

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE COMPLEXOS DE Cu(II) CONTENDO LIGANTES TRIDENTADOS NNO E ONO NAFTOLATO-IMINA

LAURA SILVA DIAS¹; IANKA JACONDINO NUNES²; OSVALDO DE LÁZARO CASAGRANDE JR.³, ADRIANA CASTRO PINHEIRO⁴

¹Universidade Federal de Pelotas-UFPEL – laurasdiasss@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas-UFPEL – iankajacondinonunes@gmail.com

³Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS - osvaldo.casagrande@ufrgs.br

⁴Universidade Federal de Pelotas-UFPEL – acpinheiro@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Radicais livres são derivados principalmente do oxigênio (espécies reativas de oxigênio/EROs) e nitrogênio (espécies reativas de nitrogênio/ERNs). EROs são constantemente produzidas no organismo e são moléculas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada eletrônica. As EROs são as responsáveis por combater os agentes agressores no organismo, sendo de extrema importância no sistema imunológico. Porém, o aumento descontrolado dessas espécies reativas ocasiona danos às moléculas biológicas, o que pode implicar em diversas doenças como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (RADI et al., 2018).

Antioxidantes são substâncias que impedem a oxidação de outros compostos. Os antioxidantes atuam no mecanismo de defesa contra os efeitos deletérios produzidos pelos radicais livres, seja através da inibição do mecanismo oxidativo, interrupção das reações deletérias em cadeia, e inibição de reações de oxidação (BORA, et al., 2019). Essas substâncias podem ser produzidas pelo nosso organismo (enzimáticas) ou absorvidas endogenamente, através da dieta de alimentos e fármacos (BLANCO, A. et al., 2017).

Complexos metálicos contendo Bases de Schiff têm sido investigados como *scavengers* eficazes de EROs, atuando como antioxidantes. Esses complexos são geralmente doadores de hidrogênio ou elétrons. Adicionalmente, possuem capacidade de proteger sistemas de células vivas que podem ser afetadas pelo estresse oxidativo ou radicais livres (RADI et al., 2018). Complexos de Cu(II) contendo ligantes bases de Schiff são compostos atrativos na área de catálise e química medicinal. Trabalhos atuais mostram que esses complexos podem apresentar potente atividade antioxidante, atuando como doadores de prótons ou elétrons, devido principalmente à presença do grupo azometina (C=N). O cobre é um metal endógeno, o qual está presente em diversas vias biológicas, possuindo um importante papel em todos os seres vivos como um oligoelemento essencial (SONGÜL et al., 2018).

Desta forma, nosso grupo de pesquisa vem trabalhando na síntese, caracterização e avaliação da capacidade antioxidante de compostos de coordenação de Cu(II) contendo ligantes bidentados e tridentados bases de Schiff. Neste trabalho, descrevemos a avaliação antioxidante de 2 pré-ligantes tridentados naftolato-imina, com átomos doadores NNO e ONO, e seus respectivos complexos de Cu(II) por ensaios *in vitro* de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) e do cátion radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS^{•+}).

2. METODOLOGIA

2.1. Procedimento gerais: Os pré-ligantes e os seus respectivos complexos de Cu(II) foram sintetizados utilizando reagentes de grau analítico. Os reagentes 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) (ABTS) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Todos os outros reagentes foram de grau analítico.

2.2. Pré-ligantes e complexos de Cu(II) contendo ligantes naftalato-imina: Os pré-ligantes naftalato-imina ($[\text{Ph}(\text{NH})-\text{C}_2\text{H}_4-(\text{N}=\text{CH})-2-(\text{OH})\text{C}_{10}\text{H}_6]$ (**1a**) e $[\text{Ph}(\text{O})\text{C}_2\text{H}_4-(\text{N}=\text{CH})-2-(\text{OH})\text{C}_{10}\text{H}_6]$ (**1b**)) e os seus complexos de Cu(II) ($[\text{Cu}\{\text{Ph}(\text{NH})-\text{C}_2\text{H}_4-(\text{N}=\text{CH})-2-(\text{OC}_6\text{H}_2)-\text{C}_6\text{H}_4\}\text{Cl}]$ (**2a**) e $[\text{Cu}\{\text{Ph}(\text{O})-\text{C}_2\text{H}_4-(\text{N}=\text{CH})-2-(\text{OC}_6\text{H}_2)-\text{C}_6\text{H}_4\}\text{Cl}]$ (**2b**)) (**Figura 1**) utilizados neste trabalho, foram sintetizados e caracterizados seguindo métodos descritos na literatura (MACHADO, 2022).

2.3. Avaliação da atividade antioxidante: A atividade antioxidante dos pré-ligantes (**1a – 1e**) e seus complexos (**2a – 2b**) foi avaliada através de sua capacidade de eliminar os radicais sintéticos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺). Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e empregado para preparar soluções com diferentes concentrações (1 μM , 5 μM , 10 μM , 20 μM , 50 μM , 100 μM e 200 μM). Os ensaios foram realizados em três experimentos independentes e a absorbância foi medida em diferentes tempos (10 - 40 min). A atividade antioxidante dos compostos é expressa em porcentagem de redução do DPPH ou do cátion radical ABTS (RUFINO et al., 2007).

2.3.1 Ensaio de atividade de eliminação do radical 2,2'-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH): Para determinar a atividade de eliminação do radical DPPH, foram misturadas diferentes concentrações dos compostos orgânicos e inorgânicos, com 1.10^{-5} mM de uma solução etanólica do radical DPPH em diferentes tempos (10-40 min) a temperatura ambiente na ausência de luz. A diminuição na absorbância da solução roxa a 517 nm é um indicativo da atividade antioxidante dos compostos testados.

2.3.2 Ensaio da atividade de eliminação do radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺): O cátion radical ABTS⁺ foi gerado a partir da oxidação do ABTS pelo reagente persulfato de potássio. Soluções com diferentes concentrações (1 - 200 μM) dos pré-ligantes e complexos de Cu(II), foram misturados com 10mM de uma solução etanólica do cátion radical. A mistura reacional foi incubada em temperatura ambiente em diferentes tempos (10-40min) na ausência de luz. A absorbância resultante foi medida no comprimento de onda de 734 nm. Os resultados são expressos em porcentagem de inibição do radical ABTS⁺.

2.4.3 Análise Estatística: Todos os testes foram realizados em triplicata e os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. Diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$. A concentração da solução dos pré-ligantes ou dos complexos necessárias para inibir 50% do radical DPPH ou ABTS (IC_{50}) e os valores de máximos de inibição (I_{max}) foram calculados usando o software GraphPad Prisma 8.0 (GraphPad Software).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pré-ligantes fenolato imina (**1a – b**) e seus complexos de Cu(II) (**2a – b**) (**Figura 1**) foram previamente sintetizados e caracterizados pelo nosso grupo de pesquisa. A atividade antioxidante de **1a – b** e **2a – b** foi avaliada através de sua capacidade de eliminar os radicais sintéticos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e do cátion radical 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS⁺), utilizando diferentes concentrações (1 – 200 µM) das soluções dos pré-ligantes e complexos.

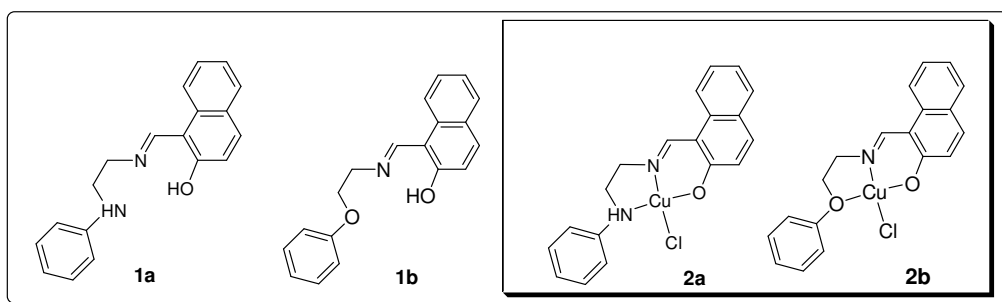


Figura 1 . Pré-ligantes naftalato-imina (**1a-b**) e Complexos de Cu(II) contendo ligantes naftalato-imina (**2a-b**)

Entre os diferentes tempos avaliados no método DPPH e ABTS⁺, o tempo de 30 min apresentou o melhor % de inibição para todos os compostos testados.

Na **Figura 2** são apresentados o percentual (%) de captura do radical DPPH e do cátion radical ABTS, para as diferentes concentrações dos pré-ligantes e complexos estudados no tempo de 30 min. Os pré-ligantes **1a** e **1b** não apresentaram redução no percentual da concentração inicial do radical DPPH, sugerindo, inabilidade antioxidante desses compostos, pelo método empregado. Já os complexos (**2a** e **2b**), contendo os respectivos ligantes **1a** e **1b**, reduziram a concentração inicial da solução de DPPH, com valores chegando a $91,4 \pm 1,4$ % de I_{max} para **2a** e $95,2 \pm 0,7$ % para **2b**. Os valores de IC₅₀ foram calculados e comparados com o padrão positivo (trolox). Os complexos apresentaram valores de IC₅₀ ($11,3 \pm 0,1$ µM (**2a**) e $11,2 \pm 0,3$ µM (**2b**)) comparáveis ao trolox ($12,5 \pm 1,3$ µM), um potente antioxidante.

Na captura do cátion radical ABTS⁺, os pré-ligantes e complexos apresentaram atividade antioxidante. Para os pré-ligantes os valores de I_{max} chegaram a $97,9 \pm 0,1$ % e $86,7 \pm 0,1$ % na concentração de 100 µM para **1a** e 50 µM para **1b**. O valor de IC₅₀ de **1a** ($17,4 \pm 0,9$ µM) foi similar a **1b** (IC₅₀ = $14,31 \pm 0,2$ µM). O complexo **2a** (I_{max} = 100 % a 10µM e IC₅₀ = $2,1 \pm 0,8$ µM) apresentou perfil antioxidante até a dose de 20 µM. A partir de 50 µM **2a** apresentou perfil pró-oxidante. **2b** (I_{max} = 100 % e IC₅₀ = $0,8 \pm 0,2$ µM) foi capaz de reduzir o % de ABTS a partir de 1 µM, chegando a 100% de inibição em 20 µM.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho, avaliamos a atividade de captura dos radicais sintético DPPH e ABTS⁺ de novos complexos de Cu(II) contendo ligantes tridentados naftalato imina NNO e ONO e seus respectivos ligantes. Os complexos **2a** e **2b** apresentaram similar potencial antioxidante. Novos estudos estão em andamento para melhor compreensão do mecanismo de ação antioxidante dos pré-ligantes (**1a** e **1b**) e complexos de Cu(II) (**2a** e **2b**).

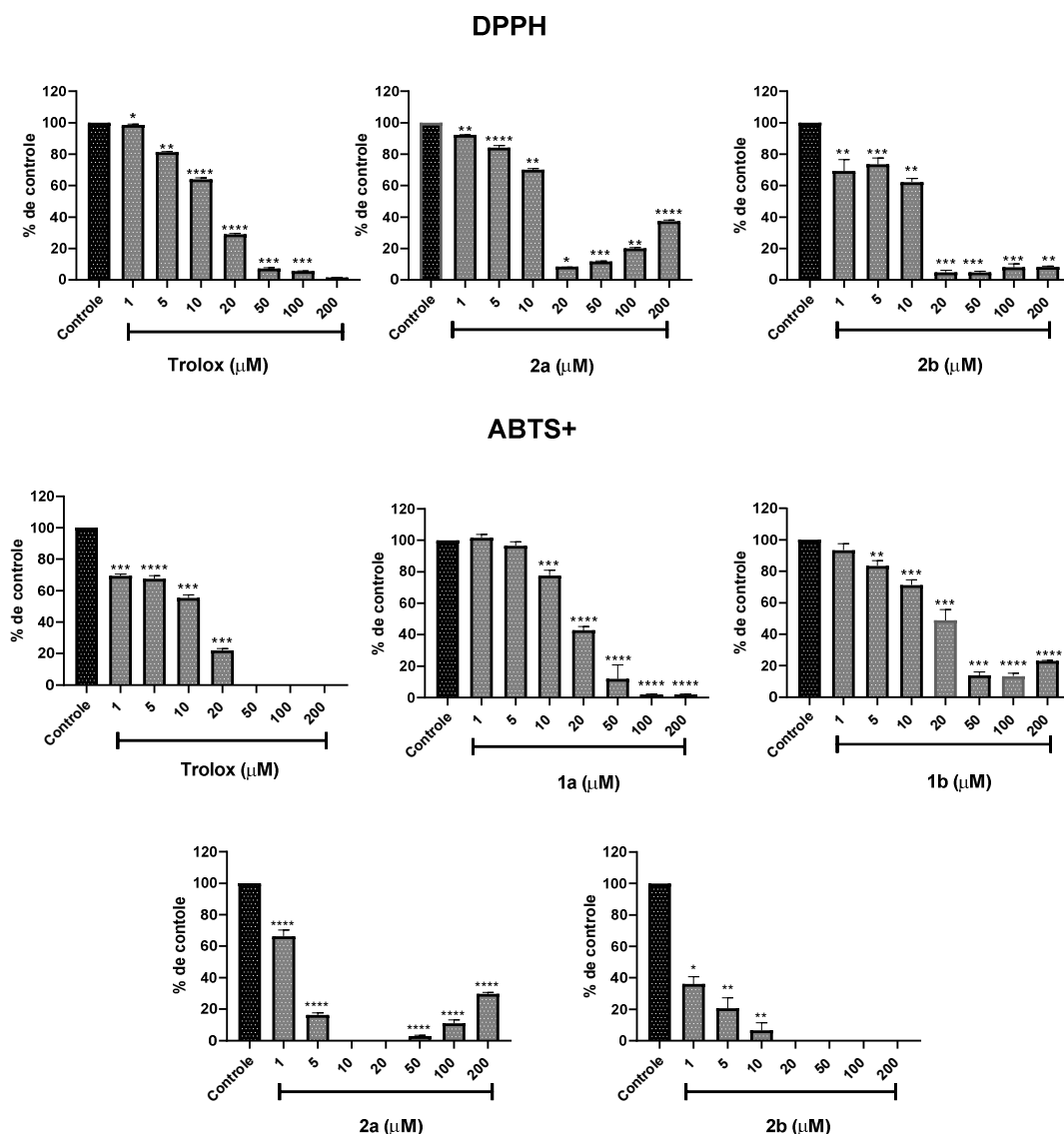


Figura 2. Atividade antioxidante expressa pela % de inibição de captura do radical DPPH e do cátion radical ABTS dos pré-ligantes (**1a** e **1b**), complexos de Cu(II) (**2a** e **2b**) e **trolox**. Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLANCO, A. G. et al., **Med. Biochem.** V.25, p. 205-214, 2017.
- BORA, G. et al., **Indian Academy of Sciences.** V. 147, p.125-128, 2019.
- MACHADO, T. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas 2022.
- RADI et al., **Chem Rev.** V. 118(3), P. 1338-1408, 2018.
- RUFINO, M. S. et al., **Comunicado técnico online**, v.128, 2007.
- SABARWAL, R. A. et al., **Mol. Carcinog.** v. 254, p. 499–514, 2017.
- SONGÜL, Ş. et al., **Inorg. Chim. Acta.** V.129, p. 495–502, 2018.