

Novos Complexos de Cu(II) Contendo Ligante Derivado de Tiazolidina com Potencial Antioxidante para Aplicações Biomédicas

Nicole Ferreira Garcia¹; Alecia Ferreira da Silva²; Melinda Gomes Victor³; Wilson Cunico Filho⁴; Adriana Castro Pinheiro⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – nickfgarcia11@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – alecia.spo@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – melindagv@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – wilson.cunico@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – acpinheiro@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O organismo humano gera radicais livres por meio de processos endógenos e em resposta a fatores ambientais, como raios X, ozônio, tabagismo e poluição. Essa produção ocorre por reações enzimáticas e não enzimáticas. Quando a concentração de radicais livres excede a capacidade de defesa do organismo, ocorre o estresse oxidativo, associado a várias patologias, como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer. Os radicais livres podem danificar membranas celulares, proteínas, enzimas e DNA, sendo que células tumorais apresentam níveis elevados de espécies reativas de oxigênio, tornando-se suscetíveis ao estresse oxidativo (Singh et al., 2018). Antioxidantes estão sendo investigados para aprimorar os tratamentos quimioterápicos contra o câncer, pois têm o potencial de mitigar os efeitos adversos dos radicais livres gerados pela quimioterapia, o que pode resultar na redução da duração do tratamento e dos seus efeitos colaterais. Assim, os antioxidantes desempenham um papel crucial ao neutralizar os radicais livres, doando elétrons ou átomos de hidrogênio, o que reduz seu potencial de causar danos (Lobo et al., 2010).

Entre esses compostos, complexos contendo centro metálico de Cu(II) têm atraído atenção significativa devido às suas propriedades antioxidantes. Esses complexos podem atuar como agentes redutores, estabilizando radicais livres e, assim, potencialmente protegendo as células de danos oxidativos. Além disso, estudos indicam que esses complexos podem melhorar a eficácia da terapia anticâncer, aumentando a sensibilidade das células tumorais à quimioterapia e minimizando os efeitos colaterais associados ao tratamento. Adicionalmente, o cobre é um metal bioessencial que exerce funções fundamentais em várias enzimas, como lacase, ascorbato oxidase, ceruloplasmina, amina oxidases, superóxido dismutase e citocromo c oxidase. Sua capacidade redox, que permite a transição entre os estados Cu(II) e Cu(I), confere ao cobre um considerável potencial como agente antioxidante. Além disso, a presença de moléculas que potencializam sua atividade redox contribui para a eficácia do cobre na mitigação dos danos associados ao estresse oxidativo (Esmaeili et al., 2018).

Na química de coordenação, o ligante (ou ligantes) influencia de forma significativa a atividade medicinal do composto, afetando suas propriedades farmacológicas, como solubilidade, estabilidade e seletividade em relação a alvos biológicos. A escolha adequada do ligante, bem como sua estrutura e características químicas, determina a eficácia do complexo metálico em interações com biomoléculas, assim como podem potencializar a atividade antitumoral, antibacteriana ou antioxidante dos complexos de metais de transição, tornando-os promissores em novas terapias farmacológicas. A tiazolidina, um heterocíclico de cinco membros que contém um átomo de nitrogênio e um de

enxofre (**Esquema 1**), é um grupo farmacofórico que demonstra importantes propriedades biológicas. A estrutura da tiazolidina permite diversas substituições nas posições 2, 4 e 5, o que acentua sua relevância farmacológica. Além de sua importância isolada, a tiazolidina e seus derivados são componentes essenciais de muitos produtos naturais e estão presentes em diversas moléculas sintéticas, apresentando atividades que vão desde a ação anticancerígena até propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antidiabéticas, antiparasitárias, anti-inflamatórias, antituberculosas e antivirais (Mech et al., 2021).

Nosso grupo de pesquisa vem trabalhando na síntese e investigação de complexos de Cu(II) com potenciais atividades antioxidantes, antimicrobianas e antitumorais. Neste trabalho, reportamos a síntese e caracterização de um novo ligante derivado de tiazolidina (**L**) e seus complexos de Cu(II) (**1** e **2**). Avaliamos a atividade antioxidante do ligante e dos novos complexos de Cu(II) por *ensaios in vitro*. Avaliação de citotoxicidade, testes ADMET *in silico*, interações com biomoléculas e estudos de estabilidade em solução estão em andamento.

2. METODOLOGIA

2.1. Síntese do pré-ligante derivado de tiazolidina (**L**)

A síntese foi realizada através de uma metodologia de reação multicomponente em um único recipiente, conforme ilustrado no **Esquema 1**. Inicialmente, 0,7029 g de 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído (**a**) e 0,3272 g de 2-aminofenol (**b**) foram adicionados a um balão de fundo redondo, com uma das entradas tampada. Em seguida, 35 mL de tolueno anidro foram introduzidos, acoplados a um aparelho de Dean-Stark para refluxo. A mistura foi mantida sob refluxo e agitação por 3 horas, tempo durante o qual o intermediário imínico se formou. Após esse período, 0,42 mL de ácido mercaptoacético (**c**) foi adicionado, levando à formação de água e à destilação azeotrópica, indicando a síntese do produto. As proporções dos reagentes foram de 1:1:2 mmol. A reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD). Ao final do tempo de reação, o solvente foi removido sob pressão reduzida, e o produto bruto foi lavado com 20 mL de solução aquosa saturada de NaHCO₃. O precipitado resultante foi filtrado a vácuo, obtendo-se um sólido cristalino amarelo claro. Rendimento: 79%. Ponto de fusão: 194-196 °C. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm, J_{H-H} = Hz): 7,07 (ddd, ³J = 8,65, ³J = 7,30; ⁴J = 1,62, 1H, aril); 7,02 (s, 2H); 6,90 (ddd, ³J = 11,57, ³J = 8,09, ⁴J = 1,52, 2H, aril); 6,76 (td, ³J = 7,68, ⁴J = 1,43, 1H, aril); 6,25 (d, ⁴J = 1,47, 1H); 5,20 (s, 1H); 3,96 (dd, ²J = 16,08, ⁴J = 1,19, 1H); 3,91 (dd, ²J = 15,97, ⁴J = 1,38, 1H); 1,34 (s, 18H)). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 172,7; 154,4; 151,7; 136,3; 129,1; 128,3; 126,0; 125,7; 123,9; 121,0; 120,0; 66,6; 34,4; 33,8; 30,2. CG:

2.2. Síntese dos complexos de cobre (II)

A síntese do complexo de cobre **1** foi realizada, conforme descrito no **Esquema 1**, a partir do pré-ligante **L** (0,100 g, 0,25 mmol), previamente dissolvido em 10 mL de metanol. A essa solução, foi adicionada, de forma lenta e controlada, uma solução de Cu(ClO₄)₂·6H₂O (0,093 g, 0,25 mmol) em 5 mL de metanol. A reação foi mantida sob agitação constante à temperatura ambiente por um período de 3 horas. Após esse tempo, a solução resultante foi submetida à secagem a vácuo e o produto sólido foi lavado com hexano, obtendo-se o complexo **1** como um sólido de coloração marrom escuro. O rendimento da reação foi de 96%.

O complexo **2** foi sintetizado conforme descrito para **1**, a partir do pré-ligante **L** (0,100 g, 0,25 mmol) e $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,043 g, 0,25 mmol). O complexo **2** foi isolado como um sólido marrom e com rendimento de 70%.

2.3. Caracterização dos compostos

Os complexos **1** e **2** foram caracterizados por espectroscopia UV-Vis e infravermelho (IV) (F – Banda forte; m – banda média; f – banda fraca). Outras técnicas analíticas estão em andamento para complementar a caracterização desses complexos.

$[\text{Cu}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{ClO}_4$: IV (ATR cm^{-1}): 3267 (m), 2948 (f), 1086 (m). UV-vis (CH_2Cl_2); $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 226, 284, 456 e 574.

$[\text{Cu}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]\text{Cl}$: IV (ATR cm^{-1}): 3356 (f), 2948 (f), 1106 (F). UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$ (nm): 228, 279, 365.

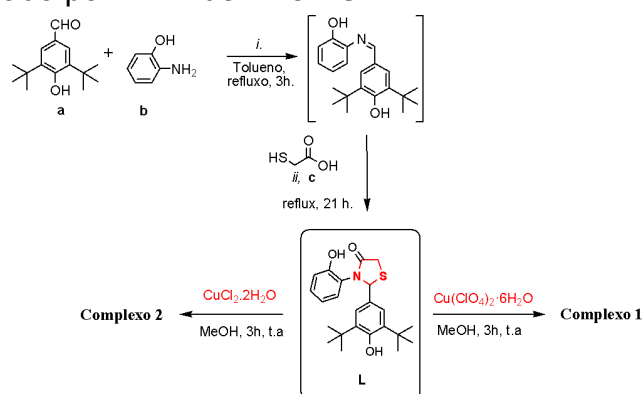
2.4. Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante do pré-ligante e dos complexos de Cu(II) foi investigada por meio da avaliação de sua capacidade de eliminar os radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico (ABTS^+). Os experimentos foram conduzidos com soluções em concentrações variadas (1, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 μM) durante um período de 30 minutos, em condições de ausência de luz. Os testes foram realizados em triplicata. A eficácia dos complexos foi determinada pela redução da absorbância inicial dos radicais DPPH e ABTS^+ , evidenciando suas propriedades antioxidantes. As medições foram efetuadas em um espectrofotômetro UV-Vis, com absorbâncias registradas a 514 nm para DPPH e a 734 nm para ABTS^+ . Os resultados foram expressos como porcentagem de controle, e os valores de inibição de 50% (IC_{50}) foram calculados utilizando o software GraphPad Prisma 8.0 (GraphPad Software). Trolox, um derivado da vitamina E, foi empregado como controle positivo na análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Síntese e Caracterização do pré-ligante e dos complexos de Cu(II)

O pré-ligante **L** foi obtido empregando uma metodologia *onepot* (**Esquema 1**). Na primeira etapa reacional (*i*), através de uma reação de adição/substituição, ocorre a formação do intermediário imina. Posteriormente, na etapa *ii*, ocorre uma reação de ciclocondensação levando a formação de **L** com rendimento de 79%. **L** foi caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C .



Esquema 1. Esquema reacional de síntese do pré-ligante **L** e dos respectivos complexos de Cu(II) (complexos **1** e **2**).

A rota geral de síntese dos novos complexos de Cu(II) a partir do pré-ligante **L** é apresentada no **Esquema 1**. A reação de **L** com 1 equiv. de $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ ou $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em metanol, à temperatura ambiente por 3 h, promoveu a formação dos complexos **1** e **2** como sólidos, de coloração marrom e com bons rendimentos 96% e 70%, respectivamente. Os compostos são estáveis ao ar e a umidade. As estruturas foram deduzidas com base espectroscopia IV e espectroscopia UV-Vis. Por se tratar de espécies de Cu(II) paramagnéticas, não foi possível realizar análises de ressonância magnética nuclear de ^1H e $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$. As análises dos espectros vibracionais na região do infravermelho permitiram identificar as alterações que ocorrem devido à coordenação entre o ligante e seu complexo correspondente. Nos espectros de absorção na região UV-vis, foi possível observar as transições eletrônicas associadas à coordenação do metal, incluindo a transferência de carga do ligante para o metal ($\text{L} \rightarrow \text{M}$) e as transições entre os orbitais d ($\text{d} \rightarrow \text{d}$), além das variações nas bandas do ligante livre. Outras análises analíticas estão em andamento para complementar os resultados obtidos.

Os resultados da atividade antioxidante dos ligantes em relação aos radicais DPPH e ABTS⁺ são expressos em porcentagem (%) de captura dos radicais livres em diferentes concentrações dos compostos. Os valores de IC_{50} foram calculados e comparados ao padrão positivo (trolox). Os compostos mostraram-se eficazes, inibindo 50% do radical em concentrações relativamente baixas, com valores de IC_{50} de 11,89 μM , 14,09 μM e 6,6 μM para os compostos **L**, **1** e **2**, respectivamente, em relação ao radical ABTS⁺. Os complexos destacaram-se, apresentando desempenho semelhante ou superior ao controle positivo, que tem um IC_{50} de 10,8 μM (trolox). No ensaio de eliminação do radical DPPH, os valores de IC_{50} foram de 10,49 μM e 2,6 μM para os compostos **1** e **2**, respectivamente. Ambos os complexos demonstraram IC_{50} em concentrações inferiores ao Trolox (12,5 μM). O ligante, por outro lado, não exibiu resultados significativos na eliminação do radical DPPH.

4. CONCLUSÕES

O ligante **L** e seus respectivos complexos de cobre (II) **1** e **2** foram sintetizados com bons rendimentos. As caracterizações dos complexos estão em andamento, visando uma compreensão mais aprofundada de suas estruturas. Os resultados obtidos até o momento indicam que os complexos apresentam capacidade inibitória de radicais livres DPPH e ABTS⁺ superior à do controle positivo e ao ligante livre. Isso sugere a viabilidade de realizar análises biológicas adicionais para uma avaliação mais abrangente da bioatividade desses compostos, abrindo perspectivas promissoras para futuras aplicações terapêuticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lobo, V., et al., Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, v. 4, p.118, 2010.
2. Singh, K.; Bhoori, M.; Kasu, Y.A.; Bhat, G.; Marar, T. *Saudi Pharm. J.*, v. 26, p. 177–190, 2018.
3. Esmaeili, L., et al., Copper complexes for biomedical applications: Structural insights, antioxidant activity and neuron compatibility. *Journal of Inorganic Biochemistry*. p. 87-97, 2018.
4. Mech D., Kurowska A., Trotsko N., The Bioactivity of Thiazolidin-4-Ones: A Short Review of the Most Recent Studies. *Int J Mol Sci*, v. 22, 11533, 2021.