

## ESTUDO DO COMPLEXO INORGÂNICO Zn (II)-ÁCIDO CALCONCARBOXÍLICO NA DOENÇA DE ALZHEIMER: ABORDAGENS BASEADAS NAS HIPÓTESES COLINÉRGICA E ANTIOXIDANTE

Natyele A. da Silva<sup>1</sup>; Carina N. B. Oliveira<sup>1</sup>; Jordana L. Braga<sup>1</sup>; Sara I. C. G. Barbosa<sup>1</sup>; Lucas S. Frota<sup>1</sup>, Selene M. de Moraes<sup>1</sup>, Wildson M. B. da Silva<sup>2</sup>, Solange de O. Pinheiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Estadual do Ceará (UECE), Centro de Ciência e Tecnologia.*

<sup>2</sup>*Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), Centro de Ciências Exatas e Tecnologia.*

e-mail: [whyntn7@gmail.com](mailto:whyntn7@gmail.com)

**Palavras-Chave:** Bioinorgânica, Metalofármacos, Antioxidante.

### Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva e multifatorial, caracterizada por declínio cognitivo, perda de memória e disfunções comportamentais. Entre os principais fatores envolvidos em sua fisiopatologia estão a deficiência colinérgica, o estresse oxidativo e a formação de placas senis de  $\beta$ -amiloide. Nesse contexto, compostos de coordenação têm ganhado destaque como potenciais candidatos terapêuticos devido à sua versatilidade estrutural e capacidade de modular múltiplos alvos biológicos (BORDOLOI *et al.*, 2024; KAUR *et al.*, 2022).

Particularmente, complexos inorgânicos (compostos de coordenação) de Zinco (II) têm despertado interesse por sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e participação em processos fisiológicos essenciais, incluindo defesa antioxidante e regulação de enzimas (RINK E GABRIEL, 2000). O íon Zinco (II) desempenha um papel crucial na regulação das respostas imunes e na manutenção do equilíbrio celular, o que também se aplica aos seus complexos (PINHEIRO *et al.*, 2025). A coordenação do Zn (II) com ligantes orgânicos como o ácido calconcarboxílico pode resultar em complexos com propriedades sinérgicas, capazes de atuar como antioxidantes e inibidores de enzimas colinesterásicas, contribuindo para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas na DA.

A Química Bioinorgânica trata-se do estudo de como os elementos inorgânicos são utilizados pelos organismos vivos, seja por meio de reações metabólicas, composição química estrutural de moléculas biológicas ou o uso de complexos metálicos como espécies bioativas (KAUFMANN E MARQUES, 2020). Logo, é de grande relevância científica, pois a química de coordenação proporcionada pela interação entre o ligante e o centro metálico, por meio de ligações coordenadas, favorece a síntese de novos fármacos.

O ácido calconcarboxílico é um composto orgânico amplamente empregado na indústria farmacêutica como indicador na determinação de íons de cálcio na presença de íons de magnésio (SIDDEEG; TAHOON; BEN REBAH, 2019). Sua molécula também tem sido estudada por suas aplicações biológicas, principalmente devido à sua capacidade de se ligar seletivamente a íons metálicos, influenciando processos bioquímicos. Suas propriedades de complexação também possibilitam seu uso em sistemas catalíticos e em estudos de equilíbrio químico em soluções aquosas. Estudos destacam sua habilidade de formar complexos estáveis com íons metálicos, tornando-o uma ferramenta importante em ensaios analíticos e na química ambiental (SALEH *et al.*, 2017). Além disso, sua alta afinidade por determinados íons metálicos

permite seu uso em biossensores para a detecção rápida e precisa de metais em fluidos biológicos (LIU *et al.*, 2020).

Dante desse contexto, o objetivo deste trabalho é realizar a síntese do complexo formado entre o íon  $Zn^{2+}$  e o ácido calconcarboxílico, com ênfase na caracterização estrutural e na avaliação de suas potenciais atividades biológicas, incluindo a ação antioxidante e a capacidade inibitória sobre enzimas colinesterásicas, visando sua aplicação no tratamento da Doença de Alzheimer.

## Material e Métodos

### Síntese do complexo Inorgânico Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se uma solução contendo 0,06 g de ácido calconcarboxílico dissolvido em 10 mL de água destilada. Em seguida, preparou-se separadamente uma solução de 0,03 g de acetato de zinco em 10 mL de água destilada, a qual foi adicionada ao balão contendo o ácido calconcarboxílico. A mistura foi submetida à agitação utilizando um agitador magnético, após 20 min de reação, foram adicionadas três gotas de trietilamina. A reação se processou por 3 h. Ao final da síntese, 100ml de álcool etílico gelado foram adicionados à mistura, que foi então levada à refrigeração por 48 h. Após o período como não foi possível observar a formação de precipitado, a solução foi submetida pelo processo de rotaevaporação. O composto foi então separado por filtração e guardado sob vácuo.

O teste de solubilidade do composto formado foi realizado em cinco solventes: água destilada, álcool metílico, álcool etílico, acetona e dimetilsulfóxido (DMSO). Foram pesados 1 mg e colocados em 3 mL em cada solvente.

### 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  $1 \times 10^{-3}$  mol/L.

## Avaliação da Capacidade Antioxidante

A concentração das soluções utilizadas no experimento foi de  $1 \times 10^{-3}$  mol/L. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazil), seguindo a metodologia descrita por Becker *et al.* (2019), com modificações pelo método ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etylbenziazolino-6-sulfônico) descrito por Re *et al* (1999). Os testes foram realizados em microplaca de fundo chato de 96 poços em leitor Elisa BioTek, modelo ELX 800. As diluições das amostras e dos padrões positivos utilizadas nas avaliações quantitativas em microplaca, partiram de solução mãe com concentração de  $2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$  foram:  $100 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $50 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $25 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $12,5 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $6,25 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $3,12 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ . A absorbância foi aferida em 490 nm para o radical DPPH, após 60 minutos de incubação, a 630 nm para o radical ABTS<sup>+</sup>, após 10 minutos de incubação. Como padrão negativo foram utilizadas todas as soluções, excetuando-se o complexo e o ligante. Foram extintos da análise os valores referentes às colorações naturais das amostras. Os antioxidantes quercetina e ácido gálico foram utilizados para comparação.

## Avaliação da Inibição da Enzima Acetilcolinesterase (AChE)

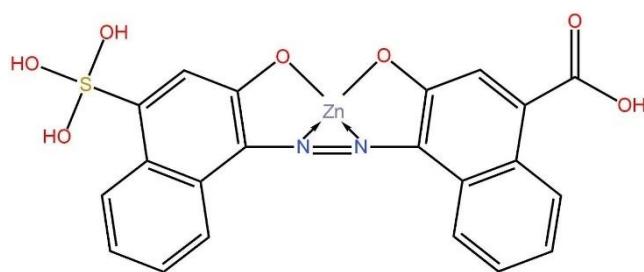
A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi aferida em placas de 96 poços de fundo chato utilizando leitor Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software “Gen5 V2.04.11”, baseando-se na metodologia descrita por Ellman *et al.* (1961). Em placas de 96 poços, foram utilizadas as seguintes soluções por poço: 25  $\mu\text{L}$  de iodeto de acetiltiocolina (15 mM), 125  $\mu\text{L}$  de 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] na solução Tris/HCl (50 nM, pH = 8, com 0,1 M de NaCl e 0,02 M de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . (3 mM, DTNB ou reagente de Ellman), 50  $\mu\text{L}$  da solução Tris/HCl (50 nM, pH = 8, com 0,1% de albumina sérica bovina (BSA), 25  $\mu\text{L}$  da amostra de extrato dissolvida no solvente de extração da amostra e diluída 10 vezes na solução Tris/HCl (50 mM, pH = 8) para obter uma concentração final de 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> (RHEE *et al.*, 2001; TREVISAN *et al.* 2003). As diluições das amostras e dos padrões positivos utilizadas nas avaliações quantitativas em microplaca, partiram de solução mãe com concentração de 2,0 mg.mL<sup>-1</sup> foram: 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 12,5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 6,25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 3,12  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . A absorbância foi aferida a 405 nm durante 30 segundos. Em seguida, foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  da enzima acetilcolinesterase (0,25  $\mu\text{mL}^{-1}$ ) e a absorbância foi aferida por minuto até o total de 25 min de incubação da enzima. Como padrão negativo foram utilizadas todas as soluções, excetuando-se a amostra. Os padrões utilizados como controle positivo foram a galantamina e a fisostigmina

## Resultados e Discussão

### Síntese do complexo Inorgânico Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico

Na síntese descrita anteriormente, obteve-se aproximadamente 35 mg de um precipitado de coloração violeta após o processo de filtração, correspondendo a um rendimento de 37%. A complexação do ácido calconcarboxílico com o íon  $\text{Zn}^{2+}$  resulta na formação de um complexo de coordenação, no qual o ligante orgânico se coordena ao íon metálico por meio de seus grupos funcionais. Em geral, a coordenação ocorre preferencialmente através dos grupos carboxílicos e, possivelmente, por outros sítios doadores presentes na estrutura do ácido, conforme representado na Figura 01.

**Figura 01:** Proposta estrutural do complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico.



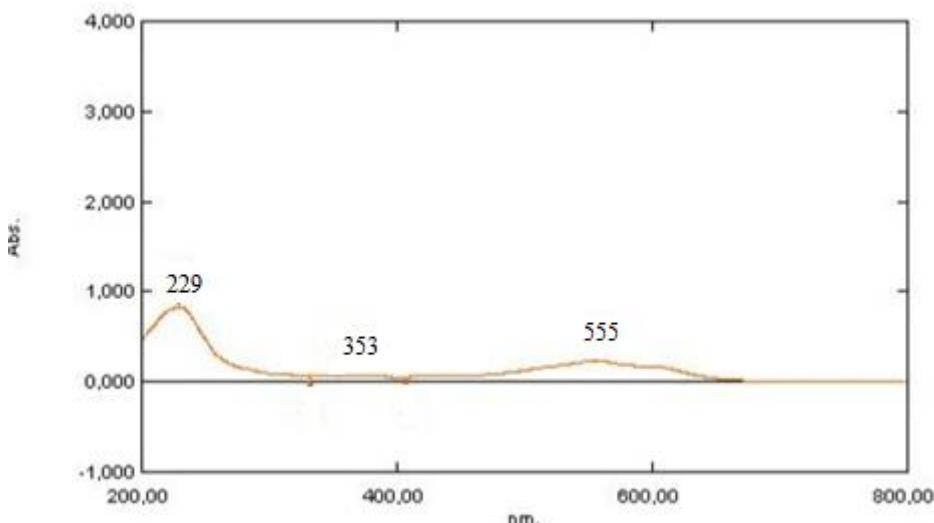
Fonte: próprio autores.

O teste de solubilidade demonstrou que o complexo apresenta boa solubilidade em água, metanol e dimetilsulfóxido (DMSO). Essa característica é fundamental para a realização de ensaios biológicos, uma vez que a solubilidade adequada em solventes polares permite a preparação de soluções homogêneas, favorecendo a biodisponibilidade do composto em sistemas *in vitro* e facilitando sua interação com alvos biológicos. Além disso, solventes como água e DMSO são amplamente utilizados em protocolos farmacológicos e bioquímicos, o que reforça o potencial do complexo para aplicações em estudos preliminares de atividade biológica.

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

A Figura 02 apresenta o espectro eletrônico na região do UV-Vis do ligante Ácido Calconcarboxílico em água. No espectro do ligante foram observadas bandas em 555, 353 e 229 nm, atribuídas às transições intraligantes.

**Figura 02:** Espectro eletrônico na região do UV-Vis do Ácido Calconcarboxílico em água.



Fonte: Próprio autores.

A Figura 03 apresenta o espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico em água. Foram observadas as bandas em 589, 554, 349 e 224 nm. As bandas em 224, 349 e 554 nm são atribuídas às transições intraligantes do ligante Ácido Calconcarboxílico. O surgimento da banda em 589 nm é atribuída à transição metal-ligante. Além disso, houve um deslocamento hipsoacrônico das bandas em relação ao ligante. O deslocamento hipsoacrônico ocorre quando uma banda de absorção se move para comprimentos de onda menores, indicando que houve mudanças eletrônicas na estrutura química.

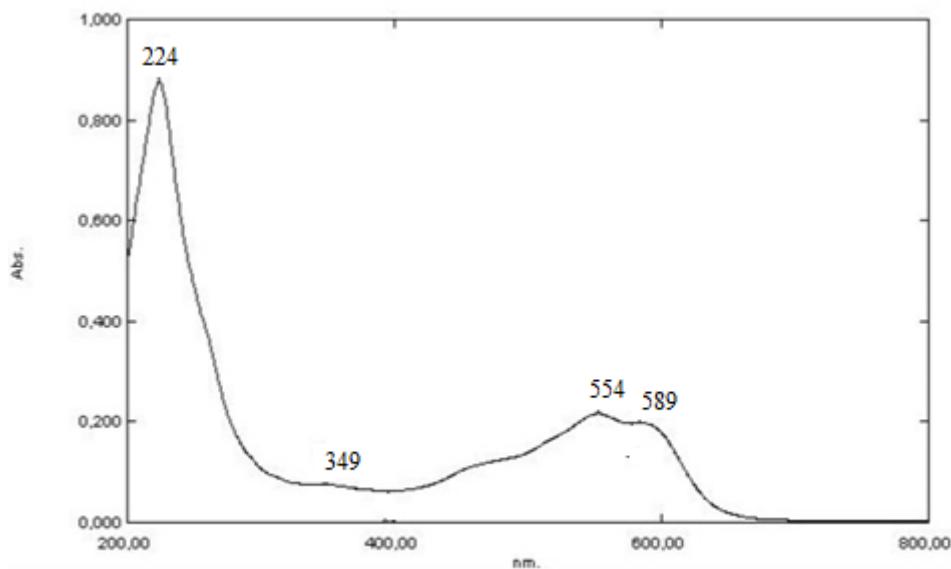
As bandas observadas em 224, 349 e 554 nm são atribuídas a transições intraligantes ( $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $n \rightarrow \pi^*$ ) do ácido calconcarboxílico, indicando que os grupos cromóforos do ligante permanecem ativos mesmo após a coordenação. No entanto, o aparecimento de uma nova banda em 589 nm, ausente no espectro do ligante livre, é um indicativo claro da formação do complexo de coordenação, sendo atribuída a uma transição de transferência de carga metal-ligante (LMCT – *Ligand-to-Metal Charge Transfer*), típica em complexos envolvendo íons metálicos de metais de transição como o  $Zn^{2+}$ .

Além disso, observa-se um deslocamento hipsoacrônico das bandas intraligantes em comparação ao espectro do ácido calconcarboxílico isolado. Esse fenômeno, caracterizado pelo deslocamento das bandas para menores comprimentos de onda, sugere que houve uma alteração na densidade eletrônica do ligante após a coordenação com o íon  $Zn^{2+}$ . Esse deslocamento pode ser atribuído à retirada de densidade eletrônica dos orbitais do ligante devido à interação com o íon metálico, o que aumenta a energia necessária para as transições eletrônicas e, consequentemente, reduz o comprimento de onda das absorções.

Essas mudanças espectrais confirmam não apenas a interação efetiva entre o metal e o ligante, mas também a formação de um novo arranjo eletrônico no complexo, característico de

espécies coordenadas. Portanto, os dados espectroscópicos corroboram fortemente a formação do complexo Zn(II)-Ácido Calconcarboxílico em meio aquoso.

**Figura 03:** Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico em água.



Fonte: Próprio autor

#### **Avaliação da Capacidade Antioxidante e Avaliação da Inibição da Enzima Acetylcolinesterase (AChE)**

Nos ensaios antioxidante, o Ácido Calconcarboxílico e o complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico demonstraram uma elevada atividade antioxidante. Esse potencial antioxidante foi avaliado por meio da medição da inibição do radical DPPH e ABTS, que são modelos amplamente reconhecido para avaliar a capacidade de uma substância em neutralizar os radicais livres (FROTA *et al.*, 2023). Os resultados obtidos indicam que as amostras exibiram uma significativa capacidade de inibição do radical tanto para o radical ABTS como para o radical DPPH, com valores médios de concentração inibitória. O ligante Ácido Calconcarboxílico em comparação ao complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico possui valores menores da atividade antioxidante de IC<sub>50</sub> do que no seu complexo. O valor de IC<sub>50</sub> observado no Ácido Calconcarboxílico em 12,81 ± 0,25 (DPPH) e em 16,06 ± 0,24 (ABTS) encontra-se em valores próximos ao padrão Trolox, indicando a sua excelente atuação como antioxidante.

Para a inibição da enzima acetilcolinesterase, os compostos também apresentaram uma alta inibição (CI<sub>50</sub> < 20 µg. mL<sup>-1</sup>) da enzima (SANTOS *et al.*, 2018), com CI<sub>50</sub> 12,00 ± 0,75 µg. mL<sup>-1</sup> e de 8,70 ± 0,45 para o ligante e o complexo, respectivamente, mostrando que as amostras são promissoras em estudos de inibição desta enzima. Esse resultado indica uma capacidade inibitória mais eficaz do complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico quando comparada ao seu ligante isolado Ácido Calconcarboxílico, que apresentou CI<sub>50</sub> de 12,00 ± 0,75 µg·mL<sup>-1</sup>. A diminuição do valor de CI<sub>50</sub> após a coordenação com o íon metálico sugere que a complexação com o Zinco (II) potencializou a atividade biológica da molécula, favorecendo sua interação com o sítio ativo da enzima, Tabela 01.

**Tabela 01:** Resultados obtidos para os testes de antioxidante e inibição da enzima acetilcolinesterase do ligante Ácido Calconcarboxílico e o complexo Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico.

Amostras	CI <sub>50</sub> DPPH· ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	CI <sub>50</sub> ABTS <sup>+</sup> ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	CI <sub>50</sub> AChE ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
Quercetina (Padrão)	2,74 ± 0,08	3,98 ± 0,13	5,48 ± 0,03
Ácido gálico (Padrão)	1,94 ± 0,27	13,01 ± 0,03	-
BHT (Padrão)	10,25 ± 0,02	10,67 ± 0,08	-
Trolox (Padrão)	12,35 ± 0,05	12,13 ± 0,07	-
Galantamina (Padrão)	-	-	5,82 ± 0,02
Fisostigmina (Padrão)	-	-	6,68 ± 0,08
Ácido Calconcarboxílico	12,81 ± 0,25	16,06 ± 0,24	12,00 ± 0,75
Zn (II)-Ácido Calconcarboxílico	21,80 ± 0,23	24,61 ± 0,83	8,70 ± 0,45

CI<sub>50</sub> - concentração inibitória média; BHT - Butil-hidroxitolueno.

Fonte: Próprios autores.

## Conclusões

A molécula formada pelo complexo de Ácido Calconcarboxílico com Zinco (II) é relativamente recente no campo da Química Bioinorgânica, e suas propriedades físico-químicas e biológicas ainda não foram exploradas, sendo este trabalho uma proposta nova. Embora os constituintes individuais — o ácido calconcarboxílico e o íon Zn (II) — sejam bem conhecidos, o comportamento do complexo específico em sistemas biológicos e sua aplicação terapêutica carecem de investigações mais aprofundadas.

Dentre os testes realizados, destacam-se os resultados promissores na atividade inibitória frente à enzima acetilcolinesterase (AChE), um alvo terapêutico amplamente estudado em doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer. O complexo apresentou um valor de CI<sub>50</sub> de 8,70 ± 0,45  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , demonstrando uma maior eficácia inibitória em comparação ao ligante isolado (Ácido Calconcarboxílico), cujo CI<sub>50</sub> foi de 12,00 ± 0,75  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . A redução do valor de CI<sub>50</sub> após a complexação sugere que a presença do íon Zn (II) favoreceu a atividade biológica, possivelmente por conferir maior estabilidade conformacional e eletrônica à molécula, o que pode facilitar sua interação com o sítio ativo da AChE.

Em relação à atividade antioxidante tanto o ligante livre quanto o complexo exibiram atividade antioxidante relevantes. Esses resultados reforçam a importância do complexo Zn(II)-ácido calconcarboxílico como um potencial inibidor da enzima acetilcolinesterase, com possível aplicação no tratamento da 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

- 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.

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

KAUFMANN, C. A.; MARQUES NETO, G. A. Fundamentos de química bioinorgânica. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2020.

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.

LIU, Y.; ZHANG, D.; WANG, J. Development of biosensors for metal ion detection using chalcone derivatives. **Analytical Biochemistry**, 595, 113589, 2020.

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

PINHEIRO, S. O. *et al.* Zn (II) complex with vanillin derived Schiff base: antifungal, antibacterial, antioxidant and anticholinesterase activities. **Future Medicinal Chemistry**, 01, 1-12, 2025.

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.

RINK, L.; GABRIEL, P. Zinc and the immune system. **Proceedings of the Nutrition Society**, 59(4), 541–552, 2000.

SALEH, G.; EL-MOSSALAMY, E. H.; FARGHALY, O. A. Chalcone derivatives: Promising metal ion sensors and their applications. **Journal of Molecular Structure**, 1137, 476–488, 2017.

SIDDEEG, S. M.; TAHOON, M. A.; BEN REBAH, F. Simultaneous Removal of Calconcarboxylic Acid,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{PO}_4^{3-}$  from Pharmaceutical Effluent Using Iron Oxide-Biochar Nanocomposite Loaded with *Pseudomonas putida*. Tunísia, 2019.

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.