

PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS L-TRÍPTOFANO COM MN (II), NI (II), CU (II) E ZN (II)

Genilza da Silva Mello¹, Ana Carina Sobral Carvalho², Adriana de Paula Cardoso², Adriano Buzutti Siqueira³

¹Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus Universitário de Barra do Garças - MT - Brazil.

²Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus Universitário de Cuiabá - MT - Brazil.

³Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus Universitário de Várzea Grande - MT - Brazil

*buzutti7@hotmail.com

Accepted 23/08/2016
Published in 01/10/2016

ABSTRACT

Keywords

aminoacid
drug
thermal behavior
bivalente metals

DOI 10.18362/bjta.v5.i1.2

L-Tryptophan (trp) is classified as an essential amino acid with an indolic side chain. Trp is an interesting ligand for the coordination chemistry due to different binding sites presented by the biomolecule and also low toxicity and high purity (above 99% w/w). Compounds with trp and metal ion (Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+}) were obtained in the solid state. The characterization was evaluated by simultaneous TG- DSC, XRD and FTIR techniques. The DPPH's reduction method was used to evaluate the antioxidant potential of the synthesized compounds. The thermoanalytical techniques could suggest the formation of compounds $Mn(trp)_2 \cdot 1,5H_2O$, $Ni(Trp)_2 \cdot 3,5H_2O$, $Cu(Trp)_2$ and $Zn(Trp)_2$. The IR spectra suggested M-N and M-O interaction to all compounds. The $Mn(Trp)_2 \cdot 1,5H_2O$ compound showed better antioxidant activity with the DPPH ($24.59\% \pm 0.26$) at the concentration of $250\mu M$. The analysis of antioxidant activity has been used in research centers as the initial parameter for future applications in the pharmaceutical and food industry.

Introdução

Desde o século XV é conhecida a atividade farmacológica de complexos com metais de transição. O L-Triptofano (trp), assim como outros aminoácidos, possui diversos possíveis sítios de ligação à cátiões. O trp possui três heteroátomos com propriedades de base de Lewis e um anel aromático capaz de realizar interações do tipo cátião- π [1]. Mello e colaboradores apresentaram atribuições vibracionais e mecanismo de decomposição térmica do trp, indicando produtos alguns produtos nocivos ao ambiente durante o processo de decomposição térmica [2].

A interação do L-Triptofano (trp) com íons metálicos apresentam particularidades que ainda precisam ser melhores estudadas, o seu comportamento anfótero em solução aquosa e a forma zwitterion (zw), mesmo em estado sólido [3]. Estudos espectroscópicos, especialmente espectroscopia de absorção na região do infravermelho, têm ajudado a distinguir aminoácidos nas formas zw e não-zw. A reatividade dos íons metálicos ($Mn^{2+} > Fe^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+} > Ni^{2+} > Cu^{2+}$) com o trp foi estudada pelas constantes de formação dos complexos, sendo correlacionados ao raio atômico e potencial de ionização [4].

As estruturas dos aminoácidos e seus efeitos na complexação com íons metálicos têm sido amplamente investigados, utilizando-se para isso uma extensa gama de métodos experimentais e teóricos. Apesar do interesse de complexos formados entre íons metálicos e aminoácidos, são escassos os dados experimentais sobre as estruturas destes complexos, possibilitando-se fazer estudos que complementem e ampliem as informações sobre estes compostos [5].

O estudo farmacológico de compostos formados entre aminoácidos e íons metálicos confirmam a importância do seu uso, podem ser destacados os seguintes estudos:

- Complexo formado entre o trp e o íon Ag^+ apresenta citotoxicidade contra Panc-1 (carcinoma pancreático humano), células SK-Mel 103 (melanoma humano), e atividade antibacteriana [6]

- Complexos de zinco com os aminoácidos arginina, lisina, prolina, glicina, histidina e triptofano nas formas isoméricas D e L e seus derivados alquila, carboxila e hidroxila retirados de extratos de mexilhões, possuem atividade inibitória no crescimento de *Plasmodium falciparum*, sugerindo ainda que esses complexos são eficazes inclusive para cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina [7].

- Complexos com Cu (II) e L-Triptofano apresentaram atividade anti-inflamatória, antiulcerosa e anticonvulsivante [8].

O presente estudo teve como objetivo sintetizar, caracterizar, analisar a atividade sequestrante de radical livre de compostos formados entre o trp e os metais Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . A caracterização dos compostos estudados foi realizada através das técnicas termoanalíticas termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial simultânea (TG-DSC), difratometria de raios X (DRX) e

espectroscopia de absorção na região do infravermelho médio (FTIR).

Materiais e Métodos

Síntese

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, sendo utilizados como obtidos. A solução aquosa de trp (Synth, 99,9% m/m) foi preparada por dissolução direta de aproximadamente 1g em 50,00 mL de água destilada. As soluções aquosas de trp foram ajustadas para valor de pH igual a 5, sendo posteriormente misturadas, sob agitação constante, as respectivas soluções aquosas dos íons metálicos.

As soluções aquosas dos íons metálicos foram preparadas e padronizadas na concentração molar próxima de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Os sais utilizados para síntese foram $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Isofar, 98% m/m), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Vetec, 98% m/m), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Vetec, 99% m/m), $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Synth, 98% m/m).

As misturas das soluções dos íons metálicos e do trp foram mantidos em banho-maria durante 3 horas. Após resfriamento foi adicionado solução aquosa de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ até ocorrer a precipitação. O precipitado foi filtrado e lavado para eliminação dos respectivos íons cloreto, sulfato e nitrato.

Caracterização espectroscópica e térmica

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos com emprego do Espectrofotômetro da PerkinElmer modelo Spectrum 100, com resolução 4 cm^{-1} , na região compreendida entre $4000\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$, utilizando a técnica de reflectância total atenuada (ATR) utilizando cristal de diamante/ZnSe.

As curvas TG-DSC foram obtidas no equipamento TG/DSC-1 da Mettler Toledo. O

sistema foi calibrado seguindo as especificações fornecidas pelo fabricante. As análises foram realizadas em cadinho de α -alumina (70 μ L), com massa de amostra de aproximadamente 7 mg, razão de aquecimento de 20°C min⁻¹, atmosfera de ar seco com vazão de 60 mL min⁻¹ e intervalo de temperatura de 30-1000°C.

Na análise de difratometria de Raios X pelo método do pó foi utilizado o difratômetro Bruker AXS D8 Advance com tubo de cobre, submetido à 40 KV, corrente de 40 mA, $CuK\alpha$, $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$. A amostra foi submetida à radiação sob ângulos $5^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$ com varredura a passos de 0,08° e tempo de 0,8 segundos por passo.

Avaliação da atividade sequestrante de radical livre

A análise quantitativa da atividade sequestrante de radical livre dos compostos sintetizados e do trp foi avaliada baseando-se no método seguido por Sousa et al (2007) e Blois (1958) a fim de monitorar a redução do DPPH pelas amostras em estudo através da medida da absorbância das mesmas. Foi preparada uma solução etanólica estoque do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil P.A. (DPPH), na concentração igual a 60 μ mol L⁻¹. Todas as amostras foram armazenadas ao abrigo de luz e calor, sendo utilizadas para análise no mesmo dia. As soluções etanólicas, dos compostos sintetizados, foram preparadas por diluição direta (250,00 μ mol L⁻¹; 200,00 μ mol L⁻¹; 150,00 μ mol L⁻¹; 100,00 μ mol L⁻¹; 50,00 μ mol L⁻¹ e 25,00 μ mol L⁻¹) da solução estoque, com concentração igual 500,00 μ mol L⁻¹.

Todas as vidrarias utilizadas foram ambientadas, e embaladas com papel alumínio para evitar a degradação das amostras.

A varredura na análise espectroscópica na região do UV-Vis da solução de DPPH foi utilizada para determinação da absorbância máxima. As

análises foram realizadas em um espectrômetro UV-Vis modelo Lambda 25 da PerkinElmer. Todas as leituras foram realizadas em triplicata nos intervalos de 1, 2 e 3 minutos.

As misturas reacionais foram produzidas pela mistura de 5,40 mL de solução DPPH 60,00 μ mol L⁻¹ e 0,60 mL de solução do respectivo reagente, podendo ser controle positivo, controle negativo e compostos sintetizados. Foi utilizado o Ácido Tânico como controle positivo, sendo utilizado as mesmas concentrações dos compostos estudados. O controle negativo utilizado foi o solvente etanol.

Para a avaliação da reação com DPPH pelas amostras foi feita uma segunda leitura em 30 minutos. Para o cálculo da porcentagem de atividade sequestrante de radical livre (AA) foi aplicada a equação 1 para todas as amostras no tempo de 30 minutos.

$$AA = \frac{[A_{CN} - (A_{Am} - A_B)]100}{A_{CN}} \quad \text{Equação 1}$$

O símbolo A_{CN} corresponde ao valor de absorbância do controle negativo, A_{Am} a absorbância da amostra e A_B a absorbância do branco (amostra sem o DPPH).

Resultados e Discussão

FTIR

As principais bandas avaliadas, e comparadas, nos espectros de FTIR dos compostos sintetizados e do trp se referem à estiramento N-H do grupo indólico ($\nu_{N-H_{in}}$), estiramento assimétrico e simétrico da amina primária (ν_{asNH_2} e ν_{sNH_2}), e estiramentos assimétrico e simétrico do grupo carboxilato (ν_{asCOO^-} , ν_{sCOO^-}), ver Tabela 1.

Composto	Atribuições	Número de onda/cm ⁻¹	Literatura[2,8,14]	
Trp	ν_{NH_2}	3401 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
	ν_{asNH_2}	3078 _m	Mello (2015)	
	ν_{sNH_2}	3011 _m	Mello (2015)	
	ν_{asCOO^-}	1658 _m	Mello (2015), Carvalho et. al. (2013)	
	ν_{sCOO^-}	1409 _f	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
Mn-trp	ν_{OH}	3624 _m	Pavia et. al. (2010)	
	ν_{NH_2}	3391 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
	ν_{asNH_2}	3338 _m	Wagner & Baran (2004)	
	ν_{sNH_2}	3273 _m	Wagner & Baran (2004)	
	ν_{asCOO^-}	1613 _f	Pavia et. al. (2010)	
	ν_{sCOO^-}	1425 _m	Pavia et. al. (2010)	
	ν_{OH}	3644 _b	-	
Ni-trp	ν_{NH_2}	3413 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
	ν_{asNH_2}	3344 _m	Pavia et. al. (2010)	
	ν_{sNH_2}	3326 _m	Pavia et. al. (2010)	
	ν_{asCOO^-}	1576 _f	Pavia et. al. (2010)	
	ν_{sCOO^-}	1413 _m		
	Cu-trp	ν_{NH_2}	3387 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)
		ν_{asNH_2}	3337 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)
ν_{sNH_2}		3270 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
ν_{asCOO^-}		1621 _f	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
ν_{sCOO^-}		1421 _m		
Zn-trp	ν_{NH_2}	3401 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
	ν_{asNH_2}	3332 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
	ν_{sNH_2}	3272 _m	Mello (2015), Wagner & Baran (2004)	
	ν_{asCOO^-}	1619 _f	Wagner & Baran (2004)	
	ν_{sCOO^-}	1411 _m	Wagner & Baran (2004)	

fr=fraco; m=médio; f=forte; b=banda larga

Tabela 1: Principais atribuições dos espectros de FTIR do trp e dos compostos sintetizados.

Como o trp está na forma zw [2], existem algumas diferenças nas respectivas atribuições, tais como vibrações moleculares de aminas protonadas (NH_3^+), e grupos carboxilatos (COO^-), sendo indicadas distinções nas atribuições e na forma como o trp está interagindo com os íons metálicos.

A amina primária presente no trp, representado por banda larga com valores máximos em 3078 cm^{-1} (ν_{NH}) e 3011 cm^{-1} (ν_N) indicam interações de hidrogênio entre os ligantes. Nos compostos metálicos são observadas duas bandas definidas entre 3344 cm^{-1} e 3270 cm^{-1} , Figura 1 e Tabela 1, que indicam as interações M-trp se encontram na forma trans. A deformação *rocking* do grupo NH_2 observado em 741 cm^{-1} (trp), 738 cm^{-1} (Mn-trp), 743 cm^{-1} (Ni-trp), 737 cm^{-1} (Cu-trp) e 734 cm^{-1} (Zn-trp) sugerem que a força de ligação M-N(trp) segue a seguinte ordem: $Zn > Cu > Mn > Ni$. [11]

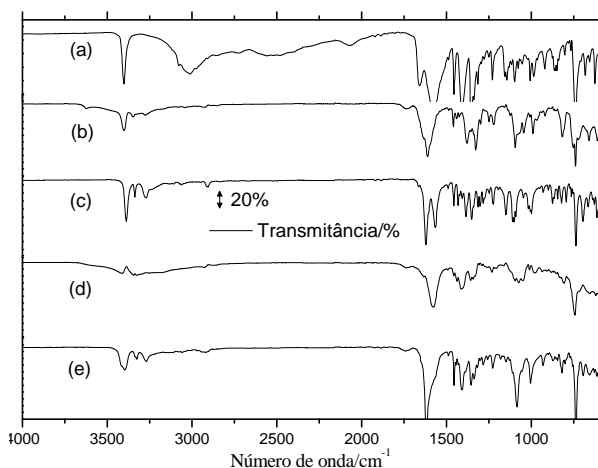


Figura 1: Espectros FTIR do (a) trp; (b) Mn-trp; (c) Cu-trp; (d) Ni-trp; (e) Zn-trp

As diferenças observadas entre o ν_{asCOO^-} e ν_{sCOO^-} do grupo carboxilato do trp quando comparados aos compostos de trp associados aos respectivos íons metálicos (Tabela 2) sugerem que a interação do grupo carboxilato com o íon metálico se faz de forma quelante. [12]

Composto	ν_{asCOO^-}	ν_{sCOO^-}	$\Delta\nu$
Trp	1658	1409	249
Mn-trp	1613	1425	188
Ni-trp	1576	1413	163
Cu-trp	1621	1421	200
Zn-trp	1619	1411	208

Tabela 2: Atribuições do ν_{asCOO^-} e ν_{sCOO^-} contidas nos espectros FTIR do trp e dos compostos sintetizados

TG-DSC

As curvas TG-DSC (Figura 2) permitiram sugerir a fórmula mínima $M(trp)_2 \cdot nH_2O$ para todos os compostos metálicos preparados, sendo que M representa os metais Mn(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) e n equivale quantidade de águas de hidratação, sendo 1,5; 3,5; 0 e 0, respectivamente.

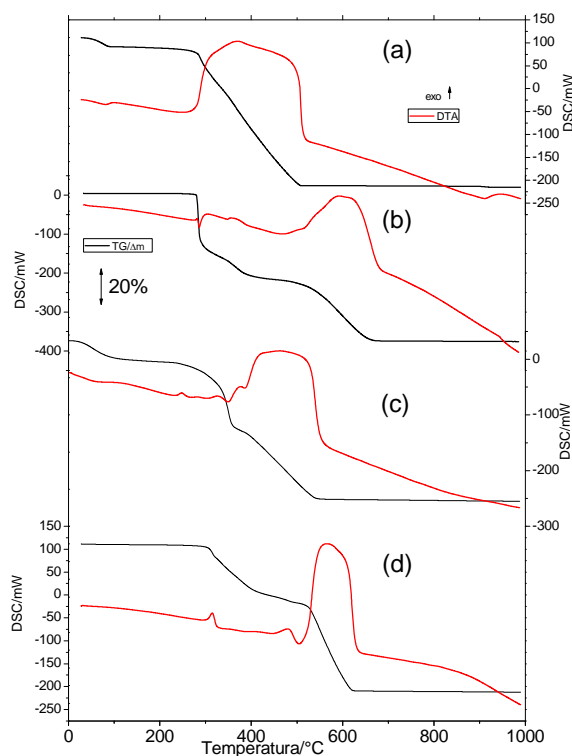


Figura 2: Curvas TG-DSC do (a) $Mn(trp)_2 \cdot 1,5H_2O$, (b) $Cu(trp)_2$, (c) $Ni(trp)_2 \cdot 3,5H_2O$ e (d) $Zn(trp)_2$

A desidratção térmica dos compostos de Mn e Ni ocorreram em uma única etapa entre 36-251°C (Mn) e 44-253°C (Ni). Na curva DSC foi observado picos endotérmicos em 80°C e 88°C, respectivamente. As temperaturas de desidratção térmica apresentaram valores que sugerem que as águas de hidratação estão interagindo com ligante.

Os compostos anidros apresentaram estabilidade térmica até 251°C ($\text{Mn}(\text{trp})_2$), 253°C ($\text{Ni}(\text{trp})_2$), 280°C ($\text{Cu}(\text{trp})_2$) e 293°C ($\text{Zn}(\text{trp})_2$), indicando que a ordem de estabilidade térmica está relacionado com o raio iônico dos respectivos metais bivalentes na forma octaédrica ($\text{Zn}(\text{trp})_2 > \text{Cu}(\text{trp})_2 > \text{Ni}(\text{trp})_2 > \text{Mn}(\text{trp})_2$). Além da maior estabilidade térmica do composto de Níquel, a primeira etapa de decomposição térmica do composto anidro apresenta perfil na curva TG menos abrupto, tanto que em 340°C pode ser observado $\Delta m_{\text{Mn}(\text{trp})_2} = 10,07\%$ e $\Delta m_{\text{Ni}(\text{trp})_2} = 28,48\%$, indicando que a interação M-O prevalece a ligação M-N na decomposição térmica dos compostos, pois de acordo com a discussão com FTIR a ligação Mn-N > Ni-N.

Na curva DSC do $\text{Cu}(\text{trp})_2$ foi observado um pico exotérmico em 281°C, seguido por um pico endotérmico em 286°C, decorrente de oxidação material e conseqüente decomposição térmica, similar ao fenômeno observado na curva DSC do trp.[2].

A decomposição térmica dos compostos anidros ocorreram em uma única etapa para o compostos $\text{Zn}(\text{trp})_2$, e em 2 etapas consecutivas para os compostos $\text{Ni}(\text{trp})_2$, $\text{Cu}(\text{trp})_2$ e $\text{Mn}(\text{trp})_2$. A decomposição térmica dos compostos ocorreu com alta liberação de energia, devido a oxidação da matéria orgânica (trp) degradada. Foram observados picos exotérmicos em 269°C, 305°C, 345°C, 394°C e 476°C para o $\text{Ni}(\text{trp})_2$, 305°C, 362 °C e 596 °C para o $\text{Cu}(\text{trp})_2$, 314°C, 481°C e 574°C

para o $\text{Zn}(\text{trp})_2$ e um largo pico exotérmico entre 278 -520°C.

Na decomposição térmica do composto de Mn, entre 862-924°C, foi observado uma perda de massa acompanhado por um pico endotérmico em 911°C, referente à redução parcial de MnO para Mn_2O_3 , ($\Delta m_{\text{Calc}}=0,67\%$; $\Delta m_{\text{Exp}}=1,09\%$), formando como resíduo final Mn_3O_4 (15,38%). Na decomposição térmica dos outros compostos foi formado como respectivos resíduos NiO (13,40%), ZnO (16,36%) e CuO (16,45%).

DRX

Os difratogramas de Raios X, Figura 3, dos compostos sintetizados indicaram estruturas pouco cristalinas para os compostos hidratados, $\text{Mn}(\text{trp})_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Ni}(\text{trp})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$, confirmando a interação da água com o ligante. O maior grau de cristalinidade observada nos compostos $\text{Zn}(\text{trp})_2$ e $\text{Cu}(\text{trp})_2$ podem ter sido devido à maior organização provocada por interações ocasionadas por ligações π entre os anéis aromáticos, formando camadas lamelares, indicada pelos picos em 4,3° (Cu) e 4,4° ($\text{Zn}(\text{trp})_2$).

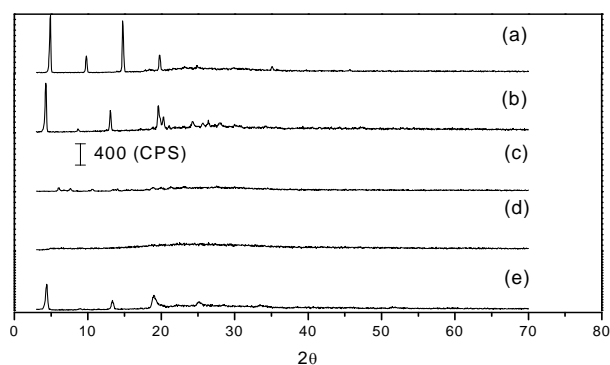


Figura 3: Difratogramas de raios X do (a) trp, (b) $\text{Cu}(\text{trp})_2$, (c) $\text{Mn}(\text{trp})_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$, (d) $\text{Ni}(\text{trp})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ e (e) $\text{Zn}(\text{trp})_2$.

Atividade Sequestrante de Radicais Livres

Foi realizada a varredura da solução de DPPH na região UV-Vis, a partir da qual foi obtida

absorbância máxima no comprimento de onda em 516 nm, correspondente à absorbância máxima da forma estável do DPPH. Desta forma, todas as leituras foram realizadas com o comprimento de onda supracitado.

Os valores das leituras de absorbâncias encontradas após 30 minutos de reação em concentrações 150,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 100,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 50,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 25,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ dos compostos preparados e do trp não foram apresentados, pois apresentaram valores insignificantes para a discussão deste trabalho.

O trp apresentou atividade antioxidante (AA) relativamente baixa. Este resultado está de acordo com o estudo de Yan e colaboradores (1999), no qual o DPPH foi utilizado como sequestrador de radicais livres.[13]

A partir dos dados obtidos, ver Tabela 3, foi possível observar que os compostos $\text{Mn}(\text{trp})_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cu}(\text{trp})_2$ apresentaram os

melhores resultados de porcentagem de AA em suas maiores concentrações, $24,59 \pm 0,26\%$ e $16,20 \pm 0,34\%$, respectivamente. Porém, os valores de AA de todos os compostos preparados e estudados (trp) foram inferiores à do controle positivo adotado (AT).

A AA(%) do composto $\text{Ni}(\text{trp})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ apresentou valores negativos, devido à pequena absorção intrínseca do composto no comprimento de onda avaliado neste estudo. Este resultado não descarta a possibilidade de redução do DPPH pelo composto de níquel, indicando que o estudo do potencial antioxidante do composto de níquel deverá ser avaliado por outra metodologia.

A comparação dos compostos metálicos sintetizados, com exceção do $\text{Ni}(\text{trp})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$, com o trp indicam que a distribuição eletrônica do ligante coordenado aos respectivos íons metálicos, aumentam o efeito indutivo retirador de elétrons, facilitando, portanto, a redução do DPPH.

Material	Conc. ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Absorbância (nm)			%AA	
		Branco	1 min.	2 min.		3 min.
Trp	250	0,001	0,560	0,558	0,558	$3,84 \pm 0,19$
	200	0,000	0,580	0,578	0,575	$0,40 \pm 0,43$
AT	250	0,002	0,056	0,056	0,056	$90,68 \pm 0,00$
	200	0,001	0,059	0,059	0,059	$90,00 \pm 0,00$
$\text{Mn}(\text{trp})_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$	250	0,114	0,553	0,551	0,550	$24,59 \pm 0,26$
	200	0,082	0,562	0,556	0,555	$17,98 \pm 0,65$
$\text{Ni}(\text{trp})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$	250	0,000	0,609	0,608	0,607	$-4,82 \pm 0,17$
	200	0,000	0,609	0,608	0,607	$-4,82 \pm 0,17$
$\text{Cu}(\text{trp})_2$	250	0,133	0,621	0,619	0,617	$16,20 \pm 0,34$
	200	0,083	0,620	0,619	0,616	$7,69 \pm 0,36$
$\text{Zn}(\text{trp})_2$	250	0,112	0,620	0,618	0,616	$12,75 \pm 0,34$
	200	0,070	0,636	0,634	0,633	$2,69 \pm 0,26$

Tabela 2: Valores percentuais da avaliação da atividade sequestrante de radicais livres do trp e dos compostos sintetizados.

Conclusão

As curvas TG-DSC e os espectros de FTIR foram importantes para indicar os melhores

parâmetros na síntese dos compostos desejados. As caracterizações térmicas permitiram sugerir a fórmula mínima dos compostos sintetizados, assim como, avaliar o comportamento térmico,

estabilidade térmica, grau de hidratação. A avaliação espectroscópica na região do infravermelho médio indicou interação dos íons metálicos com o nitrogênio do grupo amina e com os dois oxigênios do grupo carboxilato, sendo que os mesmos se apresentam coordenados com a forma geométrica trans.

Como a associação M:trp apresentou relação estequiométrica 1:2 e a análise térmica indicou que as moléculas de água não estão coordenadas aos íons metálicos, pode ser sugerido o número de coordenação dos íons metálicos igual a 6, apresentando geometria, possivelmente, octaédrica.

A atividade sequestrante de radicais livres dos compostos mostraram que a solução preparada com o $Mn(Trp)_2 \cdot 1,5H_2O$ apresentou maior potencial antioxidante, inclusive quando comparado ao trp.

Agradecimentos

CNPq processo 476118/2013-1; FAPEMAT.

Referencias

[1] Dunbar RC, Steill JD, Polfer NC, Oomens J. Dimeric Complexes of Tryptophan with $M^2 +$ Metal Ions. 2009;845–51.

[2] da S. Mello G, de P. Cardoso A, Oliveira EWRS, Siqueira AB. Tryptophan. *J. Therm. Anal. Calorim.* [Internet]. 2015;122:1395–401. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10973-015-4916-2>

[3] Vandyshev V, Ledenkov S. Acid-base and complexation properties of α -L-alanin in water-formamide mixtures. *Russ. J. Phys. Chem. A* [Internet]. 2009 [cited 2014 Nov 19]; Available from: <http://link.springer.com/article/10.1134/S0036024409120310>

[4] Irving H, Williams RJP. The stability of Transition-metal Complexes. 1953. p. 3192–210.

[5] Bush MF, Oomens J, Saykally RJ, Williams ER. Effects of Alkaline Earth Metal Ion Complexation on Amino Acid Zwitterion Stability: Results from Infrared Action Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* [Internet]. American Chemical Society;

2008;130:6463–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/ja7111343q>

[6] Carvalho M a., de Paiva REF, Bergamini FRG, Gomes AF, Gozzo FC, Lustrri WR, et al. A silver complex with tryptophan: Synthesis, structural characterization, DFT studies and antibacterial and antitumor assays in vitro. *J. Mol. Struct.* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013 [cited 2014 Nov 18];1031:125–31. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022286012007090>

[7] Malhotra P, Dasaradhi P V, Mohammed A, Hossain M, Mukherji S, Venkatasamy M, et al. Use of selected amino acid-zinc complexes as anti-malarials [Internet]. Google Patents; 2005. Available from: <http://www.google.com/patents/US20050090480>

[8] Wagner C, Baran E. Spectroscopic and magnetic behaviour of the copper (II) complex of L-tryptophan. *Acta Farm. Bonaer.* [Internet]. 2004 [cited 2014 Nov 26];23:339–42. Available from: http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/3/LAJOP_23_3_1_11_8T3YX34UGI.pdf

[9] Sousa CMDM, Silva HRE, Vieira GM, Ayres MCC, Da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova.* 2007;30:351–5.

[10] BLOIS MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* [Internet]. 1958;181:1199–200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0>

[11] Lane TJ, C.S.C., Durkin JA, Hooper RJ. Infra-red absorption spectra of metal-amino acid complexes—II. An infra-red study of the metal-nitrogen bond in glycine chelates. *Spectrochim. Acta* [Internet]. 1964;20:1013–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/O371195164801016>

[12] Deacon GB, Phillips RJ. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylate complexes and the type of carboxylate coordination. *Coord. Chem. Rev.* [Internet]. 1980;33:227–50. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854500804555>

[13] Yan X, Suzuki M, Ohnishi-Kameyama M, Sada Y, Nakanishi T, Nagata T. Extraction and Identification of Antioxidants in the Roots of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *J. Agric. Food Chem.* [Internet]. American Chemical Society; 1999;47:4711–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jf981305o>



[14] Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS. Introdução à espectroscopia. 4^a ed. São Paulo: Cengage Learning; 2010.