



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Samuel de Macêdo Rocha

Síntese, caracterização e investigação das propriedades leishmanicida e antioxidante de compostos de coordenação de cobalto, cobre, ferro e manganês contendo ligantes cumarínicos

Florianópolis

2024

Samuel de Macêdo Rocha

Síntese, caracterização e investigação das propriedades leishmanicida e antioxidantes de compostos de coordenação de cobalto, cobre, ferro e manganês contendo ligantes cumarínicos

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química Inorgânica.

Orientador(a): Profa. Dra. Christiane Fernandes Horn

Florianópolis

2024

Rocha, Samuel de Macêdo

Síntese, caracterização e investigação das propriedades leishmanicida e antioxidantes de compostos de coordenação de cobalto, cobre, ferro e manganês contendo ligantes cumarínicos / Samuel de Macêdo Rocha ; orientador, Christiane Fernandes Horn, 2024.

135 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química. 2. Compostos de Coordenação. 3. Leishmaniose. 4. Antioxidante. I. Horn, Christiane Fernandes. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Samuel de Macêdo Rocha

Síntese, caracterização e investigação das propriedades leishmanicida e antioxidantes de compostos de coordenação de cobalto, cobre, ferro e manganês contendo ligantes cumarínicos

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 08 de março de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Juliana Paula da Silva,
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Marcelo Farina
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutor em Química.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa. Dra. Christiane Fernandes Horn,
Orientadora

Florianópolis

2024

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por todas as oportunidades dadas a mim ao longo da vida.

Agradeço a toda minha família (Mãe, Pai (*in memorian*), irmãos, sobrinhos e cunhados) que constituem minha base, por todo amor e suporte dado durante todos esses anos. Amo vocês.

A Professora Christiane Horn, pela orientação, amizade, disponibilidade, reuniões de planejamento, discussão de resultados e todos os ensinamentos.

Ao Professor Adolfo Horn Júnior, pelos ensinamentos, medidas de EPR e discussão de resultados.

A Professora Roberta Cargnelutti (Departamento de Química da UFSM pela obtenção dos dados de difração de raios X, pela colaboração e parceria.

Ao Prof. Dalber Candela (Departamento de Física da UFF), pela obtenção dos espectros Mössbauer, colaboração e discussões dos resultados.

Ao Professor Sérgio Henrique Seabra (CBB-UENF) pela disponibilidade e parceria na investigação da atividade leishmanicida dos compostos.

Ao Prof. Rajeev Prabhakar (Universidade de Miami) pela realização dos estudos *in silico* (DFT).

Ao Prof. Fernando R. Xavier (Departamento de Química- UDESC) pela realização dos estudos de docagem molecular.

Ao técnico Mauro Henrique Dartora Dutra do LABIME (UFSC) pelas análises de ESI-(+)-MS.

Ao Prof. Antônio L. Braga por permitir a utilização do espectrofotômetro UV-vis disponível em seu laboratório.

A Professora Alexandra Latini (Departamento de Bioquímica-UFSC) por abrir as portas do seu laboratório e permitir a realização dos ensaios antioxidantes.

Ao Professor Juliano Ferreira (Departamento de Farmacologia- UFSC) pela parceria nos testes biológicos e, em especial, a sua aluna Ana Merian, pelo auxílio da realização dos experimentos, reuniões, planejamento, discussão de resultados e amizade.

Aos integrantes do laboratório Interdisciplinar de Química Inorgânica Medicinal e Catálise (LIQIMeC), Thiago, Iago, Mônica, Renne, Eduardo, André, Luiz, Felipe, Vitória, Bianca, Lucas, Bruna, Carol e Ana Paula por todos os momentos de convivência, pelas discussões e amizade estabelecida durante esses anos.

A Morgana e a Ana por serem duas irmãs que eu encontrei na UFSC, minhas amigas, psicólogas e confidentes. Amo muito vocês.

Ao Rafael, por todo suporte e apoio durante a reta final do doutorado.

Aos amigos feitos durante o doutorado Felipe, Rodrigo, Maicon, Renan, Alan, Carla, Wagner, Mateus, Matheus Iago, Duda, Indianara e Gabi, por todo apoio, conversas, rolês, e parcerias.

Aos meus vizinhos Alana, Elder e Élisson por todos os momentos de descontração, conversas, e por tornar a moradia nesta cidade mais alegre.

Ao técnico Nilton C. Pereira (Departamento de Química- UFSC), pelas inúmeras análises realizadas (IV, análise elementar, EPR).

Aos professores Juliana Paula da Silva (Departamento de Química- UFSC), Marcelo Farina (Departamento de Bioquímica- UFSC) e Maribel Coromoto Navarro Acosta (Departamento de Química- UFJF), pela disponibilidade para participação da banca de defesa deste trabalho.

À Central de Análises e ao PPGQMC-UFSC.

Ao CNPq pelo financiamento da bolsa de pesquisa

Aos órgãos de fomento que financiaram este projeto: CAPES, CNPq e FAPESC.

A todos que contribuíram de alguma forma, muito obrigado!

RESUMO

Neste trabalho são apresentados os resultados relativos à síntese, caracterização e avaliação da atividade leishmanicida (*in vitro*) e antioxidante (*in vitro* e *ex vivo*) de compostos de coordenação de Co(II) ([Co(HL1)Cl₂].4,2H₂O (**1**) e [Co(HL2)Cl(OHCH₃)]ClO₄.2H₂O (**5**), Cu(II) ([Cu(HL1)Cl]Cl.4,7H₂O (**2**); [Cu(HL2)Cl]Cl.3,3H₂O (**6**); [Cu(H₂L1)Cl]Cl.5,2H₂O (**9**) e [Cu(H₂L2)Cl]Cl.2,4H₂O (**11**), Fe(III) ([Fe(L1)Cl₂]6H₂O (**3**); [Fe(L2)Cl₂]3H₂O (**7**); [Fe₂(H₁L2)Cl₄]1,5CH₃OH (**10**) e [Fe₂(H₁L2)Cl₄]3H₂O (**12**) e Mn(II) ([Mn(HL1)Cl₂] (**4**) e [Mn(HL2)Cl₂]0,7CH₃OH (**8**)), contendo ligantes cumarínicos (HL1, HL2, H₂L1, H₂L2). Os ligantes e os compostos de coordenação foram caracterizados por técnicas físico-químicas de análise, no estado sólido e em solução. Dados estruturais via difração de Raio-X de monocristal foram obtidos para os compostos (**5**) e (**8**). Os compostos de Co(II) apresentaram relevante atividade leishmanicida, sendo a atividade do composto (**1**) relacionada à disfunção de estruturas celulares do parasita, tais como membrana, cinetoplasto e mitocôndria. Os compostos de Fe(III), Cu(II) e Mn(II) não exibiram atividades leishmanicida significantes, entretanto apresentaram atividades antioxidantes relevantes e dependentes da natureza do centro metálico. As atividades antioxidantes frente as EROs (Espécies Reativas de Oxigênio: ânion radical superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila) foram monitoradas pelas técnicas de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) e Espectroscopia Eletrônica (estudos *in vitro*). Adicionalmente, estudos de EPR indicam que os compostos de coordenação de Fe(III) protegeram as células THP-1 do estresse induzido por ditranol, com atuação no citosol celular. Estudos cinéticos, envolvendo medida volumétrica do oxigênio produzido na reação de desproporcionamento do H₂O₂ foram realizados para os compostos de Mn(II), permitindo a proposição de mecanismo de ação para os compostos (**4**) e (**8**). Além disso, os compostos de Mn(II) mostraram boa atividade protetora contra o estresse induzido por H₂O₂ em homogenato de fígado de camundongos (modelo *ex vivo*), na concentração picomolar, reduzindo a peroxidação lipídica. Os compostos de Fe(III) e Mn(II) apresentaram as melhores atividades antioxidantes frente ao radical hidroxil, tanto *in vitro* (estudos via EPR) quanto *ex vivo* (estudo da redução da peroxidação lipídica em homogenato de fígado de camundongo), corroborando com os dados obtidos por EPR. Os bons resultados obtidos nos estudos empregando-se modelos *in vitro* e *ex vivo* abrem perspectivas para estudos destes compostos em modelos biológicos mais complexos, como *in vivo*.

Palavras-Chave: Compostos de Coordenação. Cumarinas. Leishmaniose. Antioxidantes EROs.

ABSTRACT

In this work, we report the synthesis, characterization and evaluation of the leishmanicidal (*in vitro*) and antioxidant (*in vivo* and *ex vivo*) activities of Co(II) ([Co(HL1)Cl₂].4,2H₂O **(1)**; [Co(HL2)Cl(OHCH₃)]ClO₄.2H₂O **(5)**), Cu(II) ([Cu(HL1)Cl]Cl.4,7H₂O **(2)**; [Cu(HL2)Cl]Cl.3,3H₂O **(6)**; [Cu(H₂L1)Cl]Cl.5,2H₂O **(9)** and [Cu(H₂L2)Cl]Cl.2,4H₂O **(11)**), Fe(III) ([Fe(L1)Cl₂].6H₂O **(3)**; [Fe(L2)Cl₂].3H₂O **(7)**; [Fe₂(H₁L2)Cl₄].1,5CH₃OH **(10)** and [Fe₂(H₁L2)Cl₄].3H₂O **(12)**) e Mn(II) ([Mn(HL1)Cl₂] **(4)** and [Mn(HL2)Cl₂].0,7CH₃OH **(8)**), coordination compounds, containing coumarin ligands (HL1, HL2, H₂L1, H₂L2). The structure and purity of the ligands and complexes were confirmed by physicochemical techniques in solution and solid state. Single-crystal X-ray data were performed for complexes **(5)** and **(8)**. The Co(II) complexes showed relevant leishmanicidal activities, where the activity of complex **(1)** is associated with dysfunction of the parasite's cellular structures such as membrane, kinetoplast and mitochondria. Fe(III), Cu(II) e Mn(II) did not display significant leishmanicidal activity, but they showed relevant antioxidant activity, which is dependent of the metal nature. The antioxidant activities against ROS (Reactive Oxygen Species: superoxide anion radical, hydrogen peroxide and hydroxyl radical) were monitored by EPR and electronic spectroscopy (*in vitro*). Moreover, EPR investigations indicate that Fe(III) complexes protect THP-1 cells against dithranol-induced stress, acting in the cell cytosol. Kinetic studies involving O₂ evolution during H₂O₂ disproportionation reaction were performed for Mn(II) complexes **(4)** and **(8)**, and the action mechanism was proposed. Furthermore, Mn(II) compounds were able to protect the swiss mouse liver homogenate (*ex vivo*) from H₂O₂-induced stress, decreasing the lipid peroxidation even at very low concentration ranges such as 10 pmol L⁻¹. The Fe(III) and Mn(II) complexes exhibit the best antioxidant activities against hydroxyl radical both *in vitro* (EPR) and *ex vivo* (Lipid peroxidation in swiss mouse liver homogenate) studies, corroborating the EPR data. The promising results presented in *ex vivo* models create good perspectives to future studies in more advanced biological models, such as *in vivo*.

Keywords: Coordination Compounds. Coumarins. Leishmaniasis. Antioxidants. ROS.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- 4-HC – 4-hidroxycumarina
7-HC – 7-hidroxycumarina
Acac – acetilacetato
BMPA – (bis(piridina-2-ilmetil)amina)
CAT – Catalase
CC50 – Concentração citotóxica 50%
CE50 – Concentração de eficiência média
CI50 – Concentração Inibitória Média
DFT – Teoria do Funcional da Densidade
DMPO – n-óxido de 5,5-dimetil-1-pirrolina
DMSO – Dimetilsulfóxido
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DRX – Difração de raio-X
DTN – Ditrano
DTNs – Doenças Tropicais Negligenciadas
EPR – Ressonância Paramagnética Eletrônica
ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
FDA – Food and Drug Administration
GPx – Glutathione Peroxidase
GSH – Glutathione Reduzida
HBPA – (2-hidroxibenzil)(2-metilpiridil)amina
IV – Infravermelho
LC – Leishmaniose cutânea
LMC – Leishmaniose mucocutânea
LV - Leishmaniose visceral
MDA – Malondialdeído
MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão
MTT – brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio
NADPH – Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
NBT – Azul de nitrotetrazólio
OMS – Organização Mundial da Saúde

PBS – Tampão fosfato

pH – Potencial hidrogeniônico

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RNA – Ácido ribonucleico

RSA – Radical Scavenging Activity

SFB – Soro fetal bovino

SOD – Superóxido Dismutase

TBA – Ácido tiobarbitúrico

TBARS – Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TCLM – Transferência de Carga Ligante-Metal

TEMPO – óxido de 2,2,6,6-tetrametil-piperidina

THP-1 – Linhagem celular monocítica derivada de leucemia humana

UV-vis – Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Desafios na busca de novas substâncias com atividade biológica: ligantes contendo grupos cumarínicos e seus respectivos compostos de coordenação	15
2.2 Leishmaniose	17
2.3 Estresse Oxidativo e Antioxidantes	22
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral	32
3.2 Objetivos Específicos	32
4 METODOLOGIA	33
4.1 Materiais e Métodos	34
4.2 Procedimento Experimental	34
<i>4.2.1 Obtenção dos ligantes HL1, HL2, H₂L1 e H₂L2</i>	34
<i>4.2.2 Obtenção dos complexos</i>	37
4.3 Atividade Antileishmania	40
<i>4.3.1 Cultura de Leishmania amazonensis</i>	40
<i>4.3.2 Cultivo da linhagem celular hospedeira LLC-MK2</i>	40
<i>4.3.3 Atividade Anti-leishmania</i>	40
<i>4.3.4 Viabilidade na célula hospedeira</i>	41
<i>4.3.5 Avaliação do potencial de membrana da L. amazonensis</i>	41
<i>4.3.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão</i>	41
4.4 Atividade Superóxido Dismutase	41
<i>4.4.1 Avaliação da atividade SOD dos compostos de Fe(III) por Espectroscopia UV-Vis</i>	42
<i>4.4.2 Avaliação da atividade mimética SOD dos compostos de Fe(III) por EPR</i>	42
<i>4.4.3 Citotoxicidade dos compostos de Fe(III) por análises de Viabilidade Celular</i>	42
<i>4.4.4 Efeito protetor dos compostos de coordenação de ferro(III) frente ao estresse oxidativo induzido por ditranol, empregando-as células THP-1</i>	42
<i>4.4.5 Efeito protetor dos compostos de Fe(III) frente ao estresse induzido por ditranol em células THP-1, investigada por EPR</i>	43
4.5 Atividade Catalase	43
<i>4.5.1 Estudos Cinéticos</i>	43
<i>4.5.2 Estudos Mecanísticos</i>	44

4.5.3 Efeito protetor dos compostos de Mn(II) frente ao estresse causado pelo H_2O_2 empregando-se homogenato de fígado.....	44
4.6 Atividade frente ao radical hidroxil.....	45
4.6.1 Monitorando o radical hidroxil por EPR.....	45
4.6.2 Efeito protetor dos compostos de Fe(III) e Cu(II) frente ao estresse causado pelo radical hidroxil empregando-se macrófagos J774.....	46
4.6.3 Efeito protetor dos compostos de Fe(III) e Cu(II) frente ao estresse promovido pelo radical hidroxil empregando-se homogenato de fígado de camundongos.....	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 Caracterização dos ligantes	47
5.1.1 Caracterização dos ligantes HL1 e HL2	47
5.1.2 Caracterização dos ligantes H_2L1 e H_2L2	51
5.2 Caracterização dos compostos de coordenação	55
5.2.1 Caracterização dos compostos $[Co(HL1)Cl_2].4,2H_2O$ (1) e $[Co(HL2)Cl(OHCH_3)]ClO_4.2H_2O$ (5).....	55
5.2.2 Caracterização de $[Cu(HL1)Cl]Cl.4,7H_2O$ (2) e $[Cu(HL2)Cl]Cl.3,3H_2O$ (6).....	59
5.2.3 Caracterização dos compostos $[Fe(L1)Cl_2]6H_2O$ (3) e $[Fe(L2)Cl_2]3H_2O$ (7).....	62
5.2.4 Caracterização dos compostos $[Mn(HL1)Cl_2]$ (4) e $[Mn(HL2)Cl_2]0,7CH_3OH$ (8)	66
5.2.5 Caracterização dos compostos $[Cu(H_2L1)Cl]Cl.5,2H_2O$ (9) e $[Cu(H_2L2)Cl]Cl.2,4H_2O$ (11).....	70
5.2.6 Caracterização dos compostos $[Fe_2(H_1L2)Cl_4]1,5CH_3OH$ (10) e $[Fe_2(H_1L2)Cl_4]3H_2O$ (12).....	74
5.3 Atividade leishmanicida dos compostos (1) e (5)	78
5.4 Atividade Mimética à Superóxido Dismutase (SOD)	85
5.4.1 Atividade Mimética à SOD investigada por EPR.....	85
5.4.2 Atividade Mimética à SOD por Espectroscopia Eletrônica na região do UV-vis	87
5.4.3 Efeito protetor <i>in vitro</i> dos compostos de Fe(III) em células THP-1 submetidas ao estresse oxidativo induzido por Ditranol.....	88
5.5 Atividade mimética catalase	91
5.5.1 Efeito protetor dos compostos de Mn(II) na inibição da peroxidação lipídica empregando-se homogenato de fígado de camundongo (estudo <i>ex-vivo</i>).....	98
5.5.2 Atividade dos compostos de Mn(II) frente ao radical hidroxil	101
5.6 Atividade frente ao radical $\cdot OH$ dos compostos de Fe(III) e Cu(II): estudos <i>in vitro</i> em células J774 e <i>ex vivo</i> empregando-se homogenato de fígado de camundongo.....	102

6 CONCLUSÃO	106
PERSPECTIVAS	107
REFERÊNCIAS	108
APÊNDICE	129

1 1. INTRODUÇÃO

2 A resistência a medicamentos, tratamentos ineficientes, descaso na erradicação de
3 doenças negligenciadas, grande incidência de doenças neurodegenerativas e o alto custo de
4 diagnóstico e tratamento para pessoas afetadas por enfermidades, constituem problemáticas
5 que tem atraído atenção da comunidade científica e têm estimulado o crescente interesse na
6 busca de novos fármacos, impulsionando os campos da pesquisa básica e da inovação [1-3].

7 Dentre as doenças negligenciadas, a Leishmaniose caracteriza-se como uma doença
8 tropical, causada por mais de 20 espécies do protozoário do gênero *Leishmania* [4]. Presente
9 em mais de 90 países, estima-se que a leishmaniose acomete 12 milhões de pessoas no
10 mundo, com a incidência de mais de 1 milhão de casos por ano [5]. Apresentada nas formas
11 cutânea, visceral ou muco-cutânea, o tratamento atual da leishmaniose envolve a utilização de
12 fármacos como anfotericina B, pentamidina e sais de antimônio, que apesar de atuantes, ainda
13 não possuem mecanismos de ação bem estabelecidos [6-8]. Acredita-se que a anfotericina B,
14 por exemplo, tem sua atividade justificada pela capacidade de interação com o colesterol e
15 ergosterol, lipídeo constituinte da membrana celular do parasita, alterando a funcionalidade de
16 enzimas presentes na membrana e criando canais de permeação de cátions, água e outras
17 substâncias [9-10]. No entanto, a utilização desses medicamentos, como primeira linha de
18 tratamento, apresenta limitações como elevada toxicidade e desenvolvimento de resistência
19 por parte do parasita, fazendo necessário a busca de novos compostos com potencial atividade
20 e diferentes modos de ação [11-13].

21 Estudos relatados na literatura sugerem que o *status* redox celular pode modular a
22 geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo este um possível mecanismo de ação
23 durante atividade leishmanicida [13]. Compostos derivados da imimidazoquinolinas
24 apresentam atividade leishmanicida, associada à formação de radicais livres e citocinas
25 inflamatórias [14]. Em 2023, Visbal e colaboradores associaram a atividade leishmanicida de
26 um composto de coordenação de zinco $[ZnCl_2(H_3)_2]$, ($H_3 = 22$ -hidrazona-imidazol-2-il-col-5-
27 en-3 β -ol), à geração de espécies reativas de oxigênio, como causa ou consequência da
28 disfunção mitocondrial, relacionada a morte celular por mecanismo apoptótico [15].

29 Em outra perspectiva, o rápido envelhecimento populacional tem aumentado o risco de
30 incidência de doenças inflamatórias e neurodegenerativas, levando a maiores índices de
31 mortalidade e, portanto, elevados custos de tratamento. A demência, por exemplo, constitui
32 uma doença neurodegenerativa de grande prevalência que atinge 7 milhões de pessoas no
33 mundo (número que deve ser dobrado em 2040), associada à quebra da homeostase redox

1 celular [16]. Isso tem motivado a busca por novos compostos com propriedades antioxidantes,
2 uma vez que o estresse oxidativo está intimamente relacionado com o surgimento de doenças,
3 como Parkinson, Alzheimer, diabetes, e perda de capacidades cognitivas [17-19].

4 Nesse sentido, a obtenção de novos compostos de coordenação e o estudo das suas
5 propriedades antioxidantes ou pró-oxidantes por meio de investigações biológicas *in vitro*, *ex*
6 *vivo*, *in vivo* e *in silico* é uma estratégia relevante no enfrentamento de doenças negligenciadas
7 como Leishmaniose bem como para o entendimento do processo da neurodegenerescência.

8 Nosso grupo de pesquisa têm se dedicado há quase duas décadas ao desenvolvimento
9 de ligantes N,O-doadores, dos seus compostos de coordenação de Co(II), Cu(II), Fe(III),
10 Mn(II), Pt^{II} e Zn^{II}, e investigação das suas propriedades biológicas [20-28]. Ligantes contendo
11 os grupos 4-hidroxicumarina e 7-hidroxicumarina foram empregados em trabalhos anteriores,
12 desenvolvidos no grupo de pesquisa, em 2012 [29-30]. Estes trabalhos relatam a obtenção de
13 compostos de coordenação de Co(II), Cu(II) e Fe(III) e estudos iniciais de suas atividades
14 biológicas. Assim, o presente trabalho busca o resgate desses compostos de coordenação, com
15 adição de compostos inéditos de Mn(II), para realização de uma avaliação sistemática e ampla
16 das atividades biológicas, já que as cumarinas têm demonstrado potenciais aplicações no
17 desenvolvimento de fármacos para o tratamento de diversas doenças graças a sua potente
18 atividade farmacológica, baixa toxicidade e boa biodisponibilidade [31-34].

19 Com base nas relevantes propriedades biológicas das cumarinas e de compostos de
20 coordenação desenvolvidos por nosso grupo, apresentamos os resultados obtidos na interface
21 entre a química inorgânica, a bioquímica e a química inorgânica medicinal, a partir da
22 avaliação da atividade biológica de compostos de coordenação de Co(II), Cu(II), Fe(III) e
23 Mn(II) que incorporam ligantes derivados das cumarinas em suas estruturas. Neste trabalho,
24 relatamos a síntese e caracterização desses compostos de coordenação, a investigação da
25 atividade leishmanicida *in vitro* (empregando-se a forma promastigota da *Leishmania*
26 *amazonensis*), e das propriedades antioxidantes *in vitro* frente às espécies reativas de oxigênio
27 (EROs) ânion radical superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila, empregando-se
28 as técnicas de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), espectroscopia eletrônica, ESI-
29 (+)-MS além de estudos cinéticos. Investigações bioquímicas foram realizadas, visando
30 avaliar o efeito protetor dos compostos de coordenação em células THP-1 (estudos *in vitro*,
31 empregando-se ditranol como estressante), e homogenato de fígado de camundongo (estudos
32 *ex vivo*, empregando-se peróxido de hidrogênio e radical hidroxila como agentes estressantes).

1 2 DESENVOLVIMENTO

2 2.1 Desafios na busca de novas substâncias com atividade biológica: ligantes contendo 3 grupos cumarínicos e seus respectivos compostos de coordenação

4 A busca por novas substâncias com propriedades biológicas constitui uma
5 necessidade contínua em diversos campos da ciência e medicina [35]. Muitas patologias ainda
6 encontram percalços no tratamento ou prevenção associada à falta de especificidade, baixa
7 atividade terapêutica de fármacos, baixa interação do princípio ativo com o alvo, resistência a
8 medicamentos, alta toxicidade, efeitos colaterais, dentre outros [36-37].

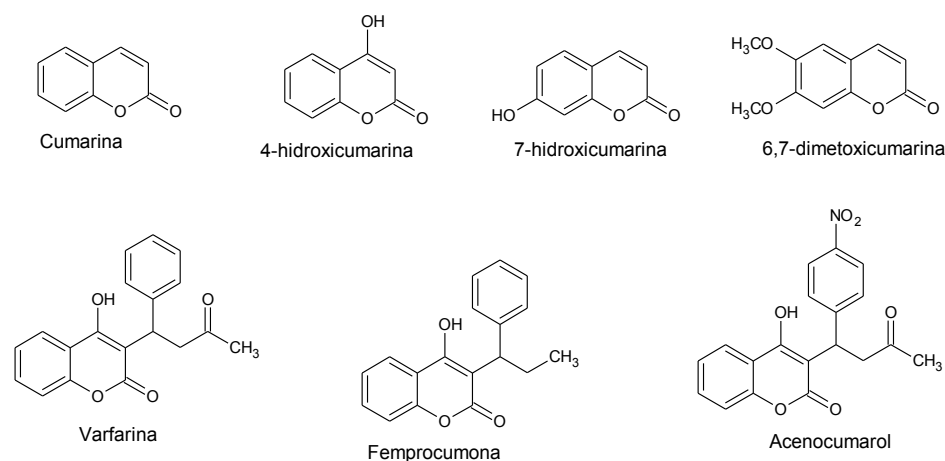
9 Nesse contexto, as plantas têm desempenhado um importante papel na medicina
10 tradicional e sistemas alternativos em diversos países, incluindo Índia, China, África do Sul e
11 Brasil [38]. Suas propriedades medicinais têm impulsionado sua investigação científica como
12 fontes de produtos naturais de ação terapêutica, já que os metabólitos fornecidos pelas plantas
13 desempenham papel crucial na produção de energia celular e constituição de biomoléculas
14 com importantes propriedades bioquímicas e farmacológicas [39].

15 As cumarinas e seus derivados (Figura 01) constituem uma classe de compostos
16 naturais, caracterizadas pela presença do anel heterocíclico 1,2-benzopirona, que são
17 amplamente encontrados em plantas, frutas e produzidas por algumas bactérias ou fungos
18 [40]. Presentes no agrião, cumaru, guaco canela, chicória bem como em frutas como
19 morango, cereja e damasco, as cumarinas e seu derivados representam um grupo de
20 metabólitos secundários que tem atraído grande atenção devido suas notáveis propriedades
21 biológicas que incluem atividades anti-inflamatória, anti-hipertensiva, anticoagulante,
22 antioxidante, anticâncer, antiviral, antibacteriana, antifúngica dentre outras [34,41-42].

23

24

Figura 01 - Estrutura molecular da cumarina e alguns dos seus derivados.



25

26

Fonte: Elaborado pelo autor

1 A cumarina foi isolada pela 1 vez no século XIX por Vogel, a partir da planta
2 conhecida popularmente como fava tonca (*Coumarouna odorata*) [43]. Desde então, tem sido
3 relatado o isolamento, caracterização estrutural e estudos de atividade biológica de cumarinas
4 naturais presentes em plantas, fungos e bactérias, além da síntese química [44]. Atualmente,
5 mais de 1300 cumarinas já foram identificadas em fontes naturais e suas propriedades
6 biológicas as tornam de relevante importância no combate à microorganismos e doenças
7 resistentes ao tratamento [45-46].

8 A 4-hidroxicumarina (4-HC) é um componente importante da classe das cumarinas e
9 produtos naturais com atividades biológicas, sendo um dos primeiros fármacos administrados
10 via oral como anticoagulante e que também possui propriedades anti-HIV relatadas [47-48]. A
11 7-hidroxicumarina (7-HC) é um metabólito ativo que possui atividade antitumoral,
12 demonstrando inibição de crescimento de linhagem celulares tumorais humanas tais como
13 A549, ACHN, Caki-2, H727, HCT-15, HL-60, K562, LNCaP, PC-3, COLO-232, MCF-7 e
14 RP-1788 [49].

15 A varfarina é um medicamento aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e
16 amplamente utilizado no tratamento do tromboembolismo [50]. Seu potencial efeito
17 anticâncer tem sido objeto de investigação científica e trabalhos indicam que altas
18 concentrações de varfarina podem induzir a ferroptose, morte celular não programada de
19 células cancerígenas, associada à participação de íons de ferro na degradação de lipídeos via
20 peroxidação lipídica [51-52]. É relatado que algumas cumarinas como a 6,7-
21 dihidroxicumarina, 6,7-dihidroxi-4-metilcumarina, 4-metil-7-hidroxicumarina e 7-
22 hidroxicumarina possuem ação farmacológica na prevenção de doenças causadas por radicais
23 livres, atuando na inibição da peroxidação lipídica e na dismutação do ânion radical
24 superóxido [53-54].

25 Além da investigação da atividade das cumarinas na sua forma livre, é crescente a
26 busca por compostos de coordenação que contenham grupos cumarínicos em sua estrutura,
27 visando melhorar propriedades físico-químicas e potencializar as propriedades biológicas de
28 cumarinas após coordenação a centros metálicos [55-58]. Em 2023, Sinitha, Raj e Cumari
29 descreveram a síntese, caracterização e avaliação das propriedades biológicas de complexos
30 de cobre, cobalto, manganês, níquel e zinco, com ligantes tridentados contendo grupos
31 cumarínicos. A Avaliação da atividade antitumoral *in vitro* foi realizada empregando-se as
32 linhagens MCF-7 (câncer de pulmão) e K-562 (leucêmica), onde se observou que o complexo
33 de cobalto apresentou maior efeito anticâncer em relação aos demais complexos metálicos.
34 Além disso, os compostos estudados mostraram excelente atividade antibacteriana contra

1 *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* bem como atividade antifúngica moderada frente as
2 espécies *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, em relação ao fármaco padrão clotrimazol
3 [59].

4 As propriedades antioxidantes das cumarinas e de seus respectivos complexos
5 metálicos também são amplamente relatadas na literatura [55,60-62]. Umadevi, Muthuraj e
6 Vanajothi (2019) abordaram a atividade antidiabética *in vivo* e *in silico* de dois complexos de
7 rutênio contendo ligantes derivados do grupo 4-cloro-3-formil-cumarina. Observou-se que a
8 administração dos ligantes e dos compostos de coordenação aos camundongos promoveu a
9 potencialização da atividade dos sistemas de defesa antioxidante endógenos, sendo que os
10 complexos metálicos contribuíram de forma mais efetiva na redução da peroxidação lipídica,
11 sugerindo que a coordenação do rutênio melhorou as propriedades farmacológicas dos
12 ligantes derivados de cumarina [63]. A atividade observada foi confirmada por estudos de
13 docagem molecular, onde se observou possíveis interações de hidrogênio, Wan der Waals e
14 interações do tipo π - π entre compostos de Ru e os resíduos Trp20, Phe122, Trp111, His110,
15 Try48, Asp43, Asn160, Ser159, Gln183, Val264, Lys262, Thr265, Arg268, Glu271, Asn272,
16 Leu22, Ser210, Lys21, Try209 da enzima aldose redutase, uma enzima da família das aldo-
17 ceto-redutases, cuja inibição previne a agregação plaquetária na hiperglicemia crônica [64-
18 65].

19

20 **2.2 Leishmaniose**

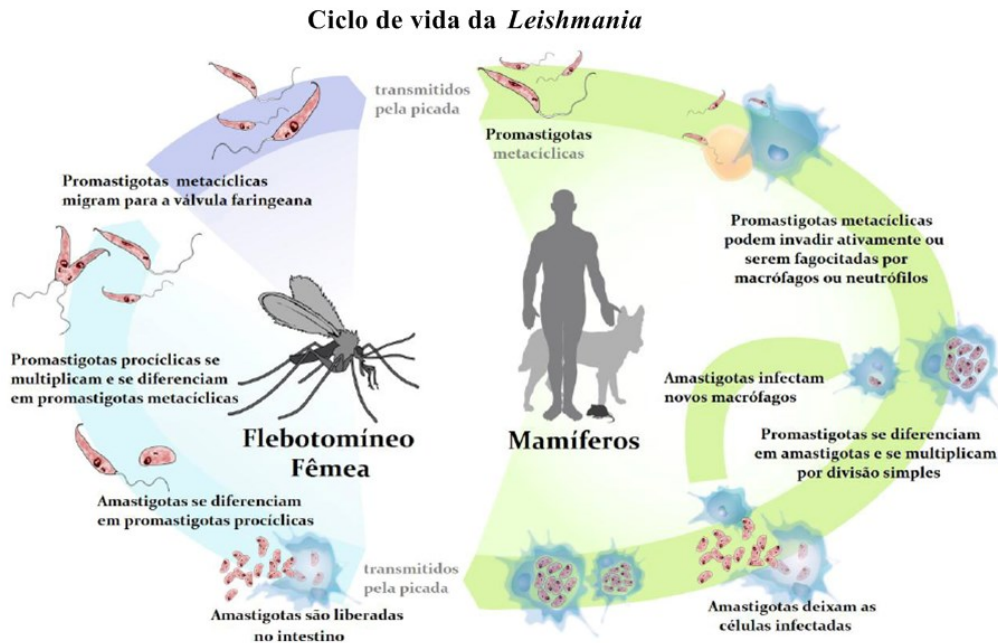
21 As leishmanioses compreendem um grupo de doenças parasitárias graves, infecciosas
22 e não contagiosas provocadas por mais de 20 espécies de protozoários pertencentes ao gênero
23 *Leishmania* [66]. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), são registrados
24 anualmente mais de 1 milhão de novos casos de Leishmaniose, que abrange mais de 98 países
25 em todos os cinco continentes, constituindo um grave problema de saúde pública [67].

26 Amplamente encontrada na América, Ásia, África, Europa e Oceania, a Leishmaniose
27 afeta mais de 12 milhões de pessoas e coloca em risco a saúde de mais de 350 milhões de
28 pessoas [68]. Juntamente com a malária, dengue, doença de Chagas, esquistossomose,
29 filariose linfática, lepra e ascaridíase, a Leishmaniose é categorizada no conjunto de Doenças
30 Tropicais Negligenciadas (DTNs), que compartilham a característica de estarem associadas à
31 falta de recursos financeiros para o desenvolvimento de tratamentos adequados e acessíveis,
32 resultando em elevados índices de morbidade e mortalidade, afetando principalmente a
33 população de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento [69-70]

1 células fagocíticas. Estas células podem, por sua vez, ser ingeridas por outro vetor durante sua
2 alimentação [73].

3

4 Figura 3 – Esquema representativo do ciclo de vida de protozoários do gênero *Leishmania*.



5
6
7
8

Fonte: <<https://labvet.com.br/laboratorio-veterinario/41/2/19/Leishmaniose-canina-%E2%80%93-desafios-diagnosticos,-tratamento-e-prevencao>>, Acesso em 10/11/2023.

9 As manifestações clínicas da leishmaniose são diversas e dependentes da espécie do
10 agente infectante. Elas se enquadram em três formas clínicas principais: Leishmaniose
11 tegumentar (também conhecida como Leishmaniose cutânea, LC), Leishmaniose
12 mucocutânea (LMC) ou Leishmaniose visceral (LV, também conhecida como calazar) [80].

13 A leishmaniose cutânea, provocada pelas espécies *Leishmania amazonensis* e
14 *leishmania panamensis*, é a forma mais prevalente desta patologia, sendo responsável por
15 aproximadamente 1 milhão de casos por ano no mundo. Afetando a pele, a LC pode resultar
16 no desenvolvimento de úlceras cutâneas locais ou nódulos dérmicos difusos, podendo deixar
17 lesões que impactam a saúde mental e qualidade de vida da pessoa afetada [81-82].

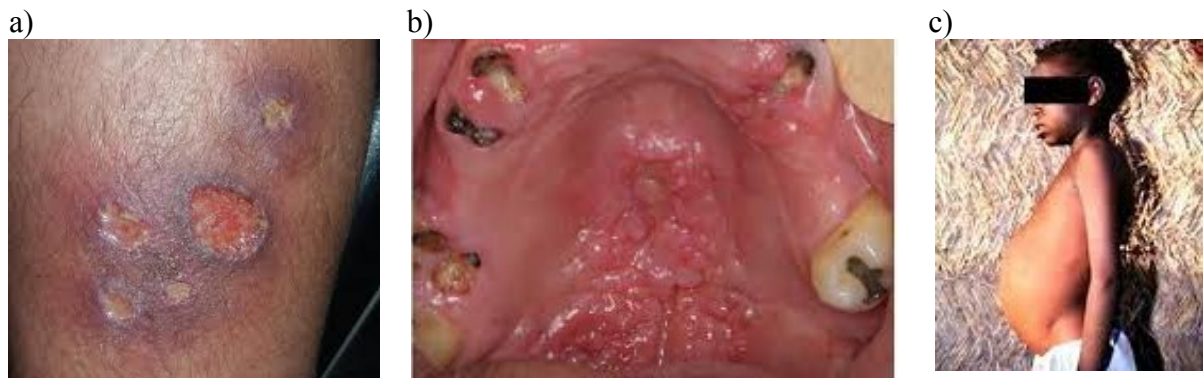
18 A leishmaniose mucocutânea, causada pela *Leishmania brasiliensis*, é responsável por
19 desencadear alterações destrutivas sugestivas de sífilis nas mucosas, ulceração da orofaringe,
20 rinoscleroma e, em casos mais graves, pode resultar no desenvolvimento de carcinoma
21 espinocelular oral [83].

22 A leishmaniose visceral é considerada uma doença sistêmica, provocada pelas
23 espécies *Leishmania chagassi*, *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum*. Caracterizando-
24 se como a forma clínica mais severa da patologia, a LV registra cerca de 50 a 90 mil casos de

1 por ano, podendo ser letal quando não tratada [84-85]. Como resultado dessa forma clínica,
2 pessoas contaminadas com a LV podem apresentar febre crônica, perda de peso e
3 hepatoesplenomegalia (aumento do tamanho do fígado e baço) com pancitopenia (redução de
4 células hematopoiéticas) [86-88]. Exemplos de pacientes com as referidas manifestações
5 clínicas são apresentados na Figura 4.

6

7 Figura 4 – Pacientes com sinais de Leishmaniose nas formas: a) cutânea, b) mucocutânea e c)
8 visceral.



9 Fonte: < <https://www.drakeillafreitas.com.br/leishmaniose-visceral/>>;< [https://patologiabucal.com.br/portfolio-](https://patologiabucal.com.br/portfolio-item/leishmaniose/)
10 [item/leishmaniose/](https://patologiabucal.com.br/portfolio-item/leishmaniose/)>, Acesso em: 10/11/2023.

11

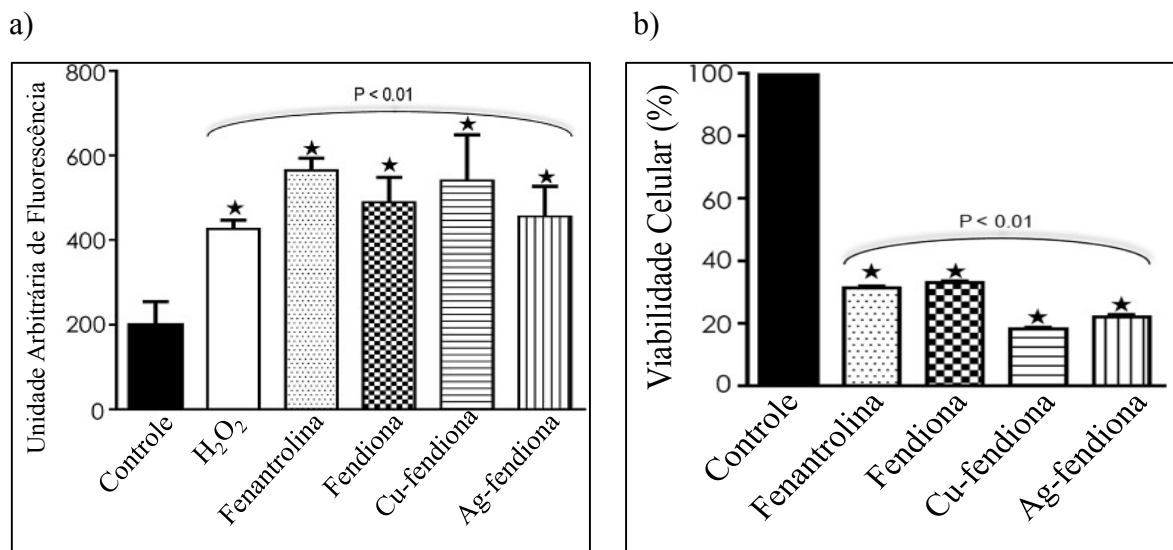
12 Atualmente, o tratamento de leishmaniose é realizado por meio de medicamentos, uma
13 vez que ainda não foram desenvolvidas vacinas para prevenir a leishmaniose humana [89].
14 Sais pentavalentes de antimônio (antimoniato de N-metilglucamina ou glucantime)
15 constituem a primeira linha de medicamentos utilizado para o tratamento da leishmaniose
16 [81]. Pentamidina, Anfotericina B e paramomicina são medicamento de segunda linha,
17 especialmente utilizadas em casos de resistência do parasito [90]. Em geral, a administração
18 dos fármacos na terapia contra a leishmaniose ocorre via parenteral e está associada a efeitos
19 colaterais tóxicos no fígado e rins. A toxicidade dessas drogas e o desenvolvimento de
20 resistência pelos parasitas destaca a necessidade de busca de alternativas para esse tratamento
21 [91]. Assim, é crescente o interesse da comunidade científica na busca de potenciais fármacos
22 destinados ao tratamento da leishmaniose, que incluem terapias inovadoras e a investigação
23 da eficácia antileishmania de novos compostos orgânicos e inorgânicos [92-96].

24 Nunes e colaboradores (2021) relataram a atividade leishmanicida do curzereno, um
25 composto orgânico pertencente à classe dos terpenóides. Os resultados revelaram que o
26 curzereno apresenta uma boa atividade antiproliferativa contra formas promastigotas
27 (Concentração inibitória média CI_{50} : $3,09 \pm 0,14 \mu\text{mol L}^{-1}$) e amastigotas (Concentração de

1 eficiência CE_{50} : $2,56 \pm 0,12 \mu\text{mol L}^{-1}$), bem como baixa citotoxicidade em relação as células
 2 hospedeiras (Concentração citotóxica média CC_{50} : $83,87 \pm 4,63 \mu\text{mol L}^{-1}$), induzindo a morte
 3 celular por apoptose, com efeitos necróticos secundários [97].

4 Em 2022, Santos e colaboradores se dedicaram a investigar a atividade e os
 5 mecanismos de ação de compostos de coordenação de Cu(II) e Ag^I contendo o ligante 1,10-
 6 fenantrolina-5,6-diona contra a *Leishmania braziliensis*. Foi observado que o tratamento de
 7 formas promastigotas com os compostos de coordenação induziram disfunção mitocondrial,
 8 com concomitante aumento da produção e espécies reativas de oxigênio, indicando atividade
 9 pró-oxidante. (Figura 5a) A atividade pró-oxidante destes compostos promoveu a morte do
 10 parasita por apoptose, levando a redução da quantidade de células amastigotas intracelulares
 11 nos macrófagos (Figura 5b). O tratamento com os compostos reduziram o desenvolvimento
 12 das lesões em camundongos, bem como reduziram drasticamente o número de parasitas na
 13 lesão e nos nódulos linfáticos que drenam a lesão, sendo novas alternativas seguras e eficazes
 14 para o tratamento da infecção por *L. braziliensis* [100].

15
 16 Figura 5 – Efeito dos compostos na a) geração de EROS b) atividade da enzima desidrogenase
 17 mitocondrial em formas promastigotas da *L. braziliensis* [100].



18

19 No estudo conduzido por Querino e colaboradores (2023), foi relatada a atividade de
 20 compostos organometálicos de Au^{III} contendo ligantes ditiocarbamatos. Os compostos de
 21 coordenação estudados apresentam atividade antiproliferativa na faixa de $0,12$ a $42 \mu\text{mol L}^{-1}$.
 22 Notavelmente, um complexo apresentou alta seletividade contra a *L. braziliensis*, com

1 atividade superior à Anfotericina B, medicamento atualmente utilizado no tratamento da
2 leishmaniose [98].

3 Nosso grupo de pesquisa também tem se dedicado na busca de compostos inorgânicos
4 com atividade leishmanicida. Em 2023, Rocha e colaboradores investigaram as propriedades
5 antileishmania de compostos de coordenação de Co(II) contendo ligantes polidentados que
6 incluem os grupos 4-hidroxicumarina ou 7-hidroxicumarina. Os resultados mostraram uma
7 notável atividade antiproliferativa para ambos os complexos de Co e, além disso, estudos
8 mecanísticos indicaram que a ação desses compostos envolve aumento do potencial de
9 membrana mitocondrial, desencadeando alterações morfológicas nas estruturas da
10 mitocôndria e do cinetoplasto, aumento da concentração de cromatina em torno do núcleo e
11 surgimento de vacúolos autofágicos, caracterizando morte celular por apoptose [99].

12

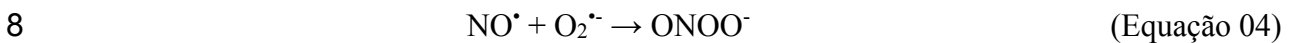
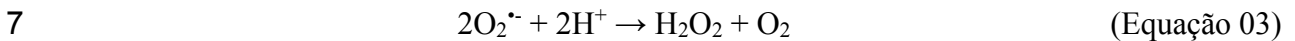
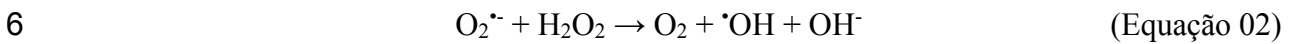
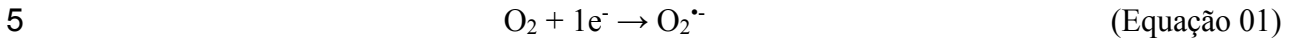
13 **2.3 Estresse Oxidativo e Antioxidantes**

14 As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) compreendem uma família de moléculas
15 formadas a partir de reações de transferências de elétrons para o oxigênio molecular (O_2)
16 [101]. Estas compreendem espécies radicalares tais como o ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$),
17 radical hidroxil ($\cdot OH$) e espécies não radicalares como oxigênio singleto (1O_2), peróxido de
18 hidrogênio (H_2O_2), ozônio (O_3), ácido hipocloroso (HClO) e lipoperóxidos (ROOH). As
19 EROS constituem espécies altamente instáveis e reativas, produzidas em reações bioquímicas
20 que ocorrem durante o metabolismo celular normal, associado principalmente ao processo de
21 respiração celular [102-103].

22 Em condições fisiológicas, as EROS são geradas na mitocôndria, peroxissomos,
23 retículo endoplasmático, ou enzimas como xantina oxidase e NADPH oxidase, e
24 desempenham importantes funções vitais, atuando em processos de funcionalidade
25 mitocondrial ou sinalização celular como a ativação ou inativação de receptores, regulação do
26 metabolismo proteico, transcrição de fatores, funções celulares de proliferação, diferenciação
27 e apoptose, sendo também associadas, desde 1956, ao processo de envelhecimento [104-109].

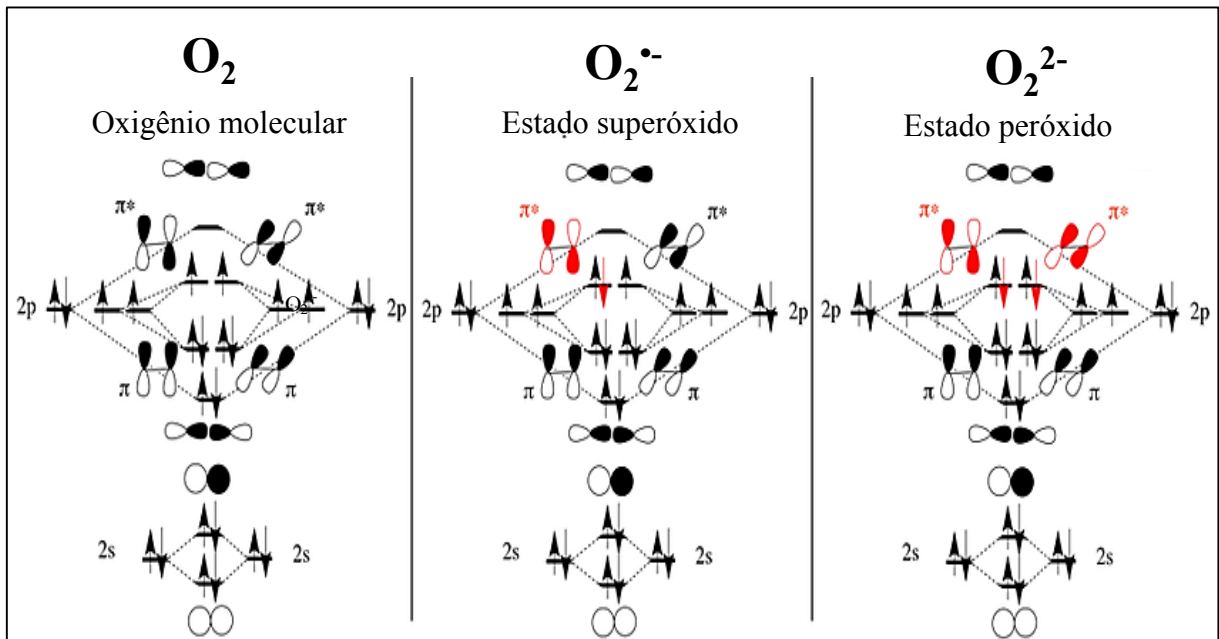
28 O ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) constitui uma espécie reativa de oxigênio primária,
29 formada pela redução do O_2 por 1 elétron (Equação 01), resultando na formação de um ânion
30 radicalar constituído por 17 elétrons, que possui menor ordem de ligação em relação ao O_2
31 (Figura 6) [110]. Como consequência da sua natureza química, o $O_2^{\cdot-}$ compreende uma
32 molécula altamente reativa, com curto tempo de meia vida ($t_{1/2} = 10^{-6}$ s) [111]. Sua reatividade
33 é baixa em relação à outra molécula de $O_2^{\cdot-}$, mas alta frente a outras EROS ou espécies

1 reativas de nitrogênio (ERNs), participando de diversas reações que envolvem a formação de
 2 espécies reativas secundárias, tais como radical hidroxil (Reação de Haber-Weiss, Equação
 3 02), peróxido de hidrogênio (ação da metaloenzima Superóxido Dismutase, Equação 03) ou
 4 peroxinitrito (durante processos inflamatórios, $k_c: 7,0 \cdot 10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, Equação 04) [112-114].



9

10 Figura 6- Diagrama de orbital molecular para o oxigênio molecular (O_2), ânion radical
 11 superóxido ($\text{O}_2^{\bullet -}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) [115].



12

13

14 Em condições fisiológicas, o $\text{O}_2^{\bullet -}$ é importante, pois participa de processos de
 15 transferência de elétrons na cadeia respiratória para geração de água (Equação 05) [116-117].
 16 No entanto, a produção exagerada de superóxido pode promover a potencialização de efeitos
 17 negativos e gerar a condição denominada como estresse oxidativo, que está amplamente
 18 associada com o desenvolvimento de processos inflamatórios, depressão, diabetes e câncer,
 19 doenças neurodegenerativas, processos inflamatórios, dentre outros [118-120].

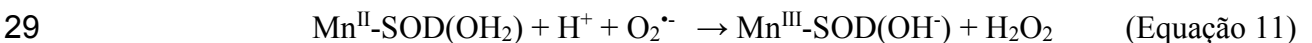
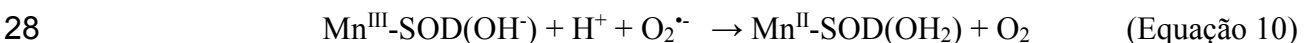
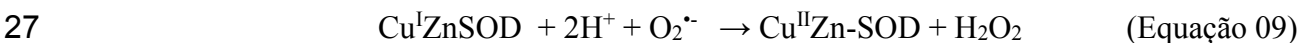
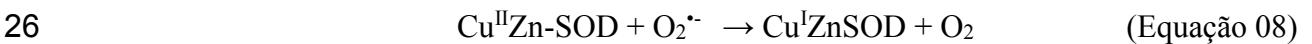
20



1 metaloenzimas antioxidantes endógenas, com destaque para a Superóxido Dismutase (SOD),
 2 Catalase (CAT), glutathione redutase (GSH), glutathione peroxidase (GPx), além de
 3 antioxidantes exógenos obtidos na dieta ou suplementação, tais como vitamina E, flavonoides,
 4 ácido cafeico, quercertina, ácido ascórbico, dentre outros [133-135].

5 A Superóxido Dismutase (SOD) compreende um grupo de metaloenzimas expressas
 6 em diversos tecidos do cérebro, sistema muscular liso, angiotensina 2 ou histidina, e
 7 constituem a primeira linha de defesa do sistema antioxidante contra o ânion radical
 8 superóxido [136-137]. Quimicamente, a atividade da SOD consiste em acelerar a reação de
 9 dismutação do $O_2^{\cdot-}$, resultando na formação de peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular
 10 (eficiência catalítica: $10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (Equação 03) [112,138-139].

11 No organismo, a SOD controla o nível de superóxido nas células na concentração de
 12 10 pmol L^{-1} e sua expressão é influenciada por fatores como tipo de célula, idade, sexo e
 13 estágio de doenças, sendo encontrada codificada na forma de três isoenzimas que diferem na
 14 constituição do sítio ativo e localização no organismo [140-142]. A SOD1 (Cu/Zn-SOD, 35
 15 kDa, Figura 7a), primeiramente caracterizada em 1969, é uma metaloenzima encontrada na
 16 pele, células da epiderme e citosplasma de células eucarióticas, cujo sítio ativo é constituído
 17 de um dímero que possui metais (Cu e Zn) como cofator [143-146]. A SOD2 (Mn-SOD, 96
 18 kDa, Figura 7b) possui um centro de Mn no sítio ativo e é localizada na matriz mitocondrial,
 19 principal local de produção de EROs, tendo grande importância no sistema de defesa
 20 antioxidante mitocondrial, que tem sido amplamente associado a doenças neurodegenerativas
 21 [147-149]. A SOD3 (Cu/Zn-SOD, 135 kDa) constitui um homotetrâmero formado pela união
 22 de unidades díméricas unidas por ligação dissulfeto entre resíduos de cisteína. Localizada no
 23 meio extracelular, a SOD3 é principalmente encontrada no sistema cardiovascular, rins,
 24 pulmão e cartilagem [150-152]. O mecanismo de ação da Cu/Zn-SOD (Equações 08 e 09) e
 25 Mn-SOD (Equações 10-11) são mostrados a seguir:



30

31

32

33

1 As catalases de manganês são as metaloenzimas mais antigas que atuam na
2 dismutação do H_2O_2 e sua ocorrência é restrita vida microbiana (*L. plantarum*, *T.*
3 *thermophilus*, *T. album*), representando uma alternativa ambientalmente importante para os
4 sistemas de defesa antioxidante que contém o grupo heme. Dados de raio-X mostram que as
5 catalases de manganês contém um complexo binuclear de Mn como sítio ativo, ciclando entre
6 os estados de oxidação $Mn_2(II,II)$ e $Mn_2(III,III)$, durante a atividade catalítica [165-166].

7 As catalases típicas estão envolvidas e distribuídas em todos os domínios da vida,
8 incluindo plantas e animais, demonstrando grande poder de conservação [167]. A maioria das
9 catalases típicas são compostas de 4 subunidades de tamanhos iguais e de massa
10 correspondente a faixa de 200-340 kDa, com 4 grupos prostéticos. A catalase humana
11 constitui uma catalase típica de alta atividade molecular (mais de 5 milhões de moléculas do
12 substrato são transformadas em 1 min) e é composta de pequenas subunidades de 62 kDa com
13 porfirinas férricas no sítio ativo e NADPH como cofator [168-170]. Durante a reação
14 enzimática, o centro de Fe(III) da catalase típica é primeiramente oxidado a um intermediário
15 de ferro hipervalente ($Fe(IV)=O$), que então é reduzido de volta pela ação de uma molécula de
16 H_2O_2 [171-172]. As diferenças estruturais entre as catalases podem refletir em diferentes
17 mecanismos de decomposição do H_2O_2 . Catalases que apresentam o grupo heme, possuem
18 mecanismo constituído em duas etapas, com formação de espécies intermediárias, enquanto
19 catalases dependentes de Mn também atuam em duas etapas de reação, no entanto sem
20 envolver a presença de espécies intermediárias [164, 173-175].

21 Apesar da atuação do sistema de defesa antioxidante, a atividade das metaloenzimas
22 é dependente de diversos fatores. A atividade da catalase pode ser afetada pela idade, fatores
23 genéticos, sedentarismo, variações sazonais e exposição a produtos químicos, enquanto, a
24 redução na atividade da SOD tem sido associada à degradação do cluster de Fe e perda de
25 metais que constituem o sítio ativo da enzima [161].

26 Quando a produção de EROs excede a capacidade antioxidante, há quebra da
27 homeostase redox celular, ponto chave na indução do estresse oxidativo, levando ao erro e
28 disfunção celular ou morte celular por processos mediados por apoptose ou ferroptose [132,
29 177-178]. Apesar da atuação do sistema de defesa antioxidante, o aumento na produção de
30 EROS ou diminuição da atividade do sistema antioxidante contribuem para o
31 desenvolvimento do estresse oxidativo [179-180].

32 Formalmente introduzido em 1985, o estresse oxidativo é estabelecido como a
33 condição celular caracterizada pelo desbalanço da homeostase redox, representando um
34 desequilíbrio na produção de EROs e na capacidade do sistema antioxidante, onde o efeito

1 prejudicial do oxidante é predominante [181-183]. O estresse oxidativo é amplamente
 2 associado à incidência e progressão de diversas condições de saúde tais como modificação de
 3 lipídeos, proteínas, DNA e desenvolvimento de diversas patologias como Parkinson,
 4 arterosclerose, Alzheimer, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, processos
 5 inflamatórios, supressão do sistema imune, câncer, dentre outros [184-188]. Os mecanismos
 6 de ação das EROs na modificação de componentes celulares são apresentadas no Quadro 1.

7

8 Quadro 1 – Mecanismo de ação das EROs na modificação de componentes celulares para
 9 indução do estresse oxidativo.

Dano	Mecanismo	Referência
Oxidação das bases do DNA	Oxidação de bases nitrogenadas como guanina, formando a 8-oxo-7,8-dihidroguanina que pode causar mutações no DNA e contribuir para o desenvolvimento do câncer.	[189-190]
Quebra da fita de DNA	Reação com estrutura de açúcares ou grupos fosfatos, causando instabilidade genômica.	[191-192]
Oxidação de proteínas	Oxidação de resíduos de aminoácidos de proteínas, afetando sua função, atividade e estabilidade.	[193]
Peroxidação lipídica	Oxidação de lipídeos das membranas celulares, afetando sua fluidez, permeabilidade, e interrupção da sinalização celular.	[194]
Indução de processos inflamatórios	Ativação de fatores de transcrição, como NF-kB, ativador do complexo 1, HIF-1 α , receptor ativado por peroxissomos, alterando a expressão de citocinas inflamatórias.	[195]
Disfunção mitocondrial	Disfunção mitocondrial em função da oxidação ou inativação de complexos proteicos importantes no processo de fosforilação oxidativa.	[196]
Disrupção da homeostase redox celular	Desregulação do balanço redox celular, oxidando moléculas como NADPH e GSH, levando ao decréscimo da capacidade antioxidante, e contribuindo para o estresse oxidativo.	[197]

1 Atualmente, é grande a busca por modelos para regulação da homeostase redox
2 celular, baseados na restauração de metaloenzimas antioxidantes ou na busca de novos
3 compostos miméticos estruturais ou funcionais às metaloenzimas antioxidantes, no qual se
4 destaca uma crescente busca por compostos de coordenação com potenciais efeitos
5 terapêuticos [198-201]. Assim, as propriedades químicas de compostos de coordenação
6 podem ser estruturadas para o desenvolvimento de aplicações específicas, já que a
7 combinação das propriedades redox de íons metálicos e diferentes ligantes é promissora no
8 desenvolvimento de compostos que podem atuar por diferentes mecanismos, tendo como
9 vantagens a rápida e fácil síntese, diferentes mecanismos de ação, possibilidade de uso de
10 complexos metálicos como modelos biológicos para avaliação da atividade antioxidante e
11 melhoria da atividade do complexo quando comparado ao metal ou ligante na sua forma livre
12 [202-204].

13 Compostos de coordenação da classe Mn-salen (EUK-8, EUK-134) constituem
14 modelos miméticos antioxidantes bem estabelecidos na literatura, atuando na regulação de
15 níveis de superóxido e peroxinitrito, a partir da formação de espécies de alta valência Mn^V-
16 oxo, e inibição de danos associados ao estresse oxidativo, tais como peroxidação lipídica,
17 carbonilação de proteínas e inibição de processos inflamatórios [205-207].

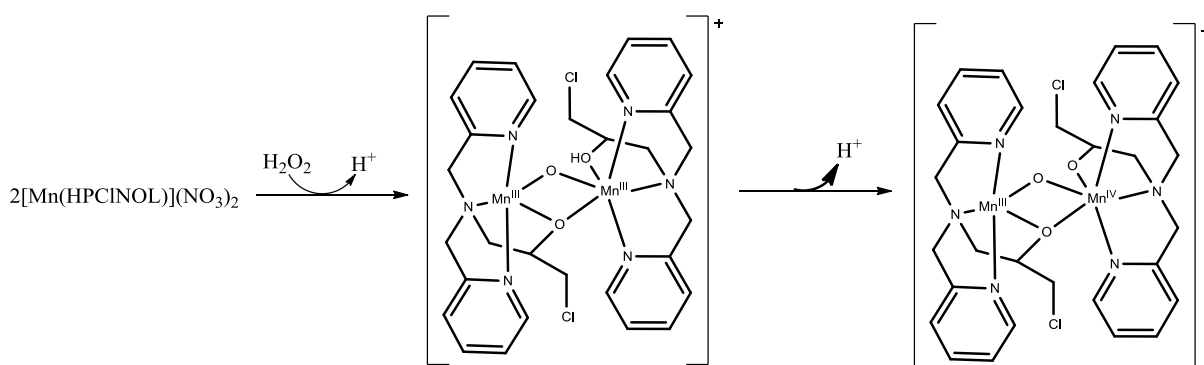
18 Além da classe dos Mn-salen, a busca de modelos miméticos baseados em metais de
19 transição é bastante investigada e relatada. Solis e colaboradores (2018) investigaram as
20 propriedades miméticas à metaloenzima CAT do composto Na[Mn₂L(OH)₂(H₂O)₂].5H₂O. De
21 acordo com os estudos cinéticos e mecanísticos, observou-se o envolvimento de espécies
22 intermediárias, ciclando entre os estados de oxidação Mn₂^{II}/Mn₂^{III}, o que distingue este
23 catalisador de outros reportados na literatura que envolvem a formação de intermediários de
24 alta valência, ciclando entre espécies de Mn^{II}Mn^{III}/Mn^{III}Mn^{IV} [208].

25 Zengin e colaboradores (2023) descreveram a atividade mimética a SOD de
26 compostos de coordenação binucleares de Cu(II), Ni^{II} e Zn^{II}, contendo bases de Schiff como
27 ligantes, utilizando o método do NBT (azul de nitrotetrazólio). Observou-se que todos os
28 compostos de coordenação testados apresentaram atividade mimética a SOD, com maiores
29 atividades para os compostos de Cu (CI₅₀ = 2,05 ± 0,6 μmol L⁻¹), que foi associado a maior
30 proximidade dos centros metálicos na estrutura do complexo, promovendo uma maior
31 eficiência dos processos de transferência de elétrons [209].

32 Nosso grupo também tem se dedicado ao desenvolvimento de compostos de
33 coordenação como modelos miméticos as metaloenzimas antioxidantes, explorando modelos
34 *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*. Em 2009, Lessa e colaboradores investigaram as propriedades

1 cinéticas com proposição de mecanismo para a reação de desproporcionamento do H_2O_2
 2 promovida pelo composto de coordenação mononuclear $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})(\eta^1\text{-NO}_3)(\eta^2\text{-NO}_3)]$.
 3 A atividade mimética foi estudada por ensaios de evolução de O_2 , UV-vis, EPR, estudos de
 4 pH e ESI-(+)-MS. Os estudos cinéticos e mecanísticos revelaram a presença de um período de
 5 indução, associado à formação de intermediários de alta valência como espécie ativa. Análises
 6 de ESI-(+)-MS e EPR confirmaram a formação de espécies binucleares intermediárias, com
 7 envolvimento de espécies de $\text{Mn}^{\text{III}}-(\mu\text{-O})_2\text{-Mn}^{\text{IV}}$ (Figura 9) [210].

8 Figura 9 – Espécies participantes da reação de desproporcionamento do H_2O_2 promovida pelo
 9 complexo $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})(\eta^1\text{-NO}_3)(\eta^2\text{-NO}_3)]$, baseado nas técnicas de EPR, avaliação do
 10 pH e ESI-(+)-MS. Adaptado de Lessa e colaboradores (2009) [210].



11
12

13 Em 2015, Ribeiro e colaboradores publicaram os resultados de atividade antioxidante
 14 *in vitro* e *in vivo* de compostos de coordenação de $\text{Fe}(\text{III})$, $\text{Cu}(\text{II})$ e $\text{Mn}(\text{II})$, contendo o ligante
 15 HPCINOL: $[\text{Fe}(\text{HPCINOL})\text{Cl}_2]\text{NO}_3$, $[\text{Cu}(\text{HPCINOL})(\text{CH}_3\text{CN})]\text{ClO}_4$ e $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})\text{Cl}_2]$.
 16 Os compostos de $\text{Fe}(\text{III})$ e $\text{Mn}(\text{II})$ apresentaram atividades mimética às metaloenzimas SOD e
 17 CAT, enquanto o complexo de $\text{Cu}(\text{II})$ apresentou apenas atividade mimética à SOD. Além
 18 disso, todos os compostos testados exibiram efeito protetor em células de leveduras de
 19 *Saccharomyces cerevisiae*, neutralizando os efeitos da peroxidação lipídica resultante do
 20 estresse induzido pela adição de H_2O_2 e menadiona (fonte de ânion radical superóxido) [211].

21 Em 2017, o nosso grupo de pesquisa publicou a atividade antioxidante *in vivo* dos
 22 compostos de coordenação de $\text{Cu}(\text{II})$, $\text{Fe}(\text{III})$ e $\text{Mn}(\text{II})$ supracitados, contra efeitos do
 23 envelhecimento. Analisando a oxidação de proteínas e lipídios submetidos ao processo de
 24 envelhecimento, evidenciou-se que os compostos, miméticos às metaloenzimas SOD e CAT
 25 aumentam a expectativa de vida das leveduras devido à redução de biomarcadores de estresse
 26 oxidativo, gerados pelo processo de envelhecimento, apresentando grande potencial como
 27 agente antienvhecimento [212].

1 Em 2018, Costa e colaboradores relataram a obtenção de um composto de
2 coordenação binuclear de valência mista de Mn^{II}/Mn^{III} [Mn^{III}(μ-HBPCINOL)(μ-
3 BPCINOL)Mn^{II}(Cl)](ClO₄).2H₂O contendo o ligante H₂BPCINOL, com atividade mimética
4 às metaloenzimas antioxidantes SOD e CAT. Os estudos realizados por Ressonância
5 Paramagnética Eletrônica (EPR) mostraram que um composto de alta valência Mn^{III}-O-Mn^{IV}
6 está envolvido na reação de dismutação do ânion radical superóxido [213].

7 Em 2023, foram investigadas as propriedades antioxidantes de compostos de Cu, Fe e
8 Mn contendo o ligantes tetradenados do tipo N,O doadores em modelos *in vitro* e *ex vivo*,
9 onde se observou boa atividade frente ao radical superóxido, peróxido de hidrogênio e radical
10 hidroxil, além de boa capacidade de proteção de homogenato de fígado contra o estresse
11 induzido pelo radical hidroxil, com valores de CI₅₀ na escala de 10⁻⁹ mol L⁻¹ [10, 22].

12 Baseados na experiência do grupo, este trabalho propõe um estudo de grande
13 significância na área de investigação das propriedades biológicas de novos compostos de
14 coordenação, onde a modulação da homeostase redox é avaliada em modelos biológicos com
15 complexidade variadas (*in vitro* e *ex vivo*), buscando a compreensão das propriedades redox
16 dos compostos bem como a elucidação de mecanismos de ação que até então desconhecidos
17 pelo grupo.

18

1 3 OBJETIVOS

2 3.1 Objetivo Geral

3 Avaliar as atividades leishmanicida (*in silico* e *in vitro*) e antioxidante (*in vitro* e *ex*
4 *vivo*), de compostos de coordenação de cobalto(II), cobre(II), ferro(III) e manganês(II),
5 contendo ligantes cumarínicos.

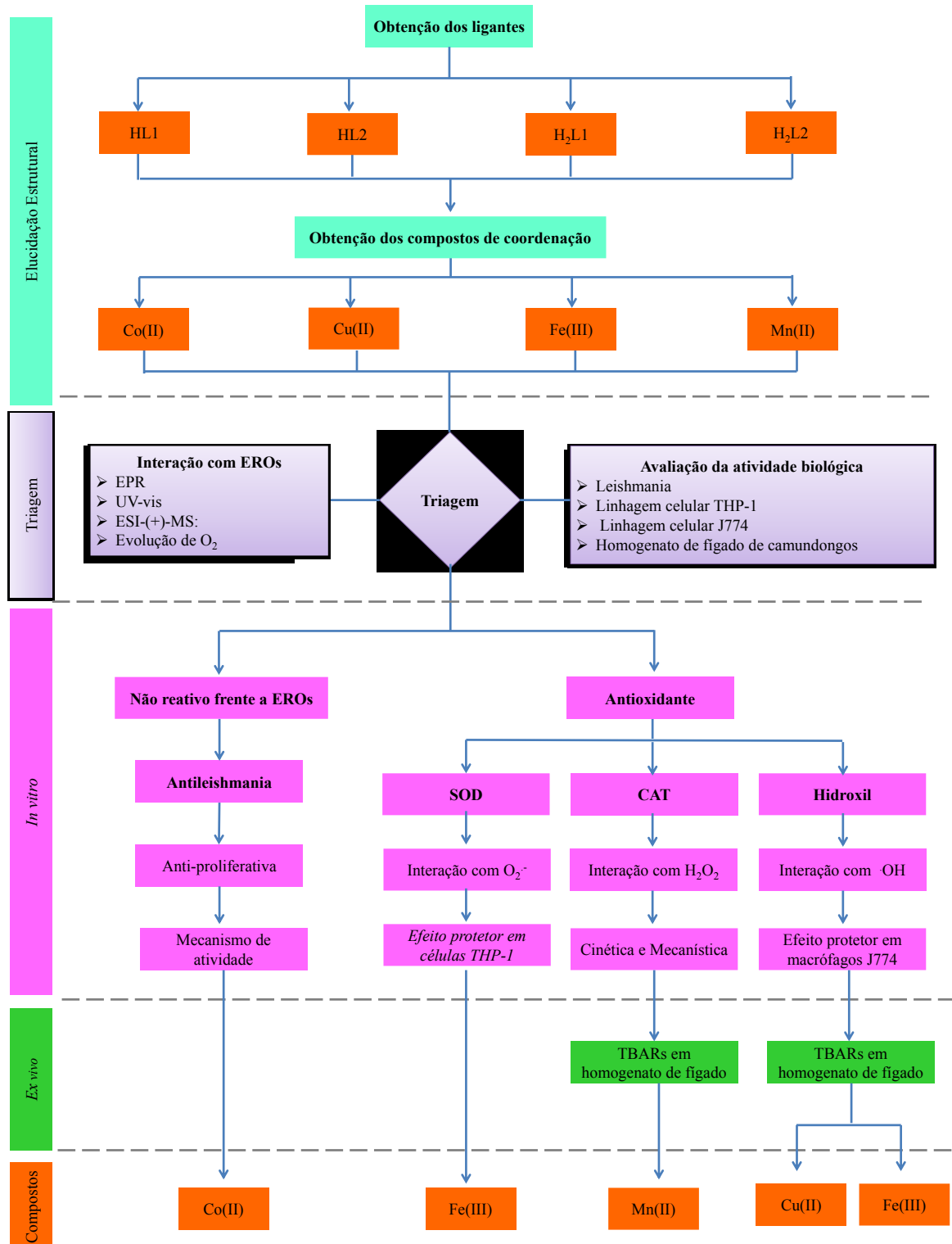
6 3.2 Objetivos Específicos

- 7 • Sintetizar ligantes polidentados contendo grupos cumarínicos (HL1, HL2, H₂L1 e
8 H₂L2) e empregá-los na obtenção de compostos de coordenação de Co(II), Cu(II), Fe(III) e
9 Mn(II);
- 10 • Caracterizar os compostos de coordenação obtidos por meio de técnicas
11 espectroscópicas e estruturais;
- 12 • Determinar a atividade leishmanicida dos ligantes e compostos de coordenação frente
13 à forma promastigota do parasita *Leishmania amazonensis*, *in vitro*;
- 14 • Avaliar a atividade antioxidante dos compostos de coordenação frente a Espécies
15 Reativas de Oxigênio (peróxido de hidrogênio, ânion radical superóxido e radical hidroxil),
16 empregando-se técnicas espectroscópicas, estudos cinéticos e mecanísticos;
- 17 • Investigar a atividade protetora dos compostos de coordenação *in vitro*, empregando-
18 se células tumorais leucêmicas (THP-1) e macrófagos J774, submetidos a estresse oxidativo,
19 induzido por ditranol e radical hidroxil, respectivamente;
- 20 • Investigar o efeito dos compostos de coordenação na redução da peroxidação lipídica
21 *ex vivo*, empregando-se homogenato de fígado de camundongos suíços, submetido a estresse
22 oxidativo induzido por H₂O₂ e radical hidroxil.

1 4 METODOLOGIA

2 Neste trabalho, foram obtidos compostos de coordenação de Co(II), Cu(II), Fe(III) e
 3 Mn(II), tendo investigadas suas atividades biológicas: leishmanicida e antioxidante. O
 4 Fluxograma 1 apresenta as atividades realizadas e descritas neste trabalho.

5 Fluxograma 1- Atividades desenvolvidas neste trabalho.



6

1 4.1 Materiais e Métodos

2 Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados sem prévia
3 purificação. As análises de FTIR foram analisadas em um espectrofotômetro Shimadzu FT-IR
4 8300, na faixa de 400-4000 cm^{-1} , empregando-se pastilhas de KBr. Os espectros de RMN
5 foram obtidos em um espectrômetro RMN AS 400, utilizando CDCl_3 como solvente. O
6 deslocamento químico (δ) foi dado em ppm e o TMS foi empregado como padrão interno.
7 Medidas de Ponto de Fusão foram realizadas em um aparelho Microquímica MQAPF-301. Os
8 espectros eletrônicos foram obtidos em um equipamento UV-Vis Varian, Cary 50 Bio. As
9 medidas de condutividade elétrica foram realizadas em um aparelho MS Tecnopon mCA-150.
10 Os espectros de ESI-(+)-MS foram obtidos em um espectrômetro Amazon X Ion trap (Bruker
11 Daltonics), modo positivo, no Laboratório de Biologia Molecular Estrutural (LABIME-
12 UFSC). As medidas de análise Elementar (CHN) foram realizadas em um analisador CHN
13 Perkin Elmer 2400. Medidas de Difração de raio-X de monocristal foram realizadas em um
14 difratômetro Bruker D8 Venture, equipado com o detector Photon 100. As estruturas foram
15 refinadas no Soft SHELX. A espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe foi realizada a temperatura
16 ambiente, empregando-se fonte de ^{57}Co em matriz de Rh. Os valores de deslocamento
17 isomérico (IS) são dados em relação ao ferro metálico. Os espectros de Ressonância
18 Paramagnética Eletrônica (EPR) foram obtidos em um sistema Bruker (EMX micro-
19 9,5/2,7/P/L, operando na banda-X (9 GHz). Estudos de DFT foram realizados para otimização
20 de estruturas, construídas baseadas nos dados de raio-X, usando o programa GaussView 6.

21 4.2 Procedimento Experimental

22 4.2.1 Obtenção dos ligantes HL1, HL2, H₂L1 e H₂L2

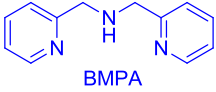
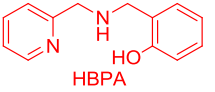
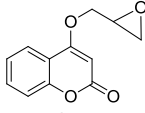
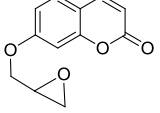
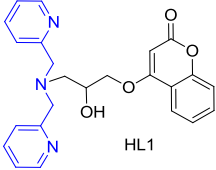
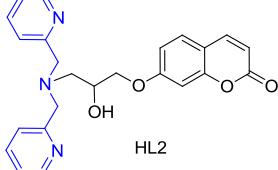
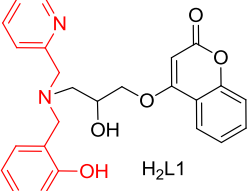
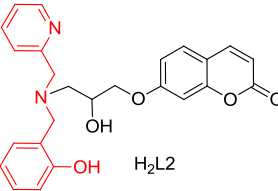
23 Neste trabalho foram sintetizados quatro ligantes contendo grupos cumarínicos a partir
24 de reações entre as aminas secundárias BMPA (bis(piridina-2-ilmetil)amina) [214] e HBPA
25 (2-hidroxibenzil)(2-metilpiridil)amina) [215] e os epóxidos 4HCepóxido (4-(2-
26 oxiranilmetoxi)-2H-cromen-2ona) e 7HCepóxido (7-(2-oxiranilmetoxi)-2H-cromen-2ona)
27 [29]. O Quadro 2 apresenta as estruturas dos compostos orgânicos BMPA, HBPA, dos
28 epóxidos e dos ligantes HL1, HL2, H₂L1 e H₂L2.

29

30

31

1 Quadro 2- Estrutura dos compostos orgânicos utilizados nesse projeto.

 <p>BMPA</p>	 <p>HBPA</p>
 <p>4HCepóxido</p>	 <p>7HCepóxido</p>
 <p>HL1</p>	 <p>HL2</p>
 <p>H₂L1</p>	 <p>H₂L2</p>

2

3

4

5 O esquema 1 apresenta os métodos de síntese dos ligantes HL1 e HL2. O ligante 4-{3-
6 [bis(2-piridilmetil)amino-2-hidroxiopropoxi}-2-croman-2-ona (HL1) foi obtido a partir da
7 reação entre os precursores BMPA (1,99 g, 10 mmol) e 4HC_{epóxido} (2,18 g, 10 mmol),
8 conforme método relatado por Rocha e colaboradores [99]. A mistura reacional permaneceu
9 sob agitação por 14 dias, a 50 °C, acompanhada por CCD, empregando-se MeOH:EtOAc
10 (9:1) como eluente. Após, o solvente foi removido e o óleo resultante foi submetido à
11 extração líquido-líquido com solução *brine*, seco com MgSO₄ anidro, filtrado e concentrado a
12 pressão reduzida, resultando em um óleo castanho escuro denso. Rendimento: 77% (3,2 g). O
13 ligante 7-{3-[bis(piridin-2-ilmetil)amino]-2-hidroxiopropoxi}-croman-2-ona (HL2) foi obtido
14 de forma similar ao ligante HL1, apenas empregando-se 7HC_{epóxido} em substituição ao
4HC_{epóxido}. Foi obtido um óleo castanho escuro. Rendimento: 81% (6,2 g).

15

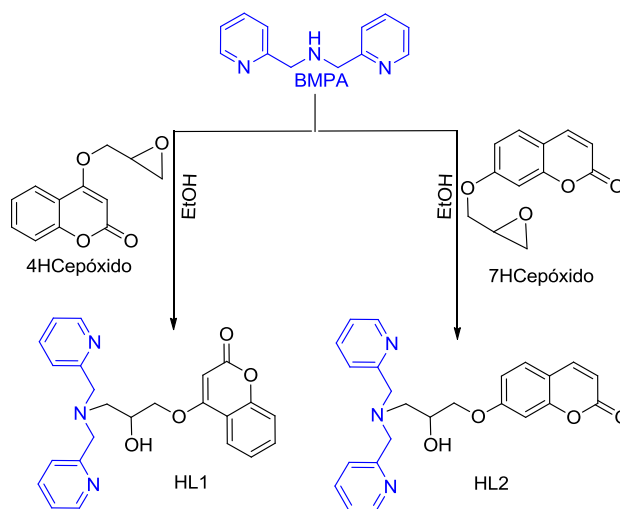
16

17

18

19

1 Esquema 1- Síntese dos ligantes HL1 e HL2, obtidos a partir das reações entre BMPA e os
 2 respectivos epóxidos, 4HCepóxido e 7HCepóxido [99].

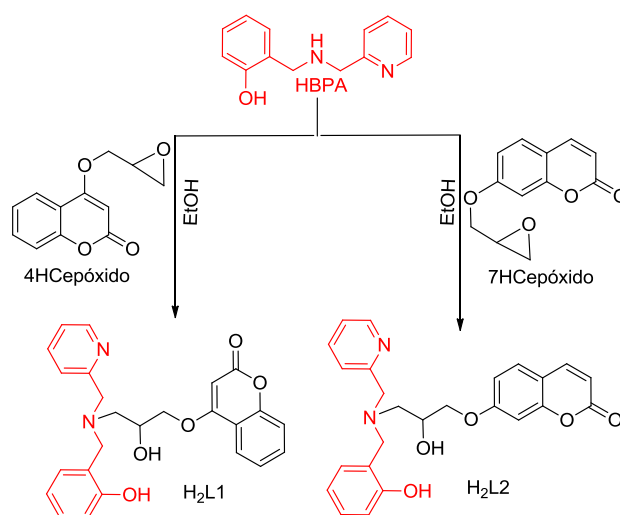


3
4

5 O esquema 2 apresenta os métodos de síntese de H₂L1 e H₂L2, que foram obtidos de
 6 forma similar aos ligantes HL1 e HL2, utilizando o HBPA em substituição ao BMPA. O
 7 ligante 4-{2-hidroxi-3-[(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)amino]propoxi}-2H-2-croman-2-ona
 8 (H₂L2) foi obtido pela reação do HBPA (3,90 g, 18,3 mmol) e 4HCepóxido (4 g, 18,3 mmol),
 9 de acordo com o método proposto por Lopes (2012) [29]. Um óleo castanho claro foi obtido.
 10 Rendimento: 79% (6,1 g). O ligante 7-{2-hidroxi-3-[(2-hidroxibenzil)(piridin-2-
 11 ilmetil)amino]propoxi}-croman-2-ona (H₂L2) foi obtido a partir da reação entre HBPA (3,90
 12 g, 18,3 mmol) e o 7HCepóxido (4 g, 18,3 mmol), de acordo com o método proposto por
 13 Morcelli (2012), resultando em um óleo de coloração laranja [30]. Rendimento: 91% (7,2 g).

14

15 Esquema 2- Síntese dos ligantes H₂L1 e H₂L2, obtidos a partir das reações entre HBPA e os
 16 respectivos epóxidos, 4HCepóxido e 7HCepóxido [29-30].



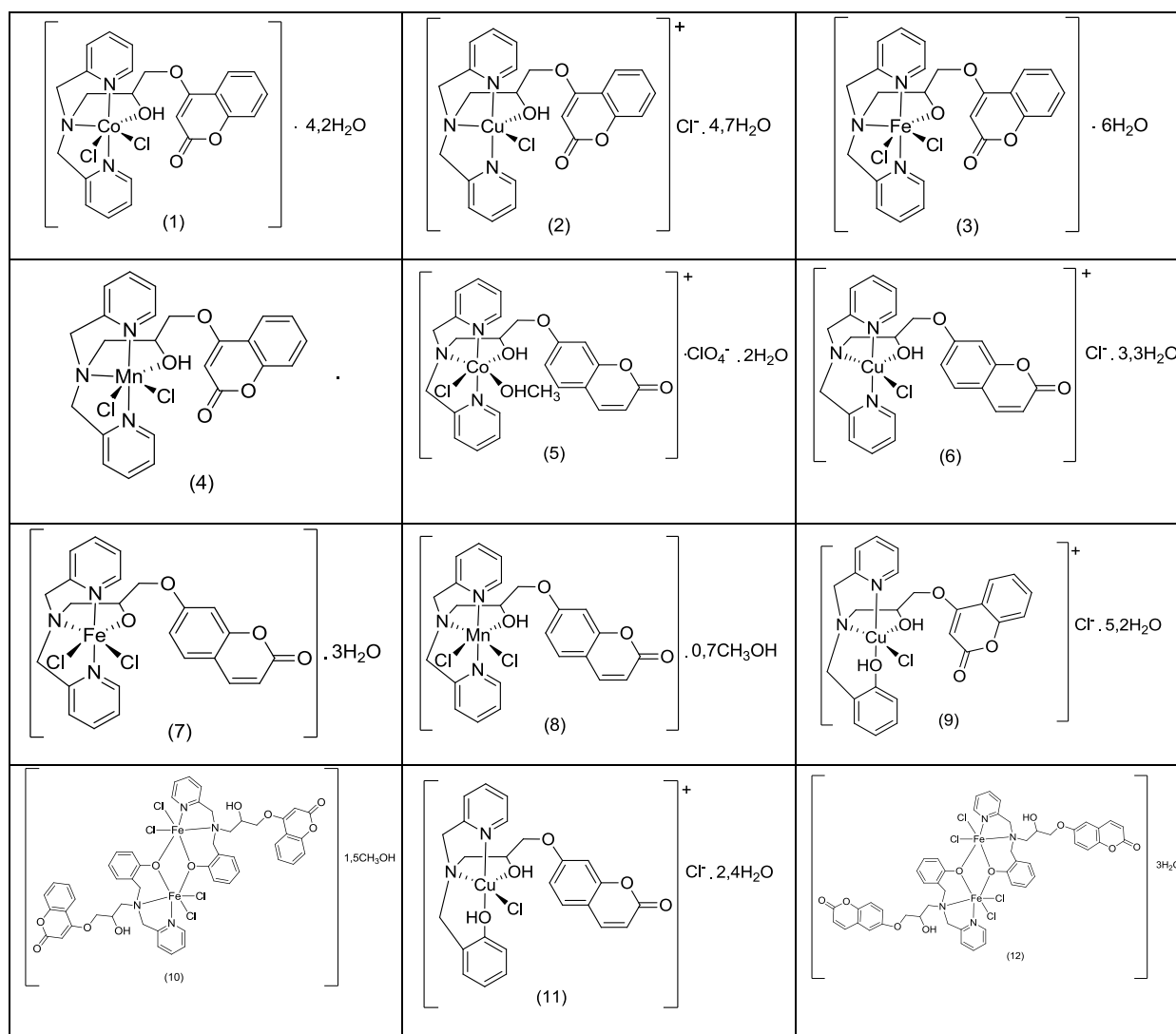
17

1 4.2.2 Obtenção dos complexos metálicos

2 Os compostos de coordenação de Co(II), Cu(II), Fe(III) e Mn(II) (Quadro 3) foram
 3 obtidos com o intuito de sintetizar novos compostos, caracterizá-los e avaliar suas atividades
 4 biológicas frente a *Leishmania amazonensis* ou EROs, tais como peróxido de hidrogênio,
 5 ânion radical superóxido e radical hidroxil. Os Esquemas 3-6 apresentam as sínteses dos
 6 compostos de coordenação contendo os ligantes HL1, HL2, H₂L1 e H₂L2, que foram obtidos
 7 a partir da reação de complexação, empregando-se quantidades equimolares de cloretos de
 8 sais e dos ligantes.

9

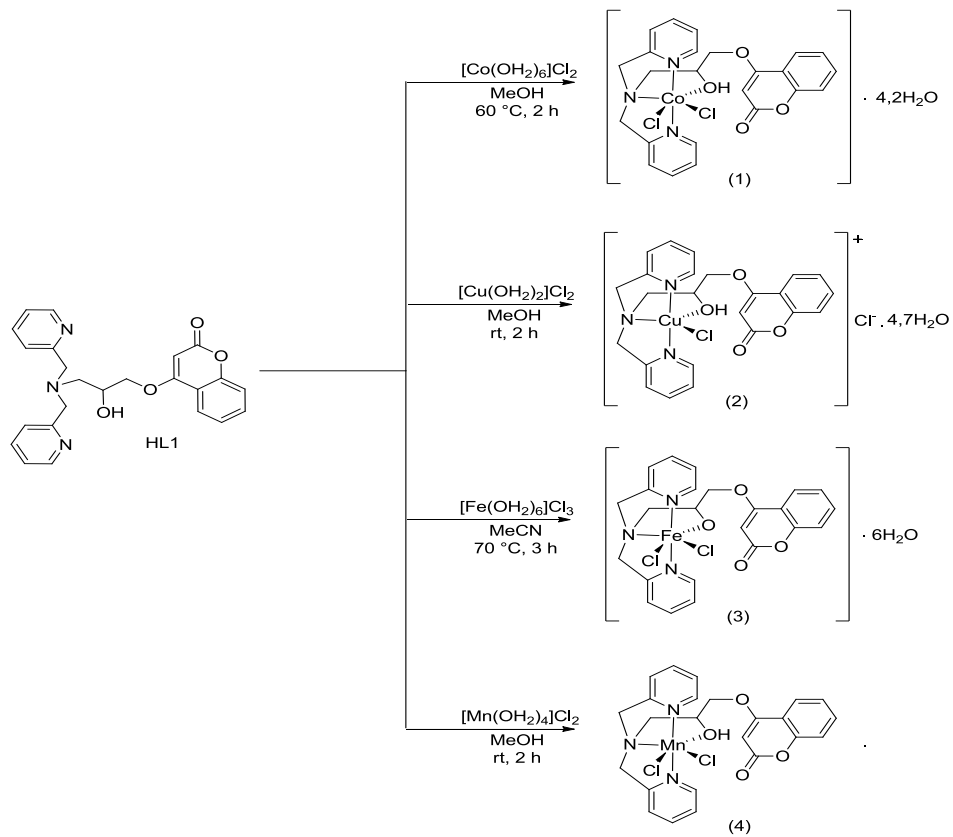
10 Quadro 3- Estrutura dos compostos de coordenação utilizados nesse projeto.



11

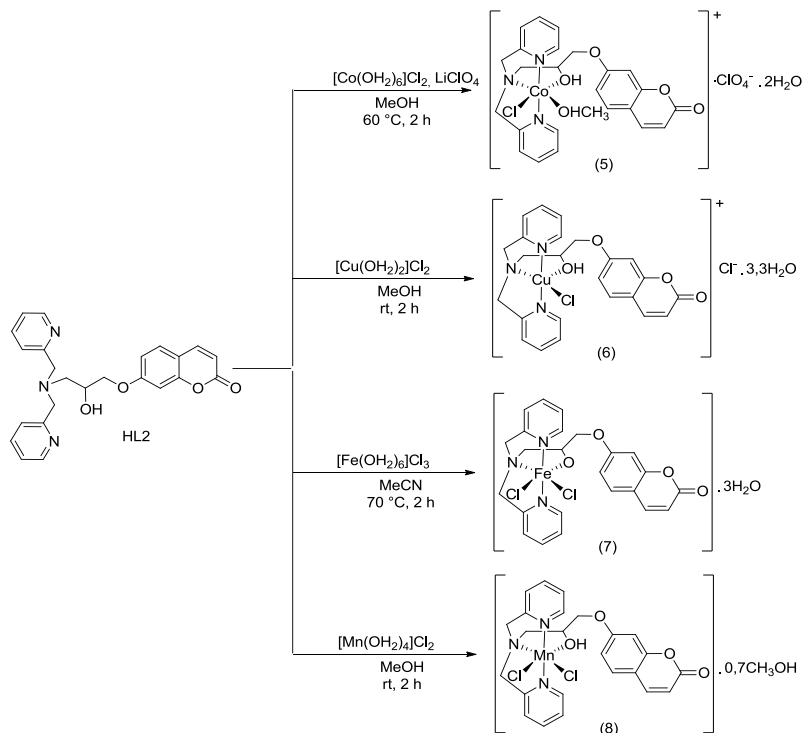
12

- 1 Esquema 3- Síntese dos compostos de Co(II), Cu(II), Fe(III) e Mn(II), contendo HL1. As
 2 propostas de estruturas são baseadas em resultados de caracterizações físico-químicas.



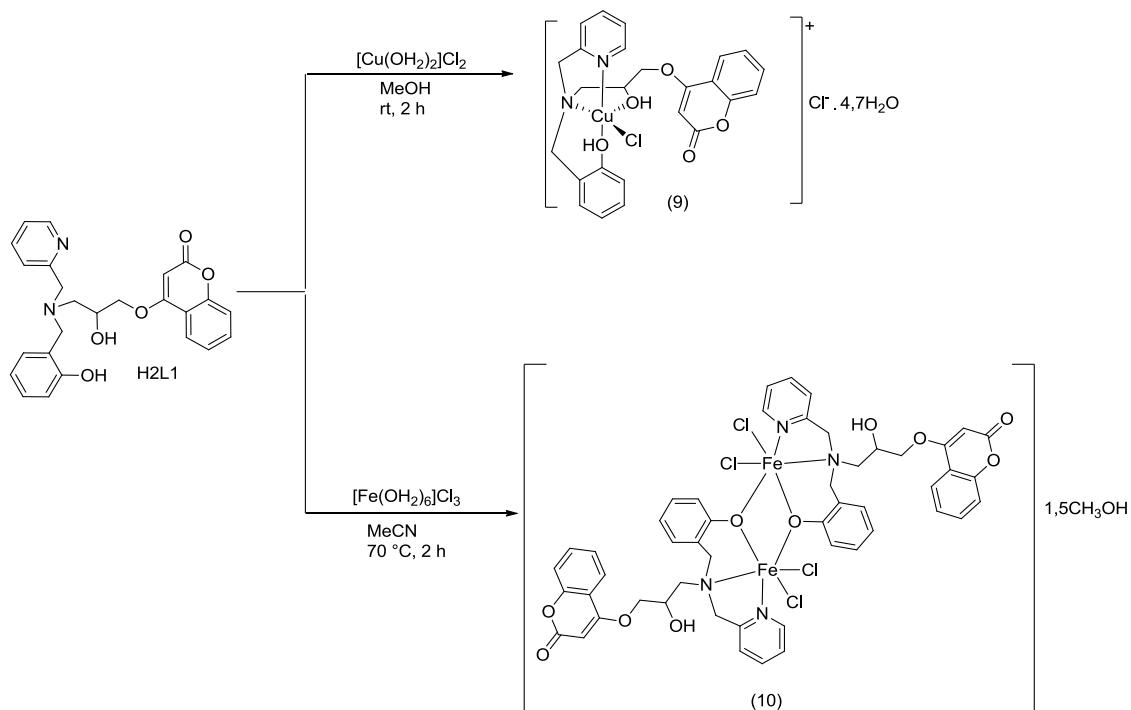
3
4

- 5 Esquema 4- Síntese dos compostos de Co(II), Cu(II), Fe(III) e Mn(II), contendo HL2. As
 6 propostas de estruturas são baseadas em resultados de caracterizações físico-químicas.

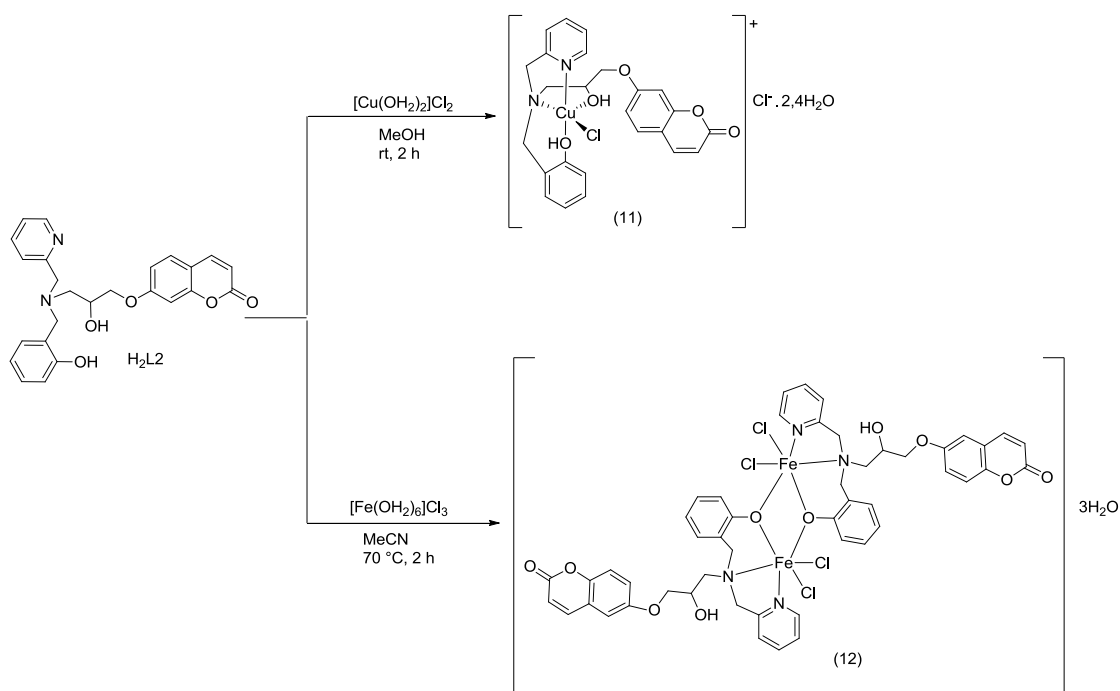


7

- 1 Esquema 5- Síntese dos compostos de Cu(II) e Fe(III), contendo o ligante H₂L1. As propostas
 2 de estruturas são baseadas em resultados de caracterizações físico-químicas. Os compostos de
 3 Co(II) e Mn(II) não foram obtidos com êxito.



- 7 Esquema 6- Síntese dos compostos de coordenação Cu(II) e Fe(III) contendo o ligante H₂L2 .
 8 As propostas de estruturas são baseadas em resultados de caracterizações físico-químicas. Os
 9 compostos de Co(II) e Mn(II) não foram obtidos com êxito.



1 **4.3 Atividade Antileishmania**

2 Após triagem, realizada com todos os compostos de coordenação obtidos, ligantes e
3 sais metálicos, os compostos de Co(II), contendo os ligantes HL1 e HL2, foram escolhidos
4 para avaliação da atividade antiparasitária frente a forma promastigota da *Leishmania*
5 *amazonensis*, já que apresentaram boa atividade antiproliferativa frente a leishmania. A
6 atividade leishmanicida foi realizada em colaboração com o Prof. Dr. Sérgio Henrique Seabra
7 (Laboratório de Biologia Celular e Tecidual), no CCB- UENF.

8 *4.3.1 Cultura de Leishmania amazonensis*

9 A forma promastigota da *L. amazonensis*, obtida da diferenciação de amastigotas
10 isoladas em lesões em camundongos Balbi/C, foi cultivada em meio Schneider (Sigma)
11 contendo 20 ug L⁻¹ de hemina, 10 ug mL de ácido fólico e soro fetal bovino (FBS, 10%). Os
12 parasitas foram mantidos através de passagens semanais até um total de seis passagens,
13 garantindo a virulência do parasita.

14 *4.3.2 Cultivo da linhagem celular hospedeira LLC-MK2*

15 A linhagem celular LLC-MK2 (morfologia epitelial) de rins de *Macaca mulatta*
16 (ATCC® CCL-7™) foi cultivada a 37 °C em 5% de CO₂ em meio DMEM suplementado
17 com FBS (10%), penicilina (100 U mL⁻¹) e estreptomicina (130 U mL⁻¹). Após a formação de
18 monocamadas confluentes, as culturas foram tratadas com solução de tripsina/EDTA para
19 obtenção de subculturas destas células.

20 *4.3.3 Atividade Anti-leishmania*

21 Para avaliação da atividade antiproliferativa, os parasitas foram cultivados por até 96 h
22 na presença de soluções dos compostos de Co(II) **(1)** e **(5)** nas concentrações de 0,5; 1,0; 5,0;
23 10,0; 20,0; 25,0 e 50,0 μmol L⁻¹ (DMSO 0,01%). Então, alíquotas foram retiradas em tempos
24 regulares de 24 h e os parasitas foram contados na câmara de Neubauer, depois de diluições
25 (1:10 e 1:100) em solução de PBS (0,01 mol L⁻¹, pH 7,2) contendo 4% de formaldeído,
26 usando um microscópio óptico. A CI₅₀ foi calculada de acordo com o método proposto por
27 Moreira e colaboradores (2021) [216].

28

29

1 4.3.4 Viabilidade na célula hospedeira

2 Células hospedeiras LLC-MK2, foram tratadas por 48 h com diferentes concentrações
3 de cada composto. Composto **(1)**: 100, 200, 300, 400, 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$; e composto **(5)**: 1, 10,
4 20, 50, 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os controles negativos e positivos foram obtidos com DMSO e triton-x
5 (10%), respectivamente. Após 48 h, adicionou-se uma solução de MTT (5 mg mL^{-1} , em PBS)
6 e as células foram incubadas por 4 h a 37 °C. Após, os cristais de formazan foram
7 solubilizados em (DMSO:isopropanol, 1:1) e a absorbância foi determinada em 590 nm
8 (espectrofotômetro leitor de placa – Molecular Probes Versa Max).

9 4.3.5 Avaliação do potencial de membrana da *L. amazonensis*

10 Para avaliação do potencial de membrana, os parasitas foram tratados ou não com o
11 complexo **(1)** (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) por 96 h, lavados com PBS e incubados por 20 min com JC1 em
12 meio Schneider (concentração final 10 $\mu\text{g L}^{-1}$). Os parasitas foram analisados em um
13 citômetro BD FACSCalibur. Os parasitas apresentaram fluorescência verde e vermelha,
14 indicando baixo e elevado potencial de membrana, respectivamente.

15 4.3.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

16 Para análises microscópicas, as formas promastigotas de *L. amazonensis* foram
17 tratadas ou não com o complexo **(1)** por 72 h. Cortes ultrafinos foram contrastados com
18 acetato de uranil e citrato de chumbo, e analisados no Microscópio Eletrônico de Transmissão
19 Jeol 1400 Plus, usando voltagem de aceleração de 80 kV.

20 4.4 Atividade Superóxido Dismutase

21 Após triagem, os compostos de coordenação de Fe(III) foram escolhidos para
22 avaliação da atividade mimética à metaloenzima SOD. A atividade SOD foi realizada *in vitro*,
23 a partir de investigações da interação entre os compostos de Fe(III) e o ânion radical
24 superóxido pelas técnicas de Espectroscopia Eletrônica na região do UV-vis e Espectroscopia
25 de Ressonância Paramagnética (EPR). Além disso, o efeito protetor desses compostos
26 também foi investigado frente ao estresse oxidativo induzido por ditranol em células da
27 linhagem THP-1. Este trabalho foi realizado em colaboração com o Prof. Dr. Juliano Ferreira
28 (Laboratório de Farmacologia Experimental - UFSC).

29

1 *4.4.1 Avaliação da atividade mimética SOD dos compostos de coordenação de Fe(III) por*
2 *Espectroscopia Eletrônica na região do UV-vis*

3 A atividade mimética SOD dos compostos de Fe(III) foi avaliada por Espectroscopia
4 Eletrônica na região do UV-vis, a partir da interação entre os compostos de coordenação **(3)**,
5 **(7)**, **(10)** e **(12)** e uma solução de KO₂ como fonte do ânion radical superóxido. Assim, reações
6 constituídas de misturas dos complexos metálicos e soluções de KO₂ (1:100) foram analisadas
7 [22]. A concentração de O₂⁻ foi determinada usando o coeficiente de extinção molar (2686 L
8 mol⁻¹ cm⁻¹) em DMSO anidro, conforme reportado por Richezzi e colaboradores (2022) [217].
9

10 *4.4.2 Avaliação da atividade mimética SOD dos compostos de coordenação de Fe por EPR*
11

12 A atividade mimética SOD dos compostos de ferro(III) também foi avaliada por EPR.
13 Para isso, espectros de reações constituídas de diferentes proporções molares de soluções dos
14 compostos **(3)**, **(7)**, **(10)** e **(12)** e KO₂ (v_{final} = 300 µL) foram obtidos a 120 K [22]. Os
15 espectros de cada composto e do superóxido foram obtidos para fins de comparação.

16 *4.4.3 Avaliação da citotoxicidade dos compostos de Fe(III) por análises de Viabilidade*
17 *Celular*

18 A citotoxicidade dos compostos de Fe(III) **(3)**, **(7)**, **(10)** e **(12)** foi estudada por meio
19 da análise da viabilidade celular, avaliando-se a metabolização do MTT, de acordo com
20 método descrito por Azeredo e colaboradores (2021) [24]. Células tumorais THP-1 foram
21 plaqueadas em placas de 96 poços (1 10⁵ células/poço) com diferentes concentrações dos
22 complexos de Fe(III), ligantes e sal metálico (1, 10, 50 e 100 µmol L⁻¹) e a cultura foi
23 incubada a 37 °C por 24 h e 5% de CO₂. Então, 15 µL de solução de MTT (5 mg mL⁻¹) foi
24 adicionado em cada poço e as células foram incubadas a 37 °C, 5% de CO₂, por 4 h. Depois, o
25 sobrenadante foi removido, os cristais de formazan foram dissolvidos em 150 µL de DMSO e
26 a absorbância foi quantificada em 590 nm.

27 *4.4.4 Efeito protetor dos compostos de coordenação de ferro(III) frente ao estresse oxidativo*
28 *induzido por ditranol, empregando-as células THP-1*

29 O efeito protetor *in vitro* frente o estresse promovido por ditranol dos compostos de
30 Fe(III) foi avaliado em células THP-1, empregando-se o método do NBT [218]. As células

1 (180 μL , $1 \cdot 10^4$ células/poço) foram incubadas com soluções dos compostos **(3)**, **(7)**, **(10)** e
2 **(12)** (20 μL , 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$), seus respectivos ligantes e sais metálicos por 24 h a 37 °C e 5%
3 CO_2). O estresse foi induzido pela adição de solução de ditranol nos poços (20 μL , 500 μmol
4 L^{-1}) e as células foram novamente incubadas por 24 h, 5% de CO_2 a 37 °C. Após,
5 adicionaram-se 15 μL de solução de NBT e incubou-se a placa por 1 h. Finalmente, o
6 sobrenadante foi removido e adicionaram-se 150 μL de DMSO em cada poço. A absorbância
7 foi determinada em 570 nm e a inibição do estresse foi calculada pela Equação 13.

$$8 \quad I(\%) = (A_0 - A_n)/A_0 \times 100 \quad (\text{Equação 13})$$

9 Onde,

10 $I(\%)$ = porcentagem de inibição

11 A_0 : absorbância do controle

12 A_n : absorbância das amostras testadas

13 4.4.5 Efeito protetor dos compostos de Fe(III) frente ao estresse induzido por ditranol em 14 células THP-1, investigada por EPR

15 A atividade protetora frente ao estresse induzido por ditranol também foi investigada
16 por EPR. As células THP-1 foram tratadas com os compostos de coordenação de Fe e
17 submetidas ao estresse induzido por ditranol, conforme descrito no item 3.4.4. Medidas de
18 EPR foram realizadas a 240 K, utilizando TEMPO (óxido de 2,2,6,6-tetrametil-piperidina)
19 como *spin-trap*.

20 4.5 Atividade Catalase

21 Após triagem, os compostos de coordenação de Mn(II) **(4)** e **(8)** foram selecionados
22 para avaliação da atividade mimética a metaloenzima CAT. Neste item, são relatados os
23 estudos cinéticos e mecanísticos da reação de desproporcionamento do H_2O_2 bem como a
24 avaliação do efeito protetor contra o estresse promovido pelo H_2O_2 *ex vivo*, empregando-se
25 homogenato de fígado de camundongos suíços. Este trabalho foi realizado em colaboração
26 com a Profa. Dra. Alexandra Latini (Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo-
27 LABOX), no Departamento de Bioquímica da UFSC.

28 4.5.1 Estudos Cinéticos

29 A avaliação cinética da reação de desproporcionamento de H_2O_2 , promovida pelos
30 complexos **(4)** e **(8)**, foi realizada por meio de medições volumétricas envolvendo a produção

1 de O₂, em meio tamponado (PBS, 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4, 0,1% de DMSO), conforme reportado
2 por Lessa e colaboradores (2009) [210]. A concentração do H₂O₂ foi determinada pela reação
3 com KMnO₄ [219]. Os experimentos foram realizados em triplicata, mantendo-se a
4 concentração do substrato constante e variando-se a concentração do complexo para
5 determinar a ordem de reação em relação ao complexo. Um estudo similar foi realizado para
6 obter a ordem em relação ao substrato. O tratamento dos dados foi realizado pelo método das
7 velocidades iniciais, considerando o modelo de pseudo-ordem. Os dados cinéticos dos
8 compostos [Mn(HPCINOL)Cl₂] [22] e [Mn(salen)Cl] [205], foram determinados como
9 parâmetros de referência.

10 4.5.2 Estudos Mecanísticos

11 Os estudos mecanísticos da interação dos compostos **(4)** e **(8)** com H₂O₂ foram
12 realizados empregando técnicas de EPR, medidas de pH, Espectroscopia Eletrônica na região
13 do UV-vis e ESI-(+)-MS. Para os estudos espectroscópicos, a 100 µL de soluções dos
14 complexos **(4)** e **(8)** (1 mmol L⁻¹, PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4, DMSO (0,1%)) foram adicionadas
15 100 µL de uma solução de H₂O₂ (279 mmol L⁻¹). Espectros de EPR foram registrados em
16 tempos de 0 h, 30 min e 1 h, a 120 K. Além disso, reações em temperatura ambiente, usando o
17 *spin trap* n-óxido de 5,5-dimetil-1-pirrolina (DMPO) também foram investigadas. Para os
18 estudos espectrométricos, realizaram-se reações dos complexos **(4)** e **(8)** (1 mL, 1 10⁻⁶ mol L⁻¹
19 ¹, MeOH: H₂O 1:1) com H₂O₂ (50 µL, 12 mol L⁻¹). Em intervalos de 0, 1, 5, 10, 15 e 20 min,
20 as amostras foram injetadas a uma taxa de velocidade de 10 µL min⁻¹ e os espectros foram
21 obtidos no intervalo de razão massa/carga (*m/z*) de 200 a 1200. Estas reações também foram
22 investigadas por medidas de pH, utilizando as mesmas condições dos estudos cinéticos.

23

24 4.5.3 Efeito protetor dos compostos de Mn(II) frente ao estresse causado pelo H₂O₂ 25 empregando-se homogenato de fígado

26 Para a avaliação do efeito protetor dos compostos **(4)** e **(8)** frente ao estresse oxidativo
27 induzido por H₂O₂ em homogenato de fígado de camundongos, empregou-se o método
28 TBARS [220]. O tecido hepático foi dissecado de camundongos suíços adultos e
29 homogeneizado em 10 volumes de tampão PBS (25 µmol L⁻¹), como descrito por Latini e
30 colaboradores (2007) [220]. O homogenato foi centrifugado a 1500 G (4 °C) por 10 min e o
31 sobrenadante foi coletado para o experimento. O sobrenadante (50 µL) foi incubado com (50

1 μL) diferentes concentrações ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$, 10 nmol L^{-1} e 10 pmol L^{-1}) dos ligantes HL1 e
2 HL2, complexos **(4)** e **(8)** e cloreto de manganês. Então, o estresse oxidativo foi induzido pela
3 adição de H_2O_2 ($25 \mu\text{L}$, 40 mmol L^{-1}) e o sistema foi incubado por 1 h à temperatura
4 ambiente. A detecção da peroxidação lipídica foi realizada pela medição das espécies reativas
5 ao ácido tiobarbitúrico, como anteriormente descrito pelo nosso grupo de pesquisa [20, 22].
6 Assim, uma solução de ácido tricloroacético ($150 \mu\text{L}$, 10%) foi adicionado aos eppendorfs
7 para induzir a precipitação de proteínas e o sobrenadante foi reagido com $10 \mu\text{L}$ de ácido
8 tiobarbitúrico (TBA, 0,67%) a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h. O malondialdeído (MDA), biomarcador de
9 peroxidação lipídica, reage com o TBA para formação do aduto TBA-MDA-TBA. Este aduto
10 foi extraído com $450 \mu\text{L}$ de n-butanol. Por fim, uma alíquota de $200 \mu\text{L}$ do aduto foi
11 transferida para placa de 96 poços e os níveis de TBARS foi medido por Espectroscopia de
12 Fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 515$ e $\lambda_{\text{em}} = 553 \text{ nm}$).

13

14 **4.6 Atividade frente ao radical hidroxil**

15 *4.6.1 Monitorando o radical hidroxil por EPR*

16 A investigação da atividade antioxidante frente ao radical hidroxil se deu através da
17 interação dos compostos de coordenação de Fe(III) e Cu(II) com o radical hidroxil, gerado por
18 reação de Fenton ($\text{Fe}^{\text{II}} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}(\text{III})$), utilizando o DMPO como *spin trap*
19 [22, 221]. Para isso, prepararam-se soluções *stock* de DMPO (H_2O , 400 mmol L^{-1}), H_2O_2
20 (H_2O , 4 mmol L^{-1}), $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (H_2O , $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) e dos complexos de Fe(III) e
21 Cu(II) (complexos **(2)**, **(3)**, **(6)**, **(7)**, **(9)**, **(10)**, **(11)** e **(12)**) ($\text{H}_2\text{O}:\text{DMSO}$ 100:1, 10 mmol L^{-1}).
22 Então, $10 \mu\text{L}$ de diferentes concentrações de cada solução de complexo (concentração final na
23 faixa de 10 a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi misturada com $10 \mu\text{L}$ de solução de DMPO. O radical hidroxil
24 foi gerado a partir da concomitante adição de $10 \mu\text{L}$ de H_2O_2 e $10 \mu\text{L}$ de solução de Fe^{II} à
25 solução contendo DMPO e complexo estudado [20, 22, 221]. A mistura reacional foi
26 transferida para um capilar e os espectros foram registrados a 298 K. As medições foram
27 realizadas em triplicata e a CI_{50} foi determinada pela análise de regressão linear.

28

29

1 4.6.2 Efeito protetor dos compostos de Fe(III) e Cu(II) frente ao estresse causado pelo
2 radical hidroxil empregando-se macrófagos J774

3 A atividade antioxidante *in vitro* dos compostos de Cu(II) e Fe(III) frente ao radical
4 hidroxil foi investigada na linhagem celular J774, empregando-se o método do NBT [218].
5 Para isso, uma suspensão de células (160 μL , $1 \cdot 10^4$ células/poço) foram plaqueadas em placas
6 de 96 poços e incubadas com soluções dos compostos **(2)**, **(3)**, **(6)**, **(7)**, **(9)**-**(12)** (20 μL , 100
7 $\mu\text{mol L}^{-1}$), seus respectivos ligantes e sais metálicos por 24 h à 37 °C e 5% CO_2). O estresse
8 oxidativo induzido pelo radical hidroxil foi realizado pela reação de Fenton, a partir da
9 mistura de uma solução de $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (4 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e H_2O_2 (40 $\mu\text{mol L}^{-1}$). As
10 células foram novamente incubadas por 3 h, 5% de CO_2 a 37 °C. Após, adicionaram-se 15 μL
11 de solução de NBT e incubou-se a placa por 1 h. Finalmente, o sobrenadante foi removido e
12 adicionaram-se 150 μL de DMSO em cada poço. A placa foi lida em um espectrofotômetro
13 leitor de placa (570 nm) e a porcentagem de inibição de redução do NBT foi calculada pela
14 Equação 13.

15

16 4.6.3 Efeito protetor dos compostos de Fe(III) e Cu(II) frente ao estresse oxidativo promovido
17 pelo radical hidroxil empregando-se homogenato de fígado de camundongos

18 A avaliação do efeito protetor dos compostos **(2)**, **(3)**, **(6)**, **(7)**, **(9)**-**(12)** frente ao
19 estresse oxidativo promovido pelo radical hidroxil empregando-se homogenato de fígado foi
20 realizado empregando a metodologia por Menezes e colaboradores (2023), utilizando o
21 radical hidroxil como agente estressor [22]. Assim, o homogenato (50 μL) foi incubado com
22 50 μL de diferentes concentrações dos compostos de Cu(II) e Fe(III), ligantes e sais metálicos
23 (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 10 nmol L^{-1} e 10 pmol L^{-1}). O estresse foi induzido reação de Fenton,
24 constituída da adição de H_2O_2 (25 μL , 40 mmol L^{-1}) e Fe (25 μL , 0,4 mmol L^{-1}). A detecção
25 da peroxidação lipídica foi realizada pela medição das espécies reativas ao ácido
26 tiobarbitúrico, medindo-se por espectroscopia de fluorescência os níveis do MDA como
27 biomarcador de peroxidação lipídica ($\lambda_{\text{ex}} = 515$ e $\lambda_{\text{em}} = 553$ nm) [220].

28

29

30

31

1 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2 5.1 Caracterização dos ligantes

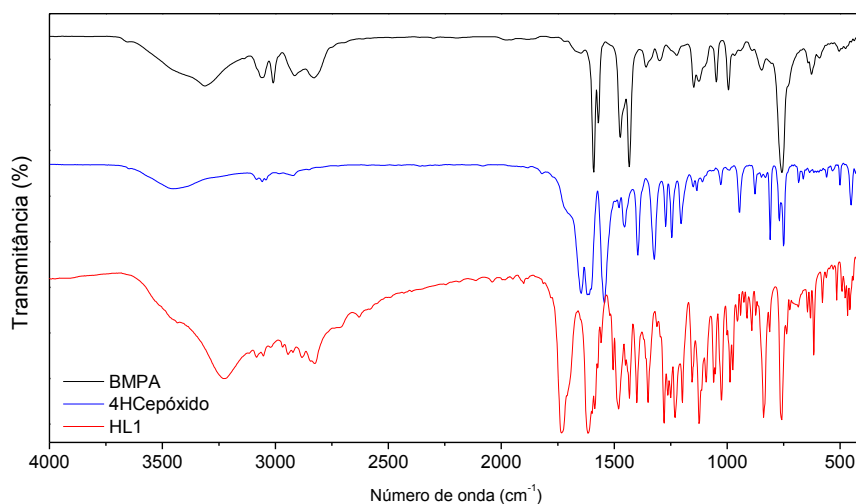
3 Neste trabalho foram sintetizados quatro ligantes (HL1, HL2, H₂L1 e H₂L2), a partir
4 de reações entre os precursores BMPA e HBPA com os epóxidos 4HCepóxido e 7HCepóxido.
5 A estrutura e pureza dos ligantes foram confirmadas por dados de caracterização físico-
6 química, os quais foram obtidos pelas técnicas de FTIR e RMN uni e bidimensional.

7 5.1.1 Caracterização dos ligantes HL1 e HL2

8 Os ligantes HL1 4-{3-[bis(2-piridilmetil)amino-2-hidroxiopropoxi]-2-croman-2-ona e
9 HL2 7-{3-[bis(2-piridilmetil)amino-2-hidroxiopropoxi]-2-croman-2-ona foram obtidos a partir
10 da reação dos precursores bis(piridina-2-ylmetila)amina (BMPA) e 4HCepóxido ou
11 7HCepóxido. Ambos os isômeros foram obtidos com bons rendimentos (> 70%), se
12 apresentando como óleos, e tiveram estrutura e pureza atestadas por análises de
13 Espectroscopia na região do Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).
14 Os dados de IV confirmaram a obtenção de HL1 e HL2 pela presença de absorções
15 características de ambos os precursores no espectro dos ligantes (cumarina: $\nu\text{C}=\text{O}$, $\nu\text{C}=\text{C}$, $\nu\text{C}-$
16 H) e (BMPA: $\nu\text{C}=\text{N}$, $\nu\text{C}=\text{C}$, $\nu\text{C}-\text{H}$, $\delta\text{C}-\text{H}_{\text{piridina}}$) (Figuras 10-11). Os espectros de RMN de ¹H
17 de HL1 e HL2 (Figuras 12-13) são semelhantes e constituídos de 11 sinais, dos quais sete se
18 encontram na região de hidrogênios aromáticos, enquanto quatro sinais são observados para
19 hidrogênios alifáticos. A atribuição de sinais para os ligantes HL1 e HL2 são apresentadas na
20 Tabela 1, obtida a partir de espectros de RMN de ¹H, ¹³C e correlações bidimensionais COSY
21 (Figuras 14a-15a) e HSQC (Figuras 14b-15b).

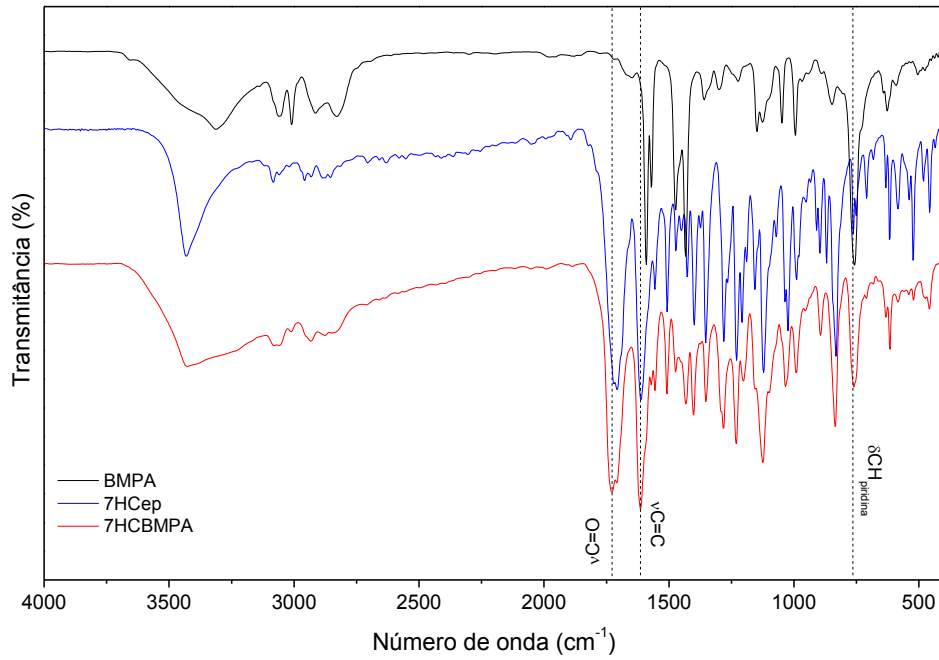
22

23 Figura 10 – Espectros na região do IV para BMPA, 4HCepóxido e HL1, em KBr.

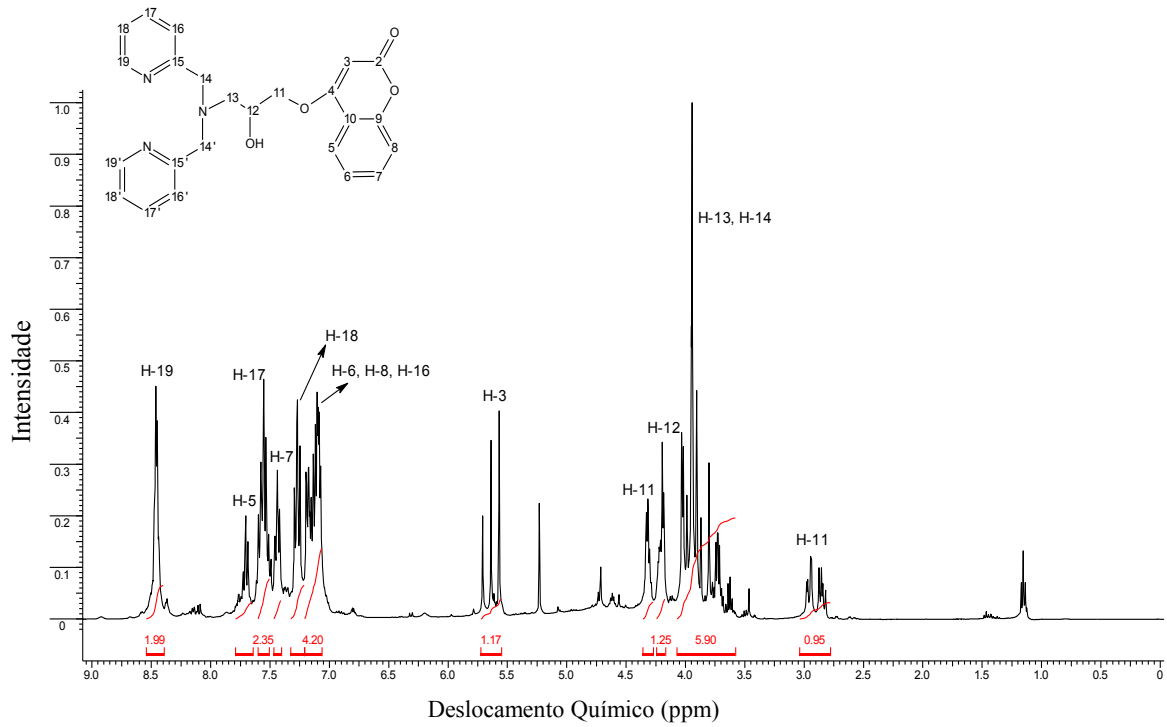


24

1 Figura 11 – Dados de FTIR para o BMPA, 7HCepóxido e HL2, obtidos em KBr.



4 Figura 12 – Espectro de ^1H RMN do ligante HL1, obtido em CDCl_3 .



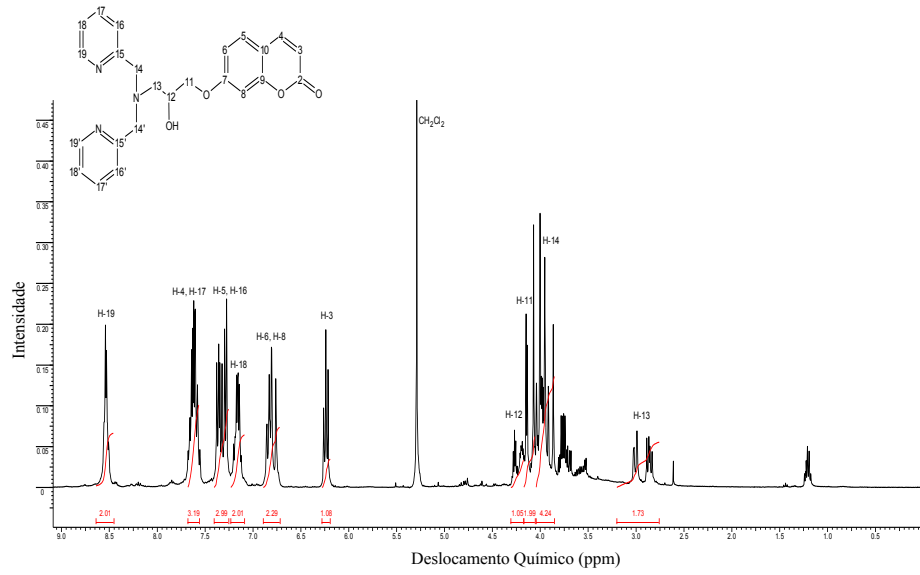
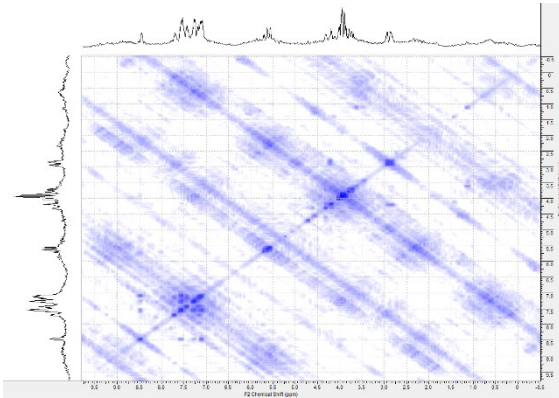
1
2Figura 13 – Espectro de ^1H RMN do ligante HL2, obtido em CDCl_3 .3
4
5

Figura 14 – Correlações bidimensionais a) COSY e b) HSQC para o ligante HL1.

a)



b)

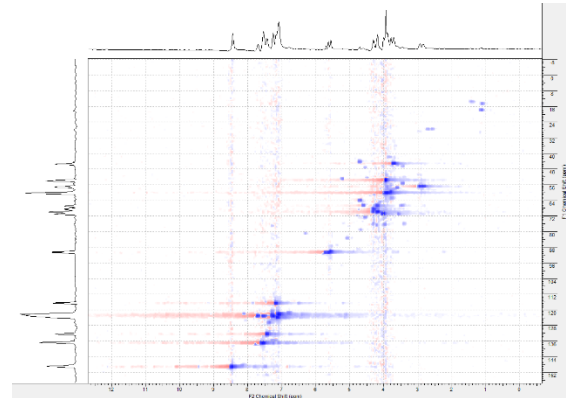
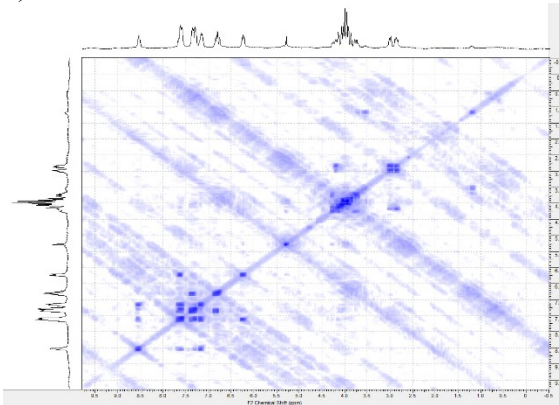
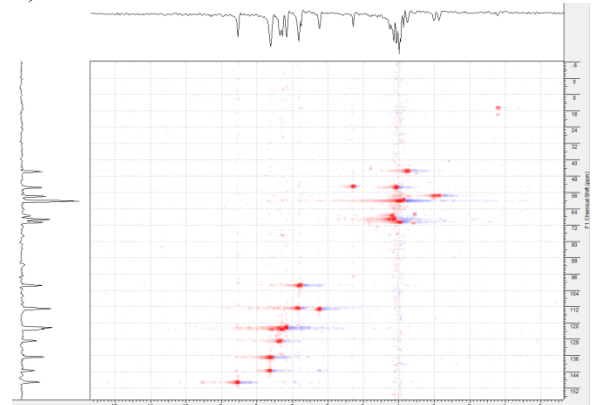
6
7
8

Figura 15 – Correlações bidimensionais a) COSY e b) HSQC para o ligante HL2.

a)



b)



9

1 Tabela 1 – Atribuição dos sinais de ¹H RMN, COSY e HSQC, para os ligantes HL1 e HL2.

Atribuição				Atribuição			
C	HSQC		COSY	C	HSQC		COSY
	δ_H	δ_C			δ_H	δ_C	
2	-	165,61	-	2	-	162,07	-
4	-	163,06	-	7	-	158,90	-
9	-	153,25	-	9	-	155,74	-
10	-	115,53	-	10	-	112,63	-
15, 15'	-	158,68	-	15, 15'	-	161,28	-
CH				CH			
3	5,70-5,55 (<i>m</i>)	90,48	-	3	6,22 (<i>m</i>)	113,05	H-4
5	7,78-7,67 (<i>m</i>)	123,96	H-6, H-8	4	7,69-7,55 (<i>m</i>)	143,47	H-3
6	7,23-7,11 (<i>m</i>)	122,52	H-5, H-7, H-8	5	7,40-7,25 (<i>m</i>)	123,17	H-6, H-8
7	7,47-7,40 (<i>m</i>)	132,54	H-6, H-8	6	6,88-6,75 (<i>m</i>)	112,94	H-5, H-8
8	7,23-7,11 (<i>m</i>)	116,70	H-5, H-6, H-7	8	6,88-6,75 (<i>m</i>)	101,56	H-5, H-6
12	4,23-4,17 (<i>m</i>)	68,81	H-11	12	4,20 (<i>m</i>)	67,68	H-11, H-13
16, 16'	7,22-7,08 (<i>m</i>)	123,34	H-17, H-18, H-19	16, 16'	7,40-7,25 (<i>m</i>)	128,70	H-17
17, 17'	7,60-7,50 (<i>m</i>)	136,85	H-16, H-18, H-19	17, 17'	7,69-7,55 (<i>m</i>)	136,72	H-16, H-18, H-19
18, 18'	7,30-7,24 (<i>m</i>)	122,36	H-16, H-17, H-19	18, 18'	7,20-7,13 (<i>m</i>)	121,94	H-17, H-19
19, 19'	8,48-8,43 (<i>dd</i> , <i>J</i> =6,00; <i>J</i> =11,00)	149,13	H-16, H-17, H-18	19, 19'	8,57-8,50 (<i>dd</i> , <i>J</i> =6,60; <i>J</i> =14,80)	148,95	H-17, H-18
CH ₂				CH ₂			
11	2,89-2,83 (<i>m</i>) 4,33-4,20 (<i>m</i>)	71,05	H-12	11	4,15 (<i>d</i> , <i>J</i> =5,20)	69,40	H-12
13	4,03-3,88 (<i>m</i>)	54,10	H-14	13	3,04-2,84 (<i>m</i>)	57,95	H-12, H-13
14, 14'	4,03-3,88 (<i>m</i>)	60,49	H-13	14, 14'	4,02-3,85 (<i>m</i>)	60,43	H-14

2 *m*- multipletto; *d*- dubleto; *dd*- dubleto de dubleto

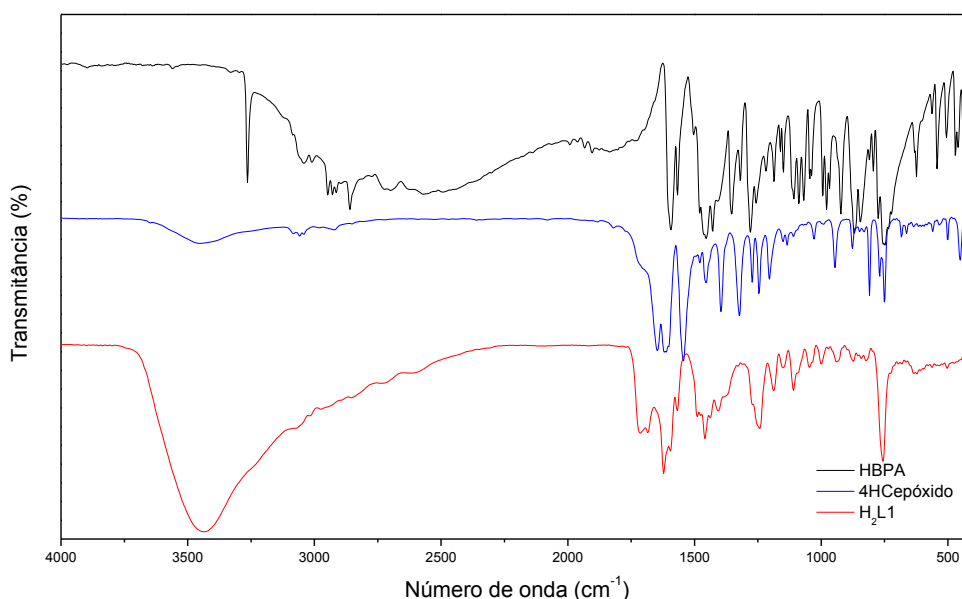
3

4

1 5.1.2 Caracterização dos ligantes H₂L1 e H₂L2

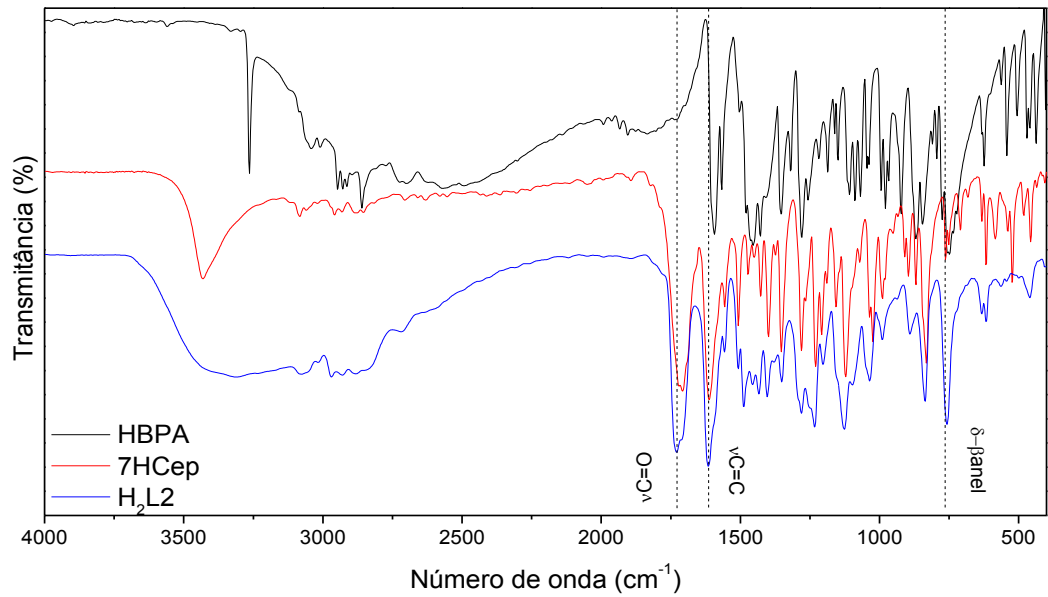
2 Os ligantes H₂L1 (4-{2-hidroxi-3-[(2-hidroxibenzil)(2-
 3 2H-2-croman-2-ona) e H₂L2 (7-{2-hidroxi-3-[(2-hidroxibenzil)(2-
 4 piridilmetil)amino]propoxi}-2H-2-croman-2-ona) foram obtidos a partir da reação dos
 5 precursores (2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)amina (HBPA) e os epóxidos 4HCepóxido ou
 6 7HCepóxido. Ambos os isômeros foram obtidos com bons rendimentos (superiores a 80%),
 7 como óleos de coloração alaranjada, e tiveram suas estruturas e purezas atestadas por medidas
 8 de IV e RMN. Os dados de espectroscopia na região do IV (Figuras 16-17) confirmaram a
 9 obtenção dos ligantes H₂L1 e H₂L2 pela presença de absorções típicas dos precursores no
 10 espectro do ligante (cumarina: ν C=O, ν C=C, ν C-H) e (HBPA: ν O-H, ν C=N, ν C=C, ν C-
 11 H, δ C-H_{piridina}). Os espectros de RMN de ¹H dos ligantes H₂L1 e H₂L2 (Figuras 18-19) são
 12 semelhantes e constituídos de 11 sinais, dos quais seis se encontram na região de hidrogênios
 13 aromáticos, enquanto cinco sinais são observados para hidrogênios alifáticos. A atribuição de
 14 sinais para os ligantes H₂L1 e H₂L2 são apresentadas na Tabela 2, obtida a partir de espectros
 15 de RMN de ¹H, ¹³C e correlações bidimensionais COSY (Figuras 20a e 21a) e HSQC (Figuras
 16 20b e 21b).

17
 18 Figura 16 – Espectros na região do infravermelho para os ligantes HBPA, 4HCepóxido e
 19 H₂L1, obtidos em KBr.
 20



21
 22
 23
 24
 25

- 1 Figura 17 – Espectros na região do infravermelho para HBPA, 7HCepóxido e H₂L2, obtidos
 2 em KBr.

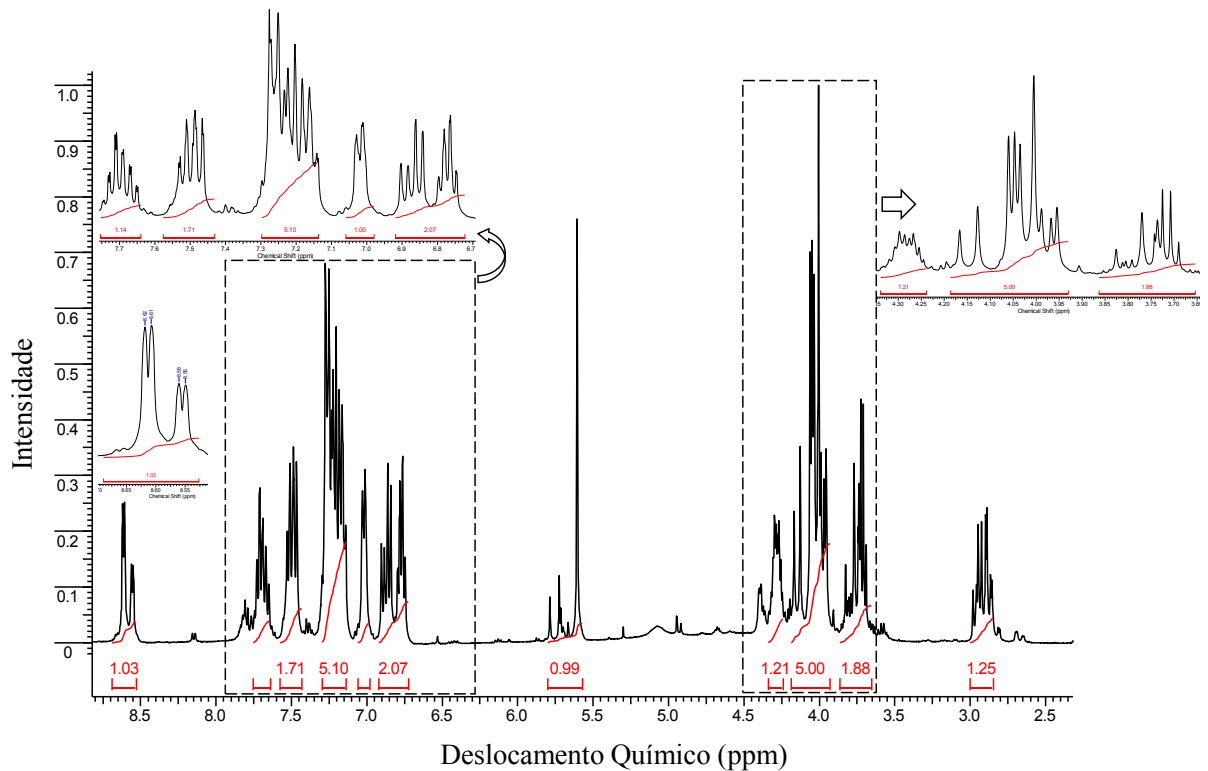


3

4

5

Figura 18- Espectro de ¹H RMN para o ligante H₂L1, obtido em CDCl₃.



6

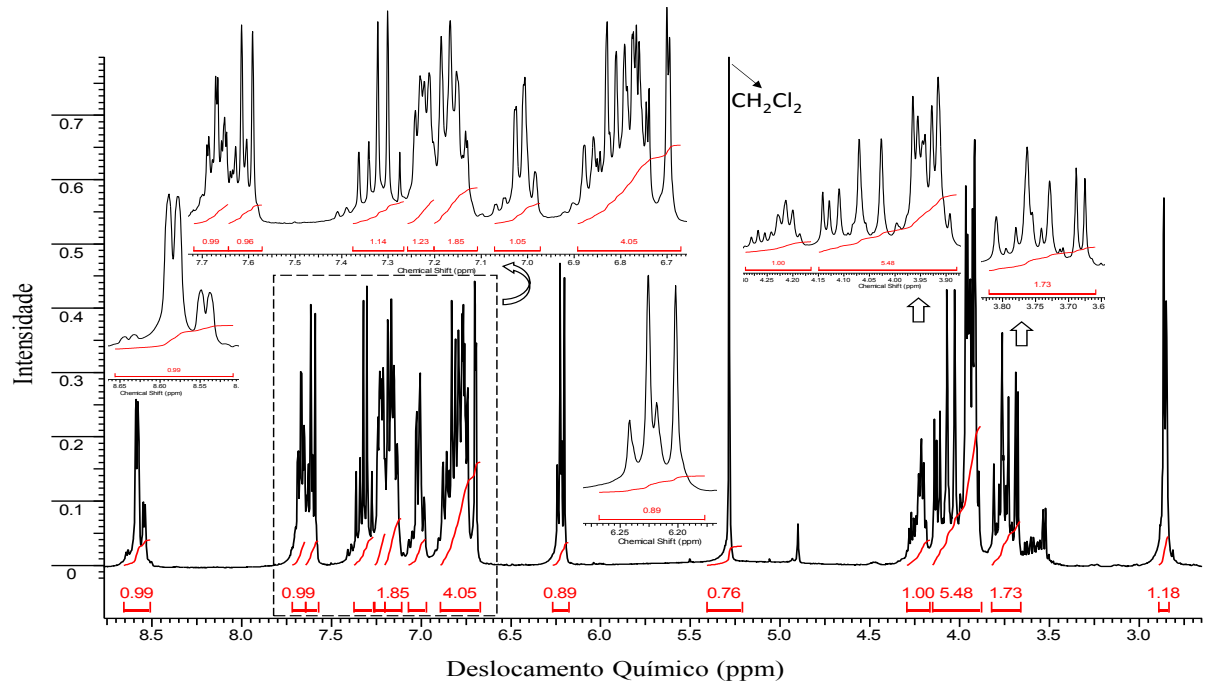
7

8

9

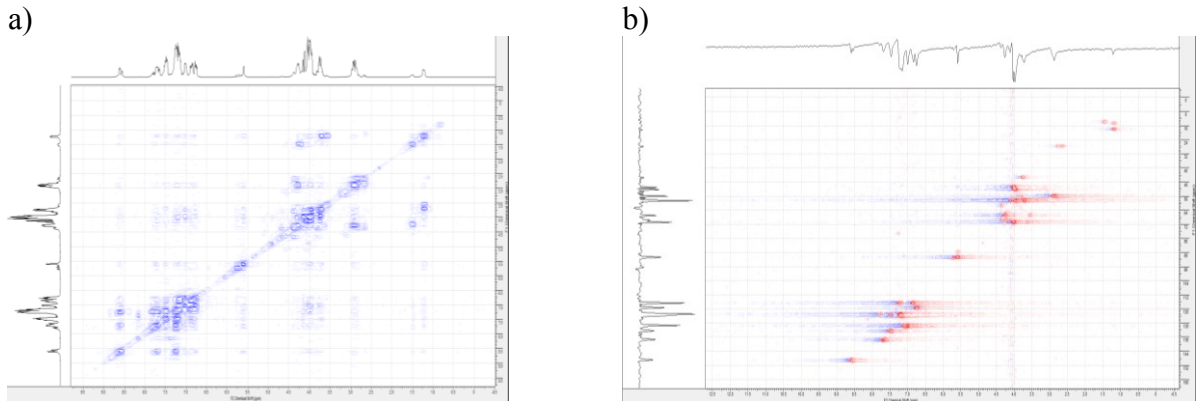
10

11

1
2Figura 19 – Espectro de ^1H RMN do ligante H_2L_2 , obtido em CDCl_3 .

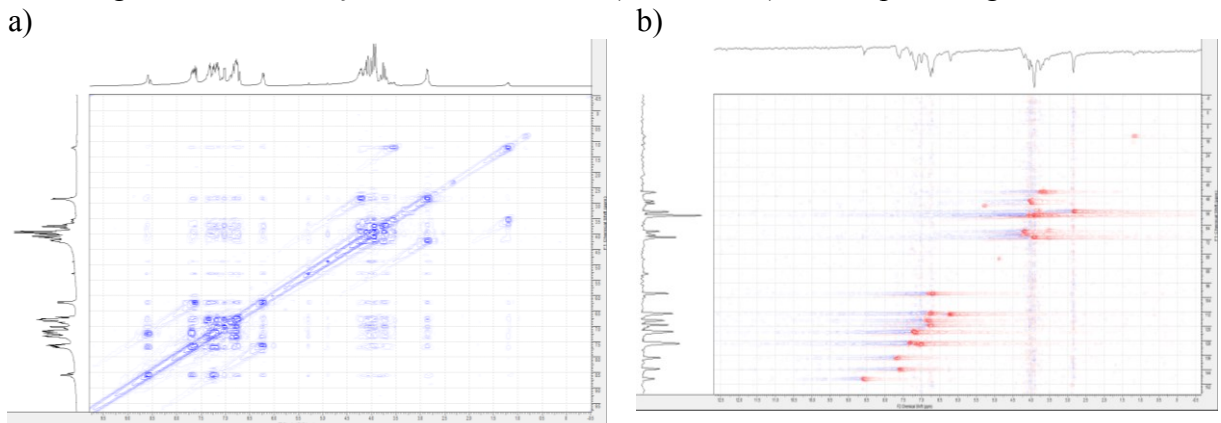
3

4

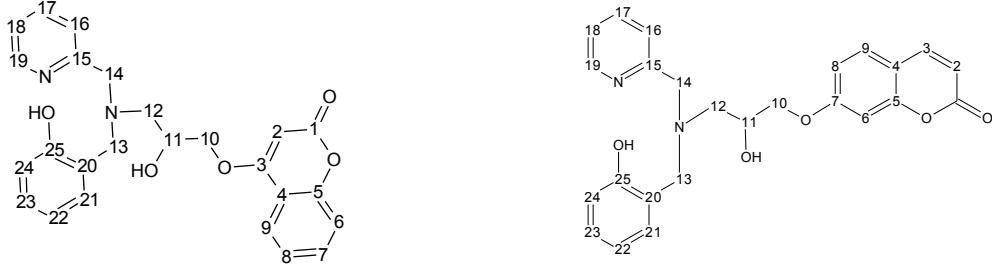
Figura 20 – Correlações bidimensionais a) COSY e b) HSQC para o ligante H_2L_1 .

5

6

Figura 21 – Correlações bidimensionais a) COSY e b) HSQC para o ligante H_2L_2 .

7

1 Tabela 2 – Atribuição dos sinais de ¹H RMN, COSY e HSQC, para os ligantes H₂L1 e H₂L2.


Atribuição				Atribuição			
Atribuição		HSQC		Atribuição		HSQC	
C	δ _H	δ _C	COSY	C	δ _H	δ _C	COSY
1	-	165,49	-	1	-	161,94	-
3	-	163,00	-	4	-	112,80	-
4	-	115,59	-	5	-	155,89	-
5	-	153,27	-	7	-	157,50	-
15	-	156,12	-	15	-	161,44	-
20	-	122,40	-	20	-	123,77	-
25	-	157,37	-	25	-	156,55	-
CH				CH			
2	5,58-5,76 (m)	90,71	-	2	5,79-5,60 (m)	112,96	H-3
6	7,20 (m)	116,85	H-7, H-8, H-9	3	7,57-7,43 (m)	143,60	H-2
7	7,43-7,47 (m)	132,69	H-6, H-8, H-9	6	6,92-6,73 (m)	102,00	H-8, H-9
8	7,20 (m)	123,19	H-6, H-7, H-9	8	6,92-6,73 (m)	113,43	H-6, H-9
9	7,69-7,77 (m)	123,96	H-6, H-7, H-8	9	7,30-7,15 (m)	102,00	H-6, H-8
11	4,24-4,38 (m)	67,61	H-10, H-12	11	4,33-4,24 (m)	67,42	H-10, H-12
16	7,11-7,15 (m)	123,41	H-17, H-18, H-19	16	7,30-7,15 (m)	123,11	H-17, H-18, H-19
17	7,43-7,47 (m)	137,18	H-16, H-18, H-19	17	7,75-7,54 (m)	137,70	H-16, H-18, H-19
18	6,73-6,87 (m)	121,71	H-16, H-17, H-19	18	7,30-7,15 (m)	121,85	H-16, H-18, H-19
19	8,55-8,67 (m)	148,93	H-16, H-17, H-18	19	8,68-8,53 (td, J=16,0; 3,6)	148,99	H-16, H-17, H-18
21	6,95-7,06 (m)	130,49	H-22, H-23, H-24	21	7,06-6,98 (m)	130,70	H-22, H-23, H-24
22	6,73-6,87 (m)	119,32	H-21, H-23, H-24	22	7,30-7,15 (m)	117,03	H-21, H-23, H-24
23	7,11-7,15 (m)	129,54	H-21, H-22, H-24	23	7,30-7,15 (m)	128,98	H-21, H-22, H-24
24	6,95-7,06 (m)	117,11	H-21, H-22, H-23	24	7,57-7,43 (m)	119,86	H-21, H-22, H-23
CH ₂				CH ₂			
10	3,71-4,21 (m)	70,99	H-11	10	4,15 (d, J=5,20)	70,88	H-11
12	2,83-3,03 (m)	56,51	H-11, H-13, H-14	12	3,04-2,84 (m)	58,70	H-11, H-13, H-14
13	3,45 (d) (J=8,00)	58,83	H-12	13	4,02-3,85 (m)	56,95	H-12
14	3,71-4,12 (m)	58,72	H-12	14	4,02-3,85 (m)	60,43	H-12

2 *m*- multipeto; *d*- dubleto; *td*- tripleto de dubleto

3

4

5

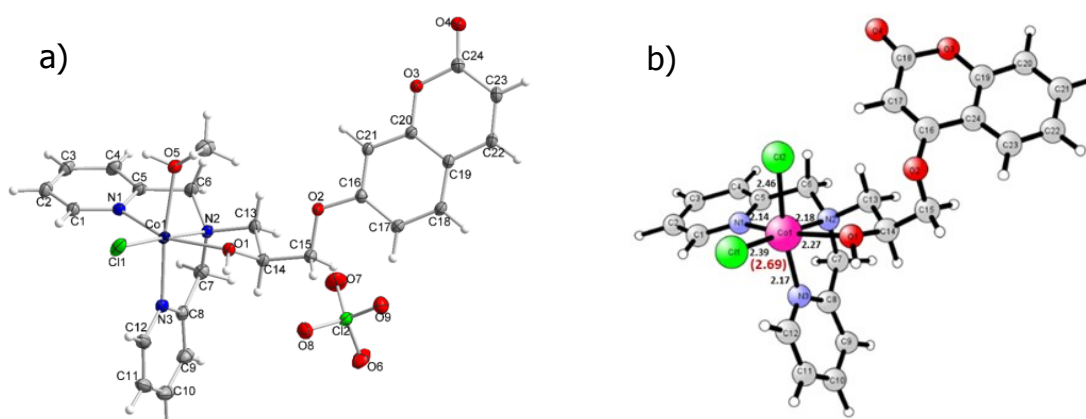
1 5.2 Caracterização dos compostos de coordenação

2 Neste trabalho, 12 compostos de coordenação contendo os metais Co(II), Cu(II),
3 Fe(III) e Mn(II) (inéditos) foram obtidos a partir de reações de complexação de sais metálicos
4 com os ligantes desenvolvidos. Para os metais de Fe(III) e Cu(II) foram obtidos os quatro
5 complexos metálicos (contendo HL1, HL2, H₂L1 e H₂L2), enquanto para os sais de Mn(II) e
6 Co(II) foram obtidos apenas dois compostos de cada (contendo HL1 e HL2). Os resultados de
7 caracterização, obtidos mediante uso de técnicas físico-químicas, indicaram grande
8 semelhança entre os compostos de coordenação constituídos de um mesmo centro metálico, já
9 que foram utilizados ligantes isômeros de posição, contendo os grupos 4-hidroxycumarina ou
10 7-hidroxycumarina. Assim, os dados de caracterização dos compostos obtidos serão
11 apresentados em conjunto, comparando-se complexos que possuem o mesmo centro metálico.

12 5.2.1 Caracterização dos compostos $[Co(HL1)Cl_2].4,2H_2O$ (**1**) e 13 $[Co(HL2)Cl(OHCH_3)]ClO_4.2H_2O$ (**5**)

14 Os complexos $[Co(HL1)Cl_2].4,2H_2O$ (**1**) e $[Co(HL2)Cl(OHCH_3)]ClO_4.2H_2O$ (**5**)
15 foram obtidos a partir de reações do $CoCl_2.6H_2O$ com os ligantes HL1 ou HL2. Apesar de
16 constituídos de ligantes isoméricos, estes complexos metálicos possuem características físicas
17 distintas, diferindo na cor, solubilidade e grau de cristalinidade. O composto (**5**), que se
18 apresentou como cristais de coloração púrpura, eletrólito 1:1, estabilizado pelo ânion
19 perclorato, teve sua estrutura confirmada por difração de Raio-X (Fig. 22a e Tabela 3),
20 enquanto o composto (**1**) se apresentou como um sólido amorfo de coloração verde, neutro
21 (não eletrólito), e teve sua estrutura proposta com base em estudos de DFT (Figuras 22b e
22 1S). Dados de difração de Raio-X e DFT foram corroborados por medidas de CHN e
23 condutividade (Tabela 4). Medidas de ESI-(+)-MS confirmaram a isomeria estrutural dos
24 complexos (**1**) e (**5**) que geram espécies catiônicas isoméricas $[Co(HL1)Cl]^+$ e $[Co(HL2)Cl]^+$
25 com m/z 511 (Figura 23). Análises por espectroscopia na região do infravermelho atestaram a
26 presença dos ligantes HL1 ou HL2 na estrutura dos compostos de coordenação, com
27 deslocamento no número de onda para a absorção do grupo C=O, evidenciando a
28 complexação, além da presença do ânion perclorato para o complexo (**5**) (Figura 24). Os
29 espectros eletrônicos na região do UV-vis para ambos os complexos metálicos confirmam a
30 complexação do cobalto(II) devido a presença de bandas de absorção assimétricas na região
31 do visível, referentes à transições d-d, influenciadas pelo efeito de Jahn-Teller (Figura 25 e
32 Tabela 5). A Tabela 6 sumariza dados de caracterização para os complexos (**1**) e (**5**).

- 1 Figura 22 – Estruturas de a) Raios-X para o complexo (5) e b) estudo de DFT, para o estado
 2 quarteto, para o composto (1) [99].



3

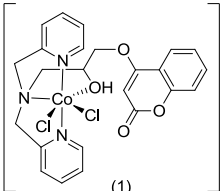
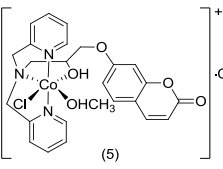
4

- 5 Tabela 3 - Parâmetros cristalográficos para o composto (5).

Fórmula empírica	C ₂₅ H ₂₇ Cl ₂ CoN ₃ O ₉		
Peso molecular	643,32		
Sistema cristalino	Triclínico		
Grupo espacial	P-1		
Parâmetro de cela	a = 10,149(3) Å	α = 92,249(15)°.	
	b = 11,191(3) Å	β = 107,87(2)°.	
	c = 13,336(6) Å	γ = 106,030(16)°.	
Volume da cela	1372,8(9) Å ³		
Z	2		
Interações	Ângulo		
Co(1)–N(1)	2,0910(19)	N(1)–Co(1)–O(1)	155,44(7)
Co(1)–O(1)	2,1196(17)	N(1)–Co(1)–N(3)	97,64(7)
Co(1)–N(3)	2,125(2)	O(1)–Co(1)–N(3)	90,63(7)
Co(1)–O(5)	2,1642(18)	N(1)–Co(1)–O(5)	81,97(7)
Co(1)–N(2)	2,169(2)	O(1)–Co(1)–O(5)	86,24(7)
Co(1)–Cl(1)	2,3511(11)	N(3)–Co(1)–O(5)	170,84(7)
		N(1)–Co(1)–N(2)	78,32(7)
		O(1)–Co(1)–N(2)	80,46(7)
		N(3)–Co(1)–N(2)	79,88(8)
		O(5)–Co(1)–N(2)	91,10(7)
		N(1)–Co(1)–Cl(1)	103,11(6)
		O(1)–Co(1)–Cl(1)	98,50(5)
		N(3)–Co(1)–Cl(1)	98,18(6)
		O(5)–Co(1)–Cl(1)	90,81(6)
		N(2)–Co(1)–Cl(1)	177,76(5)

6

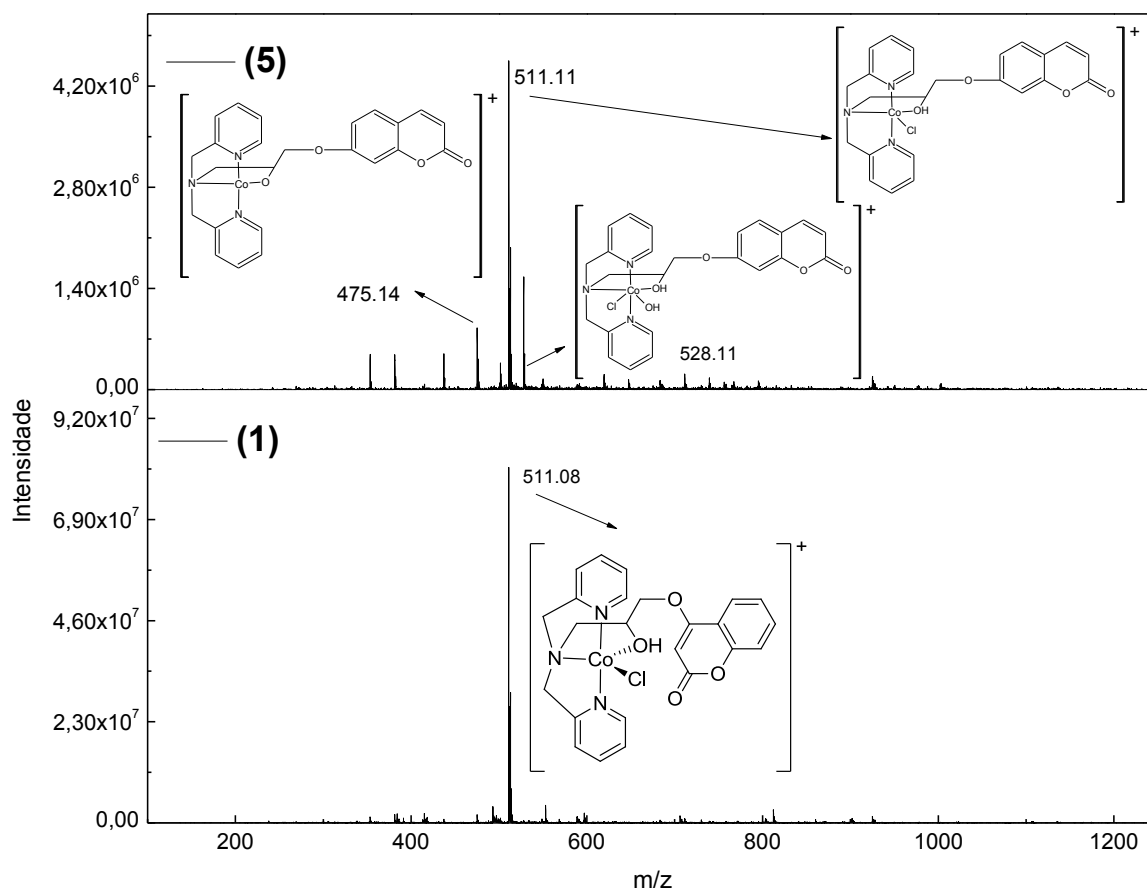
1 Tabela 4 – Dados de caracterização dos complexos (1) e (5).

Complexo/Caracterização	Rend (%)	P.F. (°C)	IV (cm ⁻¹)	Análise Elementar* (Exp./Calc.)	Condutividade (μS cm ⁻¹)	MM (g / mol)
 (1)	47	200	3510-3200: νOH 3100-2800: νCH 1704: νC=O 1600-1450: νC=C 1239: νC-O 769: νCH _{piridina}	C (46,27/46,06) H (5,08/4,71) N (6,74/6,86)	17,44 (MeCN)	622,98
 (5)	64	163	3450-3200: νOH 3100-2800: νCH 1701: νC=O 1600-1450: νC=C 1230: νC-O 1085; 1116; 1156: ν(ClO ₄) 769: νCH _{piridina}	C (44,24/44,30) H (4,57/4,24) N (6,19/6,32)	133,70 (MeCN)	679,34

2 *Atribuição conforme Geary (1971). Para MeCN: Valores abaixo de 120 μS.cm⁻¹ (não-
3 eletrólitos) e valores entre 120-160 μS.cm⁻¹ (eletrólitos 1:1).
4

5 Figura 23 – Espectros de ESI-(+)-MS para os complexos (1) e (5), obtidos em acetonitrila.

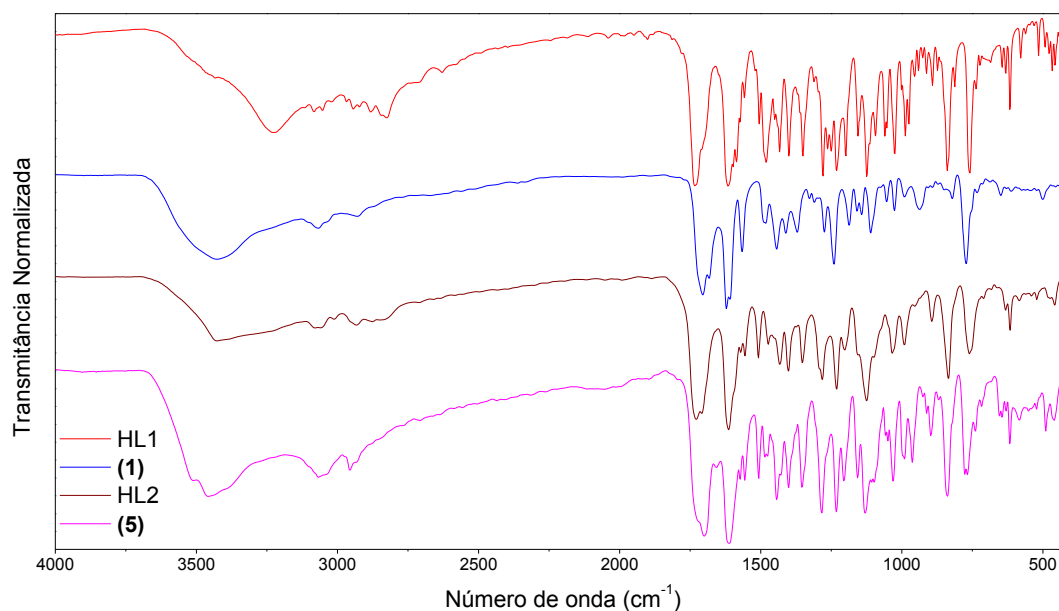
6 Simulações foram realizadas no Soft *Database Analysis*.



7

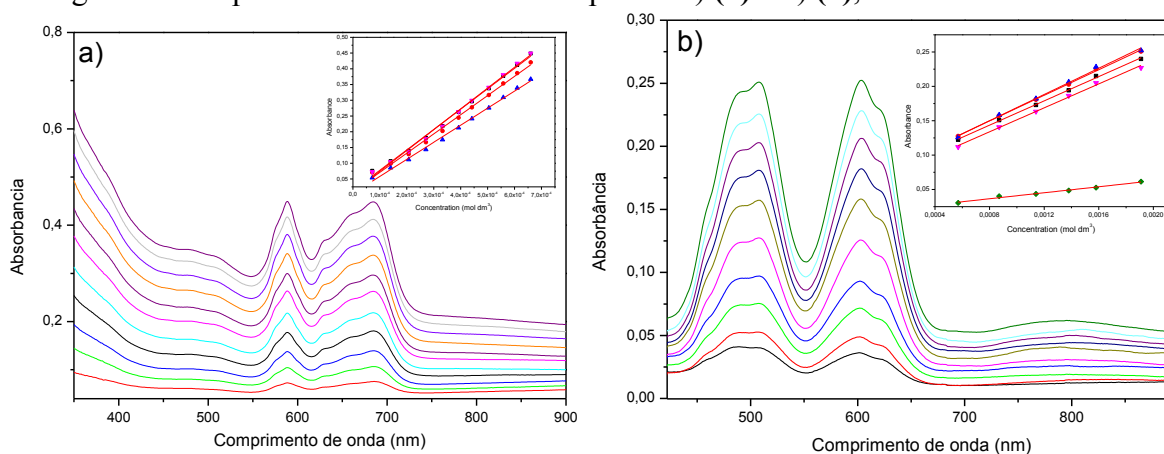
8

- 1 Figura 24 – Espectros na região do infravermelho para os complexos (1) e (5) e seus
2 respectivos ligantes, obtidos em pastilhas de KBr.



- 3
4
5

Figura 25 – Espectros eletrônicos dos complexos a) (1) e b) (5), obtidos em acetonitrila.



- 6
7

Tabela 5 – Atribuições dos dados de UV-vis para HL1, HL2 e seus complexos, (1) e (5).

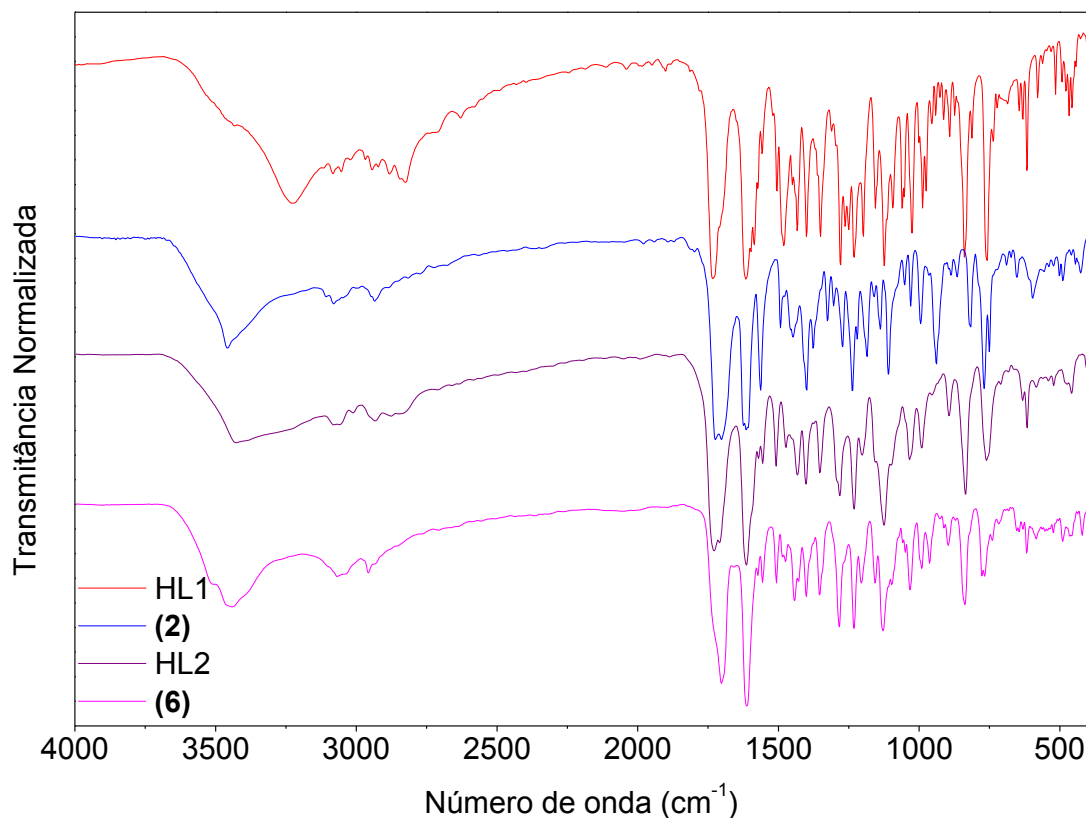
Atribuição	HL1		(1)		HL2		(2)	
	λ (nm)	ϵ ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
π - π^*	265	15118			322	7285		
π - π^*	277	23947			270	5046		
π - π^*	-	-			264	3425		
d-d	-	-	588	660	-	-	486	87
d-d	-	-	629	541	-	-	508	93
d-d	-	-	658	609	-	-	603	94
d-d	-	-	684	647	-	-	623	87

1 5.2.2 Caracterização dos compostos $[\text{Cu}(\text{HL1})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 4,7\text{H}_2\text{O}$ (**2**) e $[\text{Cu}(\text{HL2})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3,3\text{H}_2\text{O}$ (**6**)

2 Os complexos $[\text{Cu}(\text{HL1})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 4,7\text{H}_2\text{O}$ (**2**) e $[\text{Cu}(\text{HL2})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 3,3\text{H}_2\text{O}$ (**6**) foram obtidos como
 3 sólidos amorfos de coloração verde, a partir da reação de HL1 ou HL2 com $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$.
 4 Deslocamentos nas bandas de absorção nos espectros de infravermelho confirmaram a complexação
 5 dos ligantes ao centro de Cu(II) (Fig. 26). Medidas de análise elementar e condutividade convergem
 6 para a obtenção de compostos isoméricos e corroboram com a obtenção de espécies mononucleares e
 7 catiônicas (eletrólitos 1:1) (Tabela 6). Os espectros de ESI-(+)-MS confirmaram os dados de CHN e
 8 condutividade e revelaram a presença de isômeros de posição para ambos os complexos, devido a
 9 presença de um cátion em comum, de m/z 515, associado à presença de espécies mononucleares
 10 $[\text{Cu}(\text{HL1})\text{Cl}]^+$ e $[\text{Cu}(\text{HL2})\text{Cl}]^+$ (Figura 27). Na região do UV-vis, ambos os complexos apresentaram
 11 bandas de absorção referentes às transições eletrônicas de natureza intra-ligante, com adição de bandas
 12 na região do visível, compreendida entre 600 e 800 nm, referentes à transições d-d (Cu(II): d^9) (Figura
 13 28 e Tabela 7). Por EPR (Fig. 29), foram obtidos espectros constituídos de 4 linhas, característicos de
 14 espécies de Cu(II) ($I=3/2$). Estudos de voltametria cíclica para os compostos (**2**) e (**6**) (Figura 30)
 15 apresentam grande similaridade, onde se observou a presença de pares redox para ((**2**)- Epa: -0,02;
 16 Epc: -0,30V) e ((**6**)- Epa: -0,38; Epc: -0,84V), além de processos atribuídos à reações acopladas. A
 17 Tabela 4 sumariza dados de caracterização para os complexos (**2**) e (**6**).

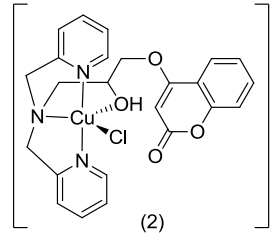
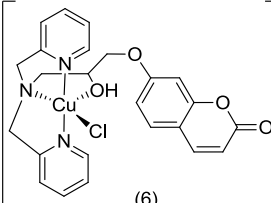
18

19 Figura 26 – Espectros na região do infravermelho para os complexos (**2**) e (**6**), obtidos KBr.



20

1 Tabela 6 – Resultados de caracterização físico-química dos complexos (2) e (6).

Complexo/Caracterização	Rend (%)	P.F. (°C)	IV (cm ⁻¹)	Análise Elementar (Exp./Calc)	Condutividade (μS cm ⁻¹)	MM (g / mol)
 (2)	48	219	3600-3100: νOH 3100-2800: νCH 1702: νC=O 1600-1450: νC=C 1238: νC-O 769: νCH _{piridina}	C (45,48/45,24) H (4,91/5,08) N (6,31/6,59)	89,50 (MeOH)	636,60
 (6)	45	211	3600-3200: νOH 3100-2800: νCH 1702: νC=O 1600-1450: νC=C 1233: νC-O 761: νCH _{piridina}	C (47,11/47,40) H (4,84/4,91) N (6,86/6,52)	135,70 (MeCN)	611,40

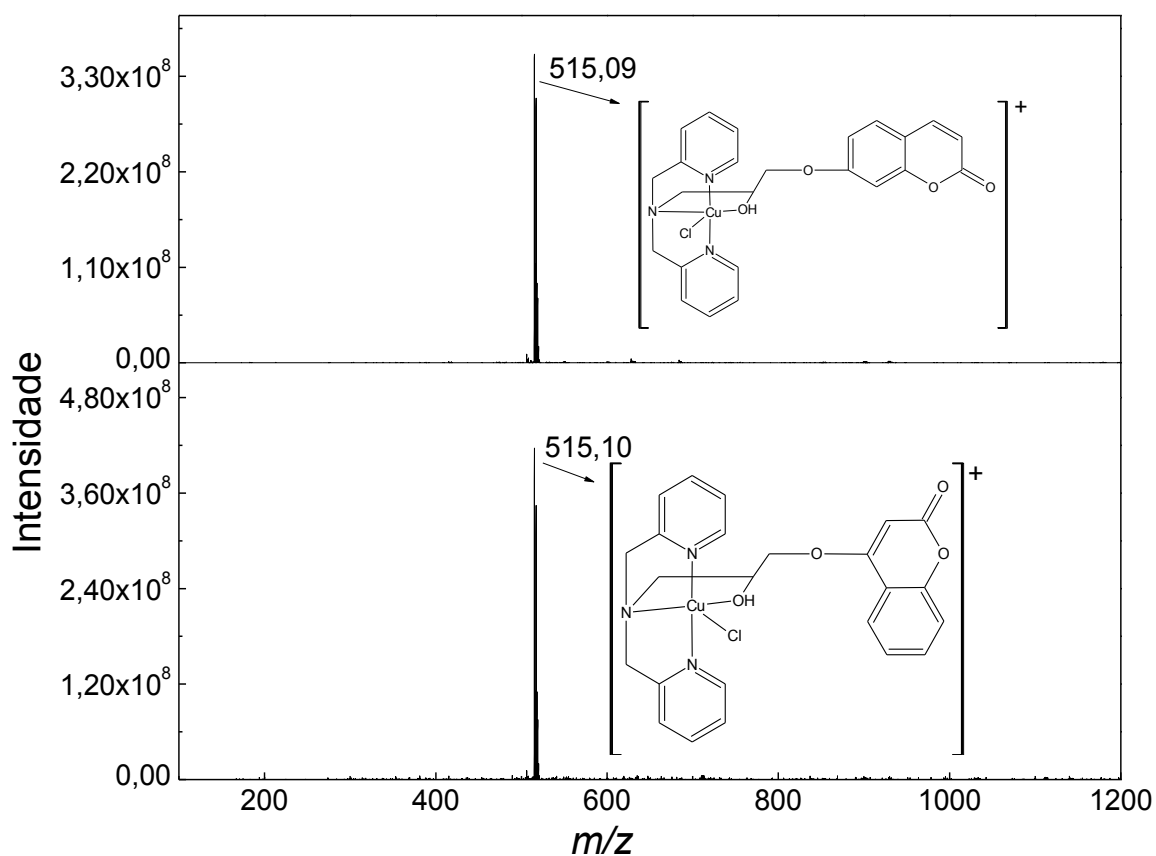
2 * Atribuição conforme Geary (1971). Para acetnitrila: valores entre 120-160 μS.cm⁻¹ os
3 compostos são denominados eletrólitos 1:1. Para metanol: para valores entre 80-120 μS.cm⁻¹
4 os compostos são denominados eletrólitos 1:1.

5

6 Figura 27 – Espectros de ESI-(+)-MS para os complexos (2) e (6), obtidos em acetonitrila.

7

7 Simulações foram realizadas no Soft *Database Analysis*.

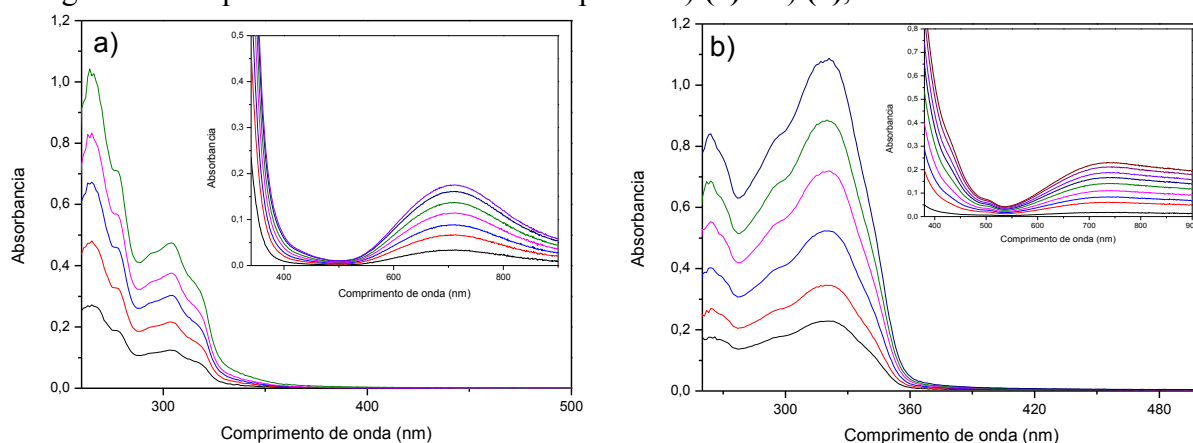


8

9

10

1 Figura 28 – Espectros eletrônicos dos complexos a) (2) e b) (6), obtidos em acetonitrila.



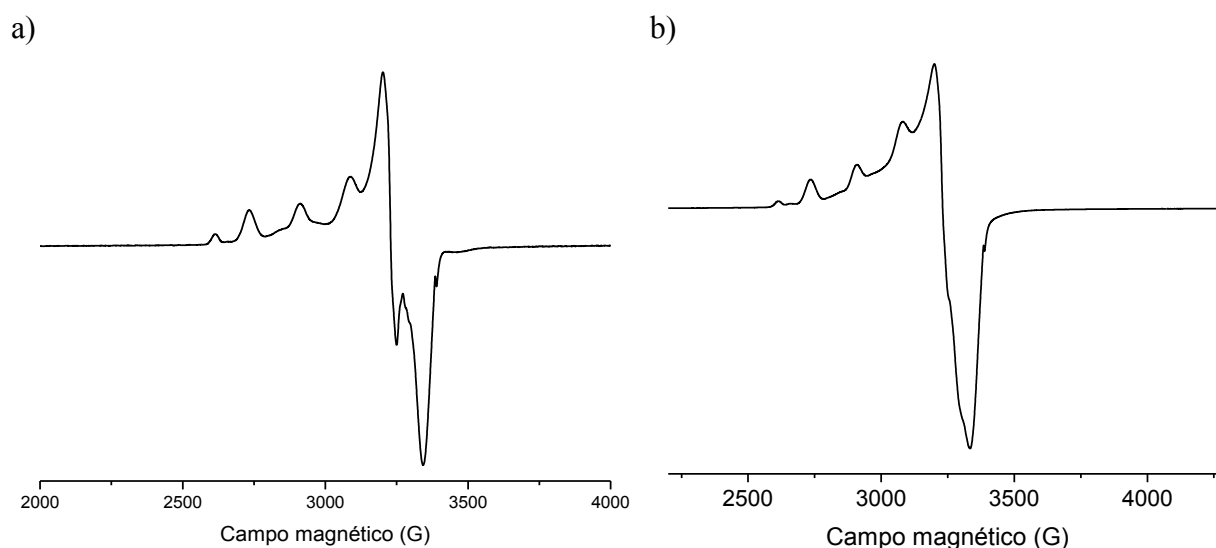
2

3 Tabela 7 – Atribuição dos dados de UV-vis para os ligantes HL1, HL2 e seus respectivos
4 complexos (2) e (6).

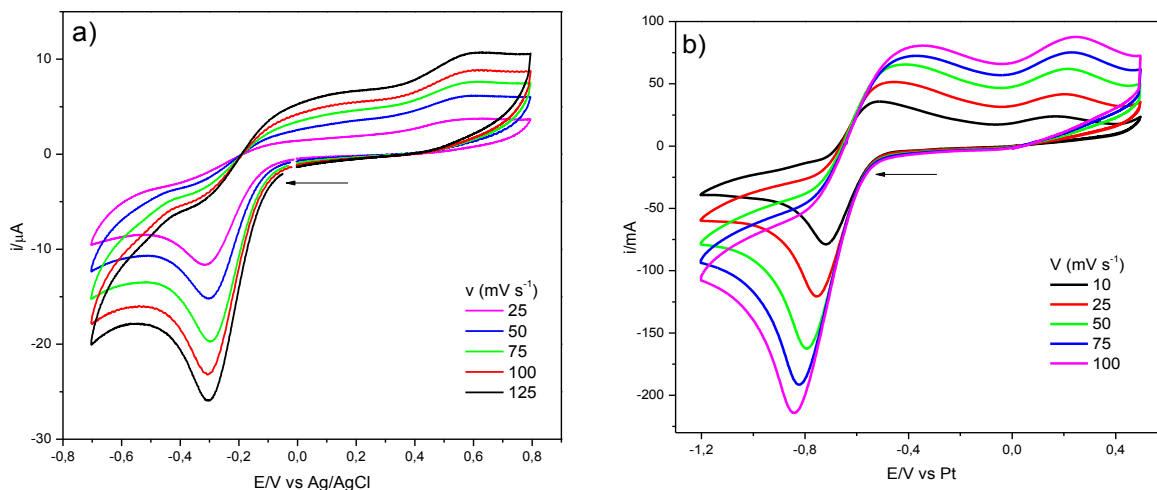
Atribuição	HL1		(2)		HL2		(6)	
	λ (nm)	ϵ ($L mol^{-1} cm^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($L mol^{-1} cm^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($L mol^{-1} cm^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($L mol^{-1} cm^{-1}$)
$\pi-\pi^*$	303	28913	304	6987	322	7285	320	17351
$\pi-\pi^*$	277	23947	277	10436	270	5046	270	12101
$\pi-\pi^*$	265	15118	265	14954	264	3425	264	13510
d-d	-	-	707	79	-	-	726	86

5

6 Figura 29 – Espectro de EPR para os compostos a) (2) e b) (6), obtido em DMSO, a 120 K.



1 Figura 30 – Voltamogramas cíclicos para os complexos de Cu(II) a) (2) e b) (6), em DMSO,
 2 utilizando eletrodo de platina (eletrodo de trabalho), Ag/AgCl (eletrodo de referência) e fio de
 3 platina (eletrodo auxiliar), empregando-se hexafluorofosfato de tetrabutilamônio como
 4 eletrólito de suporte (0,1 mol L⁻¹).

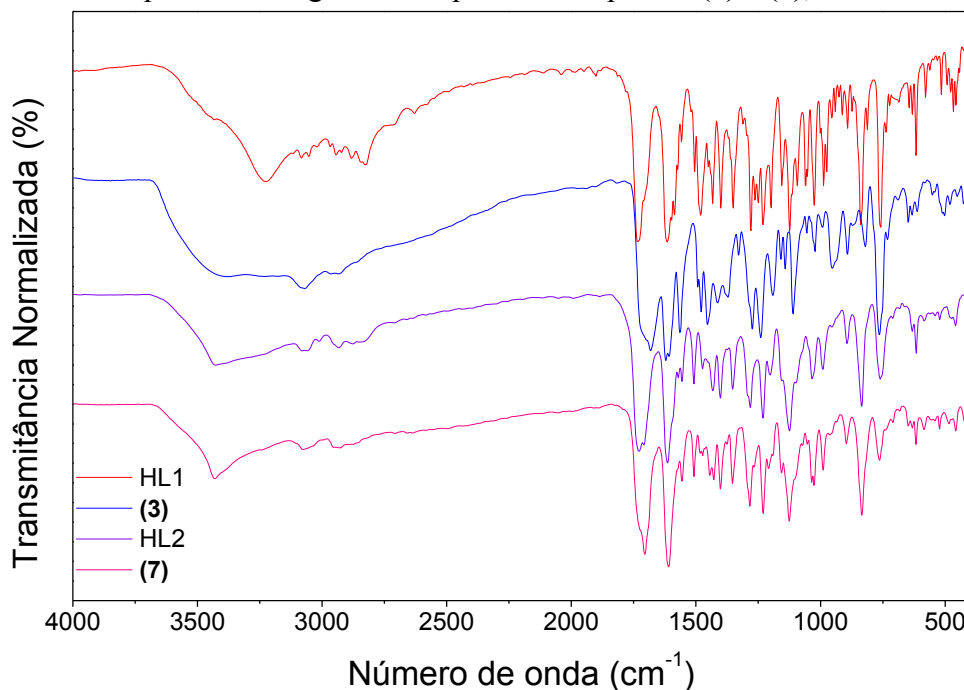


5 5.2.3 Caracterização dos compostos [Fe(L1)Cl₂]₆H₂O (3) e [Fe(L2)Cl₂]₃H₂O (7)

6 Os complexos (3) e (7) foram obtidos através da reação dos ligantes HL1 e HL2 com
 7 FeCl₃.6H₂O. Ambos os compostos consistem em sólidos microcristalinos mononucleares,
 8 neutros e de coloração amarelada. Os espectros de IV para os compostos (3) e (7) (Fig. 31)
 9 apresentam as absorções associadas aos seus respectivos ligantes, com pequenos
 10 deslocamentos os quais são indícios de complexação. Dados de CHN e condutividade (Tabela
 11 8) concordam com a obtenção de compostos mononucleares e não eletrólitos, indicando que a
 12 estrutura do estado sólido é mantida em solução. Esses resultados são suportados por estudos
 13 de ESI-(+)-MS (Figura 32), onde se observou a presença de um sinal comum para ambos
 14 complexos, com *m/z* 507, associado aos cátions mononucleares [Fe(L1)Cl]⁺ e [Fe(L2)Cl]⁺.
 15 Medidas de voltametria cíclica (Figura 33) mostraram a presença de um único par redox,
 16 confirmando a obtenção de compostos mononucleares, em que os complexos (3) e (7)
 17 apresentaram valores de E_{pa} (0,39 e 0,33V) e E_{pc} (-0,18 e 0,28V), respectivamente. Os
 18 espectros de EPR obtidos (Figura 34) são característicos de compostos octaédricos de Fe(III)
 19 (I=1/2). A ausência de transições d-d no espectro eletrônico dos complexos (3) e (7) (Figura
 20 35 e Tabela 9) sugere a obtenção de complexos de Fe(III) *alto spin*. A presença de Fe(III) foi
 21 confirmada através da obtenção de espectros Mössbauer de Fe⁵⁷. Para o composto 7, (Figura
 22 36a) o espectro foi ajustado como um único singleto, com valor de deslocamento isomérico
 23 (δ) de 0,324 mm/s, típico de compostos de Fe(III) octaédricos de alto spin, com simetria

1 esférica da configuração eletrônica $(t2g)^3(eg)^2$ [23]. Para o composto **(3)** (Figura 36b),
 2 observou-se comportamento semelhante, com valor δ de 0,340 mm/s.

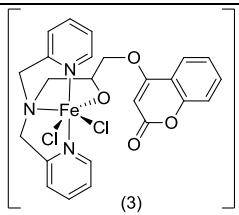
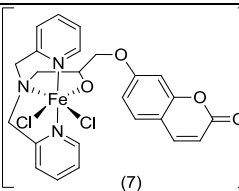
3 Figura 31 – Espectros na região do IV para os complexos **(3)** e **(7)**, obtidos em KBr



4

5

6 Tabela 8 – Dados de caracterização dos complexos **(3)** e **(7)**.

Complexo/Caracterização	Rend (%)	P.F. (°C)	IV (cm ⁻¹)	Análise Elementar (Teórico/Calc)	Condutividade (μS cm ⁻¹)	MM (g / mol)
 (3)	58	176	3600-3100: νOH 3100-2800: νCH 1688: νC=O 1600-1450: νC=C 1240: νC-O 764: νCH _{piridina}	C (42,00/41,98) H (5,19/5,53) N (6,13/6,12)	61,03 (MeOH)	651,60
 (7)	49	164	3600-3200: νOH 3100-2800: νCH 1704: νC=O 1600-1450: νC=C 1230: νC-O 765: νCH _{piridina}	C (48,44/48,23) H (4,39/4,22) N (6,70/7,03)	56,12 (MeCN)	597,00

7

8

9

10

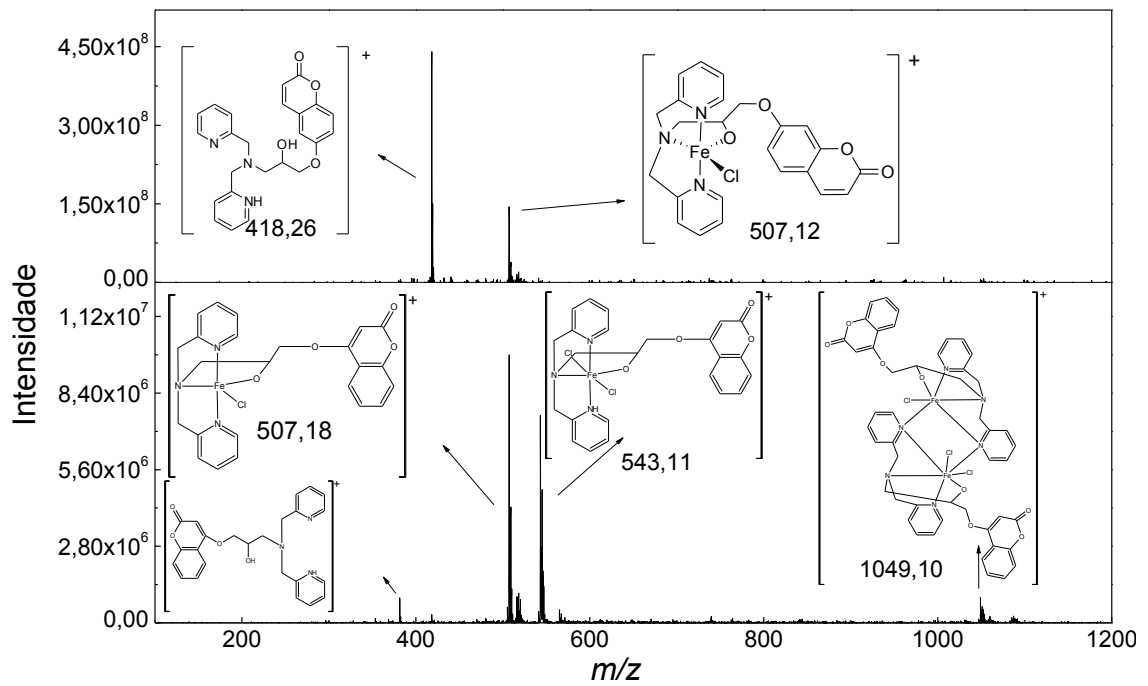
11

12

13

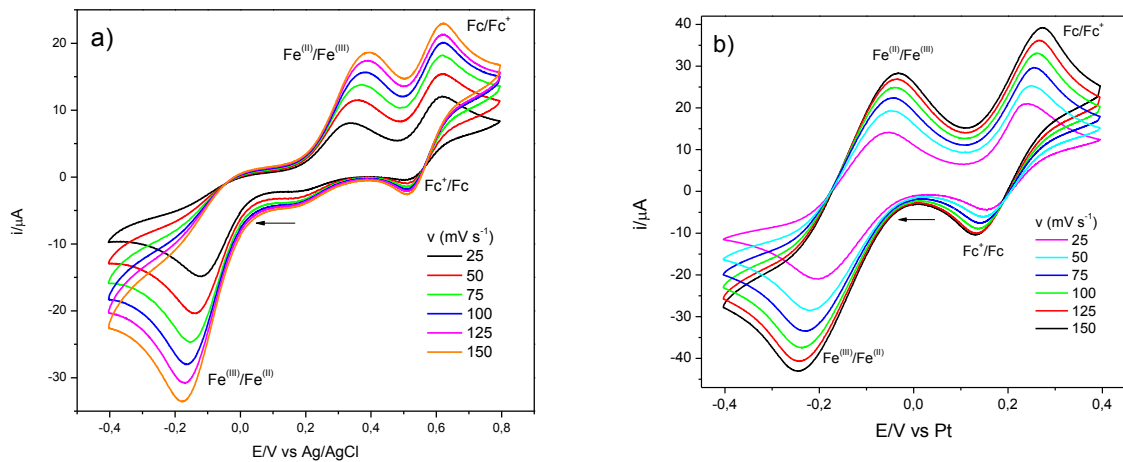
* Atribuição conforme Geary (1971). Para acetritrila: para valores abaixo de 120 μS.cm⁻¹, os compostos são denominados como não-eletrólitos. Para metanol: para valores abaixo de 80-120 μS.cm⁻¹, os compostos são denominados como não-eletrólitos.

- 1 Figura 32 – Espectros de ESI(+)-MS para os complexos **(2)** e **(6)**, obtidos em acetonitrila.
- 2 Simulações foram realizadas no *Soft Database Analysis*.



3

- 4 Figura 33 – Voltamogramas cíclicos para os complexos de Fe(III) a) **(3)** e b) **(7)**, em DMSO,
- 5 utilizando eletrodo de platina (trabalho), Ag/AgCl (referência) e fio de platina (auxiliar),
- 6 empregando-se hexafluorofosfato de tetrabutylamônio como eletrólito de suporte ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$).



7

8

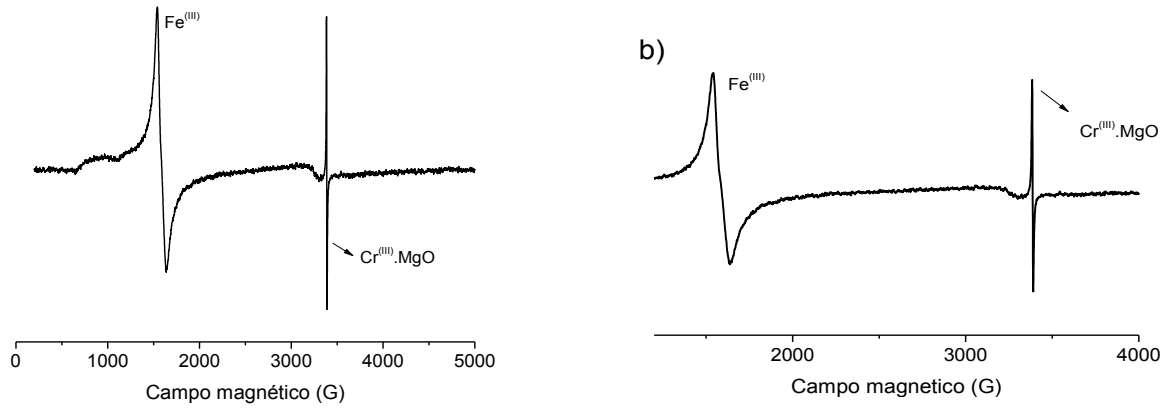
9

10

11

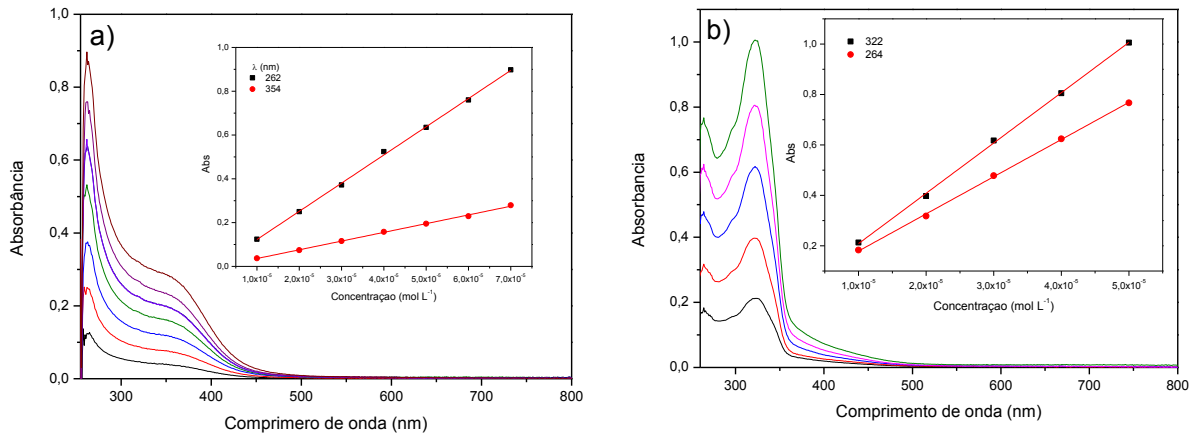
12

- 1 Figura 34 – Espectros de EPR para os complexos de Fe(III): a) (3) e b) (7) ($1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$),
 2 obtidos em DMSO, a 120 K.



3

- 4 Figura 35 – Espectros eletrônicos para os complexos de Fe(III): a) (3) e b) (7), obtidos em
 5 acetonitrila.



6

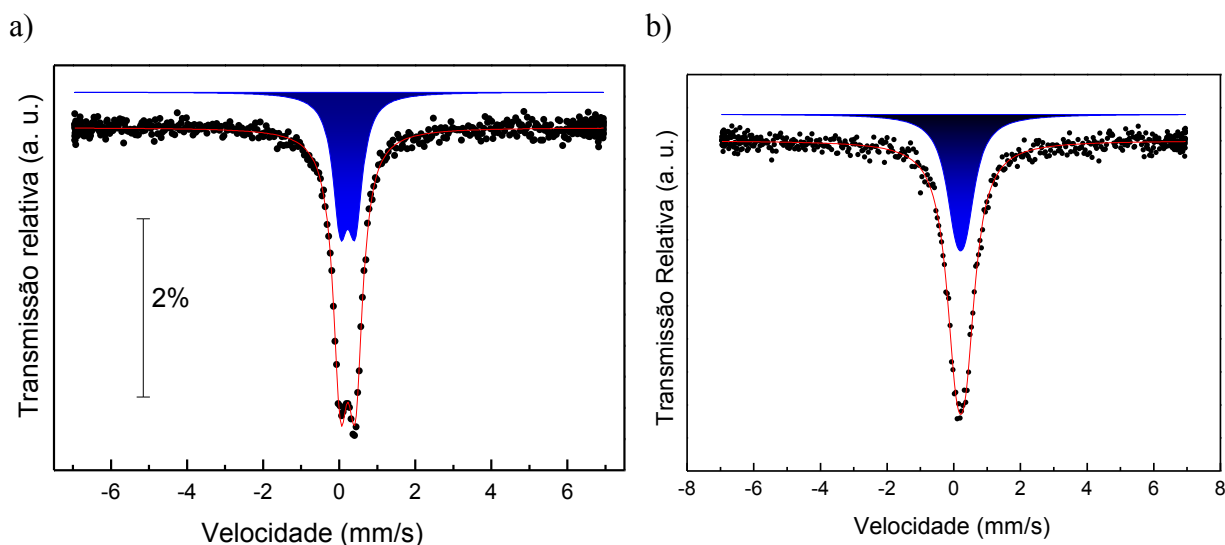
7

- 8 Tabela 9 – Atribuição dos dados de espectroscopia eletrônica para os ligantes HL1, HL2 e
 9 seus respectivos complexos (3) e (7).

Atribuição	HL1		(3)		HL2		(7)	
	λ (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	λ (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
$\pi-\pi^*$	303	28913	-	-	322	7285	322	19944
$\pi-\pi^*$	277	23947	-	-	270	5046	-	-
$\pi-\pi^*$	265	15118	262	12875	264	3425	264	14740
TCLM	-	-	364	3982	-	-	-	-

10

1 Figura 36- Espectro Mössbauer de ^{57}Fe para os compostos a) **(3)** e b) **(7)**, à temperatura
 2 ambiente.



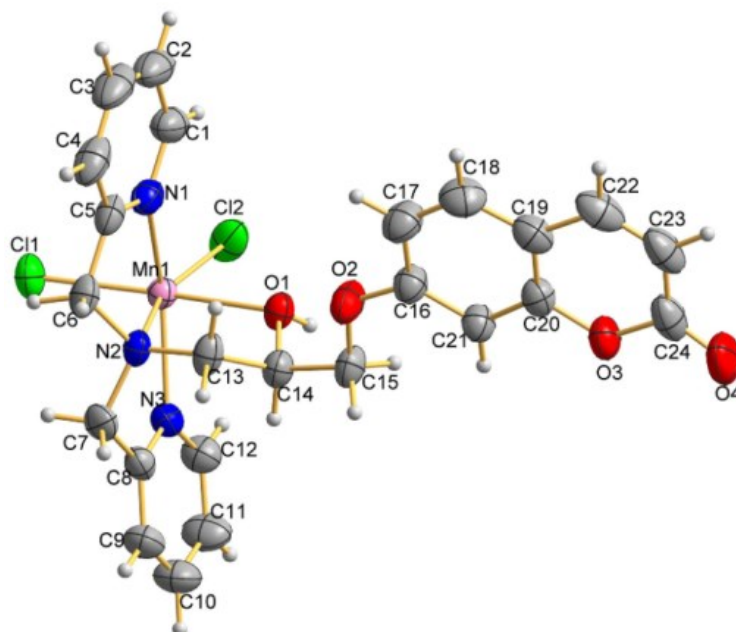
3

4 5.2.4 Caracterização dos compostos $[\text{Mn}(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ **(4)** e $[\text{Mn}(\text{HL2})\text{Cl}_2]0,7\text{CH}_3\text{OH}$ **(8)**

5 Os complexos $[\text{Mn}(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ **(4)** e $[\text{Mn}(\text{HL2})\text{Cl}_2]0,7\text{CH}_3\text{OH}$ **(8)** foram obtidos através
 6 da reação dos ligantes HL1 ou HL2 com $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. O composto **(4)** foi obtido como um
 7 sólido microcristalino de coloração bege, enquanto o composto **(8)** foi obtido como cristais de
 8 coloração bege. Dados de difração de Raio-X para o composto **(8)** revelaram a obtenção de
 9 um composto mononuclear e neutro de Mn(II) coordenado a uma molécula do ligante HL2 e a
 10 dois átomos de ligantes cloro (Figura 37 e Tabela 10). Dados de CHN e condutividade
 11 (Tabela 11) corroboram com os dados de raio-X e indicam que a estrutura do estado sólido é
 12 mantida em solução. Os espectros na região do IV confirmaram a complexação por meio de
 13 deslocamentos na frequência de absorções dos complexos, em comparação aos apresentados
 14 pelos ligantes nas formas livres (Figura 38). Análises de ESI-(+)-MS (Figuras 39) indicam a
 15 obtenção de compostos mononucleares catiônicos e isoméricos, de m/z 507, atribuídos aos
 16 complexos $[\text{Mn}(\text{HL1})\text{Cl}]^+$ e $[\text{Mn}(\text{HL2})\text{Cl}]^+$. A ausência de bandas d-d nos espectros
 17 eletrônicos na região do UV-vis (Figura 40 e Tabela 12) indicou a obtenção de compostos de
 18 Mn(II) alto spin (d^5) e concorda com os dados obtidos pela técnica de voltametria (Figura 41),
 19 onde foram observados um par redox quase-reversível com Epa (0,83 e 0,77V) e Epc (0,62 e
 20 0,61V) para os compostos **(4)** e **(8)**, respectivamente. A presença do Mn(II) também foi
 21 confirmada por EPR (Figuras 42), através da obtenção de um perfil característico de
 22 compostos de Mn(II), constituído de 6 linhas espectrais ($I=5/2$).

1

Figura 37 – Estrutura de raios-X para o complexo (8).



2

3

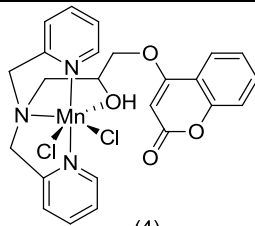
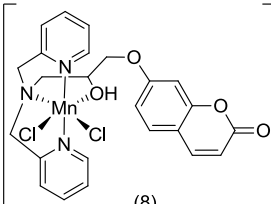
4 Tabela 10 – Dados cristalográficos e refinamento de estrutura para o composto (8).

5	Fórmula empírica	$C_{24}H_{23}Cl_2MnN_3O_4$	
6	Peso molecular	543,29	
7	Temperatura	303(2) K	
8	Comprimento de onda	0,71073 Å	
9	Sistema cristalino	Ortorrômbico	
10	Grupo espacial	P n a 21	
11	Dimensões da célula unitária	$a = 7,6825(17)$ Å	$\alpha = 90^\circ$.
12		$b = 24,640(2)$ Å	$\beta = 90^\circ$.
13		$c = 12,932(3)$ Å	$\gamma = 90^\circ$.
14	Volume	$2448,1(8)$ Å ³	
15	Densidade (calculada)	$1,474$ Mg/m ³	
16	Coeficiente de Absorção	$0,793$ mm ⁻¹	
17	F(000)	1116	
18	Tamanho do cristal	$0,236 \times 0,174 \times 0,168$ mm ³	
19	Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	

20

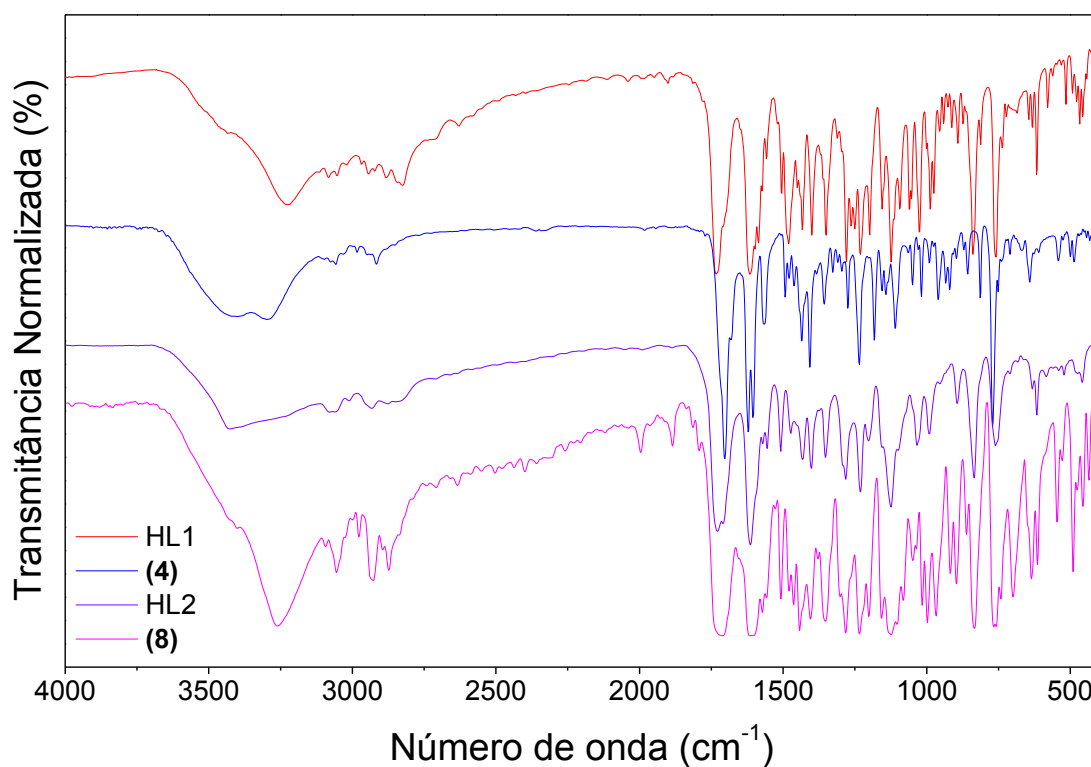
21

22 Tabela 11 – Dados de caracterização para os complexos (4) e (8).

Complexo/Caracterização	Rend (%)	P.F. (°C)	IV (cm ⁻¹)	Análise Elementar (Teórico/Cale)	Condutividade (μS cm ⁻¹)	MM (g / mol)
 (4)	66	173	3600-3100: νOH 3100-2800: νCH 1703: νC=O 1600-1450: νC=C 1233: νC-O 770: νCH _{piridina}	C (52,91/53,05) H (4,45/4,26) N (7,58/7,73)	8,08 (DMSO)	543,40
 (8)	54	147	3600-3150: νOH 3100-2800: νCH 1706: νC=O 1600-1450: νC=C 1234: νC-O 767: νCH _{piridina}	C (52,66/52,55) H (4,42/4,57) N (7,24/7,44)	4,57 (DMSO)	569,00

1 * Atribuição conforme Geary (1971). Para DMSO: para valores abaixo de 42 μS.cm⁻¹, os
 2 compostos são denominados como não-eletrólitos.
 3

4 Figura 38 – Espectros na região do IV para os complexos (4) e (8), obtidos em KBr.



5

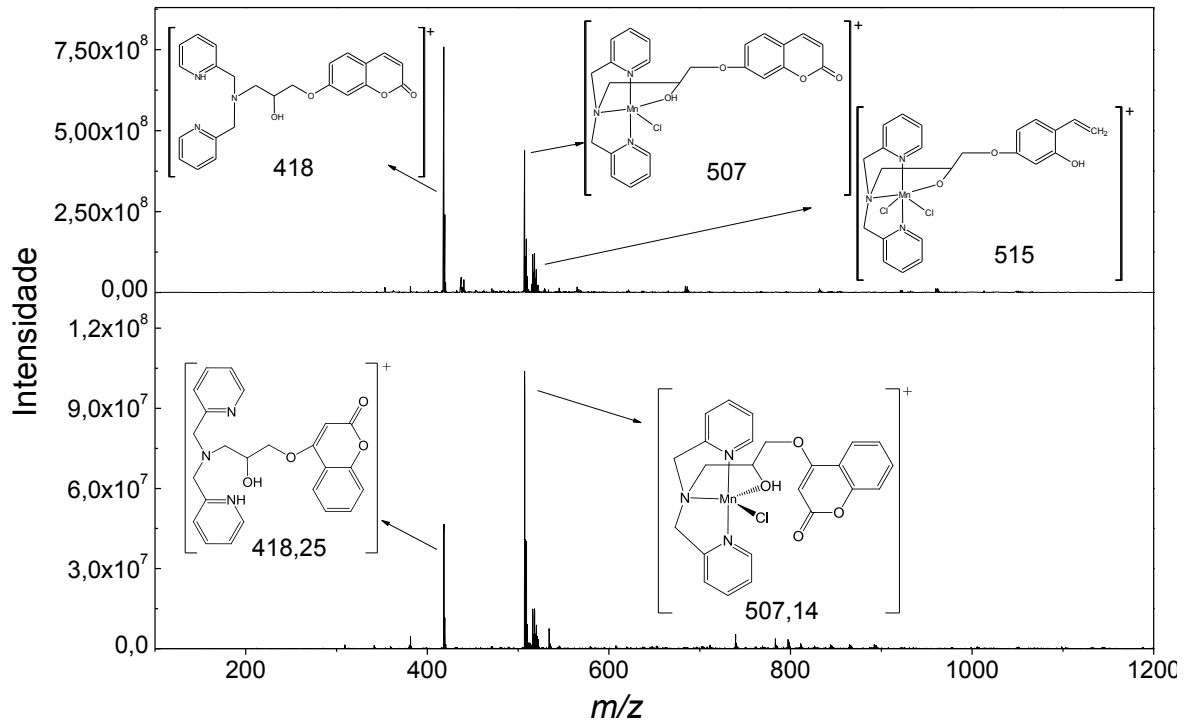
6

7

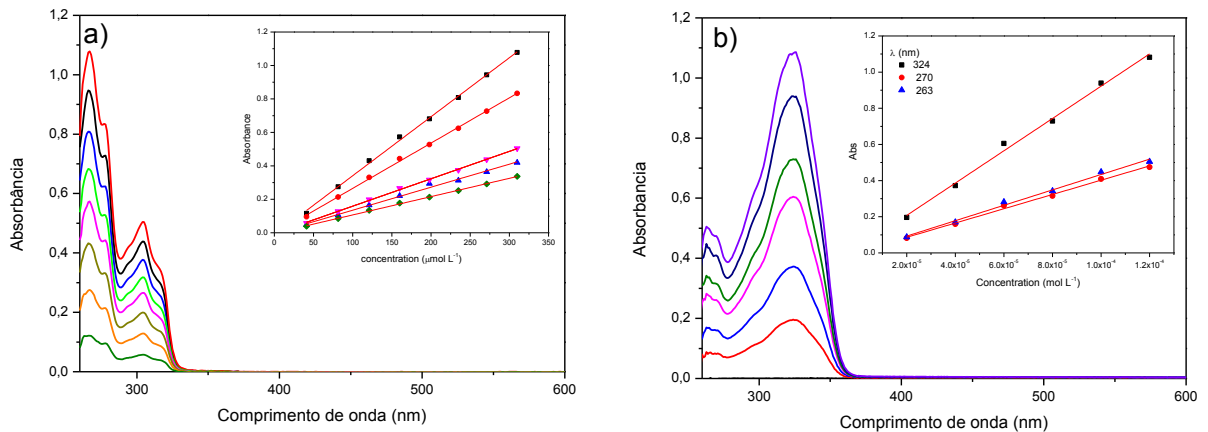
8

9

- 1 Figura 39 – Espectros de ESI-(+)-MS para os complexos de Mn(II) **(4)** e **(8)**, em acetonitrila.
 2 Simulações foram realizadas no *Soft Database Analysis*.



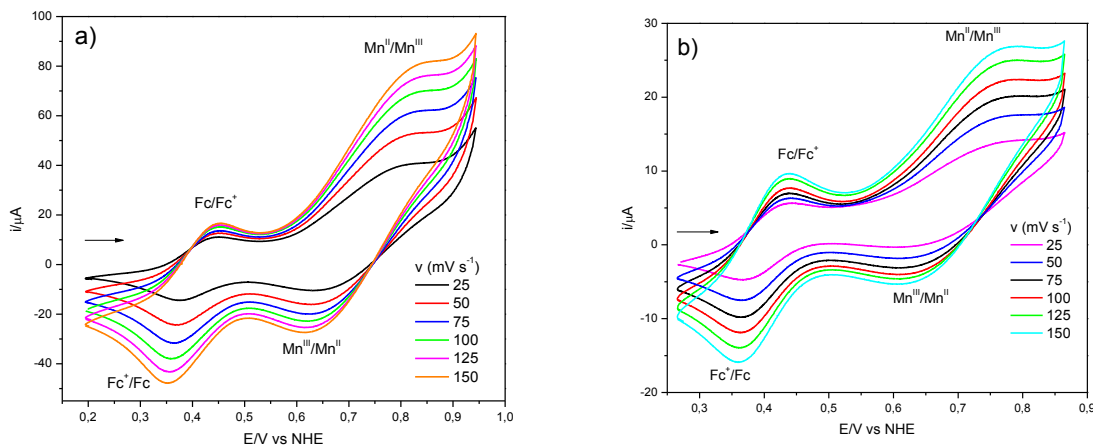
- 3
 4 Figura 40 – Espectros eletrônicos dos complexos de Mn(II) a) **(4)** e b) **(8)**, obtidos em DMSO.



- 5
 6 Tabela 12 – Atribuição dos dados espectroscopia eletrônica para os ligantes HL1, HL2 e seus
 7 respectivos complexos de Mn(II) **(4)** e **(8)**.

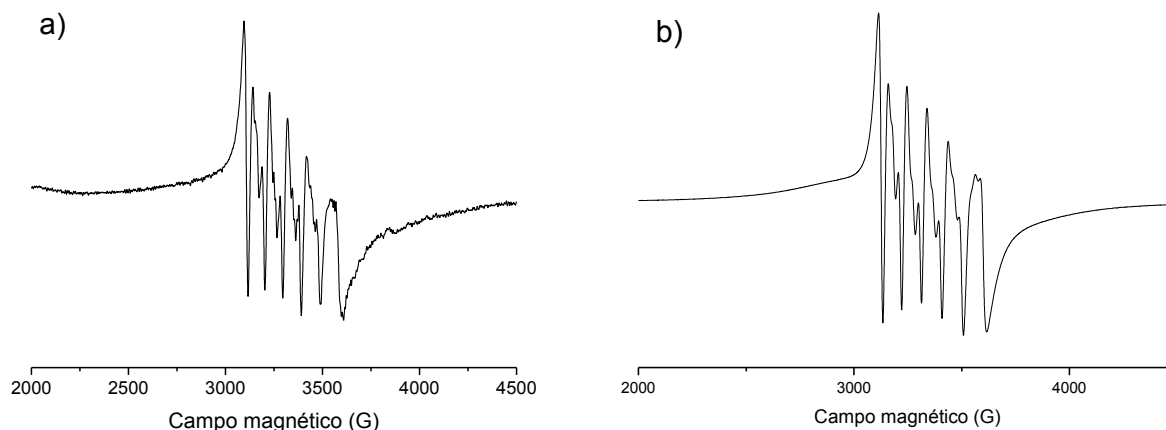
Atribuição	HL1		(4)		HL2		(8)	
	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
π - π^*	265	15118	267	3526	322	7285	324	8936
π - π^*	277	23947	278	2707	270	5046	270	3950
π - π^*	-	-	294	1375	264	3425	263	4259

1 Figura 41 – Voltamogramas cíclicos para os complexos de Mn(II) a) (4) e b) (8), em DMSO,
 2 utilizando eletrodo de platina (trabalho), NHE (referência) e fio de platina (auxiliar),
 3 empregando-se hexafluorofosfato de tetrabuilmônio como eletrólito de suporte (0,1 mol L⁻¹).



4
5
6

7 Figura 42 – Espectros de EPR dos compostos de Mn(II) a) (4) e b) (8) (1 10⁻³ mol L⁻¹),
 8 obtidos em DMSO, a 120 K.

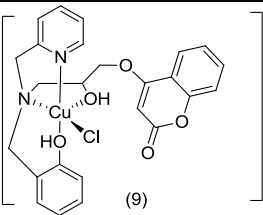
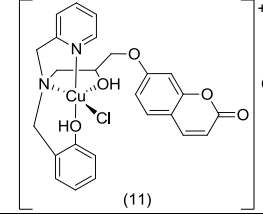


9

10 5.2.5 Caracterização dos compostos $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{L1})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 5,2\text{H}_2\text{O}$ (9) e $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{L2})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 2,4\text{H}_2\text{O}$ (11)

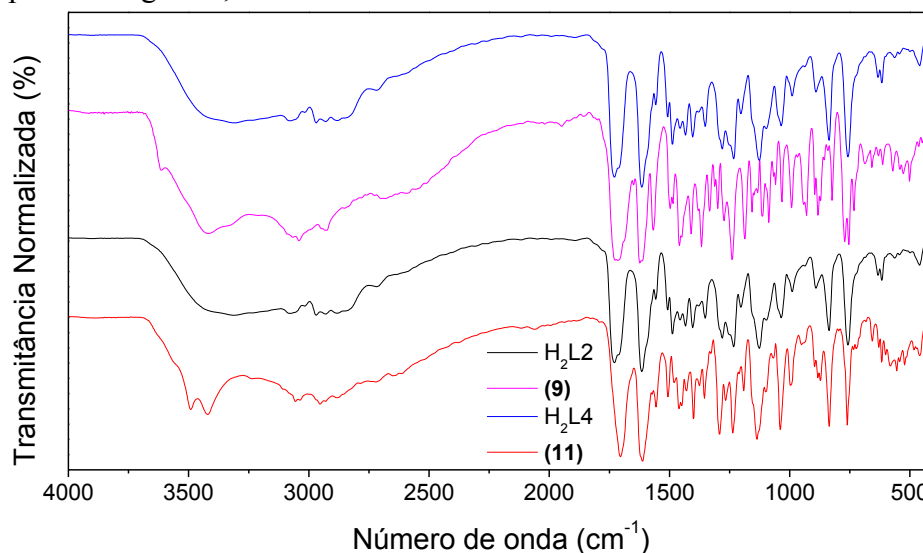
11 Os complexos $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{L1})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 5,2\text{H}_2\text{O}$ (9) e $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{L2})\text{Cl}]\text{Cl}\cdot 2,4\text{H}_2\text{O}$ (11) foram
 12 obtidos através da reação dos ligantes H₂L1 ou H₂L2 com CuCl₂·2H₂O. Ambos os compostos
 13 foram obtidos como sólidos amorfos, de coloração verde, constituindo espécies
 14 mononucleares e catiônicas, de acordo com os dados de CHN e condutividade (Tabela 13). Os
 15 espectros na região do IV de ambos os compostos indicaram a complexação dos ligantes ao
 16 centro de Cu(II) por meio de deslocamentos na frequência das absorções dos complexos
 17 metálicos, em comparação aos apresentados pelos ligantes, nas formas livres (Figuras 43).
 18 Análises de ESI(+)-MS (Figuras 44) confirmam a obtenção de espécies mononucleares com

1 m/z 494, associados aos cátions $[\text{Cu}(\text{H}_1\text{L}_2)\text{Cl}]^+$ e $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{L}_2)\text{Cl}]^+$, com sinais adicionais
 2 atribuídos a formação de espécies binucleares. Na região do UV-vis (Figura 45 e Tabela 14),
 3 ambos os compostos apresentaram bandas de absorção referentes às transições eletrônicas de
 4 natureza intra-ligante, com adição de bandas na região do visível, compreendida entre 600 e
 5 800 nm, referentes à transições d-d (Cu(II): d^9). Por EPR (Figura 46), foram obtidos espectros
 6 constituídos de 4 linhas, característicos de espécies de Cu(II) ($I=3/2$). Estudos de voltametria
 7 cíclica para os compostos **(9)** e **(11)** (Figuras 47) apresentam grande similaridade, onde se
 8 observou a presença de pares redox com Epa (0,16 e 0,13 V) e Epc (-0,72 e -0,7 V),
 9 respectivamente. A Tabela 7 sumariza dados de caracterização para os complexos **(9)** e **(11)**.
 10
 11 Tabela 13 – Dados de caracterização para os complexos **(9)** e **(11)**.

Complexo/Caracterização	Rend (%)	P.F. (°C)	IV (cm ⁻¹)	Análise Elementar (Teórico/Calc)	Condutividade (μS cm ⁻¹)	MM (g / mol)
 (9)	57	128	3690-3100: νOH 3100-2800: νCH 1714: νC=O 1600-1450: νC=C 1239: νC-O 771: νCH _{piridina}	C (45,45/45,15) H (5,25/4,75) N (4,24/4,41)	95,08 (MeOH)	660,60
 (11)	56	119	3600-3230: νOH 3100-2800: νCH 1705: νC=O 1600-1450: νC=C 1235: νC-O 761: νCH _{piridina}	C (49,21/49,08) H (4,76/4,52) N (4,59/4,42)	91,22 (MeOH)	610,00

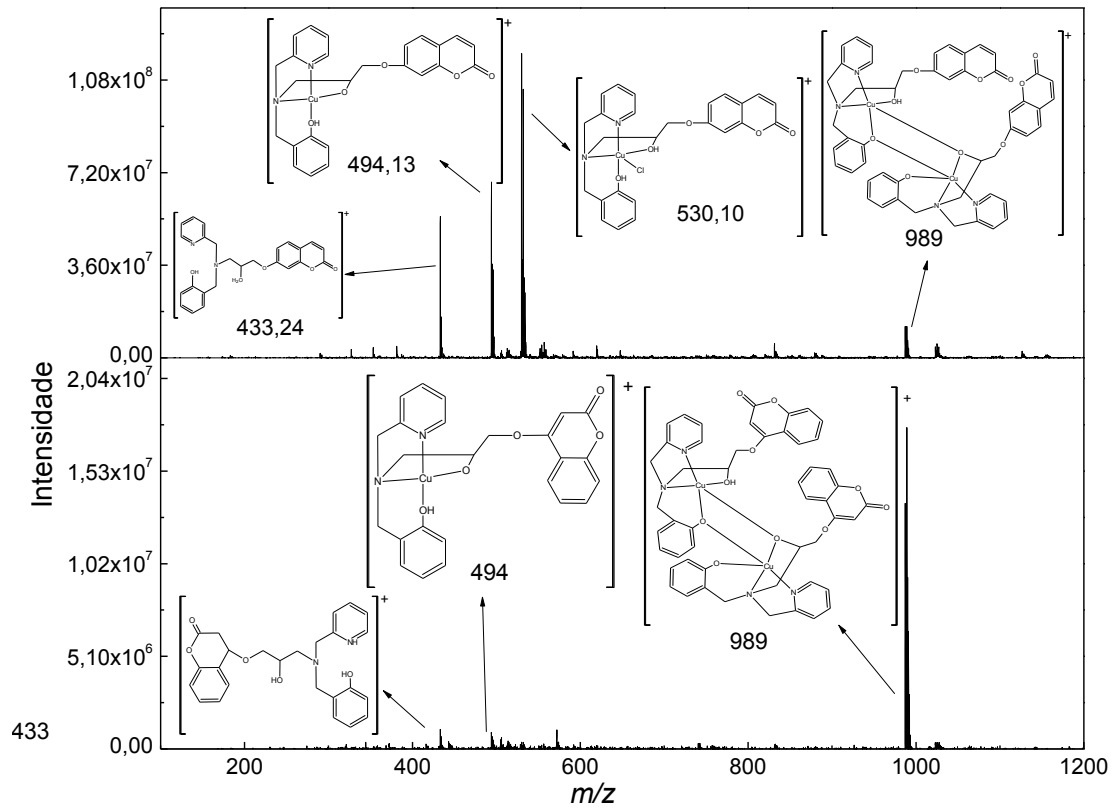
12 * Atribuição conforme Geary (1971). Para metanol: para valores entre 80-120 μS.cm⁻¹, os
 13 compostos são denominados eletrólitos 1:1.

14
 15 Figura 43 – Espectros na região do infravermelho para os complexos de Cu(II) **(9)** e **(11)** e
 16 dos seus respectivos ligantes, obtidos em KBr.



- 1 Figura 44 – Espectros de ESI-(+)-MS para os complexos de Cu(II) **(9)** e **(11)**, em acetonitrila.
 2 Simulações foram realizadas no *Soft Database Analysis*.

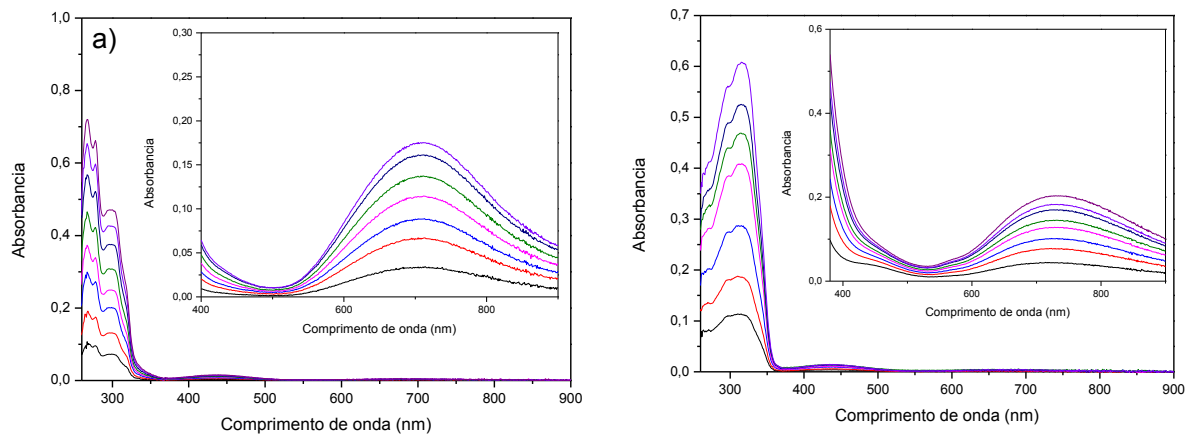
3



4

5

- 6 Figura 45 – Espectros eletrônicos dos complexos de Cu(II) a) **(9)** e b) **(11)**, obtidos em
 7 DMSO.



8

9

10

11

12

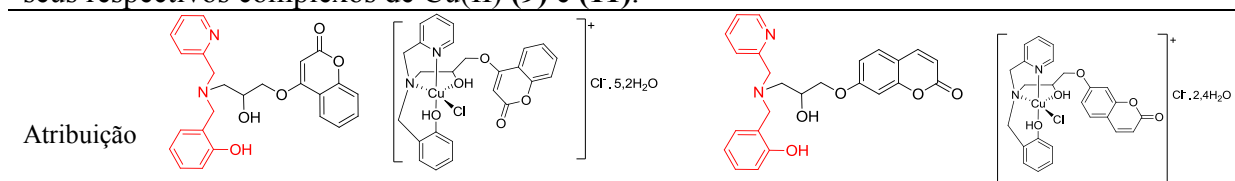
13

14

15

- 1 Tabela 14 – Atribuição dos dados de espectroscopia eletrônica para os ligantes HL1, HL2 e
 2 seus respectivos complexos de Cu(II) (9) e (11).

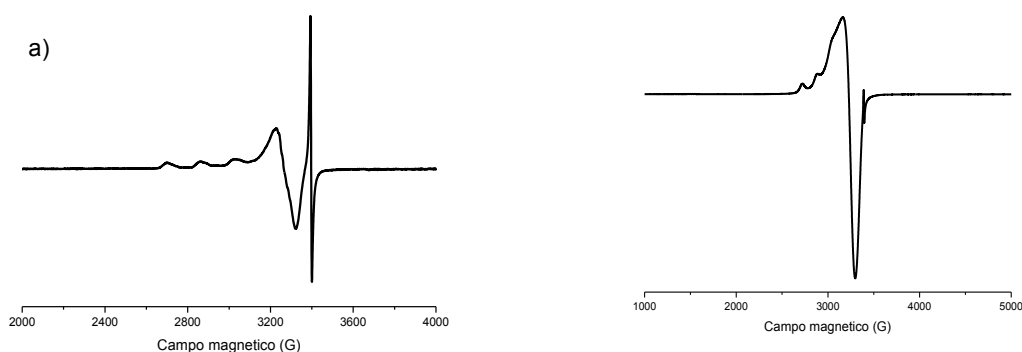
Atribuição



	H ₂ L1		(9)		H ₂ L2		(11)	
	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
π - π^*	295	21627	298	11514	325	23542	296	11236
π - π^*	266	14526	278	16433	-	-	317	12542
π - π^*	-	-	267	17901	-	-	-	-
TCML	-	-	451	3945	-	-	450	6753
d-d	-	-	709	78,55	-	-	711	94,57

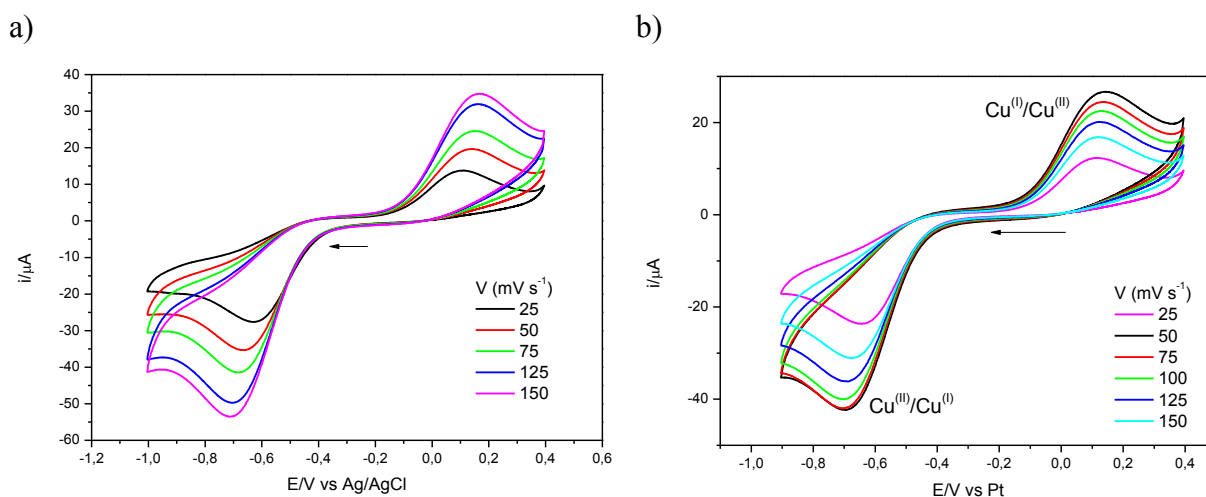
3

- 4 Figura 46 – Espectros de EPR para os compostos de Cu(II): a) (9) e b) (11) (1 10⁻³ mol L⁻¹),
 5 obtidos em DMSO, a 120 K.



6

- 7 Figura 47 – Voltamograma cíclico para os complexos de Cu(II) a) (9) e b) (11), em DMSO,
 8 utilizando eletrodo de platina (trabalho), Ag/AgCl (referência) e fio de platina (auxiliar),
 9 empregando-se hexafluorofosfato de tetrabutilamônio como eletrólito de suporte (0,1 mol L⁻¹).

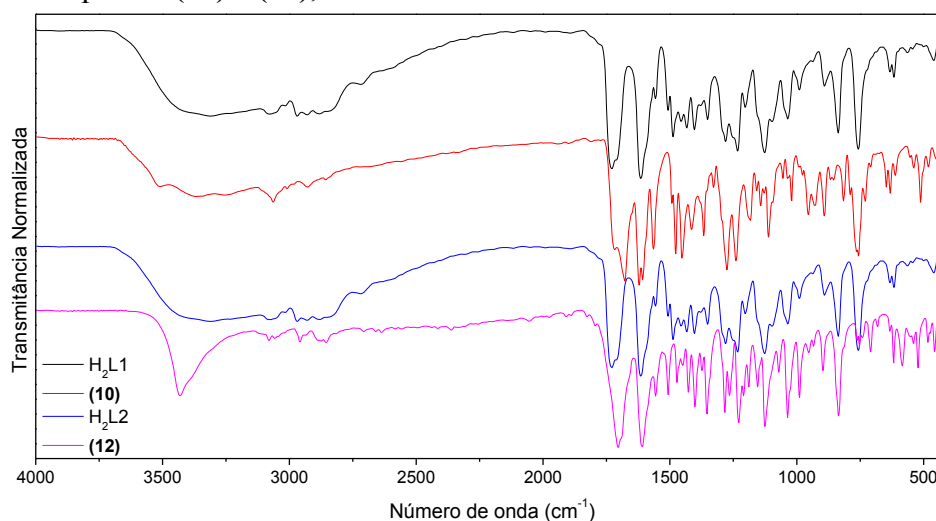


1 5.2.6 Caracterização dos isômeros $[\text{Fe}_2(\text{H}_1\text{L}_2)\text{Cl}_4]1,5\text{CH}_3\text{OH}$ (**10**) e $[\text{Fe}_2(\text{H}_1\text{L}_2)\text{Cl}_4]3\text{H}_2\text{O}$ (**12**)

2 Os complexos isoméricos $[\text{Fe}_2(\text{H}_1\text{L}_2)\text{Cl}_4]1,5\text{CH}_3\text{OH}$ (**10**) e $[\text{Fe}_2(\text{H}_1\text{L}_2)\text{Cl}_4]3\text{H}_2\text{O}$ (**12**)
3 foram obtidos através da reação dos ligantes H_2L_1 ou H_2L_2 com $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ambos os
4 complexos metálicos se apresentaram como sólidos microcristalinos de coloração azul e, pela
5 primeira vez neste trabalho, relatamos a obtenção de compostos binucleares. Análises de IV,
6 CHN e condutividade confirmaram a complexação dos ligantes ao centro de Fe(III) e
7 concordam com a formação de espécies neutras binucleares de Fe(III), indicando que a
8 estrutura do estado sólido é mantida em solução (Figura 48 e Tabela 15). Os dados de ESI-
9 (+)-MS (Figuras 49 e 50) mostraram bastante similaridade, onde o composto (**12**) apresentou
10 um pico em m/z 979, associado à espécie binuclear $[\text{Fe}_2\text{C}_{50}\text{H}_{51}\text{N}_4\text{O}_{10}]^+$ com sinais adicionais
11 em 1031, 1017, 1007. Os dados de voltametria cíclica (Figuras 51) mostraram similaridade
12 nos voltamogramas obtidos para ambos os isômeros, com a presença de dois processos redox,
13 condizente com a obtenção de espécies binucleares, os quais estão em concordância com
14 dados reportados na literatura. [223-225]. Além disso, mudanças de geometrias dos
15 complexos metálicos em solução podem estar relacionadas à presença de reações acopladas,
16 resultando em processos redox adicionais. A presença de Fe(III) foi confirmada por medidas
17 de EPR, onde foi observado perfil isotrópico característico de espécies de Fe(III) ($I=1/2$)
18 (Figura 52). Os espectros eletrônicos, na região do UV-Vis, para os compostos (**10**) e (**12**)
19 (Figura 53 e Tabela 16) apresentam absorções referentes às transições de natureza intra-
20 ligante e transferência de carga ligante metal (TCLM, fenolato \rightarrow Fe(III)) [226]. A ausência
21 de bandas d-d no espectro eletrônico sugere que os complexos (**10**) e (**12**) constituem espécies
22 de Fe(III) *alto spin*. O caráter *alto spin* dos complexos (**10**) e (**12**) foi confirmado pela
23 espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe (Figuras 54), onde se observou a presença de um único
24 dubleto, com deslocamentos isoméricos iguais a 0,416 e 0,402 mm/s, respectivamente,
25 indicando que os centros de Fe(III), em ambos os compostos de coordenação, são
26 equivalentes e possuem ambiente de coordenação similares. Os valores de desdobramento
27 quadrupolar de 1,215 e 0,674 mm/s para os complexos (**10**) e (**12**) indicam que o centro de
28 Fe(III) no composto (**10**) possui maior distorção do que no complexo (**12**).

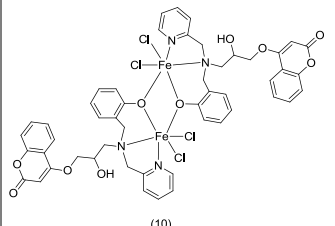
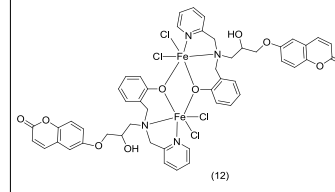
29
30
31
32
33

- 1 Figura 48 – Espectros na região do infravermelho para os ligantes H₂L1 e H₂L2 e seus
2 respectivos complexos (10) e (12), obtidos em KBr.



3

- 4 Tabela 15 – Dados de caracterização para os complexos (1) e (5).

Complexo/Caracterização	Rend (%)	P.F. (°C)	IV (cm ⁻¹)	Análise Elementar (Teórico/Calc)	Condutividade (μS cm ⁻¹)	MM (g / mol)
 (10)	63	147	3600-3150: νOH 3100-2800: νCH 1714: νC=O 1600-1450: νC=C 1239: νC-O 757: νCH _{piridina}	C (53,12/53,42) H (4,50/4,52) N (4,80/4,52)	25,44 (MeCN)	1164,0
 (12)	59	155	3600-3200: νOH 3100-2800: νCH _{sp3} 1704: νC=O 1600-1450: νC=C 1235: νC-O 751: νCH _{piridina}	C (51,26/51,30) H (4,44/4,15) N (4,78/4,70)	21,54 (MeCN)	1170

- 5 * Atribuição conforme Geary (1971). Para acetonitrila: valores abaixo de 120 μS.cm⁻¹, os
6 compostos são denominados não-eletrólitos.

7

8

9

10

11

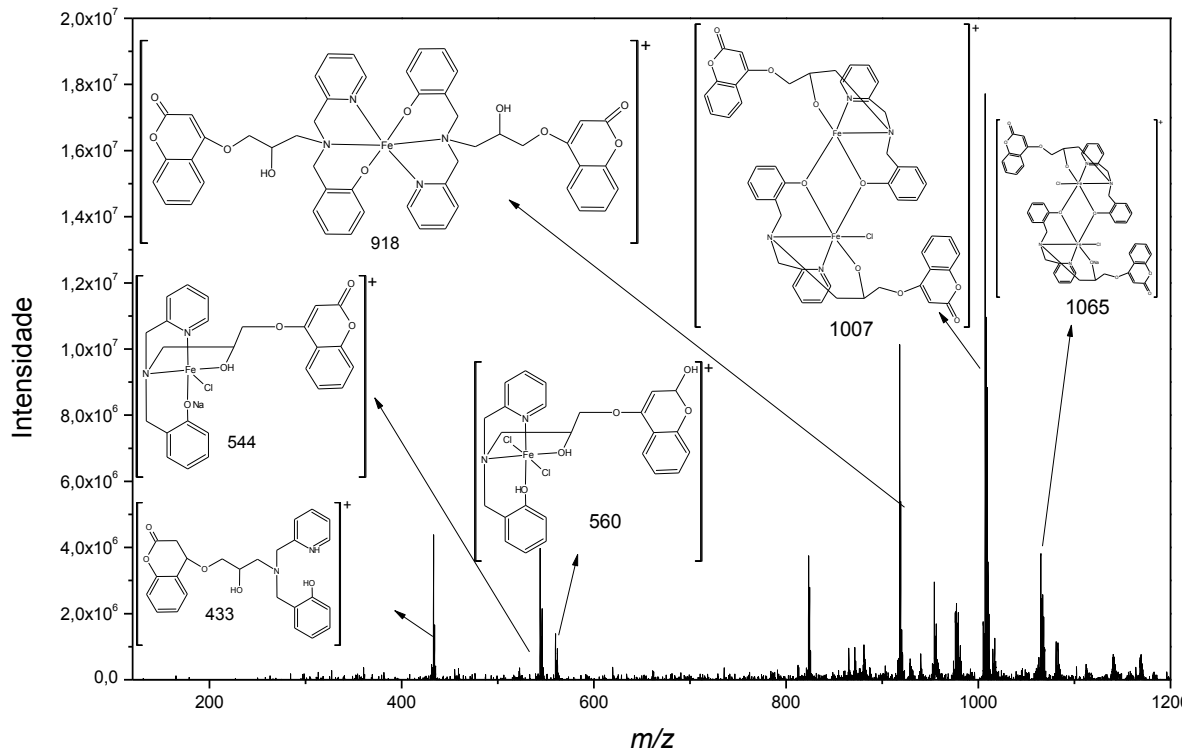
12

13

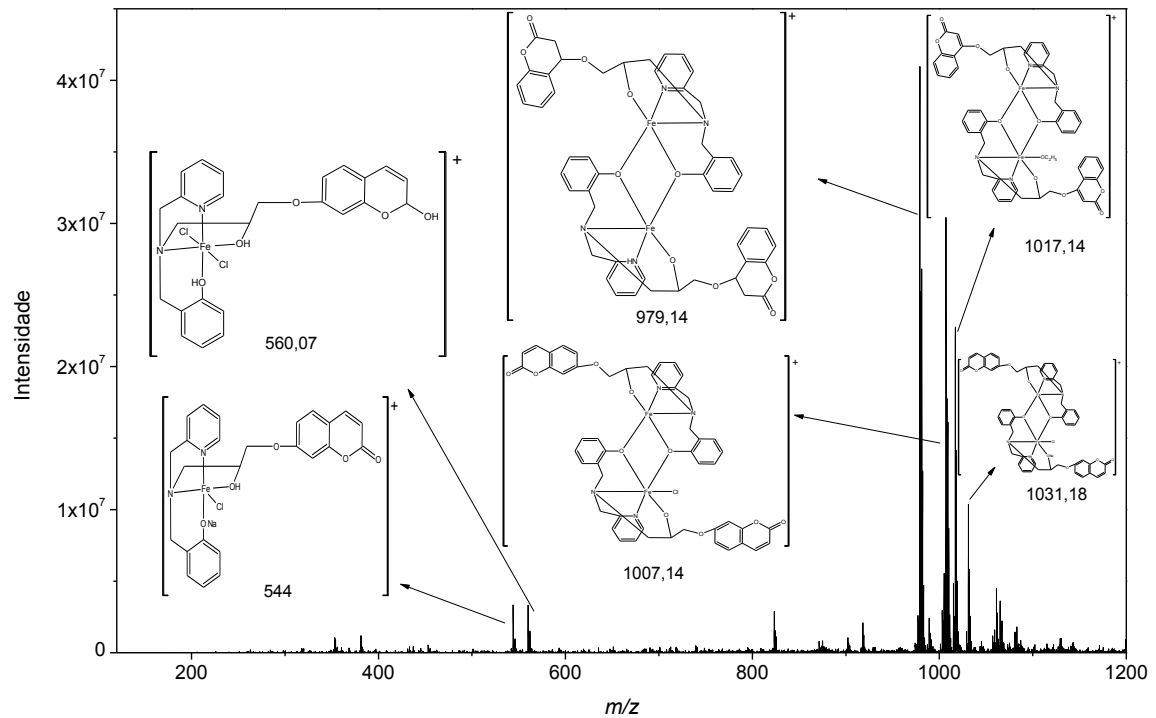
14

15

- 1 Figura 49 – Espectros de ESI(+)-MS do complexo de Fe(III) (**10**), em acetonitrila.
- 2 Simulações foram realizadas no *Soft Database Analysis*.

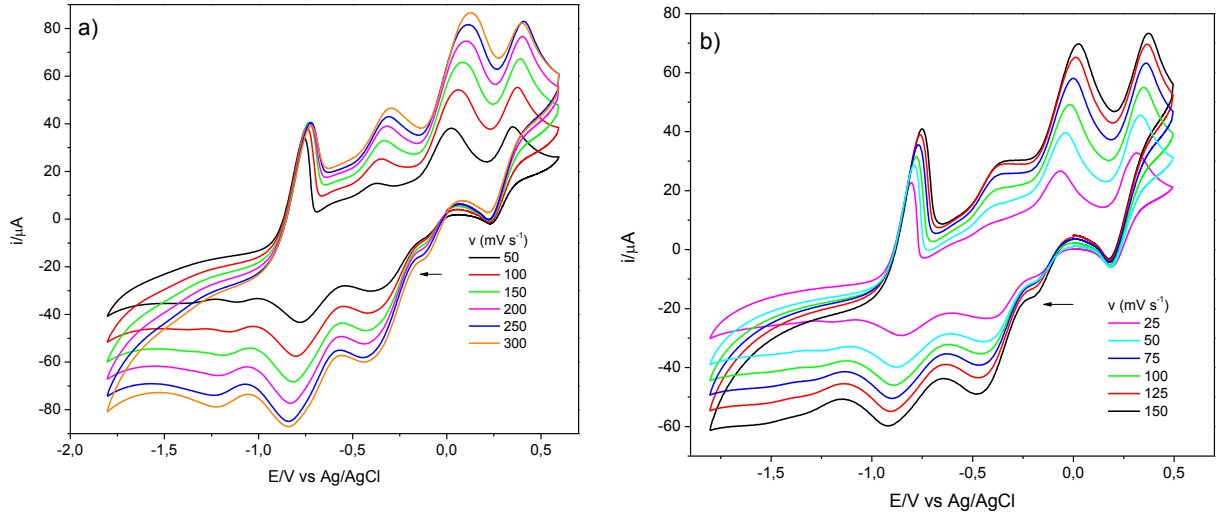


- 3
- 4 Figura 50 – Espectro de ESI(+)-MS para o complexo (**12**), em solução de acetonitrila.
- 5 Simulações foram realizadas no *Soft Database Analysis*.

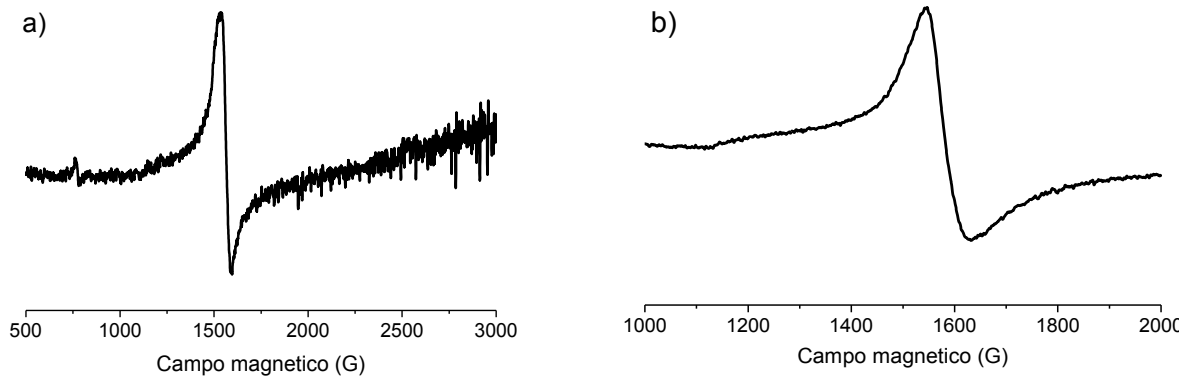


- 6
- 7

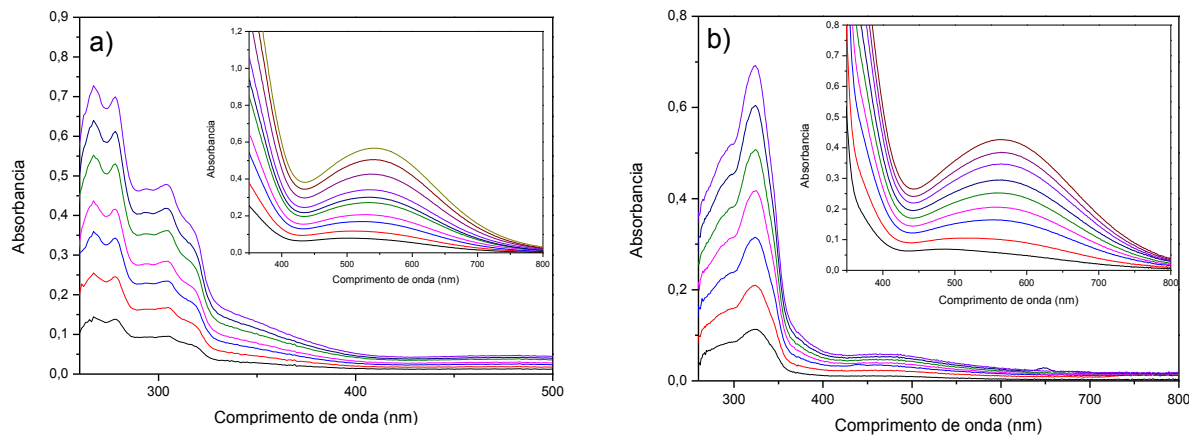
- 1 Figura 51 – Voltamograma cíclico para os complexos de Fe(III) **(10)** e **(12)**, em DMSO,
 2 utilizando eletrodo de platina (trabalho), Ag/AgCl (referência) e fio de platina (auxiliar),
 3 empregando-se hexafluorofosfato como eletrólito de suporte ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$).



- 4 Figura 52 – Espectros de EPR para os complexos de Fe(III): a) **(10)** e b) **(12)** ($1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$),
 5 em DMSO, a 120 K.



- 6
 7 Figura 53 – Espectros eletrônicos dos complexos de Fe(III) a) **(10)** e b) **(12)**, em DMSO.
 8

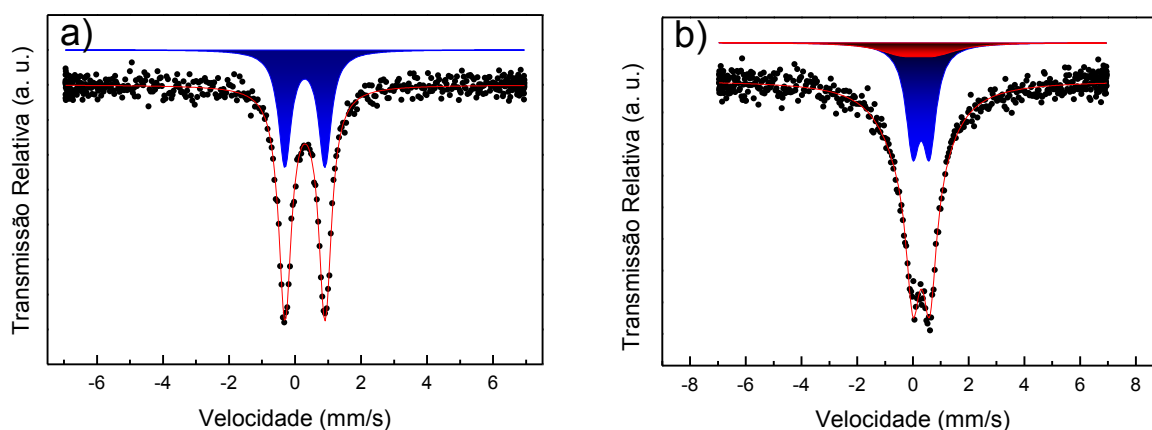


- 1 Tabela 16 – Atribuição dos dados de espectroscopia eletrônica para os ligantes HL1, HL2 e
 2 seus respectivos complexos de Fe(III) (**10**) e (**12**).

Atribuição	H ₂ L1		(10)		H ₂ L2		(12)	
	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	λ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
π - π^*	295	21627	267	14593	325	23542	291	10249
π - π^*	266	14526	279	11283	-	-	324	19261
π - π^*	-	-	304	7211	-	-	-	-
TCLM	-	-	580	3844	-	-	580	4022

3

- 4 Figura 54 – Espectros Mössbauer de ⁵⁷Fe para os complexos (**10**) e (**12**), obtidos 25 °C.



5

6 5.3 Atividade leishmanicida dos compostos (**1**) e (**5**)

7 Após triagem, os compostos [Co(HL1)Cl₂].4,2H₂O (**1**) e
 8 [Co(HL2)(MeOH)Cl]ClO₄.2H₂O (**5**) foram selecionados para avaliação de atividade
 9 antiproliferativa e mecanística frente a forma promastigota da *L. amazonensis* [99]. A
 10 atividade antiproliferativa é dose dependente (Figura 55), sendo potencializada com o
 11 aumento da concentração dos complexos metálicos. Os valores de CI₅₀ para o complexo (**1**) e
 12 (**5**) estão apresentados na Tabela 17.

13

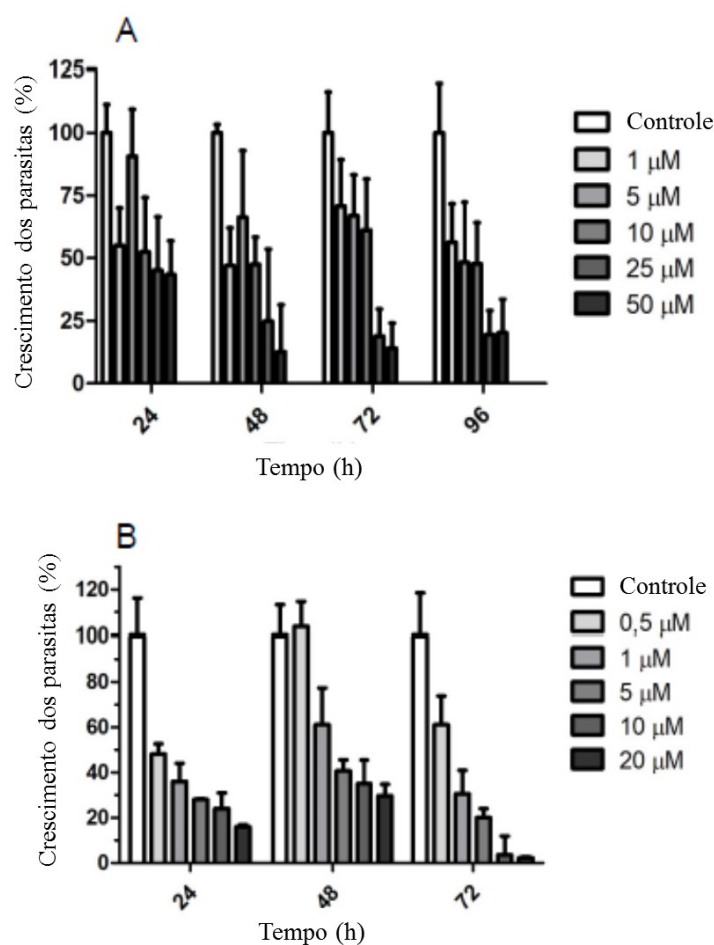
14

15

16

17

- 1 Figura 55 – Efeito antiproliferativo de A) (1), e B) (5), em formas promastigotas de *L.*
 2 *amazonensis* com tempos de tratamentos de 24, 48, 72 e 96 h (somente para o complexo (1)).



- 3
4

- 5 Tabela 17- Valores de CI_{50} para o tratamento de formas promastigota de *Leishmania*
 6 *amazonensis* com os compostos de coordenação de Co(II) (1) e (5) em 24, 48 e 72 horas.

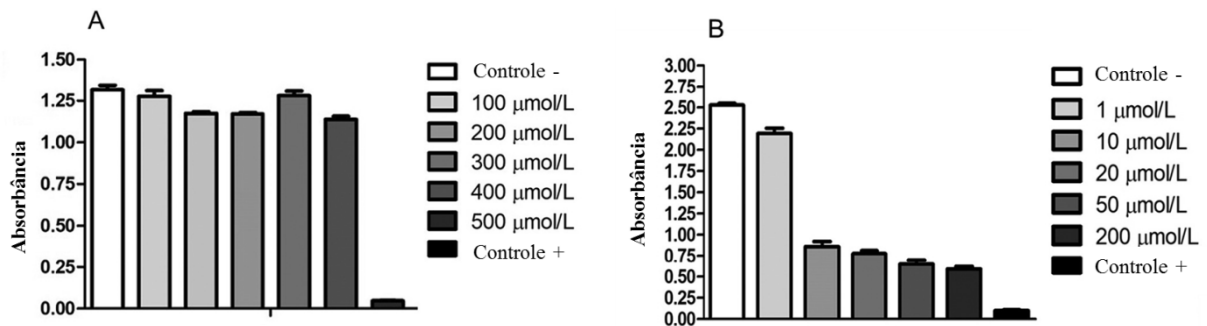
Composto/Tempo	$CI_{50} \mu\text{mol L}^{-1}$		
	24 h	48 h	72 h
(1)	4,90	2,50	3,80
(5)	2,90	4,20	2,00

7

- 8 Apesar de bons efeitos antiproliferativos para ambos os complexos metálicos, o
 9 complexo (5) apresentou alta toxicidade em relação à célula hospedeira (LLC-MK2), com
 10 redução de 65% da viabilidade celular mesmo em baixas concentrações como $10 \mu\text{mol L}^{-1}$
 11 (Figura 56a). Em contrapartida, o composto (1) apresentou baixa citotoxicidade, mantendo a
 12 viabilidade celular em altos níveis em concentrações de até $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 56b). Tal
 13 efeito pode estar associado a diversos fatores tais como dependência da isomeria dos ligantes,

1 ou ainda pela presença de metanol na estrutura do complexo **(5)**. Devido à alta citotoxicidade
 2 do complexo **(5)**, estudos biológicos futuros prosseguiram apenas para o complexo **(1)**.

3 Figura 56 – Efeitos citotóxicos dos complexos a) **(1)** e b) **(5)** em células LLC-MK2 pelo
 4 método MTT. Absorbância de cristais de formazan de células viáveis LLC-MK2 tratadas com
 5 diferentes concentrações dos complexos. Controle negativo: células cultivadas em DMEM
 6 com soro fetal bovino (SFB), sem tratamento com os complexos. Controle positivo: células
 7 cultivadas em DMEM com SFB, sem os complexos, contendo Triton-X (10%).



8

9 O efeito do complexo **(1)** na atividade mitocondrial dos parasitas foi investigado pela
 10 avaliação do potencial de membrana, empregando-se JC1 (iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-
 11 1,1',3,3'-tetrametilbenimidazolilcarbocianina) (Figura 57), um corante catiônico membrana-
 12 permeante amplamente utilizado para monitorar o potencial de membrana mitocondrial [227].
 13 Verificou-se que o tratamento dos parasitas com o composto **(1)** promoveu o aumento de sete
 14 vezes na porcentagem de eventos no gráfico de pontos desenhado na região de fluorescência
 15 vermelha superior (FL2), indicando a indução da hiperpolarização da mitocôndria (aumento
 16 do potencial de membrana), sugerindo morte por apoptose [228].

17

18

19

20

21

22

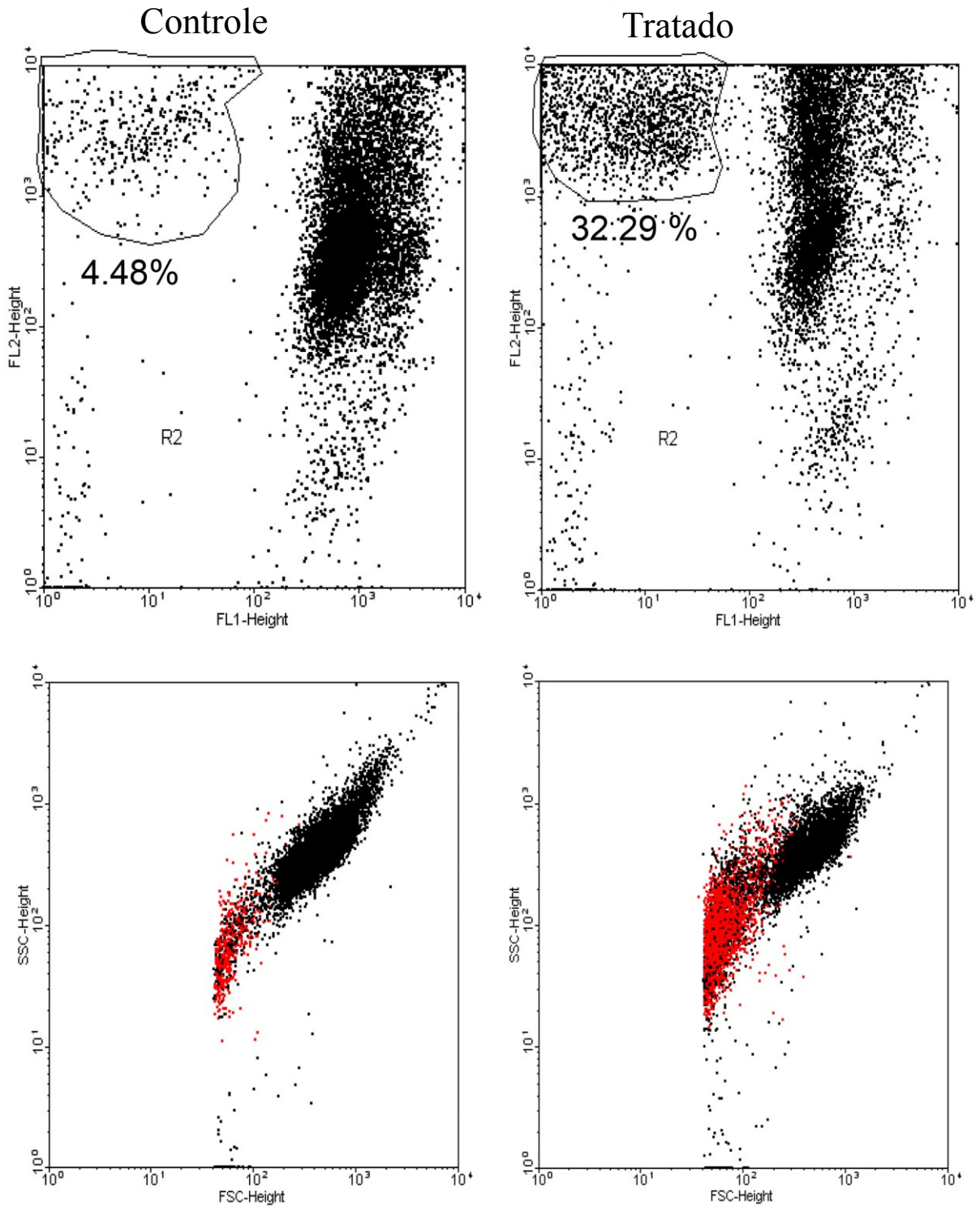
23

24

25

26

- 1 Figura 57 – Efeito do complexo **(1)** no potencial de membrana mitocondrial de formas
 2 promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Parasitas foram não tratados (controle) ou tratados
 3 com o complexo **(1)** por 96h. A porcentagem de eventos foi calculada nos quadrantes e
 4 destacada em vermelho nos quadrantes SSC FSC.



5

6

1 Para entender a forma de atuação do complexo **(1)** no parasita, a ultraestrutura das
2 células após tratamento foi estudada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)
3 (Figura 58). Os parasitas não tratados (Figuras 58A-B) apresentam morfologias típicas para
4 núcleo, mitocôndria e cinetoplasto [229]. O cinetoplasto é uma organela autorreplicável
5 presente em protozoários da ordem Kinetoplastida, consistente em uma vasta rede
6 macrocíclica de DNA, próximo da única mitocôndria do protozoário, cuja função está
7 relacionada à edição do RNA [230]. Após o tratamento, observou-se que a morfologia do
8 cinetoplasto foi alterada, além do aumento do tamanho da mitocôndria (Figuras 58B-C),
9 corroborado pelo aumento do potencial de membrana observado neste estudo. Estes
10 resultados demonstram que o composto de coordenação **(1)** possui a capacidade de alterar a
11 estrutura e função da mitocôndria. É descrito a associação da disfunção mitocondrial a uma
12 atuação pró-oxidante de compostos com ação leishmanicida, sugerindo um mecanismo de
13 ação pró-oxidante para o complexo **(1)** [100]. Visbal e colaboradores (2023) relataram a
14 contribuição do estresse oxidativo promovido pelo complexo $[ZnCl_2(H_3)_2]$, ($H_3 = 22$ -
15 hidrazona-imidazol-2-il-col-5-en-3 β -ol), onde a atividade pró-oxidante teve influência na
16 disfunção mitocondrial e alteração de organelas como o retículo endoplasmático em células
17 de parasitas tratados [15]. Estudos de interação dos compostos **(1)** e **(5)** com EROs indicaram
18 baixa atividade antioxidante frente ao $O_2^{\cdot-}$ e a inatividade frente ao H_2O_2 e $\cdot OH$, o que pode
19 estar associado ao mecanismo de ação observado. Também se observou alteração nas
20 organelas dos parasitas (Figura 58E), com a presença de vacúolos autofágicos (Figura 58F),
21 cromatina concentrada em volta do núcleo (Figuras 58G-H) e cromatina degenerada (Figura
22 19I), sendo estas características típicas de morte celular promovida por apoptose, conforme
23 observado em estudos similares para diferentes complexos metálicos [23,25, 231]. Relatos da
24 literatura têm associado alterações nessas organelas à inativação de enzimas envolvidas na
25 biossíntese do ergosterol, lipídeos constituintes da membrana, ou gp63, metalopeptidase com
26 funções bem estabelecidas na interação do parasita com o hospedeiro mamífero [232-234].

27

28

29

30

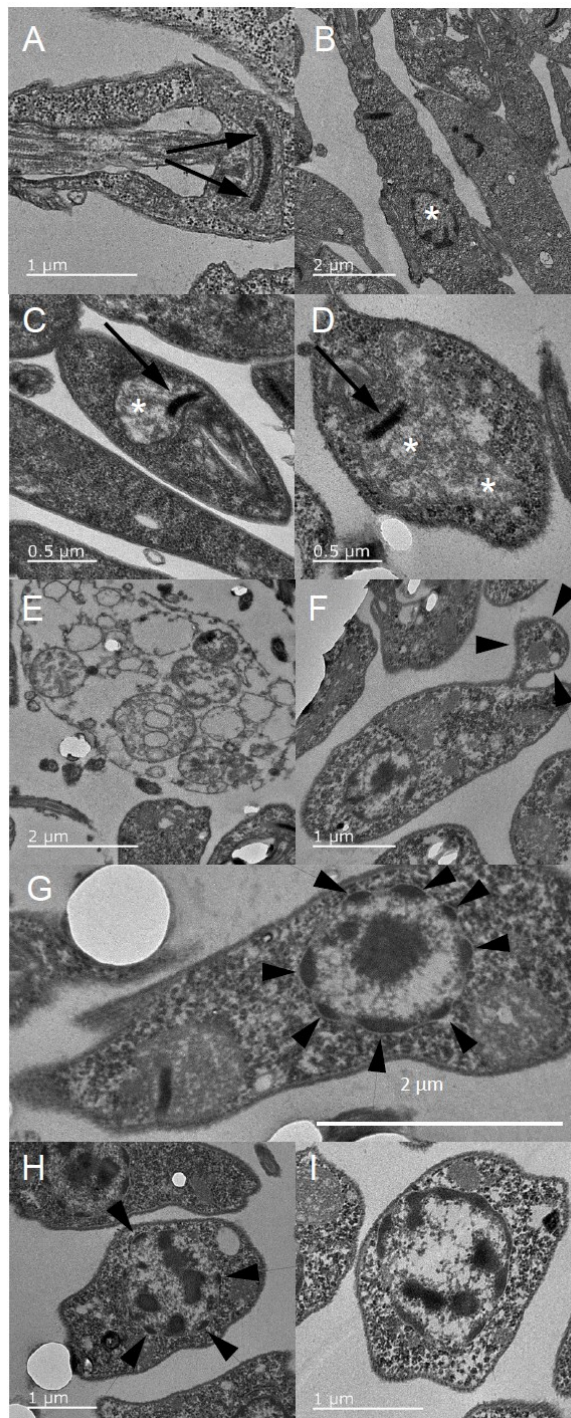
31

32

33

34

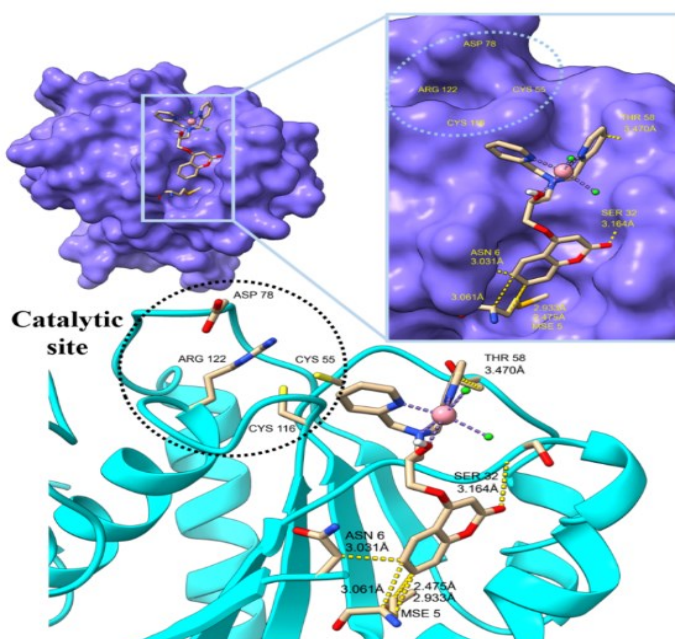
- 1 Figura 58 – Microscopia Eletrônica de Transmissão de formas promastigotas da *Leishmania*
2 *amazonensis* tratadas ou não com o complexo (1). A e B) Parasitas controle sem o tratamento
3 com o complexo (1), indicando morfologia normal para cinetoplasto (seta) e núcleo (*). C-I)
4 Parasitas tratados por 72 h apresentaram estrutura do cinetoplasto alterada (C e D, seta), com
5 claro inchaço da mitocôndria (*), degradação do corpo celular (E), vacúolos na membrana
6 plasmática (F, pontas de flechas) e estrutura do núcleo alterada, com cromatina concentrada
7 em torno do núcleo (G, H – pontas de flechas) e cromatina degenerada (I).



1 Visando propor uma interação entre o complexo (1) e o parasita, realizaram-se
 2 simulações de *docking* molecular entre a proteína tirosina fosfatase, secretada por *L. major*
 3 (LmPRL-1, PDB 3S40), e o composto (1). A LmPRL-1 é uma hidrolase, expressa por
 4 promastigotas pela rota dos exossomos e que possui importante função de proliferação,
 5 diferenciação e motilidade dos parasitas [235]. A conformação mais favorável é apresentada
 6 na Figura 59, em que o complexo (1) pode estar presente em uma cavidade hidrofóbica, perto
 7 do sítio ativo da enzima. Os anéis piridínicos e cumarínico do complexo (1) podem interagir
 8 com esta proteína por meio de interações hidrofóbicas via forças de Van der Waals (distância
 9 entre 2,9 e 3,4 Å) com os resíduos THR58, MSE5 e ASN6. Além disso, uma interação de
 10 hidrogênio plausível (3,164 Å) pode ser observada entre o grupo cumarínico e átomos de
 11 oxigênio ou grupos amínicos do resíduo SER32. A inibição da tirosina fosfatase tem sido
 12 objeto de diversos estudos e está associado a uma série de disfunções metabólicas no parasita,
 13 resultando no impedimento da diferenciação e proliferação do parasita [236-238].

14

15 Figura 59 – Proposta de *docking* molecular da interação entre o complexo (1) e a proteína
 16 LmPRL-1 (PDB: 3S40), considerando a representação de superfície da enzima (superior,
 17 esquerda). A região de zoom apresenta a proximidade do sítio ativo (círculo tracejado) e a
 18 região de *docking*, onde (1) é apresentado (superior, direita). Representação em desenho da
 19 enzima, onde o sítio ativo e interações entre o complexo (1) e a proteína LmPRL-1 são
 20 mostrados (inferior). Cor dos átomos: carbono, cinza; oxigênio, vermelho; nitrogênio, azul;
 21 cloro, verde; enxofre, amarelo; e cobalto, rosa. Interações de Van der Waals e de hidrogênio
 22 são representadas por linhas tracejadas de cor amarelo.



23

1 5.4 Atividade Mimética à Superóxido Dismutase (SOD)

2 Após triagem, realizada por EPR a partir da interação dos compostos **(1)-(12)** com o
3 $O_2^{\cdot-}$, observamos que a atividade mimética à metaloenzima SOD é dependente da natureza do
4 metal, sendo os melhores resultados obtidos para os compostos de Fe(III). Assim, os
5 compostos de coordenação **(3)**, **(7)**, **(10)**, e **(12)** foram selecionados para avaliação da
6 atividade mimética à SOD, que foi realizada utilizando-se técnicas espectroscópicas, como
7 Espectroscopia Eletrônica na região do UV-vis e EPR, além da investigação da atividade
8 protetora destes compostos *in vitro*, em células da linhagem THP-1, contra o estresse induzido
9 por Ditranol.

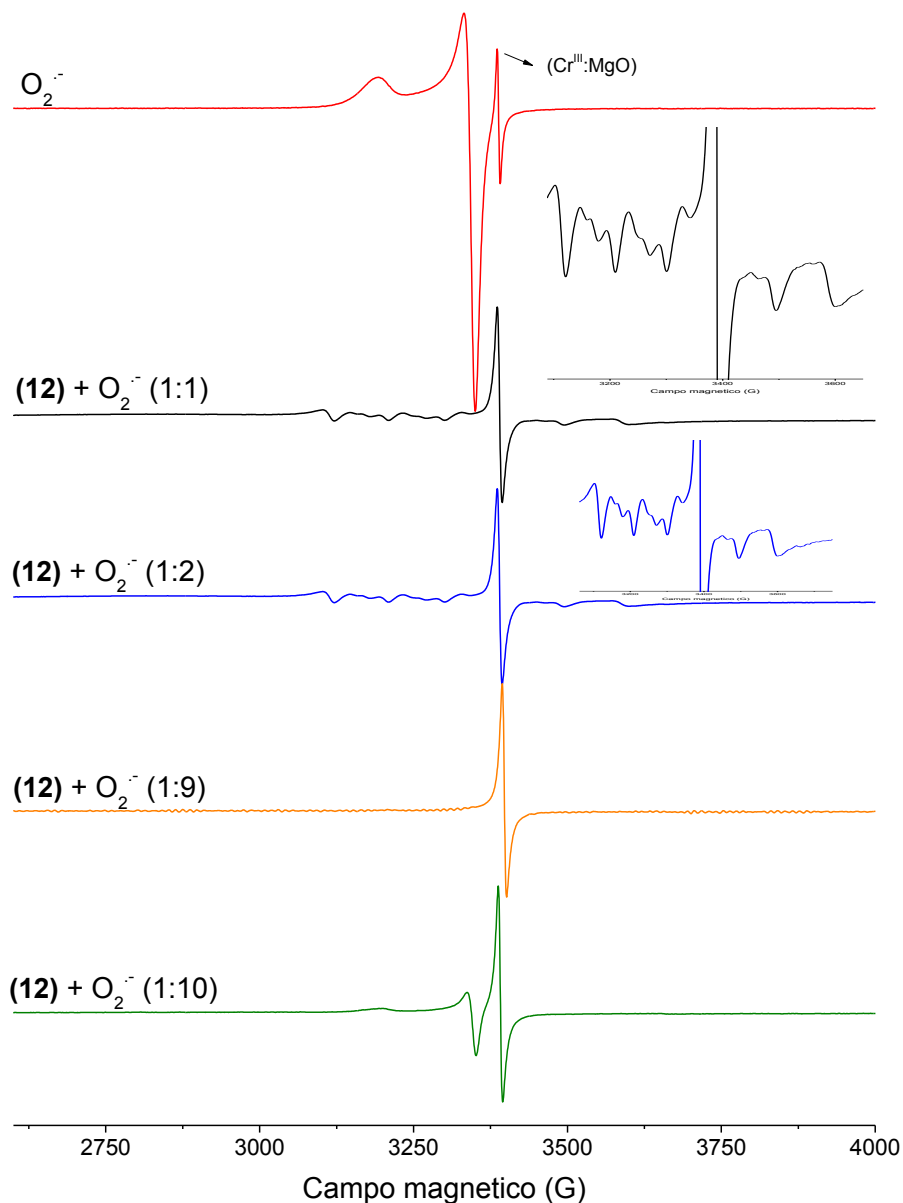
10 5.4.1 Atividade Mimética à SOD investigada por EPR

11 A avaliação da atividade mimética à SOD por EPR, baseou-se em interações entre os
12 complexos de Fe(III) e superóxido, empregando-se o KO_2 como fonte de $O_2^{\cdot-}$ [239]. Todos os
13 complexos de Fe(III) obtidos possuem espectros de EPR semelhantes, onde a isotropia é
14 justificada pela presença de centros de Fe(III) ($I=1/2$) em ambiente de coordenação octaédrico
15 [241], enquanto o $O_2^{\cdot-}$ possui espectro anisotrópico (Figura 60) [20].

16 Para interação dos compostos de Fe(III) com o ânion radical superóxido (Figuras 60 e
17 2S), soluções de concentrações apropriadas de complexos metálicos e KO_2 foram misturadas,
18 deixadas reagir por 1 min, congeladas e seus espectros foram obtidos, conforme descrito por
19 Menezes e colaboradores (2023) [22]. A atividade mimética à SOD foi confirmada pela
20 supressão do sinal do ânion radical superóxido, onde para os complexos **(3)**, **(7)**, **(10)**, e **(12)**
21 obteve-se proporções de RSA (do inglês, *Radical Scavenging Activity*) correspondentes a 4:1;
22 1:1,5; 1:3; e 1:9 (complexo : KO_2), respectivamente, sendo ranqueados na ordem de atividade:
23 **(12)** > **(10)** > **(7)** > **(3)**. Estes resultados demonstram que a atividade mimética a SOD é
24 modulada pela natureza do ligante, já que os complexos metálicos que possuem os grupos
25 HBPA, na estrutura do ligante, tiveram maior razão de RSA. Curiosamente, os complexos de
26 Fe(III) binucleares **(10)** e **(12)** apresentaram maior atividade mimética à SOD, sugerindo que
27 uma maior disponibilidade de sítios redox (centros de Fe) também promove a potencialização
28 da atividade antioxidante, conforme observado em estudos para compostos de Mn [241].
29 Mapeando o sinal do metal, é possível observar a redução da intensidade do sinal associado
30 ao Fe(III), após adição do superóxido, indicando uma mudança na natureza redox do metal.
31 Além disso, intermediários de reação foram observados para a interação do composto **(12)**
32 com o ânion radical superóxido, nas proporções de 1:1 e 1:2, sugerindo a formação de

1 espécie de valência-mista de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-O-Fe}^{\text{II}}$, em concordância com estudos previamente
 2 relatados na literatura [22, 242].

3 Figura 60 – Interação entre o $\text{O}_2^{\cdot-}$ e o complexo **(12)**, monitorado por EPR, após 1 min de
 4 reação, em DMSO, a 120 K. Diferentes razões de complexo: $\text{O}_2^{\cdot-}$ foram empregadas.



Os dados obtidos nas análises de EPR nos motivaram a investigação da atividade
 mimética a SOD dos complexos de Fe(III) empregando a técnica de Espectroscopia
 Eletrônica na região do UV-vis bem como ensaios *in vitro* frente as células THP-1. Esta
 abordagem visa obter maior entendimento da atividade de SOD exibidas por estes compostos,

1 e se de fato há manutenção da atividade frente ao ânion radical superóxido, previamente
2 observada *in vitro* (via EPR), empregando-se células da linhagem THP-1 (Item 5.4.3).

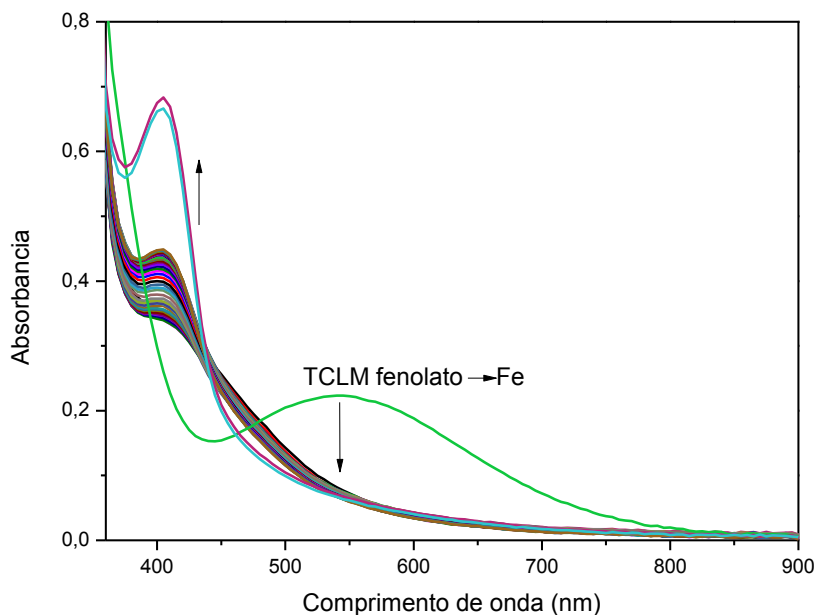
3 5.4.2 Atividade Mimética à SOD por Espectroscopia Eletrônica na região do UV-vis

4 Com o objetivo de identificar intermediários, a reação de dismutação do ânion radical
5 superóxido pelos compostos de coordenação de Fe(III) foi investigada por Espectroscopia
6 Eletrônica, na região do UV-vis, empregando-se a razão de 1:10 (complexo: $O_2^{\cdot-}$) (Figuras 61,
7 3S) [22]. A Figura 21 apresenta os espectros eletrônicos obtidos para a interação entre o
8 composto **(12)** e o ânion radical superóxido. O composto **(12)** apresenta uma banda de
9 absorção em 550 nm, associada à transferência de carga ligante metal (TCLM,
10 fenolato \rightarrow Fe(III), $\epsilon = 2321 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [243]. Após a adição do superóxido, observou-se
11 imediata supressão desta banda, que pode estar associada à redução de Fe(III) a Fe(II),
12 tornando esta transição mais proibida, ou à protonação dos grupos fenólicos. Ibrahim (2021)
13 relatou que a atividade de dismutação do ânion radical superóxido ocorre em etapas, onde
14 inicialmente há a coordenação do superóxido ao centro metálico, seguido de um processo de
15 redução do centro metálico, para então ocorrer liberação de O_2 [244-245].
16 Concomitantemente, há o surgimento de uma banda de absorção em 405 nm, sugerindo a
17 formação de espécies intermediárias detectáveis, formadas por reações subseqüentes do ânion
18 radical superóxido, podendo envolver a formação de H_2O_2 , de espécies intermediárias
19 centradas no Fe e/ou protonação de grupos fenólicos, presente na estrutura do ligante H_2L2 . A
20 banda TCLM em 550 nm, atribuída a (fenolato \rightarrow Fe(III)), está ausente mesmo a 48 h após a
21 reação entre o composto **(12)** e o ânion radical superóxido. Um comportamento semelhante foi
22 observado para o complexo **(11)**, sugerindo que o grupo fenol, presente nos compostos **(11)** e
23 **(12)** possui grande influência na atividade mimética SOD, o que pode estar associado à
24 potencialização da atividade em relação aos complexos metálicos que não possuem o grupo
25 fenólico, conforme observado nos estudos de EPR.

26 A formação de espécies intermediárias indica a influência do ligante e metal na
27 atividade mimética a SOD. A presença de intermediários centrados no metal é corroborada
28 pelo surgimento de banda de absorção em 400 nm para a reação do sal metálico ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)
29 com o ânion radical superóxido (Figura 3), que provavelmente está associada a formação de
30 intermediários de alta valência, tais como $Fe^V=O$ [246]. A reação dos ligantes com $O_2^{\cdot-}$
31 também promove o surgimento de absorção em 368 nm (Figura 3S), e assim a atividade
32 antioxidante mimética à SOD pode ser resultante de um efeito sinérgico com contribuições

1 significativas de um mecanismo de transferência de hidrogênio (HT), atribuído ao ligante, e
 2 mecanismo redox, atribuído ao metal.

3 Figura 61 – Espectros eletrônicos provenientes da interação entre solução de KO_2 e o
 4 complexo (12). O espectro em verde é correspondente ao espectro de absorção do composto
 5 (12). A reação foi realizada na razão 1:10 (complexo:superóxido) e os espectros resultantes
 6 foram obtidos em intervalos de tempo de 10s.



7

8

9 5.4.3 Efeito protetor *in vitro* dos compostos de Fe(III) em células THP-1 submetidas ao
 10 estresse oxidativo induzido por Ditrinol

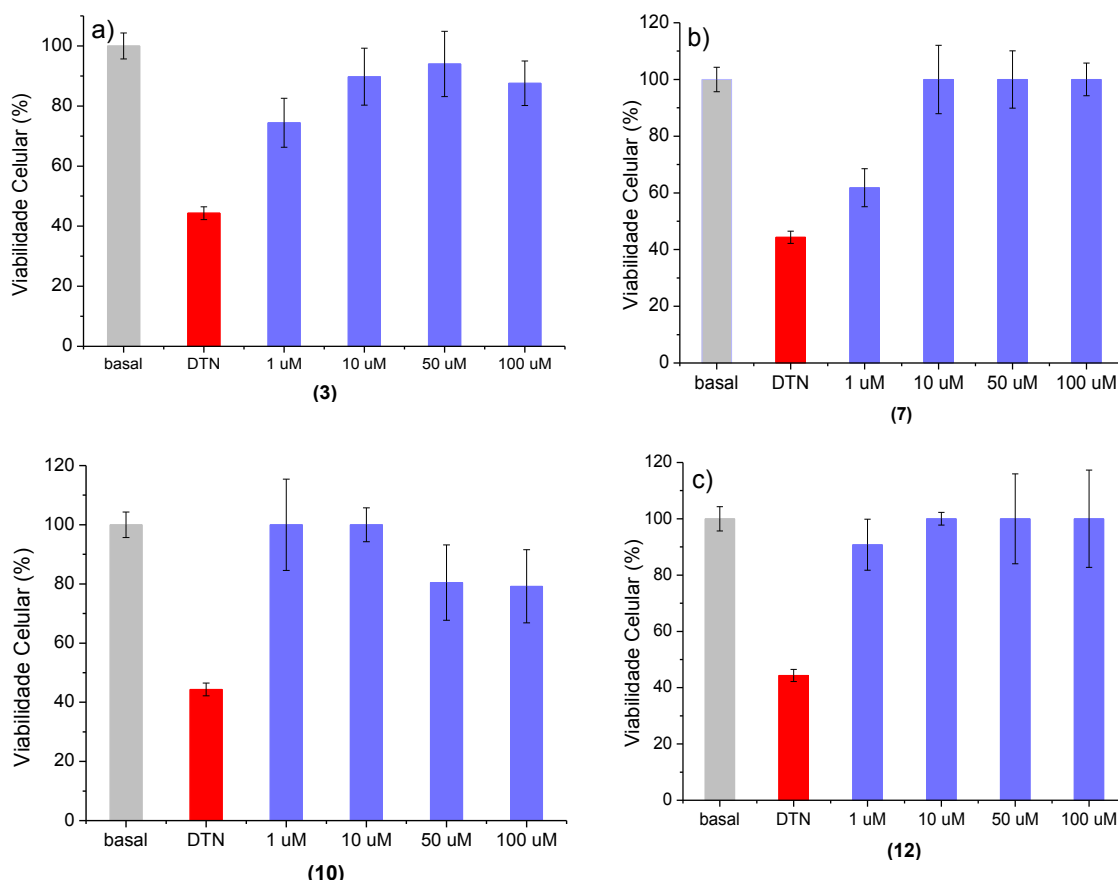
11 A avaliação dos dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas motivou a investigação
 12 da atividade mimética à SOD em modelos mais complexos. Dessa forma, a atividade
 13 protetora dos compostos de coordenação de Fe(III) foi investigada em modelo celular *in vitro*,
 14 empregando-se células THP-1, submetidas ao estresse oxidativo induzido por ditranol. O
 15 ditranol é um fármaco altamente eficiente no tratamento de psoríase, cujo mecanismo de ação
 16 envolve a formação de radicais livres tais como o ânion radical superóxido [247].

17 Todos os complexos de Fe presentes neste trabalho apresentaram baixa citotoxicidade
 18 (Figura 62), mantendo a viabilidade celular em altos níveis até $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e tiveram sua
 19 atividade antioxidante avaliada através do pré-tratamento de células THP-1 com compostos de
 20 coordenação de Fe(III) (10 mmol L^{-1}) submetidas ao posterior estresse induzido por ditranol
 21 ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$), pelo método do NBT [248]. Os compostos FeBMPA [22] e FeHP [22]

1 FeHBPA [249], FeH₂BPCINOL [251] e [Mn(salen)Cl] [205] foram usados neste estudo com
 2 fins comparativos, já que muitos deles atuam frente ao ânion radical superóxido *in vitro*.

3

4 Figura 62 –Avaliação da viabilidade celular dos compostos de coordenação de Fe(III), na
 5 faixa de 1-100 µM, frente a células THP-1, através do ensaio de MTT. As barras representas a
 6 média de sobrevivência das células em experimentos independentes ± erro padrão da média (n=4).



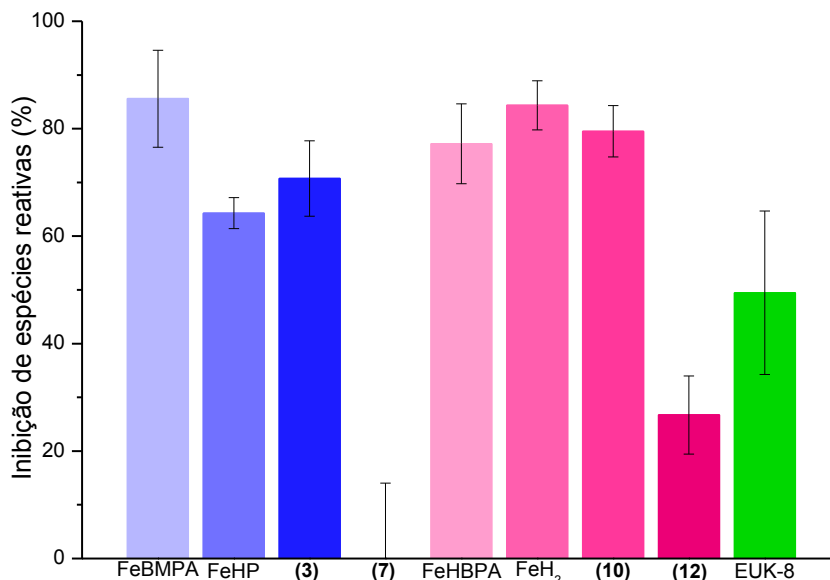
7

8 A Figura 63 apresenta os dados de inibição do estresse induzido por ditranol, em que
 9 os compostos de coordenação de Fe(III), com exceção do composto (7), apresentaram
 10 atividade antioxidante significativa. Os compostos (3), (10) e (12) reduziram em 70,71;
 11 e 26,71% as espécies reativas, respectivamente, enquanto o composto (7) atuou como pró-
 12 oxidante. Os complexos (3) e (10) apresentaram atividades protetoras semelhantes aos
 13 compostos de Fe(III) que já tem sua atividade estudada pelo grupo [22]. O composto
 14 [Mn(Salen)Cl], um estabelecido SOD mimético [205-207], apresentou atuação moderada,
 15 inibindo a formação de espécies reativas em 50%, valor inferior aos apresentados pelos
 16 compostos (3) e (10).

17

18

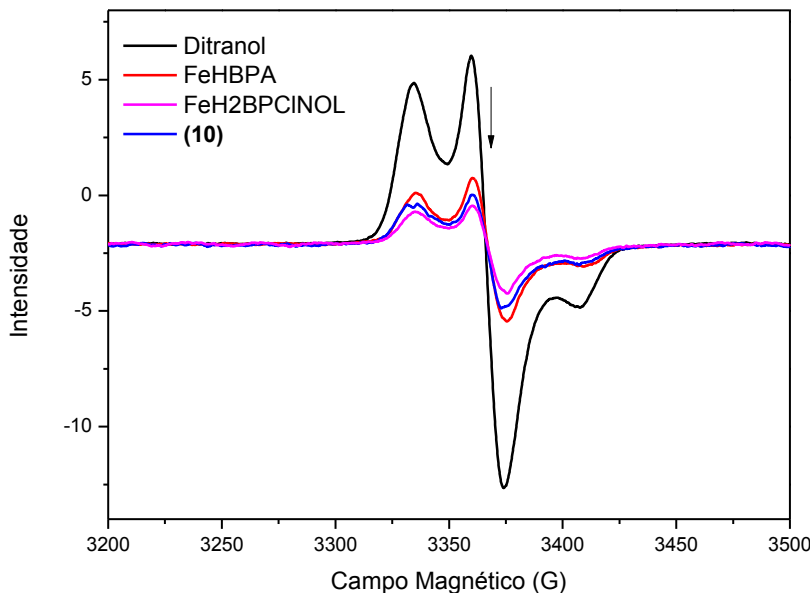
1 Figura 63 – Inibição de espécies reativas (%) em células THP-1, promovidas pelos compostos
 2 de coordenação de Fe(III) ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$), utilizando ditranol (DTN, $50 \mu\text{mol L}^{-1}$) como agente
 3 estressor, pelo método do NBT.



4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23

Para investigar o modo ação dos compostos de Fe, os complexos metálicos, FeHBPA, FeH₂BPCINOL e o composto **(10)** tiveram a atividade protetora frente ao estresse induzido por ditranol investigada por EPR, utilizando TEMPO (óxido de 2,2,6,6-tetrametil-piperidina), um *spin trap* bastante utilizado na identificação de EROs [252]. A detecção de espécies reativas para as células THP-1, está associada a produção de EROs para manutenção das suas atividades vitais. A indução do estresse pelo ditranol foi confirmada pelo aumento da intensidade do sinal do aduto TEMPO-EROs, indicando a geração de EROs [247]. O pré-tratamento das células indicou a atividade antioxidante dos compostos de Fe, confirmada pela redução da intensidade do sinal do aduto TEMPO-EROs, resultando em diminuição da quantidade de EROs e consequente proteção celular, corroborando com os dados obtidos pelo método do NBT (Figura 64). A utilização do TEMPO com *spin trap* permite a observação de diferentes dinâmicas, estruturas hiperfinas e anisotropia espectral em sistemas celulares, possibilitando a identificação da região celular de formação do aduto TEMPO-EROs [252]. O perfil espectral do aduto TEMPO-EROs obtido neste trabalho sugere que a atuação antioxidante ocorre no citosol, conforme proposto por Dobosz e colaboradores (2022) [253]. Assim, confirma-se que a atividade antioxidante exibida pelo complexo **(10)**, investigada pelo método do NBT, é mantida no estudo empregando-se células THP-1, pela técnica de EPR.

1 Figura 64 – Inibição de espécies reativas em células THP-1, promovidas pelos compostos de
 2 coordenação FeHBPA, FeH₂BPCINOL e **(10)** (10 μmol L⁻¹), utilizando ditranol (50 μmol L⁻¹)
 3 como agente estressor, investigadas por EPR a 240 K, utilizando TEMPO como *spin trap*.



4

5

6 **5.5 Atividade mimética à metaloenzima Catalase (CAT)**

7 Após triagem, os compostos de coordenação de Mn(II) foram selecionados para
 8 estudos de atividade mimética à metaloenzima catalase. Foram realizados estudos cinéticos
 9 (Figuras 65 e 5S), relativos à determinação do volume de O₂ produzido (volumetria) na reação
 10 de desproporcionamento do H₂O₂, catalisada pelos complexos **(4)** e **(8)**. Estudos comparativos
 11 foram realizados com o [Mn(HPCINOL)Cl₂] (MnHP), antioxidante amplamente estudado
 12 pelo grupo [22, 211-212], e com o [Mn(salen)Cl] [205], complexo de referência.

13 A determinação dos parâmetros cinéticos foi realizada através do método das
 14 velocidades iniciais, empregando-se o modelo de pseudo-ordem. A influência do catalisador e
 15 substrato na velocidade da reação, foi avaliada variando-se a concentração do catalisador,
 16 mantendo-se a concentração de H₂O₂ fixa, e na sequência, variando-se a concentração de
 17 H₂O₂, mantendo-se a concentração do catalisador fixa (Figura 24) [210].

18

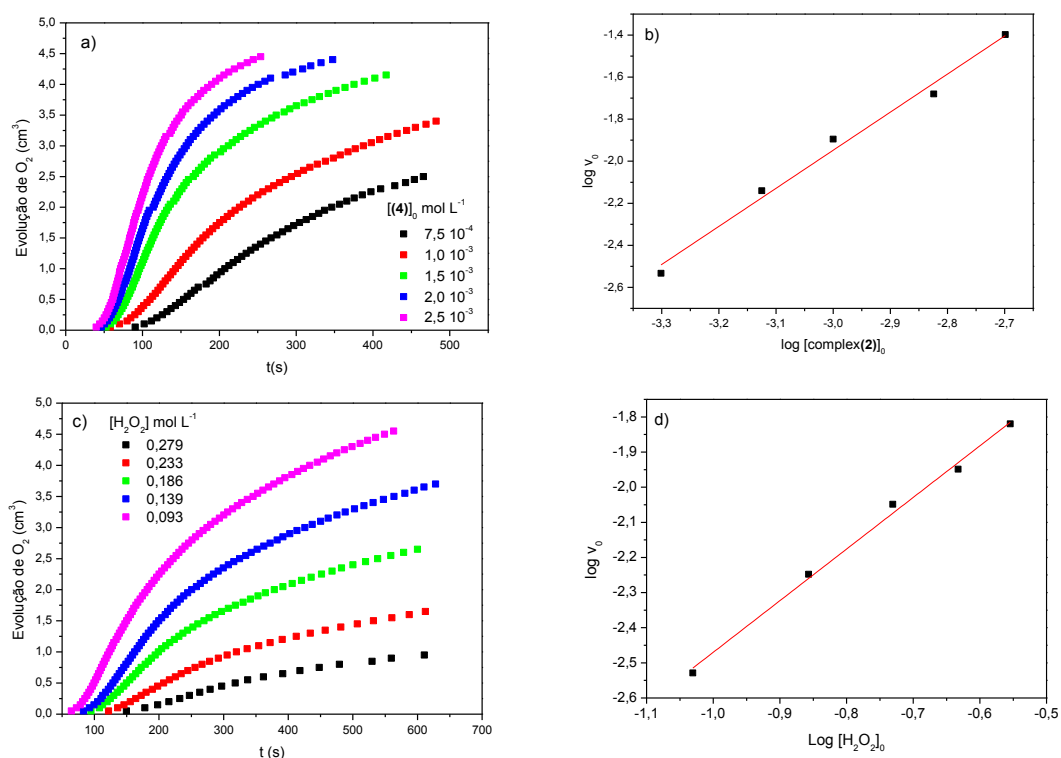
19

20

21

22

1 Fig 65 – Determinações volumétricas, na reação entre: A) H_2O_2 (233 mmol L^{-1}) e
 2 $[\text{Mn}(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ (**4**) em diferentes concentrações ($0,75$; $1,00$; $1,50$; $2,00$; $2,50 \text{ mmol L}^{-1}$); B)
 3 Dependência linear do log de v_{iniciais} vs $\log [\text{catalisador}]$, empregando-se as condições informadas
 4 no item a); C) Composto (**4**) (1 mmol L^{-1}) e H_2O_2 em diferentes concentrações ($0,093$; $0,139$;
 5 $0,186$; $0,233$ e $0,279 \text{ mol L}^{-1}$); D) Dependência linear do log de v_{iniciais} vs $\log [\text{catalisador}]$,
 6 empregando-se as condições informadas no item C). As reações foram conduzidas
 7 empregando-se $5,0 \text{ mL}$ de tampão PBS ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH } 7,4$), $T = 298 \text{ K}$.



8
 9 Qualitativamente, a adição de H_2O_2 às soluções dos complexos de Mn induziu
 10 mudança de coloração de incolor para amarelo, e só então foi verificada a evolução de O_2 . Tal
 11 mudança de cor sugere a oxidação a Mn^{III} podendo ainda estar associada a alguma alteração
 12 estrutural, com a formação de uma espécie ativa distinta do complexo original. A
 13 determinação das leis de velocidade resultou na obtenção de ordens de reação fracionárias,
 14 para o substrato e para o catalisador, sendo isto associado à formação de intermediários
 15 durante a reação de desproporcionamento do H_2O_2 , conforme previamente relatado pelo nosso
 16 grupo, para o composto $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})(\text{NO}_3)_2]$ [210]. Em relação às velocidades iniciais,
 17 obteve-se a ordem: $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})\text{Cl}_2] > \text{(8)} > \text{(4)} > [\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}]$ (Tabela 18), enquanto
 18 que em relação à eficiência, obtida pelo volume de O_2 produzido, a ordem de atividade foi
 19 $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})\text{Cl}_2] \approx \text{(8)} > \text{(4)} > [\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}]$. Assim, observou-se que a inserção da

1 cumarina para formação dos complexos (4) e (8) não apresentou significativas melhorias na
 2 interação direta com H₂O₂, em relação ao complexo [Mn(HPCINOL)Cl₂]. O composto (8)
 3 produziu o mesmo volume de O₂ que o composto de referência MnHP, motivando a
 4 investigação mecanística dessa reação e a comparação com o mecanismo proposto para o
 5 composto MnHP, feito em 2009, pelo nosso grupo [210].

6

7 Tabela 18- Parâmetros da atividade mimética à catalase, obtidos para os compostos
 8 [Mn(HL1)Cl₂] (4), [Mn(HL2)Cl₂].0,7CH₃OH (8), MnHP e [Mn(salen)Cl].

Composto	Lei de velocidade	Velocidade Inicial (mmol de O ₂ s ⁻¹) ^a	Evolução de O ₂ (cm ³) ^b
MnHP	$k_{\text{obs}}[\text{complexo (1)}]^{0,95}[\text{H}_2\text{O}_2]^{1,42}$	0,838	2,85
(4)	$k_{\text{obs}}[\text{complexo (2)}]^{1,81}[\text{H}_2\text{O}_2]^{1,47}$	0,438	1,10
(8)	$k_{\text{obs}}[\text{complexo (3)}]^{0,55}[\text{H}_2\text{O}_2]^{1,72}$	0,634	2,85
[Mn(salen)Cl]	$k_{\text{obs}}[\text{Mn(salen)Cl}]^{1,21}[\text{H}_2\text{O}_2]^{1,91}$	0,205	0,80

9 ^aVelocidade inicial medida nas condições: [H₂O₂] = 233 mmol L⁻¹; [complexo de Mn] = 1
 10 mmol L⁻¹.

11 ^bVolume de O₂ (cm³) produzido nas condições de: [H₂O₂] = 233 mmol L⁻¹; [complexo de Mn]
 12 = 1 mmol L⁻¹, medido 150 s após a adição de H₂O₂.

13

14 Com base nos dados cinéticos, estudos mecanísticos da reação de
 15 desproporcionamento de H₂O₂ foram realizados empregando-se medidas de pH, técnicas
 16 espectroscópicas, como espectroscopia eletrônica na região do UV-vis e EPR, e
 17 espectrométricas como ESI-(+)-MS. Por EPR, utilizando DMPO como *spin trap*,
 18 evidenciamos o envolvimento do radical hidroxil (aN= 14,9 G, aH= 14,9 G) durante a reação
 19 de decomposição de H₂O₂ (Figura 66), sugerindo cisão homolítica. A quebra homolítica da
 20 molécula de H₂O₂, catalisada por complexos metálicos é descrita na literatura. Chen e
 21 colaboradores (2018) estudaram a reação de desproporcionamento de H₂O₂ por complexos de
 22 Fe e evidenciaram a formação de espécies de Fe(IV)=O, a partir da cisão homolítica da
 23 ligação O-O de espécies Fe(III)-OOH intermediárias, gerando o radical hidroxil [254].

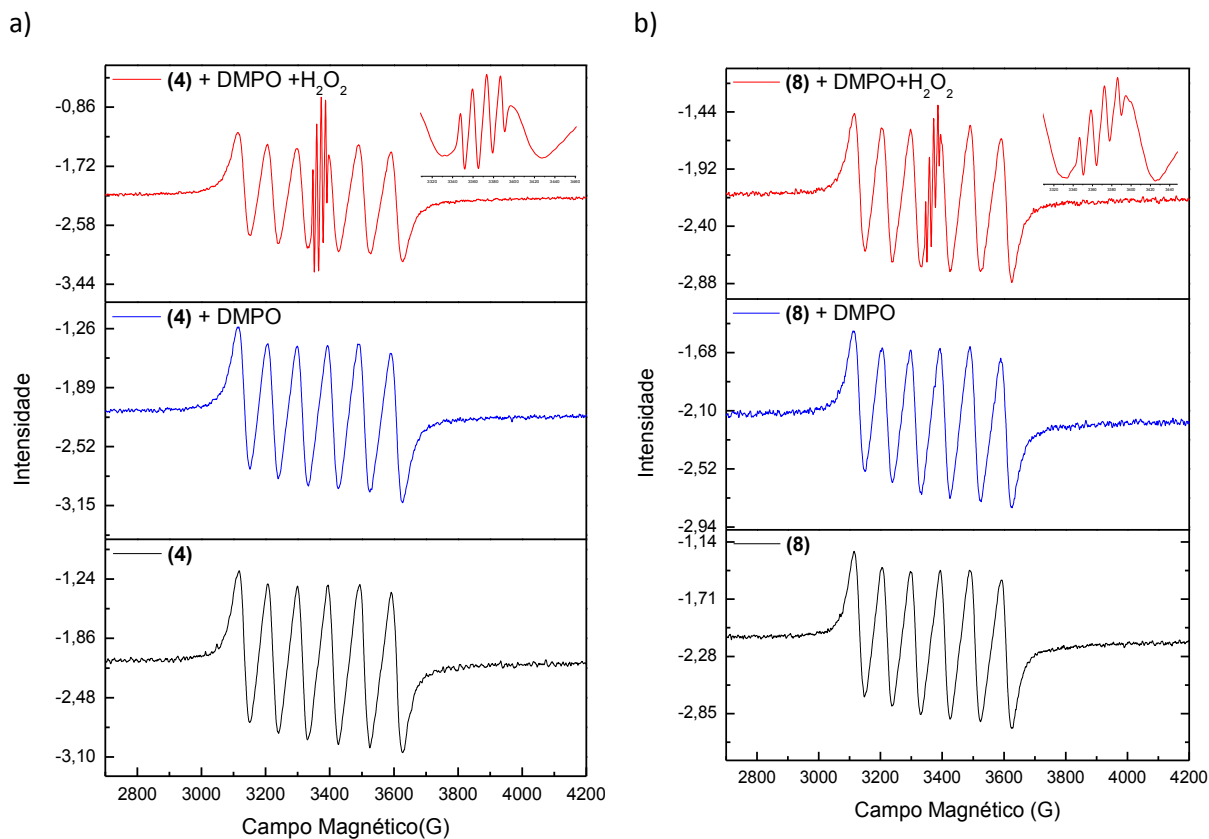
24

25

26

27

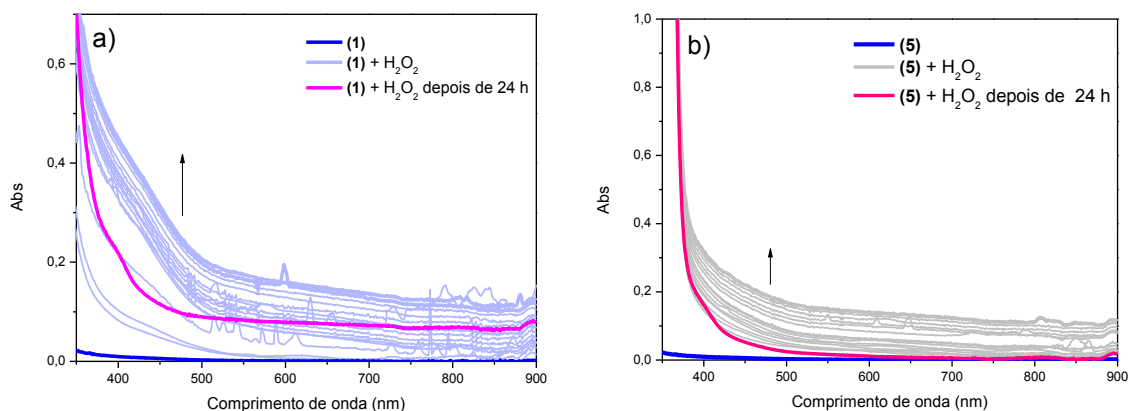
1 Figura 66 – Espectros de EPR (banda-X) para interações entre H_2O_2 279 mmol L^{-1} e solução
 2 tamponada (1 mmol L^{-1} , pH 7,4) dos compostos de coordenação de Mn(II) a) (4) e b) (8),
 3 usando DMPO como *spin trap*, a temperatura ambiente.



4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16

A oxidação do centro de Mn(II) foi evidenciada por Espectroscopia Eletrônica na região do UV-vis (Figura 67). A interação dos compostos de Mn(II) com H_2O_2 resultou no surgimento de uma banda de absorção de baixa absortividade molar, que é comumente associada à presença de espécies de $\text{Mn}^{\text{IV}}=\text{O}$ [28, 256-257]. Medidas de ESI-(+)-MS para a interação do composto (4) com H_2O_2 mostraram a presença de um único sinal de m/z 525, associado à presença de espécies mononucleares $[\text{Mn}(\text{HL1})(\text{OH}_2)\text{Cl}]^+$ (Figura 68), indicando a coordenação de água ao centro de Mn durante a atividade mimética à catalase.

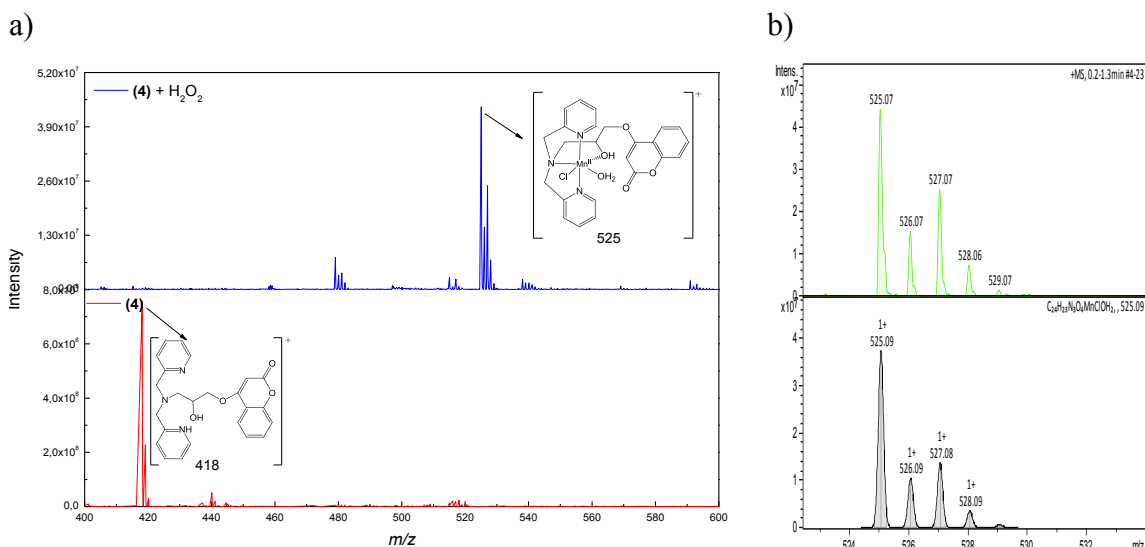
- 1 Figura 67 – Espectros eletrônicos dos compostos de coordenação de Mn(II) a) **(4)** ($7,5 \cdot 10^{-3}$
 2 mol L⁻¹) e b) **(8)** ($7,5 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹), após adição de H₂O₂ (10 μL, 11 mol L⁻¹), a 298 K.



3

4

- 5 Figura 68 – a) Espectro de ESI-(+)-MS para a reação entre o complexo de Mn(II) **(4)** e H₂O₂,
 6 em H₂O:MeOH, a 25 °C: antes da adição de H₂O₂ (linha vermelha) e após adição de H₂O₂
 7 (linha azul). b) Simulação de perfil isotópico experimental (verde) e teórico (cinza) para a
 8 espécie de *m/z* 525, [Mn(II)(HL1)(OH₂)Cl]⁺.



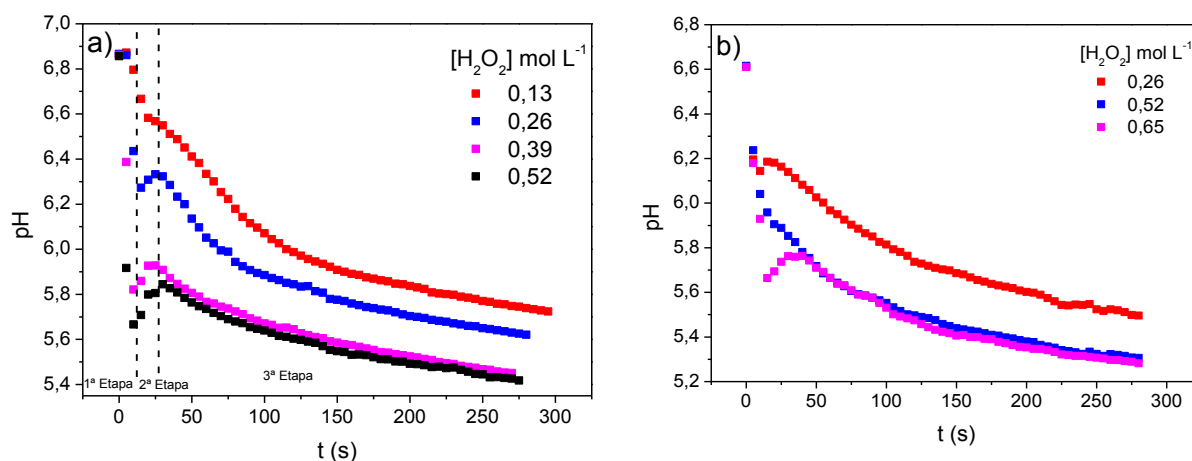
9

- 10 Medidas de pH durante a decomposição do H₂O₂ mostraram que esta reação ocorre em
 11 etapas (Figura 69). Inicialmente, há uma queda brusca no valor de pH, indicando que prótons
 12 estão sendo liberados durante a atividade mimética à CAT, que pode estar relacionado à
 13 ativação do H₂O₂, na presença do centro de Mn, para coordenação do ânion hidroperóxido ao
 14 centro metálico [255]. Numa segunda etapa, observou-se o aumento no valor de pH,
 15 indicando que prótons são consumidos para formação de espécies protonadas, como a

1 coordenação de água ao centro de Mn (observado por ESI-(+)-MS). Numa terceira etapa, um
 2 novo decaimento nos valores de pH sugere a coordenação de um peróxido adicional, a partir
 3 da formação do íon hidroperóxido, conforme observado por Lessa (2009) [210].

4

5 Figura 69 – Variação de pH durante a reação de desproporcionamento de H_2O_2 em diferentes
 6 concentrações, promovida pelos complexos de Mn(II): a) **(4)** (1 mmol L^{-1}) e b) **(8)** (1 mmol L^{-1})
 7 1), em solução aquosa, à $25 \text{ }^\circ\text{C}$.



8 Assim, o mecanismo proposto (Figura 70) considerou a formação de intermediários
 9 observados experimentalmente, incluindo a formação de espécies $[\text{Mn}(\text{HL1})(\text{OH}_2)\text{Cl}]^+$
 10 (detectado por ESI-(+)-MS), formação do radical hidroxil (detectado por EPR), mudança de
 11 estado de oxidação do centro de Mn (observado por espectroscopia eletrônica na região do
 12 UV-vis), evolução de oxigênio (medido por volumetria), bem como o monitoramento do pH.

13

14

15

16

17

18

19

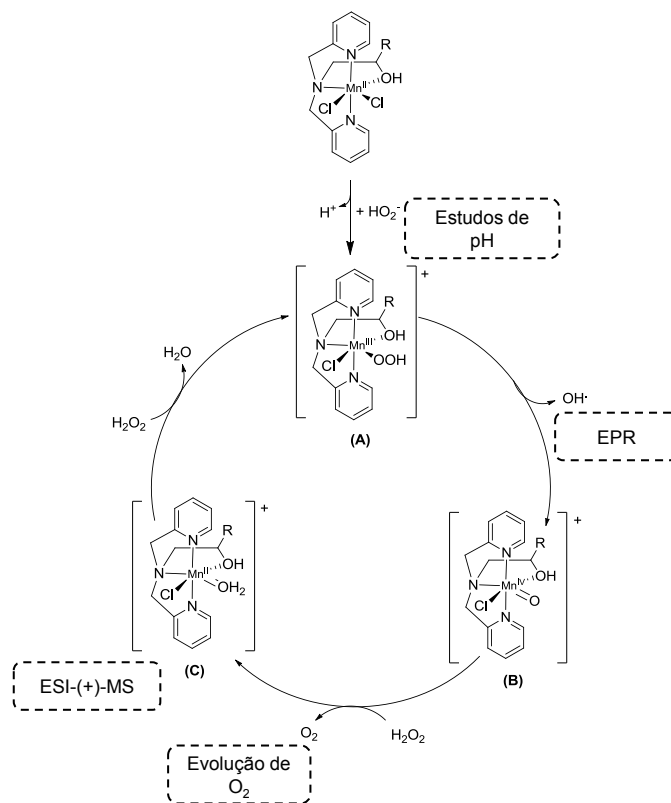
20

21

22

23

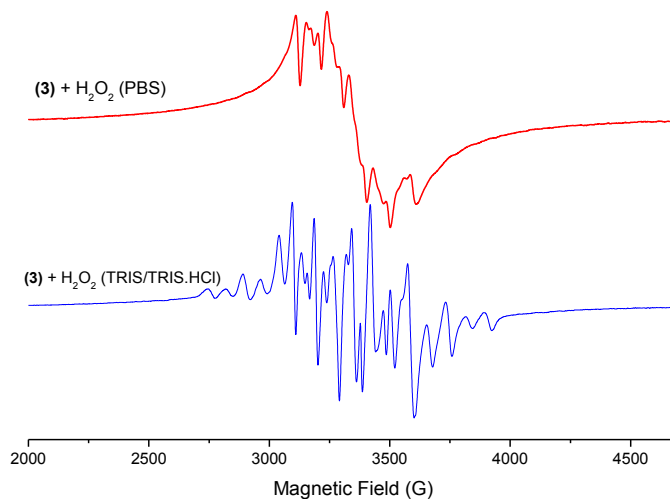
- 1 Figura 70- Proposta mecanística para atividade mimética a CAT promovida pelos complexos
 2 de Mn(II), baseado em estudos de pH, EPR, UV-vis, ESI-(+)-MS e evolução de O₂.



- 3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18

O mecanismo apresentado neste trabalho diverge de propostas mecanísticas já relatadas previamente pelo nosso grupo. Lessa e colaboradores (2009) propuseram que a decomposição do H₂O₂ pelo composto [Mn(HPCINOL)(NO₃)₂], em TRIS-HCl, envolve a participação de espécies binucleares do tipo [Mn^{III}Mn^{IV}(μ-O)₂(PCINOL)₂]⁺ [210]. No presente trabalho, os estudos cinéticos foram realizados em PBS e não observamos o envolvimento de espécies binucleares durante a decomposição do H₂O₂. Além disso, pela primeira vez no grupo, relatamos o envolvimento de radicais livres durante a atividade mimética à CAT. Para confirmar a influência dos componentes do tampão no mecanismo, o desproporcionamento de H₂O₂ promovido pelo complexo (4) foi investigado por EPR (Figura 71), empregando-se TRIS-TRIS/HCl e foi observada a obtenção de um sinal espectral constituído de 16 linhas, típico de espécies binucleares de alta valência, Mn^{III}Mn^{IV}, conforme relatado por Lessa e colaboradores [210]. Isso indica que o meio tem importância significativa no mecanismo de ação dos compostos de Mn(II) e pode modular a atividade mimética frente ao H₂O₂.

1 Figura 71 – Espectros de EPR para reação de desproporcionamento de H_2O_2 (233 mmol L^{-1})
 2 pelo complexo (4) (1 mmol L^{-1}), empregando-se PBS ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,4, vermelho) e TRIS-
 3 TRIS/HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,4, azul) como meio tamponante, obtidos a 120 K.



4

5

6 *5.5.1 Efeito protetor dos compostos de Mn(II) na inibição da peroxidação lipídica*
 7 *empregando-se homogenato de fígado de camundongo (estudo ex-vivo)*

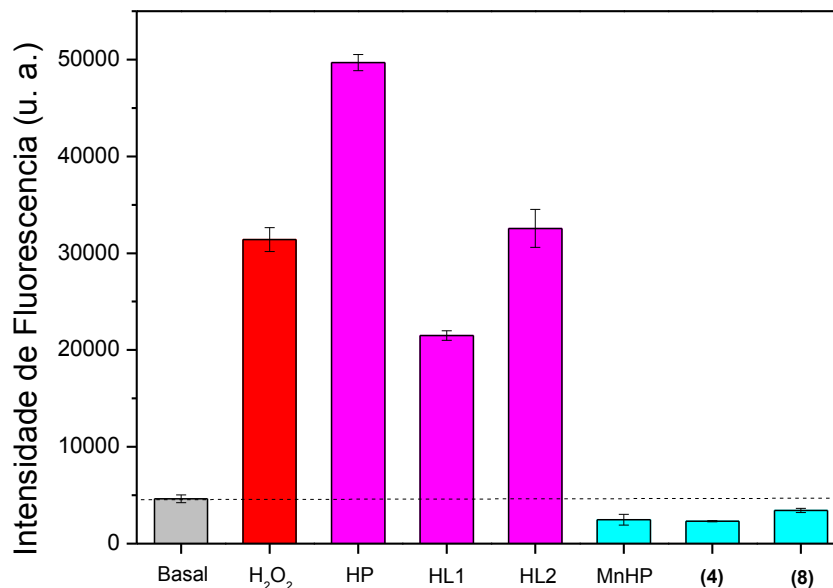
8 Os resultados dos estudos cinéticos e mecanísticos nos motivaram a investigar a
 9 atividade antioxidante dos complexos de Mn(II) frente ao estresse induzido por H_2O_2 em
 10 modelos biológicos mais complexos. Assim, o homogenato de fígado de camundongo foi
 11 escolhido como modelo de avaliação do efeito protetor frente à peroxidação lipídica induzida
 12 por peróxido de hidrogênio, já que consiste em um tecido sensível aos efeitos do estresse
 13 oxidativo e responde pelo aumento dos níveis do biomarcador malondialdeído (MDA),
 14 determinado por análises de fluorescência, empregando o método TBARS (espécies reativas
 15 ao ácido tiobarbitúrico) [22]. Assim, o homogenato foi pré-tratado com os ligantes,
 16 complexos (4) e (8), e os complexos de referência $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})\text{Cl}_2]$ [22] e $[\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}]$
 17 [205]. O efeito protetor dos compostos de coordenação e seus respectivos ligantes frente a
 18 peroxidação lipídica induzida por H_2O_2 foi avaliado. O homogenato não tratado (basal) e o
 19 homogenato submetido ao estresse com H_2O_2 foram usados como controles.

20 A Figura 72 apresenta a intensidade de fluorescência dos níveis de MDA para os
 21 controles e pré-tratamentos com os compostos de Mn(II) ou ligantes, empregando-se a
 22 concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. A peroxidação lipídica induzida por H_2O_2 foi confirmada pelo
 23 aumento da intensidade de fluorescência, resultando no aumento dos níveis de TBARS no
 24 homogenato. O pré-tratamento do homogenato com os ligantes mostrou comportamento

1 distintos: o ligante HPCINOL atuou como pró-oxidante, HL1 atuou como antioxidante e HL2
 2 não apresentou efeito significativo como protetor da peroxidação lipídica. Esses resultados
 3 sugerem que a incorporação da cumarina na estrutura do ligante HPCINOL, resultando nos
 4 ligantes HL1 e HL2, traz efeitos positivos na atividade antioxidante, especialmente para o
 5 ligante HL1, que pode estar associado a isomeria. Isto é esperado, já que cumarinas são
 6 moléculas naturais com propriedades antioxidantes amplamente relatadas [33-34]. Os
 7 complexos [Mn(HPCINOL)Cl₂], **(4)** e **(8)** inibiram a peroxidação lipídica com redução dos
 8 seus níveis aos níveis basais, indicando que a inserção do Mn(II) promoveu a potencialização
 9 da atividade antioxidante dos ligantes. Esse comportamento está associado à incorporação do
 10 mecanismo redox na atividade catalítica, já que a decomposição do H₂O₂ por complexos
 11 metálicos é amplamente relatada e investigada [209, 257].

12

13 Figura 72- Gráficos das concentrações de MDA medido em homogenato de fígado de
 14 camundongos adultos, pré-tratados com os ligantes (HPCINOL, HL1 e HL2) e complexos de
 15 Mn(II) (MnHP, **(4)** e **(8)**) (10 μmol L⁻¹) e expostos ao estresse induzido por H₂O₂, pelo
 16 método TBARS. A intensidade da fluorescência é proporcional à concentração de MDA.



17

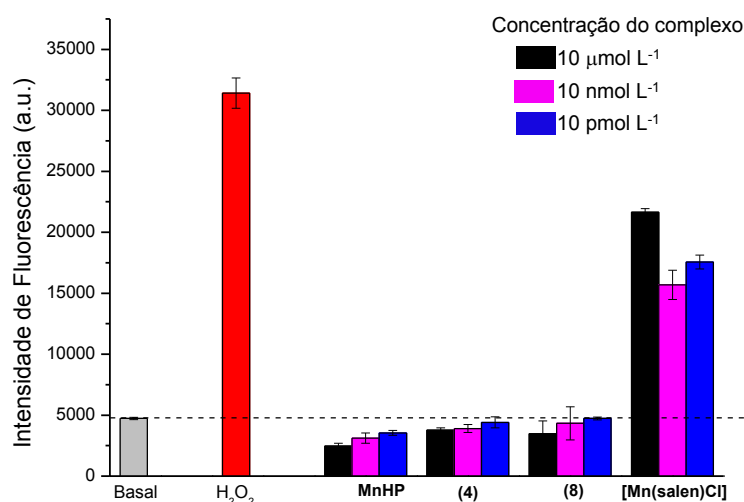
18

19 Apesar dos estudos cinéticos não indicarem melhoria da atividade mimética à CAT
 20 para os compostos **(4)** e **(8)**, em relação ao MnHP, os dados de proteção do homogenato *ex*
 21 *vivo* sugerem que a inserção de grupos cumarínicos na estrutura de complexos de Mn(II) é
 22 positiva. A inserção destes grupos pode promover ação por vias secundárias, já que o

1 homogenato é um sistema mais complexo que o estudo da interação direta com o H₂O₂, nos
2 quais pode envolver a expressão de enzimas antioxidantes ou efeito sinérgico [259].

3 Estudos posteriores foram realizados para determinação da faixa de concentração em
4 que os compostos atuam na proteção contra a peroxidação lipídica induzida por H₂O₂. A
5 Figura 73 apresenta a intensidade de fluorescência dos níveis de MDA para o basal (sem
6 tratamento), estresse induzido por H₂O₂ e pré-tratamento com soluções dos complexos de
7 Mn(II) (10 μmol L⁻¹, 10 nmol L⁻¹, 10 pmol L⁻¹) bem como com o composto de referência
8 [Mn(salen)Cl]. Observou-se que com o decréscimo na concentração dos complexos metálicos
9 houve manutenção na redução dos níveis de MDA, indicando que os compostos de Mn(II)
10 relatados neste trabalho inibem a peroxidação lipídica mesmo em baixas concentrações, na
11 ordem de 10⁻¹² mol L⁻¹, já que os valores de fluorescência obtidos foram próximos do basal.
12 Assim, pode-se afirmar que esses compostos atuam como antioxidantes, uma vez que
13 antioxidantes são definidos como substâncias que, quando presente em baixas concentrações
14 comparadas a um substrato oxidável, retardam ou previnem a oxidação desse substrato [260].
15 Efeito similar foi observado por Menezes e colaboradores (2023), o qual relatou que a
16 potencialização da atividade antioxidante com a diminuição na concentração dos complexos
17 metálicos, empregados na redução ao estresse induzido pelo radical hidroxil, empregando-se
18 homogenato de fígado [22]. Além disso, os complexos MnHP, (4) e (8) exibiram melhor
19 atividade antioxidante que o [Mn(salen)Cl] (complexo de referência), indicando baixa
20 atividade mimética à catalase para o complexo padrão. Este resultado é esperado, já que a
21 baixa atividade mimética à CAT do [Mn(salen)Cl] é relatada na literatura. [205].

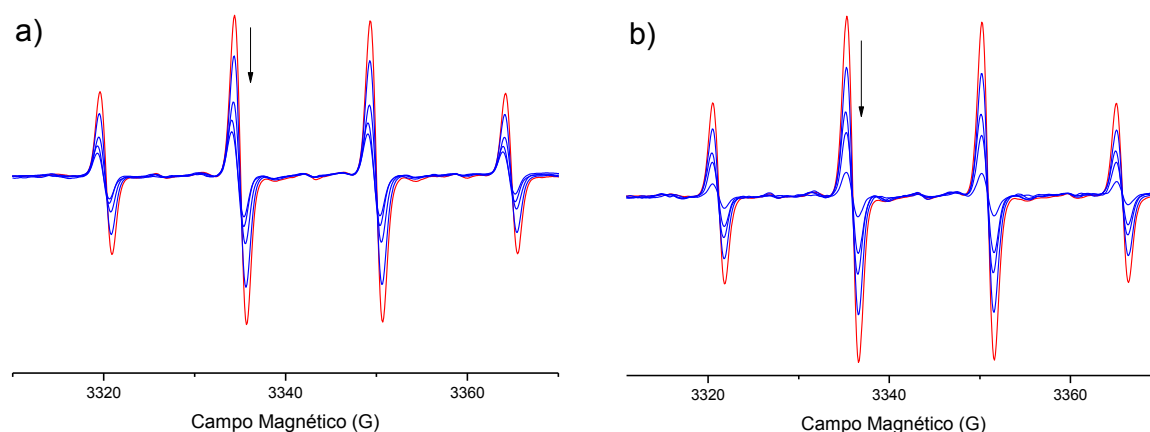
22 Figura 73 – Gráfico dos níveis de MDA, empregando-se homogenato de fígado de
23 camundongos, pré-tratado com os complexos MnHP, (4), (8) e [Mn(salen)Cl] (10 μmol L⁻¹,
24 10 nmol L⁻¹ e 10 pmol L⁻¹) e expostos ao estresse induzido pela adição de H₂O₂.



1 5.5.2 Atividade dos compostos de Mn(II) frente ao radical hidroxil

2 A liberação do radical hidroxil durante a atividade mimética a catalase nos motivou a
 3 investigar a atividade antioxidante dos compostos de Mn(II) frente a este radical, pois o
 4 radical hidroxil constitui uma espécie reativa de oxigênio bastante nociva ao corpo humano, já
 5 que não possuímos sistema de defesa antioxidante frente a esta espécie reativa [260-261].
 6 Dessa forma, inicialmente foi investigada a interação entre os compostos de Mn(II) e o radical
 7 hidroxil por EPR, empregando DMPO como *spin trap* (Figura 74).

8 Figura 74 – Espectros de EPR do aduto DMPO-OH (linha vermelha) e titulação com
 9 diferentes concentrações dos complexos de Mn(II) **(4)** (25,0; 37,5; 50,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e
 10 **(8)** (25,0; 50,0; 75,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), a temperatura ambiente.



11 A Tabela 19 apresenta os valores de IC_{50} para os complexos **(4)** e **(8)**, obtidos neste
 12 trabalho, e valores relatados na literatura para os compostos $[\text{Mn}(\text{HPCINOL})\text{Cl}_2]$ e
 13 $[\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}]$. Observou-se boa atividade para os compostos de Mn(II) relatados neste
 14 trabalho, com valores de CI_{50} próximos aos valores relatados para o composto de referência
 15 MnHP, antioxidante amplamente estudado pelo grupo [22]. A ordem de atividade frente o
 16 radical hidroxil foi: $[\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}] > \text{MnHP} > \mathbf{(8)} > \mathbf{(4)}$.

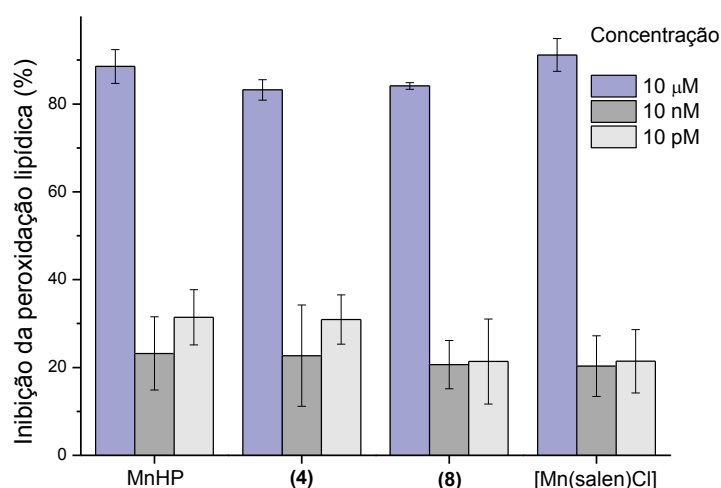
17 Tabela 19- Valores de CI_{50} para interações entre os complexos de Mn e o radical hidroxil, por
 18 EPR, empregando-se DMPO como *spin trap*, à temperatura ambiente.

Complexo	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
MnHP	$41,35 \pm 1,38$	[22]
(4)	$53,60 \pm 1,93$	Este trabalho
(8)	$43,63 \pm 2,99$	Este trabalho
$[\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}]$	$29,11 \pm 8,30$	[22]

1 A atividade antioxidante *ex vivo* frente ao $\cdot\text{OH}$ foi avaliada empregando homogenato
 2 de fígado de camundongo suíço, pelo método TBARS, conforme previamente descrito
 3 (Figura 75). O estresse foi induzido pela reação de Fenton, utilizando H_2O_2 ($50\ \mu\text{L}$, $40\ \mu\text{mol}$
 4 L^{-1}) e $[\text{Fe}(\text{SO}_4)_2(\text{NH}_4)]$ ($50\ \mu\text{L}$, $4\ \mu\text{mol L}^{-1}$) [20,22]. O pré-tratamento do homogenato com os
 5 complexos de Mn(II) ($10\ \mu\text{mol L}^{-1}$), apresentou bons dados de inibição da peroxidação
 6 lipídica, com valores de inibição superiores a 80% para todos os complexos metálicos e
 7 seguindo a ordem de atividade: $[\text{Mn}(\text{salen})\text{Cl}] > \text{MnHP} > \mathbf{(8)} > \mathbf{(4)}$, em concordância com os
 8 dados obtidos nas análises de EPR. Observou-se uma relação de dependência entre a
 9 concentração dos compostos de Mn(II) e a atividade, de forma que a diminuição da
 10 concentração dos complexos metálicos promoveu decréscimo da atividade protetora, já que
 11 na faixa de concentração compreendida entre 10 nM e 10 pM, a inibição da peroxidação foi
 12 em torno de 30%, sendo de 80% na concentração de 10 μM . Isto indica que a concentração
 13 dos complexos de Mn(II) modula a atividade antioxidante, já que o decréscimo da
 14 concentração dos compostos promoveu redução do efeito protetor na peroxidação lipídica
 15 empregando-se este modelo biológico.

16

17 Figura 75 – Redução da peroxidação lipídica em homogenato de fígado de camundongo, pré-
 18 tratado com diferentes concentrações dos complexos de Mn ($10\ \mu\text{mol L}^{-1}$, $10\ \text{nmol L}^{-1}$ e 10
 19 pmol L^{-1}) e expostos ao estresse induzido pelo $\cdot\text{OH}$, empregando-se o método TBARS.



20

21

22 5.6 Atividade frente ao radical $\cdot\text{OH}$ dos compostos de Fe(III) e Cu(II): estudos *in vitro* 23 em células J774 e *ex vivo* empregando-se homogenato de fígado de camundongo

24

25

O alto potencial de redução do radical hidroxil (2,41 V) confere a este radical uma alta reatividade que, aliado a ausência de um sistema de defesa antioxidante para este radical,

1 torna esta espécie bastante nociva para o organismo humano [20]. A interação entre os
 2 compostos de Fe(III) e Cu(II) com o radical hidroxil foi avaliada por EPR, utilizando o
 3 DMPO como *spin trap* [20, 22]. A Tabela 20 apresenta os valores de CI_{50} para a inibição do
 4 radical hidroxil. Os compostos de Fe(III) apresentaram atividade antioxidante superior aos
 5 compostos de Cu(II), indicando que a natureza do metal tem influência na atividade
 6 antioxidante frente a este radical, conforme relatado por Menezes (2023) [22]. A ordem de
 7 atividade obtida foi: **(7) > (12) > (3) > (10) > (11) > (9) >> (2)**.

8 Tabela 20- Valores de CI_{50} para interações entre os complexos de Fe(III) e Cu(II) e o radical
 9 hidroxil, por EPR, empregando-se DMPO como *spin trap*, à temperatura ambiente.

Metal	Complexo	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Cu(II)	(2)	148,68 \pm 14,93
	(6)	66,46 \pm 3,03
	(9)	91,77 \pm 2,06
	(11)	76,27 \pm 1,90
Fe(III)	(3)	48,86 \pm 3,13
	(7)	15,30 \pm 1,90
	(10)	61,88 \pm 0,83
	(12)	41,14 \pm 0,30

10

11 Os resultados obtidos via EPR, *in vitro*, nos motivaram a avaliar a atividade
 12 antioxidante frente ao radical hidroxil em modelos biológicos mais complexos. Dessa forma,
 13 a capacidade antioxidante dos compostos de Fe(III) e Cu(II) foi investigada *in vitro* contra o
 14 estresse induzido pelo radical hidroxil, em células da linhagem J774 (Fig. 76). O estresse foi
 15 induzido pela reação de Fenton [221], e a atividade foi avaliada pelo método do NBT [218].
 16 Com exceção do complexo **(2)**, todos os compostos avaliados inibiram a formação de espécies
 17 reativas em valores acima de 60%. Observou-se que a atividade antioxidante foi maior para os
 18 compostos de Fe(III), indicando influência da natureza do metal, conforme observado por
 19 EPR. Além disso, as maiores atividades dos foram obtidas para os complexos metálicos que
 20 possuem ligante com o grupo 7-HC, indicando efeito da isomeria na atividade antioxidante.

21

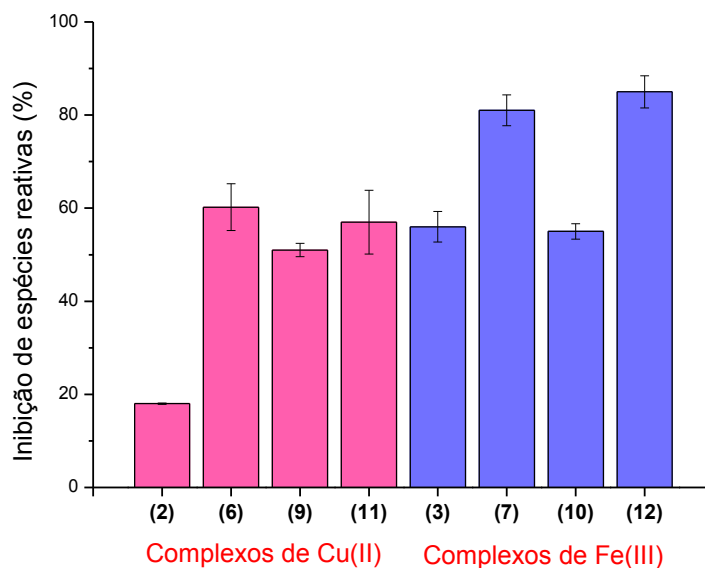
22

23

24

25

1 Figura 76 – Inibição de espécies reativas (%) em células J774, promovidas pelos compostos
 2 de coordenação de Fe(III) e Cu(II) ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$), utilizando hidroxil ($[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 3 ($4 \mu\text{mol L}^{-1}$) e H_2O_2 ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) como agente estressor, pelo método do NBT.



4

5

6 Posteriormente, as atividades antioxidantes dos compostos de coordenação de Fe(III) e
 7 Cu(II) foram ainda avaliadas em modelos biológicos *ex vivo*, a partir da investigação da faixa
 8 de concentração de atuação antioxidante desses compostos contra o estresse oxidativo
 9 induzido pelo radical hidroxil, empregando-se homogenato de fígado de camundongos suíços.
 10 O estresse foi induzido pela reação de Fenton [221] e a capacidade antioxidante foi avaliada
 11 pelo método TBARS [20, 22]. A Tabela 21 apresenta dos dados de inibição da peroxidação
 12 lipídica para os compostos de Cu(II) e Fe(III) em diferentes faixas de concentração. As
 13 melhores atividades antioxidantes para os compostos de Cu(II) foram observada nas
 14 concentrações de 10 nmol L^{-1} e 10 pmol L^{-1} , indicando que a concentração dos complexos
 15 metálicos modula a atividade antioxidante [259]. Curiosamente, as propriedades redox dos
 16 compostos de Fe(III) também foram moduladas em função da concentração, já que a atuação
 17 antioxidante desses compostos foi potencializada com o decréscimo da concentração do
 18 complexo. Na escala micromolar, todos os compostos de Fe(III) atuaram como pró-oxidantes
 19 e tiveram sua atividade antioxidante expressa nas escalas de concentração correspondentes a
 20 nanomolar e picomolar. Assim, observamos a mudança de uma atuação pró-oxidante
 21 antioxidante, alterando apenas a concentração do composto testado. Esse resultado abre a
 22 perspectiva de investigação mais profunda da influência do status redox desses compostos em
 23 modelos biológicos para direcionamento em futuras aplicações.

24

1 Tabela 21- Valores de inibição da peroxidação lipídica dos complexos de Fe(III) e Cu(II) (10
 2 μM , 10 nM e 10 pM) contra o estresse induzido pelo radical hidroxil, em homogenato de
 3 fígado de camundongos, pelo método TBARS.

Metal	Complexo	Concentração	Inibição (%)	Classificação
Cu(II)	10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(2)	8,63 \pm 2,31	Antioxidante
		(6)	4,23 \pm 1,65	Antioxidante
		(9)	-	Pró-oxidante
		(11)	-	Pró-oxidante
	10 nmol L ⁻¹	(2)	43,61 \pm 6,87	Antioxidante
		(6)	8,69 \pm 2,03	Antioxidante
		(9)	33,25 \pm 4,44	Antioxidante
		(11)	5,20 \pm 2,37	Antioxidante
	10 pmol L ⁻¹	(2)	10,87 \pm 4,89	Antioxidante
		(6)	13,43 \pm 2,55	Antioxidante
		(9)	53,13 \pm 8,52	Antioxidante
		(11)	23,44 \pm 4,88	Antioxidante
Fe(III)	10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(3)	-	Pró-oxidante
		(7)	-	Pró-oxidante
		(10)	-	Pró-oxidante
		(12)	-	Pró-oxidante
	10 nmol L ⁻¹	(3)	8,19 \pm 5,15	Antioxidante
		(7)	31,46 \pm 1,23	Antioxidante
		(10)	-	Pró-oxidante
		(12)	-	Pró-oxidante
	10 pmol L ⁻¹	(3)	37,74 \pm 4,30	Antioxidante
		(7)	39,45 \pm 0,82	Antioxidante
		(10)	39,79 \pm 3,87	Antioxidante
		(12)	23,44 \pm 4,11	Antioxidante

4 Os valores negativos representam uma atividade pró-oxidante

5

1 6 CONCLUSÃO

2 Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados uma série de compostos orgânicos
3 (HL1, HL2, H2L1 e H2L2) contendo grupos cumarínicos isoméricos (4-hidroxycumarina e 7-
4 hidroxycumarina) e seus compostos de coordenação de Co(II), Cu(II), Fe(III) e Mn(II), os
5 quais tiveram suas propriedades biológicas avaliadas, empregando-se modelos antiparasitário
6 e antioxidantes, contendo estudos *in vitro*, *in silico* e *ex vivo*.

7 Os compostos de coordenação de Co(II) apresentaram boa atividade antiproliferativa
8 frente à forma promastigota da *Leishmania amazonensis*, cujo mecanismo de ação proposto
9 para o complexo (5) envolve aumento do potencial de membrana mitocondrial, levando a
10 alterações estruturais na morfologia do parasita, típicas de morte celular por apoptose.

11 Os compostos de Fe(III) se apresentaram como potenciais modelos miméticos da
12 metaloenzima SOD, onde a atividade mimética foi modulada pela natureza do ligante. O
13 composto (10) apresentou boa capacidade de proteção de células THP-1 do estresse induzido
14 pelo ditranol, contribuindo para regulação da homeostase celular no citosol.

15 Os compostos de coordenação de Mn(II) tiveram sua atividade mimética à
16 metaloenzima CAT avaliada por meio de estudos cinéticos e mecanísticos, onde se
17 evidenciou, pela primeira vez no grupo, o envolvimento do radical hidroxil durante a
18 atividade de desproporcionamento do H₂O₂. Além disso, estes compostos mostraram grande
19 habilidade de proteger o homogenato de fígado de camundongos suíços do estresse, induzido
20 por peróxido de hidrogênio, mesmo em baixas concentrações como 12 pmol L⁻¹.

21 A atividade hidroxil foi avaliada para todos os complexos metálicos, onde se observou
22 que a atividade frente a este radical é modulada pela natureza do metal. Os compostos de
23 Fe(III) e Mn(II) tiveram atividades superiores aos compostos de Cu(II). Em contrapartida, os
24 compostos de Co(II) não exibiram atividade frente a este radical, fato que pode estar
25 associado a sua atividade leishmanicida.

26 Assim, este estudo fundamentou-se na aplicação biológica de compostos de
27 coordenação contendo vários metais de transição, onde foi observado que o *status* redox
28 modulou suas atividades antioxidantes (frente a EROs). Este estudo abre perspectivas para
29 exploração mais profunda das propriedades redox na modulação das atividades antioxidantes,
30 e aplicações futuras, empregando-se modelos biológicos de maior complexidade.

PERSPECTIVAS

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

- Avaliar a influência dos compostos de coordenação de Co(II) no status redox mitocondrial de formas promastigotas da *Leishmania amazonensis*;
- Avaliar a atividade *in vivo* dos compostos de coordenação de Co(II) na redução do tamanho e quantidade de parasitas na lesão promovida por parasitas do gênero *Leishmania*;
- Realizar estudos mecanísticos da atividade mimética à metaloenzima SOD *in vitro*, empregando-se qPCR para verificar a expressão de biomarcadores associados a atividade antioxidante ou anti-inflamatória;
- Avaliar a atividade antioxidante dos compostos de coordenação de Cu(II), Fe(III) e Mn(II) em modelos biológicos mais complexos (*in vivo*).

- 1 [12] KUMAR, V.; CHUGH, A. Peptide-mediated leishmaniasis management strategy:
2 tachyplesin emerges as an effective anti-leishmanial peptide against leishmania
3 donovani. **Biochimica et Biophysica Acta (Bba) - Biomembranes**, v. 1863, n. 8, p. 183629,
4 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183629>.
- 5 [13] BOGAART, E. et al. Duplex quantitative Reverse-Transcriptase PCR for simultaneous
6 assessment of drug activity against Leishmania intracellular amastigotes and their host
7 cells. **International Journal for Parasitology**, v. 4, n. 1, p. 14-19, 2014.
8 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2013.11.001>.
- 9 [14] KAUSHIK, B. et al. Toll-like receptor-7/8 agonist kill Leishmania amazonensis by
10 acting as pro-oxidant and pro-inflammatory agent. **Journal of Pharmacy And**
11 **Pharmacology**, v. 73, n. 9, p. 1180-1190, 2021. <http://dx.doi.org/10.1093/jpp/rgab063>.
- 12 [15] VISBAL, G. et al. Zinc(II)-Sterol Hydrazone Complex as a Potent Anti-Leishmania
13 Agent: synthesis, characterization, and insight into its mechanism of antiparasitic
14 action. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 4, p. 1113, 2023.
15 <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics15041113>.
- 16 [16] Keswani, C. **Bioeconomy for Sustainable Development**. Springer, 2020.
17 doi:10.1007/978-981-13-9431-7
- 18 [17] ÁLVAREZ, C. M. M.; HERNÁNDEZ-CRUZ, E. Y.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.
19 Oxidative stress in animal models of obesity caused by hypercaloric diets: a systematic
20 review. **Life Sciences**, v. 331, p. 122019, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122019>.
- 21 [18] ZHANG, H. et al. Oxidative stress: roles in skeletal muscle atrophy. **Biochemical**
22 **Pharmacology**, v. 214, p. 115664, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115664>.
- 23 [19] FENG, J. et al. Oxidative stress, the blood–brain barrier and neurodegenerative diseases:
24 the critical beneficial role of dietary antioxidants. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 13, n. 10,
25 p. 3988-4024, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2023.07.010>.
- 26 [20] SEGAT, B. B. et al. Scavenging of reactive species probed by EPR and ex-vivo
27 nanomolar reduction of lipid peroxidation of manganese complexes. **Journal of Inorganic**
28 **Biochemistry**, v. 239, p. 112060, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112060>.
- 29 [21] MACIEL, L. L. F et al. In Vitro and In Vivo Relevant Antineoplastic Activity of
30 Platinum(II) Complexes toward Triple-Negative MDA-MB-231 Breast Cancer Cell
31 Line. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 10, p. 2013, 2022.
32 <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14102013>.
- 33 [22] MENEZES, L. B. et al. ROS scavenging of SOD/CAT mimics probed by EPR and
34 reduction of lipid peroxidation in *S. cerevisiae* and mouse liver, under severe hydroxyl radical
35 stress condition. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 239, p. 112062, 2023.
36 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112062>.
- 37 [23] CARDOSO, A. P. et al. Development, structural, spectroscopic and in silico
38 investigation of new complexes relevant as anti-toxoplasma metallopharmacs. **Journal of**
39 **Molecular Structure**, v. 1265, p. 133380, 2022.
40 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133380>.

- 1 [24] AZEREDO, N. F. B. et al. Effect of the hydroxamate group in the antitumoral activity
2 and toxicity toward normal cells of new copper(II) complexes. **Biometals**, v. 34, n. 2, p. 229-
3 244, 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s10534-020-00275-9>.
- 4 [25] FERNANDES, C. et al. Synthesis, crystal structure, nuclease and in vitro antitumor
5 activities of a new mononuclear copper(II) complex containing a tripodal N3O
6 ligand. **Inorganica Chimica Acta**, v. 359, n. 10, p. 3167-3176, 2006.
7 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2006.04.007>.
- 8 [26] COSTA, R. O. et al. A New Mixed-Valence Mn(II)Mn(III) Compound With Catalase
9 and Superoxide Dismutase Activities. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 1-18, 5 2018.
10 <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2018.00491>.
- 11 [27] TERRA, Wagner da S. et al. Antitumor activity via apoptotic cell death pathway of water
12 soluble copper(II) complexes: effect of the diamino unit on selectivity against lung cancer nci-
13 h460 cell line. **Biometals**, v. 34, n. 3, p. 661-674, 2021. [http://dx.doi.org/10.1007/s10534-](http://dx.doi.org/10.1007/s10534-021-00302-3)
14 [021-00302-3](http://dx.doi.org/10.1007/s10534-021-00302-3).
- 15 [28] MARIANI, D. et al. Antitumoral synergism between a copper(II) complex and cisplatin
16 improves *in vitro* and *in vivo* anticancer activity against melanoma, lung and breast cancer
17 cells. **Biochimica et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, v. 1865, n. 10, p. 129963,
18 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129963>.
- 19 [29] LOPES, B. F. **Síntese, caracterização e avaliação da atividade antineoplásica de**
20 **compostos orgânicos e de coordenação de cobre: influência do naftol e da cumarina na**
21 **atividade biológica**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) - Universidade Estadual
22 do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes-RJ. 2012.
- 23 [30] MORCELLI, S. R.. **Síntese, caracterização e avaliação da atividade antibacteriana**
24 **de novos compostos de coordenação de cobalto e ferro**. 2012. Dissertação (Mestrado em
25 Ciências Naturais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos
26 Goytacazes-RJ. 2012.
- 27 [31] LI, Q. Enhanced biological activities of coumarin-functionalized polysaccharide
28 derivatives: chemical modification and activity assessment. **International Journal of**
29 **Biological Macromolecules**, v. 253, p. 126691, 2023.
30 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126691>.
- 31 [32] GARG, S. S. et al. An insight into the therapeutic applications of coumarin compounds
32 and their mechanisms of action. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 152, p.
33 105424, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105424>.
- 34 [33] SANTOS JUNIOR, C. M. et al. Coumarins from Rutaceae: chemical diversity and
35 biological activities. **Fitoterapia**, v. 168, p. 105489, 2023.
36 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105489>.
- 37 [34] ZOU, Y. et al. Recent advances in the biosynthesis of coumarin and its
38 derivatives. **Green Chemical Engineering**, 2023. No prelo.
39 <http://dx.doi.org/10.1016/j.gce.2023.04.003>.
- 40 [35] CHEN, W. et al. Artificial intelligence for drug discovery: resources, methods, and
41 applications. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 31, p. 691-702, 2023.
42 <http://dx.doi.org/10.1016/j.omtn.2023.02.019>.

- 1 [36] ASKR, H. et al. Deep learning in drug discovery: an integrative review and future
2 challenges. **Artificial Intelligence Review**, v. 56, n. 7, p. 5975-6037, 2022.
3 <http://dx.doi.org/10.1007/s10462-022-10306-1>.
- 4 [37] RAO, S. P. et al. Drug discovery for parasitic diseases: powered by technology, enabled
5 by pharmacology, informed by clinical science. **Trends in Parasitology**, v. 39, n. 4, p. 260-
6 271, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2023.01.010>.
- 7 [38] NASCIMENTO, L. B. S.; CASANOVA, LL. M.; COSTA, S. S. Bioactive Compounds
8 from Kalanchoe Genus Potentially Useful for the Development of New Drugs. **Life**, v. 13, n.
9 3, p. 646, 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/life13030646>.
- 10 [39] ASTARITA, G.; KELLY, R. S.; LASKY-SU, J. Metabolomics and lipidomics strategies
11 in modern drug discovery and development. **Drug Discovery Today**, v. 28, n. 10, p. 103751,
12 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103751>.
- 13 [40] ZHANG, T. et al. Metabolic pathways modulated by coumarin to inhibit seed
14 germination and early seedling growth in *Eleusine indica*. **Plant Physiology and**
15 **Biochemistry**, v. 203, p. 108035, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108035>.
- 16 [41] STEFANACHI, A. et al. Coumarin: a natural, privileged and versatile scaffold for
17 bioactive compounds. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 250, 2018.
18 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23020250>.
- 19 [42] RODRÍGUEZ, S. A. et al. Effect of different C3-aryl substituents on the antioxidant
20 activity of 4-hydroxycoumarin derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 21,
21 p. 6233-6238, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.09.012>.
- 22 [43] RÍO, J. A. et al. Furanocoumarins. **Studies In Natural Products Chemistry**, p. 145-195,
23 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-63430-6.00005-9>.
- 24 [44] FLORES-MORALES, V. et al. Therapeutic Effects of Coumarins with Different
25 Substitution Patterns. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2413, 2023.
26 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28052413>.
- 27 [45] BEESLEY, A. et al.. Engineered coumarin accumulation reduces mycotoxin-induced
28 oxidative stress and disease susceptibility. **Plant Biotechnology Journal**, 2023. No prelo.
29 <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.14144>.
- 30 [46] LI, . Z. et al. Pharmacological perspectives and molecular mechanisms of coumarin
31 derivatives against virus disease. **Genes & Diseases**, v. 9, n. 1, p. 80-94, 2022.
32 <http://dx.doi.org/10.1016/j.gendis.2021.03.007>
- 33 [47] ZHAO, H. et al. Coumarin-Based Inhibitors of HIV Integrase. **Journal of Medicinal**
34 **Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 242-249, 1997. American Chemical Society.
35 <http://dx.doi.org/10.1021/jm960450v>.
- 36 [48] SHARAPOV, A. et al. Plant Coumarins with Anti-HIV Activity: isolation and
37 mechanisms of action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2839,
38 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24032839>.
- 39 [49] STANCHEV, S. et al. Synthesis, computational study and cytotoxic activity of new 4-
40 hydroxycoumarin derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 4, p.
41 694-706, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.05.005>.

- 1 [50] Collin, H. S.; Warfarin sodium. Depositante: **Collin, H. S.** US3077481A .
- 2 [51] LIU, X.; ZHUANG, L.; GAN, B. Unleashing ferroptosis for cancer therapy with
3 warfarin. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, v. 34, n. 11, p. 683-684, 2023.
4 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2023.08.008>.
- 5 [52] BALÇİOĞLU, S. et al. Therapeutic potential of coumarin bearing metal complexes:
6 where are we headed?. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, n. 2, p. 126805,
7 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126805>.
- 8 [53] LI, D. et al. Hepatoprotective effect of 7-Hydroxycoumarin against Methyl glyoxal
9 toxicity via activation of Nrf2. **Chemico-Biological Interactions**, v. 276, p. 203-209, 2017.
10 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2017.02.020>.
- 11 [54] CRUZ, L. F. et al. Umbelliferone (7-hydroxycoumarin): a non-toxic antidiarrheal and
12 antiulcerogenic coumarin. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 129, p. 110432, 2020.
13 <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110432>.
- 14 [55] TODOROV, L.; SASO, L.; KOSTOVA, I. Antioxidant Activity of Coumarins and Their
15 Metal Complexes. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 5, p. 651, 2023.
16 <http://dx.doi.org/10.3390/ph16050651>.
- 17 [56] SUMI, M.; NEVADITHA, N.T.; KUMARI, B. S. Nano zinc Oxide-Ruthenium (III)
18 complex of novel coumarin derivative: synthesis, characterization, dna cleavage, anticancer
19 and bioimaging activities. **Bioorganic Chemistry**, v. 136, p. 106555, 2023.
20 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106555>.
- 21 [57] BERA, B. et al. New palladium (II) and platinum (II) complexes with coumarin based
22 O,N,N pincer: synthesis, structure elucidation, bsa protein binding studies, and anticancer
23 activity. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 37, n. 8, 2023.
24 <http://dx.doi.org/10.1002/aoc.7185>.
- 25 [58] MUJAHID, M. et al. Structural and Spectroscopic Study of New Copper(II) and Zinc(II)
26 Complexes of Coumarin Oxyacetate Ligands and Determination of Their Antimicrobial
27 Activity. **Molecules**, v. 28, n. 11, p. 4560, 2023.
28 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28114560>.
- 29 [59] SUNITHA, N.; RAJ, C. I. S.; KUMARI, B. S.. Synthesis, spectral studies, biological
30 evaluation and molecular docking studies of metal complexes from coumarin
31 derivative. **Journal of Molecular Structure**, v. 1285, p. 135443, 2023.
32 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135443>.
- 33 [60] KECEL-GUNDUZ, S. t al. New coumarin derivative with potential antioxidant activity:
34 synthesis, dna binding and in silico studies (docking, md, admet). **Arabian Journal of**
35 **Chemistry**, v. 16, n. 2, p. 104440, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104440>.
- 36 [61] GEETHA, B.M. et al. Coumarin substituted 4-aryl-1,2,4-triazolium salts and their
37 silver(I) N-heterocyclic carbene complexes: effects of counterions on the antioxidant and
38 antithrombotic properties. **Journal of Molecular Liquids**, v. 316, p. 113809, 2020.
39 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113809>.
- 40 [62] ONAR, H. C et al. Novel coumarin-chalcone derivatives: synthesis, characterization,
41 antioxidant, cyclic voltammetry, molecular modelling and biological evaluation studies as

- 1 acetylcholinesterase, α -glycosidase, and carbonic anhydrase inhibitors. **Chemico-Biological**
2 **Interactions**, v. 383, p. 110655, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110655>.
- 3 [63] UMADEVI, M.; MUTHURAJ, V.; VANAJOTHI, R.. Synthesis of coumarin derivatives
4 and its Ru(II) complexes encompassing pyrazole ring as a potent antidiabetic agents – A
5 biochemical perspective. **Inorganica Chimica Acta**, v. 492, p. 48-59, 2019.
6 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2019.04.029>.
- 7 [64] MAY, J.; LOESCHE, W.; HEPTINSTALL, S.. Glucose increases spontaneous platelet
8 aggregation in whole blood. **Thrombosis Research**, v. 59, n. 3, p. 489-495, 1990.
9 [http://dx.doi.org/10.1016/0049-3848\(90\)90409-6](http://dx.doi.org/10.1016/0049-3848(90)90409-6).
- 10 [65] RAVINDRANATH, T. M. et al. Novel Role for Aldose Reductase in Mediating Acute
11 Inflammatory Responses in the Lung. **The Journal Of Immunology**, v. 183, n. 12, p. 8128-
12 8137, 2009. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0900720>.
- 13 [66] PAGNIEZ, Julie *et al.* A systematic review of peptide-based serological tests for the
14 diagnosis of leishmaniasis. **Parasite**, v. 30, p. 10, 2023.
15 <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2023011>.
- 16 [67] WHO. **Leishmaniasis**. Disponível em: [https://www.who.int/health-](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1)
17 [topics/leishmaniasis#tab=tab_1](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1). Acesso em: 10 nov. 2023.
- 18 [68] KNIGHT, C. et al. Leishmaniasis: recent epidemiological studies in the middle
19 east. **Frontiers In Microbiology**, v. 13, 2023. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.1052478>.
- 20 [69] ADAV, Priya *et al.* Unusual Observations in Leishmaniasis — An
21 Overview. **Pathogens**, v. 12, n. 2, p. 297, 10 fev. 2023.
22 <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens12020297>.
- 23 [70] ORNELLAS-GARCIA, Uyla *et al.* Malaria and leishmaniasis: updates on co-
24 infection. **Frontiers In Immunology**, v. 14, 2023.
25 <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1122411>.
- 26 [71] CHAGAS, B. D. *et al.* Interspecies and Intrastrain Interplay among Leishmania spp.
27 Parasites. **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 1883, 2022.
28 <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10101883>.
- 29 [72] SINHA, R. *et al.* Genome Plasticity in Cultured Leishmania donovani: comparison of
30 early and late passages. **Frontiers In Microbiology**, v. 9, 2018.
31 <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.01279>.
- 32 [73] PAL, Rohit *et al.* The role of natural anti-parasitic guided development of synthetic drugs
33 for leishmaniasis. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 258, p. 115609, 2023.
34 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115609>.
- 35 [74] TABBABI, Ahmed *et al.* Effects of host species on microbiota composition in
36 Phlebotomus and Lutzomyia sand flies. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, 31 ago. 2023.
37 Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-023-05939-2>.
- 38 [75] FIGUEIREDO, Lorena Pinheiro *et al.* Brief communication: vitamin d serum levels in
39 american tegumentary leishmaniasis from an endemic area in northeast brazil. **The Brazilian**
40 **Journal of Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. 102720, 2023.
41 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2022.102720>.

- 1 [76] BAMOROVAT, Mehdi *et al.* Mutual Role of Patients and the Healthcare System in the
2 Control of Cutaneous Leishmaniasis. **Transboundary And Emerging Diseases**, v. 2023, p.
3 1-15, 2023. <http://dx.doi.org/10.1155/2023/7814940>.
- 4 [77] MONTANER-ANGOITI, Esperanza *et al.* Is leishmaniasis the new emerging zoonosis in
5 the world? **Veterinary Research Communications**, 2023. No prelo.
6 <http://dx.doi.org/10.1007/s11259-023-10171-5>.
- 7 [78] GOTO, H.; LINDOSO, José A. L. Cutaneous and Mucocutaneous
8 Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 293-307, 2012.
9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2012.03.001>.
- 10 [79] VEETTIL, T. C. P. *et al.* Synchrotron-Infrared Microspectroscopy of Live Leishmania
11 major Infected Macrophages and Isolated Promastigotes and Amastigotes. **Analytical**
12 **Chemistry**, v. 95, n. 8, p. 3986-3995, 2023. American Chemical Society (ACS).
13 <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04004>.
- 14 [80] GOTO, Y. *et al.* Access and utilization of host-derived iron by Leishmania parasites. **The**
15 **Journal of Biochemistry**, 2023. No prelo. <http://dx.doi.org/10.1093/jb/mvad082>.
- 16 [81] LIU, Lin *et al.* Efficacy of photodynamic therapy in cutaneous leishmaniasis: a
17 systematic review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 43, p. 103627, 2023.
18 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103627>.
- 19 [82] POMI, Federica Li *et al.* Daylight photodynamic therapy for cutaneous leishmaniasis in a
20 pediatric setting: a case report and literature review. **Photodiagnosis And Photodynamic**
21 **Therapy**, v. 44, p. 103800, 2023. Elsevier BV.
22 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103800>.
- 23 [83] HANDLER, M. Z. *et al.* Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Journal of the**
24 **American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 6, p. 911-926, 2015.
25 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2014.09.014>.
- 26 [84] ÁVILA, I. R. *et al.* Occurrence of human visceral leishmaniasis in the Central-West
27 region of Brazil: a systematic review. **Acta Tropica**, v. 237, p. 106707, 2023.
28 <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106707>.
- 29 [85] SILVA, R. R. *et al.* Matrix metalloproteinases –2 and –9 expression in dogs with
30 visceral leishmaniasis: a systematic review. **Cytokine**, v. 168, p. 156236, 2023.
31 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156236>.
- 32 [86] VAN GRIENSVEN, J. *et al.* Visceral Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics Of**
33 **North America**, v. 33, n. 1, p. 79-99, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2018.10.005>.
- 34 [87] MAZIRE, P. H. *et al.* Immunotherapy for visceral leishmaniasis: a trapeze of balancing
35 counteractive forces. **International Immunopharmacology**, v. 110, p. 108969, 2022.
36 <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108969>.
- 37 [88] BANSAL, N. *et al.* Diagnosing visceral leishmaniasis. **Bmj**, p. e076715, 2023. BMJ.
38 <http://dx.doi.org/10.1136/bmj-2023-076715>.
- 39 [89] KAYE, P. M. *et al.* Vaccine value profile for leishmaniasis. **Vaccine**, v. 41, p. 153-175,
40 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.01.057>.

- 1 [90] KUMARI, S. et al. Amphotericin B: a drug of choice for visceral leishmaniasis. **Acta**
2 **Tropica**, v. 235, p. 106661, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106661>.
- 3 [91] RAIMUNDO, V. D. Effects of terpenes in the treatment of visceral leishmaniasis: a
4 systematic review of preclinical evidence. **Pharmacological Research**, v. 177, p. 106117,
5 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106117>.
- 6 [92] TIUMAN, Tatiana S. et al. Recent advances in leishmaniasis treatment. **International**
7 **Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 8, p. 525-532, 2011.
8 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021>.
- 9 [93] ABD-ALAZIZ, D. M. et al. Spanethosomes as a novel topical carrier for silymarin in
10 contrast to conventional spanlastics: formulation development, in vitro and ex vivo evaluation
11 for potential treatment of leishmaniasis. **Journal of Drug Delivery Science And**
12 **Technology**, v. 88, p. 104887, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104887>.
- 13 [94] PALIć, S. et al. An update on the clinical pharmacology of miltefosine in the treatment
14 of leishmaniasis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 59, n. 1, p. 106459,
15 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106459>.
- 16 [95] AKBARI, M. et al. Immunotherapy in treatment of leishmaniasis. **Immunology Letters**,
17 v. 233, p. 80-86, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2021.03.011>.
- 18 [96] NAFARI, A. et al. Nanoparticles: new agents toward treatment of
19 leishmaniasis. **Parasite Epidemiology And Control**, v. 10, p. 00156, 2020.
20 <http://dx.doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00156>.
- 21 [97] NUNES, T. A. L. et al. Curzerene antileishmania activity: effects on leishmania
22 amazonensis and possible action mechanisms. **International Immunopharmacology**, [S.L.],
23 v. 100, p. 108130, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108130>.
- 24 [98] QUERINO, A. L. A. et al. Organogold(III)-dithiocarbamate compounds and their
25 coordination analogues as anti-tumor and anti-leishmanial metallodrugs. **Journal of**
26 **Inorganic Biochemistry**, v. 247, p. 112346, 2023.
27 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112346>.
- 28 [99] ROCHA, Samuel M. et al. In vitro anti-Leishmania activity of new isomeric
29 cobalt(II) complexes and in silico insights: mitochondria impairment and apoptosis-like cell
30 death of the parasite. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 240, p. 112088, 2023.
31 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112088>.
- 32 [100] SANTOS, A. L. S. et al. Decoding the anti-Leishmania braziliensis activity of 1,10-
33 phenanthroline-5,6-dione and its silver- and copper-based complexes: in vitro and in vivo
34 approaches. **European Journal Of Medicinal Chemistry Reports**, v. 6, p. 100093, 2022.
35 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100093>.
- 36 [101] COBLEY, J. N. 50 shades of oxidative stress: a state-specific cysteine redox pattern
37 hypothesis. **Redox Biology**, v. 67, p. 102936, 2023.
38 <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2023.102936>.
- 39 [102] AKHTAR, M. J. et al. Mechanism of ROS scavenging and antioxidant signalling by
40 redox metallic and fullerene nanomaterials: potential implications in ros associated
41 degenerative disorders. **Biochimica et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, v. 1861,
42 n. 4, p. 802-813, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.01.018>.

- 1 [103] DICKINSON, B. C. *et al.* Chemistry and biology of reactive oxygen species in
2 signaling or stress responses. **Nature Chemical Biology**, v. 7, n. 8, p. 504-511, 2011.
3 <http://dx.doi.org/10.1038/nchembio.607>.
- 4 [104] BOU-TEEN, D. *et al.* Mitochondrial ROS and mitochondria-targeted antioxidants in the
5 aged heart. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 167, p. 109-124, 2021.
6 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.02.043>.
- 7 [105] CAMARGO, L. L. *et al.* Oxidative Stress and Endoplasmic Reticular Stress Interplay in
8 the Vasculopathy of Hypertension. **Canadian Journal of Cardiology**, 2023.
9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.2023.10.012>.
- 10 [106] ZHANG, Y. *et al.* Integrating Pt nanoparticles with carbon nanodots to achieve robust
11 cascade superoxide dismutase-catalase nanozyme for antioxidant therapy. **Nano Today**,
12 [S.L.], v. 49, p. 101768, abr. 2023. Elsevier BV.
13 <http://dx.doi.org/10.1016/j.nantod.2023.101768>.
- 14 [107] HARMAN, D. *et al.* Aging: a theory based on free radical and radiation
15 chemistry. **Journal of Gerontology**, v. 11, n. 3, p. 298-300, 1956.
16 <http://dx.doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>.
- 17 [108] GAMARA, J. *et al.* Arf6 regulates energy metabolism in neutrophils. **Free Radical**
18 **Biology and Medicine**, v. 172, p. 550-561, 2021.
19 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.001>.
- 20 [109] SIES, H. *et al.* Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology
21 and physiology. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 7, p. 499-515, 2022.
22 <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z>.
- 23 [110] ANDRÉS, C. M. C. *et al.* Superoxide Anion Chemistry—Its Role at the Core of the
24 Innate Immunity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 1841, 2023.
25 <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24031841>.
- 26 [111] TANG, W. *et al.* Developing a novel benzothiazole-based red-emitting probe for
27 intravital imaging of superoxide anion. **Talanta**, v. 268, p. 125297, 2024.
28 <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125297>.
- 29 [112] WANG, Y. *et al.* Superoxide dismutases: dual roles in controlling ros damage and
30 regulating ros signaling. **Journal of Cell Biology**, v. 217, n. 6, p. 1915-1928, 2018.
31 <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201708007>.
- 32 [113] HAMPTON, M. B. *et al.* Inside the phagosome: a bacterial
33 perspective. **Immunological Reviews**, v. 314, n. 1, p. 197-209, 2023.
34 <http://dx.doi.org/10.1111/imr.13182>.
- 35 [114] JOMOVA, K. *et al.* Metals, oxidative stress and neurodegenerative
36 disorders. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 345, n. 1-2, p. 91-104, 2010.
37 <http://dx.doi.org/10.1007/s11010-010-0563-x>.
- 38 [115] HESS, F. *et al.* Solid Oxide Fuel Cell Materials and Interfaces. **Handbook of Materials**
39 **Modeling**, p. 1-31, 2018. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-50257-1_132-1.

- 1 [116] SCHOFIELD, J. H. *et al.* Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Mitophagy: a
2 complex and nuanced relationship. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 34, n. 7, p. 517-530,
3 2021. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2020.8058>.
- 4 [117] MAILLOUX, R. J. *et al.* An Update on Mitochondrial Reactive Oxygen Species
5 Production. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 472, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9060472>.
- 6 [118] PARK, J. *et al.* Differentiation of Superoxide Radical Anion and Singlet Oxygen and
7 Their Concurrent Quantifications by Nuclear Magnetic Resonance. **Analytical Chemistry**, v.
8 95, n. 12, p. 5293-5299, 2023. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.2c05312>.
- 9 [119] DONG, B. *et al.* An FRET-based and ER-targeting fluorescent probe for tracking
10 superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) in the hippocampus of the depressive mouse. **Talanta**, v. 268, p.
11 125272, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125272>.
- 12 [120] WANG, X. *et al.* Tracing Superoxide Anion in Serotonergic Neurons of Living Mouse
13 Brains with Depression by Small-Molecule Fluorescence Probes. **Analytical Chemistry**, v.
14 95, n. 42, p. 15614-15620, 2023. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.3c02701>.
- 15 [121] YONG, Zijun *et al.* Solar-to- H_2O_2 Catalyzed by Covalent Organic
16 Frameworks. **Angewandte Chemie**, 2023. No prelo.
17 <http://dx.doi.org/10.1002/ange.202308980>.
- 18 [122] FLORES, M. J. *et al.* Chemical disinfection with H_2O_2 – The proposal of a reaction
19 kinetic model. **Chemical Engineering Journal**, v. 198-199, p. 388-396, 2012.
20 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2012.05.107>.
- 21 [123] LABAS, M. D. *et al.* Reaction kinetics of bacteria disinfection employing hydrogen
22 peroxide. **Biochemical Engineering Journal**, v. 38, n. 1, p. 78-87, 2008.
23 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2007.06.008>.
- 24 [124] LI, R. *et al.* Pd nanoparticles stabilized by bitter gourd polysaccharide with peroxidase
25 properties for H_2O_2 detection. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 233,
26 p. 123513, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123513>.
- 27 [125] COLLIN, F. Chemical Basis of Reactive Oxygen Species Reactivity and Involvement
28 in Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 10,
29 p. 2407, 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20102407>.
- 30 [126] NOCTOR, G. *et al.* The metabolomics of oxidative stress. **Phytochemistry**, v. 112, p.
31 33-53, abr. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.002>.
- 32 [127] TIKHOMIROVA, A. *et al.* Cysteine and resistance to oxidative stress: implications for
33 virulence and antibiotic resistance. **Trends In Microbiology**, 2023.
34 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2023.06.010>.
- 35 [128] ANDRÉS, C. M. C. *et al.* Hypochlorous Acid Chemistry in Mammalian Cells—
36 Influence on Infection and Role in Various Pathologies. **International Journal Of**
37 **Molecular Sciences**, v. 23, n. 18, p. 10735, 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms231810735>.
- 38 [129] NEGM, N. A. *et al.* Effectuality of chitosan biopolymer and its derivatives during
39 antioxidant applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p.
40 1342-1369, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.197>.

- 1 [130] ŠAMOJČ, K. *et al.* Fluorescent and Luminescent Probes for Monitoring Hydroxyl
2 Radical under Biological Conditions. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, n. 2,
3 p. 160-169, 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/10408347.2015.1045118>.
- 4 [131] WINTERBOURN, C. C. *et al.* Reconciling the chemistry and biology of reactive
5 oxygen species. **Nature Chemical Biology**, v. 4, n. 5, p. 278-286, 2008.
6 <http://dx.doi.org/10.1038/nchembio.85>.
- 7 [132] BETTERIDGE, D. J. What is oxidative stress? **Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 3-8, 2000.
8 [http://dx.doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)80077-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0026-0495(00)80077-3).
- 9 [133] GONÇALVES, P. B. *et al.* Multi-target natural products as alternatives against
10 oxidative stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). **European Journal of**
11 **Medicinal Chemistry**, v. 163, p. 911-931, 2019.
12 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.020>.
- 13 [134] MALEKAHMADI, M. *et al.* The effect of French maritime pine bark extract
14 supplementation on inflammation, nutritional and clinical status in critically ill patients with
15 traumatic brain injury: a randomized controlled trial. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p.
16 5178-5188, 2021. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.7187>.
- 17 [135] MALEKAHMADI, M. *et al.* Effect of propolis supplementation on oxidative stress
18 markers: a systematic review of randomized controlled trials. **Journal of Herbal Medicine**,
19 v. 40, p. 100679, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100679>.
- 20 [136] POLICAR, C *et al.* SOD mimics: from the tool box of the chemists to cellular
21 studies. **Current Opinion In Chemical Biology**, [S.L.], v. 67, p. 102109, abr. 2022. Elsevier
22 BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.102109>.
- 23 [137] ROBINETT, N. G. *et al.* Eukaryotic copper-only superoxide dismutases (SODs): a new
24 class of sod enzymes and sod-like protein domains. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293,
25 n. 13, p. 4636-4643, 2018. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.tml117.000182>.
- 26 [138] SHAN, J. *et al.* Advances in antioxidative nanozymes for treating ischemic
27 stroke. **Engineered Regeneration**, v. 4, n. 1, p. 95-102, 2023.
28 <http://dx.doi.org/10.1016/j.engreg.2023.01.001>.
- 29 [139] DOSUNMU-OGUNBI, A. M. *et al.* Decoding the role of SOD2 in sickle cell
30 disease. **Blood Advances**, v. 3, n. 17, p. 2679-2687, 2019.
31 <http://dx.doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000527>.
- 32 [140] JENA, A. B. Cellular Red-Ox system in health and disease: the latest
33 update. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 162, p. 114606, 2023.
34 <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114606>.
- 35 [141] STEPHENIE, S. *et al.* An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for
36 mammalian health enhancement. **Journal of Functional Foods**, [S.L.], v. 68, p. 103917,
37 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2020.103917>
- 38 [142] GARDNER, P. R. *et al.* Superoxide Radical and Iron Modulate Aconitase Activity in
39 Mammalian Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 22, p. 13399-13405, 1995.
40 <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.270.22.13399>.

- 1 [143] HOSOMI, A. *et al.* Human SOD1 is secreted via a conventional secretion pathway in
2 *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.
3 666, p. 101-106, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.05.022>.
- 4 [144] PICAZO, C. *et al.* Regulation of metabolism, stress response, and sod1 activity by
5 cytosolic thioredoxins in yeast depends on growth phase. **Advances In Redox Research**, v.
6 9, p. 100081, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arres.2023.100081>.
- 7 [145] BANKS, C.J. *et al.* Mechanisms of SOD1 regulation by post-translational
8 modifications. **Redox Biology**, v. 26, p. 101270, 2019.
9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2019.101270>.
- 10 [146] MCCORD, J. M. *et al.* Superoxide Dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v.
11 244, n. 22, p. 6049-6055, 1969. [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)63504-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258(18)63504-5).
- 12 [147] FLYNN, J. M. *et al.* SOD2 in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. **Free**
13 **Radical Biology and Medicine**, v. 62, p. 4-12, 2013.
14 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.027>.
- 15 [148] BÜYÜKÖZ, M. *et al.* Investigation of some variations of superoxide dismutase gene
16 family in Turkish sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. **Brain Disorders**, v. 3, p.
17 100013, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dscb.2021.100013>.
- 18 [149] MURPHY, M. P. *et al.* How mitochondria produce reactive oxygen
19 species. **Biochemical Journal**, v. 417, n. 1, p. 1-13, 2008.
20 <http://dx.doi.org/10.1042/bj20081386>.
- 21 [150] ALLAWZI, A. *et al.* Oxidative toxicology of bleomycin: role of the extracellular redox
22 environment. **Current Opinion in Toxicology**, v. 13, p. 68-73, 2019.
23 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cotox.2018.08.001>.
- 24 [151] KWON, M. *et al.* Role of superoxide dismutase 3 in skin inflammation. **Journal of**
25 **Dermatological Science**, v. 67, n. 2, p. 81-87, 2012.
26 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2012.06.003>.
- 27 [152] GRIESS, B. *et al.* Extracellular superoxide dismutase and its role in cancer. **Free**
28 **Radical Biology and Medicine**, v. 112, p. 464-479, 2017.
29 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.013>.
- 30 [153] SIGNORELLA, S. *et al.* Rationally designed mimics of antioxidant manganoenzymes:
31 role of structural features in the quest for catalysts with catalase and superoxide dismutase
32 activity. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 365, p. 75-102, 2018.
33 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2018.03.005>.
- 34 [154] NAJAFI, A. *et al.* Catalase application in cancer therapy: simultaneous focusing on
35 hypoxia attenuation and macrophage reprogramming. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.
36 153, p. 113483, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113483>.
- 37 [155] SURAI, P. F. *et al.* Antioxidant systems in chick embryo development. Part 1. Vitamin
38 E, carotenoids and selenium. **Animal Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2016.
39 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2016.01.001>.

- 1 [156] BAKER, A. *et al.* Catalase: a critical node in the regulation of cell fate. **Free Radical**
2 **Biology and Medicine**, v. 199, p. 56-66, 2023.
3 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.02.009>.
- 4 [157] GALASSO, M. *et al.* Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple
5 regulation in cancer. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 172, p. 264-272, 2021.
6 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.010>.
- 7 [158] ZAMOCKY, M. *et al.* Evolution of Catalases from Bacteria to Humans. **Antioxidants**
8 **& Redox Signaling**, v. 10, n. 9, p. 1527-1548, 2008. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2008.2046>.
- 9 [159] WINTERNITZ, M. C. *et al.* On the occurrence of catalase in human tissues and its
10 variations in diseases. **Journal of Experimental Medicine**, v. 10, n. 6, p. 759-781, 1908.
11 <http://dx.doi.org/10.1084/jem.10.6.759>.
- 12 [160] ALTINOZ, M. A. *et al.* PPAR- δ and erucic acid in multiple sclerosis and Alzheimer's
13 Disease. Likely benefits in terms of immunity and metabolism. **International**
14 **Immunopharmacology**, v. 69, p. 245-256, 2019.
15 <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.057>.
- 16 [161] PALMA, J. M. *et al.* Plant catalases as NO and H₂S targets. **Redox Biology**, v. 34, p.
17 101525, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2020.101525>.
- 18 [162] ZÁMOCKÝ, M. *et al.* Understanding the structure and function of catalases: clues from
19 molecular evolution and in vitro mutagenesis. **Progress in Biophysics and Molecular**
20 **Biology**, v. 72, n. 1, p. 19-66, 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6107\(98\)00058-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6107(98)00058-3).
- 21 [163] ZÁMOCKÝ, M. *et al.* Evolution of structure and function of Class I
22 peroxidases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 500, n. 1, p. 45-57, 2010.
23 <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2010.03.024>.
- 24 [164] CHELIKANI, P. *et al.* Diversity of structures and properties among catalases. **Cellular**
25 **and Molecular Life Sciences**, v. 61, n. 2, p. 192-208, 2004.
26 <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-003-3206-5>.
- 27 [165] BARYNIN, V. V. *et al.* Crystal Structure of Manganese Catalase from *Lactobacillus*
28 *plantarum*. **Structure**, v. 9, n. 8, p. 725-738, 2001. <http://dx.doi.org/10.1016/s0969->
29 [2126\(01\)00628-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0969-2126(01)00628-1).
- 30 [166] ANTONYUK, S. V. *et al.* Three-dimensional structure of the enzyme dimanganese
31 catalase from *Thermus Thermophilus* at 1 Å resolution. **Crystallography Reports**, v. 45, n.
32 1, p. 105-116, 2000. <http://dx.doi.org/10.1134/1.171145>.
- 33 [167] SMULEVICH, G. *et al.* Probing the structure and bifunctionality of catalase-peroxidase
34 (KatG). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, n. 4, p. 568-585, 2006.
35 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.01.033>.
- 36 [168] KIRKMAN, H. N. *et al.* Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound
37 molecules of NADPH. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 81, n. 14, p.
38 4343-4347, 1984. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.81.14.4343>.
- 39 [169] GOYAL, M. M. *et al.* Human catalase: looking for complete identity. **Protein & Cell**,
40 v. 1, n. 10, p. 888-897, 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s13238-010-0113-z>.

- 1 [170] IGHODARO, O. M. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD),
2 catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire
3 antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.
4 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- 5 [171] JONES, P. *et al.* The mechanism of Compound I formation revisited. **Journal of**
6 **Inorganic Biochemistry**, v. 99, n. 12, p. 2292-2298, 2005.
7 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.08.009>.
- 8 [172] REZAYIAN, M. *et al.* Oxidative damage and antioxidative system in algae. **Toxicology**
9 **Reports**, [S.L.], v. 6, p. 1309-1313, 2019. Elsevier BV.
10 <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.10.001>.
- 11 [173] JONES, P. *et al.* The mechanism of Compound I formation revisited. **Journal of**
12 **Inorganic Biochemistry**, v. 99, n. 12, p. 2292-2298, 2005.
13 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.08.009>.
- 14 [174] CHANCE, B. *et al.* Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiological**
15 **Reviews**, v. 59, n. 3, p. 527-605, 1979. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>.
- 16 [175] ALFONSO-PRIETO, M. *et al.* The Molecular Mechanism of the Catalase
17 Reaction. **Journal of The American Chemical Society**, v. 131, n. 33, p. 11751-11761, 2009.
18 <http://dx.doi.org/10.1021/ja9018572>.
- 19 [176] PUTNAM, C. D. *et al.* Active and inhibited human catalase structures: ligand and
20 NADPH binding and catalytic mechanism 1 edited by r. huber. **Journal of Molecular**
21 **Biology**, v. 296, n. 1, p. 295-309, 2000. <http://dx.doi.org/10.1006/jmbi.1999.3458>.
- 22 [177] CANNAVÒ, S. P. *et al.* The role of oxidative stress in the biology of melanoma: a
23 systematic review. **Pathology - Research and Practice**, v. 215, n. 1, p. 21-28, 2019.
24 <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2018.11.020>.
- 25 [178] YU, W. *et al.* Single-cell sequencing analysis reveals gastric cancer microenvironment
26 cells respond vastly different to oxidative stress. **Journal of Translational Medicine**, v. 20,
27 n. 1, 3 jun. 2022. <http://dx.doi.org/10.1186/s12967-022-03411-w>.
- 28 [179] SHARIFI-RAD, M. *et al.* Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: back and forth
29 in the pathophysiology of chronic diseases. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 2020.
30 <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>.
- 31 [180] GAUTHIER, M.R. *et al.* Microalgae under environmental stress as a source of
32 antioxidants. **Algal Research**, v. 52, p. 102104, 2020.
33 <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2020.102104>.
- 34 [181] MAYA-CANO, D. A. *et al.* Phenolic compounds of blueberries (*Vaccinium spp*) as a
35 protective strategy against skin cell damage induced by ROS: a review of antioxidant
36 potential and antiproliferative capacity. **Heliyon**, v. 7, n. 2, p. e06297, 2021.
37 <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06297>.
- 38 [182] LIANG, J. *et al.* Reactive oxygen species and ovarian diseases: antioxidant
39 strategies. **Redox Biology**, v. 62, p. 102659, 2023.
40 <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2023.102659>.

- 1 [183] SUN, W. *et al.* Resveratrol attenuates rotenone-induced inflammation and oxidative
2 stress via STAT1 and Nrf2/Keap1/SLC7A11 pathway in a microglia cell line. **Pathology -**
3 **Research and Practice**, v. 225, p. 153576, 2021.
4 <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2021.153576>.
- 5 [184] LELARGE-TROUVERIE, C. *et al.* Metabolite modification in oxidative stress
6 responses: a case study of two defense hormones. **Free Radical Biology And Medicine**,
7 [S.L.], v. 196, p. 145-155, fev. 2023. Elsevier BV.
8 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.01.007>.
- 9 [185] KERAMATI, M. *et al.* Cinnamon, an effective anti-obesity agent: evidence from an
10 umbrella meta :analysis. **Journal Of Food Biochemistry**, [S.L.], v. 46, n. 8, p. 0-0, abr.
11 2022. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1111/jfbc.14166>.
- 12 [186] MACHADO, V. S. *et al.* Oxidative stress and inflammatory response biomarkers in
13 dogs with mammary carcinoma. **Pathology - Research And Practice**, v. 211, n. 9, p. 677-
14 681, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2015.06.011>.
- 15 [187] REZATABAR, S. *et al.* RAS/MAPK signaling functions in oxidative stress, DNA
16 damage response and cancer progression. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 9, p.
17 14951-14965, 2019. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.28334>.
- 18 [188] SIES, H. *et al.* Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling
19 agents. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 21, n. 7, p. 363-383, 30 2020.
20 <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>.
- 21 [189] JUAN, C. A. *et al.* The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited:
22 outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced
23 pathologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4642, 2021.
24 <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22094642>.
- 25 [190] RADAK, Z. *et al.* 8-Oxo-7,8-dihydroguanine: links to gene expression, aging, and
26 defense against oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 4, p. 587-596,
27 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.05.008>.
- 28 [191] SALLMYR, A. *et al.* Genomic instability in myeloid malignancies: increased reactive
29 oxygen species (ROS), DNA double strand breaks (DSBS) and error-prone repair. **Cancer**
30 **Letters**, v. 270, n. 1, p. 1-9, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.036>.
- 31 [192] RICHARDSON, C. *et al.* Oxidative Stress, Bone Marrow Failure, and Genome
32 Instability in Hematopoietic Stem Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v.
33 16, n. 2, p. 2366-2385, 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms16022366>.
- 34 [193] MOLDOGAZIEVA, N. T. *et al.* ROS and RNS signalling: adaptive redox switches
35 through oxidative/nitrosative protein modifications. **Free Radical Research**, v. 52, n. 5, p.
36 507-543, 2018. <http://dx.doi.org/10.1080/10715762.2018.1457217>.
- 37 [194] FARMER, E. E. *et al.* ROS-Mediated Lipid Peroxidation and RES-Activated
38 Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, n. 1, p. 429-450, 29 abr. 2013.
39 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120132>.

- 1 [195] EUTER, S. *et al.* Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they
2 linked?. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603-1616, 2010.
3 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>.
- 4 [196] DAI, X. *et al.* Decreased oxidative stress response and oxidant detoxification of skin
5 during aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 216, p. 111878, 2023.
6 <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2023.111878>.
- 7 [197] KOU, L. *et al.* Ambidextrous Approach to Disrupt Redox Balance in Tumor Cells with
8 Increased ROS Production and Decreased GSH Synthesis for Cancer Therapy. **Acs Applied**
9 **Materials & Interfaces**, v. 11, n. 30, p. 26722-26730, 2019.
10 <http://dx.doi.org/10.1021/acsami.9b09784>.
- 11 [198] MARCHI, R. C. *et al.* Chemical implications and considerations on techniques used to
12 assess the in vitro antioxidant activity of coordination compounds. **Coordination Chemistry**
13 **Reviews**, v. 451, p. 214275, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214275>.
- 14 [199] SZÉKÁCS, I. *et al.* In vitro SOD-like activity of mono- and di-copper complexes with a
15 phosphonate substituted SALAN-type ligand. **Chemico-Biological Interactions**, v. 306, p.
16 78-88, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2019.04.003>.
- 17 [200] BHARTI, S. *et al.* Syntheses, spectroscopic characterization, SOD-like properties and
18 antibacterial activities of dimer copper(II) and nickel(II) complexes based on imine ligands
19 containing 2-aminothiophenol moiety: x-ray crystal structure determination of disulfide schiff
20 bases. **Journal of Molecular Structure**, v. 1164, p. 137-154, 2018.
21 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.03.041>.
- 22 [201] PATEL, S. K. *et al.* Synthesis, single crystal structures, DFT and in vitro anti oxidant
23 superoxide dismutase studies of copper(II) complexes derived from the di-(2-picoly)amine
24 and co-ligands: promising antioxidants. **Polyhedron**, v. 212, p. 115609, 2022.
25 <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2021.115609>.
- 26 [202] MILAEVA, E R. *et al.* Metal-Based Antioxidants - Potential Therapeutic Candidates
27 for Prevention the Oxidative Stress - Related Carcinogenesis: mini-review. **Current Topics**
28 **in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 21, p. 2703-2713, 2011.
29 <http://dx.doi.org/10.2174/156802611798040741>.
- 30 [203] FÁTIMA, A. *et al.* Schiff bases and their metal complexes as urease inhibitors – A brief
31 review. **Journal of Advanced Research**, v. 13, p. 113-126, 2018.
32 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2018.03.007>.
- 33 [204] KHATER, M. *et al.* Metal complexes of flavonoids: their synthesis, characterization
34 and enhanced antioxidant and anticancer activities. **Future Medicinal Chemistry**, v. 11, n.
35 21, p. 2845-2867, 2019. <http://dx.doi.org/10.4155/fmc-2019-0237>.
- 36 [205] SHARPE, M. A. *et al.* Oxidation of nitric oxide by oxomanganese–salen complexes: a
37 new mechanism for cellular protection by superoxide dismutase/catalase
38 mimetics. **Biochemical Journal**, v. 366, n. 1, p. 97-107, 2002.
39 <http://dx.doi.org/10.1042/bj20020154>.
- 40 [206] SHAHRAKI, S. *et al.* Schiff base compounds as artificial metalloenzymes. **Colloids**
41 **and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 218, p. 112727, 2022.
42 <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112727>.

- 1 [207] REZAZADEH, A. *et al.* Amelioration of diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in
2 rats by Mn-salen complexes via reduction of oxidative stress. **Journal of Biomedical**
3 **Science**, v. 19, n. 1, 2012. <http://dx.doi.org/10.1186/1423-0127-19-26>.
- 4 [208] SOLÍS, V. *et al.* Tuning the Mn(II)₂/Mn(III)₂ redox cycle of a phenoxo-bridged diMn
5 catalase mimic with terminal carboxylate donors. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.
6 182, p. 29-36, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.01.013>.
- 7 [209] ZENGIN, A. *et al.* Binuclear Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of hydrazone Schiff
8 bases: synthesis, spectroscopy, DFT calculations, and SOD mimetic activity. **Journal of**
9 **Molecular Structure**, v. 1278, p. 134926, 2023.
10 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.134926>.
- 11 [210] LESSA, J. A. *et al.* Catalase vs Peroxidase Activity of a Manganese(II) Compound:
12 identification of a Mn(III)-(μ-O)₂-Mn(IV) reaction intermediate by electrospray ionization
13 mass spectrometry and electron paramagnetic resonance spectroscopy. **Inorganic Chemistry**,
14 v. 48, n. 10, p. 4569-4579, 2009. <http://dx.doi.org/10.1021/ic801969c>.
- 15 [211] RIBEIRO, T. P. *et al.* Iron, copper, and manganese complexes with in vitro superoxide
16 dismutase and/or catalase activities that keep *Saccharomyces cerevisiae* cells alive under
17 severe oxidative stress. **Free Radical Biology And Medicine**, v. 80, p. 67-76, 2015.
18 <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.12.005>.
- 19 [212] RIBEIRO, T. P. *et al.* Metal-based superoxide dismutase and catalase mimics reduce
20 oxidative stress biomarkers and extend life span of *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemical**
21 **Journal**, v. 474, n. 2, p. 301-315, 2017. <http://dx.doi.org/10.1042/bcj20160480>.
- 22 [213] COSTA, R. O. *et al.* A New Mixed-Valence Mn(II)Mn(III) Compound With Catalase
23 and Superoxide Dismutase Activities. **Frontiers In Chemistry**, v. 6, p. 0, 2018.
24 <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2018.00491>.
- 25 [214] HORN, A. *et al.* Coordination chemistry of the new ligand 1-(bis-pyridin-2-ylmethyl-
26 amino)-3-chloropropan-2-ol (HPCINOL) with copper(II). X-ray crystal structure,
27 spectroscopic and electrochemical properties of the complex
28 [Cu(HPCINOL)(CH₃CN)](ClO₄)₂. **Journal of Molecular Structure**, v. 749, n. 1-3, p. 96-
29 102, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.03.045>.
- 30 [215] NEVES, A. *et al.* [N,N'-Bis(2-hydroxybenzyl)-N-methyl-N'-(2-pyridylmethyl)-1,3-
31 propanediamine]oxovanadium(IV) hemihydrate, [VO(BBMPPN)].0.5H₂O. **Acta**
32 **Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, v. 50, n. 9, p. 1417-
33 1419, 1994. <http://dx.doi.org/10.1107/s0108270194002672>.
- 34 [216] MOREIRA, F. F. *et al.* Development of new dinuclear Fe(III) coordination compounds
35 with in vitro nanomolar antitrypanosomal activity. **Dalton Transactions**, v. 50, n. 35, p.
36 12242-12264, 2021. <http://dx.doi.org/10.1039/d1dt01048d>.
- 37 [217] RICHEZZI, M. *et al.* Versatile Activity of a Copper(II) Complex Bearing a N4-
38 Tetradentate Schiff Base Ligand with Reduced Oxygen Species. **European Journal of**
39 **Inorganic Chemistry**, v. 2022, n. 8, p. 0, 2022. <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.202101042>.
- 40 [218] JIA, Y. *et al.* Hypoxia stress induces hepatic antioxidant activity and apoptosis, but
41 stimulates immune response and immune-related gene expression in black rockfish *Sebastes*

- 1 schlegelii. **Aquatic Toxicology**, v. 258, p. 106502, 2023.
2 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106502>.
- 3 [219] KLASSEN, N. V. *et al.* H₂O₂ Determination by the I₃- Method and by KMnO₄
4 Titration. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 18, p. 2921-2925, 1994.
5 <http://dx.doi.org/10.1021/ac00090a020>.
- 6 [220] LATINI, A. *et al.* Evidence for oxidative stress in tissues derived from succinate
7 semialdehyde dehydrogenase-deficient mice. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 30,
8 n. 5, p. 800-810, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/s10545-007-0599-6>.
- 9 [221] LLOYD, R. *et al.* The Origin of the Hydroxyl Radical Oxygen in the Fenton
10 Reaction. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 5, p. 885-888, 1997.
11 [http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849\(96\)00432-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849(96)00432-7).
- 12 [222] C., B. C. R. *et al.* Towards reliable quantification of hydroxyl radicals in the Fenton
13 reaction using chemical probes. **RSC Advances**, v. 8, n. 10, p. 5321-5330, 2018.
14 <http://dx.doi.org/10.1039/c7ra13209c>.
- 15 [223] MEBI, C A. *et al.* Binuclear Iron(I) Complex Containing Bridging Phenanthrene-4,5-
16 dithiolate Ligand: preparation, spectroscopy, crystal structure, and
17 electrochemistry. **Zeitschrift Für Anorganische Und Allgemeine Chemie**, v. 636, n. 15, p.
18 2550-2554, 2010. <http://dx.doi.org/10.1002/zaac.201000236>.
- 19 [224] NISHIDA, Y. *et al.* Synthesis and reactivities of binuclear iron(III) complexes with
20 ligands composed of two tridentate chelating groups. **Inorganica Chimica Acta**, v. 96, n. 1,
21 p. 115-119, 1985. [http://dx.doi.org/10.1016/s0020-1693\(00\)93746-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0020-1693(00)93746-0).
- 22 [225] SAFAEI, E. *et al.* Synthesis and characterization of a novel oxo-bridged binuclear
23 iron(III) complex: its catalytic application in the synthesis of benzoxazoles using benzyl
24 alcohol in water. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 9, p. 7230-7236, 2018.
25 <http://dx.doi.org/10.1039/c8nj00921j>.
- 26 [226] FAUS, J. *et al.* Phenolate complexes of iron(III) in dimethylsulphoxide
27 solution. **Transition Metal Chemistry**, v. 9, n. 8, p. 294-299, 1984.
28 <http://dx.doi.org/10.1007/bf00618167>.
- 29 [227] BELKHIR-TALBI, D. *et al.* Synthesis, characterization, theoretical studies, ADMET
30 and drug-Likeness analysis: electrochemical and biological activities of metal complexes of 3-
31 (2-hydroxybenzoyl)-2h-chromen-2-one. **Journal of Molecular Structure**, v. 1179, p. 495-
32 505, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.11.035>.
- 33 [228] KAPLUM, Vanessa *et al.* In Vitro and In Vivo Activities of 2,3-Diarylsubstituted
34 Quinoxaline Derivatives against *Leishmania amazonensis*. **Antimicrobial Agents And
35 Chemotherapy**, [S.L.], v. 60, n. 6, p. 3433-3444, jun. 2016. American Society for
36 Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.02582-15>.
- 37 [229] RODRIGUES, J. C. F. *et al.* Ultrastructural and Biochemical Alterations Induced by
38 22,26-Azasterol, a Δ 24(25) -Sterol Methyltransferase Inhibitor, on Promastigote and
39 Amastigote Forms of *Leishmania amazonensis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**,
40 v. 46, n. 2, p. 487-499, 2002. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.46.2.487-499.2002>.

- 1 [230] GERASIMOV, E. S. *et al.* Kinetoplast Genome of *Leishmania* spp. Is under Strong
2 Purifying Selection. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 8, p. 384, 2023.
3 <http://dx.doi.org/10.3390/tropicalmed8080384>.
- 4 [231] COSTA, M. S *et al.* Increased ROS generation causes apoptosis-like death: mechanistic
5 insights into the anti-leishmania activity of a potent ruthenium(II) complex. **Journal of**
6 **Inorganic Biochemistry**, v. 195, p. 1-12, 2019.
7 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.03.005>.
- 8 [232] MATHUR, R. *et al.* Elevated ergosterol protects *Leishmania* parasites against antimony-
9 generated stress. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 10, p. 4201-4213, 2015.
10 <http://dx.doi.org/10.1096/fj.15-272757>.
- 11 [233] MUKHERJEE, S. *et al.* Sterol methyltransferase is required for optimal mitochondrial
12 function and virulence in *Leishmania major*. **Molecular Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 65-81,
13 2018. <http://dx.doi.org/10.1111/mmi.14139>.
- 14 [234] LIMA, A. K. C. *et al.* Anti-*Leishmania braziliensis* activity of 1,10-phenanthroline-5,6-
15 dione and its Cu(II) and Ag(I) complexes. **Parasitology Research**, v. 120, n. 9, p. 3273-3285,
16 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-021-07265-x>.
- 17 [235] LEITHERER, S. *et al.* Characterization of the Protein Tyrosine Phosphatase LmPRL-1
18 Secreted by *Leishmania major* via the Exosome Pathway. **Infection and Immunity**, v. 85, n.
19 8, 2017. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.00084-17>.
- 20 [236] CALIXTO, S. L. *et al.* Novel organic salts based on quinoline derivatives: the in vitro
21 activity trigger apoptosis inhibiting autophagy in *Leishmania* spp.. **Chemico-Biological**
22 **Interactions**, [S.L.], v. 293, p. 141-151, set. 2018. Elsevier BV.
23 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2018.08.003>.
- 24 [237] SHARMA, B. *et al.* Recent advance on PTP1B inhibitors and their biomedical
25 applications. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 199, p. 112376, 2020.
26 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112376>.
- 27 [238] KOSTRZEWA, T. *et al.* Synthesis, In Vitro, and Computational Studies of PTP1B
28 Phosphatase Inhibitors Based on Oxovanadium(IV) and Dioxovanadium(V)
29 Complexes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 13, p. 7034, 2022.
30 <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23137034>.
- 31 [239] MISAK, A. *et al.* EPR Study of KO_2 as a Source of Superoxide and $\bullet\text{BMPO-OH/OOH}$
32 Radical That Cleaves Plasmid DNA and Detects Radical Interaction with H_2S and Se-
33 Derivatives. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1286, 2021.
34 <http://dx.doi.org/10.3390/antiox10081286>.
- 35 [240] YERMAKOV, A. *et al.* Magnetism and EPR Spectroscopy of Nanocrystalline and
36 Amorphous TiO_2 : Fe upon Al doping. **Magnetochemistry**, v. 9, n. 1, p. 26, 2023.
37 <http://dx.doi.org/10.3390/magnetochemistry9010026>.
- 38 [241] NING, Y. *et al.* Tri-Manganese(III) Salen-Based Cryptands: a metal cooperative
39 antioxidant strategy that overcomes ischemic stroke damage in vivo. **Journal of the**
40 **American Chemical Society**, v. 142, n. 22, p. 10219-10227, 2020.
41 <http://dx.doi.org/10.1021/jacs.0c03805>.

- 1 [242] PARK, Y. J. *et al.* A mixed-valent Fe(II)Fe(III) species converts cysteine to an
2 oxazolone/thioamide pair in methanobactin biosynthesis. **Proceedings of the National**
3 **Academy of Sciences**, v. 119, n. 13, 2022. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2123566119>.
- 4 [243] WANG, W. *et al.* Iron phosphate microflowers as peroxidase mimic and superoxide
5 dismutase mimic for biocatalysis and biosensing. **Chemical Communications**, v. 48, n. 58, p.
6 7289, 2012. <http://dx.doi.org/10.1039/c2cc32429f>.
- 7 [244] IBRAHIM, M. M. *et al.* Synthesis and Structural Characterization of Pyridine-based
8 Mn(III), Fe(III), and Co(III) Complexes as SOD Mimics and BSA Binding Studies. **Journal**
9 **of Molecular Structure**, v. 1228, p. 129706, 2021.
10 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129706>.
- 11 [245] BARIK, A. *et al.* Evaluation of a new copper(II)–curcumin complex as superoxide
12 dismutase mimic and its free radical reactions. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, n.
13 6, p. 811-822, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.05.005>.
- 14 [246] GHOSH, M. *et al.* Formation of a Room Temperature Stable FeV(O) Complex:
15 reactivity toward unactivated CH bonds. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136,
16 n. 27, p. 9524-9527, 2014. <http://dx.doi.org/10.1021/ja412537m>.
- 17 [247] KEMÉNY, L. *et al.* Dithranol: a review of the mechanism of action in the treatment of
18 psoriasis vulgaris. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 3, n. 1, p. 1-20, 1990.
19 <http://dx.doi.org/10.1159/000210836>.
- 20 [248] HABAS, K. *et al.* Silver nanoparticle-mediated cellular responses in isolated primary
21 Sertoli cells in vitro. **Food and Chemical Toxicology**, v. 116, p. 182-188, 2018.
22 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.030>.
- 23 [249] GUERREIRO, J. F. *et al.* Iron and copper complexes with antioxidant activity as
24 inhibitors of the metastatic potential of glioma cells. **Rsc Advances**, v. 10, n. 22, p. 12699-
25 12710, 2020. <http://dx.doi.org/10.1039/d0ra00166j>.
- 26 [250] FERNANDES, C. *et al.* Synthesis, characterization and antibacterial activity of Fe(III),
27 Co(II), Cu(II) and ZnII complexes probed by transmission electron microscopy. **Journal of**
28 **Inorganic Biochemistry**, v. 104, n. 11, p. 1214-1223, 2010.
29 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.07.011>.
- 30 [251] PENG, Y. *et al.* Electrocatalytic degradation of p-nitrophenol on metal-free cathode:
31 superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) production via molecular oxygen activation. **Journal of Hazardous**
32 **Materials**, v. 462, p. 132797, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132797>.
- 33 [252] KRZYMINIEWSKI, R. *et al.* ESR as a monitoring method of the interactions between
34 TEMPO-functionalized magnetic nanoparticles and yeast cells. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1,
35 2019. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-55335-z>.
- 36 [253] DOBOSZ, B. *et al.* Spin Probes as Scavengers of Free Radicals in Cells. **Applied**
37 **Sciences**, v. 12, n. 16, p. 7999, 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/app12167999>.
- 38 [254] CHEN, J. *et al.* H_2O_2 Oxidation by Fe(III)–OOH Intermediates and Its Effect on
39 Catalytic Efficiency. **ACS Catalysis**, v. 8, n. 10, p. 9665-9674, 2018.
40 <http://dx.doi.org/10.1021/acscatal.8b02326>.

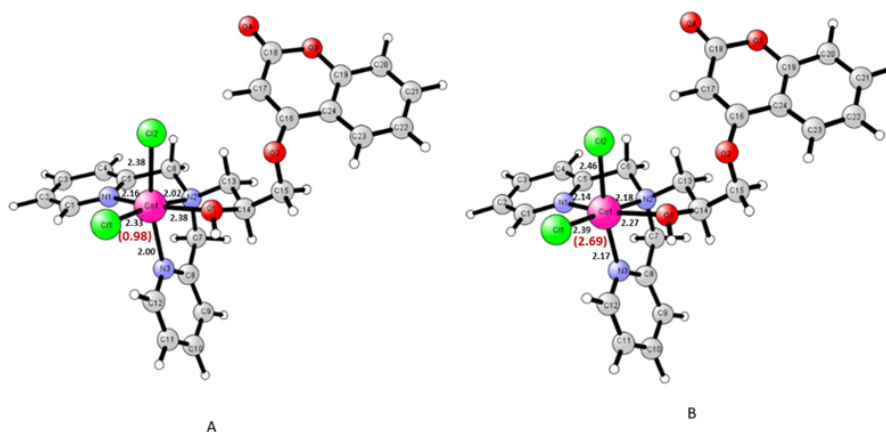
- 1 [255] KAIZER, J. *et al.* Catalase mimics of a manganese(II) complex: the effect of axial
2 ligands and ph. **Journal of Molecular Catalysis A**, v. 280, n. 1-2, p. 203-209, 2008.
3 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcata.2007.11.005>.
- 4 [256] PALOPOLI, C. *et al.* Dimerization, redox properties and antioxidant activity of two
5 manganese(III) complexes of difluoro- and dichloro-substituted Schiff-base ligands. **Journal**
6 **of Inorganic Biochemistry**, v. 167, p. 49-59, 2017.
7 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.11.019>.
- 8 [257] LEDESMA, G. N. *et al.* A new mononuclear manganese(III) complex of an
9 unsymmetrical hexadentate N3O3 ligand exhibiting superoxide dismutase and catalase-like
10 activity: synthesis, characterization, properties and kinetics studies. **Journal of Inorganic**
11 **Biochemistry**, v. 146, p. 69-76, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.012>.
- 12 [258] YAN, F. *et al.* Antioxidant Enzyme Mimics with Synergism. **Mini-Reviews In**
13 **Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 342-356, 2010.
14 <http://dx.doi.org/10.2174/138955710791330972>.
- 15 [259] BHUYAN, U. *et al.* Plant polyphenols as potent antioxidants: highlighting the
16 mechanism of antioxidant activity and synthesis/development of some polyphenol
17 conjugates. **Bioactive Natural Products**, p. 243-266, 2022. [http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-](http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-91250-1.00006-9)
18 [323-91250-1.00006-9](http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-91250-1.00006-9).
- 19 [260] HOU, J. *et al.* Fluorescent detectors for hydroxyl radical and their applications in
20 bioimaging: a review. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.L.], v. 421, p. 213457, out.
21 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213457>.
- 22 [261] KEHRER, J. P. *et al.* The Haber–Weiss reaction and mechanisms of
23 toxicity. **Toxicology**, v. 149, n. 1, p. 43-50, 2000. [http://dx.doi.org/10.1016/s0300-](http://dx.doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00231-6)
24 [483x\(00\)00231-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00231-6).
- 25
- 26

APÊNDICE

1

2

3 Figura 1S – Estrutura otimizada do complexo 1 por DFT com as distâncias (em Å) e
4 densidade eletrônica (nos parênteses): estados de spin (A) dubleto e (B) quarteto.



5

6

7 Tabela 1S – Parâmetros geométricos para estrutura otimizada do complexo (1) (estado
8 quarteto) por DFT.

Comprimento das ligações (Å)		Ângulos	
Co(1)-N(1)	2.135	N(1)-Co(1)-O(1)	156.30
Co(1)-N(2)	2.180	N(1)-Co(1)-N(3)	95.46
Co(1)-N(3)	2.172	O(1)-Co(1)-N(3)	81.93
Co(1)-O(1)	2.266	N(1)-Co(1)-Cl(2)	91.26
Co(1)-Cl(1)	2.395	O(1)-Co(1)-Cl(2)	87.69
Co(1)-Cl(2)	2.459	N(3)-Co(1)-Cl(2)	167.51
		N(1)-Co(1)-N(2)	78.06
		O(1)-Co(1)-N(2)	78.34
		N(3)-Co(1)-N(2)	78.68
		Cl(2)-Co(1)-N(2)	92.47
		N(1)-Co(1)-Cl(1)	101.80
		O(1)-Co(1)-Cl(1)	101.86
		N(3)-Co(1)-Cl(1)	93.16
		Cl(2)-Co(1)-Cl(1)	95.77
		N(2)-Co(1)-Cl(1)	171.76

9

1 Tabela 2S – Coordenadas cartesianas para o complexo (1).

2	Dubleto			
3	Co	4,221732000000	2,345446000000	0,172732000000
4	Cl	4,734046000000	1,572244000000	-1,962449000000
5	O	4,342729000000	4,703044000000	-0,120803000000
6	H	3,824295000000	5,044576000000	-0,858194000000
7	O	5,952697000000	6,602201000000	1,233890000000
8	N	3,963656000000	0,459700000000	1,196135000000
9	N	3,694783000000	2,988924000000	2,018125000000
10	N	2,299476000000	2,665045000000	-0,261846000000
11	C	3,792326000000	-0,762856000000	0,684630000000
12	H	3,750808000000	-0,819847000000	-0,396522000000
13	C	3,680679000000	-1,892426000000	1,485964000000
14	H	3,543786000000	-2,866748000000	1,035749000000
15	C	3,742376000000	-1,736070000000	2,867952000000
16	H	3,651793000000	-2,593313000000	3,523511000000
17	C	3,913659000000	-0,461287000000	3,399610000000
18	H	3,955485000000	-0,301892000000	4,469507000000
19	C	4,028041000000	0,615757000000	2,527842000000
20	C	4,263234000000	2,029049000000	3,004086000000
21	H	3,830397000000	2,191518000000	3,995042000000
22	H	5,336157000000	2,210612000000	3,057708000000
23	C	2,206368000000	2,963454000000	2,127264000000
24	H	1,858598000000	3,750066000000	2,800519000000
25	H	1,915237000000	2,011490000000	2,575293000000
26	C	1,547217000000	3,053509000000	0,785852000000
27	C	0,225578000000	3,456371000000	0,638382000000
28	H	-0,338247000000	3,771655000000	1,506507000000
29	C	-0,345706000000	3,445571000000	-0,627658000000
30	H	-1,373472000000	3,755589000000	-0,768470000000
31	C	0,429353000000	3,035046000000	-1,707855000000
32	H	0,029148000000	3,011780000000	-2,712463000000
33	C	1,744786000000	2,658436000000	-1,487173000000
34	H	2,396044000000	2,344453000000	-2,289583000000

1	C	4,243600000000	4,350233000000	2,234968000000
2	H	5,322503000000	4,242844000000	2,282804000000
3	H	3,881795000000	4,759273000000	3,183830000000
4	C	3,886392000000	5,301844000000	1,098867000000
5	H	2,801419000000	5,451542000000	1,058557000000
6	C	4,511339000000	6,679195000000	1,298220000000
7	H	4,203437000000	7,341970000000	0,489768000000
8	H	4,181928000000	7,102688000000	2,248274000000
9	C	6,674411000000	6,659054000000	2,380795000000
10	C	6,634504000000	7,837695000000	3,222666000000
11	C	7,400442000000	7,802652000000	4,399833000000
12	C	8,294425000000	5,616766000000	3,889149000000
13	C	7,494823000000	5,624227000000	2,689772000000
14	H	7,539033000000	4,744430000000	2,061739000000
15	Cl	6,538645000000	2,387309000000	0,726360000000
16	O	9,035817000000	4,733833000000	4,255654000000
17	O	8,168389000000	6,722788000000	4,726320000000
18	C	5,936568000000	9,017856000000	2,912735000000
19	C	7,425139000000	8,884128000000	5,277228000000
20	C	6,700458000000	10,025169000000	4,966306000000
21	C	5,964667000000	10,098520000000	3,777163000000
22	H	8,021230000000	8,814982000000	6,177783000000
23	H	6,719131000000	10,869482000000	5,644253000000
24	H	5,388905000000	9,083941000000	1,982977000000
25	H	5,423181000000	11,002352000000	3,529202000000
26	Quarteto			
27	Co	4,328531000000	2,327334000000	0,137965000000
28	Cl	4,728572000000	1,608112000000	-2,111710000000
29	O	4,416716000000	4,582257000000	-0,071425000000
30	H	3,960302000000	4,933807000000	-0,844665000000
31	O	6,020325000000	6,502940000000	1,263547000000
32	N	4,051098000000	0,467046000000	1,148379000000
33	N	3,660888000000	2,979214000000	2,107642000000
34	N	2,217053000000	2,682710000000	-0,223807000000

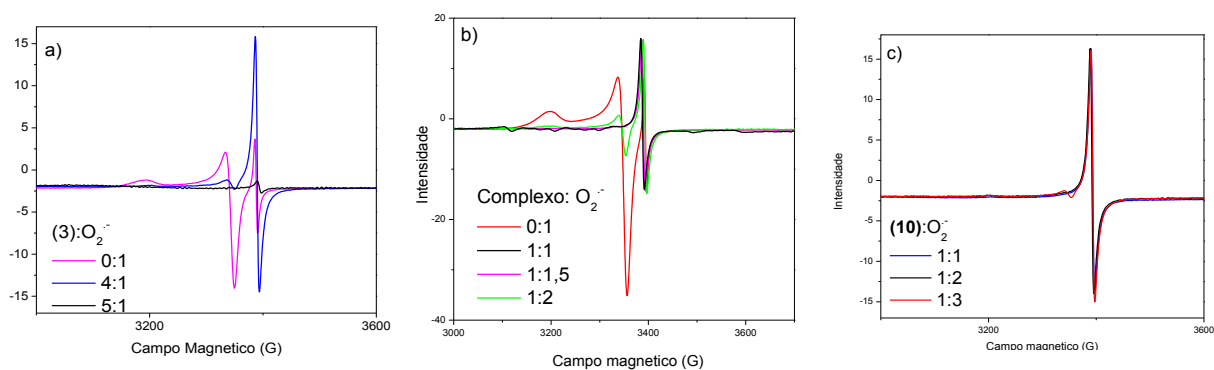
1	C	3,909626000000	-0,739918000000	0,589327000000
2	H	3,935780000000	-0,763101000000	-0,493380000000
3	C	3,743070000000	-1,891831000000	1,346580000000
4	H	3,631964000000	-2,850786000000	0,858269000000
5	C	3,715970000000	-1,777230000000	2,733404000000
6	H	3,580237000000	-2,653015000000	3,355753000000
7	C	3,855731000000	-0,519839000000	3,312830000000
8	H	3,827433000000	-0,393037000000	4,387401000000
9	C	4,028786000000	0,585654000000	2,487735000000
10	C	4,235152000000	1,980187000000	3,038141000000
11	H	3,803361000000	2,069317000000	4,039417000000
12	H	5,306771000000	2,170168000000	3,107405000000
13	C	2,181906000000	2,956782000000	2,188037000000
14	H	1,822489000000	3,732441000000	2,870036000000
15	H	1,878972000000	1,999004000000	2,616853000000
16	C	1,509141000000	3,075348000000	0,845596000000
17	C	0,191825000000	3,511703000000	0,737518000000
18	H	-0,342615000000	3,832605000000	1,622430000000
19	C	-0,412723000000	3,526105000000	-0,512747000000
20	H	-1,436407000000	3,861757000000	-0,622482000000
21	C	0,320927000000	3,107467000000	-1,619480000000
22	H	-0,108559000000	3,103272000000	-2,612275000000
23	C	1,632707000000	2,699340000000	-1,432796000000
24	H	2,256756000000	2,378165000000	-2,255742000000
25	C	4,225112000000	4,329388000000	2,303070000000
26	H	5,300360000000	4,211497000000	2,400916000000
27	H	3,835762000000	4,793417000000	3,216159000000
28	C	3,932487000000	5,241277000000	1,113720000000
29	H	2,853602000000	5,408260000000	1,023517000000
30	C	4,580467000000	6,611876000000	1,269445000000
31	H	4,315853000000	7,243194000000	0,421231000000
32	H	4,223859000000	7,084054000000	2,186161000000
33	C	6,701789000000	6,612698000000	2,431438000000
34	C	6,652448000000	7,837017000000	3,204829000000

1	C	7,376603000000	7,856146000000	4,408548000000
2	C	8,249969000000	5,631620000000	4,051559000000
3	C	7,493183000000	5,584287000000	2,825538000000
4	H	7,546928000000	4,672165000000	2,245843000000
5	Cl	6,695710000000	2,395944000000	0,800219000000
6	O	8,962786000000	4,759420000000	4,492838000000
7	O	8,113620000000	6,784370000000	4,821461000000
8	C	5,986380000000	9,008798000000	2,805630000000
9	C	7,390144000000	8,984523000000	5,224989000000
10	C	6,696825000000	10,117549000000	4,825899000000
11	C	6,003716000000	10,135571000000	3,609339000000
12	H	7,953556000000	8,956497000000	6,148498000000
13	H	6,707006000000	10,998134000000	5,456178000000
14	H	5,472295000000	9,031735000000	1,854948000000
15	H	5,486997000000	11,032457000000	3,292783000000

16

17

18 Figura 2S – Espectros de EPR para a interação do KO_2 com diferentes complexos: a) **(3)**, b)
 19 **(7)** e c) **(10)**, em DMSO, a 120 K, empregando-se diferentes proporções.



20

21

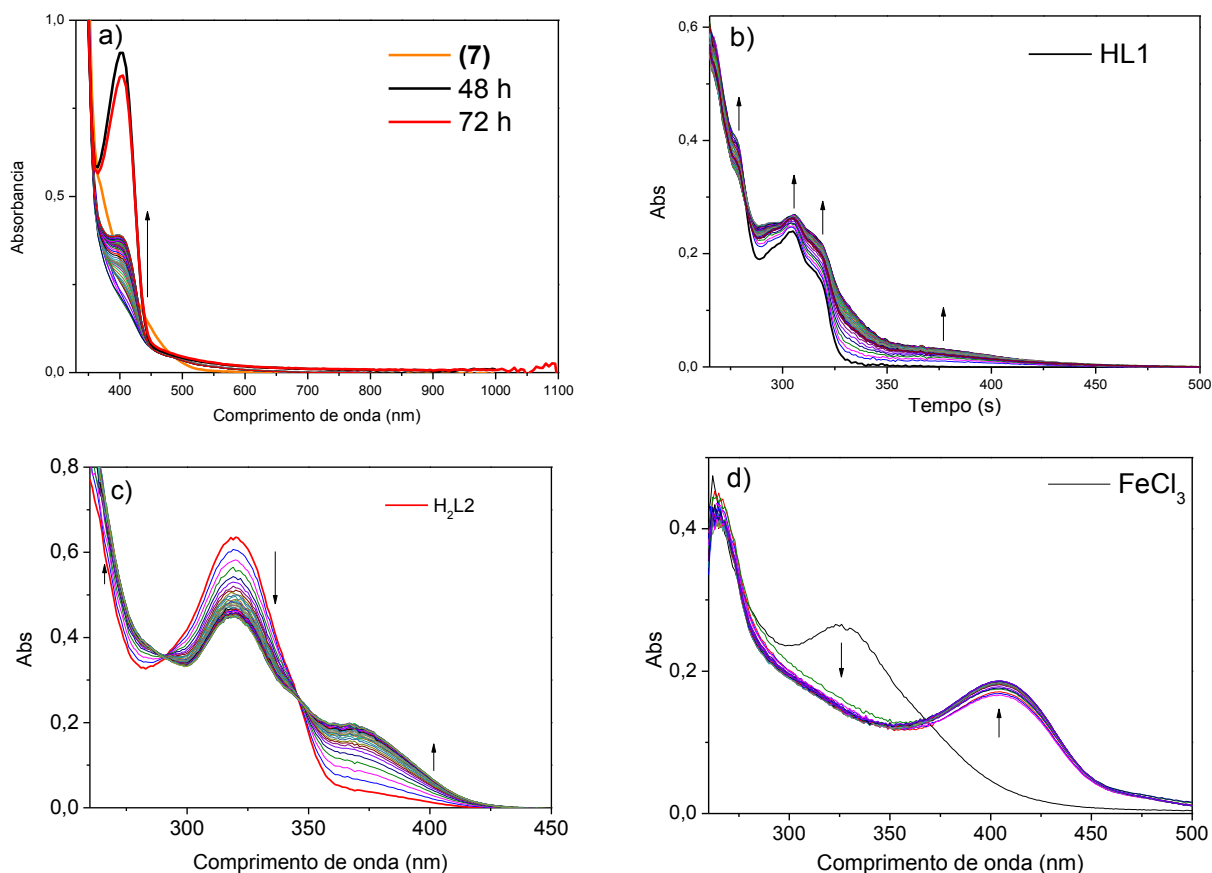
22

23

24

25

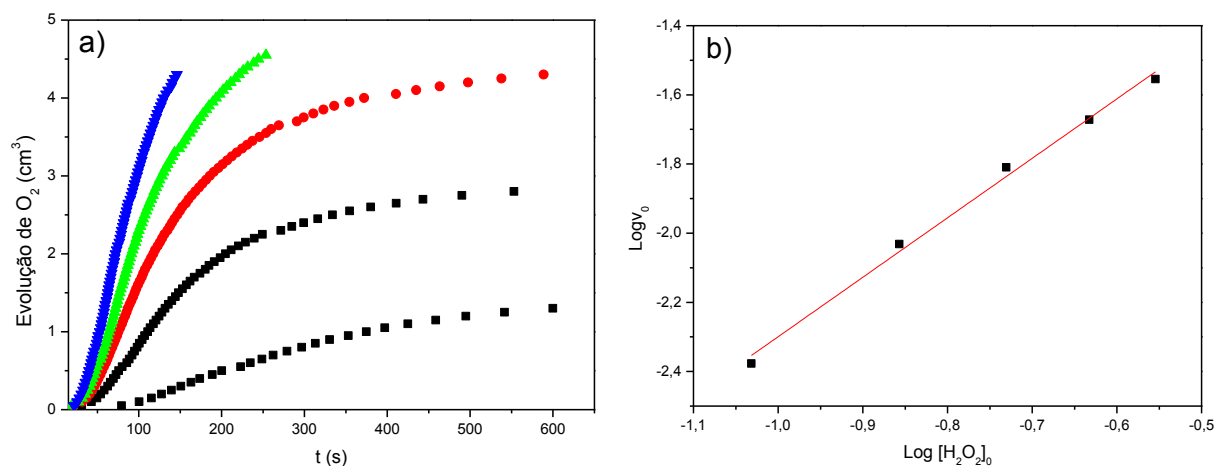
- 1 Figura 3S – Espectros eletrônicos na região do UV-vis para interação de a) (3), b) HL1, c)
 2 H2L2 e d) FeCl₃ com o ânion radical superóxido, em DMSO, na proporção de 1:10.



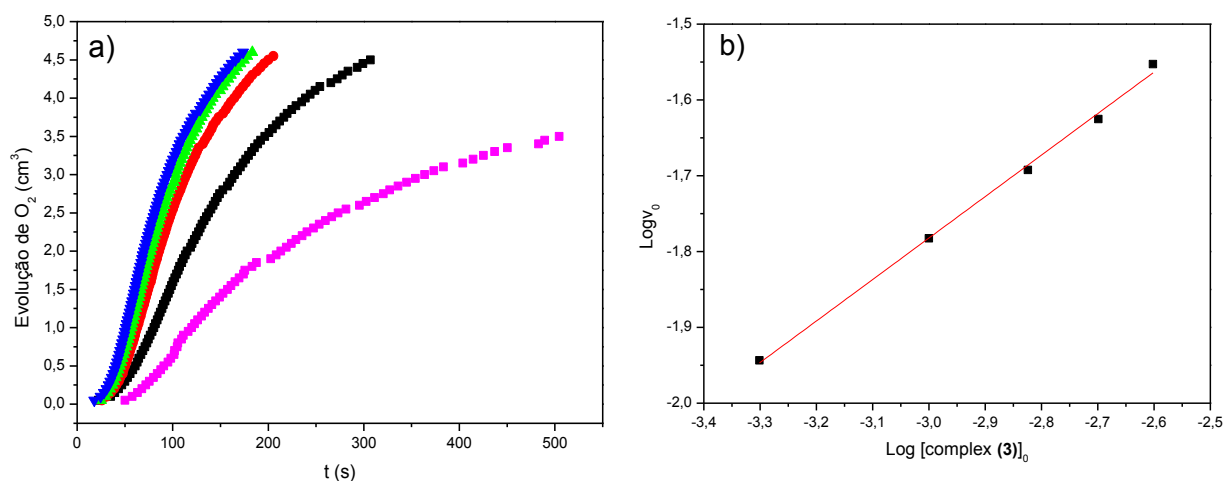
3

4

- 5 Figura 4S – a) Evolução de O₂ vs Tempo para reações envolvendo o composto de
 6 coordenação (4) (1 mmol L⁻¹) e H₂O₂ em diferentes concentrações, em 5,0 mL de PBS (0,1
 7 mol L⁻¹, pH 7.4), T = 298 K) e b) Dependência linear da relação logarítmica entre as V_{inicial} e
 8 concentração de H₂O₂.



1 Figura 5S - a) Evolução de O_2 vs Tempo para reações envolvendo os compostos H_2O_2 (233
2 $mmol L^{-1}$) e (4) em diferentes concentrações, em 5,0 mL de PBS ($0,1 mol L^{-1}$, pH 7.4), $T =$
3 298 K) e b) Dependência linear da relação logarítmica entre as $V_{inicial}$ e concentração de
4 complexo.



5

6

7

8

9

10

11