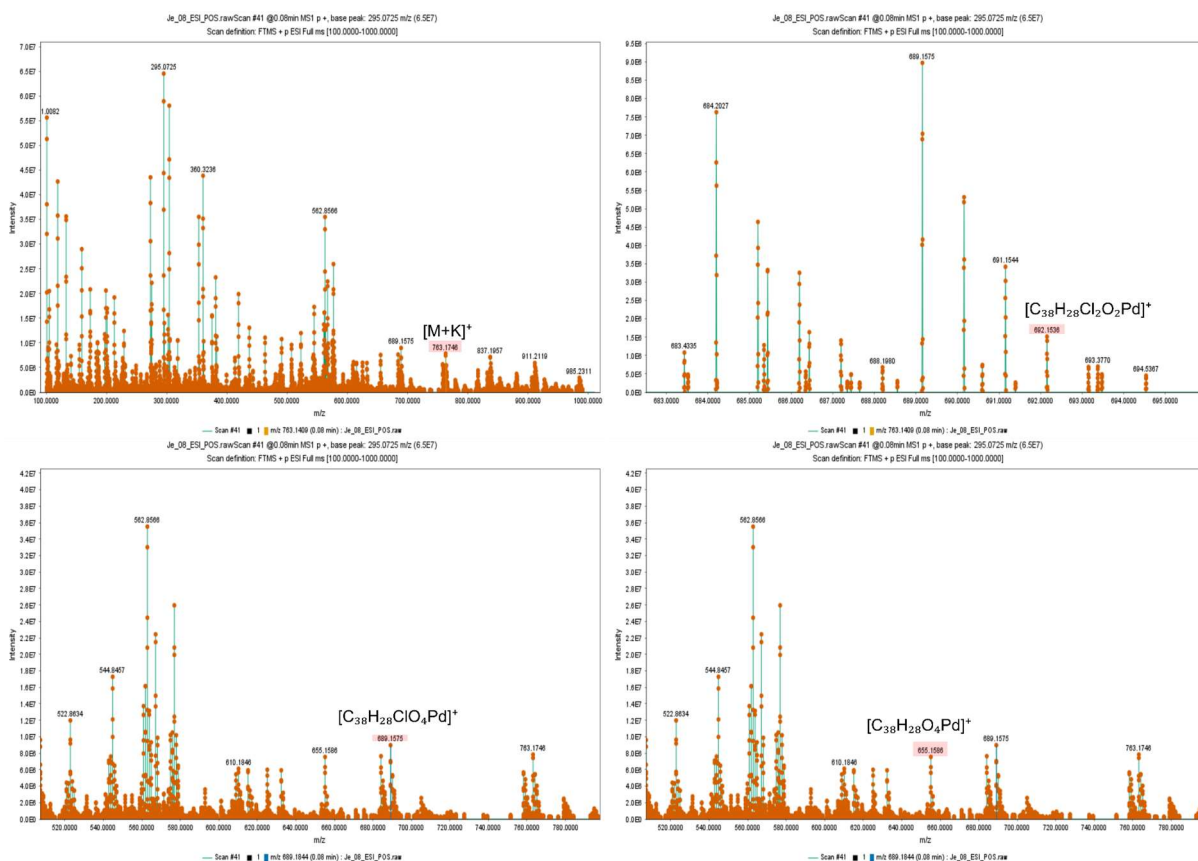


Figura A41. Espectros de massas, no modo positivo do complexo 12C

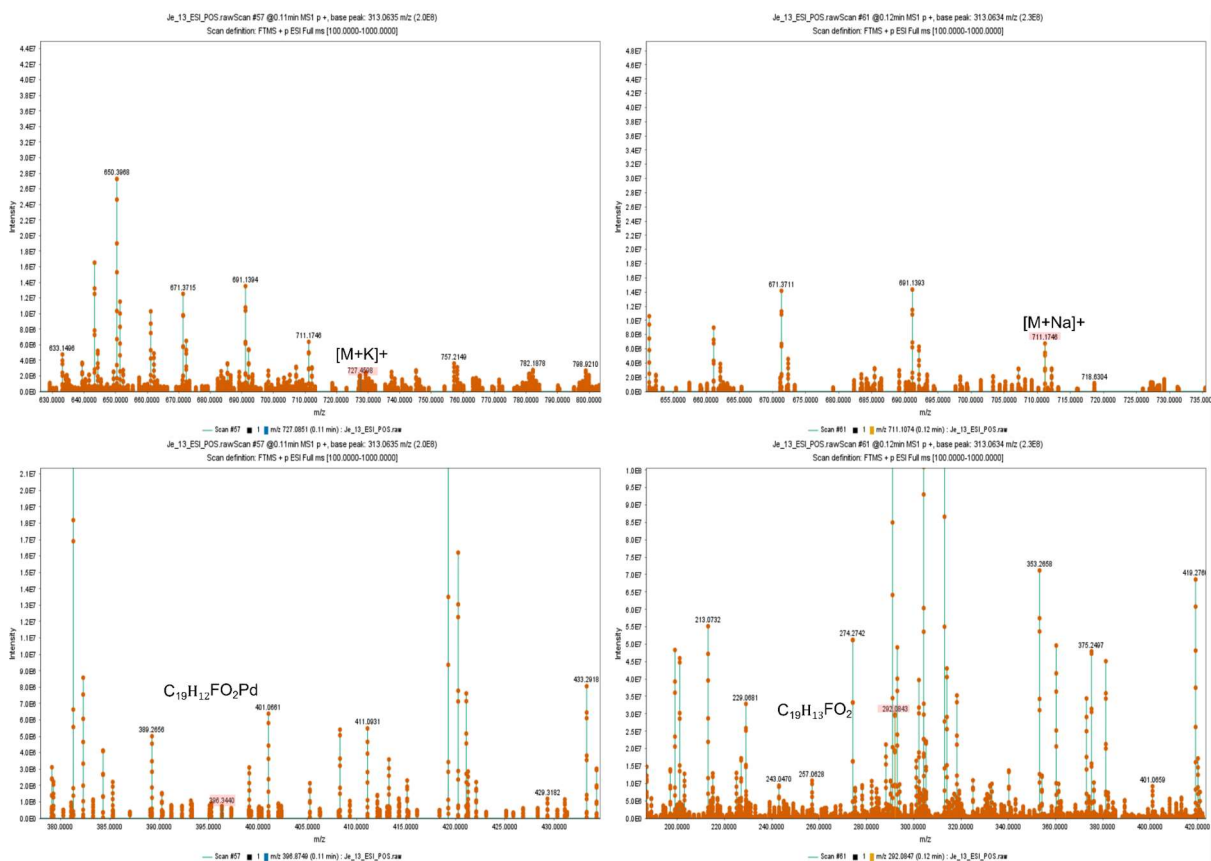


Figura A42. Espectros de massas, no modo positivo do complexo 13C

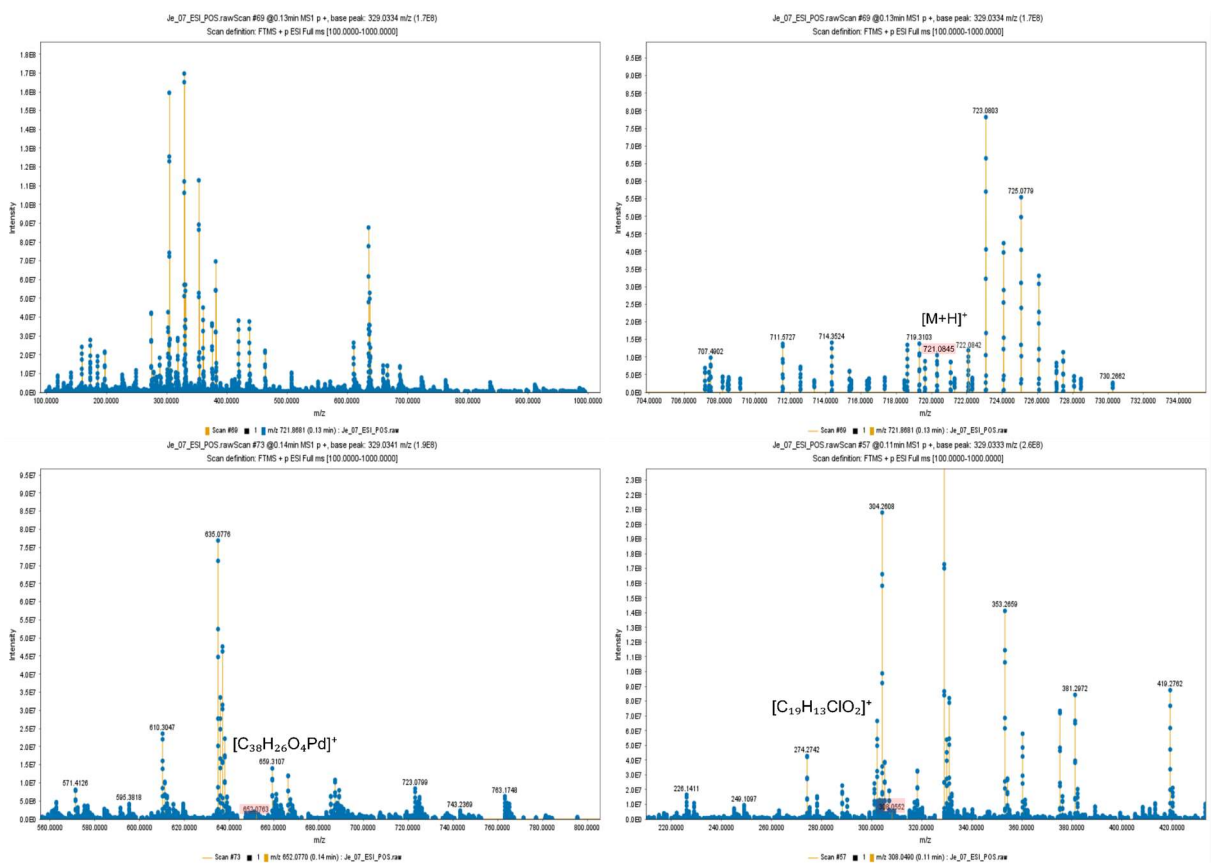
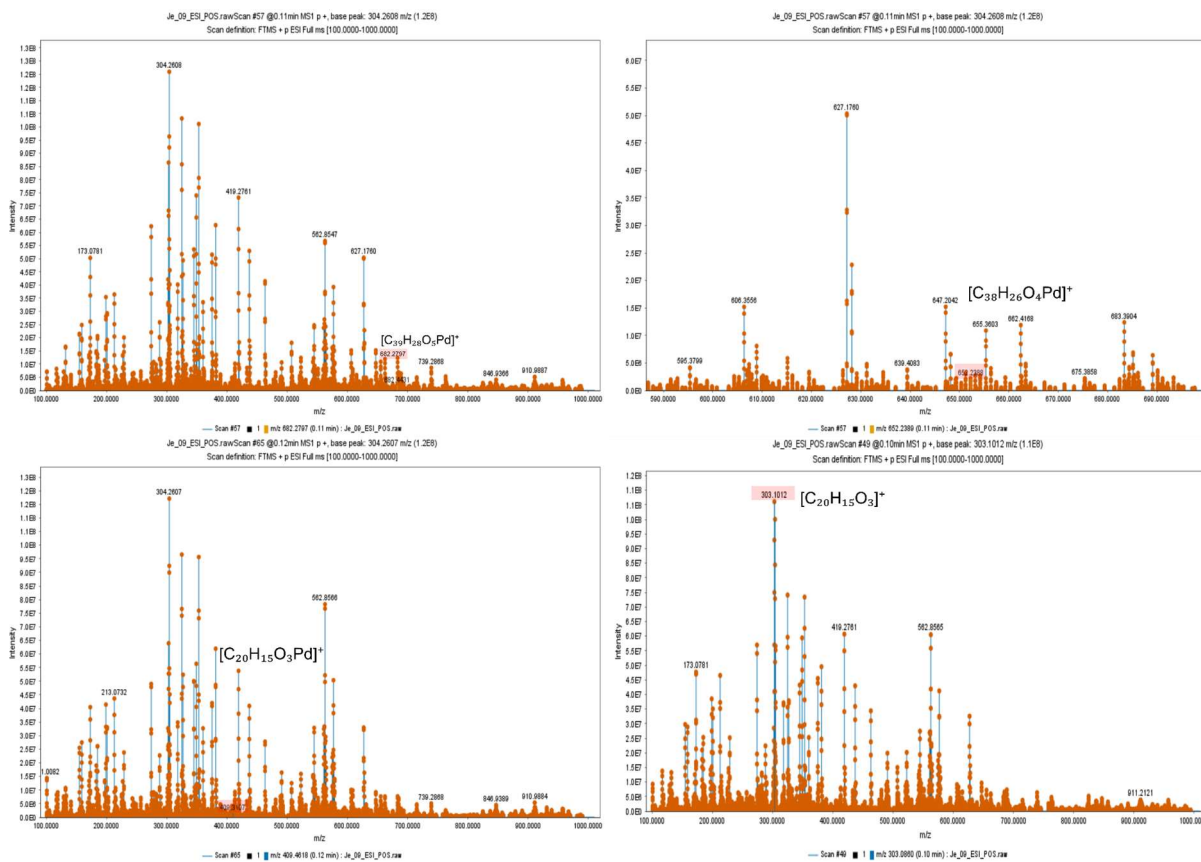


Figura A43. Espectros de massas, no modo positivo do complexo **14C**



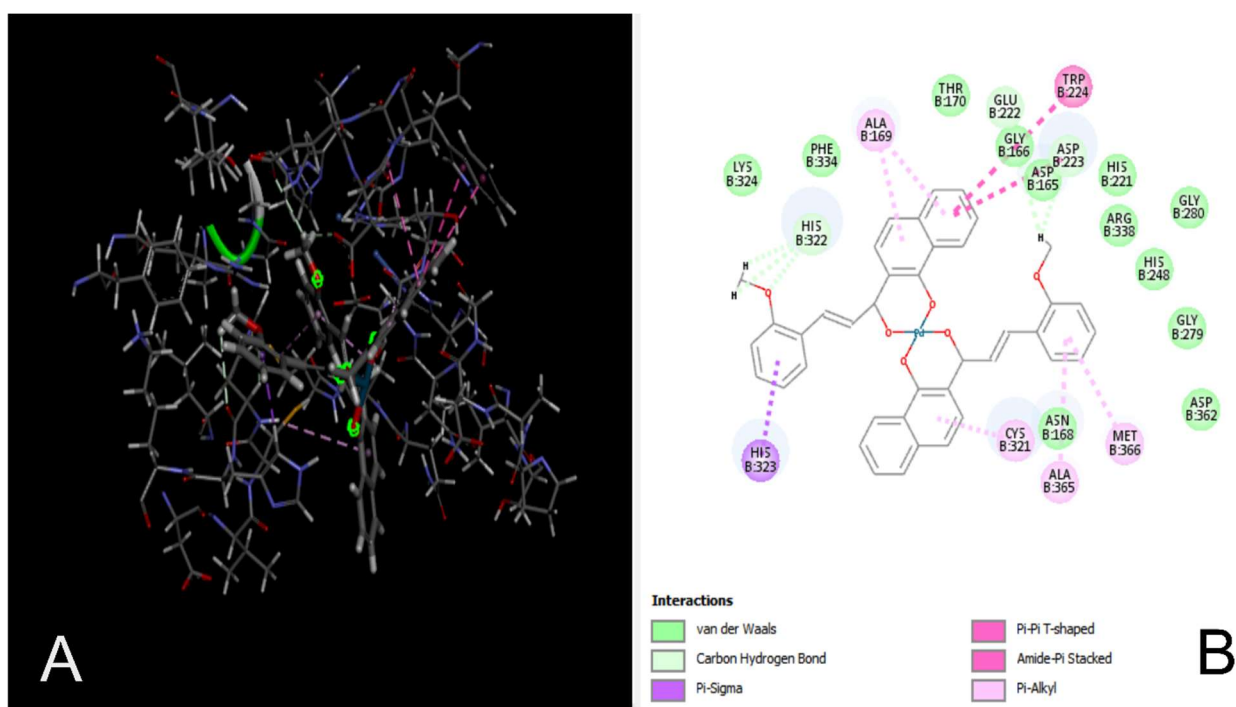
9.7 CHN

Tabela A1 – Dados da análise elementar

Amostra	Carbono	Hidrogênio	Nitrogênio
Padrão AC	70,117	6,565	9,904
7C	55,219	3,056	0
8C	60,017	3,159	0
9C	64,506	3,574	0
10C	72,153	5,3	0
11C	68,893	3,831	0
12C	66,102	3,437	0
13C	64,588	3,764	0
14C	70,743	4,074	0

Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações.

Figura A46. Docking Molecular do complexo **14C**



Nota: (A) Diagrama em bastão do sítio ativo da urease, com as principais interações do ligante e (B) Diagrama 2D do sítio ativo da enzima urease, com as principais interações.