

RESSALVA

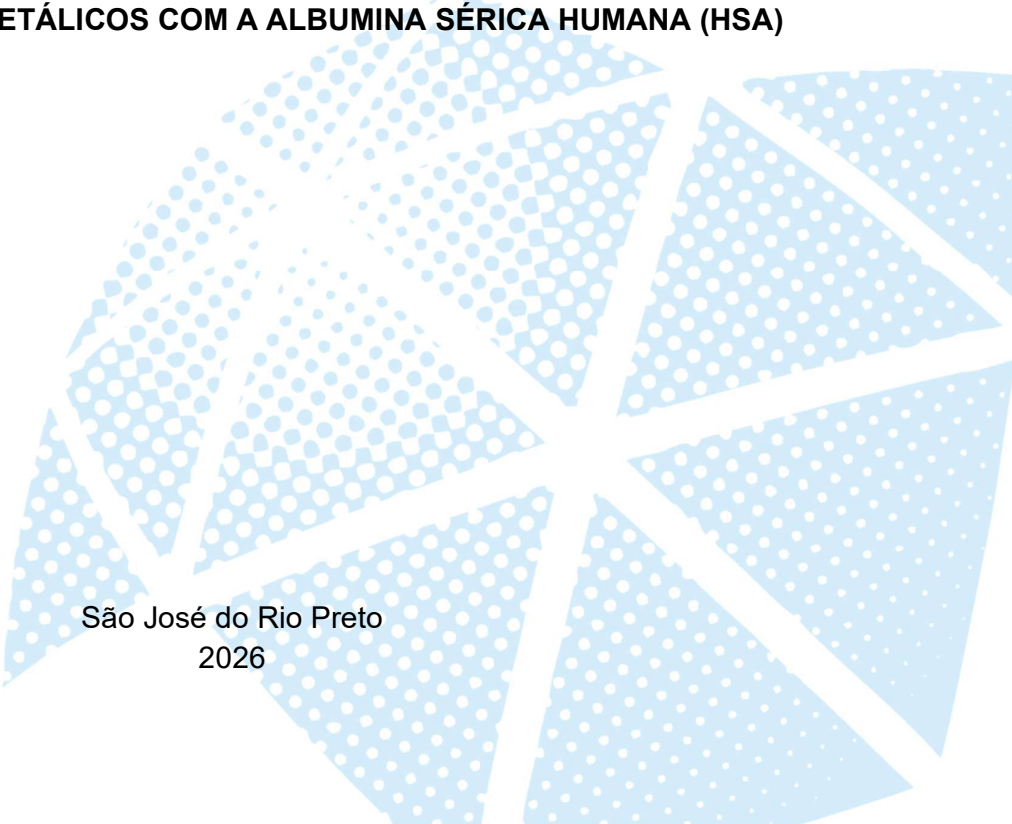
Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/03/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do
Rio Preto

RENAN AUGUSTO DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA INTERAÇÃO DA CHALCONA BUTEÍNA E
SEUS COMPLEXOS METÁLICOS COM A ALBUMINA SÉRICA HUMANA (HSA)**

São José do Rio Preto
2026



RENAN AUGUSTO DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA INTERAÇÃO DA CHALCONA BUTEÍNA E
SEUS COMPLEXOS METÁLICOS COM A ALBUMINA SÉRICA HUMANA (HSA)**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio preto, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomoleculares e Farmacológicas.

Área de Concentração: Farmacologia e Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Putinhon Caruso

São José do Rio Preto
2026

S237c Santos, Renan Augusto da Silva

Caracterização molecular da interação da chalcona Buteína e seus complexos metálicos com a Albumina Sérica Humana (HSA)/ Renan Augusto da Silva Santos. -- São José do Rio Preto, 2026

68 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Ícaro Putinhon Caruso

1. Farmacologia. 2. Albuminas. 3. Ressonância magnética nuclear. 4. Espectroscopia de fluorescência. 5. Complexos metálicos. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Este estudo contribui cientificamente ao elucidar interações moleculares relevantes para o desenvolvimento farmacêutico. Apresenta potencial inovador, técnico e educacional, com impacto social e econômico. Favorece a internacionalização, integração regional e avanço sustentável, ampliando o conhecimento em biomoléculas e fármacos.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study contributes scientifically by elucidating molecular interactions relevant to drug development. It has innovative, technical, and educational potential, with social and economic impact. It promotes internationalization, regional integration, and sustainable progress, expanding knowledge in biomolecules and pharmaceuticals.

Renan Augusto da Silva Santos

Caracterização molecular da interação da chalcona Buteína e seus complexos metálicos com a Albumina Sérica Humana (HSA)

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomoleculares e Farmacológicas.

Área de Concentração: Farmacologia e Biotecnologia

Data da defesa: 17/03/2026

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr. Ícaro Putinhon Caruso

UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) - Campus de São José do Rio Preto

Prof. Titular. Fátima Pereira de SouzaUNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) - Campus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Alexandre Melo de Oliveira

IFSP – Instituto Federal de São Paulo – Campus de Votuporanga

Dedico este trabalho à minha esposa Amanda, pelo apoio constante, carinho e por caminhar ao meu lado em todos os momentos. Estendo também minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho é fruto de uma caminhada intensa e transformadora, construída com o apoio de muitas pessoas que estiveram ao meu lado nos momentos de esforço e conquistas.

Agradeço à minha esposa Amanda, por seu apoio constante, parceria incansável e amor nos dias bons e, especialmente, nos difíceis. Ao Gregório, meu companheiro de quatro patas, que esteve presente ao meu lado durante incontáveis horas de escrita, oferecendo companhia.

Sou profundamente grato à minha família, que é e sempre será meu alicerce: aos meus pais Silvana e Alcides; aos meus sogros Eliana e Amauri; às minhas cunhadas Nathalia e Gisele; ao meu cunhado Natan e ao meu irmão Patrick. Cada um contribuiu de forma única ao longo desta jornada, e carrego comigo essa gratidão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ícaro, minha sincera admiração e reconhecimento por sua orientação dedicada, paciência e incentivo ao longo do mestrado. Além da UNESP, minha gratidão por toda a formação, oportunidade de crescimento e apoio ao longo desta jornada.

Agradeço também a todos os professores, pesquisadores e colegas do CMIB, que contribuíram de forma direta ou indireta para o desenvolvimento deste trabalho — seja nos experimentos, nas conversas, nas trocas de experiências ou nos eventos científicos que compartilhamos. Em especial aos que mais fizeram parte destes quase dois anos: Sérgio, Carol, Matheus, Jaqueline, Rafael, Giulia, Jéssica e a Prof. Dra. Fátima.

Às amigas que estiveram comigo além das paredes da universidade: ao Guilherme e à Giovana (e à baby Alice), ao Nyckolas, ao Sami e à Jéssica (e à pequena Liz), à Mainy, ao Leonardo, ao Ricardo, à Marcela, ao Jah, ao Pac, ao Rodrigo, ao David, à Ana, à Iara, à Weny e ao Guilherme (e ao Miguelzinho), a presença de vocês se fez sentir. Cada conversa, apoio ou simples lembrança ajudou a tornar essa jornada mais leve, humana e significativa. Sou muito grato por ter vocês ao meu lado, em tantas formas e fases da vida.

O vôlei foi um espaço de respiro e equilíbrio ao longo dessa jornada. Agradeço ao grupo Condores Vôlei e a todos que fizeram parte dessa fase, pelos momentos de amizade e companheirismo dentro e fora das quadras, incluindo os afters pós-treino.

Por fim, expresso minha sincera gratidão à Universidade Estadual Paulista (UNESP), pela formação, infraestrutura e oportunidades proporcionadas ao longo desta jornada. Agradeço também às agências de fomento à pesquisa no Brasil, em especial ao CNPq e à FAPESP, pelo apoio ao Laboratório de RMN (processo nº 2009/53989-4) e à FINEP, pelo fundamental apoio ao desenvolvimento científico e à pesquisa no país. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos vocês, minha gratidão mais sincera.

RESUMO

A buteína é uma chalcona natural amplamente estudada por suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral. Além de sua relevância farmacológica, seu núcleo fenólico reativo favorece a formação de complexos metálicos, o que pode potencializar suas propriedades bioativas. No entanto, para o avanço no desenvolvimento terapêutico da buteína e de seus derivados, é essencial compreender suas interações com biomoléculas, especialmente aquelas envolvidas em transporte plasmático, como a albumina sérica humana (HSA), principal proteína plasmática de transporte, que interage com diversos fármacos e modula sua biodisponibilidade e farmacocinética. Neste estudo, foi realizada uma caracterização molecular detalhada da interação da buteína e de seus complexos metálicos com a HSA, utilizando diferentes abordagens biofísicas. As análises por espectroscopia de absorção no UV-vis confirmaram a formação de complexos entre a buteína e os íons metálicos. Os experimentos de fluorescência, conduzidos por titulação reversa, nas quais a HSA foi titulada com a buteína livre e complexada com metais, permitiram a determinação das constantes de dissociação (K_d) e a análise da saturação da proteína. Os ensaios de dicroísmo circular (CD) mostraram que a interação da buteína e de seus complexos metálicos com a HSA não induz alterações significativas na estrutura secundária da proteína, indicando preservação de sua conformação nativa. A localização do sítio de ligação foi investigada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e ensaios de competição com sondas específicas, revelando que a buteína e seus complexos interagem preferencialmente com o subdomínio IB da HSA (sítio 3), evidenciado pela competição observada com a sonda metil orange, sem competição significativa com ibuprofeno ou varfarina, descartando assim os sítios 1 e 2 como principais locais de ligação. Dessa forma, os dados obtidos fornecem uma caracterização da interação entre a buteína (livre e complexada) e a HSA, contribuindo para o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos em seu transporte plasmático e oferecendo subsídios relevantes para futuros estudos de desenvolvimento farmacêutico envolvendo essa chalcona e seus derivados metálicos, com vistas ao seu potencial uso terapêutico.

Palavras-chave: buteína; complexos metálicos; albumina sérica humana; espectroscopia de fluorescência; ressonância magnética nuclear.

ABSTRACT

Butein is a natural chalcone that has been extensively studied for its antioxidant, antiinflammatory, and antitumor properties. In addition to its pharmacological relevance, its reactive phenolic core favors the formation of metal complexes, which can enhance its bioactive properties. However, to advance the therapeutic development of butein and its derivatives, it is essential to understand their interactions with biomolecules, particularly those involved in plasma transport, such as human serum albumin (HSA), the main plasma transport protein, which interacts with a wide variety of drugs and modulates their bioavailability and pharmacokinetics. In this study, a detailed molecular characterization of the interaction between butein and its metal complexes with HSA was performed using different biophysical approaches. UV–Vis absorption spectroscopy confirmed the formation of complexes between butein and metal ions. Fluorescence experiments, conducted through reverse titration in which HSA was titrated with free butein and its metal complexes, allowed the determination of dissociation constants (K_d) and the analysis of protein saturation. Circular dichroism (CD) measurements showed that the interaction of butein and its metal complexes with HSA does not induce significant changes in the protein's secondary structure, indicating the preservation of its native conformation. The binding site location was investigated by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and competitive binding assays with site-specific probes, revealing that butein and its complexes preferentially interact with subdomain IB of HSA (site 3), as evidenced by competition with the methyl orange probe. No significant competition was observed with ibuprofen or warfarin, thus excluding sites 1 and 2 as the main binding locations. Overall, the data provide a novel and comprehensive characterization of the interaction between butein (free and metal-complexed) and HSA, contributing to the understanding of the molecular mechanisms involved in its plasma transport and offering valuable insights for future pharmaceutical development studies involving this chalcone and its metal derivatives, with a view toward its therapeutic potential.

Keywords: butein; metal complexes; human serum albumin; fluorescence spectroscopy; nuclear magnetic resonance.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação da estrutura molecular de uma chalcona geral e da buteína (2',3,4,4'-tetrahidroxichalcona).
- Figura 2 – Estrutura tridimensional da albumina sérica humana (HSA) destacando domínios e principais sítios de ligação (PDB: 1AO6).
- Figura 3 – Formação dos complexos I e II da quercetina com AlCl_3 e modos de coordenação metálica.
- Figura 4 – Espectro eletromagnético contínuo com faixas de comprimento de onda e frequência.
- Figura 5 – Diagrama de Jablonski com principais processos fotoinduzidos em moléculas.
- Figura 6 – Curvas de saturação de oxigênio da mioglobina (perfil hiperbólico) e hemoglobina (sigmoidal).
- Figura 7 – Deslocamento químico de sinais do ligante após interação com proteína.
- Figura 8 – Esquema da interação proteína–ligante e efeito da relaxação transversal (T_2) sobre largura das linhas.
- Figura 9 – Espectros típicos de CD para diferentes conformações secundárias de proteínas e polipeptídeos.
- Figura 10 – Espectros UV-Vis do complexo buteína–cobre.
- Figura 11 – Isoterma de ligação CME para o complexo buteína–cobre.
- Figura 12 – Espectros UV-Vis do complexo buteína–zinco.
- Figura 13 – Isoterma de ligação CME para o complexo buteína–zinco.
- Figura 14 – Espectros UV-Vis do complexo buteína–ferro.
- Figura 15 – Isoterma de ligação CME para o complexo buteína–ferro.
- Figura 16 – Espectros de fluorescência da buteína com concentrações crescentes de HSA.
- Figura 17 – Isoterma de ligação fluorescente para o complexo HSA–buteína.
- Figura 18 – Espectros de fluorescência da buteína–ferro com concentrações crescentes de HSA.
- Figura 19 – Isoterma de ligação fluorescente para o complexo HSA–buteína–ferro.
- Figura 20 – Espectros de fluorescência da buteína–cobre com concentrações crescentes de HSA.
- Figura 21 – Isoterma de ligação fluorescente para o complexo HSA–buteína–cobre.
- Figura 22 – Espectros de RMN de ^1H da buteína na ausência e presença de HSA.
- Figura 23 – Variação da área normalizada do sinal da buteína ($\sim\delta$ 6,1 ppm) frente à titulação com HSA.
- Figura 24 – Perturbação de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta - \delta_0$) dos sinais de ressonância da buteína em função do aumento da concentração de HSA.
- Figura 25 – Curvas de competição: varfarina, ibuprofeno e laranja de metila frente à titulação com HSA.
- Figura 26 – Espectros de dicroísmo circular (195–260 nm) da HSA pura e em presença de buteína e metais.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AlCl₃ – Cloreto de alumínio
CD – Dicroísmo Circular (*Circular Dichroism*)
CME – Centro de Massa Espectral
CSP – Perturbação de Deslocamento Químico (*Chemical Shift Perturbation*)
Cu²⁺ – Íon cobre(II)
DMSO – Dimetilsulfóxido
EPR – Ressonância Paramagnética Eletrônica (*Electron Paramagnetic Resonance*)
Fe²⁺ – Íon ferro(II)
Fe³⁺ – Íon ferro(III)
HSA – Albumina Sérica Humana (*Human Serum Albumin*)
K_d – Constante de dissociação
NaPi – fosfato de sódio monobásico (NaH₂PO₄)
NMR – Ressonância Magnética Nuclear (*Nuclear Magnetic Resonance*)
Nrf2 – Nuclear factor erythroid 2–related factor 2
PBS – Tampão fosfato salino (*Phosphate Buffered Saline*)
ppm – Partes por milhão
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
T₂ – Tempo de relaxação transversal
TMS – Tetrametilsilano
Trp – Triptofano
UV – Ultravioleta
UV-Vis – Ultravioleta-visível
Zn²⁺ – Íon zinco(II)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	PRODUTOS NATURAIS, CHALCONAS E A BUTEÍNA NOS DESENVOLVIMENTOS DE FÁRMACOS	13
1.2	A ALBUMINA SÉRICA HUMANA (HSA)	15
1.3	COMPLEXAÇÃO METÁLICA E POTENCIAIS FARMACOLÓGICOS	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	23
2.1	ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	23
2.2	ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA	24
2.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E TRIAGEM DE FRAGMENTOS	27
2.3.1	Espectro de hidrogênio e perturbação de deslocamento químico.....	28
2.3.2	Tempo de relaxação transversal (T_2).....	29
2.4	DICROÍSMO CIRCULAR.....	30
3	OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DA BUTEÍNA E COMPROVAÇÃO DE FORMAÇÃO DOS COMPLEXOS METÁLICOS POR UV-VÍS.....	33
4.2	EXPERIMENTOS DE FLUORESCÊNCIA	35
4.3	DETERMINAÇÃO DE SÍTIOS DE LIGAÇÃO E ENSAIOS DE COMPETIÇÃO NA INTERAÇÃO BUTEÍNA-ALBUMINA POR ESPECTROSCOPIA DE RMN DE ^1H	37
4.4	EXPERIMENTOS DE DICROÍSMO CIRCULAR	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
5.1	ANÁLISES DOS EXPERIMENTOS DE ESPECTROSCOPIA UV-Vis E A FORMAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS COM BUTEÍNA	39
5.2	AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DA BUTEÍNA E SEUS COMPLEXOS COM A ALBUMINA VIA ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA	43
5.3	AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DA BUTEÍNA COM ALBUMINA POR RMN DE HIDROGÊNIO	48
5.4	ESTUDOS DE COMPETIÇÃO DE SÍTIO DA BUTEÍNA E SEUS COMPLEXOS COM SONDAS EM ALBUMINA	52
5.5	EFEITO DA BUTEÍNA E DE SEUS COMPLEXOS METÁLICOS NA ESTRUTURA SECUNDÁRIA DA HSA AVALIADO POR ESPECTROSCOPIA DE DICROÍSMO CIRCULAR	54
6	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	56
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXOS	63

1 INTRODUÇÃO

1.1 PRODUTOS NATURAIS, CHALCONAS E A BUTEÍNA NOS DESENVOLVIMENTOS DE FÁRMACOS

Com o avanço da farmacologia, compostos derivados de plantas têm desempenhado um papel fundamental na descoberta e no desenvolvimento de novos medicamentos. Além de serem utilizados diretamente no tratamento de diversas enfermidades — representando a principal forma de cuidado de saúde para cerca de 85% da população mundial (PESIC, 2015) — esses compostos também estão presentes em aproximadamente 80% dos fármacos sintéticos atualmente em uso, evidenciando sua relevância como base para a formulação de medicamentos modernos (BAUER e BRÖNSTRUP, 2014; FITZGERALD et al., 2020). O uso de substâncias naturais com propriedades terapêuticas remonta a práticas tradicionais e é amplamente validado pela ciência moderna. Compostos como morfina, artemisinina, paclitaxel e aspirina são exemplos marcantes de produtos naturais ou seus derivados que se tornaram pilares no tratamento de diversas doenças. Tais moléculas, muitas vezes obtidas diretamente de espécies vegetais, podem atuar de forma isolada ou em combinação sinérgica com outras substâncias, modulando vias bioquímicas complexas e oferecendo alternativas terapêuticas inovadoras (GOLMEI et al., 2024).

No universo da fitoquímica, a exploração de metabólitos secundários vegetais para fins terapêuticos representa uma área de pesquisa relevante e com alto interesse, dada a urgência em identificar novas abordagens para o tratamento de diversas enfermidades. Dentre inúmeros produtos naturais, as chalconas têm se destacado como uma classe de moléculas de grande interesse para a comunidade científica. Chalconas (calconoides, 1,3-diaril-2-propen-1-onas), representada na figura 1, são compostos naturais e sintéticos nos quais os resíduos aromáticos são unidos por uma cadeia eletrofílica α , β -insaturada de três átomos de carbono. Os hidrogênios reativos da estrutura básica das chalconas determinam a possibilidade de esses compostos serem estruturalmente modificados para a obtenção de um grande número de derivados (KAHSSAY et al., 2021). Estruturalmente, estas substâncias são definidas como compostos fenólicos caracterizados por uma estrutura fundamental de 1,3-diaril-2-propen-1-ona, uma arquitetura molecular que as posiciona de forma estratégica como intermediários biossintéticos essenciais devido a inúmeras atividades biológicas (CONSTANTINESCU E MIHIS, 2022). De fato, as chalconas atuam com o ponto de ramificação crucial na via fenilpropanoide, sendo os precursores diretos para a formação de outras classes proeminentes de polifenóis, como os flavonoides e isoflavonoides, que também exibem diversas atividades biológicas com grande

interesse (RUDRAPAL et al., 2022). A intrínseca diversidade estrutural das chalconas, que se manifesta através de variações nos padrões de substituição dos anéis aromáticos e da própria ponte propenônica, confere a esses compostos uma versatilidade única. Essa característica as torna alvos promissores para a otimização de propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, facilitando o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos com um amplo espectro de atividades biológicas já documentadas, incluindo ações anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e, notavelmente, anticancerígenas, consolidando seu vasto potencial no cenário da descoberta de fármacos (GOLMEI et al., 2024).

A capacidade intrínseca das chalconas de interagir especificamente com proteínas reguladoras, enzimas-chave e receptores celulares justifica o crescente e robusto volume de estudos científicos voltados à sua caracterização detalhada e à exploração de suas amplas aplicações terapêuticas, permitindo que exerçam efeitos múltiplos em complexas redes biológicas (MICHALKOVA et al., 2021). Nesse contexto, a buteína (2',3,4,4'-tetraidroxicalcona), com estrutura molecular representada na figura 1, emergiu como uma das chalconas mais investigadas na atualidade, sendo um produto natural amplamente encontrado em diversas espécies vegetais, notadamente em plantas do gênero *Butea*, como *Butea monosperma*, de onde deriva seu nome, ou popularmente chamada por *Flame of the Forest*, que é amplamente empregada na medicina tradicional indiana, sendo utilizadas principalmente suas flores, casca e sementes para o tratamento de processos inflamatórios, distúrbios metabólicos e infecções, e em outras fontes como *Rhus verniciflua* (árvore-da-laca chinesa) e *Coreopsis lanceolata* com aplicações semelhantes. Para atingir os níveis mais elevados de síntese de buteína, são necessárias condições de crescimento específicas para *Butea monosperma* e outras espécies de plantas, que incluem um clima subtropical, luz solar abundante e solos alcalinos e mal drenados. O impacto das mudanças sazonais também é significativo, com produção máxima observada durante os dias mais quentes e longos da primavera e do verão. Essas descobertas são fundamentais para ampliar tanto a produção quanto a qualidade da buteína, visando atender às suas múltiplas aplicações farmacológicas. A buteína se destaca por sua notável eficácia em diversos modelos de doenças — incluindo condições inflamatórias, neoplásicas e neurodegenerativas — e por sua versatilidade química intrínseca, que favorece a síntese e a modificação estrutural. Essa combinação de propriedades permite a otimização de seus perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos, consolidando-a como um protótipo promissor na busca por novos agentes terapêuticos (GOLMEI et al., 2024).

A notável abrangência das ações farmacológicas da buteína, demonstrada por sua robusta atividade antioxidante, capaz de neutralizar espécies reativas de oxigênio e ativar vias

de supressão de estresse oxidativo como a Nrf2 (TUNGALAG et al., 2022), e por seus potentes efeitos anti-inflamatórios, que modulam citocinas e vias de sinalização cruciais, solidifica seu perfil terapêutico (TULI et al., 2021). Além disso, sua eficácia anticancerígena tem sido extensivamente documentada, com mecanismos que incluem a inibição da proliferação celular, a indução de apoptose e a modulação de vias-chave em linhagens de câncer (PARK et al., 2023). A buteína também demonstra promissores efeitos antidiabéticos, melhorando o metabolismo da glicose e a sensibilidade à insulina, e oferece atividades neuroprotetoras, mitigando o estresse oxidativo e inflamatório em condições neurodegenerativas (CHANG et al., 2019). Não menos importante, suas propriedades cardiovasculares, como a vasorelaxação e a proteção contra lesões oxidativas, sublinham seu impacto sistêmico (GOLMEI et al., 2024; Yu et al., 1995).

Essa multiplicidade de ações biológicas, impulsionada por interações com alvos moleculares diversos, desde enzimas como a acetilcolinesterase e a anidrase carbônica até grupos sulfidríla em resíduos de cisteína, posiciona a buteína como uma molécula de elevado valor para o desenvolvimento de terapias inovadoras. Contudo, para a plena realização de seu potencial, a jornada à frente exige uma elucidação ainda mais aprofundada de suas intrincadas vias mecanísticas, a otimização de sua entrega terapêutica e a condução de rigorosos ensaios clínicos, que validarão sua translação para o benefício humano em diversas condições médicas urgentes (GOLMEI et al, 2024).

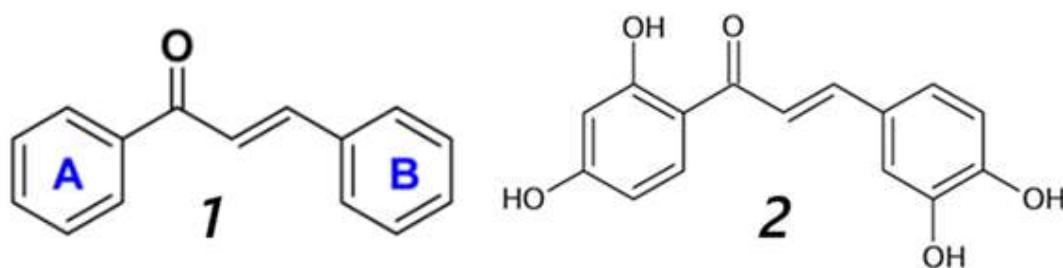


Figura 1. Representação da estrutura molecular geral de uma chalcona (1) e da buteína (2',3,4,4'-tetrahidroxichalcona), uma chalcona tetrahidroxilada. As chalconas são precursores na biossíntese de flavonoides e apresentam uma ampla gama de atividades biológicas (SIMÃO, 2015).

1.2 A ALBUMINA SÉRICA HUMANA (HSA)

A Albumina do Soro Humano (HSA, do inglês *Human Serum Albumin*) é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, desempenhando um papel crucial no organismo devido à sua alta concentração e diversas funções biológicas. Biossintetizada nas células hepáticas em quantidades diárias que variam de 150 a 250 mg por quilograma de peso corporal (SANTOS et

al., 2004), a HSA atinge uma concentração aproximada de 600 μM no plasma (GHUMAN et al., 2005; SUGIO et al., 1999; ZSILA, 2013).

A relevância científica da HSA é inegável, como evidenciado pelo grande volume de pesquisas publicadas. Um levantamento no banco de dados Google Scholar revelou 130.000 artigos sobre "human serum albumin" entre 1915 e 2025. O número de publicações demonstrou um crescimento notável a partir de 1965, atingindo seu pico em 2022. As áreas do conhecimento que mais contribuem para o desenvolvimento científico da HSA incluem Medicina, Bioquímica, Biologia Molecular, Farmacologia, Toxicologia, Farmacêutica e Química.

Entre as principais funções da HSA, destaca-se sua surpreendente capacidade de ligação a uma vasta gama de compostos. Ela transporta substâncias fisiológicas lipossolúveis, como ácidos graxos de cadeia longa, hormônios (tiroxina, cortisol, aldosterona), e pequenos íons (cálcio, cobre, níquel, zinco) (SANTOS et al., 2004). Além disso, a HSA é fundamental na farmacocinética e farmacodinâmica de diversas drogas, atuando como transportador e regulador do fluxo intercelular de pequenas moléculas (PETERS, 1995; GHUMAN et al., 2005; SUGIO et al., 1999; ZSILA, 2013). A interação de fármacos com a HSA é um campo de extenso estudo farmacocinético (THOMAS et al., 1987).

A Albumina do Soro Humano (HSA) desempenha um papel crucial no transporte e na regulação do fluxo intercelular de pequenas moléculas, bem como na farmacocinética de diversas drogas. Sua importância reside na notável capacidade de ligação a uma vasta gama de compostos, tanto endógenos (como ácidos graxos e hormônios) quanto exógenos (como fármacos) (PETERS, 1995; GHUMAN et al., 2005; SUGIO et al., 1999; ZSILA, 2013). Além disso, a HSA é vital para a manutenção do volume plasmático e do equilíbrio ácido-básico do sangue (SANTOS et al., 2004).

Estruturalmente, a HSA é uma proteína globular monomérica não glicosilada, composta por uma única cadeia polipeptídica de 585 resíduos de aminoácidos, totalizando um peso molecular de 66 kDa. Sua arquitetura intrincada é dividida em três domínios homólogos (I, II e III), cada um contendo dois subdomínios (A e B), como ilustrado na Figura 2 (código PDB 1AO6). Cada domínio é formado por dez α -hélices, organizadas em dois subdomínios, cada um com quatro α -hélices, intercaladas por folhas β antiparalelas. A estabilidade tridimensional da proteína é assegurada por 17 pontes dissulfeto, denotadas em amarelo na Figura 2. Seus principais sítios de ligação são os bolsos hidrofóbicos localizados nos subdomínios IIA, conhecido como Sítio 1 (para fármacos como varfarina), e IIIA, denominado Sítio 2 (para drogas como ibuprofeno) (SUDLOW et al., 1975; SUDLOW et al., 1976; GHUMAN et al., 2005; ZSILA, 2013; CARUSO, 2014). Adicionalmente, o subdomínio IB é reconhecido como

o Sítio 3, ligando-se a compostos como bilirrubina e laranja de metila (ZSILA, 2013). Um detalhe estrutural importante é a presença de um único resíduo de triptofano (Trp214), localizado estrategicamente em uma α -hélice do subdomínio IIA, na interface com o subdomínio IIIA (SUGIO et al., 1999). A singularidade desse resíduo é fundamental, pois o triptofano 214 (Trp-214), localizado no subdomínio IIA da HSA, é o principal responsável pela fluorescência intrínseca da proteína quando excitado em comprimentos de onda na região do ultravioleta, tipicamente em 280 ou 295 nm. Essa propriedade torna a espectroscopia de fluorescência uma técnica amplamente empregada no estudo de interações entre a HSA e pequenas moléculas, uma vez que alterações na intensidade ou no perfil espectral refletem mudanças no microambiente do Trp-214 decorrentes do processo de ligação (CONTESSOTO, 2017).

A elevada capacidade de ligação da HSA advém de seus bolsos hidrofóbicos localizados principalmente nos subdomínios IIA e IIIA, conhecidos como Sítio 1 e Sítio 2, respectivamente (SUDLOW et al., 1975; SUDLOW et al., 1976; GHUMAN et al., 2005). O Sítio 1, situado no subdomínio IIA, é uma cavidade ampla e flexível formada por seis α -hélices. Embora apresente resíduos polares e carregados positivamente na superfície e na entrada, o interior do sítio contém aglomerados apolares que favorecem interações hidrofóbicas com os ligantes. Essa combinação confere ao Sítio 1 um caráter misto, permitindo a ligação de diversos fármacos, como varfarina e fenilbutazona (CARUSO, 2014; GHUMAN et al., 2005; ZSILA, 2013). O Sítio 2, encontrado no subdomínio IIIA, é topologicamente similar ao Sítio 1, também contendo seis hélices e características polares que atraem compostos com carga negativa, como diazepam e ibuprofeno, embora sua cavidade seja menor (CARUSO, 2014; GHUMAN et al., 2005; ZSILA, 2013). Além desses, estudos recentes identificaram o subdomínio IB como o Sítio 3, um sítio de ligação promíscuo capaz de interagir com bilirrubina, hemina e laranja de metila, entre outros compostos (ZSILA, 2013). Este Sítio 3, que se acredita ser acoplado alostericamente ao Sítio 1, também pode ter interações secundárias com compostos que se ligam aos Sítios 1 e 2 (GHUMAN et al., 2005). A alta afinidade da HSA por uma vasta gama de substâncias, incluindo ácidos graxos, aminoácidos, metais (Cu^{2+} e Zn^{2+}), metabólitos e drogas, reforça seu papel indispensável no transporte e distribuição de moléculas no organismo, crucial para tratamentos e para a compreensão de falhas fisiológicas (GHUMAN et al., 2005; SUGIO et al., 1999; HE, 1992). A contínua investigação das interações entre a HSA e as características moleculares de fármacos é, portanto, fundamental para desvendar os mecanismos que governam a ação fisiológica e farmacocinética dessa proteína vital.

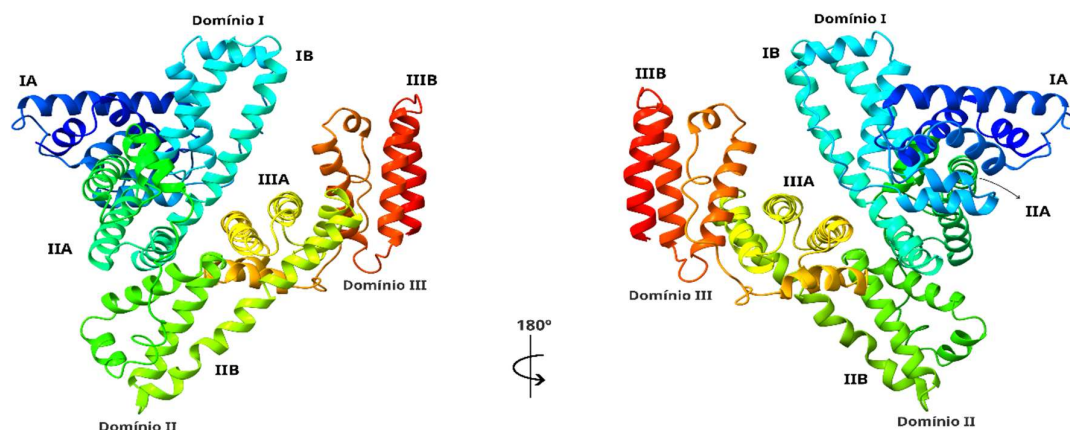


Figura 2. Estrutura tridimensional da Albumina do Soro Humano (HSA), obtida a partir do modelo cristalográfico do Protein Data Bank (PDB: 1AO6) e renderizada no software UCSF Chimera. À direita, a estrutura é apresentada após rotação de 180°, evidenciando a organização espacial da proteína. Estão indicados os principais sítios de ligação da HSA e o resíduo de triptofano Trp214. Imagem gerada pelo autor.

1.3 COMPLEXAÇÃO METÁLICA E POTENCIAIS FARMACOLÓGICOS

A complexação metálica é um fenômeno de grande relevância na interface entre a química e as ciências biomédicas, particularmente no desenvolvimento de fármacos com propriedades otimizadas. Esse processo envolve a ligação de íons metálicos a ligantes – frequentemente moléculas orgânicas com pares de elétrons disponíveis – resultando na formação de complexos de coordenação. Tais complexos não só alteram as propriedades físico-químicas do ligante original, mas também podem modificar significativamente sua atividade biológica, solubilidade, estabilidade, perfil farmacocinético e, notavelmente, sua eficácia terapêutica (FRICKER, 2007).

No contexto das chalconas, como a buteína – um composto polifenólico com ampla gama de atividades farmacológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antitumorais (GUPTA et al., 2016), a complexação com metais surge como uma estratégia promissora para otimizar ou modificar suas ações terapêuticas. No campo da farmacologia e química medicinal, a complexação metálica tem sido extensivamente investigada para potencializar os efeitos de compostos bioativos. Quando uma molécula bioativa é complexada com um metal, ocorrem alterações que podem ser altamente benéficas. Um dos principais efeitos observados é a melhora na estabilidade térmica e química da molécula, o que a torna mais resistente à degradação metabólica prematura. Isso, por sua vez, se traduz em uma maior

biodisponibilidade, um fator crítico para que o fármaco atinja concentrações eficazes no local de ação (KOSTOVA, 2006).

Adicionalmente, a complexação pode influenciar diretamente a atividade terapêutica intrínseca do composto. Em muitos casos, o íon metálico participa ativamente da interação com alvos biológicos, como proteínas, ácidos nucleicos, receptores celulares ou enzimas, estabelecendo ligações de coordenação específicas que aumentam a afinidade do fármaco por esses sítios. Esse fenômeno resulta em maior seletividade e potência farmacológica, permitindo a redução das doses necessárias e, conseqüentemente, a mitigação de efeitos colaterais indesejados (FRICKER 2007). Outro aspecto crucial da complexação metálica é a melhora na solubilidade aquosa, uma característica fundamental para a absorção intestinal de fármacos administrados oralmente. Muitos compostos bioativos exibem baixa solubilidade, o que restringe sua absorção e eficácia. A formação de complexos com certos metais pode alterar essa propriedade, elevando a solubilidade do sistema e facilitando uma absorção mais eficiente pelas mucosas do trato gastrointestinal (THOMPSON, GUTHRIE, 2008).

Do ponto de vista estrutural, os complexos metálicos podem assumir diversas geometrias, como octaédrica, tetraédrica ou quadrado planar (FRICKER, 2007), que influenciam diretamente a forma como o fármaco interage com o organismo. A geometria do complexo pode facilitar ou dificultar sua passagem por membranas biológicas, o reconhecimento por transportadores e a capacidade de transpor barreiras fisiológicas, como a hematoencefálica. Em alguns casos, complexos metálicos são racionalmente desenvolvidos para funcionar como sistemas de liberação controlada, visando a liberação do fármaco no local exato de ação (FRICKER, 2007). É igualmente importante ressaltar o papel dos metais essenciais — como ferro, zinco, cobre, manganês e magnésio — na biologia humana. A complexação com esses elementos, em concentrações adequadas, pode não apenas intensificar a ação farmacológica, mas também contribuir para a homeostase mineral do organismo. Embora tóxicos, metais pesados como cádmio, chumbo e mercúrio podem, em concentrações controladas e em sistemas de liberação específicos, ser empregados para fins terapêuticos, como no tratamento de cânceres ou infecções resistentes, demonstrando o vasto espectro de possibilidades da complexação metálica (GAO et al., 2013). Um exemplo emblemático da aplicação terapêutica de complexos metálicos é a cisplatina, um complexo de platina amplamente utilizado na quimioterapia de diversos tipos de câncer. Ela atua interagindo com o DNA das células tumorais, inibindo sua replicação e induzindo apoptose (FRICKER, 2007), reforçando a importância do desenho racional de complexos com propriedades específicas para atuarem como agentes terapêuticos eficazes e seletivos. O estudo da complexação metálica

também contribui para a compreensão de mecanismos de resistência medicamentosa, uma vez que algumas células tumorais ou microrganismos patogênicos podem desenvolver sistemas de defesa que inativam os complexos ou impedem sua entrada nas células (FRICKER, 2007). Conhecer essas interações é crucial para o desenvolvimento de novos complexos que sejam mais estáveis, seletivos e resistentes à degradação biológica. A complexação metálica é, portanto, uma ferramenta promissora para a modulação de propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas de compostos bioativos, permitindo um ajuste fino no comportamento do fármaco no organismo (GAO et al., 2013). Em suma, a complexação metálica constitui uma abordagem estratégica e multifacetada no desenvolvimento de novos fármacos, oferecendo possibilidades para aumentar a eficácia terapêutica, a seletividade, a estabilidade e a segurança dos compostos utilizados na prática clínica.

A buteína, apesar de seu vasto potencial terapêutico, a buteína, assim como outros compostos fenólicos, apresenta limitações que podem comprometer sua eficácia clínica, como baixa solubilidade em água (KIM et al., 2020). Nesse cenário, a complexação metálica da buteína emerge como uma abordagem promissora para superar tais limitações e expandir sua aplicabilidade terapêutica. Quimicamente, a buteína possui múltiplos grupos funcionais capazes de atuar como sítios de coordenação, como hidroxilas fenólicas e o grupo cetona no anel central da estrutura flavonoídica. Esses grupos são nucleofílicos, aptos a formar ligações de coordenação com íons metálicos bivalentes ou trivalentes, como Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} , entre outros. Espera-se que a complexação da buteína com metais modifique significativamente suas propriedades físico-químicas e biológicas. Uma das principais hipóteses é o aumento da solubilidade em meios aquosos, o que favoreceria sua absorção no trato gastrointestinal e, conseqüentemente, uma maior biodisponibilidade sistêmica. Adicionalmente, prevê-se que a complexação metálica resulte em complexos de buteína mais estáveis, com maior resistência à degradação por fatores como pH, temperatura e metabolismo enzimático. A presença do metal pode conferir proteção ao núcleo da molécula, retardando sua oxidação e decomposição, fenômenos comuns em flavonoides livres. Isso pode levar a um aumento da meia-vida plasmática e, conseqüentemente, a uma maior eficácia terapêutica com doses reduzidas.

A complexação com certos metais pode ainda permitir que a buteína alcance novos alvos terapêuticos, como enzimas metalo-dependentes ou receptores celulares que reconhecem a estrutura metálica do complexo. Isso expandiria o espectro farmacológico da buteína, permitindo sua aplicação em contextos terapêuticos pouco explorados, como no combate a microrganismos resistentes ou na indução de apoptose em células tumorais específicas (FRICKER, 2007).

A literatura já apresenta indícios experimentais de que a complexação de flavonoides com metais pode alterar significativamente seus perfis farmacológicos. Estudos envolvendo complexos metálicos de quercetina (como ilustrado na Figura 3, que mostra a formação de diferentes complexos da quercetina com $AlCl_3$, conforme proposto por Cornard et al., 2002), além de catequina e naringenina, demonstraram aumento da atividade antioxidante, antiproliferativa e antimicrobiana, sugerindo que a buteína pode seguir um caminho similar, uma vez que se trata de uma chalcona integrante da classe dos flavonoides (SOUZA et al., 2017).

Além dos efeitos biológicos, a complexação metálica também promove alterações estruturais detectáveis por espectroscopia, como mudanças no espectro eletrônico observadas em técnicas de UV-Vis, infravermelho (IV) e ressonância paramagnética eletrônica (EPR), amplamente utilizadas para caracterizar o ambiente eletrônico de ligantes (PANDEY; SINGH, 2017). Nesse contexto, este estudo tem como objetivo investigar a complexação metálica da buteína, buscando não apenas confirmar a formação de complexos estáveis com íons de interesse biomédico, mas também avaliar os impactos dessa modificação em suas propriedades terapêuticas. Hipotetiza-se que a complexação possa resultar em melhorias de solubilidade, aumento da estabilidade, modulação do potencial redox e até um efeito sinérgico sobre sua atividade biológica.

Em suma, a buteína complexada com metais representa uma promissora abordagem farmacológica para ampliar o alcance terapêutico desse composto natural, transformando limitações em oportunidades e reafirmando a importância da química de coordenação como aliada da inovação em saúde (FRICKER, 2007; GAO et al., 2013).

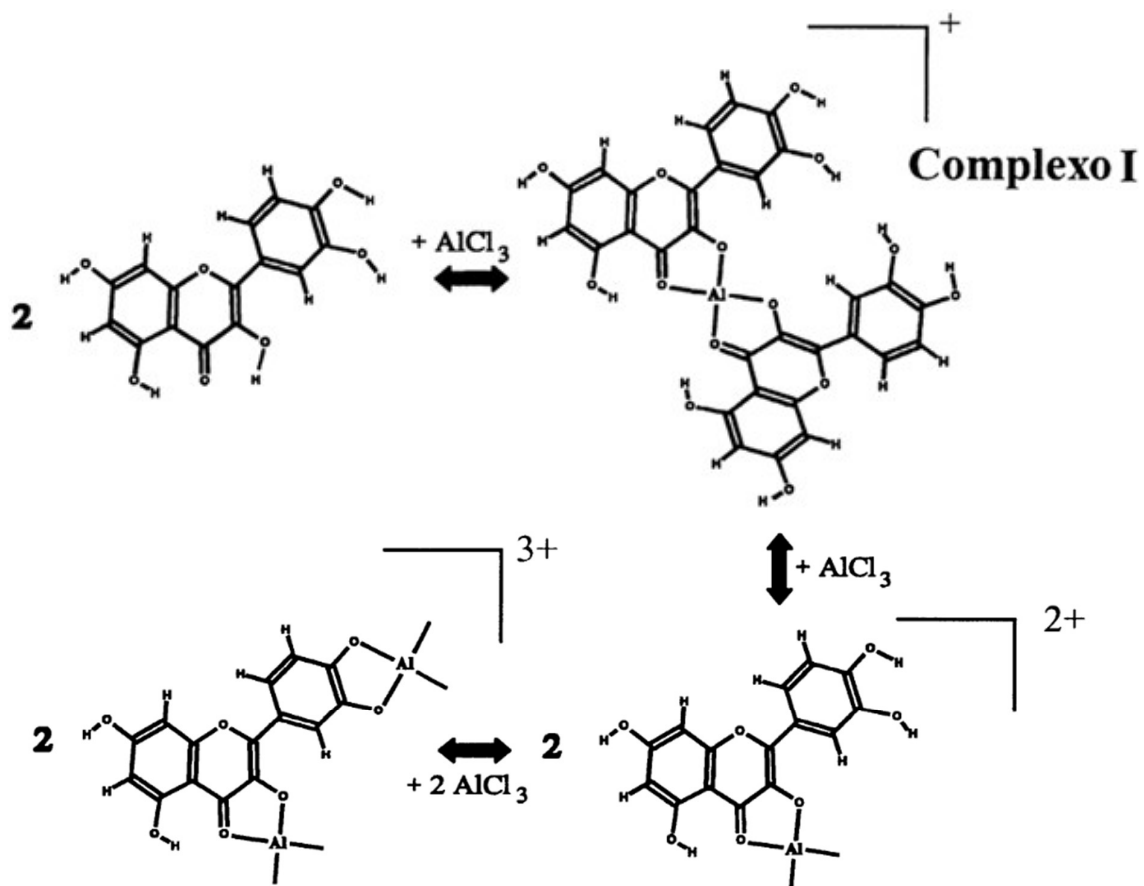


Figura 3. Representação esquemática da formação dos complexos I e II da quercetina com AlCl_3 , evidenciando os possíveis modos de coordenação metálica. Adaptado de Cornard et al. (2002).

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

O presente trabalho realizou a caracterização molecular da interação da chalcona buteína e de seus complexos metálicos com a albumina sérica humana (HSA), empregando diferentes abordagens espectroscópicas. Os resultados obtidos foram satisfatórios e permitem considerações conclusivas relevantes.

As análises de UV-Vis mostraram que a formação de complexos estáveis da buteína com os íons metálicos ferro, cobre e zinco, evidenciada por deslocamentos espectrais e variações no centro de massa espectral.

Os resultados de fluorescência mostraram que tanto a buteína livre quanto seus complexos com ferro e cobre apresentam afinidade expressiva pela HSA, com valores de constante de dissociação (K_d) na faixa micromolar, reforçando o papel da albumina como transportadora plasmática desses ligantes.

A espectroscopia de dicroísmo circular (CD) trouxe como resultado que a interação da buteína e de seus complexos metálicos não promoveu alterações significativas na estrutura secundária da HSA, preservando sua conformação nativa. Isso indica que a ligação ocorre de maneira compatível com a manutenção estrutural e funcional da proteína.

Os ensaios de RMN de hidrogênio revelaram deslocamentos químicos característicos nos sinais da buteína em presença da HSA, confirmando interações diretas proteína-ligante. Do ponto de vista biológico, tais resultados reforçam o papel da HSA como carreadora plasmática de compostos fenólicos. A associação com a proteína pode influenciar parâmetros farmacocinéticos importantes, como biodisponibilidade e tempo de circulação, modulando o potencial terapêutico da buteína. Portanto, a análise por RMN complementa e fortalece as demais evidências obtidas neste trabalho, mostrando que a interação proteína-ligante é significativa e pode ter impacto direto em aplicações farmacológicas futuras.

Já os resultados obtidos nos estudos de competição de sítio evidenciaram que a buteína interage preferencialmente com o sítio III (subdomínio IB), por meio da competição com o metil orange, sem alterações significativas frente às sondas varfarina (sítio I) e ibuprofeno (sítio II). Em conjunto, esses resultados fornecem uma visão abrangente do mecanismo de transporte plasmático da buteína, estabelecendo uma base sólida para investigações futuras.

Os achados abrem caminho para explorar os efeitos da complexação metálica em modelos celulares e in vivo, avaliando estabilidade, biodisponibilidade e metabolismo; correlacionar as alterações observadas nas interações com HSA com ensaios funcionais de atividade biológica, especialmente em modelos de estresse oxidativo, inflamação e câncer; e

investigar a viabilidade de sistemas de liberação controlada para a buteína e seus complexos metálicos, ampliando seu potencial terapêutico.

Assim, este trabalho reforça a importância da albumina como moduladora farmacocinética da buteína e de seus derivados metálicos, destacando o potencial desses sistemas como protótipos para aplicações farmacológicas. De forma geral, os resultados obtidos contribuem para o avanço do entendimento das interações entre compostos fenólicos e proteínas plasmáticas, especialmente no contexto da complexação metálica. Como perspectivas, destacam-se a investigação por modelagem molecular e a avaliação de outros íons metálicos, visando aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos e explorar o potencial terapêutico da buteína e de seus derivados.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAYEVA, A. K.; KURBANOV, F. M.; SHARIPOV, A. M. Hyperuricemia-induced alterations in albumin's drug-binding capacity: clinical insights and review of spectroscopic approaches. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 60, n. 5, p. 389–412, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1080/05704928.2025.2503980>
- AN, Y.; SEDINKIN, S. L.; VENDITTI, V. Solution NMR methods for structural and thermodynamic investigation of nanoparticle adsorption equilibria. *Nanoscale Advances*, Cambridge: Royal Society of Chemistry, v. 4, p. 2583–2598, 2022. DOI: 10.1039/d2na00099g. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d2na00099g>. Acesso em: 3 out. 2025.
- ANTONOV, L.; STOYANOV, J. UV–Vis spectroscopy of flavonoids. *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, v. 68, n. 2, p. 105–113, 1993.
- BASÍLIO, J. C. Dicroísmo circular aplicado a biomoléculas. *Química Nova*, v. 37, n. 1, p. 120–127, 2014.
- BAUER, A.; BRÖNSTRUP, M. Natural product-based drug discovery. *Natural Product Reports*, v. 31, n. 1, p. 35–60, 2014.
- CARUSO, I. P. Interações de fármacos com a albumina sérica humana: aspectos estruturais e farmacológicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 50, n. 3, p. 389–402, 2014.
- CHANG, S. Y. et al. Neuroprotective effects of butein in neurodegenerative disorders. *Neurochemistry International*, v. 129, p. 104–112, 2019.
- CORNARD, J. P.; DOUCÉT, J. P.; MERLIN, J. C. Structural and spectroscopic study of complexes of quercetin with aluminum(III). *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 92, n. 1, p. 19–27, 2002.
- CONSTANTINESCU, T.; MIHIS, A. Chalcones as intermediates in flavonoid biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, v. 21, p. 335–356, 2022.
- CONTESSOTO, C. C. Fluorescência da albumina sérica humana: princípios e aplicações. *Química Nova*, v. 40, n. 7, p. 784–791, 2017.
- FANALI, G. et al. Human serum albumin: From bench to bedside. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 33, n. 3, p. 209–290, 2012. DOI: 10.1016/j.mam.2011.12.002
- FASMAN, G. D. Circular dichroism and the conformational analysis of biomolecules. New York: Springer, 1996.
- FERNANDES, Giorio Lúcio. Construção de espectrofotômetro UV-VIS multicanal e aplicações no estudo da cinética de reações químicas: uma proposta de plataforma analítica e educacional. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

FITZGERALD, M. et al. Plant-derived natural products in drug discovery. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 65, p. 55–62, 2020.

FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. *Dalton Transactions*, v. 1, p. 4903–4917, 2007.

GHOSH, A.; NANDI, A. Applications of UV–Vis spectroscopy in coordination chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 491, p. 214–230, 2024.

GHUMAN, J. et al. Structural basis of drug-binding specificity of human serum albumin. *Journal of Molecular Biology*, v. 353, n. 1, p. 38–52, 2005.

GOLMEI, A. et al. Chalcones and their therapeutic potential. *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, p. 135–150, 2024.

GREENFIELD, Norma J. Using circular dichroism spectra to estimate protein secondary structure. *Nature Protocols*, [s. l.], v. 1, n. 6, p. 2876–2890, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.202>

GUPTA, R. et al. Pharmacological potential of butein and its complexes. *Bioorganic Chemistry*, v. 64, p. 44–52, 2016.

HE, X. M.; CARTER, D. C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, v. 358, p. 209–215, 1992.

HILL, A. V. The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *Journal of Physiology*, v. 40, p. iv–vii, 1910.

JAKUBOWSKI, Henry; AHERN, Kevin; RAJAGOPAL, Indira. *Oxygen transport by the proteins myoglobin and hemoglobin*. In: WATSON, Lori Anne (ed.). *Inorganic Chemistry (Watson) / Bioinorganic Chemistry*. LibreTexts, [s.l.], 2025.

JIAO, Y. et al. Spectrophotometric studies of flavonoid-metal complexes. *Analytical Sciences*, v. 14, p. 889–895, 1998.

KAHSSAY, H. et al. Chalcones as versatile scaffolds in medicinal chemistry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 43, p. 116–125, 2021.

KAUR, R.; KUMAR, N. UV–Vis spectroscopy in metal complex characterization. *Journal of Applied Spectroscopy*, v. 78, p. 276–284, 2011.

KASHA, M. Characterization of electronic transitions in molecular spectroscopy. *Discussions of the Faraday Society*, v. 9, p. 14–19, 1947.

KIM, H. J. et al. Solubility challenges in flavonoid drug development. *Molecules*, v. 25, n. 12, p. 2801–2812, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25122801>

KOSTOVA, I. Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents. *Current Medicinal Chemistry*, v. 13, n. 8, p. 1085–1107, 2006.

KOUNDAL, S. et al. Crystal structure analysis of human serum albumin. *Biochemical Journal*, v. 482, n. 4, p. 545–556, 2025.

MARION, D. NMR studies of protein–ligand interactions. *Methods in Molecular Biology*, v. 1008, p. 25–36, 2013.

MICHALKOVA, R. et al. Molecular interactions of chalcones with proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, p. 120–135, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22010120>

MLADENOV, D.; DIMITROV, G. T2 relaxation in protein–ligand interactions. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 39, p. 451–457, 2001.

MOLITOR, C. et al. Spectroscopic characterization of butein. *Journal of Natural Products*, v. 78, n. 5, p. 1148–1154, 2015.

MURTHY, S. S.; VIRK, H. S. Fluorescence spectroscopy: principles and applications. *Spectrochimica Acta A*, v. 118, p. 42–56, 2014.

NASCIMENTO, O. R. Fundamentos de Ressonância Magnética Nuclear. São Paulo: EdUSP, 2016.

NUCCI, Nathaniel V.; VALENTINE, Kathleen G.; WAND, A. Joshua. High-resolution NMR spectroscopy of encapsulated proteins dissolved in low-viscosity fluids. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 241, p. 137–147, 2014. doi: 10.1016/j.jmr.2013.10.006.

PANDEY, R.; SINGH, S. Spectroscopic analysis of metal–flavonoid complexes. *Spectrochimica Acta A*, v. 183, p. 130–139, 2017.

PARK, Y. et al. Anticancer mechanisms of butein. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 164, p. 114909, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114909>

PAWLEY, J. B. (ed.). *High resolution imaging in microscopy and ophthalmology: new frontiers in biomedical optics*. Cham: Springer; 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543225/>. Acesso em: 2 out. 2025.

PESIC, M. Role of natural products in drug discovery. *Current Medicinal Chemistry*, v. 22, p. 1462–1472, 2015.

PETERS, T. All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications. San Diego: Academic Press, 1995.

PJ, R.; RP, L.; SW, K. Spin–spin relaxation in biomolecules. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 137, p. 22–29, 1999.

RAMIREZ-VAZQUEZ, J. et al. Electromagnetic spectrum and UV applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 55, p. 112–127, 2020.

ROYER, C.; SCARLATA, S. Fluorescence approaches to protein–ligand interactions. *Methods in Enzymology*, v. 450, p. 79–106, 2008.

RUDRAPAL, M. et al. Chalcones as potential therapeutic agents. *Phytotherapy Research*, v. 36, n. 2, p. 684–703, 2022.

SANTOS, M. A. et al. Pharmacological relevance of albumin binding. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 37, n. 2, p. 189–200, 2004.

SIMÃO, Thatiana Lopes Biá Ventura. Estudo de chalconas substituídas com potencial ação anti-inflamatória e antimicobacteriana como nova estratégia para o tratamento da tuberculose. 2015. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2015.

SOUSA, F. R. Aplicações do dicroísmo circular em proteínas. *Revista Virtual de Química*, v. 13, n. 2, p. 493–506, 2021.

SOUZA, V. et al. Biological activity of metal–flavonoid complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 175, p. 114–122, 2017.

SUDLOW, G. et al. The characterization of binding sites on human serum albumin. *Molecular Pharmacology*, v. 11, p. 824–832, 1975.

SUDLOW, G.; BIRKETT, D. J.; WADE, D. N. Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin. *Molecular Pharmacology*, v. 12, p. 1052–1061, 1976.

SUGIO, S. et al. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Engineering*, v. 12, p. 439–446, 1999.

THOMPSON, K. H.; GUTHRIE, N. Metal complexes in pharmacology. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 252, p. 203–210, 2008.

THOMAS, D. G. et al. Albumin binding and pharmacokinetics of drugs. *Biochemical Pharmacology*, v. 36, p. 1995–2000, 1987.

TULI, H. S. et al. Anti-inflammatory effects of butein. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 699–707, 2021.

TUNGALAG, S. et al. Butein activates Nrf2 signaling pathway. *Antioxidants*, v. 11, n. 4, p. 789, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11040789>

WALLACE, B. A.; JANES, R. W. Circular dichroism and protein structure analysis. Chichester: Wiley, 2009.

WEISS, J. N. The Hill equation revisited: uses and misuses. *FASEB Journal*, v. 11, n. 11, p. 835–841, 1997.

8

WATHUDURA, A. et al. Monitoring chemical reactions with UV–Vis spectroscopy. *Analytical Methods*, v. 17, n. 4, p. 554–565, 2025.

WILLIAMSON, M. P. Using chemical shift perturbation to characterise ligand binding. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, v. 73, p. 1–16, 2013.

YU, J. et al. Cardioprotective actions of butein. *American Journal of Physiology*, v. 268, p. H2591–H2596, 1995.

ZSILA, F.; BIKÁDI, Z.; SIMONYI, M. Probing the binding of the flavonoid, quercetin to human serum albumin by circular dichroism, electronic absorption spectroscopy and molecular modelling methods. *Biochemical Pharmacology*, v. 65, n. 3, p. 447–456, 2003. DOI: 10.1016/S0006-2952(02)01521-6.

ZSILA, F. Subdomain IB of human serum albumin: a third drug-binding site. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1830, n. 12, p. 5397–5405, 2013.