

SÍNTSE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDOS DE ESTABILIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DE NOVOS COMPLEXOS DE Cu(II) CONTENDO LIGANTE TRIDENTADO 2,4-di-terc-butil-6-((quinolin-8-ilimino)metil)fenol

ALECIA FERREIRA DA SILVA¹, IANKA JACONDINO NUNES², JENIFER SAFFI³,
ADRIANA CASTRO PINHEIRO⁴

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – alecia.spo@gmail.com

²Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - ianka.nunes@ufcspa.edu.br

³Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - jenifers@ufcspa.edu.br

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – acpinheiro@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o número de casos de câncer aumentou significativamente em todo o mundo. Apesar do surgimento de novas terapias, a quimioterapia permanece como uma das principais modalidades de tratamento. Contudo, agentes quimioterápicos convencionais enfrentam desafios como a quimiorresistência, onde células cancerígenas se tornam resistentes, além de efeitos colaterais severos que podem comprometer a qualidade de vida dos pacientes e aumentar os custos. Assim, desenvolver novas opções terapêuticas mais eficientes e menos tóxicas é uma preocupação global (Singh, K. et al., 2018).

A química de coordenação se apresenta como uma área promissora para o desenvolvimento de agentes terapêuticos, como metalofármacos, que demonstram eficácia no tratamento de diversas doenças, incluindo câncer, infecções e inflamações. A seleção do metal de transição e do ligante orgânico permite otimizar as propriedades farmacológicas desses compostos. Os ligantes de base de Schiff, resultantes da reação entre aminas primárias e aldeídos ou cetonas, têm se destacado por sua fácil síntese e propriedades biológicas notáveis, incluindo atividades antitumorais e antimicrobianas (El-Gammal et al., 2021).

Entre os metais de transição, o cobre se destaca na química medicinal devido às suas propriedades bioquímicas. Como elemento bioessencial, o cobre está presente na maioria dos organismos aeróbicos, desempenhando papéis cruciais em processos biológicos através de enzimas e proteínas. O Cu(II) é versátil em sua coordenação com diferentes ligantes orgânicos, formando complexos com variadas geometrias e números de coordenação (Muriel, et al., 2022).

Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido complexos de Cu(II) com atividades antitumorais e antioxidantes promissoras, visando explorar compostos que possam reduzir o estresse oxidativo nas células tumorais, encurtar o tempo de quimioterapia e minimizar seus efeitos colaterais. Diante desse contexto, o presente trabalho tem como objetivo investigar como o contra-íon e os co-ligantes influenciam a conformação, estabilidade e reatividade de complexos de Cu(II) contendo o ligante 2,4-di-terc-butil-6-((quinolin-8-ilimino)metil)fenol. Através da caracterização estrutural e da avaliação das propriedades biológicas dos complexos sintetizados, busca-se explorar o potencial desses compostos para aplicações terapêuticas.

2. METODOLOGIA

2.1. Síntese dos complexos de Cobre (II).

O composto pré-ligante **1** (0,100 g; 0,277 mmol), previamente solubilizado em metanol (10 mL) a 40°C, foi adicionado gota a gota a uma solução de Cu(ClO₄)₂.6H₂O (0,1028 g; 0,277 mmol) em metanol (5 mL). A reação prosseguiu sob agitação por 3 horas em temperatura ambiente. Posteriormente, a solução

resultante **2a** foi submetida a secagem a vácuo e lavada com hexano, resultando na formação do complexo **2a** sólido de cor marrom. O rendimento da reação foi de 76%.

O Complexo **2b** foi sintetizado conforme descrito para **2a**, a partir de **1** (0,100 g; 0,277 mmol) e $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,051 g; 0,277 mmol). O composto foi isolado como um sólido de cor marrom, com rendimento de 80%.

2.2. Caracterização dos complexos

Os complexos foram caracterizados por UV-Vis, FITR e DRX de Monocristal. Espectros no ultravioleta visível foram obtidos em um espectrofotômetro, na região de 200 a 800 nm em diclorometano. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro IRAffinity-1, SHIMADZU, na região de 4000 a 500cm^{-1} , sob o acessório ATRZnSe, em modo: transmitância, número de scans: 60, resolução: 4cm^{-1} . A Difração de Raios X de monocristal foram realizadas em um difratômetro Synergy-Dualflex-HyPix-Cu, os dados foram medidos usando varreduras ω de $0,5^\circ$ por quadro utilizando radiação Cu K α .

2.3. Avaliação da atividade capturadora de radicais livres

A atividade capturadora de radicais livres dos complexos **1**, **2a** e **2b** foi avaliada através de sua capacidade de eliminar os radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2- azinobis-3-etylbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS⁺), utilizando soluções com diferentes concentrações (1, 5, 10; 20, 50, 100 e 200 μ 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 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 ABTS⁺. Os resultados obtidos foram calculados e apresentados como % de controle. Os valores da inibição de 50% dos radicais (IC_{50}) e os valores de máximos de inibição ($Imax$) foram calculados usando o software GraphPad Prisma 8.0 (GraphPad Software). Trolox, composto derivado da vitamina E foi utilizado como controle positivo.

2.4. Estudos de estabilidade

O comportamento/estabilidade dos complexos de Cu (II) foi investigado em DMSO puro e PBS (1:1 v/v PBS e DMSO) ao longo de 168 horas utilizando espectroscopia UV-Vis. Os complexos foram estudados em concentrações variando de 1×10^{-5} a 1×10^{-3} mol/L, utilizando cubetas de quartzo. Os espectros foram sobrepostos para observar qualquer mudança na absorbância ao longo do tempo.

2.5. Avaliação da viabilidade celular em linhagens celulares humanas

A viabilidade celular das moléculas foi avaliada pelo ensaio MTT. Linhagens celulares [(MRC-5, MCF-7 e SW620] foram cultivadas em placas de 96 poços em meio de cultura completo. As células foram tratadas por 72 h em diferentes concentrações dos compostos (1-100 μ M). O ensaio foi realizado em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos obtidos e seus respectivos rendimentos são apresentados na Figura 2. Estes complexos foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho, UV-vis e Difração de Raios X de monocristal. Na figura 3 é apresentado o resultado da XDR do complexo **2a** selecionado para discussão.

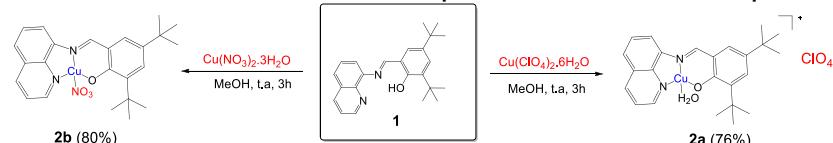


Figura 1. Rota geral de síntese dos complexos **2a** e **2b**.

O complexo **2a** cristaliza no sistema triclinico, grupo espacial P-1. Os ângulos de ligação O1-Cu1-N2 de 175,20(6) e N1-Cu1-O2 de 176,02(6) definem uma geometria quadrada ligeiramente distorcida em torno do centro metálico. Essa geometria sofre um desvio da planaridade, evidenciado pelos seguintes ângulos: O1-Cu1-N1 de 94,13(6), N2-Cu1-N1 de 83,82(6), O1-Cu1-O2 de 89,81(6) e N2-Cu1-O2 de 92,21(6). O comprimento da ligação Cu1-O1 é de 1,8664(14) Å, ligeiramente mais curto do que Cu1-N1 (imina), que mede 1,9416(15) Å, e Cu1-N2 (amina), que mede 1,9785(16) Å. Nota-se que a ligação Cu1-N1 é mais curta do que Cu1-N2. O íon ClO_4^- interage com a molécula, mas não está diretamente ligado à esfera de coordenação, indicando que este composto é um íon complexo.

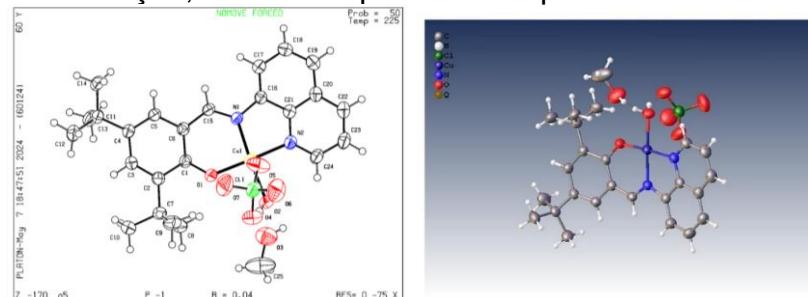


Figura 2. Estrutura cristalina e molecular do complexo **2a**.

Espectroscopia UV-Vis pode ser usada para detectar modificações estruturais ao longo do tempo de complexos metálicos em solução. A investigação da estabilidade desses complexos em DMSO e em solução tampão é essencial para compreender seu comportamento em condições que simulam o ambiente biológico, contribuindo para o avanço da pesquisa em química medicinal. Os espectros de estabilidade dos complexos são apresentados nas figuras 3 e 4.

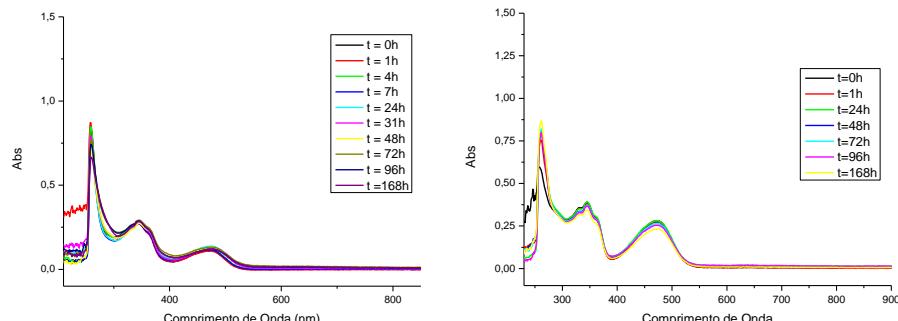


Figura 3. Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para os complexos **2a** e **2b**, análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.

Os complexos **2a** e **2b** apresentam um perfil de absorbância estável por até 72 horas, o que sugere estabilidade estrutural em solução durante esse período. Após esse intervalo, observa-se um efeito hipocrômico, indicando alterações estruturais após três dias em solução.

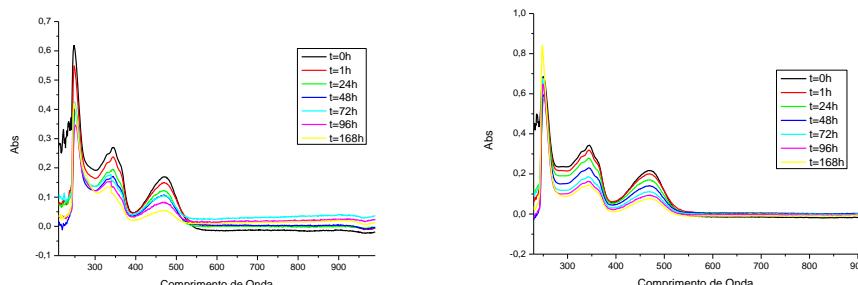


Figura 4. Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para os complexos **2a** e **2b**, análise de estabilidade em PBS em diferentes tempos.

Nos espectros dos complexos **2a** e **2b**, é possível observar um efeito hipocrômico após 1 hora em solução, apontando uma mudança na probabilidade de transição eletrônica, devido à formação de novas espécies. (Lovison et al., 2022).

Os compostos antioxidantes atuam por meio de vários mecanismos químicos, como transferência de átomo de hidrogênio, transferência de elétron único e capacidade de quelar metais de transição. A atividade antioxidante do pré-ligante **1** e de seus respectivos complexos **2a** e **2b** foi avaliada com base na capacidade de eliminar os radicais sintéticos DPPH e ABTS⁺ em diferentes concentrações. No entanto, tanto o pré-ligante quanto os complexos não foram capazes de inibir 50% dos radicais sintéticos nas concentrações testadas.

Embora esses complexos não demonstrem eficácia na inibição de radicais livres, eles ainda podem apresentar atividade citotóxica, o que os torna promissores para estudos farmacológicos e bioquímicos. A citotoxicidade pode ser mediada por mecanismos alternativos, como a interação direta com alvos celulares críticos, incluindo DNA, proteínas ou membranas, independentemente da atividade antioxidante.

Finalmente, a atividade citotóxica *in vitro* dos complexos está sendo avaliada contra as linhagens celulares tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e SW620 (carcinoma colorretal). Para determinar o índice de seletividade dos compostos, estamos utilizando a linhagem celular humana normal MRC-5 (fibroblasto pulmonar). O IC₅₀, que representa a concentração do composto necessária para inibir o crescimento celular em 50% após 72 horas de incubação, será determinado para avaliar a eficácia desses complexos.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, este estudo demonstrou a síntese e caracterização de complexos de cobre com ligante derivado de base de Schiff, os quais apresentaram estabilidade em solução por até 72 horas, já em solução contendo tampão e DMSO em uma 1h em solução foi evidenciado um efeito hipocrômico. Embora os ensaios de DPPH e ABTS não tenham revelado atividade antioxidante significativa, testes de viabilidade celular estão atualmente em andamento para avaliar a atividade citotóxica desses compostos. Assim, os resultados obtidos fornecem uma base para investigações futuras desses complexos na medicina, destacando a importância de estudos adicionais para elucidar suas propriedades e comportamento em diferentes condições.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singh, K.; et al. Antioxidants as precision weapons in war against cancer chemotherapy induced toxicity –Exploring the armoury of obscurity. **Saudi Pharm. J.**, v. 26, p. 177– 190, 2018.
2. El-Gammal, O.A., et al. Structural characterization and biological activity of a new metal complexes based of Schiff base. **J. Mol. Liq.**, v. 330, 2021.
3. Muriel, A. A., et al., Pincer Complexes Derived from Tridentate Schiff Bases for Their Use as Antimicrobial Metallopharmaceuticals. **Inorganics**, 2022.
4. Lovison, D. A., et al. Enantioselective Cytotoxicity of Chiral Diphosphine Ruthenium(II) Complexes Against Cancer Cells. **Chem.Eur. J.**, 2022.