

Síntese Verde de Bases de Schiff e Estudo da Interação dos Seus Complexos de Cu(II) com Biomoléculas

ADRYO NOBRE TAVARES¹; ALECIA FERREIRA DA SILVA²; ADRIANA CASTRO PINHEIRO³

¹*Universidade Federal de Pelotas – adryo.nobre.tavares12@gmail.com*

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

³*Universidade Federal de Pelotas – acpinheiro@ufpel.edu.br*

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o número de casos de câncer aumentou expressivamente em todo o mundo. Apesar dos avanços de novas terapias, a quimioterapia ainda se mantém como um dos principais tratamentos, embora limitada por problemas como a quimiorresistência e os efeitos colaterais severos. Nesse cenário, cresce o interesse por estratégias capazes de aumentar a eficácia terapêutica e reduzir a toxicidade dos fármacos.

Um dos caminhos explorados é a investigação das interações entre fármacos e macromoléculas biológicas. A albumina sérica (AS), uma proteína que desempenha papel crucial na biodisponibilidade, estabilidade e meia-vida de diferentes compostos, enquanto o DNA representa um dos principais alvos para agentes bioativos, podendo sofrer alterações estruturais, interferências na replicação ou até mesmo inibição funcional. Estudos envolvendo essas interações, frequentemente conduzidos por técnicas espectroscópicas, como absorção eletrônica e fluorescência, têm contribuído de forma significativa para elucidar modos de ligação e apoiar o desenvolvimento de novos candidatos terapêuticos.^{1,3}

Neste contexto, a química de coordenação surge como uma estratégia promissora no desenvolvimento de candidatos a metalofármacos, especialmente pela possibilidade de modular propriedades químicas e biológicas por meio da escolha racional do metal e do ligante. O cobre(II) tem se destacado nesse campo por suas propriedades biológicas e versatilidade na formação de complexos com diferentes geometrias e números de coordenação. Entre os ligantes amplamente explorados, as bases de Schiff chamam atenção por suas propriedades biológicas relevantes, incluindo atividades antitumoral, antimicrobiana e anti-inflamatória, podendo ser ampliadas após a coordenação a um centro metálico.⁵

Tradicionalmente, essas bases de Schiff são obtidas por reações de condensação entre aminas primárias e aldeídos ou cetonas, geralmente em etanol sob refluxo. No entanto, alinhando-se aos princípios da química verde, a busca por métodos mais sustentáveis tem se intensificado. Estratégias como a síntese sem solvente e a utilização de ultrassom (sonoquímica) vêm sendo adotadas por reduzirem o tempo de reação, o consumo de solventes e a geração de resíduos, tornando o processo mais eficiente e ambientalmente amigável.⁴

Neste trabalho, foram sintetizadas duas bases de Schiff previamente descritas, tradicionalmente obtidas por condensação clássica, mas aqui preparadas por uma rota livre de solvente, em curto tempo de reação e altos rendimentos. Esses compostos diferem nos grupos 2,4-di-*tert*-butilfenol ou o 2-naftol, o que permite avaliar como essas variações estruturais influenciam suas propriedades físico-químicas e biológicas.

2. METODOLOGIA

Síntese dos pré-ligantes bases de Schiff

Para síntese do pré-ligante **1a** e **1b** foi realizado a otimização da rota sintética previamente publicada por Oliveira, et. Al. (2018). A amina 2-metoxybenzyl-amina (0,1g; 0,73mmol) e os aldeídos 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzaldeido (0,17g; 0,73mmol) (**1a**) e 1-hydroxy-2-naftaldeido (0,12g; 0,73mmol) (**1b**) foram adicionados a tubos de ensaio, ao qual foi submetido a uma síntese por ultrassom durante 20min. Após foram recristalizados com etanol obtendo sólidos amarelos com rendimentos de 96% e 60% respectivamente.

Síntese dos complexos de Cu (II)

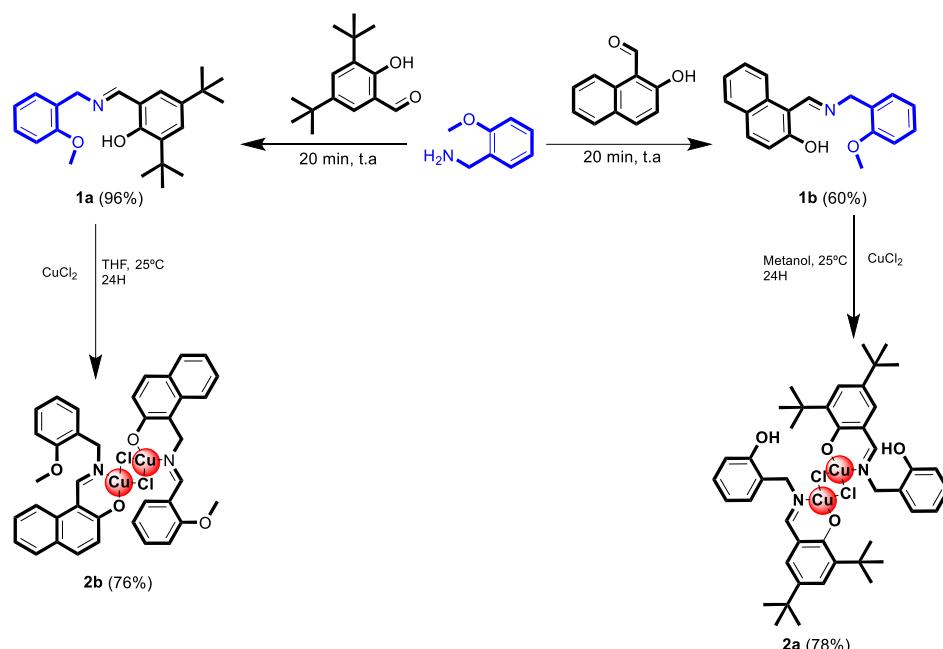
O pré-ligante **1a** (0,300 g; 0,85 mmol) foi dissolvido em metanol (10 mL) sob agitação. A esta solução foi adicionada, gota a gota, uma solução de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,145 g; 0,85 mmol) em metanol (2 mL). A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida, obtendo-se um sólido de coloração verde, que foi seco a vácuo (complexo **2a**). O complexo **2b** foi obtido de forma análoga ao complexo **2a**, utilizando-se o pré-ligante **1b** (0,100 g; 0,34 mmol) dissolvido em tetraidrofurano (THF, 5 mL). A esta solução foi adicionada uma solução de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,045 g; 0,34 mmol) em THF (2 mL). Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se um sólido de coloração marrom, que foi seco a vácuo.

Interações com macromoléculas

A interação dos complexos **2a** e **2b** com albumina sérica bovina (BSA), albumina sérica humana (HSA) e DNA de timo de bezerro (ct-DNA) foi investigada por espectroscopia de absorção no UV-Vis e fluorescência. Os complexos foram inicialmente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) e posteriormente diluídos em tampão fosfato salino (PBS, 10 mM, pH 7,4) para obtenção de soluções de trabalho (50 μM). As soluções de BSA e HSA foram preparadas em PBS (pH 7,4) a $8,9 \times 10^{-4} \mu\text{M}$, enquanto a solução de ct-DNA foi preparada em tampão trizma e a pureza confirmada pela razão A_{260}/A_{280} (1,8–1,9). Para os experimentos de titulação, volumes graduais das soluções das macromoléculas foram adicionados às soluções dos complexos. Os espectros de UV-Vis foram obtidos entre 190–1100 nm. As alterações espectrais foram utilizadas para cálculo das constantes de ligação (K_b).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese das bases de Schiff **1a** e **1b** foi conduzida sem solvente, utilizando quantidade equimolar da amina 2-metoxybenzyl-amina com 4-di-*tert*-butylsalicylaldehyde (**a**) ou 2-hydroxy-1-naphthaldehyde, por 20 minutos assistido por ultrassom. Essa abordagem baseia-se no fenômeno de cavitação acústica, no qual ondas ultrassônicas induzem a formação, crescimento e colapso de microbolhas em meio líquido. O colapso dessas microbolhas gera microambientes de alta temperatura e pressão localizadas, intensificando a dispersão dos reagentes e aumentando a frequência de colisões entre as fases reacionais. O composto **1a** foi obtido como sólido amarelo com rendimento elevado (96%), enquanto o composto **1b**, também sólido amarelo, apresentou rendimento moderado (60%), ambos compostos foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C .



Esquema 1. Rota sintética dos compostos **1a**, **1b**, **2a** e **2b**.

A reação dos com compostos **1a** e **1b** com CuCl₂ resultou nos compostos **2a** e **2b** em metanol (**2a**) ou THF (**2b**) por 24 h em temperatura ambiente. O composto **2a** foi obtido na cor verde, enquanto o composto **2b** foi obtido na cor marrom com rendimentos de 72% e 60% respectivamente. Os compostos **2a** e **2b** foram previamente publicados pelo nosso grupo de pesquisa por, dos Santos, et. Al. 2020

A albumina sérica bovina (BSA), com cerca de 76% de similaridade estrutural com a Albumina Sérica Humana, é frequentemente usada como modelo experimental por ser economicamente mais viável e de fácil obtenção. A interação dos compostos **2a** e **2b** com a albumina sérica bovina foi realizada por espectroscopia de UV-Vis, onde foi possível observar um efeito hipocrômico para o composto **2a**, o qual pode ser observado na **Figura 1a**, o que sugere uma interação do complexo com as zonas hidrofóbicas ou o envelopamento da estrutura proteica. O composto **2b** apresentou um efeito hipercrômico, pode ser observado na **Figura 1b**, o que sugere uma interação com a superfície da proteína.

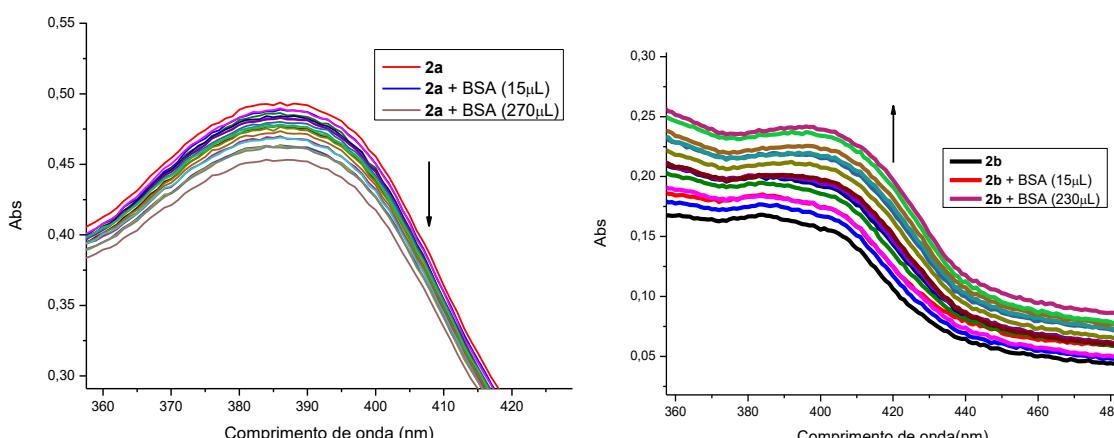


Figura 1. Espectro por espectrofotômetro UV-Vis da interação com BSA com (a) **2a** (b) **2b**

O DNA de timo de bezerro (CT-DNA) é amplamente utilizado como modelo para estudos de interação molecular. Pela análise de UV-Vis (**Figura 2**), o composto **2a** apresentou efeito hipocrômico (**Figura 2a**), indicando interação por intercalação. Já o composto **2b** (**Figura 2b**) exibiu efeito hipercrônico, caracterizando interação parcial ou não intercalada. As constantes de ligação (K_b), determinadas pela equação de Benesi-Hildebrand, foram de $6,47 \times 10^6$ para o composto **2a** e $1,25 \times 10^6$ para o composto **2b**, evidenciando que o complexo **2b** interage de forma mais forte com o DNA, uma vez que valores elevados de K_b refletem maior afinidade.

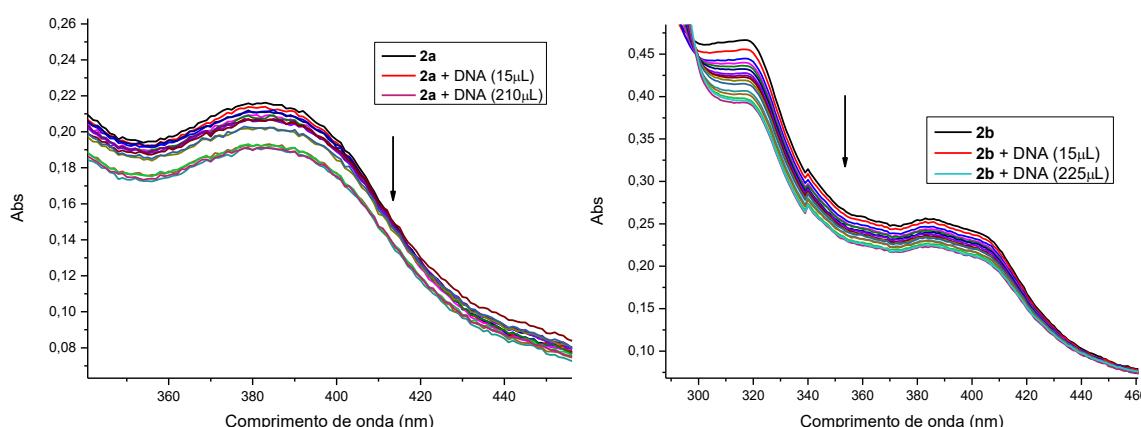


Figura 2. Espectro por espectrofotômetro UV-Vis da interação com ct-DNA com (a) **2a** (b)**2b**.

4. CONCLUSÕES

Os compostos **1a** e **1b** foram obtidos por síntese sonoquímica com bons rendimentos. Os estudos de interação mostraram que os compostos **2a** e **2b** se ligam tanto à proteína BSA quanto ao CT-DNA, sendo que o composto **2b** apresentou maior afinidade com o CT-DNA. Como perspectivas, destacam-se investigações adicionais para elucidar de forma mais detalhada o modo de interação desses complexos com macromoléculas, bem como ensaios citotóxicos e *in vitro*, visando explorar o potencial biológico desses complexos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alhazmi, H. A., et al., Bindinh investigation of some important metal ions coopes(I), Nickel (II), and aluminium (III) with bovine serum albumin using valid spectroscopic techniques. *Journal of chemistry*, **2023**.
2. de Oliveira, L. L., et al., "Synthesis and characterization of Ni (II) complexes supported by phenoxy/naphthoxy-imine ligands with pendant N- and O-donor groups and their use in ethylene oligomerization," *Appl. Organomet. Chem.*, **2018**.
3. Bora, A., et al., Studies on the effect of remote substituents on the DNA binding activity of novel chiral Schiff bases. *Journal of Molecular Structure*, **2021**.
4. Kar, S., et al., *Green Chemistry in the Synthesis of Pharmaceuticals; Chemical Reviews*, **2022**.
5. Muriel, A. A., et al., Pincer Complexes Derived from Tridentate Schiff Bases for Their Use as Antimicrobial Metallopharmaceuticals. *Inorganics*, **2022**.
6. dos Santos, T. M., et. al., Synthesis, molecular structure and antioxidant activity of bis [L(μ_2 -chloro)copper(II)] supported by phenoxy/naphthoxy-imine ligands, *Journal of Inorganic Biochemistry*; **2020**.