

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
CAMPUS AVANÇADO DE GOVERNADOR VALADARES  
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**LUCAS RAFAEL NUNES MENDES**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPLEXOS  
METÁLICOS CONTENDO 2-PIRIDINOALDAZINA COMO LIGANTE**

Governador Valadares

2023

**LUCAS RAFAEL NUNES MENDES**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPLEXOS METÁLICOS CONTENDO 2-PIRIDINOALDAZINA COMO LIGANTE**

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso para graduação em Farmácia do Instituto de Ciências da Vida da Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares como requisito parcial à conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Gomes da Silva

Governador Valadares

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rafael Nunes Mendes, Lucas.

Síntese e avaliação da atividade antifúngica de complexos metálicos usando 2-piridinoaldazina como ligante / Lucas Rafael Nunes Mendes. -- 2023.

45 p.

Orientador: Jeferson Gomes da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida - ICV, 2023.

1. Complexos metálicos. 2. Azinas. 3. Atividade antifúngica. I. Gomes da Silva, Jeferson, orient. II. Título.

**LUCAS RAFAEL NUNES MENDES**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPLEXOS METÁLICOS USANDO 2-PIRIDINOALDAZINA COMO LIGANTE**

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso para graduação em Farmácia do Instituto de Ciências da Vida da Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares como requisito parcial à conclusão do curso.

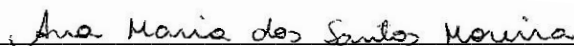
Aprovada em 13 de janeiro de 2023

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Jeferson Gomes da Silva - Orientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora



---

MSc. Ana Maria dos Santos Moreira  
Universidade Federal de Juiz de Fora



---

MSc. Bolivar Ralisson Amaro  
Universidade Federal de Juiz de Fora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Professor Dr. Jeferson G. da Silva pela orientação, paciência, dedicação e apoio durante todo o desenvolvimento do trabalho e durante toda minha jornada na universidade. A todos os professores da Universidade Federal de Juiz de Fora campus Governador Valadares pelo cuidado e dedicação colocados no ato de transmitir conhecimento e me inspirarem de forma positiva, em especial meus professores de química: Dra. Ivanildes V. Rodrigues, Dra. Ydia M. Valadares e Dra. Karen L. Lang que me cativaram e conseguiram me mostrar algo que eu realmente gostava dentro do curso escolhido; Professores que me orientaram em projetos: Dra. Gabriella Ferreira, Dr. Leonardo M. Meneghin e Dr. Carlos H. Fonseca, que me ensinaram habilidades técnicas e científicas além da sala de aula. A pedagoga da universidade Érica Aparecida que no início da minha jornada acadêmica me deu suporte e direção para eu seguir na universidade. Aos Técnicos Administrativos em Educação (TAEs) por sempre estarem presentes para ajudar quando necessário. A toda minha família pelo apoio e incentivo, principalmente aos meus avôs Maria das Graças Nunes da Silva e Florivaldo Gonçalves da Silva (em memória) por terem sido minha base e a minha Tia Marineuza Aparecida que sempre esteve presente me aconselhando e ajudando quando necessário. Ao meu companheiro Marcos Fernandes Rocha Junior por toda cumplicidade, carinho e força durante nosso tempo juntos. A todos os conhecidos e amigos que fiz durante minha jornada na universidade, em especial: Tânia Alessandra, Gustavo Henrique, Karoliny Mathias, Jaine Chaves, Leticia Morais, Ana Cristina, Lárissa Lima, Emilly Meireles e Keilla Costa, que são pessoas que em algum momento da minha jornada me deram apoio e incentivo. A farmacêutica Paula Ferreira que foi preceptora em projeto que atuei no Hospital Municipal de Governador Valadares e sempre confiou no meu potencial como profissional.

## RESUMO

Assim como as moléculas orgânicas, os metais são fundamentais para o desenvolvimento da vida. Eles são geralmente encontrados ligados às moléculas orgânicas ricas em elétrons formando complexos metálicos. No entanto, somente no último século as propriedades medicinais destes elementos começaram a ser investigadas de forma racional. Dentre as moléculas que têm apresentado potencial para o desenvolvimento de novos produtos, as azinas que são compostos caracterizados pela presença do esqueleto  $R_1R_2C=N-N=CR_3R_4$  têm demonstrado seu valor por atuarem como precursores na síntese de alguns heterociclos e sua capacidade de atuarem como aceptores de íons metálicos. Além disso, há relatos na literatura de diversas azinas e seus complexos que podem manifestar atividades biológicas, tais como antimicrobiana, citotóxica, mimetizadora de enzimas entre outras. Com o objetivo de expandir o conhecimento sobre a capacidade de coordenação das azinas e sua utilização biológica, foi sintetizada a 2-piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II). Os compostos foram caracterizados por meio de medida de condutividade da solução, espectroscopia eletrônica na região do infravermelho, espectroscopia vibracional na região do ultravioleta visível, análise térmica e espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio. Os resultados indicaram que com exceção do complexo com Fe(II) (estequiometria metal:ligante = 2:1), todos os demais se coordenaram seguindo uma estequiometria do tipo 1:1 (metal:ligante). Após a caracterização, foi iniciado um estudo da atividade antifúngica desses compostos. O fungo utilizado foi *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. Os resultados preliminares demonstraram que o complexo de Fe(II) foi o único a apresentar atividade entre os compostos estudados. Esses resultados demonstram a importância de novos estudos para compreendermos o potencial farmacológico desses compostos.

Palavras-chave: Complexos metálicos, Azinas, Atividade antifúngica.

## ABSTRACT

Like organic molecules, metals are fundamental for the development of life. They are usually found attached to electron-rich organic molecules forming metal complexes. However, only in the last century did the medicinal properties of these elements begin to be rationally investigated. Among the molecules that have shown potential for the development of new products, azines, which are compounds characterized by the presence of the skeleton  $R_1R_2C=N-N=CR_3R_4$ , have demonstrated their value for acting as precursors in the synthesis of some heterocycles and their ability to act as metal ions. In addition, there are reports in the literature of several azines and their complexes that can manifest biological activities, such as antimicrobial, cytotoxic, enzyme-mimicking, among others. Aiming to expand the knowledge about the ability of azines to coordinate and their biological use, 2-pyridinoaldazine and its Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes were synthesized. The compounds were characterized by measuring the conductivity of the solution, electronic spectroscopy in the infrared region, vibrational spectroscopy in the visible ultraviolet region, thermal analysis and hydrogen nuclear magnetic resonance spectrometry. The results indicated that, except for Fe(II) complex (metal:ligand stoichiometry = 2:1), all the others coordinated following a 1:1 stoichiometry (metal:ligand). After characterization, a study of the antifungal activity of these compounds was initiated. The fungus used was *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. Preliminary results showed that only the Fe(II) complex demonstrated activity among the studied compounds. These results demonstrate the importance of further studies to understand the pharmacological potential of these compounds.

Keywords: Metal complexes, Azines, Antifungal activity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura padrão do esqueleto das azinas.....	14
Figura 2 - Representação estrutural de azinas obtidas a partir de derivados da naloxona.....	15
Figura 3 - Representação estrutural do esqueleto base da bis-carbazolilazina .....	16
Figura 4 - Estrutura química da azina do tiopira-4-ona .....	16
Figura 5 - Diagrama de Bertrand demonstrando os efeitos fisiológicos relacionados aos metais .....	17
Figura 6 - Estrutura química das azinas nomeadas L1 e L2 no trabalho de Adhikari e colaboradores (2017).....	18
Figura 7 - Estrutura dos complexos metálicos formados a partir dos ligantes L1 e L2. Complexo tridentado mononuclear de L1 (A), complexo bidentado mononuclear de L2 (B), complexo tridentado mononuclear de L2 (C), e complexo dinuclear com L2 coordenando de forma bidentada a cada metal.....	19
Figura 8 - Estrutura da azina utilizada como ligante (A) por Mishra e colaboradores e seu respectivo complexo metálico (B) .....	20
Figura 9 - Estrutura da azina (A) e seu complexo de Zn(II) (B) sintetizadas por Mistri e colaboradores .....	21
Figura 10 - Fluxograma contendo as etapas realizadas neste trabalho .....	23
Figura 11 - Reação química para a preparação da 2-piridinoaldazina .....	24
Figura 12 - Exemplo da organização seguida na distribuição dos compostos sobre a placa de 96 poços durante o experimento de microdiluição em série .....	27
Figura 13 - Espectros na região do infravermelho para a 2-piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II), em pastilhas de KBr. ...	30
Figura 14 - Espectros eletrônicos na região do ultravioleta visível para a 2-piridinoaldazina (L) e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) dissolvidas em DMSO.....	31
Figura 15 - Curva TG para a 2-piridinoaldazina na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido.....	33
Figura 16 - Curva TG para o complexo FeL na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido. Na parte inferior das figuras as perdas das massas foram	



atribuídas a etapas de degradação térmica do complexo proposto após os ensaios químicos anteriores .....	33
Figura 17- Curvas TG para os complexos CoL e NiL na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido. Na parte inferior das figuras as perdas das massas foram atribuídas a etapas de degradação térmica do complexo proposto após os ensaios químicos anteriores.....	34
Figura 18 - Curvas TG para os complexos CuL e ZnL na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido. Na parte inferior das figuras as perdas das massas foram atribuídas a etapas de degradação térmica do complexo proposto após os ensaios químicos anteriores.....	35
Figura 19 - Curvas DTA para 2- piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) na faixa de 35 a 400°C, em atmosfera de ar comprimido .....	36
Figura 20 - Curvas DTA para 2- piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) na faixa de 400 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido .....	36
Figura 21 - Espectros de RMN de <sup>1</sup> H (60 MHz) para a 2-piridinaldazina (L) e seu complexo de Zn(II) (ZnL), em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	38
Figura 22 - Estruturas propostas para os complexos obtidos de Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) com 2-piridinaldazina (L).....	39
Figura 23 - Estruturas propostas para o complexo de Fe (II) obtido com a 2-piridinaldazina.....	39
Figura 24 - Exemplo de resultado obtido para os compostos durante o experimento de microdiluição em série contra cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763.....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados de condutividade molar para a 2-piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II).....	28
------------	---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UV	Ultravioleta
R	Radical
ng	Nanograma
L	Litro
mL	Mililitro
mmol	Milimol
cm	Centímetro
mM	Milimolar
DMSO	Dimetilsulfóxido
UV-Vis	Ultravioleta Visível
nm	Nanômetro
mg	Miligrama
min	Minuto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
MHz	Mega Hertz
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
h	Horas
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
$\mu$ L	Microlitro
$\mu$ M	Micromolar
IV	Infravermelho
TG	Termogravimétrica
DTA	Análise Térmica Diferencial

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1	AZINAS.....	14
1.2	A QUÍMICA DE COORDENAÇÃO E OS COMPLEXOS DE AZINAS .....	16
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>23</b>
3.1	MATERIAIS .....	23
3.2	PREPARAÇÃO DO LIGANTE E SEUS COMPLEXOS METÁLICOS.....	23
<b>3.2.1</b>	<b>Preparação da 2-piridinoaldazina</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Síntese dos complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II)</b> .....	<b>24</b>
3.3	MÉTODOS .....	24
<b>3.3.1</b>	<b>Medidas condutimétricas</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</b> .....	<b>25</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Espectroscopia na região do ultravioleta-visível</b> .....	<b>25</b>
<b>3.3.4</b>	<b>Análises termogravimétricas</b> .....	<b>25</b>
<b>3.3.5</b>	<b>Espectros de ressonância magnética nuclear</b> .....	<b>25</b>
<b>3.3.6</b>	<b>Avaliação da atividade antimicrobiana</b> .....	<b>26</b>
3.3.6.1	<i>Preparo do inóculo</i> .....	26
3.3.6.2	<i>Triagem da atividade antifúngica dos compostos</i> .....	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS .....	28
<b>4.1.1</b>	<b>Medidas condutimétricas</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Espectros de infravermelho</b> .....	<b>29</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Espectros eletrônicos</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1.4</b>	<b>Análises térmicas</b> .....	<b>32</b>
<b>4.1.5</b>	<b>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear</b> .....	<b>37</b>
4.2	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA .....	40
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os organismos vivos são formados majoritariamente por compostos contendo átomos de carbono, nitrogênio e oxigênio. Por muito tempo foi consenso científico que moléculas inorgânicas e metais tinham pouca ou nenhuma importância na manutenção dos tecidos vivos, porém com avanço da ciência foi se descobrindo que esses átomos são igualmente indispensáveis em funções necessárias à vida (JONES; DUNCAN; STORR, 2014, P. 1-7).

Entre os metais essenciais à vida podemos citar o ferro, que está envolvido no transporte e armazenamento do oxigênio molecular ( $O_2$ ); o cobre, presente na hemocianina e na enzima dopamina  $\beta$ -hidroxilase relacionado a produção de neurotransmissores no cérebro; o zinco e manganês, presentes em enzimas como a superóxido dismutase além de várias outras funções de ordem catalítica, estrutural e diversas (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007). Nos meios biológicos, os íons metálicos encontram-se geralmente ligados tanto a pequenas quanto a macromoléculas, ocupando uma posição central rodeado por espécies ricas em elétrons. Estes compostos de coordenação ou o próprio íon metálico desempenham diversas funções como estrutural, carregador e transportador de elétrons e oxigênio, catalisador de reações oxirredução e ácido-base, e outras infinidades de funções (JONES; DUNCAN; STORR, 2014, P. 1-7).

O uso de metais pela humanidade visando benefícios à saúde é catalogado na história por diversas civilizações. Os egípcios já utilizavam cobre para esterilizar a água há 5 mil anos, na Arábia e na China há 3 mil anos o ouro era utilizado para purificação da mente e estimulação da vida, embora mais devido ao seu caráter precioso do que medicinal, e na Europa medieval o médico Theophrastus Paracelsus (1493–1541) utilizava terapias à base de metais, como o cloreto de mercúrio usado como diurético (BERALDO, 2006). No entanto, somente no último século as propriedades medicinais destes elementos começaram a ser investigadas de forma racional a partir do desenvolvimento das bases da Química Inorgânica Medicinal.

O avanço da Química Inorgânica Medicinal e sua atual forma se deve aos trabalhos de Paul Ehrlich, prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1908 e Alfred Werner, prêmio Nobel de Química em 1913. Werner é considerado o pai da Química de Coordenação por ter desenvolvido uma teoria que explica a estrutura e a ligação química dos complexos metálicos. Ehrlich foi o fundador da quimioterapia e introduziu

as ideias sobre relações estrutura-atividade e o conceito de índice terapêutico. Ehrlich desenvolveu o tratamento da tuberculose com ouro, utilizou compostos antimoniais no tratamento de leishmaniose e compostos à base de arsênio para o tratamento da sífilis. Fez uso de complexos metálicos, sobretudo os de arsênio, na preparação de drogas para o tratar a sífilis (BERALDO, 2006).

Apesar de toda a importância dos trabalhos de Ehrlich e Werner, o principal motivador para os estudos dos íons metálicos na química medicinal foi a descoberta acidental da “cisplatina”  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  pelo físico Barnett Rosenberg em 1965 e sua potente atividade antitumoral (NAJJAR, 1992). Este composto não contém um átomo de carbono em sua estrutura e é um padrão de drogas inorgânicas, ela é utilizada desde 1978 para tratar diversos tumores e reduziu em cerca de 80% a morte de homens por câncer nos testículos (BERALDO, 2006).

Hoje, a Química Inorgânica Medicinal é uma área que estuda o uso de íons metálicos para inovações na área da medicina diagnóstica e terapêutica. Os íons são átomos que perderam ou ganharam elétrons e possuem uma carga. Metais têm propensão a perder elétrons se tornando íons catiônicos, o que os torna importantes para reações nos organismos vivos, principalmente por serem solúveis em fluidos biológicos (JONES; DUNCAN; STORR, 2014, P. 1-7).

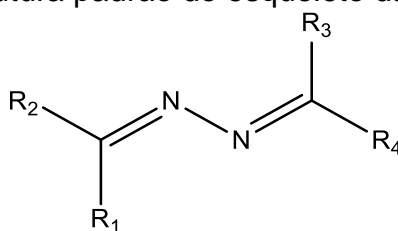
Entre as classes que tem chamado a atenção pelo seu potencial farmacológico podemos destacar as azinas. Moléculas desse grupo apresentam o esqueleto  $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{CR}_3\text{R}_4$ , podendo, inclusive, se ligar a íons metálicos devido a presença dos pares de elétrons sobre os átomos de nitrogênio. Além disso, a flexibilidade das ligações N-N permite que se formem complexos em várias geometrias diferentes, dependendo exclusivamente do tipo que modificação química que é feita na estrutura da azina. São observados trabalhos onde as azinas podem atuar como ligantes bi- (ADHIKARI *et al.*, 2017) ou polidentados (MISTRI *et al.*, 2012)

Deste modo, baseando-se no potencial farmacológico dos metais este trabalho se propôs a sintetizar uma azina e seus complexos de coordenação a alguns metais da 1ª série de transição [Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II)] e avaliar seu potencial antifúngico contra *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763.

## 1.1 AZINAS

As azinas são um grupo de compostos químicos que apresentam em seu esqueleto a estrutura  $R_1R_2C=N-N=CR_3R_4$  (figura 1), sendo sintetizadas a partir da reação entre hidrazina e um aldeído ou cetona. Elas podem ser classificadas como cetazinas, quando derivam de cetonas, ou aldazinas, quando derivadas de aldeídos. Esses compostos ainda podem ser simétricos quando  $R_1R_2 = R_3R_4$  ou assimétricos quando  $R_1R_2 \neq R_3R_4$  (MCNAUGHT; WILKINSON, 2014).

Figura 1 - Estrutura padrão do esqueleto das azinas



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

As azinas podem se apresentar na forma de três isômeros geométricos, (*E,E*), (*E,Z*) e (*Z,Z*), isto ocorre devido a possibilidade de arranjos moleculares diferentes devido a configuração das ligações duplas  $C=N$  do esqueleto  $C=N-N=C$ . A configuração mais estável termodinamicamente é a *EE*, onde os grupos de maior prioridade ligados às ligações  $C=N$  estão na posição *trans* com relação à ligação  $N-N$ , porém elas são encontradas nas mais diversas configurações, principalmente quando agindo como ligante com compostos metálicos (CAMPOS *et al.*, 2019).

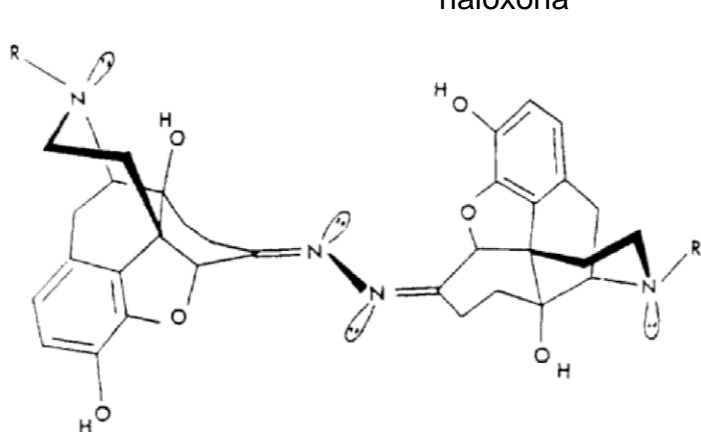
As ligações imínicas presentes nas azinas conferem a estes compostos a capacidade de atuarem como aceptores de prótons e/ou íons metálicos, devido a existência de pares de elétrons isolados sobre os átomos de nitrogênio (KARMAKAR *et al.*, 2007). Essa característica pode ser realçada se esses compostos têm origem em espécies heterocíclicas como a piridina, que os torna ainda mais ricos em elétrons.

Um outro fato importante sobre as azinas é sua facilidade de obtenção, sendo possível inclusive propor formas alternativas para sua preparação em contraste às convencionais que podem utilizar de solventes nocivos à saúde. Como exemplo disso, temos o trabalho de Campos e colaboradores (2019) que produziu seis azinas através da mecanoquímica, que é denominada como uma reação química induzida por absorção direta de energia mecânica, que preza pela diminuição do uso de solventes e redução da geração de resíduos.

Compostos dessa classe são importantes intermediários na síntese de pirimidinas, purinas e alguns azóis (LOGHMANI-KHOUZANI *et al.*, 2001). As azinas quando substituídas com anéis aromáticos ou heterocíclicos geram compostos promissores para a criação de dispositivos ópticos contra fontes de radiação, dosímetros de radiação UV e telas para proteção ocular (HA *et al.*, 2010). Isto ocorre, pois, a ligação dupla C=N possui a capacidade de sofrer isomerização térmica ou fotoquímica, deste modo saindo do isômero menos energético para o mais energético ao absorver energia (CAMPOS *et al.*, 2019). Além disso, vários estudos destacam o potencial farmacológico de azinas (DANISH e PRASAD, 2004; KOLB e HUA, 1984; JAYABHARATHI *et al.*, 2007).

Kolb e Hua (1984) sintetizaram azinas derivada de naloxona (figura 2) e naltrexona e observaram que essas moléculas apresentaram elevada atividade antagonista de receptores opióides do subtipo delta. A atividade analgésica desses compostos se mostrou de longa duração, porém o mecanismo não foi elucidado. Foram sugeridas duas hipóteses, uma que talvez o grande volume da molécula poderia ocupar dois locais alvo do receptor e outro que sugere que acontece uma reação irreversível entre a molécula e o receptor, entretanto não houve consenso.

Figura 2 - Representação estrutural de azinas obtidas a partir de derivados da naloxona



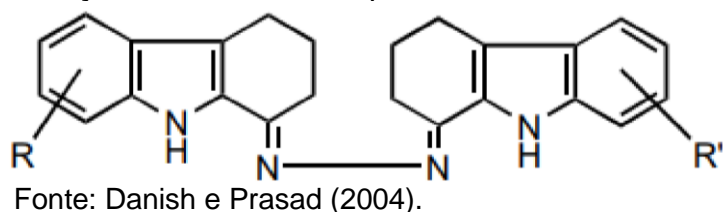
Fonte: Kolb e Hua (1984).

Danish e Prasad (2004) tentando sintetizar um tetrahydrocarbazol e avaliar sua atividade antimicrobiana e de seus derivados, acabou sintetizando composto do tipo *bis*-carbazolilazina e seus derivados com diferentes substituintes em R e R' (figura 3). Ao ser testada a atividade antimicrobiana destes compostos foi demonstrado que quando o substituinte em R e R' é Cl, essas moléculas apresentam elevada atividade



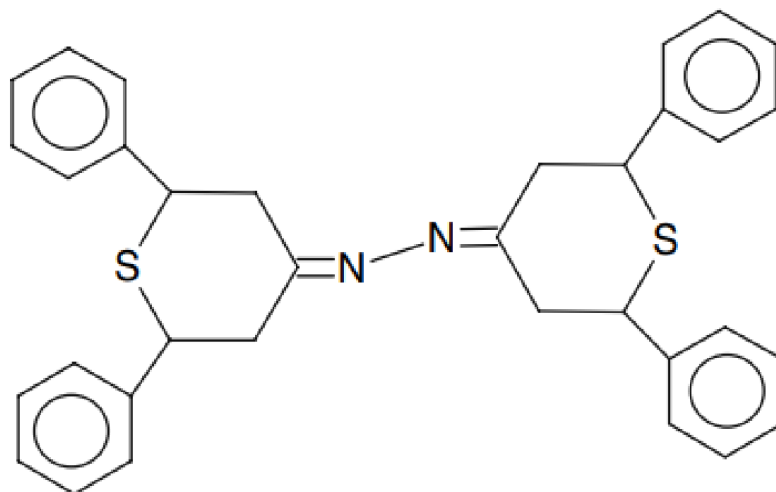
antifúngica contra *Aspergillus niger* e *Candida albicans*, e antibacteriana principalmente contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Streptococcus aureus*.

Figura 3 - Representação estrutural do esqueleto base da bis-carbazolilazina



Outro estudo demonstrou o potencial antimicrobiano de azinas derivadas de tiopira-4-ona (figura 4) tanto contra as bactérias *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, quanto contra os fungos *Candida-6*, *Candida-51*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* (JAYABHARATHI *et al.*, 2007).

Figura 4 - Estrutura química da azina do tiopira-4-ona



Fonte: Jayabharathi *et al.* (2007).

## 1.2 A QUÍMICA DE COORDENAÇÃO E OS COMPLEXOS DE AZINAS

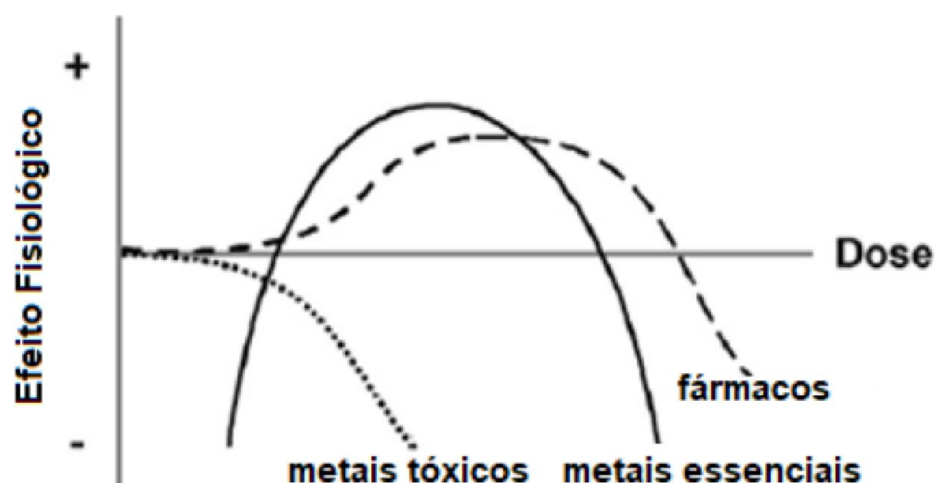
Os íons metálicos frequentemente encontram-se ligados a espécies ricas em elétrons nos sistemas biológicos. Eles podem se ligar a resíduos de aminoácidos desempenhando um papel estrutural ou mesmo funcional, caso do Zn (II) na nuclease P1 e Ni (II) em ureases. Podem ainda se ligar formando anéis quelato como o sítio heme na hemoglobina, que é um complexo contendo ferro. Em geral os metais podem

desempenhar função estrutural, carregar e transportar elétrons e oxigênio, catalisar reações de oxirredução e ácido-base, dentre outras funções.

Entre os metais podemos destacar o ferro, presente na hemoglobina e na mioglobina, atuando no transporte e armazenamento do oxigênio molecular ( $O_2$ ), respectivamente. O cobre que está na hemocianina e na enzima dopamina  $\beta$ -hidroxilase relacionado ao transporte de oxigênio em moluscos e artrópodes e à produção de neurotransmissores no cérebro, e também o zinco e o manganês, presentes em enzimas superóxido dismutases, participam da eliminação do radical livre superóxido.

A relação entre os efeitos tóxicos e benéficos dos metais no organismo pode ser observada por meio do Diagrama de Bertrand (figura 5). Os elementos essenciais desempenham papel biológico desde que sejam mantidos na quantidade adequada de sua homeostase. Quando a concentração de metais é muito baixa no organismo, isso ocasiona doenças por sua deficiência, do outro lado, o seu acúmulo excessivo pode levar a efeitos tóxicos. No caso de metalofármacos, o pressuposto é o mesmo para os elementos essenciais, onde em doses pequenas não levam a efeitos farmacológicos desejados e doses altas podem levar a sua acumulação e aos efeitos tóxicos (ROCON *et al.*, 2007).

Figura 5 - Diagrama de Bertrand demonstrando os efeitos fisiológicos relacionados aos metais



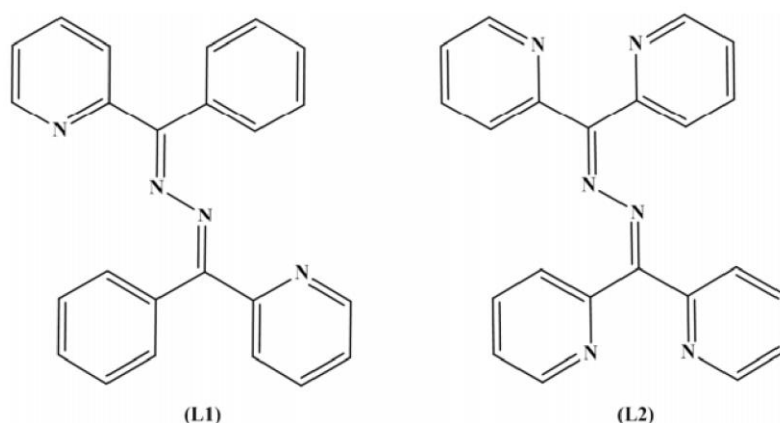
Fonte: Rocon *et al.* (2007).

Mesmo com muitos relatos da utilização de metais na antiguidade há um desinteresse por parte dos pesquisadores no desenvolvimento de aplicações

terapêuticas contendo compostos metálicos, em razão de sua toxicidade. O controle da reatividade, a fim de promover o aumento na especificidade e conter a toxicidade do metal, foi e ainda é um dos maiores obstáculos para a aplicação dos metais em Medicina. Porém, a busca por maior especificidade e toxicidade reduzida não é fundamentalmente diferente no caso do desenvolvimento de fármacos orgânicos.

Adhikari e colaboradores (2017) investigou a química de coordenação de azinas polidentadas com complexos metálicos precursores do tipo meio sanduíche. Para isso, duas azinas uma L1 e L2 (figura 6) foram ligadas a complexos de rutênio, ródio e irídio. O uso de complexos do tipo meio sanduíche neste estudo se deve ao fato de complexos com a estrutura [(arene)Ru(Ligante)Cl] terem mostrado bastante potencial como possíveis drogas anticâncer na terapia baseada em metais.

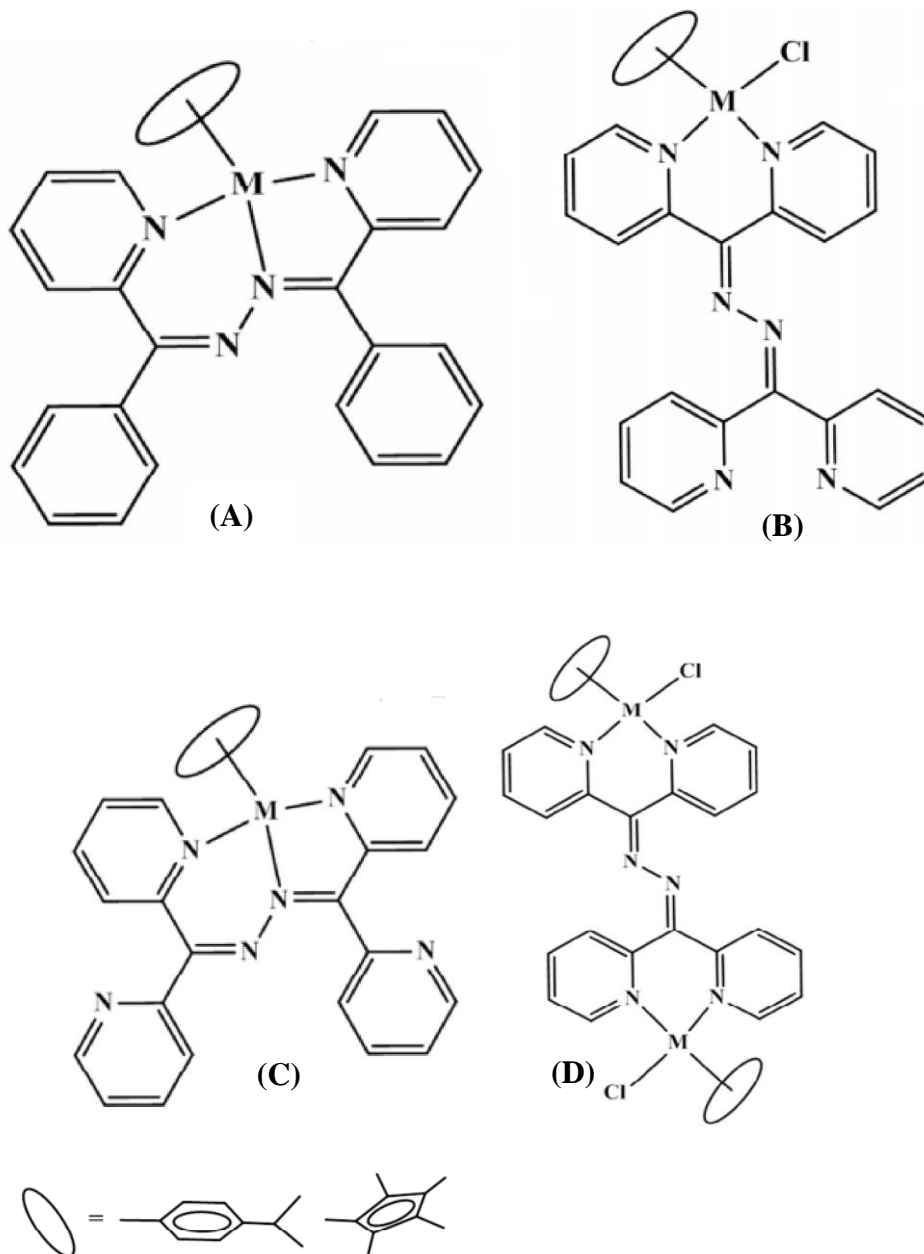
Figura 6 - Estrutura química das azinas nomeadas L1 e L2 no trabalho de Adhikari e colaboradores (2017)



Fonte: Adhikari *et al* (2017).

Foram obtidos complexos mononucleares contendo L1 onde o ligante se coordenou de forma tridentada ao centro metálico (figura 7A), através de ambos os átomos de nitrogênio da piridina e da azina levando à formação de anéis quelatos contendo de cinco a seis membros. Para L2 foram obtidos complexos mononucleares (figura 7B), com o ligante coordenado ao metal de modo bidentado através de ambos os nitrogênios piridínicos; complexos dinucleares (figura 7C), com uma ponte formada entre os metais pelo ligante coordenado de modo bidentado pelos nitrogênios piridínicos; e nos complexos de ródio e irídio, L2 atuou como ligante quelante tridentado (figura 7C). Este trabalho ressalta bem a capacidade de azinas atuarem como ligantes de diversas maneiras.

Figura 7 - Estrutura dos complexos metálicos formados a partir dos ligantes L1 e L2. Complexo tridentado mononuclear de L1 (A), complexo bidentado mononuclear de L2 (B), complexo tridentado mononuclear de L2 (C), e complexo dinuclear com L2 coordenando de forma bidentada a cada metal

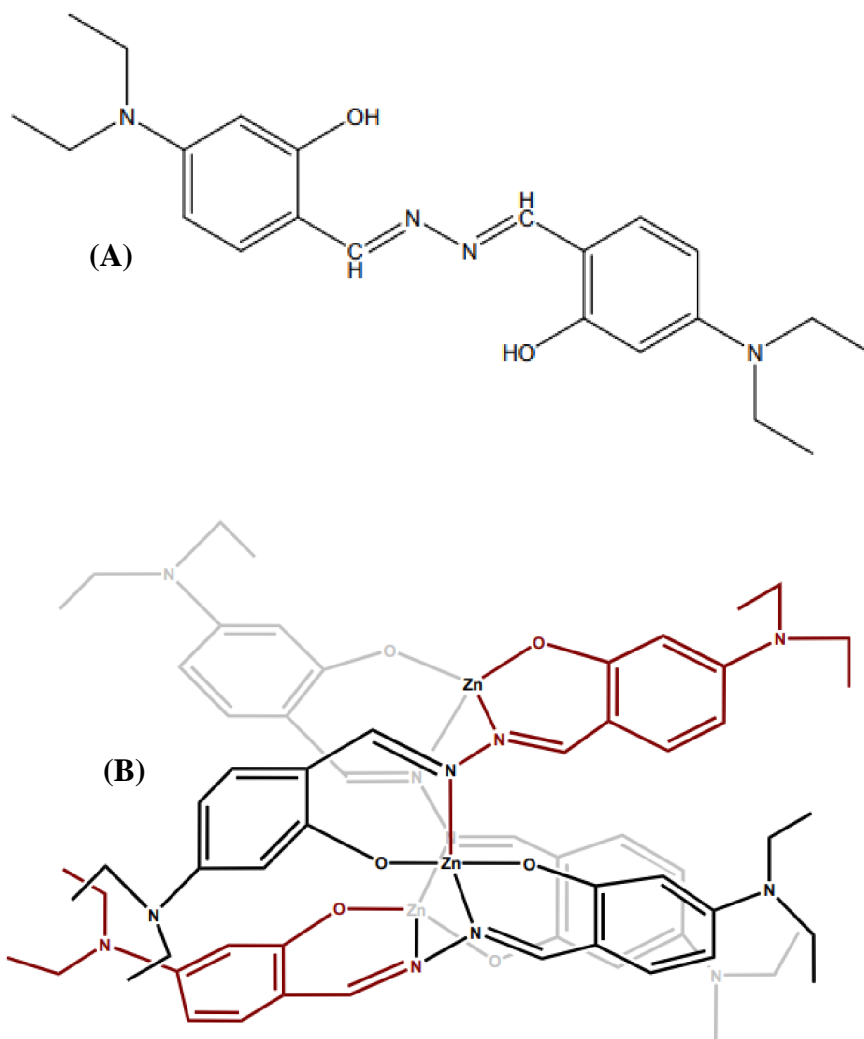


Fonte: Adhikari *et al* (2017).

Mishra e colaboradores (2012) sintetizaram um complexo de Zn de baixo custo, fácil síntese e possuía todas as características necessárias para mimetizar de forma funcional e estrutural a p1 nuclease. O ligante utilizado foi uma azina derivada de salicilaldeídos que é tetradentada e possui sua parte fenólica em oposição ao sítio de ligação (figura 8A). A estrutura revelou um helicato de fita simples trinuclear, os três

ligantes são interconectados através de ligação com o Zn(II) formando um metalomacrociclo de 9 membros composto por 6 nitrogênios e 3 Zn(II) (figura 8B).

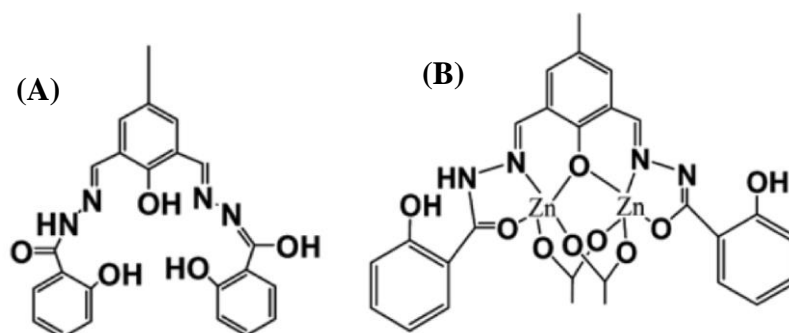
Figura 8 - Estrutura da azina utilizada como ligante (A) por Mishra e colaboradores e seu respectivo complexo metálico (B)



Fonte: Mishra *et al.* (2012).

Mistri e colaboradores (2012) pensando em ampliar as alternativas para dosadores de Zn(II) intracelular decidiu complexar este metal com uma azina (figura 9A). O complexo formado (figura 9B) foi testado em células de câncer de melanoma humano. Este ligante possibilitou em dosar Zn(II) intracelular com uma alta sensibilidade (concentrações de até 3 ng/L) e não apresentou nenhuma toxicidade nas concentrações testadas. Experimentos *in vitro* e *in vivo* corroboraram que o complexo formado tem grande potencial para ser um dosador de zinco intracelular.

Figura 9 - Estrutura da azina (A) e seu complexo de Zn(II) (B) sintetizadas por Mistri e colaboradores



Fonte: Mistri *et al.* (2012).

## 2 OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho foi sintetizar, caracterizar e avaliar toxicidade contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 da 2- piridinoaldazina e seus complexos com Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II).

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Preparar a 2-piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II).

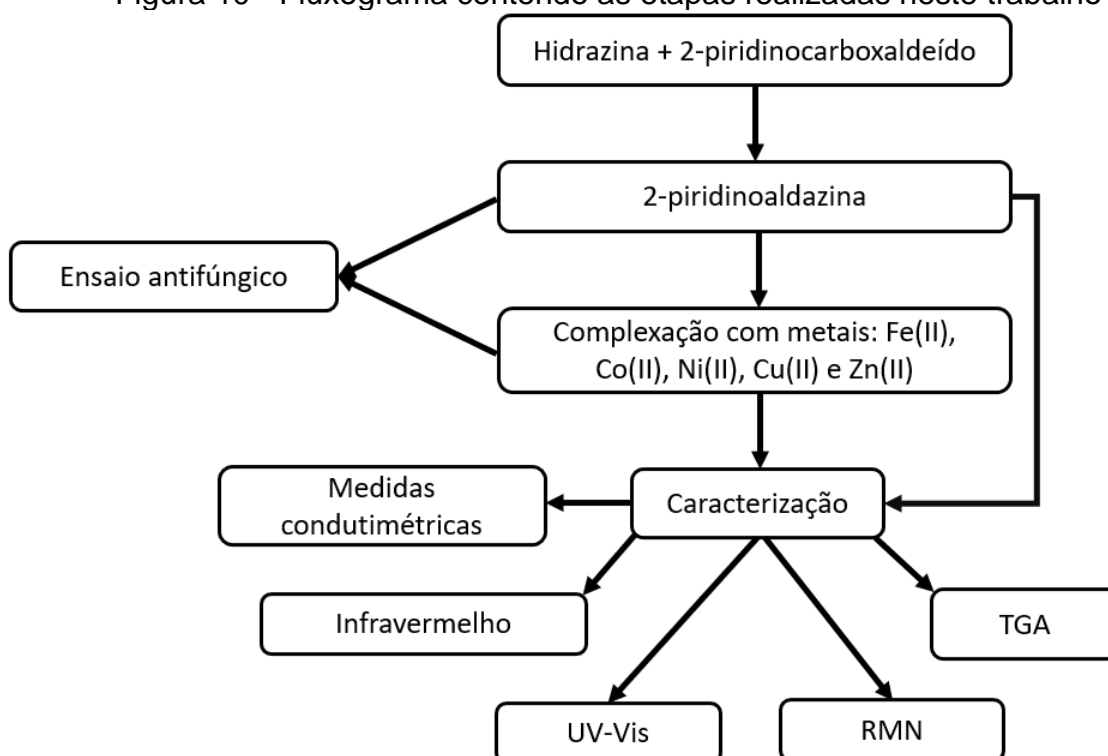
Caracterizar os complexos formados .

Avaliar a toxicidade dos compostos formados contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* 9763.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

O presente estudo foi organizado da forma mostrada no esquema abaixo (Figura 10).

Figura 10 - Fluxograma contendo as etapas realizadas neste trabalho



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

#### 3.1 MATERIAIS

Todos os reagentes e solventes usados nos experimentos foram adquiridos de empresas idôneas (Merck, Aldrich, J.T. Baker e Synth) em alto grau de pureza, sendo utilizados sem nenhum tratamento prévio.

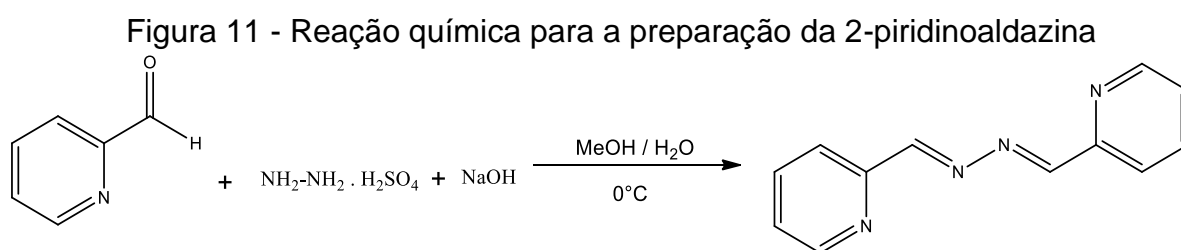
#### 3.2 PREPARAÇÃO DO LIGANTE E SEUS COMPLEXOS METÁLICOS

Este ligante foi preparado usando um procedimento análogo ao do trabalho de Karmakar e colaboradores (2007).



### 3.2.1 Preparação da 2-piridinoaldazina

Em um balão volumétrico de 50 mL, 5 mmol de sulfato de hidrazina e 10 mmol de hidróxido de sódio foram dissolvidos em 10 mL de água, sob agitação constante. Em seguida, foi adicionada à mistura 9 mL de solução metanólica contendo 11 mmol de 2-piridinocarboxaldeído. A mistura reacional foi mantida sob agitação em um banho de gelo por 3 horas. O precipitado obtido foi filtrado, recristalizado em metanol e caracterizado. O rendimento obtido foi de 86%.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

### 3.2.2 Síntese dos complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II)

Os complexos metálicos foram obtidos a partir da reação entre 2 mmol de 2-piridinoaldazina e 4 mmol do sal metálico desejado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ou  $\text{ZnCl}_2$ ) em metanol (20 mL). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e refluxo por 3 horas. O sólido obtido foi filtrado, lavado com metanol, e secado sob pressão reduzida. Os rendimentos dos produtos variaram de 50% a 97%.

## 3.3 MÉTODOS

### 3.3.1 Medidas condutimétricas

As medidas de condutividade em solução foram realizadas usando um condutivímetro Metter Toledo série Seven Compact com célula condutimétrica de mesmo fabricante e constante  $0,475505 \text{ cm}^{-1}$ , a partir de soluções do composto ( $\sim 1 \text{ mM}$ ) em dimetilsulfóxido (DMSO).

### **3.3.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho**

Os espectros na região do infravermelho médio (4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) dos compostos puros foram obtidos utilizando um espectrofotômetro da Perkin Elmer (série Spectrum Two™) com transformada de Fourier, a partir de pastilhas das amostras prensadas com KBr. Elas foram preparadas macerando o composto desejado juntamente com o KBr na proporção de 1:100, em um gral de ágata. Esse material foi transferido para o pastilhador e prensado utilizando uma prensa manual. Os espectros foram obtidos como a média de 8 varreduras consecutivas e resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ . O programa Perkin Elmer Spectrum ES (versão: 10.03.08.0133) foi utilizado para a aquisição dos espectros. Os dados foram exportados para edição no programa Microcal Origin 9.0.

### **3.3.3 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível**

Os espectros eletrônicos das amostras diluídas em DMSO foram obtidos usando um espectrofotômetro PerkinElmer UV-VIS Lambda 25. As leituras foram realizadas na faixa de 300 a 600 nm usando cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm. O branco utilizado foi o solvente puro (DMSO).

### **3.3.4 Análises termogravimétricas**

As análises térmicas dos compostos foram realizadas usando equipamento Hitachi STA7200RV. As amostras (~ 2 mg) foram colocadas em um cadinho de alumina e os experimentos foram realizados com rampa de temperatura de 30 °C a 800 °C e taxa de aquecimento de 20 °C/min, sob fluxo de ar comprimido de 300 mL/min. Os dados foram tratados usando o Microcal Origin 9.0.

### **3.3.5 Espectros de ressonância magnética nuclear**

Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Oxford Instruments Pulsar (60 MHz), usando-se DMSO- $d_6$  como solvente. Todos os experimentos foram realizados à 37 °C. Os dados foram tratados usando o programa MESTRENOVA 12.0.

### 3.3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana

#### 3.3.6.1 Preparo do inóculo

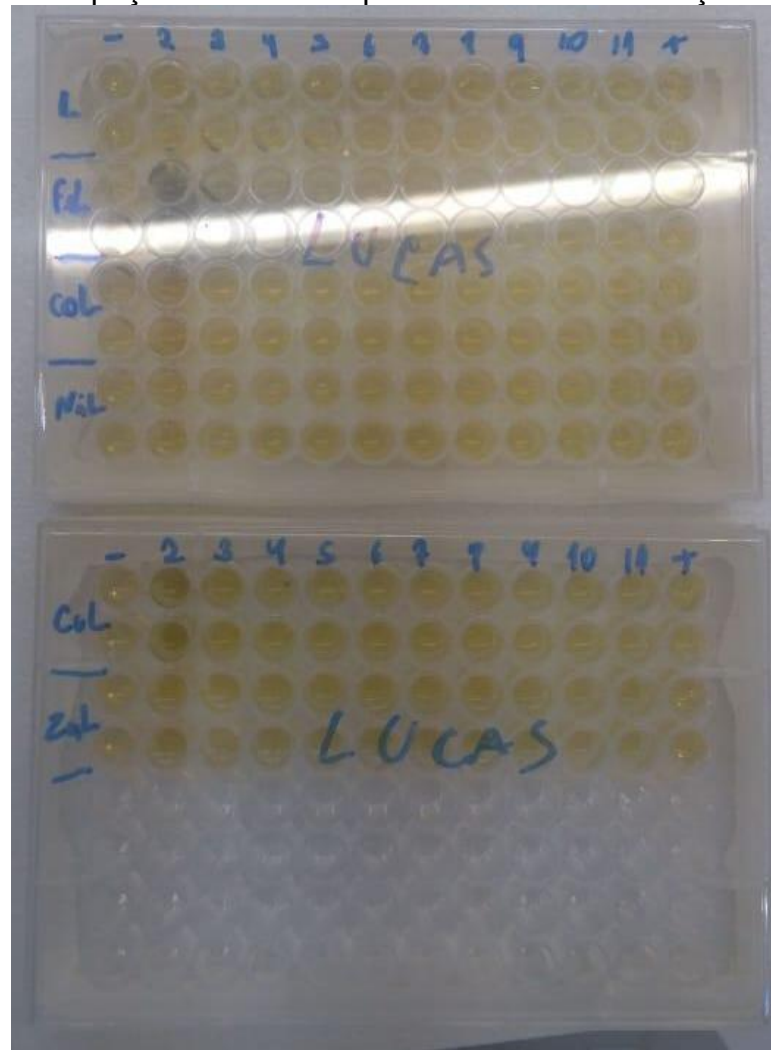
O inóculo para os testes foi preparado de acordo com as orientações sugeridas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocolo M27-A3 com modificações (CLSI, 2008). As linhagens do fungo *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 foram cultivadas em ágar dextrose a 35°C por 72 h. Após o cultivo, 5 colônias foram coletadas e preparadas em solução salina estéril (NaCl 0,85%), levando a uma concentração de aproximadamente  $10^6$  unidades formadoras de colônias/mL, que foi encontrada a partir de leitura no espectrofotômetro em comprimento de onda de 530 nm. As suspensões formadas com as células fúngicas foram diluídas em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) até a obtenção da concentração celular entre  $1 \times 10^3$  e  $5 \times 10^3$  células/mL, que é a solução padrão utilizada.

#### 3.3.6.2 Triagem da atividade antifúngica dos compostos

Foram preparadas soluções estoque dos compostos (2-pirirdinaldazina e seus complexos) a 10 mM com dimetilsulfóxido (DMSO) como diluente. A partir das soluções estoque, foram preparadas as soluções de uso a partir da diluição em meio RPMI-1640, sempre mantendo a concentração final de DMSO menor que 1% na concentração final utilizada no teste. Essas foram adicionadas em placas de 96 poços de fundo redondo, como exemplificado na figura 12, sendo que na coluna 12 o controle positivo com 100 µL de meio RPMI-1640 juntamente com 100 µL do inóculo, bem como, na coluna 1 o controle negativo (200 µL meio de cultura esterilizado) e na coluna 2 apenas 200 µL do composto a ser testado puro, sem o inóculo. Nos poços das colunas de 3 a 9 foram adicionados os compostos em concentrações decrescentes variando de 1 mM a 0,0039 mM, seguindo diluições sucessivas de metade da concentração anterior.

A leitura da placa foi realizada visualmente sendo considerados os compostos com promissora atividade antifúngica aqueles que inibiram 100% do crescimento fúngico em relação aos controles de crescimento positivo. Todos os procedimentos foram realizados em duplicatas com 2 linhas da placa para cada diluição.

Figura 12 - Exemplo da organização seguida na distribuição dos compostos sobre a placa de 96 poços durante o experimento de microdiluição em série



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

#### 4.1.1 Medidas condutimétricas

A condução da eletricidade através das soluções iônicas acontece pela migração de íons, quando se aplica um potencial de corrente alternada sobre essa solução. Quando aplicada a análise de compostos de coordenação, os dados de condutividade molar fornecem informações sobre o estado de ionização da substância, podendo se descobrir através de comparação com dados tabelados qual o tipo de eletrólito que o composto apresenta e desse modo auxiliando na elucidação da estrutura da substância e sua coordenação (GEARY, 1970).

Na tabela 1 estão apresentados os valores calculados para a condutividade molar dos complexos quando dissolvidos em DMSO. Os mesmos foram calculados com base na proposta final do complexo formado. O sal brometo de cetiltrimetilamônio foi utilizado como referência para comparação por se tratar de um sal que gera uma solução eletrolítica 1:1 (cátion:ânion).

Tabela 1 - Dados de condutividade molar para a 2-piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II)

Composto	Estrutura proposta	condutividade molar (S.cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup> )
2-Piridinoaldazina (L)		0,11
FeL	[Fe <sub>2</sub> (L)(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ].6H <sub>2</sub> O	3,96
CoL	[Co(L)(H <sub>2</sub> O)Cl]Cl•0,5H <sub>2</sub> O	30,99
NiL	[Ni(L)(H <sub>2</sub> O)Cl]Cl•H <sub>2</sub> O	32,84
CuL	[Cu(L)(H <sub>2</sub> O)Cl]Cl	21,18
ZnL	[Zn(L)Cl <sub>2</sub> ]	2,29
brometo de cetiltrimetilamônio		23,9

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os valores de condutividade molar obtidos para os complexos dissolvidos em DMSO sugerem que os complexos Fe(II) e Zn(II) são neutros, devido o valor da condutividade molar ser próximo de zero. Enquanto que os compostos contendo Co(II), Ni(II) e Cu(II) por apresentarem valor de condutividade molar próximo ao do sal

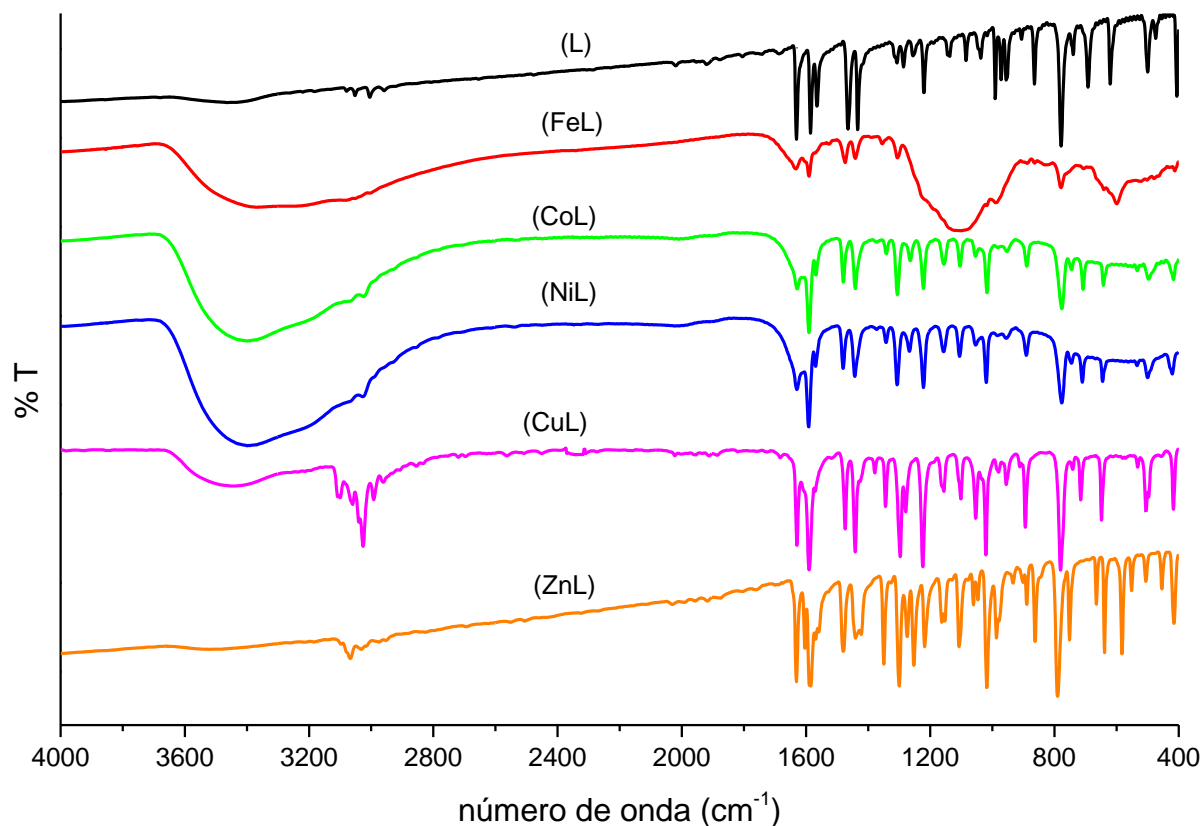
brometo de cetiltrimetilamônio, eles se comportam como eletrólitos do tipo 1:1, sugerindo que os complexos ao se dissolverem em DMSO sofrem dissociação iônica formando complexos catiônicos e apresentam um cloreto como contra-íon.

#### **4.1.2 Espectros de infravermelho**

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho médio é uma técnica experimental que nos sugere evidências da presença de vários grupos funcionais na molécula analisada. A radiação IV faz átomos e grupos de átomos de compostos orgânicos vibrarem aumentando a amplitude em torno das ligações covalentes entre estes átomos, ela não possui energia o suficiente para excitar elétrons. Pelo fato de cada ligação presente nos grupos funcionais terem arranjos únicos, cada uma delas absorverá a radiação numa frequência específica que será característica desse grupo e deste modo auxiliará na caracterização de moléculas orgânicas, além de ser útil também para verificar se ocorreu modificação molecular após reação química (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018).

Na figura 13 estão apresentados os espectros de infravermelho para a 2-piridinoaldazina e seus complexos metálicos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II).

Figura 13 - Espectros na região do infravermelho para a 2-piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II), em pastilhas de KBr.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Ao compararmos os espectros podemos observar que os espectros dos complexos CoL, NiL e CuL são semelhantes entre si e do ligante livre. No complexo ZnL foram observadas mais absorções que o ligante livre, enquanto que o complexo FeL menos absorções que o ligante livre.

No espectro de 2-piridinoaldazina as bandas em 1628 e 1586  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento das ligações C=N e C=N-N=C, respectivamente. Essas absorções são características do grupo azina (MISHRA *et al*, 2012). Com a complexação ocorreu uma intensa modificação das absorções no espectro de infravermelho, podendo destacar:

- O deslocamento da banda atribuída ao estiramento das ligações C=N-N=C para maior energia;
- O aparecimento de uma banda larga na região de 3600 a 2900  $\text{cm}^{-1}$  nos complexos de FeL, CoL, NiL e CuL associada ao estiramento das ligações de O-H de moléculas de água, porém esta banda é menos característica em CuL, o que pode estar associada a uma menor quantidade de água presente neste composto;

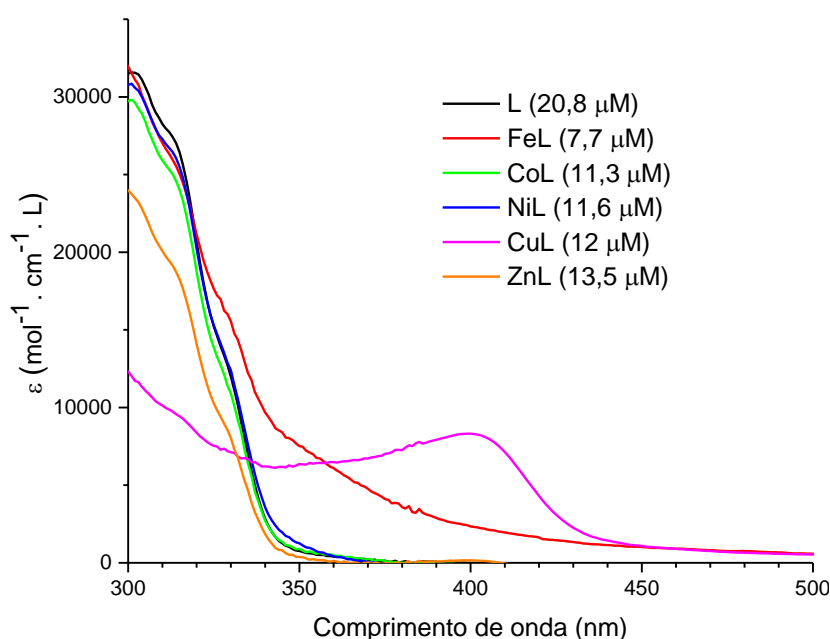
- O aparecimento de uma banda alargada em  $1100\text{ cm}^{-1}$  no espectro de FeL associada a presença do grupo sulfato (NAKAMOTO, 2009);
- Ausência de absorções na região de  $3600$  a  $2900\text{ cm}^{-1}$  atribuídas a ausência de moléculas de água no espectro de ZnL.

#### 4.1.3 Espectros eletrônicos

O espectro eletrônico de absorção é uma ferramenta muito útil para validar os resultados fornecidos por outros métodos de investigação estrutural. Através do espectro eletrônico é possível atestar a estereoquímica de íons metálicos em complexos, baseando-se nas posições e na quantidade de picos com transições do tipo d-d.

Na figura 14 estão apresentados os espectros eletrônicos de soluções diluídas de 2-piridinoaldazina e seus complexos metálicos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) em DMSO. Nessa figura ao invés de absorbância optou-se por utilizar a absorvidade molar ( $\epsilon$ ). Essa propriedade foi calculada utilizando a lei de Lambert-Beer. Por se tratar de uma propriedade que é característica do material, ela permite observar como se alterou as transições eletrônicas dentro do ligante com a complexação.

Figura 14 - Espectros eletrônicos na região do ultravioleta visível para a 2-piridinoaldazina (L) e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) dissolvidas em DMSO



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).



Nos complexos de FeL, CoL e NiL não houve uma significativa modificação nas transições eletrônicas do ligante complexado em relação ao ligante livre, contudo, no complexo de FeL foi observado o aparecimento de um ombro em 350 nm. No complexo de ZnL foi observado diminuição da absorvidade molar para as transições intraligante e no complexo de CuL além desta diminuição, foi observado nova banda com máxima em 400 nm associada a transferência de carga do ligante para o metal (L→Cu).

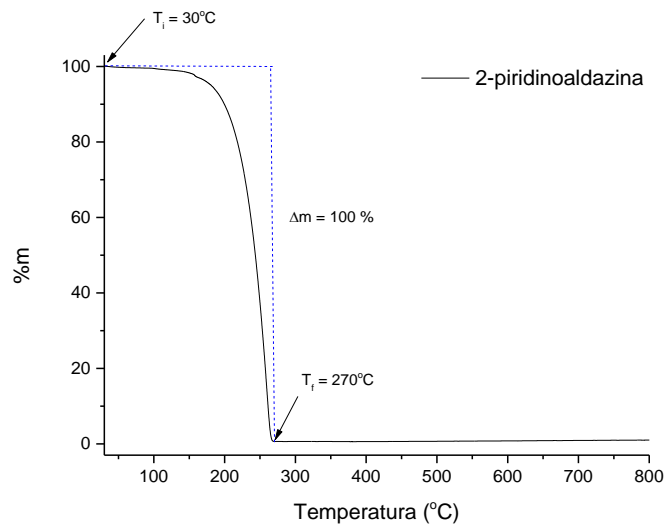
#### 4.1.4 Análises térmicas

Nas Figuras 15 a 18 estão apresentadas as curvas termogravimétricas (curvas TG) e as curvas para a análise térmica diferencial (Curva DTA) dos compostos obtidos neste trabalho. Na parte inferior das figuras da curva TG dos complexos encontra-se uma proposta para a decomposição térmica dos complexos com base na sua composição química sugerida.

Na curva TG do ligante podemos observar que ocorre a decomposição de toda a parte orgânica em uma única etapa entre 150 e 270 °C, enquanto que pela curva DTA é possível observar um evento endotérmico em torno de 170 °C que pode ser associado a fusão do ligante, seguido outros eventos endotérmicos relacionados à decomposição.

Para os complexos foi observada uma intensa modificação nas curvas TG. A primeira modificação foi o aumento da estabilidade térmica dos compostos em relação ao ligante livre com a perda de massa associada à parte orgânica em temperaturas superiores a 500 °C. Outra modificação foi o aparecimento de um evento de decomposição a baixas temperaturas (<150 °C) para FeL, CoL e NiL, associado à existência nesses compostos de moléculas de água de hidratação, como observado em outros complexos de coordenação. Além disso, todos os complexos apresentam uma significativa quantidade de resíduo ao final da análise o que corrobora a presença de metais nestes compostos. Nas curvas DTA dos complexos foi observado ausência do evento endotérmico associado a fusão e vários eventos exotérmicos associados a decomposição do complexo em múltiplas etapas.

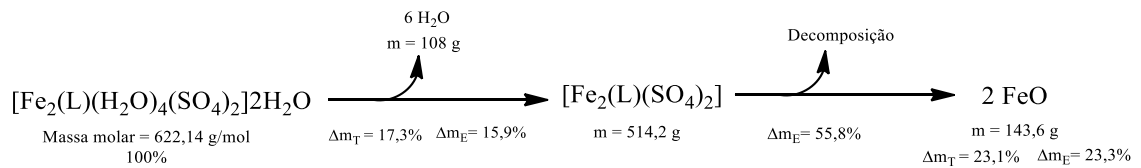
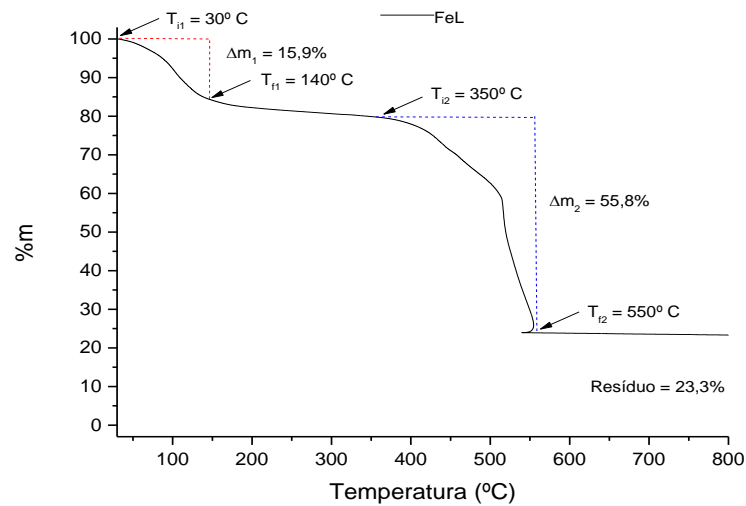
Figura 15 - Curva TG para a 2-piridinoaldazina na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido



Legenda:  $T_i$ = temperatura inicial do evento;  $T_f$ = temperatura final do evento;  $\Delta m$ = variação de massa no evento.

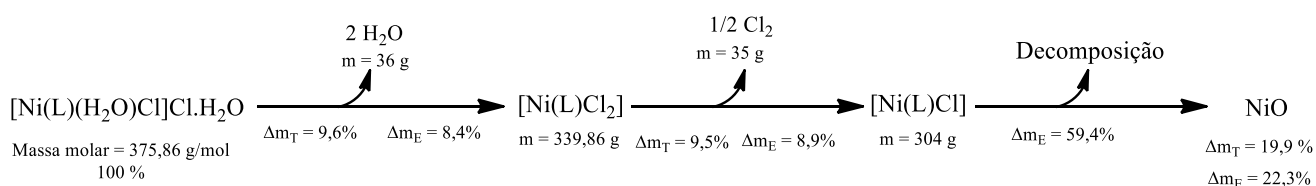
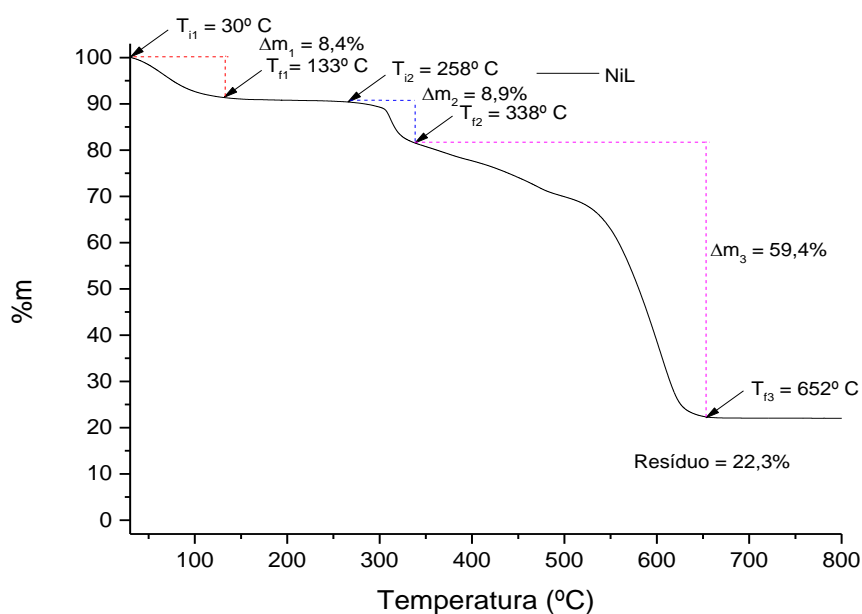
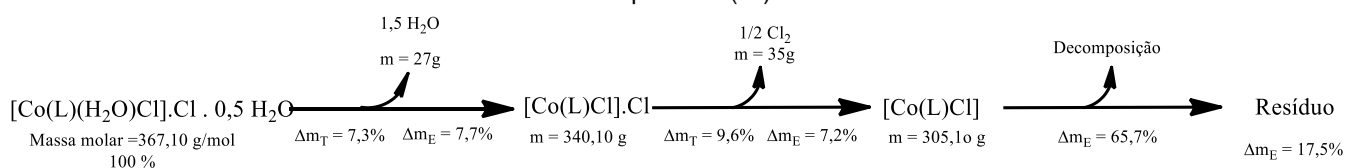
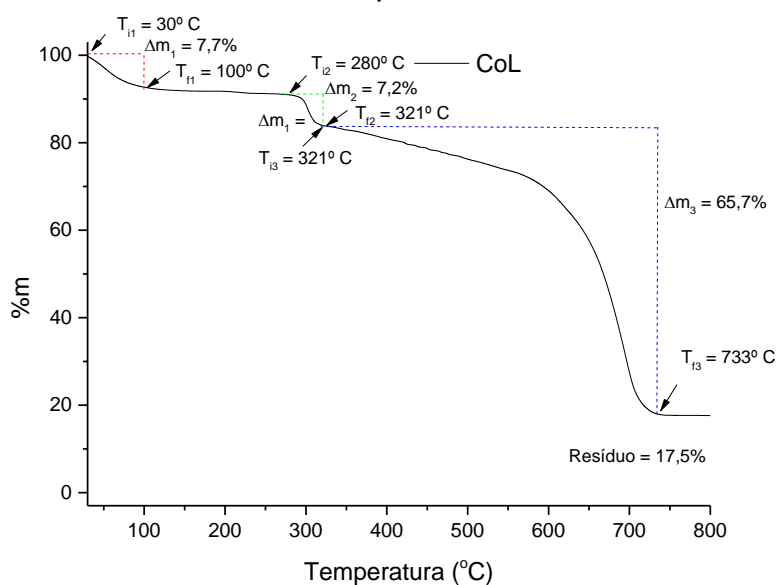
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 16 - Curva TG para o complexo FeL na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido. Na parte inferior das figuras as perdas das massas foram atribuídas a etapas de degradação térmica do complexo proposto após os ensaios químicos anteriores



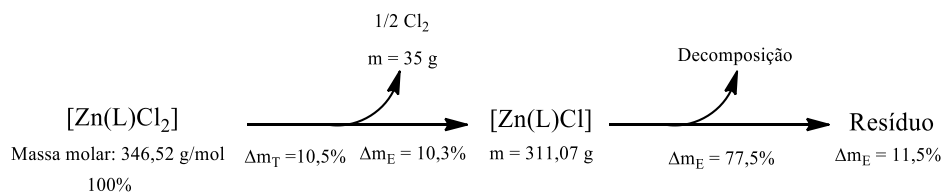
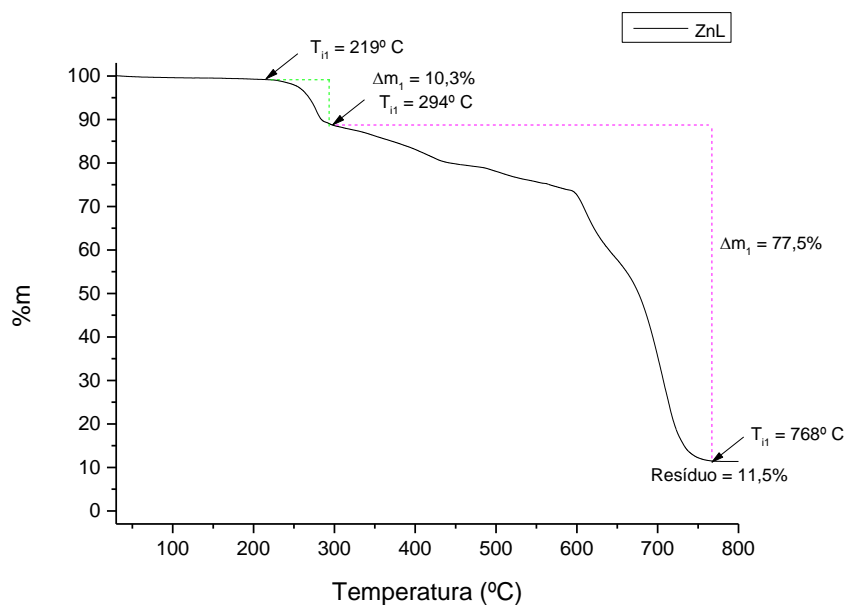
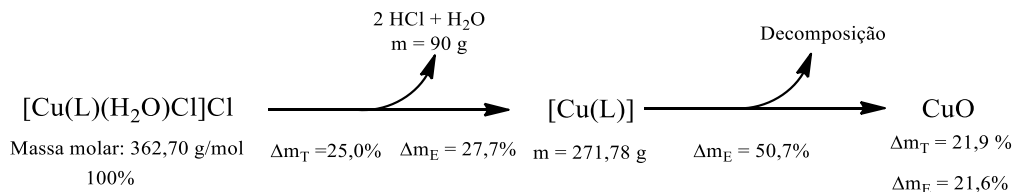
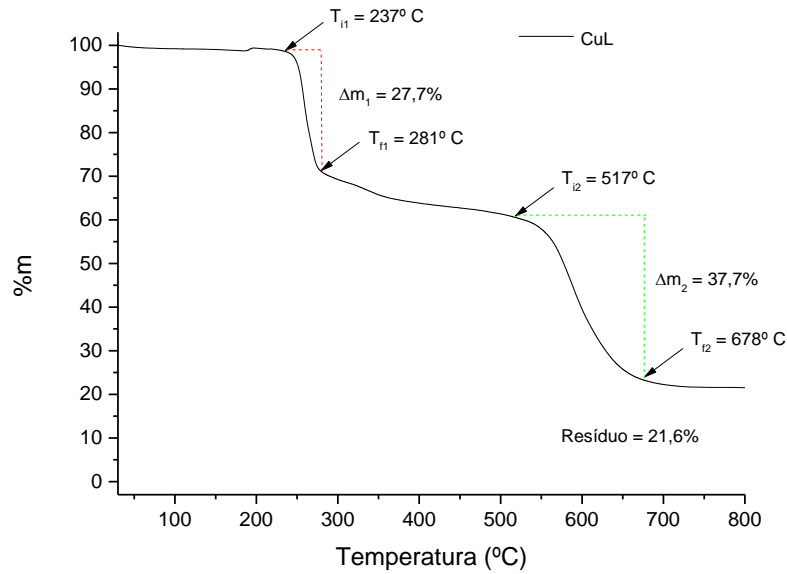
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 17- Curvas TG para os complexos CoL e NiL na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido. Na parte inferior das figuras as perdas das massas foram atribuídas a etapas de degradação térmica do complexo proposto após os ensaios químicos anteriores



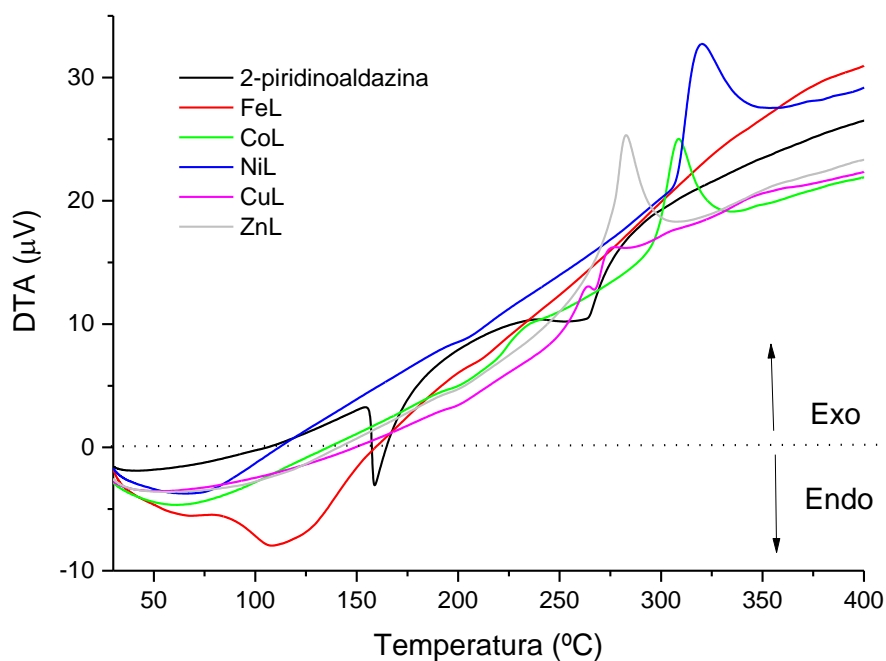
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 18 - Curvas TG para os complexos CuL e ZnL na faixa de 35 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido. Na parte inferior das figuras as perdas das massas foram atribuídas a etapas de degradação térmica do complexo proposto após os ensaios químicos anteriores



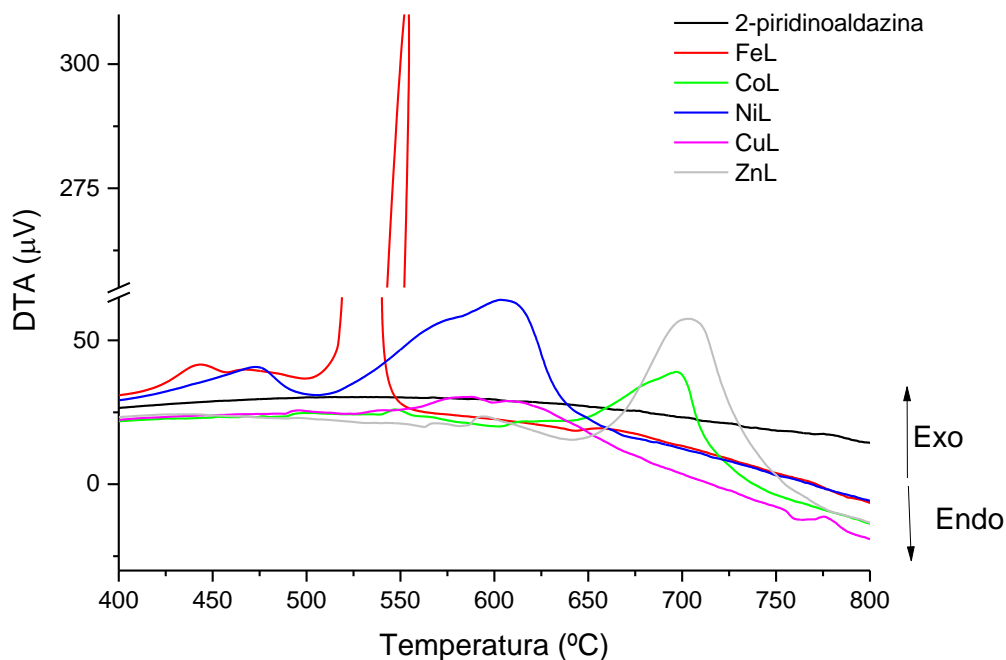
Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Figura 19 - Curvas DTA para 2- piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) na faixa de 35 a 400°C, em atmosfera de ar comprimido



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 20 - Curvas DTA para 2- piridinoaldazina e seus complexos de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) na faixa de 400 a 800°C, em atmosfera de ar comprimido



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

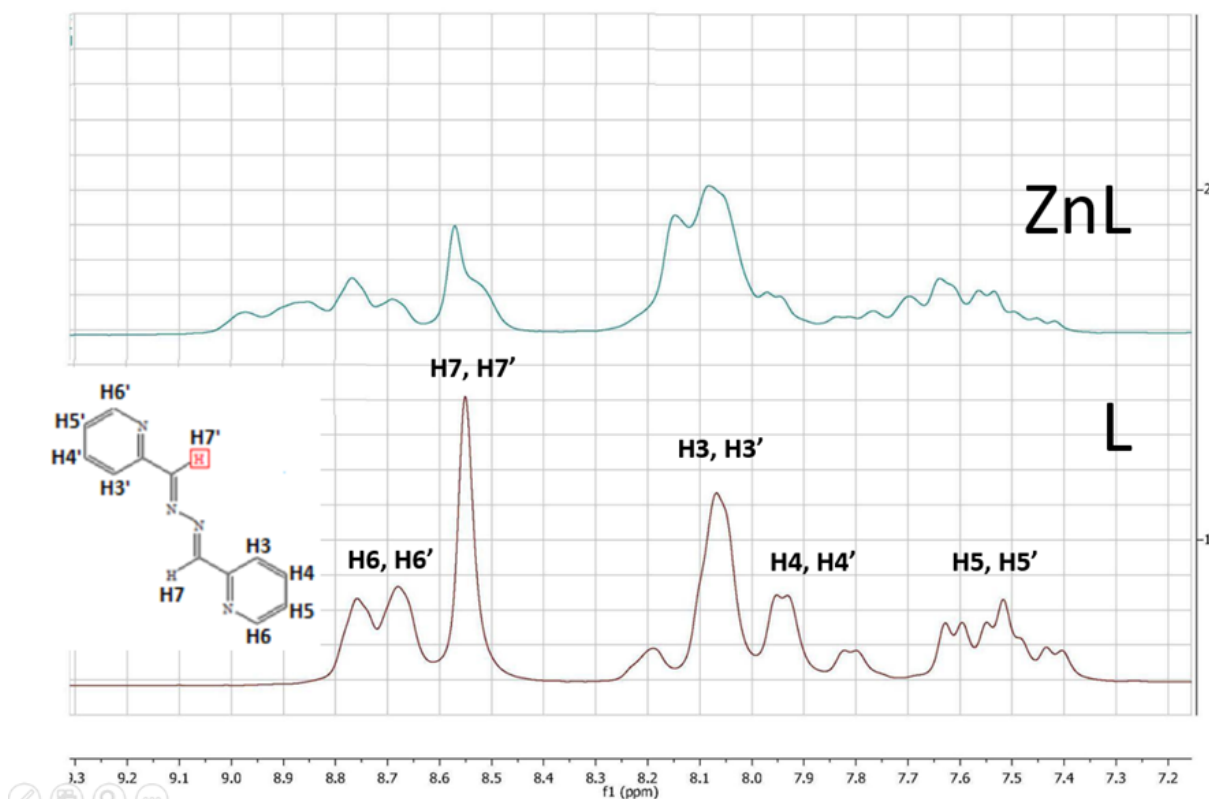
#### 4.1.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Esta técnica permite identificar a estrutura de compostos químicos, por meio de alguns efeitos que são manifestados por alguns átomos, como o  $H^1$  e  $C^{13}$ , quando submetidos à presença de um forte campo magnético externo. Esses átomos previamente alinhados ao campo magnético externo podem ser perturbados utilizando um pulso de radiofrequência e durante a relaxação desse núcleo é possível obter informações sobre o ambiente químico no qual o mesmo está submetido. Essa informação é registrada e tratada e um gráfico que mostra as frequências características de absorção de energia e suas intensidades para uma amostra em um campo magnético é gerado (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018). Portanto, ela pode ser aplicada neste caso para observar que tipo de alteração pode ter ocorrido na estrutura do ligante com a coordenação.

A maioria dos complexos preparados tem metais com elétrons desemparelhados, o que pode ser um desafio durante a aquisição dos dados dos espectros de RMN, por não apresentarem um espectro de fácil entendimento. Deste modo, optou-se por obter os espectros de  $^1H$  RMN apenas do ligante e do complexo ZnL. Na figura 21 estão apresentados os espectros de RMN de  $^1H$  dos dois compostos utilizados nesta análise.

No espectro de RMN de  $^1H$  da 2-piridinaldazina foi observado apenas um único sinal para cada hidrogênio da molécula, o que demonstra a existência de uma simetria em relação à ligação N-N. Com a coordenação ao Zn foi observado que, além do deslocamento desses sinais, ocorreu o aparecimento de novos que comprovam que com a complexação ao metal, demonstrando que os carbonos imínicos encontram-se em ambientes químicos diferentes para os hidrogênios que antes eram idênticos no ligante livre.

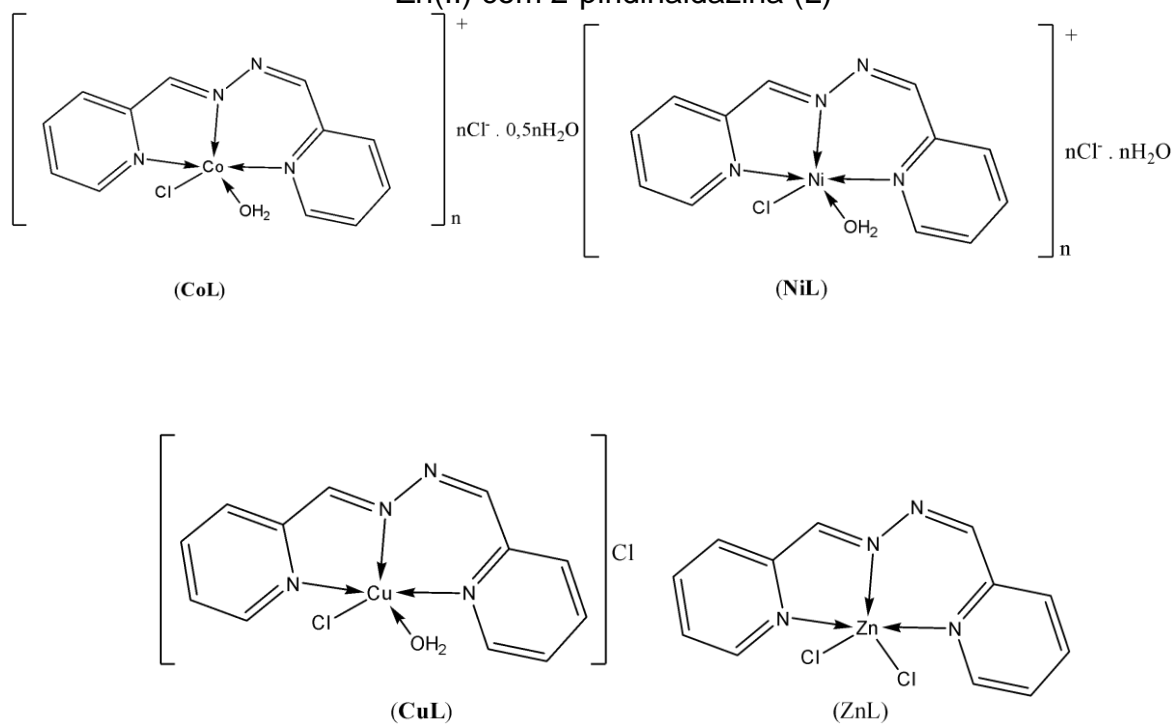
Figura 21 - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (60 MHz) para a 2-piridinaldazina (L) e seu complexo de Zn(II) (ZnL), em  $\text{DMSO-}d_6$



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

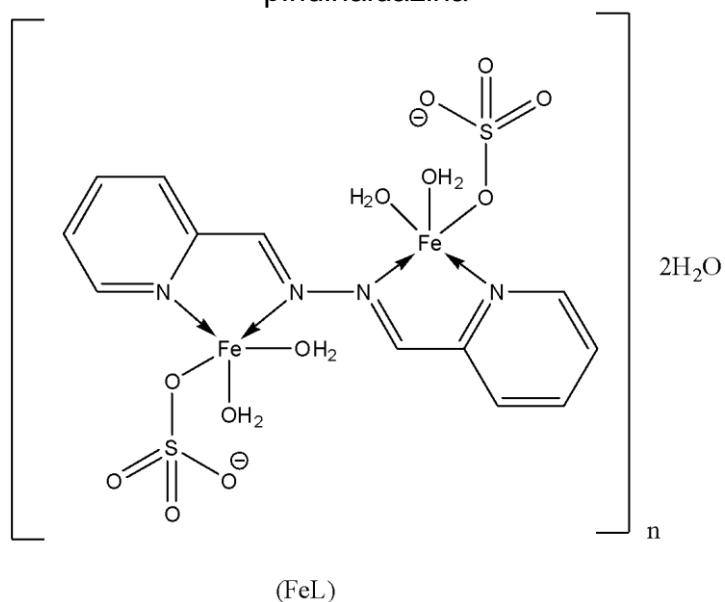
Com base nos dados reunidos a partir da caracterização foi proposto que os compostos CuL, NiL, CoL e ZnL apresentam estruturas químicas mais próximas entre si (ver figura 22). Além disso, essas propostas estão de acordo com os dados obtidos por Smith (1975) para o complexo da 2-piridinaldazina com Zn(II). No entanto, FeL (figura 23) apresenta uma estrutura diferente em relação a esses compostos, o que corrobora as alterações observadas principalmente nos espectros de infravermelho e dados de análise térmica.

Figura 22 - Estruturas propostas para os complexos obtidos de Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II) com 2-piridinaldazina (L)



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 23 - Estruturas propostas para o complexo de Fe (II) obtido com a 2-piridinaldazina



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).



## 4.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Como observado na figura 24, apenas os poços contendo o FeL nas concentrações 1 mM e 0,5 mM não apresentaram crescimento fúngico, sendo o único composto a exibir atividade contra o *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. A concentração inibitória mínima obtida foi de 0,5 mM.

Figura 24 - Exemplo de resultado obtido para os compostos durante o experimento de microdiluição em série contra cepas de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Apesar de carecer de novos estudos, uma tese para atividade antifúngica do complexo FeL pode ser devido a esse metal estar presente na parte no anel Heme do citocromo P-450, que converte o lanosterol em ergosterol, que é o principal esteroide encontrado na membrana celular (CUTRIM, 2020). Além disso, este metal é um

nutriente importante para desenvolvimento e crescimento fúngico (SILVA, 1978). Esses fatores podem ter favorecido a entrada do complexo nas células fúngicas para que ele exercesse o seu efeito citotóxico.

## 5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi sintetizado a 2-piridinoaldazina como ligante e depois ela foi complexada com os metais Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II). Tanto a reação do ligante quanto os complexos mostraram bons rendimentos e a caracterização apresentou que apesar de ter ocorrido a complexação ela não seguiu a ideia inicial, pois era esperado a formação de compostos do tipo 2:1 metal:ligante de modo bidentado ligando dois metais, único complexo que se formou de acordo com essa proposta foi o complexo de Fe(II). Nos outros compostos, o ligante se complexou de forma tridentada a um único metal, seguindo uma estequiometria do tipo 1:1 (M:L). Isto ressalta a dificuldade de controlar a coordenação das aldazinas, principalmente no caso em que atuam como ligantes polidentados.

Somente o complexo de Fe(II) apresentou atividade, no entanto essa atividade é inerente do complexo visto que o ligante puro e nenhum outro composto demonstrou atividade antifúngica em nenhuma das concentrações testadas. A atividade demonstrada por FeL pode ser devido ao tipo de estrutura que ele adotou, pois foi o único complexo que foi dinuclear com coordenação bidentada em cada átomo do metal. Contudo, novos estudos são necessários para avaliarmos corretamente o comportamento antifúngico destes compostos.

## REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, Sanjay; KAMINSKY, Werner; KOLLIPARA, Mohan Rao. Investigation of the coordination chemistry of multidentate azine Schiff-base ligands towards d6 half-sandwich metal complexes. **Journal Of Organometallic Chemistry**, [S.L.], v. 848, p. 95-103, out. 2017.
- BENITE, Ana N. C.; MACHADO, Sergio de Paula; BARREIRO, Eliezer J. Considerações sobre química inorgânica medicinal. *Revista Eletrônica de Farmácia*, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 131-142, 2007.
- BERALDO, Heloisa. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Cadernos temáticos de química nova**. São Paulo, n. 6, 2005.
- CAMPOS, Wesley; SOUZA, Débora; GUIMARÃES, Délis; SANTOS, Victória; GONSALVES, Arlan; ARAÓJO, Cleônia. Síntese mecanoquímica de azinas acíclicas simétricas e determinação do fator de proteção solar uvb in vitro. **Química Nova**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 305-312, 2019.
- CUTRIM, Thiago Antonio de Sousa. **Avaliação da atividade antifúngica de novos compostos triazólicos derivados do timol**. 2020. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Vila Velha, Vila Velha, 2020.
- DANISH, Isravel Antony; PRASAD, Karnam Jayarampillai Rajendra. Syntheses and characterisation of N,N-biscarbazolyl azine and N,N-carbazolyl hydrazine derivatives and their antimicrobial studies. **Acta Pharm.**, Bharathiar, v. 2, n. 54, p. 133-142, jun. 2004.
- EMIRIK, Mustafa; KARAOĞLU, Kaan; SERBEST, Kerim; ÇORUH, Ufuk; LOPEZ, Ezequiel M. Vazquez. Two novel unsymmetrical ferrocene based azines and their complexing abilities towards Cu(II): spectroscopy, crystal structure, electrochemistry and dft calculations. **Polyhedron**, [S.L.], v. 88, p. 182-189, mar. 2015.
- GEARY, W.J.. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 81-122, out. 1971.
- HA, Sie-Tiong; KOH, Teck-Ming; LEE, Siew-Ling; YEAP, Guan-Yeow; LIN, Hong-Cheu; ONG, Siew-Teng. Synthesis of new schiff base ester liquid crystals with a benzothiazole core. **Liquid Crystals**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 547-554, 21 maio 2010.
- HUANG, Xue Ren; YANG, Li; ZHOU, Yu-Jie; ZHANG, Shu-Hua; ZHANG, Hai Yang; HAI, Hong. Two Linear Trinuclear Clusters Based on Schiff Base: syntheses, structures and magnetic properties. **Journal Of Cluster Science**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 2033-2042, 1 jul. 2015.
- JAYABHARATHI, J.; THANIKACHALAM, V.; THANGAMANI, A.; PADMAVATHY, M.. Synthesis, AM1 calculation, and biological studies of thiopyran-4-one and their azine derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 266-279, 16 out. 2007.

JONES, Michael R.; DUNCAN, Dustin; STOR, Tim. Introduction to ligand design in medicinal inorganic chemistry. *in*: STORR, Tim. **Ligand design in medicinal inorganic chemistry**. Burnaby:Wiley, 2014. p. 1-7

KARMAKAR, Ruma; CHOUDHURY, Chirantan Roy; BATTEN, Stuart R.; MITRA, Samiran. Two new copper(II) complexes with the shortest (N–N) diazine based rigid ligand: example of unusual tridentate coordination mode. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 826, n. 2-3, p. 75-81, jan. 2007.

KOLB, Vera M.; HUA, Duy H.. Syn-Anti isomerism in the opiate hydrazones and azines derived from naloxone, naltrexone, and oxymorphone. **The Journal Of Organic Chemistry**, [S.L.], v. 49, n. 20, p. 3824-3828, out. 1984.

LIU, E; ZHANG, Yuan Zhuo; TAN, Jiawen; YANG, Chengxiong; LI, Li; GOLEN, James A.; RHEINGOLD, Arnold L.; ZHANG, Guoqi. Zn(II) and Co(III) metallosupramolecular assemblies derived from a rigid bis-Schiff base ligand. **Polyhedron**, [S.L.], v. 102, p. 41-47, dez. 2015.

LOGHMANI-KHOUZANI, H.; SADEGHI, M. M. M.; SAFARI, J.; SABZI-FINI, O.. Synthesis of azines from carbonyl compounds in a solventfree condition. **Sci. I. R. Iran**, Isfahan, v. 12, n. 3, p. 233-235, set. 2001.

MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A.. IUPAC. Compendium of Chemical terminology. Gold Book Terms. 2ed., Oxford, fev., 2014. Disponível em: <https://goldbook.iupac.org/terms/index/A> . Acesso em: 10 dez. 2022.

MIDDYA, Puspendu; KAR, Dhruvajyoti; CHATTOPADHYAY, Shouvik. Synthetic strategies and structures of zinc(II) complexes with di-azine ligands based on salicylaldehyde or its derivatives. **Results In Chemistry**, [S.L.], v. 4, p. 100620, jan. 2022.

MISHRA, Monika; TIWARI, Karishma; SINGH, Ashish Kumar; SINGH, Vinod P.. Synthesis, structural and corrosion inhibition studies on Mn(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with a Schiff base derived from 2-hydroxypropiophenone. **Polyhedron**, [S.L.], v. 77, p. 57-65, jul. 2014.

MISHRA, Rakesh K.; UPADHYAY, K. K.; SHUKLA, Sachin; MISHRA, R.. A zinc(ii) directed triple-stranded helicate incorporating a nine membered metallamacrocycle: supramolecular cylinders mimicking p1 nuclease. **Chemical Communications**, [S.L.], v. 48, n. 35, p. 4238, 2012.

MISTRI, Tarun; DOLAI, Malay; CHAKRABORTY, Debrup; KHUDA-BUKHSH, Anisur Rahman; DAS, Kalyan Kumar; ALI, Mahammad. A highly selective and sensitive in vivo fluorosensor for zinc(ii) without cytotoxicity. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 2380, 2012.

NAJJAR, Renato. Complexos metálicos com atividade anticancerígena. **Química nova**. São Paulo, v. 15, n. 4, p. 323-327, 1992. Sociedade Brasileira de Química.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**. 6ª Edição, New Jersey: Wiley, 2009.

NIE, Qi; XIE, Yangbin; HUANG, Wei; WU, Dayu. A Dynamic Heterometal–Organic Rhomboid Exhibiting Thermo-chromic and Piezochromic Luminescence. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 57, n. 23, p. 14489-14492, 13 nov. 2018.

PANDEY, Abha; ASTHANA, Sharad Kumar; PRAKASH, Anand; ROY, Jagat Kumar; TIWARI, Ida; UPADHYAY, K. K.. A selective hydrolytic and restructuring approach through a Schiff base design on a coumarin platform for “turn-on” fluorogenic sensing of Zn<sup>2+</sup>. **Dalton Transactions**, [S.L.], v. 48, n. 6, p. 2068-2076, 2019.

RONCONI, Luca *et al.* **Using coordination chemistry to design new medicines**. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.L.], v. 251, n. 13-14, p. 1633-1648, jul. 2007.

SAFARI, J.; GANDOMI-RAVANDI, S.. Highly Efficient Practical Procedure for the Synthesis of Azine Derivatives Under Solvent-Free Conditions. **Synthetic Communications**, [S.L.], v. 41, n. 5, p. 645-651, 31 jan. 2011.

SHI, Lu-E; YI, Yu; TANG, Zhen-Xing; XIONG, Wen-Yue; MEI, Jiang-Feng; YING, Guo-Qing. Nuclease p1 immobilized on deae cellulose. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 31-39, mar. 2010.

SHI, Lu-E; YI, Yu; TANG, Zhen-Xing; XIONG, Wen-Yue; MEI, Jiang-Feng; YING, Guo-Qing. Nuclease p1 immobilized on deae cellulose. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 31-39, mar. 2010.

SILVA, Gildo Almeida da. **Influência do zinco e do ferro sobre a produção de proteína fúngica em amido de mandioca**. 1978. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Agrícola, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1978.

SMITH, H. Warren. P-Dichloro-(2-pyridinaldazine)zinc(II). **Acta Cryst.**: Short Structural Papers, Richmond, v. 31, n. 1, p. 2701-2703, jun. 1975.

SOLOMONS, T.W. Graham; FRYHLE, Craig B.; SNYDER, Scott A.. **Química orgânica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Ltc, 2018.

WOON, T.C.; THOMPSON, Laurence K.; ROBICHAUD, Phillip. Mononuclear and polynuclear copper complexes of some substituted hydrazones. **Inorganica Chimica Acta**, [S.L.], v. 90, n. 3, p. 201-208, dez. 1984.

XIE, Jing; WU, Ting; WANG, Xiaoling; YU, Chengfeng; HUANG, Wei; WU, Dayu. Azo-Label Heterometal–Organic Rhomboids Exhibiting Photoswitchable NIR Luminescence in Crystalline State. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 59, n. 20, p. 15460-15466, 29 set. 2020.