

POTENCIAL TERAPÊUTICO NA DOENÇA DE ALZHEIMER: ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E ANTIOXIDANTE DO COMPLEXO INORGÂNICO DE ZINCO (II) COM ÁCIDO TARTÁRICO

Natyele A. da Silva¹; Sabrina S. da Silva¹; Jordana L. Braga^{1, 4}; Sara I. C. G. Barbosa¹; Lucas S. Frota¹, Selene M. de Moraes¹, Wildson M. B. da Silva², Solange de O. Pinheiro¹

¹*Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará (UECE)*

²*Centro de Tecnologia, Universidade Vale do Acaraú (UVA)*

e-mail: whynntn7@gmail.com

Palavras-Chave: Metalofármacos, Bioinorgânica, Espectroscopia

Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa progressiva e incurável que representa a forma mais comum de demência em idosos. Caracteriza-se pela perda gradual da memória, declínio cognitivo e alterações comportamentais, sendo causada por múltiplos fatores, incluindo o acúmulo de placas beta-amiloïdes, emaranhados neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada, estresse oxidativo e disfunção colinérgica. Diante da ausência de cura definitiva, o desenvolvimento de fármacos eficazes é essencial para retardar o avanço da doença, aliviar os sintomas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (BORDOLOI *et al.*, 2024; KAUR *et al.*, 2022).

Atualmente, os principais fármacos utilizados no tratamento da DA atuam por meio da inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), cuja função é degradar a acetilcolina — neurotransmissor essencial para os processos de aprendizagem e memória. A inibição da AChE tem como objetivo aumentar a disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica, atenuando, assim, os sintomas cognitivos da doença. Além disso, substâncias com propriedades antioxidantes têm sido amplamente estudadas, uma vez que, o estresse oxidativo está fortemente associado à neurodegeneração observada na DA (ZAFAR *et al.*, 2021).

Nesse contexto, os complexos inorgânicos surgem como candidatos promissores no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas (SILVA *et al.*, 2020). Em especial, os complexos metálicos de zinco (II) têm despertado interesse devido às suas propriedades biológicas versáteis. O zinco (II) é um elemento-traço essencial no organismo humano, envolvido em diversos processos bioquímicos, inclusive na modulação da atividade enzimática, na função antioxidante e na proteção contra danos oxidativos às células nervosas (OLIVEIRA, 2022).

A utilização do ácido tartárico como ligante em complexos de Zn (II) pode potencializar essas propriedades, uma vez que, o ácido tartárico é um composto orgânico naturalmente presente em frutas e conhecido por sua atividade antioxidante (LEIROSE, 2020). A formação de complexos Zn(II)-ácido tartárico pode resultar em compostos com dupla ação: inibição da acetilcolinesterase e atividade antioxidante significativa, conferindo assim um potencial terapêutico interessante para o tratamento da Doença de Alzheimer.

Portanto, a investigação de complexos inorgânicos de Zn (II) com ligantes biologicamente ativos, como o ácido tartárico, representa uma estratégia inovadora e promissora na busca por novos fármacos mais eficazes e seguros para o combate à Doença de Alzheimer. Estudos nessa linha não apenas contribuem para o avanço do conhecimento científico, como também abrem novas perspectivas para o desenvolvimento de terapias multifuncionais no enfrentamento de doenças neurodegenerativas complexas.

Na literatura foram identificados complexos apenas com a utilização do tartarato com o íon Zn (II), este estudo foi reportado por Li *et al.* (2010), os autores sintetizam com sucesso um novo complexo dinuclear hidratado de tartarato de zinco (II) por meio de uma reação em estado sólido a baixa temperatura, com fórmula $[\text{Zn}_4(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_4(\text{H}_2\text{O})_8] \cdot (\text{H}_2\text{O})_{12}$. A estrutura cristalina do composto consiste em duas unidades diméricas independentes de $[\text{Zn}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_2(\text{H}_2\text{O})_4]$, acompanhadas por 12 moléculas de água de cristalização.

Este estudo propõe, de forma inédita, a síntese e caracterização de um complexo mononuclear de Zn (II) com ácido tartárico, por meio de uma rota sintética nova, ainda não descrita na literatura. O objetivo principal é investigar o potencial terapêutico desse novo complexo inorgânico, com ênfase na avaliação de suas atividades anticolinesterásica e antioxidante, visando sua possível aplicação como agente promissor no tratamento da Doença de Alzheimer.

Material e Métodos

Síntese do Complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$, onde ATR é o ácido tartárico.

A metodologia de síntese adotada neste estudo é inédita na literatura. Para a realização da síntese do complexo em estudo foi utilizado uma proporção molar de 1:2 íon metálico-ligante, onde dissolveu-se 0,1 g de acetato de zinco dihidratado e 0,257 g do ligante tartarato de sódio e potássio, que em solução se transforma em ácido tartárico, ambos em 10 mL de água. Após as dissoluções, adicionou-se as soluções em um balão de fundo redondo de 250 mL, primeiramente o sal e depois o ligante. Processou-se a reação por 20 min com agitação, em seguida adicionou-se 3 gotas de trietilamina e a reação processou por 2 h. Para auxiliar na sua precipitação adicionou-se 50 mL de etanol gelado. Logo após, o composto foi mantido em 24 h em refrigeração, o composto foi filtrado em papel filtro e armazenado em dessecador sob vácuo.

Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta e Visível (UV-Vis)

A espectroscopia de absorção UV-Vis (190–800 nm) é empregada na identificação de espécies inorgânicas, especialmente compostos de coordenação, evidenciando transições entre orbitais *d* dos metais e a influência dos ligantes (SKOOG *et al.*, 2009; MIESSLER *et al.*, 2014). O espectro eletrônico do complexo foi obtido em espectrofotômetro SHIMADZU UV-1800, utilizando cubeta de quartzo e soluções na concentração de 1×10^{-3} mol/L.

Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH (BECKER *et al.*, 2019, com modificações) e ABTS (RE *et al.*, 1999), utilizando microplacas de 96 poços e leitor Elisa BioTek ELX 800. As amostras foram preparadas a partir de solução-mãe (2,0 mg/mL), com diluições de 100 a 3,12 µg/mL. As leituras de absorbância foram realizadas em 515 nm (DPPH, após 60 min) e 630 nm (ABTS⁺, após 10 min). Todas as soluções, exceto o complexo e o ligante, serviram como controle negativo. A CI₅₀ foi determinada e analisada por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). Foram utilizados como padrões comparativos Butil-hidroxitolueno (BHT) e Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox).

Teste de Inibição para Enzima Acetilcolinesterase

A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi avaliada em microplacas de 96 poços com leitor Elisa BioTek ELX 800, seguindo a metodologia de Ellman *et al.* (1961), com adaptações de Rhee *et al.* (2001) e Trevisan *et al.* (2003). Por poço, foram adicionadas soluções de substrato (iodeto de acetiltiocolina, 15 mM), DTNB (3 mM), tampão Tris/HCl (pH 8, com BSA) e 25 µL da amostra (0,2 mg/mL). As amostras foram diluídas a partir de solução-mãe (2,0 mg/mL) nas concentrações de 100 a 3,12 µg/mL. A absorbância foi medida

inicialmente a 405 nm por 30 s, seguida da adição da AChE (0,25 U/mL), com leitura contínua por 25 minutos. Como controle negativo, usaram-se todas as soluções exceto o complexo e o ligante. Galantamina e fisostigmina foram os padrões positivos.

Resultados e Discussão

Síntese do Complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$, onde ATR é o ácido tartárico.

A síntese do complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$ apresentou, ao longo da reação, uma mudança perceptível em sua coloração. Inicialmente, a solução era translúcida após a adição do sal de zinco e do ligante ácido tartárico (Figura 01). Com a adição da trietilamina, observou-se uma alteração na cor da mistura reacional para branco (Figura 02), coloração que se manteve até o final do processo de síntese. Essa mudança de cor é um forte indicativo da ocorrência de coordenação entre o íon Zn^{2+} e o ligante, uma vez que processos de complexação frequentemente promovem alterações nas propriedades ópticas da solução, como resultado de modificações no ambiente eletrônico do metal de transição. Portanto, a observação experimental da mudança de cor reforça a formação do complexo desejado.

Figura 01: Representação do meio reacional após a adição do ligante ao metal zinco.



Fonte: próprios autores.

Figura 02: Representação do meio reacional após a adição trietilamina para o complexo $[\text{Zn}(\text{ATR}_2)](\text{CH}_3\text{COO})_2$.

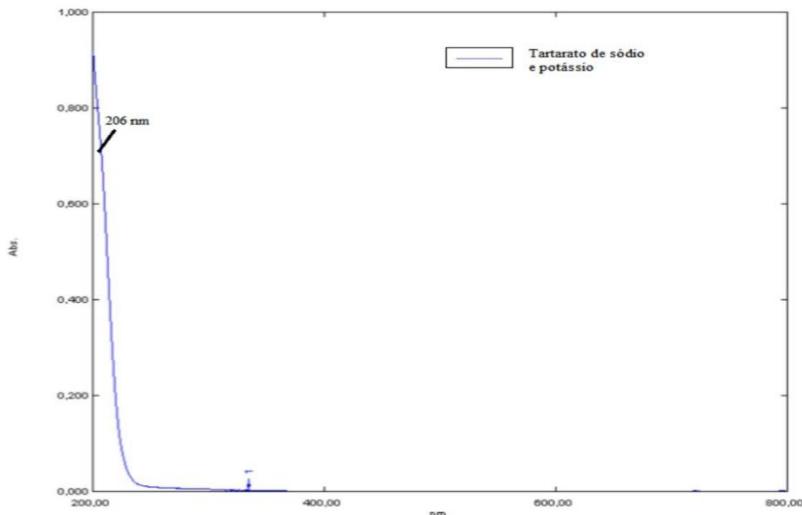


Fonte: próprios autores.

Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta e Visível (UV-Vis)

A Figura 03 apresentam os espectros eletrônicos UV-Vis do ligante ácido tartárico.

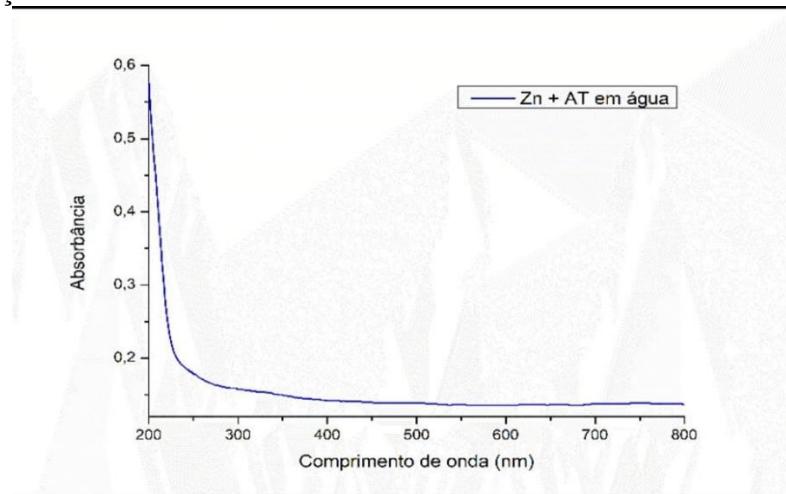
Figura 03 - Espectro eletrônico na região UV-Vis para ligante tartarato de sódio e potássio, que em solução se transforma em ácido tartárico, em água, concentração: 1×10^{-3} mol/L.



Fonte: próprios autores.

A espectroscopia UV-Vis mostrou que o ligante tartarato de sódio e potássio, convertido em ácido tartárico em solução, apresentou uma banda em 206 nm, atribuída à transição $n \rightarrow \pi^*$ (ARAÚJO, 2016). A Figura 04 apresenta o espectro do complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{CCO})_2$, observa-se apenas uma banda em 200 nm atribuída à transição intraligante do tipo $n \rightarrow \pi^*$.

Figura 04: Espectro eletrônico na região UV-Vis para o complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$ em água, concentração de 1×10^{-3} mol/L.



Fonte: Próprios autores.

Atividade Antioxidante e Inibição de AChE do Complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$

Nos ensaios antioxidantes, o complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{CCO})_2$, demonstrou uma elevada atividade antioxidante. Esse potencial antioxidante foi avaliado por meio da medição da inibição do radical DPPH e ABTS, que são modelos amplamente reconhecidos para avaliar a capacidade de uma substância em neutralizar os radicais livres (FROTA *et al.*, 2023). Os resultados obtidos (Tabela 01) indicam que o complexo possui valores de concentração média inibitória (CI_{50}) de $11,83 \pm 0,23 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para inibição do radical DPPH, nos testes com ABTS

o complexo apresentou maior afinidade com o método, apresentando CI_{50} de $7,04 \pm 0,86 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, Tabela 01.

Tabela 01 – Atividade antioxidante e atividade de inibição da enzima antiacetilcolinesterase do complexo $[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$ e de seus precursores.

Amostras	CI_{50} DPPH [·] ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	CI_{50} ABTS ⁺ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	CI_{50} AChE ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
BHT (Padrão)	$10,25 \pm 0,02$	$10,67 \pm 0,08$	-
Trolox (Padrão)	$12,35 \pm 0,05$	$12,13 \pm 0,07$	-
Galantamina (Padrão)	-	-	$5,82 \pm 0,02$
Fisostigmina (Padrão)	-	-	$6,68 \pm 0,08$
Acetato de zinco	$52,89 \pm 0,46$	*	$57,52 \pm 0,04$
Tartarato de sódio e potássio	$13,15 \pm 0,93$	$14,09 \pm 0,58$	$12,31 \pm 0,27$
$[\text{Zn}(\text{ATR})_2](\text{CH}_3\text{COO})_2$	$11,83 \pm 0,23$	$7,04 \pm 0,86$	$11,20 \pm 0,28$

CI_{50} - concentração inibitória média; BHT - Butil-hidroxitolueno; Trolox - Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico.

*Encontra-se em análise.

Fonte: Próprios autores.

Vale destacar que no método ABTS, o complexo em estudo possui atividade maior que as dos antioxidantes comerciais BHT e Trolox. A maior eficácia do ensaio ABTS na detecção da atividade antioxidante do complexo pode ser atribuída à sua capacidade de interagir com uma ampla gama de compostos, independentemente de sua polaridade (MOURA, 2010; SILVA, 2024). No método DPPH, o complexo apresentou atividade antioxidante superior à do padrão Trolox, o que indica um potencial promissor como agente neutralizador de radicais livres. Esse resultado é particularmente relevante, uma vez que o Trolox é um análogo hidrossolúvel da vitamina E amplamente utilizado como referência em testes antioxidantes (ALI *et al.* (2008)). A capacidade do complexo de superar a eficácia de um padrão consagrado sugere que ele pode oferecer benefícios terapêuticos mais eficazes no combate ao estresse oxidativo, um dos fatores associados à progressão da Doença de Alzheimer.

Em comparação com o tartarato de sódio e potássio (ácido tartárico), observou-se uma potencialização da atividade antioxidante no complexo estudado em ambos os métodos avaliados. Esse aumento pode ser atribuído à coordenação do ligante com o íon Zn (II), que pode favorecer a estabilização do sistema e promover uma melhor deslocalização eletrônica. Além disso, a presença do íon metálico pode atuar como centro redox, facilitando a transferência de elétrons ou a neutralização de radicais livres.

O complexo também apresentou alta atividade inibitória contra a enzima acetilcolinesterase ($CI_{50} < 20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), com um valor de CI_{50} de $11,20 \pm 0,28 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, evidenciando seu potencial como material promissor na inibição dessa enzima, sendo mais ativo que os precursores, mas menos efetivo do que os fármacos já convencionais para a inibição dessa enzima, galantamina e fisostigmina. Com isso, esse resultado contribui para o avanço dos estudos sobre moléculas com potencial terapêutico contra a Doença de Alzheimer, uma

enfermidade neurodegenerativa associada, entre outros fatores, à redução dos níveis de acetilcolina, neurotransmissor cuja degradação é catalisada pela acetilcolinesterase. Assim, a busca por inibidores eficazes dessa enzima permanece altamente relevante na pesquisa científica atual (FERREIRA, 2024).

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos na síntese e nos estudos espectroscópicos do complexo inorgânico $[Zn(ATR)_2](CH_3COO)_2$ foi possível confirmar a coordenação do ligante ácido tartárico ao íon metálico Zn^{2+} . O complexo obtido apresentou boa solubilidade em água, característica relevante, considerando que a maioria dos processos biológicos ocorre em meio aquoso. A mudança de coloração observada em diferentes etapas da síntese se destacou como um dos principais indicativos experimentais da formação do complexo, sugerindo alterações no ambiente eletrônico do metal. O complexo em estudo encontra-se em análise de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e de espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^{13}C e 1H para definição de sua estrutura e dos sítios de coordenação.

Os resultados obtidos ao longo deste estudo evidenciam o potencial terapêutico do complexo inorgânico $[Zn(ATR)_2](CH_3COO)_2$ frente à Doença de Alzheimer. A significativa atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE), aliada à sua ação antioxidante, destaca o complexo como uma molécula promissora na busca por novos agentes multifuncionais no tratamento dessa enfermidade neurodegenerativa.

Portanto, o complexo $[Zn(ATR)_2](CH_3COO)_2$ demonstrou ser uma base sólida para o desenvolvimento de estudos mais aprofundados, tanto em nível bioquímico quanto farmacológico, contribuindo para o avanço de novas estratégias no combate à Doença de Alzheimer.

Agradecimentos

Agradecimentos à Universidade Estadual do Ceará (UECE), ao Laboratório de Química Inorgânica (LQUIN) e ao Laboratório de Produtos Naturais (LQPN).

Referências

- ALI, S. S. *et al.* Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, 41, 1–15 2008.
- ARAÚJO, A. M. U. DE. Síntese e Caracterização de Complexos de Co(II) e Ni(II) com L-DOPA, CARBIDOPA E BENZIMIDAZOL. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2016.
- BECKER, M. *et al.* Determination of the antioxidant capacity of red fruits by miniaturized spectrophotometry assays. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 3(4), 223–227, 2019.
- BORDOLOI, S. *et al.* Some promising medicinal plants used in Alzheimer's disease: an ethnopharmacological perspective. **Discover Applied Sciences**, [S.L.], 6(5), 1-20, 2024.
- ELLMAN, G. L. *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, 7(2), 88–95, 1961.
- FERREIRA, T. G. *et al.* Terapias antioxidantes no manejo da doença de Alzheimer: uma revisão integrativa. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, 10(9), 2764-2772, 2024.
- FROTA, L. S. *et al.* Antioxidant and anticholinesterase activities of amentoflavone isolated from *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. through *in vitro* and chemical-quantum studies. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, 41(4), 1206–1216, 2023.
- KAUR, Rajwinder *et al.* Potential of flavonoids as anti-Alzheimer's agents: bench to bedside. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], 29(18), 26063- 26077, 2022.

LEIROSE, G. D.; LOUSTALOT, M. F. G.; OLIVEIRA, A. H. A aplicação de multi-isótopos para controle de qualidade: ácido tartárico / The application of multi-isotopes for quality control. **Brazilian Applied Science Review**, Curitiba, 4(6), 3837-3844, 2020.

LI, B.-G.; MI, J.; NIE, F.-M. Solid-State Synthesis and Structural Characterization of Hydrated Zinc (II) Tartrate Complex. **Journal of Chemical Crystallography**, 40, 29-33, 2010.

MEISSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. Química Inorgânica. 5. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014.

MOURA, L. M. Compostos Bioativos Em Frutas Cítricas: Quantificação, Avaliação Da Atividade Antioxidante, Parâmetros De Cor E Efeito Da Pasteurização. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, 2010.

OLIVEIRA, J. S. *et al.* SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE ZINCO COM O LIGANTE N, N-(dimetil)-N'-benzoiltioureia. Instituto Federal Goiano. Dissertação. 2022.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], 26(9), 1231- 1237, 1999.

RHEE, In Kyung *et al.* Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], 915(1-2), 217-223, 2001.

SILVA, W. M. B da *et al.* Anacardic Acid Complexes as Possible Agents Against Alzheimer's Disease Through Their Antioxidant, In vitro, and In silico Anticholinesterase and Anxiolytic Actions. **Neurotoxicity Research**, [S.L.], 39(2), 467- 476, 2020.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. James. Fundamentos de Química Analítica. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

TREVISAN, M. T. S. *et al.* Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, [S.L.], 26(3), 301-304, 2003.

ZAFAR, R. *et al.* Prospective Application of Two New Pyridine-Based Zinc (II) Amide Carboxylate in Management of Alzheimer's Disease: synthesis, characterization, computational and in vitro approaches. **Drug Design, Development And Therapy**, [S.L.], 15, 2679-2694, 2021.