

## SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO DE INTERAÇÃO COM ct-DNA DE DERIVADOS DE BASES DE SHIFF

ALECIA FERREIRA DA SILVA<sup>1</sup>; LAURA SILVA DIAS<sup>2</sup>; IANKA JACONDINO NUNES<sup>3</sup>; RENIEIDY FLÁVIA CLEMENTE DIAS<sup>4</sup>; ADRIANA CASTRO PINHEIRO<sup>5</sup>; WILSON CUNICO FILHO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – alecia.spo@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Católica de Pelotas (UCPel) – laurasdiasss@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - iankajacandinonunes@gmail.com

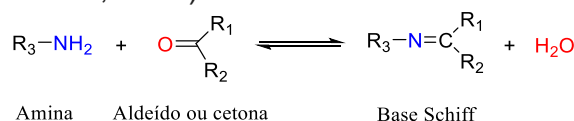
<sup>4</sup>Universidade Federal de Uberlândia (UFU) – flaviaufgrs04@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – acpinheiro@ufpel.edu.br

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – wilson.cunico@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

Bases de Schiff são compostos que contêm o grupo imina (C=N) em sua estrutura, resultante da reação de condensação entre uma amina primária e um aldeído ou cetona eliminando uma molécula de água, representado na Figura 1 (Fabbrizzi et al., 2020; Boulechfar et al., 2023). As Bases de Schiff desempenham um papel altamente relevante na pesquisa de química medicinal, apresentando uma ampla gama de propriedades farmacológicas que podem ser exploradas no desenvolvimento de novos medicamentos e terapias para tratar uma variedade de condições de saúde. Esses compostos exibem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antitumorais, antivirais, antimicrobianas, anti-inflamatórias (El-Gammal et al., 2021).



**Figura 1.** Esquema geral para formação das bases Schiff (Fabbrizzi et al., 2020).

Essa classe de compostos também se destaca como potentes sequestradores do radical livre DPPH e ABTS<sup>+</sup> (Pinheiro et al., 2023), eliminando espécies reativas de oxigênio (ROS, incluindo radical hidroxil, ânion superóxido e oxigênio singlete). As ROS são consideradas agentes causadores importantes para induzir a peroxidação de lipídios e danos oxidativos do DNA e proteínas no corpo humano que resultam no envelhecimento (J. Lu et al., 2012). Os compostos antioxidantes possuem a capacidade de neutralizar e reduzir os radicais livres, evitando assim as alterações e danos que a presença excessiva desses radicais pode causar ao DNA (Munteanu et al., 2021). Substâncias antioxidantes podem ser produzidos internamente pelo organismo ou adquiridos externamente por meio de dieta e medicamentos.

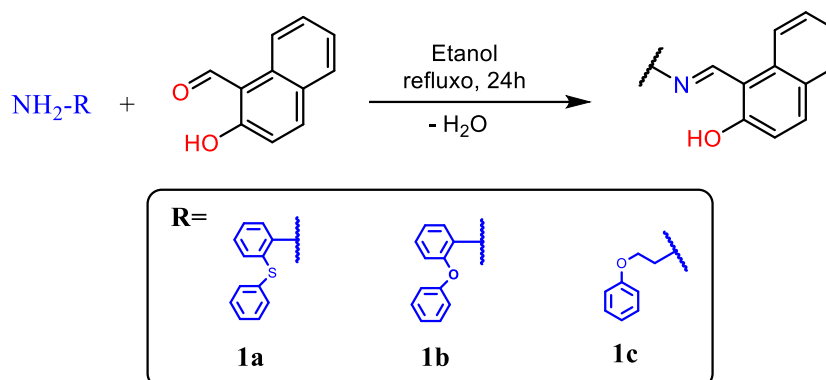
Considerando a importância dessa classe de compostos, neste estudo descrevemos a síntese e caracterização de três compostos derivados de Bases de Schiff. Estes compostos foram submetidos à avaliação de sua capacidade de captura do radical livre DPPH e ABTS<sup>+</sup>, bem como à investigação de sua interação com o ct-DNA (*calfy thymus*).

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Síntese dos derivados de bases de Schiff naftalato-imina

Os compostos foram sintetizados via reação de condensação da base de Schiff envolvendo uma amina primária e o 2-hidroxinaftaldeído. Uma solução de 2-hidroxinaftaldeído em etanol foi adicionada em uma solução das respectivas

aminas 2-feniltioanilina (**1a**) 2-fenoxianilina (**1b**) e 2-fenoxietilamina (**1c**) em etanol. As reações permaneceram em temperatura de refluxo durante 24h e, posteriormente foram resfriadas à temperatura ambiente. A completa precipitação dos pré-ligantes ocorreu aproximadamente a -18°C, após um período de 24 h, recristalizando os compostos e levando a obtenção dos produtos puros.



Esquema 1. Síntese dos compostos naftalato-imina **1a-1c**

## 2.2. Caracterização dos compostos naftalato – imina (**1a-1c**)

Os compostos **1a-1c** foram identificados e caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . Espectros RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em um espectrômetro Varian Inova 400 operando a 25°C, a 400 MHz. As amostras foram solubilizadas de clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) contendo TMS (tetrametilsilano) como padrão interno e acondicionadas em tubo de 5 mm.

## 2.3. Avaliação da atividade capturadora de radicais livres

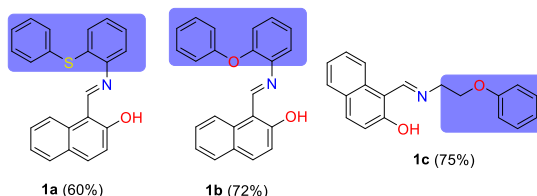
A atividade capturadora de radicais livres dos compostos **1a-1c** foi avaliada através de sua capacidade de eliminar os radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ( $\text{ABTS}^+$ ), utilizando soluções com diferentes concentrações (1, 5, 10; 20, 50, 100 e 200  $\mu\text{M}$ ) em um tempo de 30 min na ausência de luz. O ensaio foi realizado em triplicata. A redução da absorbância inicial do radical DPPH e  $\text{ABTS}^+$  é tida como evidência de suas capacidades antioxidantes, as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis e medidos nas absorbâncias de 514 nm para ensaios DPPH e 734 nm para o  $\text{ABTS}^+$ . Os resultados obtidos foram calculados e apresentados como % de controle. Os valores da inibição de 50% dos radicais ( $\text{IC}_{50}$ ) e os valores de máximos de inibição ( $I_{\text{max}}$ ) foram calculados usando o software GraphPad Prisma 8.0 (GraphPad Software). Trolox, composto derivado da vitamina E foi utilizado como controle positivo.

## 2.4. Ensaio de interação com ct-DNA

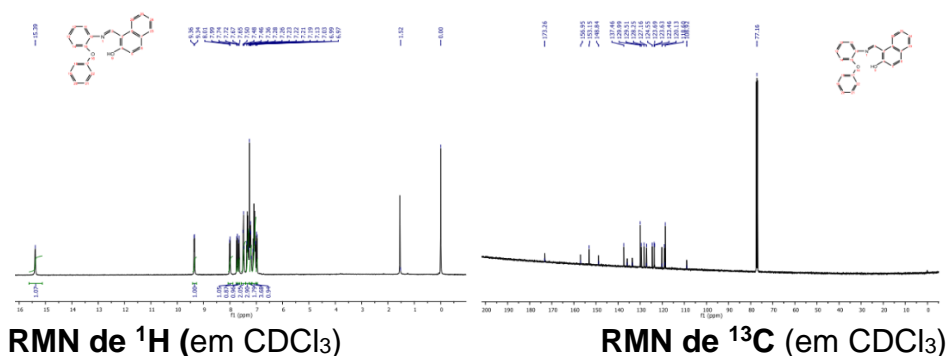
Ensaio das interações destes compostos com ct-DNA foram realizados. A determinação da concentração de ct-DNA (calfy thymus) foi realizada por meio de espectroscopia de UV-visível, com leituras feitas a 260 nm, utilizando um coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ) de  $6600 \text{ m}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Para verificar a pureza do ct-DNA, foi calculada a razão de absorbância  $A_{260}/A_{280}$ . Os experimentos foram conduzidos utilizando um tampão Tris-HCl e coletando o espectro de absorção da amostra. A concentração do composto **1** foi mantida constante em 10  $\mu\text{M}$ , enquanto as concentrações de ct-DNA variaram de 10 a 100  $\mu\text{M}$ . Para garantir resultados consistentes, cada experimento foi repetido em conjuntos de três ( $n = 3$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos obtidos e seus respectivos rendimentos são apresentados na Figura 2. Estes compostos foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho, UV-vis, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto **1a**, foi selecionado para realizar a atribuição dos sinais e está representado na Figura 3.



**Figura 2.** Estrutura molecular e rendimento dos compostos **1a-1c**.

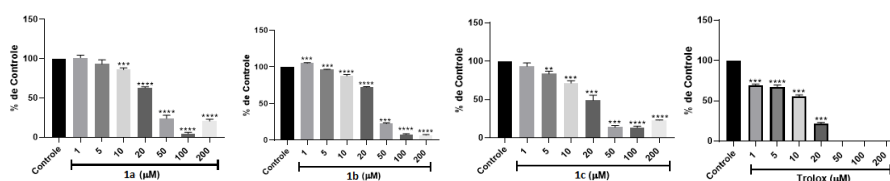


**Figura 3.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do composto **1a**.

Na Figura 3 está destacado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , os deslocamentos de  $\delta$  8,01 a 6,97 são dos H dos anéis aromáticos,  $\delta$  9,36 é referente ao H da ligação imina e em  $\delta$  15,39 referente ao H da hidroxila. No RMN de  $^{13}\text{C}$ , o carbono ligado a hidroxila aparece na região em  $\delta$  173,3, já os carbonos ligados nos átomos de O e N aparecem na região de  $\delta$  156,9 e  $\delta$  148,8, respectivamente. Os carbonos aromáticos estão na região de  $\delta$  137,5 a 108,9. Os sinais evidenciam a formação do composto **1a**.

Os espectros de RMN dos compostos **1a** e **1b** diferem na intensidade e os deslocamentos dos sinais, já que o átomo de enxofre tem o poder de blindagem maior que o átomo de oxigênio. O espectro do composto **1c** tem como característica sinais dos hidrogênios e carbonos alifáticos referentes a cadeia alquila estabelecida entre os anéis aromáticos.

Na **Figura 4**, são exibidos os resultados da atividade capturadora de radicais livres dos compostos em relação ao cátion radical  $\text{ABTS}^+$ . Os dados são apresentados em porcentagem (%) de captura do cátion radical  $\text{ABTS}^+$  para as diferentes concentrações dos compostos. Além disso, os valores de  $\text{IC}_{50}$  foram calculados e comparados com o padrão positivo (trolox), os compostos inibiram 50% do radical em concentrações relativamente baixas, sendo o  $\text{IC}_{50} = 24,7 \pm 0,9$ ;  $26,8 \pm 0,6$  e  $14,31 \pm 0,2 \mu\text{M}$  para os compostos **1a**, **1b** e **1c**, respectivamente. Notavelmente, o composto **1c** se destacou ao apresentar um desempenho parecido com o controle positivo,  $\text{IC}_{50} = 10,8 \pm 0,2 \mu\text{M}$  - o trolox. No entanto, no ensaio de eliminação do radical sintético DPPH, os compostos **1a-1c** não apresentaram uma atividade capturadora de radicais livres significativa.



**Figura 4.** Resultados do ensaio de inibição do radical ABTS<sup>+</sup> dos compostos. 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.

Os compostos antioxidantes atuam através de vários mecanismos químicos: transferência de átomo de hidrogênio, transferência de elétron único e capacidade de quelar metais de transição (Munteanu et al., 2021). O composto **1c** possui a extensão alquila,

A análise da interação com o ct-DNA é examinada por meio da observação das variações nas propriedades de absorção do espectro. Os compostos **1a-1c** não exibiriam alterações na absorbância com a adição de ct-DNA, o que sugere a fraca interação entre esses compostos e o DNA. Isso indica que, nas concentrações em que esses compostos atuam como antioxidantes, eles não causariam modificações específicas no DNA.

### 3. CONCLUSÃO

Neste estudo, os compostos naftalato-imina foram obtidos com alto rendimento. Estes compostos não apresentaram resultados significativos no ensaio antioxidante em DPPH, mas para a inibição do cátion radical ABTS<sup>+</sup>, os resultados foram bastante promissores com os IC<sub>50</sub> abaixo de 30 µM, juntamente foi observado uma fraca interação com o ct-DNA. Atualmente, estão em curso novas investigações para aprofundar a compreensão das atividades biológicas desses compostos.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boulechfar, C., Ferkous, H., Delimi, A., Djedouani, A., Kahlouche, A., Boublia, A., Darwish, A. S., Lemaoui, T., Verma, R., Benguerba, Y.; Schiff bases and their metal Complexes: A review on the history, synthesis, and applications. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 150, 2023.
2. El-Gammal, O.A., Mohamed, F.S., Rezk G.N., El-Bindary, A.A.; Structural characterization and biological activity of a new metal complexes based of Schiff base. *J. Mol. Liq.*, v. 330, 2021.
3. Fabbrizzi, L.; Beauty in Chemistry: Making Artistic Molecules with Schiff Bases, *J. Org. Chem*, v. 85, p. 12212–12226, 2020.
4. Lu, J., Li, C., Chai, Y.F., Yang, D.Y., Sun, C.R.; The antioxidant effect of imine resveratrol analogues. *Bioorg Med Chem Lett*. p. 5744-5747, 2012.
5. Munteanu, I.G., Apetrei, C.; Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci*, 2021.
6. Pinheiro, A.C.; Nunes, I.J.; Ferreira, W.V.; Tomasini, P.P.; Trindade, C.; Martins, C.C.; Wilhelm, E.A.; Oliboni, R.d.S.; Netz, P.A.; Stieler, R.; et al. Antioxidant and Anticancer Potential of the New Cu(II) Complexes Bearing Imine-Phenolate Ligands with Pendant Amine N-Donor Groups. *Pharmaceutics*, 15, 376, 2023.