

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA  
PPGQA/UNICENTRO-PR

ALINE BOAROLLI SCHONS

**SÍNTESE VERDE DE ABIETATO DE SÓDIO POR SALIFICAÇÃO DA RESINA  
DE *Pinus elliottii* E PREPARO DO OXOVANÁDIO(IV)-*bis*(ABIETATO):  
APLICAÇÃO COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GUARAPUAVA – PR

2023

ALINE BOAROLLI SCHONS

**SÍNTESE VERDE DE ABIETATO DE SÓDIO POR SALIFICAÇÃO DA RESINA  
DE *Pinus elliottii* E PREPARO DO OXOVANÁDIO(IV)-*bis*(ABIETATO):  
APLICAÇÃO COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Química Aplicada, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Prof<sup>o</sup> Dr. Fauze Jacó Anaissi

**Coorientadora:** Prof<sup>a</sup> Dra. Patrícia Appelt

Guarapuava – PR

2023

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

- S371s Schons, Aline Boarolli  
Síntese verde de abietato de sódio por salificação da resina de *Pinus elliottii* e preparo do oxovanádio (IV)-*bis*(abietato) : aplicação como agentes antimicrobianos / Aline Boarolli Schons. -- Guarapuava, 2023.  
xi, 63 f. : il. ; 28 cm
- Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química. Área de Concentração: Química Aplicada, 2023.
- Orientador: Fauze Jacó Anaissi  
Coorientadora: Patrícia Appelt  
Banca examinadora: Karen Wohnrath, Rosely Peralta
- Bibliografia
1. Resina de *Pinus*. 2. Complexo. 3. Antimicrobiana. 4. Tinta. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDD 540

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus; a minha família por sempre estar presente ao meu lado me apoiando e acreditando nos meus passos. Aos meus pais, Moacir e Idit, por todo suporte financeiro e emocional, e toda preocupação, desde o tempo de graduação até a conclusão do mestrado; sempre dispostos a fornecer qualquer tipo de ajuda.

Aos grandes amigos que fiz durante o tempo de curso, Aline e Mateus, inclusive as que seguiram na mesma turma de mestrado, Nicoli e Ana; a Patrícia, uma das colegas de AP, e as demais colegas da turma de 2021; obrigada pelo apoio, convivência, pelo tempo da amizade e pelas experiências compartilhadas.

À UNICENTRO; ao PPGQA e demais envolvidos pelo auxílio nas atividades, dentro do âmbito possível; pelo ensino de qualidade e pela disponibilidade quando necessária. Aos laboratórios vizinhos, os laboratórios didáticos e ao DEQ pelo suporte prestado quando necessário. Aos colegas do laboratório LabMat pela troca de experiências, disposição em auxiliar, e ajuda nas prévias realizadas.

Ao meu orientador prof. Dr. Fauze J. Anaissi por todo apoio prestado, pelo incentivo, pelas sugestões e ideias, e por acreditam no trabalho realizado. A minha coorientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Patrícia Appelt, pela disponibilidade, amizade, pelas ideias e dedicação a parte de aplicação biológica.

Ao professor Mário A. A. da Cunha do laboratório GTbio da UTFPR – Campus Pato Branco, pela disponibilização do laboratório e materiais para realização dos testes antimicrobianos. Ao Centro Analítico do IQ-USP pela análise de espectrometria de massas e análise elementar. A NOVATEC – UNICENTRO, pela análise de condutividade. E também ao CCMN – UNICENTRO e técnicos pelas demais análise.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karen Wohnrath e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosely Peralta pela participação na banca de qualificação e defesa, pelas importantes sugestões e contribuições feitas para melhor realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pela concessão da bolsa de estudos, e aos demais órgãos de fomento.

E a todos que, de alguma forma, participaram dessa etapa da minha formação profissional e crescimento pessoal. Obrigada.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutã

## RESUMO

Este trabalho apresenta uma fonte alternativa e renovável para síntese de complexos, visando também um baixo custo, e minimizando a geração de resíduos descartáveis. A fonte escolhida foi a resina de *Pinus*, que traz meios práticos de obtenção e uso. O *Pinus elliotti var elliotti* é uma árvore de reflorestamento, portanto, é fácil encontrar grandes áreas de plantação e exploração de suas matérias-primas, inclusive na região de Guarapuava; mas existem espécies dessa árvore por todo o mundo. Após a obtenção e purificação da resina, foi realizada a síntese de salificação para formação de um sal carboxílico, denominado sal abietato de sódio (Na-abietato), tendo como precursor NaOH. Após preparação do sal, foi recristalizado e utilizado na síntese do complexo V-abietato. Diversas técnicas foram utilizadas para caracterizar o sal Na-abietato e complexo V-abietato; com destaque para uso da espectrometria de massa indicando a formação do complexo de vanádio com dois ligantes abietatos ( $C_{20}H_{29}O_2^-$ ), formando o oxovanádio(IV)bis(abietato). A aplicação foi direcionada a área de microbiologia, investigando a capacidade dos compostos quanto sua atividade antimicrobiana utilizando os testes CIM, CBM e CFM e também disco de difusão. Os resultados mostraram eficiência tanto do sal como do complexo em inibir o crescimento de fungos e bactérias. A solução do Na-abietato destacou-se na inibição da *Salmonella enterica* Typhimurium com índice de atividade >100% no teste de disco de difusão. O complexo V-abietato teve boa ação bacteriostática para bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *L. monocytogenes*) com concentração mínima de inibição de  $62,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; além da atividade fungicida para *C. albicans* e *C. tropicalis* na concentração mínima de  $15,6$  e  $62,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. No método de disco de difusão a solução de V-abietato apresentou melhor atividade de inibição para *L. monocytogenes* com 81%. O complexo também foi disperso em tinta branca para avaliar suas propriedades antimicrobianas com intuito do seu uso em revestimentos e pinturas. Sua maior atividade de inibição foi para *E. coli* com um halo de  $10,88 \pm 0,13$  mm; em seguida *S. aureus* ( $8,81 \pm 0,26$  mm); *S. enterica* Typhimurium ( $8,13 \pm 0,07$  mm) e *L. monocytogenes* ( $7,70 \pm 0,12$  mm). Para a cepa de levedura *C. tropicalis* não houve crescimento de colônias durante o tempo estabelecido para o teste (48 h). Portanto, enfatiza-se que sal Na-abietato apresentou melhor atividade de inibição contra as bactérias; enquanto o complexo V-abietato apresentou melhor ação contra os fungos.

**Palavras-chave:** resina de *Pinus*; complexo; antimicrobiana; tinta.

## ABSTRACT

This work presents an alternative and renewable source for the synthesis of complexes, also aiming at a low cost, and minimizing the generation of disposable waste. The source chosen was Pinus resin, which provides practical means of obtaining and using it. Pinus is a reforestation tree, therefore, it is easy to find large areas of plantation and exploitation of its raw materials, including in the Guarapuava region; but there are species of this tree all over the world. After obtaining and purifying the resin, salification synthesis was carried out to form a carboxylic salt, called sodium abietate salt (Na-abietate), with NaOH as precursor. After preparing the salt, it was recrystallized and used in the synthesis of the V-abietate complex. Several techniques were used to characterize the Na-abietate salt and V-abietate complex; highlighting the use of mass spectrometry indicating the formation of the vanadium complex with two abietate ligands ( $C_{20}H_{29}O_2^-$ ), forming the oxovanadium(IV)bis(abietate). The application was directed to the area of microbiology, investigating the ability of the compounds as their antimicrobial activity using the CIM, CBM, and CFM tests and also diffusion disk. The results showed efficiency of both the salt and the complex in inhibiting the growth of fungi and bacteria. The Na-abietate solution stood out in inhibiting *Salmonella enterica* Typhimurium with an activity index >100% in the disk diffusion test. The V-abietate complex had good bacteriostatic action for Gram-positive bacteria (*S. aureus* and *L. monocytogenes*) with a minimum inhibition concentration of  $62.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; in addition to fungicidal activity for *C. albicans* and *C. tropicalis* at a minimum concentration of  $15.6$  and  $62.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectively. In the disk diffusion method, the V-abietate solution showed the best inhibition activity for *L. monocytogenes* with 81%. The complex was also dispersed in white paint to evaluate its antimicrobial properties with a view to its use in coatings and paints. Its greatest inhibition activity was for *E. coli* with a halo of  $10.88 \pm 0.13$  mm; then *S. aureus* ( $8.81 \pm 0.26$  mm); *S. enterica* Typhimurium ( $8.13 \pm 0.07$  mm) and *L. monocytogenes* ( $7.70 \pm 0.12$  mm). For the yeast strain *C. tropicalis* there was no growth of colonies during the time established for the test (48 h). Therefore, it is emphasized that Na-abietate salt showed better inhibition activity against bacteria; while the V-abietate complex showed better action against fungi.

**Keywords:** Pinus resin; complex; antimicrobial; paint.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Fotos de duas espécies diferentes de <i>Pinus</i> e seus cones.....	13
<b>Figura 2</b> - Parte dos ácidos constituintes da colôfonia. ....	14
<b>Figura 3</b> - (A) Cadeia C <sub>6</sub> de um isopreno e (B) molécula de um diterpeno, formado por n=4 unidades de isopreno. ....	15
<b>Figura 4</b> - Ligante Na-abietato. ....	16
<b>Figura 5</b> – Modos de coordenação do grupo COO <sup>-</sup> .....	17
<b>Figura 6</b> – Obras que utilizavam complexos como pigmentos, em (A) o azul da Prússia e (B) vermelho de alizarina. ....	18
<b>Figura 7</b> – Mineral vanadinita (Pb <sub>5</sub> (VO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> Cl), fonte de vanádio e chumbo. ....	20
<b>Figura 8</b> – Quadrantes de cores do sistema CIE L*a*b*.....	25
<b>Figura 9</b> – Ilustração da placa Elisa utilizada no teste CIM. ....	35
<b>Figura 10</b> – Reação de formação do ligante Na-abietato. ....	39
<b>Figura 11</b> – Ilustração do processo de salificação da resina de <i>Pinus</i> com NaOH resultando no sal de Na-abietato.....	40
<b>Figura 12</b> – Procedimento de purificação e recristalização do sal Na-abietato.....	40
<b>Figura 13</b> – Espectros FTIR do (a) sal Na-abietato e do (b) complexo V-abietato; e seus sólidos em pó.....	42
<b>Figura 14</b> – Espectros de massas (a) do ligante Na-abietato e (b) do complexo V-abietato. ....	43
<b>Figura 15</b> – Termograma (TG/DTG) do complexo VO(IV)-bis(abietato).....	44
<b>Figura 16</b> – Difrátograma do ligante Na-abietato recristalizado e do complexo V-abietato. ....	45
<b>Figura 17</b> – Espectros de reflectância e absorbância do (a) Na-abietato e (b) V-abietato. ....	47
<b>Figura 18</b> – Imagens das amostras utilizadas na medida de colorimetria. ....	48
<b>Figura 19</b> – Placa Elisa, teste CIM do complexo de V-abietato contra <i>S. aureus</i> .....	51
<b>Figura 20</b> – Teste CBM do V-abietato contra (a) <i>C. albicans</i> e (b) <i>C. tropicalis</i> .....	51
<b>Figura 21</b> – Teste com a solução de Na-abietato em etanol 10% (2mmol L <sup>-1</sup> ) através do método disco de difusão. ....	53
<b>Figura 22</b> - Teste com a solução de V-abietato em DMSO 6,25% (2 mmol L <sup>-1</sup> ) através do método disco de difusão. ....	54



<b>Figura 23</b> – Halos de difusão para os discos pintados com a tinta branca contendo V-abietato (5%).....	55
--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Condições necessárias para realizar o teste CIM para bactérias e fungos... 35	
<b>Tabela 2</b> – Valores de CHN teóricos e experimentais para Na-abietato e V-abietato... 42	
<b>Tabela 3</b> – Propriedades iônicas, pH e condutividade da solução de Na-abietato utilizando um pHmetro..... 47	
<b>Tabela 4</b> – Medidas do potencial zeta e espalhamento dinâmico da luz. .... 48	
<b>Tabela 5</b> - Coordenadas obtidas para o complexo [Oxovanádio- <i>bis</i> (abietato)] através do sistema CIE L*a*b*. .... 49	
<b>Tabela 6</b> – Solubilidade dos compostos. .... 49	
<b>Tabela 7</b> – Resultados dos testes CIM/CBM/CFM para o Na-abietato e V-abietato, apresentados em $\mu\text{mol L}^{-1}$ ..... 52	
<b>Tabela 8</b> – Resultado do cálculo do índice de atividade para os compostos conforme a Equação 2; considerando o controle Tetraciclina para Na-abietato e Cloranfenicol para V-abietato. .... 54	

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1</b> .....	32
<b>Equação 2</b> .....	36

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ARESB – Associação dos Resinadores do Brasil

$\alpha$  – alfa

$\beta$  – beta

® - Marca registrada

CIE - Commission Internationale de l'Eclairage

NaOH – Hidróxido de sódio

FTIR – Fourier transform infrared spectroscopy

CCMN – Centro de Ciências Moleculares e Nanotecnologia

MS – Mass spectrometry

IQ-USP – Instituto de Química-Universidade de São Paulo

TG – Termogravimetria

CHN – Análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio

DRX – Difração de Raios X

UV-Vis – Espectroscopia eletrônica no Ultravioleta Visível

LabMat – Laboratório de Materiais e Compostos Inorgânicos

CIM – Concentração inibitória mínima

CBM – Concentração bactericida mínima

CFM – Concentração fungicida mínima

ATCC - American Type Culture Collection

DMSO – Dimetilsulfóxido

A.I – Activity index

$\Delta$  – Aquecimento

$\nu_{\text{assim}}$  – Vibração de estiramento assimétrico

$\nu_{\text{sim}}$  – Vibração de estiramento simétrico

DCM - Diclorometano

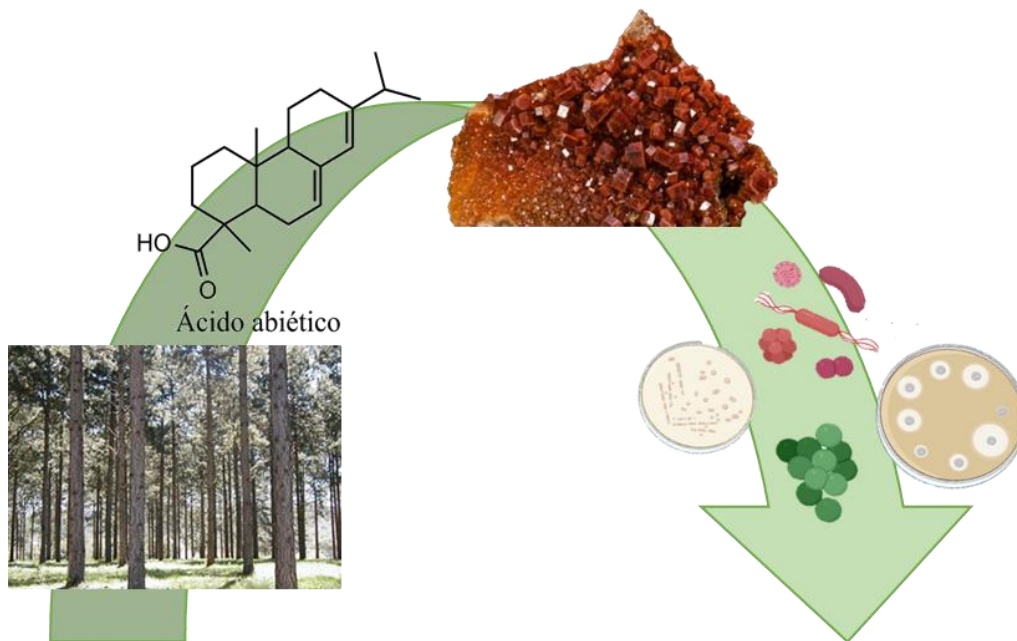
# Sumário

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1 RESINA DE PINUS .....	12
1.2 ÁCIDO ABIÉTICO .....	15
1.3 LIGANTES CARBOXÍLICOS .....	16
1.4 COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO .....	18
1.5 VANÁDIO <sup>23</sup> .....	20
1.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	23
1.7 COLORIMETRIA .....	25
<b>CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS .....</b>	<b>28</b>
<b>CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
3.1 MATERIAIS E MÉTODOS .....	30
3.1.1 Reagentes.....	30
3.1.2 Obtenção do sal carboxílico (Na-abietato) .....	30
3.1.3 Preparação do complexo de V-abietato .....	31
3.2 DISPERSÃO EM TINTA.....	31
3.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO .....	32
3.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) .....	32
3.3.2 Espectrometria de massa (MS).....	32
3.3.3 Termogravimetria (TG) .....	32
3.3.4 Difração de raios X (DRX).....	33
3.3.5 Análise elementar (CHN) .....	33
3.3.6 Espectro eletrônico (UV-Vis).....	33
3.3.7 Colorimetria.....	33
3.3.8 Potencial Zeta .....	33
3.3.9 Condutividade.....	33
3.4 TESTES ANTIMICROBIANOS.....	34

3.4.1	Concentração inibitória mínima (CIM) .....	34
3.4.2	Concentração bactericida mínima (CBM) e concentração fungicida mínima (CFM) .....	36
3.5	DISCO DE DIFUSÃO .....	36
3.5.1	Solução .....	36
3.5.2	Dispersão em tinta .....	37
<b>CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>		<b>39</b>
4.1	O LIGANTE ABIETATO .....	39
4.2	CARACTERIZAÇÕES .....	41
4.2.1	Espectro vibracional – FTIR.....	41
4.2.2	Espectrometria de massas e análise elementar (CHN) .....	42
4.2.3	Análise térmica (TG).....	43
4.2.4	Análise estrutural por difração de raios X (DRX).....	44
4.2.5	Espectroscopia eletrônica (Vis-Near).....	46
4.2.6	Potencial Zeta .....	47
4.2.7	Condutividade.....	48
4.2.8	Colorimetria.....	48
4.2.9	Solubilidade.....	49
4.3	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	49
4.3.1	Método CIM/CBM/CFM.....	49
4.3.2	Disco de difusão .....	53
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>57</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>63</b>
8.1	Artigos completos publicados em periódicos .....	63
8.2	Apresentação em eventos.....	65

# Capítulo 1

## Introdução



## CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

### 1.1 RESINA DE PINUS

A busca por produtos mais baratos e viáveis é sempre um dos atrativos de qualquer atividade de pesquisa. Comumente a síntese de compostos de coordenação envolvem ligantes de alto custo e com baixo rendimento. No caso desse trabalho o ligante foi desenvolvido por CORREA *et al.* (2022a, 2022b) através da resina da árvore de *Pinus*, espécie *Pinus elliottii var. elliottii*, a qual foi recebida de um produtor local, da região de Guarapuava – PR.

O preço da resina é variável conforme sua espécie; no ano de 2022 a resina de *Pinus elliottii* passou de R\$ 8355,00 a R\$ 5560,00; segundo os dados publicados pela Associação dos Resinadores do Brasil (ARESB) (ARESB/ASSOCIAÇÃO DOS RESINADORES DO BRASIL, 2022).

O *Pinus* é uma árvore nativa do Hemisfério Norte de uma região mais quente, porém também pode ser encontrado em lugares com diferentes condições climáticas, sendo que seu crescimento é possível mesmo em condições extremas. Além do uso da sua madeira para fabricação de compensados e outros produtos, a oleoresina encontrada no seu caule também é aproveitada para comercialização, atribuindo versatilidade as árvores da espécie (CORREA, 2017; DA SILVA RODRIGUES-CORRÊA *et al.*, 2017; LIMA, 2013).

O gênero *Pinus* compreende cerca de 130 espécies de árvores identificadas. No Brasil, ela é encontrada na sua maioria, na região sul e no estado de São Paulo, as mais comuns plantadas são: *Pinus taeda*, *Pinus elliotti* (que suportam geadas), *Pinus caribaea var. hondurensis*, *Pinus oocarpa* e *Pinus tecunumanii* (estas resistem ao déficit hídrico) (EMBRAPA, 2020; MITIĆ *et al.*, 2018).

As plantações de *Pinus* têm uma grande importância para o setor florestal brasileiro, por agregar valor desde o pequeno produtor até os segmentos industriais de laminação, serraria, papel e celulose etc. Essa espécie é conhecida por grandes áreas de reflorestamento, devido a produção de celulose de fibra longa e papel de qualidade superior com sua madeira, além da possibilidade de produzir chapas de MDF, compensados, laminados, móveis e tábuas que podem ser usadas em construções de imóveis e pellets; a casca do *Pinus* também pode ser usada como substrato para plantas e ainda sua resina é usada na produção de colas, vernizes, solventes, fungicidas etc. espécie *Pinus elliottii var. elliottii* é a segunda espécie mais utilizada para reflorestamento nas

regiões subtropicais do Brasil, devido sua alta performance na produção de madeira e resina (FLORESTAS, [s.d.]; MOREIRA et al., 2014; SHIMIZU, 2008).

As características para identificação de cada espécie são muito específicas, elas dependem do número, da disposição, da forma e da coloração das acículas, a forma e a cor das sementes, o formato e o tipo de abertura dos cones, as características das resinas como quantidade exsudada, coloração, cristalização, e outras (AGUIAR, ANANDA VIRGINIA; DE SOUSA, VALDERES APARECIDA; SHIMIZU, 2014).

Na Figura 1, tem-se o exemplo do *Pinus taeda* (A e B) e do *elliotti* (C e D), as diferenças são que o primeiro possui acículas finas, curtas e ralas e possuem coloração verde-amarelada a acinzentada (Figura 1A); e cone sésil com espinhos nas escamas (Figura 1.B). Para o *Pinus elliotti*, as acículas são longas, densas e verde-escuras (Figura 1C) e seus cones são pedunculados e sem espinhos proeminentes nas escamas (Figura 1D).

**Figura 1** – Fotos de duas espécies diferentes de *Pinus* e seus cones.



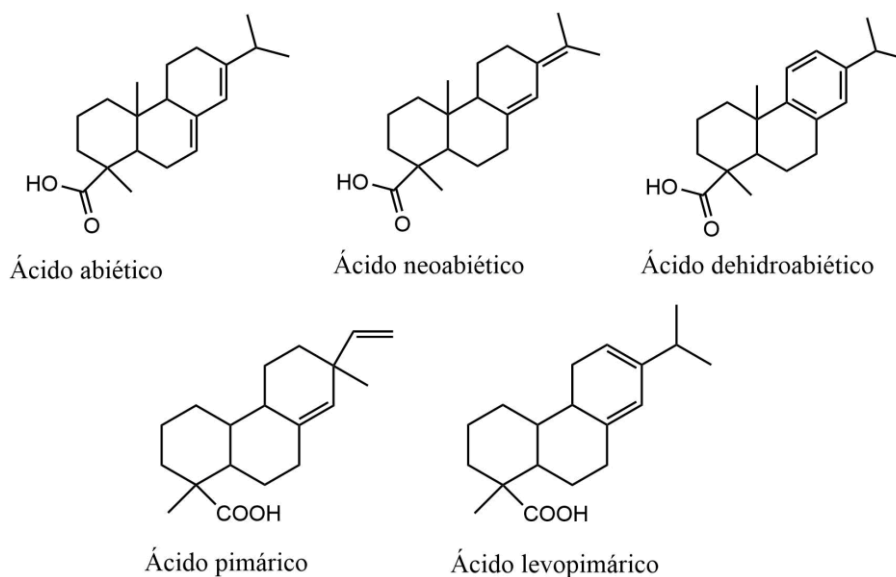
**Fonte:** Adaptada de Sistemas de produção Embrapa (AGUIAR, ANANDA VIRGINIA; DE SOUSA, VALDERES APARECIDA; SHIMIZU, 2014).

A resina encontrada na árvore é produzida como parte de seu mecanismo de defesa, ajudando na cicatrização do caule e imobilização de organismos invasores. Sua aparência é de um líquido viscoso, inflamável, de cor amarela/marrom, com um forte odor (ARESB/ASSOCIAÇÃO DOS RESINADORES DO BRASIL, 2022). Ela é constituída

de duas fases, uma fração sólida denominada breu ou colofônia, e outra fração volátil conhecida como terebintina.

A terebintina é líquida, oleosa e possui forte odor; ainda é sensível a luz, tóxica e inflamável; composta por éteres, álcoois e terpenos, principalmente  $\alpha$ -pineno (aprox. 25,40% m/m),  $\beta$ -pineno (aprox. 9,68% m/m) e cariofileno (entre 4 e 9% m/m) (ULUKANLI et al., 2014). Já o breu é composto por ácidos diterpênicos monocarboxílicos (cerca de 60%), cujo principal constituinte é o ácido abiético e seus derivados (neoabiético, dehidroabiético, etc). Ele é solúvel na maioria dos solventes orgânicos e insolúvel em água; são altamente reativos, contendo ligações duplas conjugadas; aproximadamente 20-25% (m/m) da colôfonia contém ácidos pimarano (ácidos pimárico, levopimárico, etc.) e 5-10% (m/m) de outros ácidos (BLANCO; VILLAESCUSA, 2007; SCALARONE; LAZZARI; CHIANTORE, 2002).

**Figura 2** - Parte dos ácidos constituintes da colôfonia.

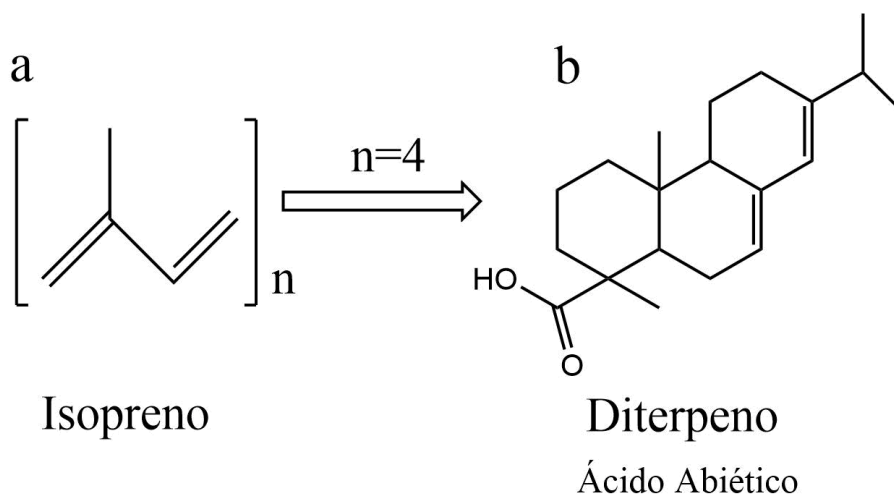


**Fonte:** Autora, 2023.

Os diterpenos são constituídos por quatro unidades de isoprenos, onde o esqueleto é o  $C_{20}$  (Figura 3); contudo, pode haver variações na estrutura de acordo com o número de insaturações, grupos funcionais e quantidade de oxigênio. Eles podem ser classificados em dois grupos principais: lábdanos, que são moléculas bicíclicas com uma cadeia lateral  $C_6$  não insaturada e altamente reativa; e pimaranos e abietanos que são ácidos tricíclicos. As moléculas de tipo abietano, contém duplas ligações conjugadas e se oxidam com facilidade (SCALARONE; LAZZARI; CHIANTORE, 2002).



**Figura 3** - (A) Cadeia C<sub>6</sub> de um isopreno e (B) molécula de um diterpeno, formado por n=4 unidades de isopreno.



Fonte: Autora, 2023.

## 1.2 ÁCIDO ABIÉTICO

O ácido abiético (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>) é considerado um ácido resínico por ser um dos constituintes da resina de *Pinus*. Os ácidos resínicos de pinheiros são diterpenos monocarboxílicos que pertencem, com poucas exceções, a três classes básicas: abiéticos, pimáricos e isopimáricos. As moléculas desses ácidos são bastante parecidas, por exemplo, os quatro ácidos abiéticos são: abiético, neoabiético, paláustrico, e levopimárico (Figura 2), que diferem apenas na localização de suas duas duplas ligações. Os ácidos pimáricos e isopimáricos diferem apenas no C<sub>13</sub>, pode-se observar essas características na Figura 2. O ácido isopimárico e ácidos sandaracopimáricos são classificados na mesma família, mas diferem na localização de uma ligação dupla (RUY; BELEM, 2010).

Com relação a instabilidade do breu em sofrer oxidação, as duplas ligações conjugadas do ácido abiético estão relacionadas diretamente com essa característica. Nesse tipo de estrutura pode-se ocorrer reações de oxigênio, as reações de isomerização, hidrogenação e desidrogenação ao passo que as estruturas do ácido não-conjugados de resina são menos reativas. É possível ocorrer uma estabilização do breu através da remoção da insaturação conjugada pelas reações de hidrogenação e desidrogenação (RUY; BELEM, 2010).

Esse sistema de ligações duplas conjugadas dos ácidos abiéticos, são também responsáveis pela cor; a exposição do breu durante longos períodos ao oxigênio

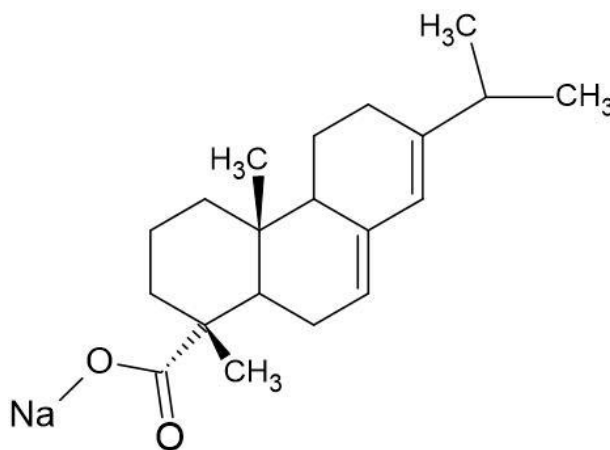
atmosférico ou temperaturas elevadas causa o amarelecimento ou descoloração da resina, processo atribuído à oxidação (RUY; BELEM, 2010).

O ácido abiético vem apresentando diferentes aplicações em pesquisas. No estudo de DE LIMA SILVA *et al.* (2022) o ácido apresentou inibição em ensaios *in vitro* e *in silico* para *Staphylococcus aureus*. No caso do trabalho de LI *et al.* (2021) o ácido abiético conseguiu melhorar a inflamação semelhante a psoríase, teste realizado *in vivo*, usando camundongos. Portanto, as pesquisas realizadas mostram que os resultados são promissores, e que o ácido abiético apresenta potencial em diferentes ensaios biológicos.

### 1.3 LIGANTES CARBOXÍLICOS

O ligante utilizado para as reações foi o sal de abietato de sódio (Na-abietato – Figura 4), que ao se dissociar libera o ânion abietato na forma de ligante. O sal apresenta o grupo carboxílico ( $\text{COO}^-$ ) por onde ocorre a coordenação com o centro metálico. Ele é derivado do ácido abiético, proveniente da resina de *Pinus elliotti var. elliotti*, de onde deriva seu nome.

**Figura 4** - Ligante Na-abietato.



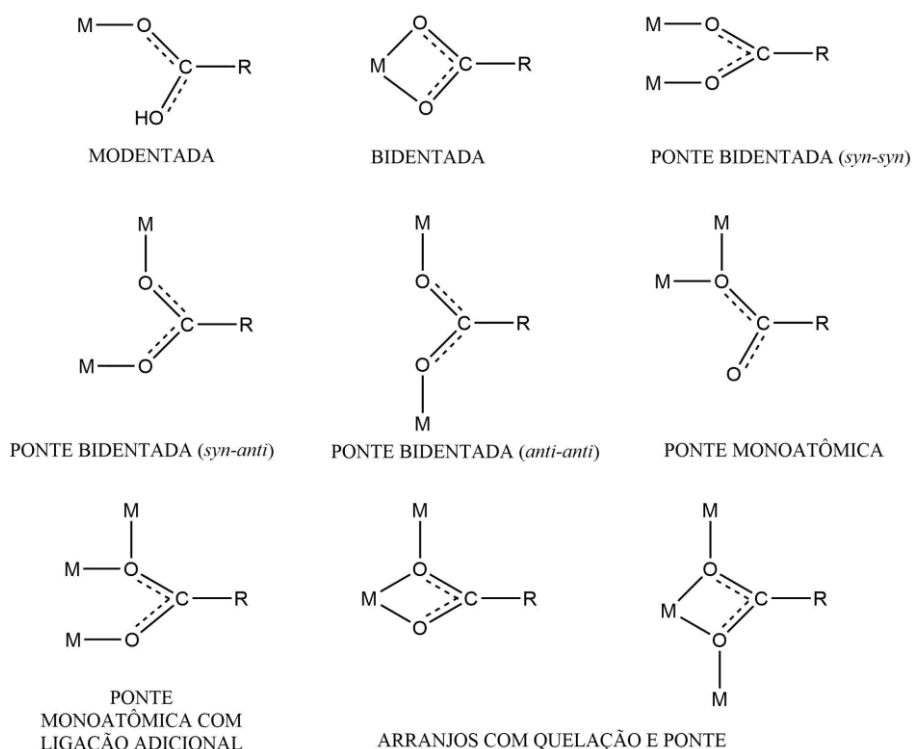
**Fonte:** Autora, 2023.

Ligantes carboxílicos são amplamente utilizados na química de coordenação, a disponibilidade de várias formas de coordenação é uma característica atrativa do grupo. O grupo  $\text{CO}_2^-$  pode ter diversas formas de ligação metal-ligante (M – L) (Figura 5), como coordenação monodentada; ligante quelante; ponte bidentada: syn-syn, syn-anti ou anti-anti; ponte monoatômica sozinha ou com ligação adicional, ou em arranjos envolvendo quelação e ponte (DEACON, 1980).

Trabalhos como de DEACON (1980), mostram que ligantes carboxilatos apresentam maior estabilização dos estados de oxidação mais elevados em complexos, portanto são uma boa alternativa para esses casos. Para sais de sódio e potássio, por exemplo, a coordenação monodentada é a mais comum, pois ela remove a equivalência dos dois átomos de oxigênio, afetando a ordem de ligação C–O e a configuração de pseudo-éster é obtida (DEACON, 1980).

Segundo BALA et al. (2019), os compostos carboxílicos heterocíclicos são uma importante classe na preparação de compostos com propriedades biológicas ativas, e diante desse fato, a síntese desses compostos recebeu significativa atenção nos últimos tempos, por possuírem características medicinais, antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória etc.

**Figura 5** – Modos de coordenação do grupo  $\text{COO}^-$ .



**Legenda:** M = representa o centro metálico; R = radical.

**Fonte:** Adaptado de (DEACON, 1980).

Além dessas propriedades, trabalhos como de MARTÍNEZ *et al.* (2017) investigam a síntese de complexos de Ru (II) e Pt (II) com ligantes carboxílicos (areno ou polipiridina), buscando que a presença desse grupo ofereça a possibilidade de aumentar a especificidade e seletividade de medicamentos em relação às células

cancerígenas. Através desses trabalhos, compreende-se que os ligantes carboxilatos são usados em pesquisas biológicas, tendo como atrativo suas propriedades medicinais e uma possível seletividade característica do grupo.

#### 1.4 COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO

Os estudos formais dos compostos de coordenação se iniciaram de fato com Alfred Werner, contudo esses compostos já eram utilizados como pigmentos e corantes nos tempos antigos. Alguns exemplos são azul da Prússia ( $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) e o vermelho de alizarina (sal de alumínio cálcio de 1,2-di-hidroxi-9,10-antraquinona).

**Figura 6** – Obras que utilizavam complexos como pigmentos, em (A) o azul da Prússia e (B) vermelho de alizarina.



**Legenda:** (A) Obra Enterro de Cristo (1709) do pintor holandês Pieter van der Werff e (B) Obra Ansiedade de Edvard Munch.

**Fonte:** BBC News Brasil ( <<https://www.bbc.com/portuguese/internacional-59655123>> Acesso em 7 fev. 2023) e Cascadia Legends ( <<https://cascadialegends.wordpress.com/2021/04/12/alizarin-crimson-is-this-the-color-of-pain-the-mystery-behind-the-use-of-red-in-art/>> Acesso em 7 fev. 2023).

Ao final do século XIX, as fórmulas desses compostos começaram a ser deduzidas. Os químicos inorgânicos tentaram usar as teorias aplicadas a moléculas orgânicas para explicar as ligações dos compostos de coordenação, contudo, essas foram

consideradas inadequadas. Então Jørgensen e Blomstrand, e Werner propuseram diferentes teorias e debateram por anos sugerindo explicações para os comportamentos químicos dos complexos. Até que Werner validou sua hipótese resolvendo uma mistura racêmica de Jørgensen, provando a atividade ótica da molécula sem carbono, dessa forma sua teoria foi aceita. Posteriormente demais teorias refinaram e adaptaram os argumentos utilizados para o conhecimento da química dos compostos de coordenação (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014a).

Werner derrubou a teoria da valência primária, provando que a maior parte dos elementos possui dois tipos de valência que tende a satisfazer: a valência primária (número de oxidação) e a valência secundária (número de coordenação). Um exemplo é o composto  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ , onde os íons cloreto atuam satisfazendo a valência primária do metal e as seis moléculas de amônia como valência secundária, formando ligações coordenadas com o íon  $\text{Co}^{3+}$ , originando o complexo (UFMG, [s.d.]). Com a expansão do conceito tradicional de valência fixa, a esfera interna de coordenação desses compostos fugia do rigor estabelecido na época e era visto como algo complexo, o que contribuiu para a denominação dos compostos de coordenação como “complexos” (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014b).

A formação de compostos de coordenação ocorre quando uma base de Lewis (íon ou molécula) conhecidos como ligantes, se liga ao átomo ou íon central (ácido de Lewis). Cada ligante possui pelo menos um par de elétrons livres com o qual se liga ao metal formando os complexos (UFMG, [s.d.]). O número de ligantes depende do tamanho do átomo metálico central, da identidade dos ligantes e das interações eletrônicas. Porém os complexos de íons metálicos com números de coordenação 4, 5 e 6 são a classe mais numerosa, incluindo a maior parte dos complexos (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014a).

A riqueza da química da coordenação é aumentada pela variedade de geometria que os seus compostos podem adotar, as mais comuns são octaédricas, tetraédricas e quadrado-planar, dentre essas ainda podem haver distorções. Algumas outras também são conhecidas e dependem do número de ligantes do centro metálico (ATKINS; JONES, 2012).

## 1.5 VANÁDIO <sup>23</sup>

O Vanádio é o terceiro metal da primeira série de transição, seu número atômico é 23, possui coloração acinzentada/prateada, e tem dureza média (PEDERSEN, 2017; SMITH; ORVIG; BULKIN, [s.d.]). Faz parte do grupo 5 da tabela periódica tendo sua configuração eletrônica [Ar] 3d<sup>3</sup>4s<sup>2</sup>, seus estados de oxidação variam de -1 a +5, são muito coloridos, incluindo roxo, verde, azul e amarelo, conhecidos na química inorgânica. Em temperatura ambiente é sólido e resistente a corrosão. Possui dois isótopos estáveis, <sup>50</sup>V e <sup>51</sup>V. Seu ponto de fusão é de aproximadamente 1717 °C a 1910 °C e de ebulição próximo aos 3000 - 3400 °C (CHEMSPIDER - SEARCH AND SHARE CHEMISTRY, [s.d.]).

Embora seja um metal menos conhecido, é bastante valioso na indústria manufatureira devido às suas qualidades maleáveis, dúcteis e resistentes à corrosão. Sua obtenção ocorre através de minerais como a magnetita, vanadinita (Figura 6), carnotita e patronita. Também pode ser encontrado em rocha fosfática e alguns óleos brutos (PEDERSEN, 2017; SMITH; ORVIG; BULKIN, [s.d.]).

**Figura 7** – Mineral vanadinita (Pb<sub>5</sub>(VO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>Cl), fonte de vanádio e chumbo.



**Fonte:** Imagens da tabela periódica (<https://imagens.tabelaperiodica.org/categoria/vanadio/> Acesso em: 07 fev. 2023.).

Tem-se dados que sua descoberta ocorreu duas vezes: a primeira em 1801, Andrés Manuel del Rio, professor de mineralogia na Cidade do México, descobriu-o em um espécime de vanadita. Ele enviou amostras do elemento (que ele chamou de eritrônio) junto com uma carta descrevendo seus métodos ao Instituto de França para inspeção e

confirmação, porém ocorreu um incidente onde o professor acabou falecendo e o elemento não foi oficialmente reconhecido (PEDERSEN, 2017; SMITH; ORVIG; BULKIN, [s.d.]). A “segunda descoberta” foi em 1830 por Nils Gabriel Sefström e Jöns Jacob Berzelius, em um minério de ferro na região da Suécia; foi aí que nominaram o novo elemento de vanádio, em homenagem a deusa da beleza Vanadis. Cerca de um ano depois, em 1831, Friedrich Wöhler, um químico alemão e aluno de Berzelius, identificou o vanádio como sendo o elemento eritrônio descrito por del Rio anteriormente (FERREIRA, 2019; PEIXOTO, 2006).

O vanádio não é um elemento muito conhecido, é chamado até de elemento misterioso por alguns, do que se conhece, esse metal está presente em vários organismos vivos e até em nós seres humanos, porém em doses muito pequenas, pois há possibilidade de toxicidade para o corpo em doses maiores, que variam de  $1,00 \times 10^{-3}$  mg/kg – dia a  $9,00 \cdot 10^{-3}$  mg/kg – dia dependendo do composto em que o metal está participando (THE RISK ASSESSMENT INFORMATION SYSTEM, 2022). Porém outros estudos dizem que o vanádio tem efeitos significativos no crescimento celular, processos redox e de sinalização, bem como na função enzimática; e pode ser encontrado em pequenas quantidades em muitos tipos de alimentos, incluindo cogumelos, pimenta preta, salsa, endro, marisco, cerveja, vinho e grãos (PEDERSEN, 2017; “Periodic Table - Vanadium”, [s.d.]; SMITH; ORVIG; BULKIN, [s.d.]).

Por ter essa certa toxicidade, poucos estudos sobre o Vanádio envolveram humanos (a maioria foi realizada em animais), portanto não é recomendado para nenhuma doença ou condição de saúde específica; em especial, diferencia-se o caso do sulfato de vanadil ® um suplemento dietético muito controverso, popular na musculação e muitas vezes pode ser comprado em lojas de ginástica onde for permitido por lei (“Periodic Table - Vanadium”, [s.d.]).

Em raras pesquisas que aconteceram com humanos foi descoberta certa eficiência do metal contra a diabetes, a primeira publicação envolvendo o assunto foi em 1899 na La Presse Médicale, onde o estudo com três pessoas diabéticas, mostrava a propriedade do ânion vanadato ser um imitador de fosfato, utilizado como sonda das enzimas que transferem fosfatos na sinalização celular - as fosfatases e quinases. Assim, seria esperado que o vanádio mostre muitas propriedades biológicas interessantes resultantes dessa atividade, entre as quais sua capacidade de aumentar a ação da insulina, o principal hormônio do diabetes mellitus. O vanádio não age na ausência completa de insulina -

portanto, é um potenciador e não um imitador da insulina (“Periodic Table - Vanadium”, [s.d.]).

Em 1996 outro estudo foi publicado na revista médica *Metabolism*, na pesquisa oito pessoas com diabetes tipo 2 receberam suplementos de vanádio por 30 dias. De forma geral, os resultados mostraram sucessos na redução dos níveis de açúcar no sangue tendo poucos efeitos colaterais. Durante a primeira semana, seis dos oito participantes apresentaram alguns problemas gastrointestinais, contudo esses efeitos colaterais desapareceram com o uso contínuo da droga (“Periodic Table - Vanadium”, [s.d.]; SMITH; ORVIG; BULKIN, [s.d.]). Mais recentemente, o complexo oxidovanádio (IV) centrossimétrico  $\{(Et_3NH)_2[VO(OH_2)(ox)]_2(\mu-ox)\}$  sintetizado, teve resultados promissores, que sugeriram uma melhor investigação do produto em estudos antidiabéticos adicionais; pois, houve dificuldades em ensaios com medicamentos na fase de testes, devido a sua toxicidade (BAPTISTELLA et al., 2021). Outro trabalho, um estudo de caso com uma população chinesa, demonstrou que os níveis plasmáticos de vanádio e diabetes tipo 2 estavam inversamente relacionados, o que significa que indivíduos com maiores concentrações plasmáticas de vanádio eram significativamente menos propensos a desenvolver a doença (WANG et al., 2014). Há uma variedade de compostos de coordenação do metal que agem como miméticos de insulina, porém ainda não foi encontrada uma alternativa que pode ser utilizada em seres humanos sem causar efeitos tóxicos, portanto as pesquisas com vanádio ainda precisam de mais atenção.

Alguns compostos de coordenação também empregam o vanádio como centro metálico com um direcionamento para tratamento de outras doenças e aplicações biológicas. No trabalho de DANKHOFF *et al.* (2019), foi sintetizado um novo complexo de vanádio (IV) [bis(trietilamonio)tris[1,1-bis(indol-3-il)-1-(3,4-catecolato)metano]vanadato(IV)] e investigado quanto a sua inibição em células tumorais de doenças cancerígenas, que mostrou uma atividade antiproliferativa significativa contra várias linhagens.

Outras pesquisas importantes, envolvem compostos de vanádio como uma alternativa no tratamento de câncer. A exemplo, uma nova rota sintética foi desenvolvida e o produto identificado como  $(NH_4)_2V_3O_8$ , e ainda obtidos cristais identificados como  $[V_{15}O_{36}(Cl)]^{6-}$  foram testados na alquilação do DNA (NUNES et al., 2012).

Por ser um metal de transição leve, cerca de 80% do vanádio produzido é usado como aditivo de aço, pois as ligas de aço-vanádio são muito resistentes. Menos de 1% de vanádio torna o aço resistente a choques e vibrações. O primeiro uso industrial em larga



escala desse metal foi há um século nos aços usados para moldar o chassi do carro Ford Modelo T. Essas ligas de vanádio também são bastante usadas em reatores nucleares devido às baixas propriedades de absorção de nêutrons do Vanádio. No caso do óxido de vanádio, é usado como pigmento para cerâmica e vidro, como catalisador e na produção de ímãs supercondutores. Entre seus usos na história, tem-se também sua participação na fabricação de peças de artilharia portáteis e armaduras na Primeira Guerra Mundial (PEDERSEN, 2017; “Periodic Table - Vanadium”, [s.d.]).

Os complexos de vanádio também possuem estudos na área de eletroquímica, como na obtenção de um filme fibroso e eletrodos nanoestruturados através de nanopartículas de  $V_2O_5$ ; essas nanopartículas foram sintetizadas através de tratamento térmico, utilizando um óxido de vanádio do tipo bariandita (MENEZES et al., 2009).

## **1.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Nos dias atuais, um tema que vem preocupando a sociedade é a prevenção de doenças causadas por vírus e bactérias, e ainda a resistência que esses microrganismos desenvolvem frente aos fármacos tradicionais. Tendo esses problemas em mente, estudos são desenvolvidos com a tentativa de diminuir a disseminação de bactérias e vírus, eliminando contaminações em grande escala e também fazendo com que as mutações sofridas pelos microrganismos sejam contornadas pelo desenvolvimento de novos fármacos, ou aperfeiçoamento dos medicamentos já conhecidos (APPELT, 2017; ROCHA et al., 2011; SILVA et al., 2020).

Também é dada atenção a grande importância no aperfeiçoamento de medicamentos, pois, devido aos microrganismos estar em constante evolução e criando resistência aos fármacos convencionais, tem-se a ideia que ligando um metal a uma estrutura orgânica gera-se uma potencial substância para eliminação desses microrganismos (APPELT, 2017; ROCHA et al., 2011).

Um agente antimicrobiano é conceituado como compostos que possuem atividade antimicrobiana, ou seja, são drogas que possuem a capacidade de inibir o crescimento de microorganismos, portanto são indicadas para o tratamento de infecções microbianas sensíveis (DA SILVA, [s.d.]; TIMENETSKY, [s.d.]).

Com relação as bactérias, elas são divididas em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas; a diferença é notada pela forma e cor adquirida pelas bactérias através do teste de Gram (MOREIRA; CARVALHO; FROTA, 2015). As bactérias que adquirem

cor azul são definidas como Gram-positivas e as de cor vermelha são as Gram-negativas. Além da coloração, o teste de Gram expressa diferentes características entre os dois grupos como: composição química, estrutura, permeabilidade da parede celular, fisiologia, metabolismo e patogenicidade (BUSH, 2021; ESTRELA; PÉCOR, 1997). Nas bactérias Gram-negativas, a parede celular é quimicamente mais complexa, pois possui mais aminoácidos e lipídeos quando comparada a parede das bactérias Gram-positivas. No caso das negativas a fração de lipopolissacarídeo externa determina sua toxigenicidade e antigenicidade, enquanto as positivas possuem como porção característica os ácidos teicoicos (NOGUEIRA; MIGUEL, 2013).

Algumas drogas já são amplamente conhecidas por atuarem na inibição dos microrganismos, os agentes antimicrobianos podem ser divididos em aqueles obtidos de microrganismo, os antibióticos e os obtidos através de compostos químicos sintéticos e semissintéticos, os quimioterápicos. Os antimicrobianos podem ser agrupados em algumas classes: betalactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclina, rifamicinas, macrolídeos, cloranfenicol, quinolônicos, sulfonamidas, trimetropim e metronidazol (TIMENETSKY, [s.d.]). Duas dessas classes são citadas nesse trabalho, as tetraciclina e cloranfenicol.

As tetraciclina são antimicrobianas bacteriostáticas que atuam basicamente na inibição da incorporação de aminoácidos na cadeia peptídica do RNAt. O cloranfenicol possui largo espectro de ação (bactérias Gram positivas e Gram negativas). Basicamente a droga age inibindo o alongamento da cadeia peptídica; porém possui toxicidade sobre a medula óssea e um a cada 30.000 pacientes que recebem altas doses podem desenvolver anemia aplástica irreversível (TIMENETSKY, [s.d.]).

Com relação aos fungos, o fluconazol é o antifúngico mais utilizado atualmente (SCHIAVON, 2022); porém o medicamento tem uma considerável taxa de toxicidade e não consegue atuar sob todas as espécies de fungos, sua eficácia era considerável contra as espécies de *Candida*, mas já há evidências de algumas que são resistentes ao tratamento com essa droga (NOSSIG, 2018).

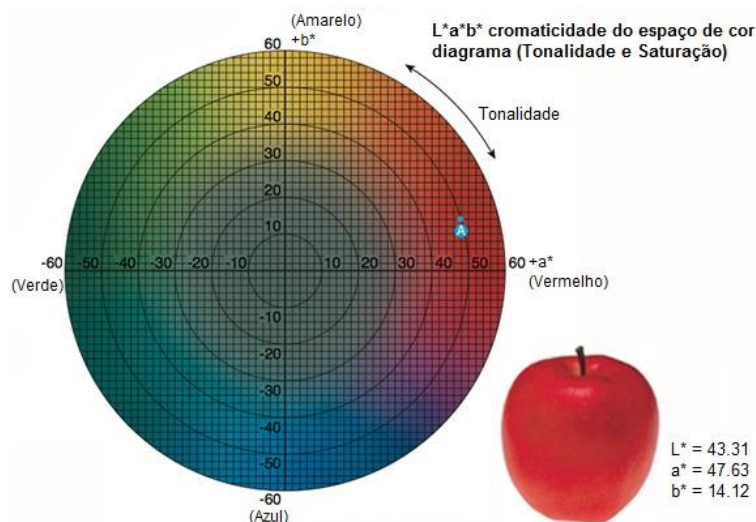
Existem vários métodos conhecidos para testar a eficácia de compostos na ação antimicrobiana, dois deles foram utilizados nesse trabalho, o teste de disco de difusão, o qual foi descrito em 1966, sendo considerado um dos métodos de sensibilidade mais simples e confiável. O teste consiste na dispersão de discos de antimicrobianos sobre a placa de ágar e do inóculo do microrganismo, o resultado obtido é de forma qualitativa e na maioria das situações é suficiente para orientar a escolha terapêutica (ANVISA, 2008).

E outro exemplo de teste de susceptibilidade é o de concentração inibitória mínima (CIM) em que é investigada a menor concentração capaz de inibir o crescimento do microrganismo testado, essa técnica tem a vantagem de ser quantitativa porém há um maior trabalho quanto a sua preparação, que necessitada de uma maior quantidade reagentes, vidraria e a possibilidade de erro na preparação das concentrações, por ser um trabalho inteiramente manual (ANVISA, 2008).

## 1.7 COLORIMETRIA

Primeiramente, definindo o que é cor: “A cor é uma questão de percepção e interpretação subjetiva (KONICA MINOLTA, [s.d.]). O olho humano é capaz de perceber várias cores, porém a percepção de cores para cada indivíduo pode ser diferente e essas diferenças podem resultar em problemas, principalmente quando se fala de produção ou reprodução de produtos por fabricante e fornecedores. Então, para facilitar esse processo foram criados sistemas para uniformização e padronização das cores, um deles é o CIE  $L^* a^* b^*$  (Figura 8), desenvolvido pela Commission Internationale de l’Eclairage, uma organização sem fins lucrativos considerada como a autoridade na ciência de luz e cor (KONICA MINOLTA, [s.d.]). Essa medição é realizada por colorímetros através de um sensor “tristímulus”, que é baseado nas cores primárias: vermelho, verde e azul. Então as medidas obtidas fornecem a quantidade desses três componentes presentes na luz refletida ou transmitida por um objeto, que são utilizados para analisar os atributos da cor (KONICA MINOLTA, [s.d.]).

**Figura 8** – Quadrantes de cores do sistema CIE  $L^* a^* b^*$ .



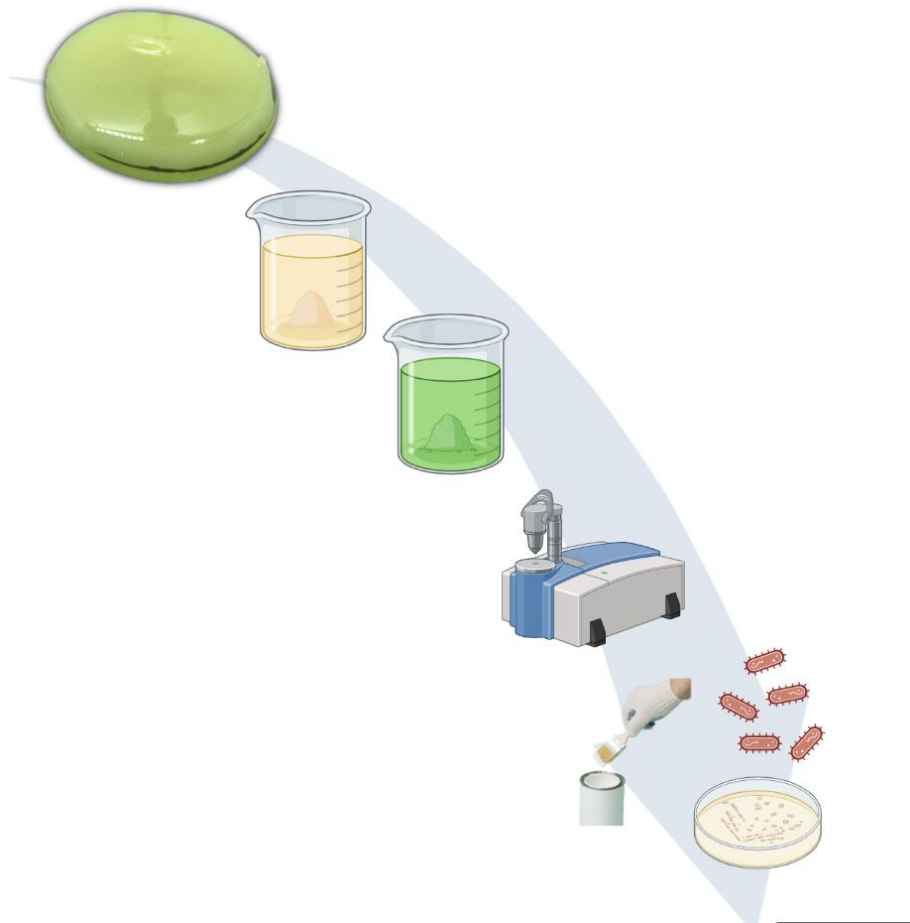
**Fonte:** Konica Minolta. (<https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/> Acesso em 17 fev. 2023.)

A análise colorimétrica realizada utilizando os parâmetros do espaço CIE  $L^* a^* b^*$  consiste em uma representação numérica para expressar uma coloração, e atualmente está entre os mais populares espaços de cores uniformes usados para avaliar cores (“Entendendo o Espaço de Cor  $L^* a^* b^*$ ”, [s.d.]).

O método permite a avaliação da luminosidade (L), matiz (h) e croma (C) entre amostras de cores puras ou dispersas em tinta ou outro dispersante. Os parâmetros  $L^* a^* b^*$  representam a luminosidade (L=100 para branco e 0 para preto), “a” positivo para cor vermelha, “a” negativo para verde; “b” positivo para amarelo e “b” negativo para azul.

# Capítulo 2

## Objetivos

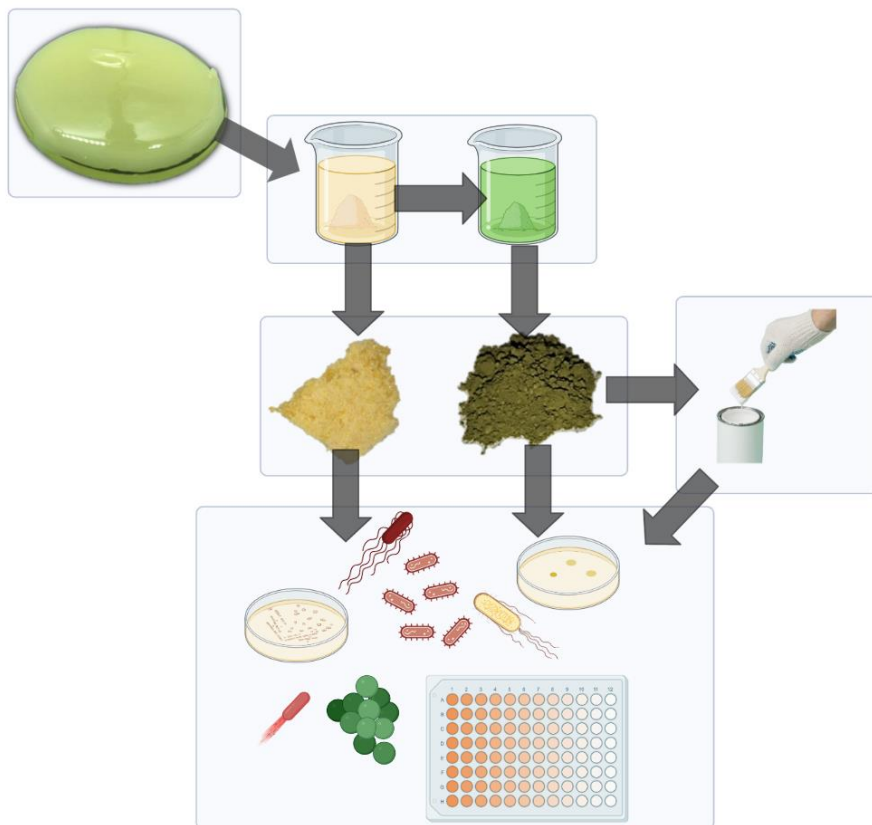


## CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

- Sintetizar, caracterizar e aplicar um complexo de vanádio com ligante abietato ( $C_{20}H_{29}O_2$ )<sup>-</sup> através de uma síntese mais barata e viável, com a finalidade de aplicação antimicrobiana.
  
- Extrair o abietato da resina de *Pinus* através da reação de salificação do ácido abiético com hidróxido de sódio; e posteriormente utilizá-lo como ligante;
- Sintetizar o complexo metálico com vanádio, a partir do ligante abietato;
- Caracterizar os compostos obtidos através de técnicas estruturais, espectroscópicas e composicional;
- Verificar a atividade do complexo sintetizado em testes antibacterianos e antifúngicos por diferentes métodos;
- Dispersar o complexo na forma sólida em tinta comercial e realizar testes de ação antimicrobiana;
- Promover uma síntese mais barata e viável, também buscando a menor geração de resíduos descartados.

# Capítulo 3

## Parte experimental



## CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1.1 Reagentes

Os reagentes foram utilizados conforme recebido do fornecedor, sem tratamento prévio. Os reagentes foram: Hidróxido de sódio (NaOH; Neon®, P.A); Cloreto de vanádio ( $VCl_3 \cdot xH_2O$ ; Sigma-Aldrich); Caldo e ágar Mueller Hinton (Kasvi); Caldo e ágar Sabourand dextrose (TM Media); Ágar potato dextrose (Himedia); Corante TTC (Sigma-Aldrich); Dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich); Etanol (Combustível, Posto); Tinta branca (Anjo Tintas); Resina de *Pinus* (produtor local).

#### 3.1.2 Obtenção do sal carboxílico (Na-abietato)

##### 3.1.2.1 Lavagem da resina de *Pinus*

A resina de *Pinus elliottii* var. *elliottii* foi cedida *in natura* por produtores da região de Guarapuava. Como estímulo para a árvore produzir e excretar a resina, os produtores costumam aplicar uma pasta de  $H_2SO_4$  nos cortes feitos no caule das árvores, por onde o material resinoso é coletado. Sendo assim, para remoção desse ácido foi realizada uma lavagem com água destilada sob agitação. A água de lavagem foi trocada até a solução atingir pH 7. Após a retirada de toda a água, a resina foi solubilizada em etanol combustível; e, posteriormente, filtrada a vácuo para a remoção de impurezas. Em seguida, o solvente foi recuperado em um conjunto de rota-evaporação.

##### 3.1.2.2 Síntese do ligante (Na-abietato)

Inicialmente foi preparada uma solução de NaOH (2,2g) e dissolvido em 50 mL água deionizada ( $1,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). A resina de *Pinus elliottii* foi pesada e dispersa em 10 mL de água e em seguida, foi adicionada a solução de NaOH sob a resina. A proporção utilizada foi de 1:1 (m/m). Em seguida, a solução foi mantida sob agitação e aquecimento ( $60^\circ\text{C}$ ), por aproximadamente 2 h, para que ocorra a redução do solvente e a formação de um sólido de coloração amarelada, ou seja, o ligante Na-abietato. Em seguida, o sal foi mantido na estufa ( $70^\circ\text{C}$ ) por cerca de 3 h para total secagem. A massa obtida do carboxilato de sódio foi de 14,5 g, ou seja, 90% de produto formado.



### 3.1.2.3 Recristalização do ligante

Após a preparação do sal carboxilato, foram realizadas as etapas envolvidas no processo de recristalização do Na-abietato. Para isso, 100 g de água aquecida (50 °C) foram saturados com 20 g do sal de sódio abietato. A solução foi mantida sob agitação por 12 h a temperatura ambiente. Em seguida, levada a geladeira (7 °C) por mais 12 h para formação do Na-abietato recristalizado. Com o ligante precipitado ao fundo do béquer, a solução foi escoada e filtrada em placa porosa, e o sólido foi mantido no dessecador sob vácuo por 48 h, ou até a secagem completa; a massa obtida foi de 12,8 g, com rendimento de 64%. O sólido foi macerado e armazenado em frasco de vidro; caracterizado e utilizado como precursor para a formação de complexos do tipo M-abietato. O sobrenadante (água da lavagem) apresenta uma forte coloração alaranjada, e foi mantido na geladeira para futuros estudos de suas propriedades.

### 3.1.3 Preparação do complexo de V-abietato

O cloreto de vanádio (0,3 g) foi solubilizado em 20 mL de água ultrapura formando uma solução de 0,095 mol L<sup>-1</sup>. Separadamente, preparou-se a solução do ligante (1,8 g; 30 mL de água; 0,19 mol L<sup>-1</sup>). As soluções foram misturadas sob agitação constante, e observou-se após alguns minutos a formação de um precipitado verde. Após 30 min, a solução foi filtrada em funil de placa porosa e o sólido seco em estufa (70 °C por 2 h), pulverizado em almofariz e pistilo e peneirado (malha mesh 60; abertura de 0,250 mm).

A massa obtida foi de 1,53 g e rendimento de 82%. Uma etapa de lavagem foi realizada, adicionando o complexo em água e mantendo em agitação por 4h, realizando novamente a filtração a vácuo na placa porosa e secando o produto na estufa, foi obtido uma massa de 0,90 g após a lavagem, com rendimento de 59%. Destaca-se que o complexo possui características hidrofóbicas portanto, não se dissolve em água, condição ideal para remover excessos do ligante Na-abietato. Posteriormente, foram realizadas as etapas de caracterizações e testes aplicados.

## 3.2 DISPERSÃO EM TINTA

A aplicação do complexo de vanádio em tinta foi realizada considerando a dispersão de 5; 10; e 15% em massa na tinta comercial branca, com adição de uma gota

de NaOH (2 mol L<sup>-1</sup>) para correção do pH a próximo de 10. Após o preparo, a tinta pigmentada foi utilizada para pintar blocos de gesso com a aplicação de duas demãos do produto. Para o cálculo da porcentagem, a massa total da tinta é considerada 100%, assim se obtêm a massa do composto a ser adicionada.

$$m_{\text{composto}} = \frac{\text{massa}_{\text{tinta}} \times \text{porcentagem}_{\text{composto}}}{100\%}$$

**Equação 1**

### **3.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO**

#### **3.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)**

Os espectros foram obtidos para compostos na forma sólida no equipamento Perkin Elmer, modelo Frontier com ATR, no comprimento de onda de 4000-650 cm<sup>-1</sup>, região do infravermelho médio. Equipamento instalado no LEM-204 do Centro de Ciências Moleculares e Nanotecnologia (CCMN, UNICENTRO).

#### **3.3.2 Espectrometria de massa (MS)**

Os espectros de massa foram obtidos para os compostos dissolvidos em solução de diclorometano e diluído em etanol, no equipamento Bruker Amazon Speed ETD de íons (MS-MS) com baixa resolução, em modo iônico negativo e ionização por eletrospray. Um fluxo de gás de secagem de 4 L min<sup>-1</sup> foi utilizado a uma temperatura de 200 °C, e o nitrogênio usado como gás nebulizador sob pressão de 7 psi e uma tensão de 4500 V. O espectro de massa foi obtido na Central de Análises do Instituto de Química, IQ-USP.

#### **3.3.3 Termogravimetria (TG)**

A curva de análise térmica foi obtida no equipamento da Perkin Elmer acoplado ao FTIR Perkin Elmer (Frontier), modelo STA 6000 em modo de Calorimetria Exploratória Diferencial Simultânea (STA/TG-DSC) em um intervalo de 4000-450 cm<sup>-1</sup>. A temperatura de aquecimento foi de 30 °C a 1000 °C com taxa de 10 °C/min, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 40 mL min<sup>-1</sup>. Equipamento instalado no LEM-206 do CCMN, UNICENTRO.

### **3.3.4 Difração de raios X (DRX)**

O difratograma de raios X foi obtido no equipamento da marca Bruker modelo D2Phaser com cátodo de cobre ( $\lambda=1,5418 \text{ \AA}$ ), potencial de 30 kV e corrente de 10 mA, em uma faixa angular de  $7^\circ$  a  $60^\circ$  ( $2\theta$ ), e incremento de  $0,2^\circ/\text{s}$ . Equipamento instalado no LEM-202 do CCMN, UNICENTRO.

### **3.3.5 Análise elementar (CHN)**

A análise química elementar foi realizada no analisador elementar da Perkin Elmer 2400 series II, atmosfera de oxigênio. Os dados foram obtidos na Central de Análises do Instituto de Química, IQ-USP.

### **3.3.6 Espectro eletrônico (UV-Vis)**

Os espectros foram obtidos no espectrômetro da Shimadzu, modelo UV 1800, com faixa de leitura de 900 a 200 nm. Equipamento instalado no LEM-204 do CCMN, UNICENTRO.

### **3.3.7 Colorimetria**

As medidas colorimétricas foram obtidas no Colorímetro portátil 3nh modelo NR60CP, com fonte de luz D65, utilizando o método CIE 1976  $L^*a^*b^*$ , onde  $L^*$  representa a luminosidade ( $L=0$  para preto e  $L=100$  para branco),  $a^*$  representa o eixo de cores verde (-) e vermelho (+), e  $b^*$  representa o eixo azul (-) e amarelo (+). Equipamento do Laboratório de Materiais e Compostos Inorgânicos (LabMat, UNICENTRO).

### **3.3.8 Potencial Zeta**

Os dados foram adquiridos com Zetasizer Nano Series da Malvern, modelo Nano-ZS90. Equipamento instalado no LEM-204 do CCMN, UNICENTRO.

### **3.3.9 Condutividade**

As medidas realizadas no equipamento Condutivímetro CG2500 da marca GEHAKA, com eletrodo para soluções orgânicas, em temperatura ambiente de  $23,3^\circ\text{C}$ . Equipamento pertencente à Agência de Inovação Tecnológica de Guarapuava (NOVATEC, UNICENTRO).

### 3.4 TESTES ANTIMICROBIANOS

O complexo V-abietato e o sal Na-abietato foram explorados quanto suas propriedades antimicrobianas através dos testes de concentração inibitória mínima (CIM); concentração bactericida mínima (CBM) e concentração fungicida mínima (CFM). As bactérias Gram-positivas testadas foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111); e Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 0028). Duas cepas fúngicas também foram utilizadas: *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Candida tropicalis* (ATCC 13803).

O inóculo microbiano foi ajustado na concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> usando uma escala de 0,5 McFarland (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016). A solução estoque do complexo foi preparada na concentração de 2 mmol L<sup>-1</sup> em dimetilsulfóxido (DMSO) e água, a concentração final de DMSO no inóculo foi de 6,25%. Testes anteriores foram realizados com o solvente DMSO e a concentração escolhida não é tóxica para os microrganismos (APPELT, 2017). O ligante foi dissolvido em etanol (10%) tendo como concentração final 2 mmol L<sup>-1</sup>.

Os métodos usados foram adaptados da Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARTS INSTITUTE (CLSI), 2003, 2008). Nesse trabalho, oito concentrações foram testadas, são elas: 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6 e 7,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### 3.4.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

O teste CIM realizado para fungos e bactérias segue métodos bastante similares, o que os difere são algumas particularidades das condições conforme apresentadas na Tabela 1.

O teste é iniciado adicionando 100  $\mu\text{L}$  do caldo de cultivo em uma placa de 96 poços (placa Elisa – Figura 9); em seguida, nos poços “A” foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  da solução estoque do composto e realizada a homogeneização do meio. Após isso, é realizada uma microdiluição seriada, transferindo 100  $\mu\text{L}$  dos poços “A” para os poços “B” e assim sucessivamente até os poços “H”. Com o meio preparado o inóculo de micro-organismo (20  $\mu\text{L}$ ) pode ser adicionado em todos os poços.

O controle negativo utilizado foi preparado com 100  $\mu\text{L}$  do caldo de cultivo e do solvente DMSO na concentração de 6,25%, para afirmar que o solvente não tem

capacidade de inibir o crescimento das bactérias. Então a placa é levada a incubação pelo tempo já citado anteriormente.

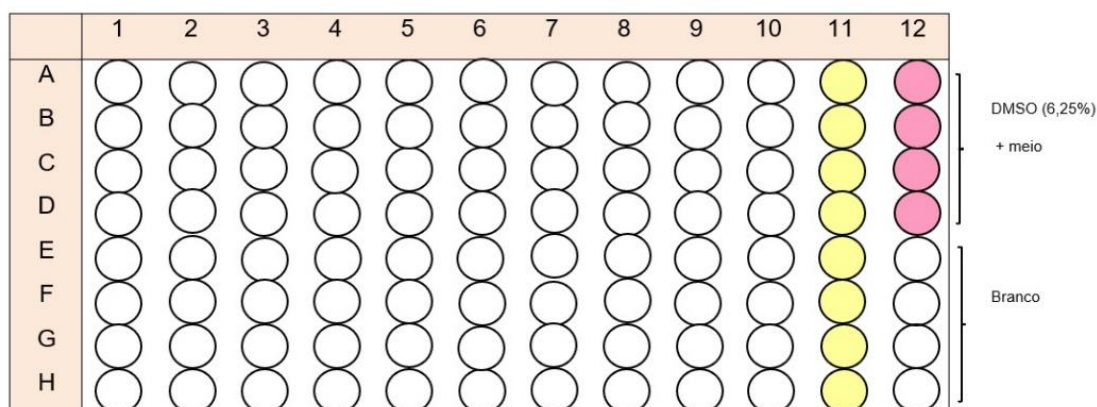
**Tabela 1** – Condições necessárias para realizar o teste CIM para bactérias e fungos.

Condições	Bactérias	Fungos
Meio de cultura	Caldo/ágar Mueller-Hinton (MH)	Caldo/ágar Sabourand Dextrose
Tempo de incubação	24 horas	48 horas
Temperatura de incubação	37 °C	28 °C
Controle positivo	Antibiótico Cloranfenicol (0,12%) /Tetraciclina ® (30 mcg)	Antibiótico Fluconazol (10%)

Fonte: Autora, 2023.

Após a incubação (24 ou 48 h), foi adicionado o corante TTC (2,3,5-trifeniltetrazólio; 0,125%) em todos os poços e a placa incubada por mais duas horas. A presença do corante indica a presença ou ausência de micro-organismos ativos no meio, servindo de avaliação para o teste CIM. A cor rosa/avermelhada, aponta a presença das bactérias/fungos ativas nos poços e a ausência de cor (poço incolor) indica que o micro-organismo foi inibido pelo composto testado.

**Figura 9** – Ilustração da placa Elisa utilizada no teste CIM.



Fonte: Adaptada de (APPELT et al., 2015).

### 3.4.2 Concentração bactericida mínima (CBM) e concentração fungicida mínima (CFM)

Se o composto apresentar inibição dos microrganismos, em qualquer concentração testada, no CIM pode-se realizar os testes de CBM e CFM. Dessa forma, o poço em que a bactéria/fungo foi inibida é transferido a uma placa de Petri, contendo ágar MH para bactéria ou ágar Sabourand dextrose para fungos, e incubado a 37 °C por 24 horas (bactérias) ou 28 °C por 48 horas (fungos). A interpretação desse teste é realizada através da observação do crescimento (bacteriostático/fungistático) ou não crescimento (bactericida/fungicida) de colônias.

## 3.5 DISCO DE DIFUSÃO

### 3.5.1 Solução

O segundo método para avaliar a atividade antibacteriana dos compostos (V-abietato e Na-abietato) foi o de disco de difusão. Nesse método são preparadas placas de Petri contendo o meio de cultivo e o inóculo de microrganismo a ser testado. Posteriormente são posicionados discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro na placa e adicionado 50 µL da solução do composto foi gotejada em cima de cada disco. Como controle positivo foi usado o antibiótico Cloranfenicol (0,12%) para o complexo, e discos prontos de Tetraciclina 30 mcg (marca SENSIBIODISC – CECON).

Logo após, as placas são incubadas a 37 °C por 24 horas. As cepas bacterianas testadas foram Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111); e Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 0028).

Os resultados são obtidos através da medição do halo em volta dos discos posicionados na placa de Petri utilizando um paquímetro. Os dados serão expressos como média (± erro padrão). As análises estatísticas foram realizadas usando o GraphPad Software Prisma versão 8.0, além do cálculo de índice de atividade, expresso pela Equação 2 (ADAM et al., 2022).

$$A.I = \frac{\text{halo do composto (mm)}}{\text{halo do antibiótico (mm)}} \times 100\%$$

**Equação 2**

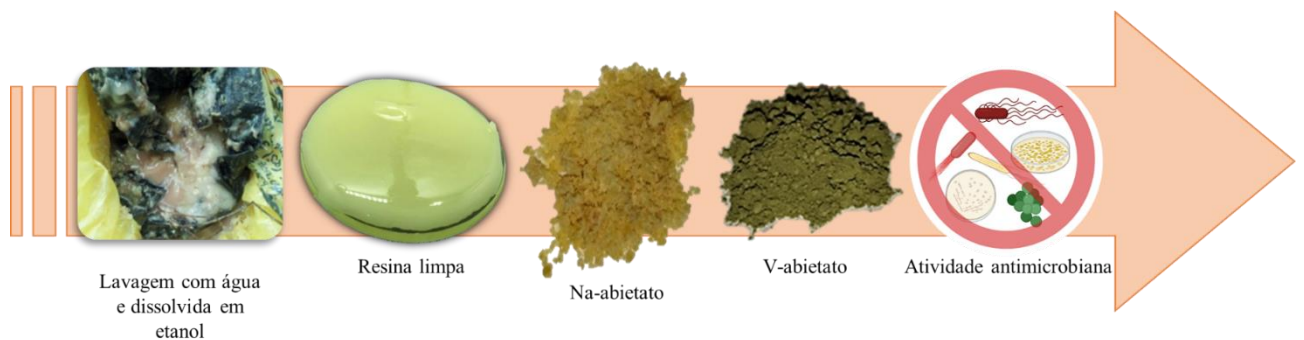
### 3.5.2 Dispersão em tinta

Nesse ensaio só foi usado o complexo de vanádio. Para tal, o pó foi disperso em tinta para testar sua aderência e propriedades antimicrobianas, com propósito de uma futura aplicação dessas tintas em locais que necessitam de uma maior proteção contra microrganismos. Então, foi preparada uma dispersão de concentração 5% de pigmento. Foram pesadas 14,25 g de tinta branca e 0,75 g de complexo, os dois foram homogeneizados em almofariz e pistilo, aplicados duas demãos da tinta em papel filtro e postos para secar em temperatura ambiente. Também foi preparado um papel filtro somente com tinta branca para usar como controle. Depois de secos, os papéis filtros foram recortados em discos de 6 mm de diâmetro para usar no teste de disco de difusão.

O procedimento segue o descrito no item 3.5.1; porém o controle utilizado foi o papel filtro apenas com a tinta branca. Nesse caso foram testadas as cepas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111); e Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 0028). E também o fungo *Candida tropicalis* (ATCC 13803), neste ensaio foi usado o meio com ágar de potato dextrose (SCHONS et al., 2022).

# Capítulo 4

## Resultados e Discussão





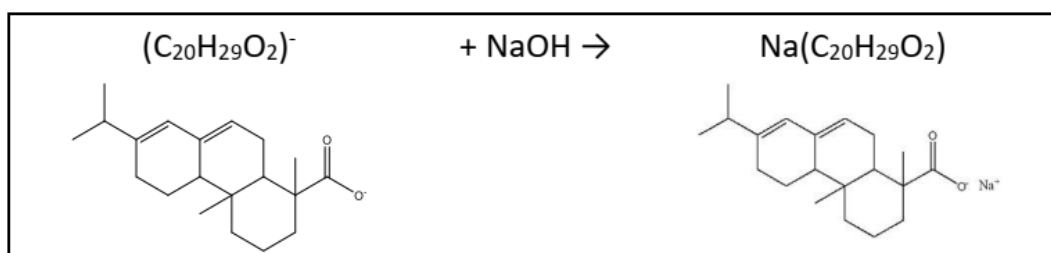
## CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho busca apresentar a síntese de um composto de coordenação, em que o vanádio atua como átomo metálico central e o abietato atua como ligante. Esse ligante provém da resina natural da árvore de *Pinus*, e é produzido no próprio laboratório (LabMat). Esse processo busca o uso alternativo de materiais renováveis, a mínima geração de resíduos e conseqüentemente o baixo custo da síntese em todas as etapas possíveis do trabalho.

### 4.1 O LIGANTE ABIETATO

O ligante abietato foi produzido e caracterizado pelo nosso grupo de pesquisa (LabMat) e está sendo utilizado em alguns trabalhos (CORREA et al., 2022a, 2022b; SCHONS et al., 2022, 2023). Ele é resultante da reação de salificação do ácido abiético desprotonado ( $C_{20}H_{29}O_2^-$ ), presente na resina de *Pinus*, com hidróxido de sódio, conforme mostrado na Figura 10.

**Figura 10** – Reação de formação do ligante Na-abietato.



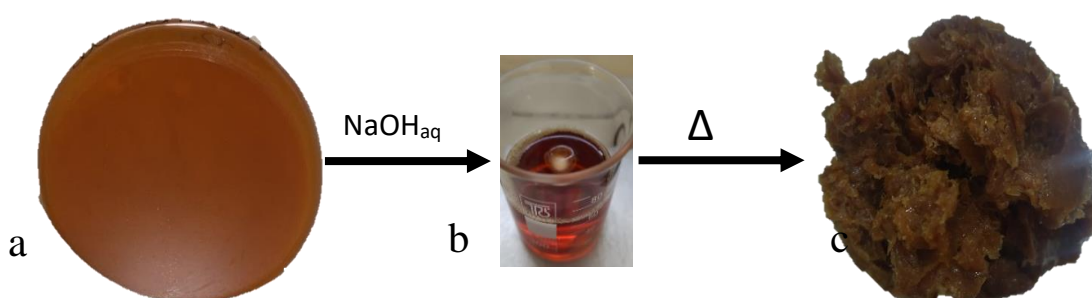
Fonte: Autora, 2023.

Primeiramente a resina passa por uma etapa de lavagem, pois, quando chega do campo de extração está com sujidades, como folhas, terra ou galhos de árvore, misturados a ela. A lavagem ocorre com água até a remoção das sujeiras e até a resina alcançar um pH 7; isso porque no momento da extração, é utilizado ácido sulfúrico nas feridas da árvore, para que ocorra uma maior produção de resina. Em seguida, a resina é solubilizada em etanol e filtrada para retirar menores contaminações; o próximo passo é a recuperação do solvente através do processo de rota evaporação, assim é obtida a resina limpa. A Figura 11, mostra a segunda etapa do procedimento que é a síntese do sal de sódio; primeiramente a resina limpa é homogeneizada com NaOH formando uma solução

alaranjada; após isso, é realizado o aquecimento até a evaporação do solvente, e obtido o sal de sódio que é seco em estufa.

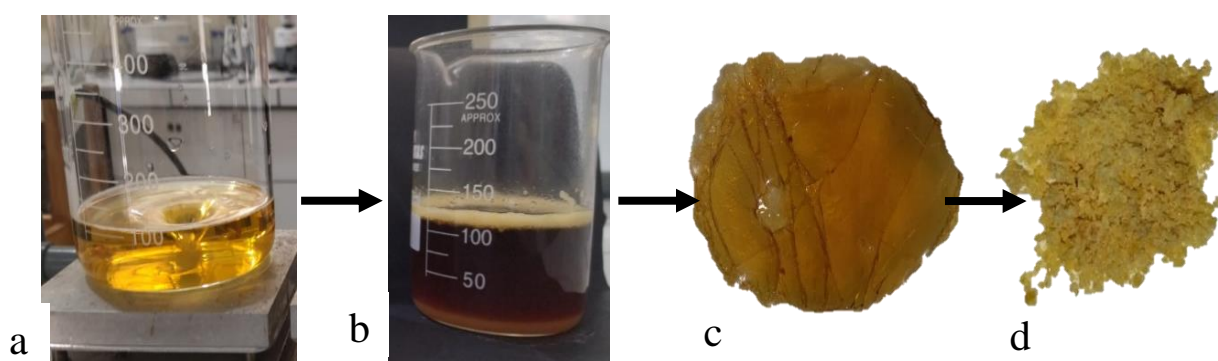
Posteriormente, a Figura 12 ilustra a terceira etapa do procedimento, onde o sal Na-abietato foi recristalizado. Para isso, foi utilizado 100 g de H<sub>2</sub>O e saturada com o 20 g do sal Na-abietato (Figura 12a). Em seguida, a solução foi mantida em repouso por 12 horas em repouso na geladeira (7 °C), para que o sal abietato de sódio decante no fundo do béquer (Figura 12b). Então o sobrenadante é removido e o sólido é levado para secar dessecador; na Figura 12c já pode ser observado o Na-abietato seco, e na Figura 12d ele foi macerado, e está pronto para ser caracterizado e utilizado como precursor de reações de formação de compostos de coordenação M-abietato.

**Figura 11** – Ilustração do processo de salificação da resina de *Pinus* com NaOH resultando no sal de Na-abietato.



Fonte: Autora, 2023.

**Figura 12** – Procedimento de purificação e recristalização do sal Na-abietato.



Fonte: Autora, 2023.

O processo de recristalização foi uma nova etapa adicionada por essa pesquisa; foram notadas diferenças visuais no sólido como a coloração mais clara, e também nas análises, mostrando espectros sem diversos ruídos presentes anteriormente, isso evidencia

que a etapa faz diferença na formação do sal de sódio; além de que a etapa de recristalização serve para deixar o material mais puro, eliminando possíveis contaminações na água e formando no precipitado apenas o ligante Na-abietato.

A síntese do complexo de vanádio, foi realizada sem condições controladas e a temperatura ambiente. Com as soluções de Na-abietato e  $VCl_3$  preparadas, as duas são misturadas e imediatamente é notada a formação de um precipitado; em seguida, a solução foi deixada em repouso para que a reação de formação do complexo ocorra totalmente. Após isso, ela foi filtrada e a coloração final obtida no sólido foi verde.

## 4.2 CARACTERIZAÇÕES

### 4.2.1 Espectro vibracional – FTIR

Nos espectros FTIR observaram-se as bandas características atribuídas à presença dos grupos funcionais esperados para a ligante abietato e indicando a formação da interação metal-ligante.

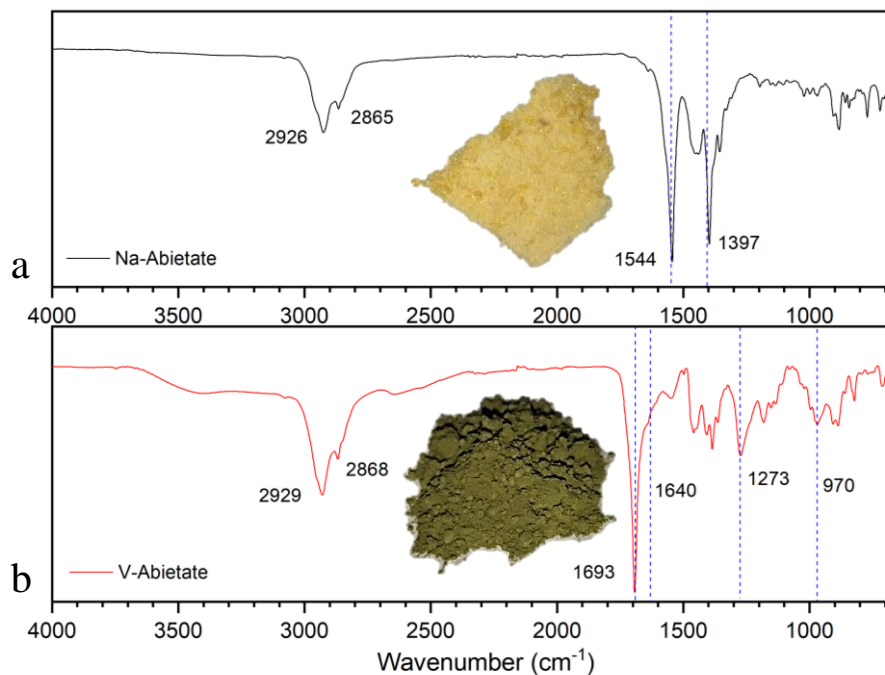
A Figura 13a corresponde ao ligante abietato, e as bandas em  $1544\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao  $\nu_{\text{assim}}(\text{COO}^-)$ , e em  $1397\text{ cm}^{-1}$ , são atribuídas ao  $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$ . Essas duas bandas sofrem deslocamento quando ocorre a coordenação, indicando o modo de ligação em relação ao íon metálico (PAVIA et al., 2010).

No espectro vibracional para V-abietato (Figura 13b), as bandas em  $2929\text{ cm}^{-1}$  e  $2868\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento C – H. As principais bandas a serem destacadas estão em  $1693\text{ cm}^{-1}$  e  $1640\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao alongamento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato presente no ligante. Essas bandas são típicas do grupo  $\text{COO}^-$ , mas pode variar de acordo com o ligante e o centro metálico (CORREA et al., 2022a). O pico característico da ligação  $V=O$  ocorre por volta de  $970\text{ cm}^{-1}$ . Picos na região de  $1273$  podem ser indicativos de ligação  $C=O$  (PAVIA et al., 2010).

O efeito de coordenação do ligante abietato é perceptível ao comparar os espectros de Na-abietato e V-abietato, as bandas sofrem deslocamento devido à coordenação do ligante com o íon vanádio. Além disso, o espectro FTIR confirma o modo de ligação causado pela diferença entre os modos de estiramento vibracional do grupo carboxilato,  $\nu_{\text{assim}}(\text{COO}^-)$  e  $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$ . A partir dos valores das posições das bandas, pode-se calcular a diferença ( $\Delta = (\nu_{\text{assim}}(\text{COO}^-) - \nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-))$ );  $\Delta = 147\text{ cm}^{-1}$  para Na-abietato; e  $\Delta = 53\text{ cm}^{-1}$  para V-abietato. Este valor, juntamente com demais informações, indica a presença de possíveis terminais de pontes bidentadas, pois de acordo com estudos, um

valor  $\Delta \leq 200 \text{ cm}^{-1}$  indica a presença de ligações bidentadas em moléculas de carboxilato (CORREA et al., 2022a; DATTA et al., 2015).

**Figura 13** – Espectros FTIR do (a) sal Na-abietato e do (b) complexo V-abietato; e seus sólidos em pó.



Fonte: Autora, 2023.

#### 4.2.2 Espectrometria de massas e análise elementar (CHN)

Os dados de análise elementar (CHN) detectaram as porcentagens esperadas para Na-abietato e V-abietato devido à maior fração de massa do complexo sendo o ligante orgânico abietato ( $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_2^-$ ;  $\text{MM} = 301,44 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $\text{C} = 79,68\%$  e  $\text{H} = 9,69\%$ ;  $\text{C}/\text{H}_{\text{teórico}} = 8,22$ ).

**Tabela 2** – Valores de CHN teóricos e experimentais para Na-abietato e V-abietato.

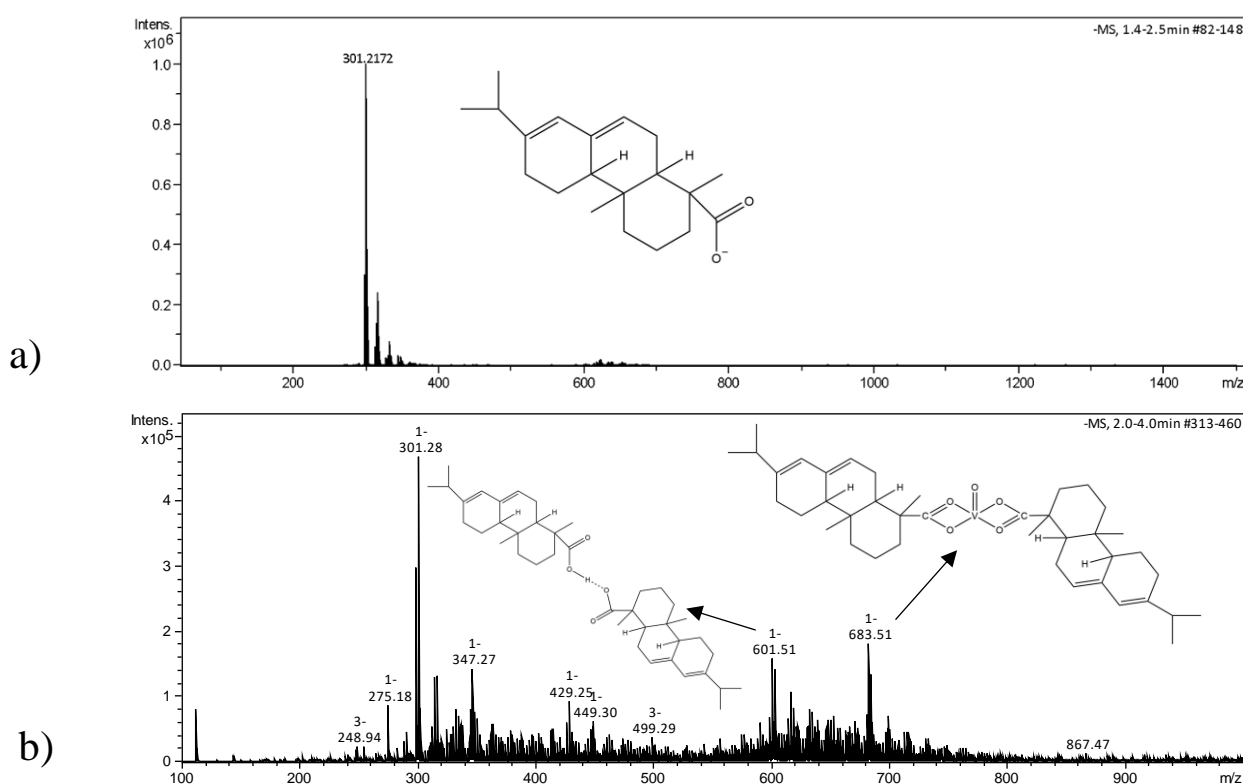
Amostra	Teórico			Experimental		
	C	H	C/H	C	H	C/H
Na-abietato	74,04	9,00	8,22	64,13	9,13	7,04
V-abietato	71,72	8,72	8,22	65,90	8,30	7,93

Fonte: Autora, 2023.

O espectro de massa do sal sódio abietato (Figura 14a) mostra apenas um pico em  $m/z$  -301,21, que corresponde a massa do ligante desprotonado ( $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_2^-$ ); na Figura

14b, é mostrado o espectro de massa do complexo V-abietato, ambos foram obtidos em solução de diclorometano (DCM) diluída em metanol. O pico mais intenso foi observado em  $m/z$  -301,28, correspondente ao mesmo pico obtido para o ligante, portanto, corresponde à massa molecular teórica do ácido abiético desprotonado. O segundo pico foi observado em  $m/z$  -601,51 em relação à uma forma dimérica de ácido abiético. O terceiro pico que se destaca em  $m/z$  -683,51 corresponde à formação do complexo, com a fórmula molecular sugerida  $[VO(C_{20}H_{29}O_2)_2]$ , onde o vanádio possui o NOX +4.

**Figura 14** –Espectros de massas (a) do ligante Na-abietato e (b) do complexo V-abietato.



Fonte: Autora, 2023.

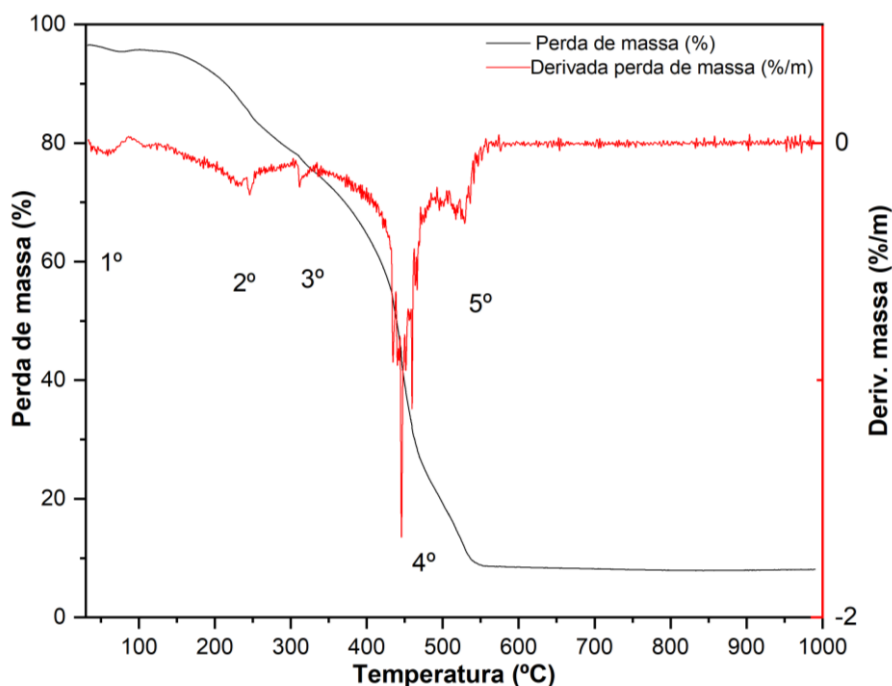
#### 4.2.3 Análise térmica (TG)

Devido à alta alcalinidade apresentada pela amostra do sal Na-abietato, não foi realizada sua análise térmica, por incompatibilidade da atmosfera gerada e da sua decomposição ser muito corrosiva.

Para amostra de V-abietato, a análise térmica consistiu em cinco estágios de perda de massa (Figura 15); considerando a fórmula molecular proposta  $[VO(C_{20}H_{29}O_2)_2]$ .

O primeiro estágio de massa ocorre com pico a 59,09 °C com 3,98% de perda de massa, atribuída à saída de moléculas de água de hidratação ( $n = 1,6$  moléculas) no complexo. A saída dos dois ligantes abietato correspondem a 85,8% de perda de massa, começando do segundo pico em 200 °C e finalizando no quinto pico em 600 °C. A perda total de massa foi de 89,7%, restando 8,44% de massa ao final da análise, referindo-se à formação de óxido de vanádio, possivelmente  $\text{VO}_2$ .

**Figura 15** – Termograma (TG/DTG) do complexo VO(IV)-bis(abietato).



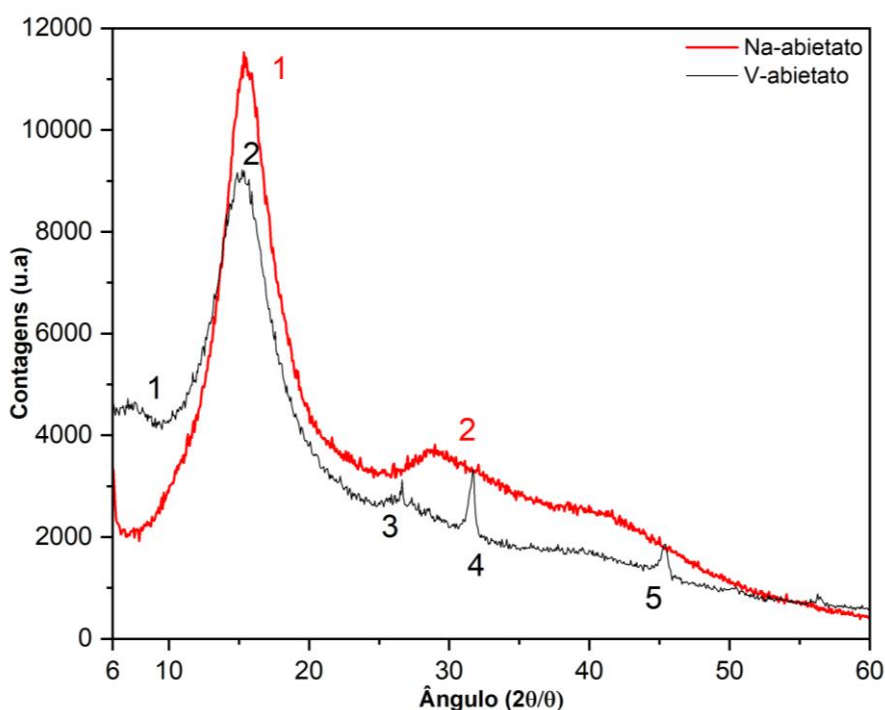
Fonte: Autora, 2023.

#### 4.2.4 Análise estrutural por difração de raios X (DRX)

A Figura 16 mostra os difratogramas de raios X, para o ligante Na-abietato após a recristalização e para o complexo V-abietato. A análise apresentou picos largos, indicando que a estrutura dos compostos tende a ser amorfa, ou seja, com pouca organização. Antes do processo de recristalização, o ligante apresentava três picos em uma estrutura característica de uma substância molecular não cristalina, com picos de difração amplos e de baixa intensidade (CORREA et al., 2022a; SCHONS et al., 2022). O grau de cristalinidade anteriormente, era de cerca de 52%, com um tamanho de cristalito de 21,9 Å.

Após a recristalização, o DRX mostra um pico intenso em  $2\theta$   $15,51^\circ$  e um valor  $d$  igual a  $5,7 \text{ \AA}$ ; e um segundo pico em  $2\theta$   $28,84^\circ$  e valor  $d$  igual a  $3,0 \text{ \AA}$  (Figura 16). No entanto, o tamanho do cristalito permanece em  $22,0 \text{ \AA}$  e a cristalinidade em  $57,4\%$ , considerando a faixa  $2\theta$  entre  $7^\circ$  e  $25^\circ$ . Estendendo-se para  $7^\circ$  e  $50^\circ$ , os valores do tamanho do cristalito são  $19,7 \text{ \AA}$  e a cristalinidade diminui para  $37,7\%$ . A recristalização favorece um pequeno aumento da cristalinidade sem, no entanto, alterar o tamanho do cristalito do sal Na-abietato.

**Figura 16** – Difratoograma do ligante Na-abietato recristalizado e do complexo V-abietato.



Fonte: Autora, 2023.

Para o complexo de vanádio, é evidente a presença de cinco picos. Em comparação com o ligante, isso demonstra que a coordenação do oxigênio ( $\text{COO}^-$ ) com o metal tende a deixar a estrutura do material mais organizada (PESSOA et al., 2006). Os picos são em  $2\theta$   $7,38^\circ$  ( $d=11,97 \text{ \AA}$ );  $2\theta$   $14,86^\circ$  ( $d=5,95 \text{ \AA}$ );  $2\theta$   $26,46^\circ$  ( $d=3,37 \text{ \AA}$ );  $2\theta$   $31,56^\circ$  ( $d=2,83 \text{ \AA}$ ) e o quinto pico em  $2\theta$   $45,29^\circ$  ( $d=2,00 \text{ \AA}$ ). Na Figura 16, nota-se a semelhança nos segundos picos de ambos compostos (ligante= $2\theta$   $15,77^\circ$  e complexo= $2\theta$   $14,86^\circ$ ) mostrando que há características mantidas nas duas estruturas.

Para V-abietato o grau de cristalinidade foi de  $78,7\%$  e com um tamanho de cristalito de  $22,7 \text{ \AA}$ ; na faixa de grau  $2\theta$  entre  $7^\circ$  e  $60^\circ$ , e fator  $k$  igual a 1. O aumento do

grau de cristalinidade do ligante para o complexo, sugere maior organização devido à formação de um composto de estrutura bem definida, de acordo com os dados do espectro de massa.

De acordo com o espectro massa e com a literatura (BERTO et al., 2019) a estrutura do complexo de V-abietato, neste caso, sempre (sem exceção) a estrutura é V=O (pirâmide quadrada), então os carboxilatos devem ser bidentados (SCHONS et al., 2022). Então a nomenclatura para o complexo será [oxovanádio(IV)-bis(abietato)].

#### 4.2.5 Espectroscopia eletrônica (Vis-Near)

O vanádio possui diversos estados de oxidação, de +1 a +5, mas forma compostos estáveis principalmente nos estados de oxidação +3, +4 e raramente em +5. O estado de oxidação mais estável é +4, no qual o vanádio forma o íon oxovanádio (+4) (vanadilo; VO<sup>2+</sup>) (RAYNER-CANHAM, GEOFF; OVERTON, 2015; SILVERSMIT et al., 2004; “Vanádio (V)”, [s.d.]).

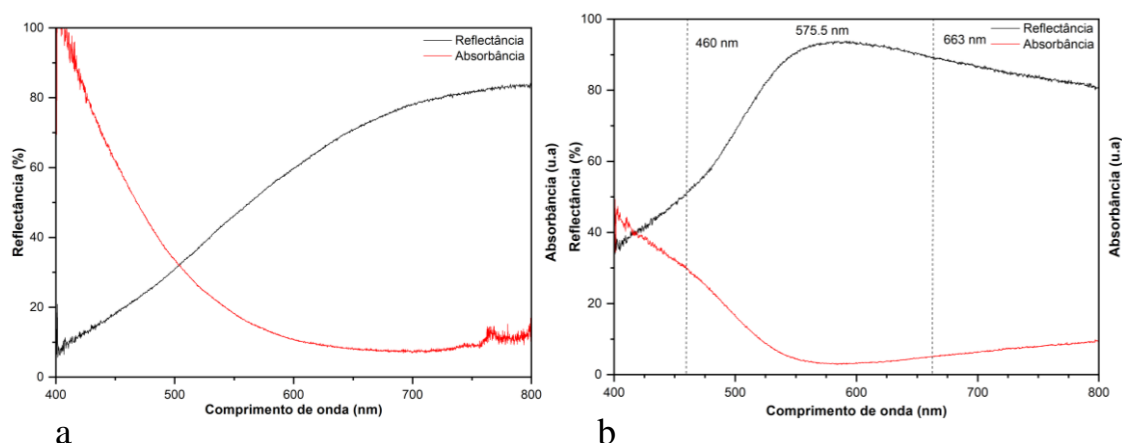
Sua colorações também variam conforme o estado de oxidação, em solução aquosa para +5 a cor é amarela; +4 uma coloração azulada; +3 cor verde e +2 cor violeta, e ainda possível a mistura dessas cores conforme a presença de mais de um estado de oxidação presente em um composto (RAYNER-CANHAM, GEOFF; OVERTON, 2015).

Os espectros eletrônicos mostrado na Figura 17, correspondem ao ligante Na-abietato e ao complexo V-abietato em pó, nos modos de absorbância e reflectância. No espectro de reflectância para o sódio (Figura 17a) a presença da banda iniciada em 600 nm a 700 nm, aproximadamente, são indicativos da combinação das cores amarela, laranja e vermelho; correspondente a mistura de componentes presentes na resina. Para o complexo, o espectro de reflectância mostra uma banda centrada em 575 nm, característica de uma amostra amarela esverdeada, possivelmente da mistura de números de oxidação e da cor precursora da resina ser amarelada.

Com o valor de reflectância diminuindo no sentido 650 - 900 nm é característico de um pigmento quente. Para o espectro de absorbância a banda iniciada aproximadamente em 460 nm é atribuída a transição eletrônica d-d do íon d<sup>1</sup> para o V<sup>+4</sup> (BERTO et al., 2019; SHRIVER et al., 2014).



**Figura 17** – Espectros de reflectância e absorbância do (a) Na-abietato e (b) V-abietato.



Fonte: Autora, 2023.

#### 4.2.6 Potencial Zeta

As medidas de pH e potencial zeta foram realizadas somente para o ligante dissolvido em água, em três concentrações diferentes. Na Tabela 3 estão descritos os resultados obtidos. Um pequeno aumento no pH e na condutividade pode ser visto com o aumento da concentração. A condutividade é atribuída à dissociação do sal nas espécies iônicas  $\text{Na}^+$  e  $(\text{abietato}^-)$ . O aumento da concentração de íons sódio é responsável pelo caráter alcalino do meio, tornando o pH maior que 9.

**Tabela 3** – Propriedades iônicas, pH e condutividade da solução de Na-abietato utilizando um pHmetro.

Massa (g)	Concentração ( $\text{g mol}^{-1}$ )	pH	Condutividade ( $\text{mS/cm}$ )
0,5	$1,54 \times 10^{-3}$	9,76	132,7
1,0	$3,08 \times 10^{-3}$	9,87	140,6
2,0	$6,16 \times 10^{-3}$	9,93	150,6

Fonte: Autora, 2023.

As medidas de potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz também foram realizadas. Para essas medições, a solução aquosa deve estar na concentração de  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Assim, a partir da solução  $1,54 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , foram realizadas diluições que atenderam aos parâmetros do espectrofotômetro. As medidas foram realizadas em triplicata (Tabela 4), sendo possível medir o diâmetro médio da partícula do abietato em torno de 243,42 nm. O potencial zeta teve média de -44,5 mV, com mobilidade média de  $-3,487 \mu\text{m cm/Vs}$ ; e condutividade de 0,1846 mS/cm. Os dados resumidos na Tabela 4 são consistentes com soluções salinas condutoras e corroboram os dados na Tabela 3.

**Tabela 4** – Medidas do potencial zeta e espalhamento dinâmico da luz.

Amostra	Tamanho (d. nm)	Potencial (mV)	Mobilidade ( $\mu\text{m cm/Vs}$ )	Condutividade (mS/cm)
1	266,50	-43,5	-3,410	0,183
2	257,70	-45,9	-3,602	0,184
3	206,08	-44,0	-3,451	0,187
<b>Média</b>	<b>243,42</b>	<b>-44,5</b>	<b>-3,487</b>	<b>0,1846</b>

Fonte: Autora, 2023.

#### 4.2.7 Condutividade

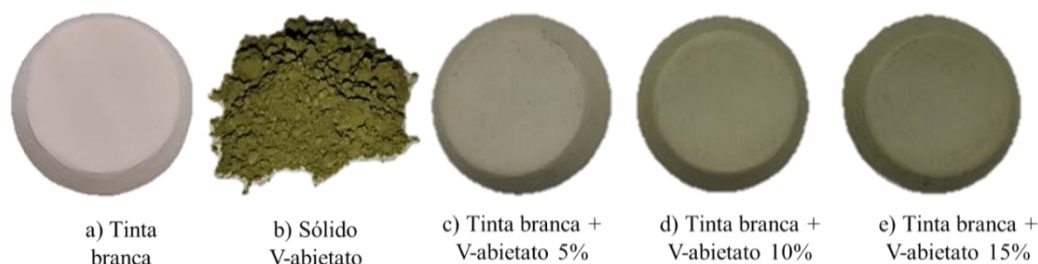
A análise de condutividade dos dois compostos (Na-abietato e V-abietato) foram medidas em um condutivímetro através de uma solução de DCM ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Os resultados obtidos tiveram uma média de  $3,67 \mu\text{S/cm}$  para Na-abietato e  $3,64 \mu\text{S/cm}$  para V-abietato nessa análise. Segundo a literatura, quando há valores de condutividade abaixo de  $12 \mu\text{S/cm}$  no solvente orgânico diclorometano, é considerada a formação de compostos neutros (APPELT, 2017; APPELT et al., 2021).

#### 4.2.8 Colorimetria

O sal Na-abietato é solúvel em água, desta forma não tem comportamento de pigmento. Enquanto que, o complexo de V-abietato foi analisado na forma de pó, e também disperso em tinta branca e tinta incolor. Os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 5 e Figura 18.

Como é observado na Tabela 5 as coordenadas  $a^*$  tendem ao valor negativo, isso é, à cor verde; e  $b^*$  possui valores positivos que tendem ao amarelo.

**Figura 18** – Imagens das amostras utilizadas na medida de colorimetria.



Fonte: Autora, 2023.

**Tabela 5** - Coordenadas obtidas para o complexo [Oxovanádio-*bis*(abietato)] através do sistema CIE L\*a\*b\*.

Amostra	L	a*	b*	C*	h	$\Delta L^*$	$\Delta C^*$	$\Delta H^*$
Tinta branca	77,69	0,82	7,18	7,23	83,48	-	-	-
VO(IV)-bis(abietato)	41,18	0,08	20,93	20,93	89,78	-	-	-
5% de pigmento	91,04	0,81	9,46	9,50	85,08	-13,35	-2,27	-1,6
10% de pigmento	82,93	-0,81	13,10	13,13	93,55	-5,24	-5,9	-10,07
15% de pigmento	84,04	-0,72	11,35	11,43	93,12	-6,35	-4,2	-9,64

Fonte: Autora, 2023.

#### 4.2.9 Solubilidade

O ligante sódio abietato apresenta características de um sólido higroscópico enquanto seu complexo de vanádio, pelo contrário, apresenta ser totalmente hidrofóbico; portanto apresenta solubilidade apenas frente a solventes orgânicos, de acordo com a Tabela 6.

**Tabela 6** – Solubilidade dos compostos.

Solvente	Na-abietato	V-abietato
Água	S	I
Metanol	S	P
Etanol	S	P
Éter Etilico	-	P
Diclorometano	S	S
Dimetilsulfóxido	S	S

Legenda: S: solúvel; P: parcialmente solúvel; I: insolúvel; - não foi realizado o teste.

Fonte: Autora, 2023.

### 4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

#### 4.3.1 Método CIM/CBM/CFM

O método de concentração inibitória mínima (CIM) consiste em realizar uma microdiluição seriada da solução a ser testada, em uma placa de 96 poços. Quando esse

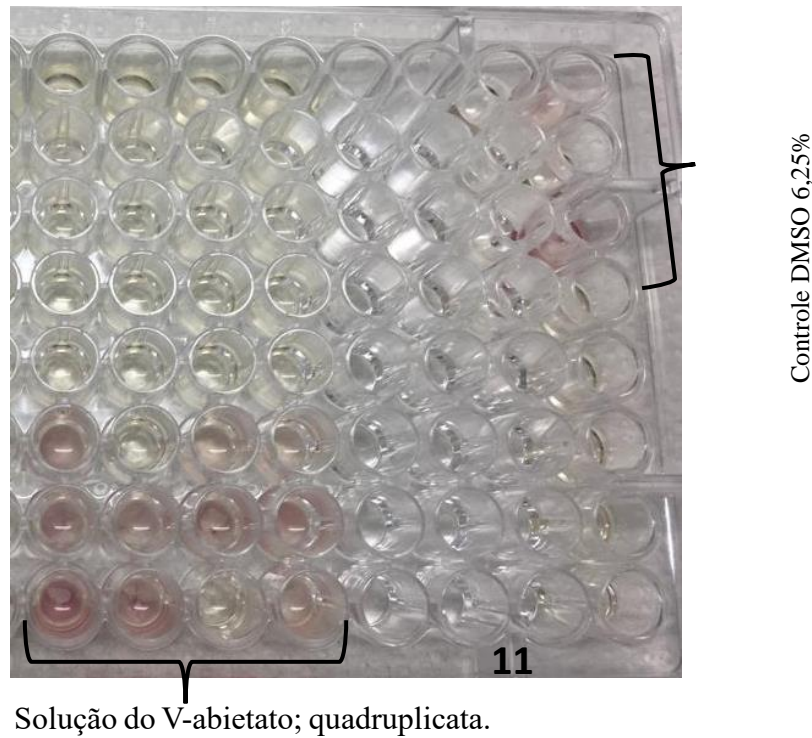
teste apresenta resultados positivos, o poço de menor concentração que inibiu o crescimento do microorganismo é transferido a uma placa de Petri, para realização do teste de concentração bactericida mínima (CBM) – para bactérias – ou concentração fungicida mínima (CFM) – para fungos.

Os compostos, ligante e complexo, foram testados contra quatro cepas bacterianas: Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111); e Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 0028). Ainda foi realizado os testes de CIM e CFM para as leveduras *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Candida tropicalis* (ATCC 13803). As concentrações testadas foram 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6 e 7,8  $\mu\text{mol/L}$ . Para o ligante, obteve-se resultado apenas para *L. monocytogenes*; *E. coli* e *C. albicans*, devido a problemas ocorridos com as outras cepas que seriam testadas. A Tabela 7 mostra os resultados dessas análises.

Em relação as bactérias, o complexo apresentou maior atividade contra as cepas Gram-positivas; inibindo o crescimento de *S. aureus* e *L. monocytogenes* na concentração de 62,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Por seguinte, inibiu o crescimento da *E. coli* em 125  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e *S. enterica* em 1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Já o ligante possuiu maior atividade para a Gram-negativa *E. coli* inibindo seu crescimento na concentração de 7,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , e alta concentração de inibição (1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) para *L. monocytogenes*.

Após o teste CIM, os poços que tiveram a atividade de inibição foram repicados para placas de Petri, porém houve crescimento de colônias bacterianas em todas as cepas para o complexo e para *E.coli* no caso do ligante; o Na-abietato inibiu somente a *L. monocytogenes*. Através desses resultados, agrega-se ao complexo característica bacteriostática; já para o ligante atribui-se caráter bacteriostático no caso da bactéria Gram-negativa *E. coli* e bactericida para a Gram-positiva *L. monocytogenes*.

**Figura 19** – Placa Elisa, teste CIM do complexo de V-abietato contra *S. aureus*.

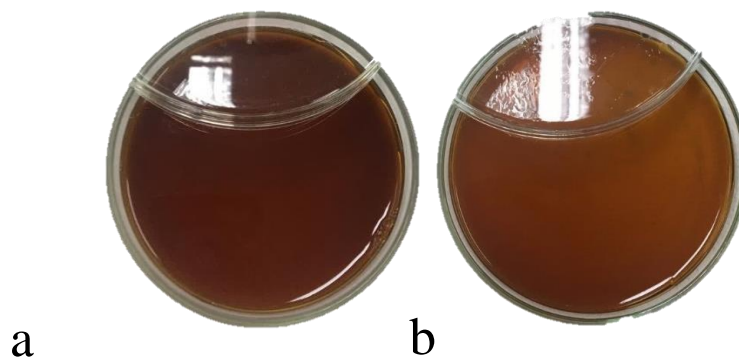


**Legenda:** 11=Solução do antibiótico Cloranfenicol (50 µg/mL).

**Fonte:** Autora, 2023.

Para as leveduras houve atividade de inibição dos compostos tanto no teste CIM como no CFM; Na-abietato inibiu o crescimento de colônias de *C. albicans* em 1000 µmol L<sup>-1</sup>, e o composto de vanádio apresentou uma ótima inibição na concentração de 15,6 µmol/L para *C. albicans*, e 62,5 µmol/L para *C. tropicalis*. Nesse caso como obteve-se resultados nos dois métodos testados, é atribuído o caráter fungicida para os compostos em relação as cepas testadas para cada caso.

**Figura 20** – Teste CBM do V-abietato contra (a) *C. albicans* e (b) *C. tropicalis*.



**Fonte:** Autora, 2023.

**Tabela 7** – Resultados dos testes CIM/CBM/CFM para o Na-abietato e V-abietato, apresentados em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

CEPAS	Solução de Na-abietato ( $2\text{mmol L}^{-1}$ ) ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )		Solução de V-abietato ( $2\text{mmol L}^{-1}$ ) ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )		
	Bactérias	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	62,5	*	
<i>Listeria monocytogenes</i>	1000	1000	62,5	*	
<i>Escherichia coli</i>	7,8	*	125	*	
<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	-	-	1000	*	

Fungos	CIM		CFM	
	CIM	CFM	CIM	CFM
<i>Candida albicans</i>	1000	1000	15,6	15,6
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	62,5	62,5

**Legenda:** - Não foi possível realizar o teste; \* Não apresentou resultados.

**Fonte:** Autora, 2023.

Outros trabalhos já mostram que o vanádio como centro metálico em complexos possui boas atividades antibacterianas, (KHOSRAVAN; ABDOLAH; EBRAHIMIPOUR, 2021) testaram o complexo de dióxido de vanádio(V) contra *S. aureus* e *E. coli* através do método CIM, o resultado de menor concentração para inibição das cepas foi de  $250\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para ambas.

No trabalho de (FARZANFAR et al., 2015) três complexos de óxido-vanádio(IV) e um de dióxido-vanádio(V) com ligantes derivados de tiourea foram sintetizados, e os testes de CIM mostraram atividade de inibição nas faixas de concentração:  $256$  a  $512\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para *E. coli*, e de  $64$  a  $512\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para *S. aureus*. O trabalho de (WAZALWAR et al., 2011) que utilizou o complexo de V(IV) mostra resultados de CIM com concentrações mais altas, de  $3125$  a  $4500\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para *S. aureus* e  $5500$  a  $9250\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para *E. coli*.

Em relação as leveduras, (WAZALWAR et al., 2011) mostra eficiência para quatro complexos de vanádio(IV) com ligantes base de Schiff, com CIM para *C. albicans* de  $6,125$  a  $14,25\ \mu\text{g/mL}$ . É importante ressaltar nesse trabalho, o resultado satisfatório de inibição para a cepa *C. tropicalis*. Atualmente, ela é considerada uma das cepas que apresenta resistência à terapia antifúngica, fato que causa preocupação, pois isso pode

aumentar os índices de infecções causadas por esta e outras cepas de cândida não-albicans (LIM et al., 2022; MELCHOR-MARTÍNEZ et al., 2021).

#### 4.3.2 Disco de difusão

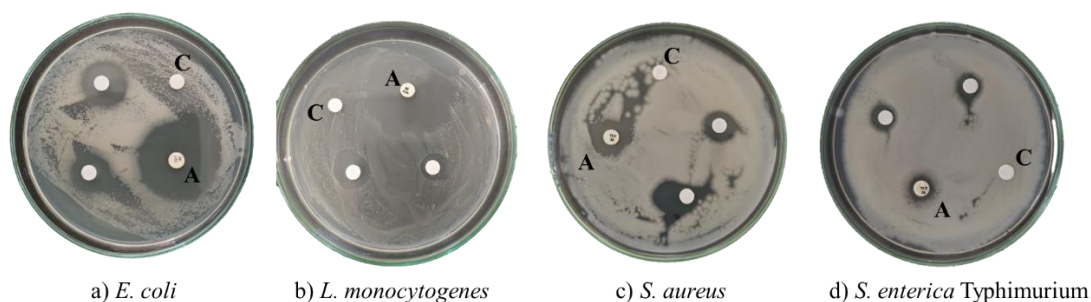
O teste de disco de difusão foi realizado para as soluções ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ) do sal Na-abietato em etanol 10% e para o complexo V-abietato em DMSO 6,25%, contra quatro cepas: *S.aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* e *S. enterica* Typhimurium; e os dois apresentaram resultados de inibição.

Para o sal de sódio abietato o maior halo medido foi  $11,31 \pm 0,64 \text{ mm}$  para a Gram-negativa *E. coli*; seguido por *L. monocytogenes* ( $10,08 \pm 0,46 \text{ mm}$ ); *S. aureus* ( $8,42 \pm 0,84 \text{ mm}$ ) e *S. enterica* Typhimurium ( $7,25 \pm 0,35 \text{ mm}$ ) (Figura 21).

A solução do complexo também apresentou um maior halo de inibição para *E.coli* ( $8,72 \pm 0,25 \text{ mm}$ ), seguido de *L. monocytogenes* ( $8,31 \pm 0,10 \text{ mm}$ ), *S. enterica* Typhimurium ( $7,10 \pm 0,25 \text{ mm}$ ) e *S. aureus* ( $7,00 \pm 0,25 \text{ mm}$ ) (Figura 22). Para controles foram utilizados a Tetraciclina nos testes do ligante e o Cloranfenicol para o complexo. Com as medidas obtidas dos halos de inibição foi possível calcular o índice de atividade (Tabela 8) dos compostos em relação as cepas testadas, através da Equação 2.

Para a cepa *E. coli* (Figura 21a) não foi possível posicionar o halo do antibiótico cloranfenicol na mesma placa que o teste, porém, este foi feito em outra placa de Petri para a medição do seu halo de inibição.

**Figura 21** – Teste com a solução de Na-abietato em etanol 10% ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ) através do método disco de difusão.



**Legenda:** “A” representa o antibiótico tetraciclina; “C” representa o controle de etanol 10%.

**Fonte:** Autora, 2023.

O cálculo de índice de atividade (Tabela 8) leva em consideração o controle positivo usado, ou seja, os antibióticos que já são comercialmente vendidos que possuem ação contra os microrganismos; com isso estabelecido, percebe-se que nem sempre o maior halo medido apresenta melhor percentual de atividade de inibição.

**Tabela 8** – Resultado do cálculo do índice de atividade para os compostos conforme a Equação 2; considerando o controle Tetraciclina para Na-abietato e Cloranfenicol para V-abietato.

Cepas	Na-abietato		V-abietato	
	Índice	Atividade Percentual (%)	Índice	Atividade percentual (%)
<i>S.aureus</i>	0,96	96	0,46	46
<i>L. monocytogenes</i>	0,45	45	0,81	81
<i>E. coli</i>	0,65	65	0,57	57
<i>S. enterica</i> Typhimurium	1,17	117	0,45	45

Fonte: Autora, 2023.

Através desse método também foi realizado o teste de atividade antimicrobiana com o complexo de V-abietato disperso em tinta branca na concentração de 5%; a mesma foi aplicada em papel filtro e depois recortado discos de 6 mm de diâmetro. O complexo apresentou poder de inibição para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e ainda para o fungo *C. tropicalis* (Figura 22). O melhor resultado obtido foi para a *E. coli* com um halo de  $10,88 \pm 0,13$  mm; em seguida *S. aureus* ( $8,81 \pm 0,26$  mm); *S. enterica* Typhimurium ( $8,13 \pm 0,07$  mm) e *L. monocytogenes* ( $7,70 \pm 0,12$  mm).

**Figura 22** - Teste com a solução de V-abietato em DMSO 6,25% ( $2 \text{ mmol L}^{-1}$ ) através do método disco de difusão.



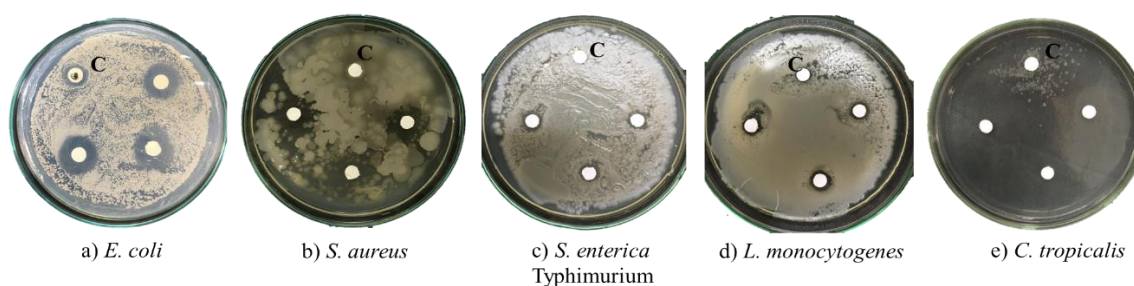
**Legenda:** “A” representa o antibiótico cloranfenicol; “C” representa o controle de DMSO 6,25%.

Fonte: Autora, 2023.



Para o fungo *C. tropicalis*, não houve crescimento de nenhuma colônia em 48 h, portanto não foi possível medir halo de inibição; somente depois de 96 h surgiu algumas colônias próximas ao disco de controle (papel filtro pintado somente com tinta branca) (Figura 23).

**Figura 23** – Halos de difusão para os discos pintados com a tinta branca contendo V-abietato (5%).



**Legenda:** “C” representa o controle (disco apenas com tinta branca).

**Fonte:** Autora, 2023.

O teste de disco de difusão com o complexo disperso em tinta, mostrou que o V-abietato mantém suas propriedades antimicrobianas também na fase sólida aplicada na tinta branca, esse resultado se mostrou ainda melhor para a cepa fúngica testada *C. tropicalis*, para qual não houve crescimento de colônias no tempo monitorado (96 h).

## 5 CONCLUSÕES

O presente trabalho teve seus objetivos alcançados, é possível concluir que a resina de *Pinus* é uma boa fonte de ácido abiético usado como precursor na formação do sal Na-abietato e posteriormente, esse usado como um ligante para a formação do complexo de oxovanádio(IV)*bis*-(abietato), ou simplificando V-abietato;

A etapa de recristalização do ligante, adicionada nesse trabalho, foi relevante para purificação do sal, observada no sólido e na melhoria dos espectros obtidos; além de ter um baixo custo, a resina rendeu uma boa quantidade de produto e as sínteses tiveram baixa geração de resíduos. As aplicações biológicas tiveram ótimos resultados para os dois compostos, contra quatro cepas bacterianas e duas fúngicas, testadas através de dois métodos bastante conhecidos e confiáveis.

O diferencial do trabalho é a aplicação do complexo de vanádio na tinta branca, com o objetivo de usá-la em pinturas e revestimento contendo propriedades antimicrobianas. Com o teste de disco de difusão realizado com a tinta pigmentada com o complexo, pode-se observar que o V-abietato continuou a inibir os microrganismos, mantendo suas propriedades biológicas e mostrando potencial de inibição no experimento realizado.

## 6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Uma das etapas futuras é continuar com o preparo de M-abietato, realizar sua caracterização, conhecer ainda mais suas propriedades e novas aplicações. Alguns metais já estão sendo considerados são o rutênio, prata e bismuto.

Desenvolver metodologia que consiga a formação de cristais, para a realização da técnica de difração de monocristais.

Procurar estabelecer um padrão utilizando ácido abiético comercial para usar como comparação com o ligante Na-abietato.

Avaliar os complexos sintetizados em testes *in vivo* usando como modelo biológico drosófilas.

Investigar demais propriedades biológicas que os compostos podem apresentar.

## 7 REFERÊNCIAS

- ADAM, M. S. S. et al. Effect of oxy-vanadium (IV) and oxy-zirconium (IV) ions in O,N-bidentate arylhydrazone complexes on their catalytic and biological potentials that supported via computerized usages. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 132, p. 104168, mar. 2022.
- AGUIAR, ANANDA VIRGINIA; DE SOUSA, VALDERES APARECIDA; SHIMIZU, J. Y. **Cultivo de Pinus**. Disponível em: <[https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistemasdeproducao16\\_1galceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaProducaoId=3715&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicoId=3](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao16_1galceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3715&p_r_p_-996514994_topicoId=3)>. Acesso em: 27 jan. 2023.
- ANVISA. **Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos**. Disponível em: <[https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede\\_rm/cursos/boas\\_praticas/modulo5/interpretacao.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/interpretacao.htm)>. Acesso em: 17 fev. 2023.
- APPELT, P. et al. Ruthenium (II) complexes containing 2-mercaptothiazolines as ligands and evaluation of their antimicrobial activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 436, p. 152–158, 2015.
- APPELT, P. **SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO (II) CONTENDO LIGANTES TIAZOLINAS**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2017.
- APPELT, P. et al. Synthesis, characterization,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR, X-ray structure and voltammetric study of 2-mercaptothiazolines and phosphines ruthenium(II) complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1246, p. 131262, 15 dez. 2021.
- ARESB/ASSOCIAÇÃO DOS RESINADORES DO BRASIL. **PREÇO MÉDIO RESINA**. Disponível em: <<https://www.aresb.com.br/portal/preco-medio-resina/>>.
- ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012.
- BALA, R. et al. Pyrazole-4-carboxylic Acids from Vanadium-catalyzed Chemical Transformation of Pyrazole-4-carbaldehydes. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 56, n. 6, p. 1787–1793, 2019.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, 1 abr. 2016.
- BAPTISTELLA, G. B. et al. An oxalate-bridged oxidovanadium(IV) binuclear complex that improves the in vitro cell uptake of a fluorescent glucose analog. **Polyhedron**, v. 198, p. 115071, 1 abr. 2021.
- BERTO, S. et al. Oxovanadium(IV) Coordination Compounds with Kojic Acid Derivatives in Aqueous Solution. **Molecules** 2019, Vol. 24, Page 3768, v. 24, n. 20, p. 3768, 19 out. 2019.
- BLANCO, M.; VILLAESCUSA, V. Use of NIR spectroscopy in the production of modified industrial resins. **Talanta**, v. 71, n. 3, p. 1333–1338, 28 fev. 2007.
- BUSH, L. M. **Considerações gerais sobre bactérias Gram-positivas - Infecções - Manual MSD Versão Saúde para a Família**. Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt-br/casa/infecções/infecções-bacterianas-bactérias-gram-positivas/considerações-gerais-sobre-bactérias-gram-positivas>>. Acesso em: 16 fev. 2023.
- CHEMSPIDER - SEARCH AND SHARE CHEMISTRY. **Vanadium**. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.22426.html>>. Acesso em: 7 fev. 2023.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for**

**Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.** Sixty Edit ed. . NCCLS document M7-A6, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, USA: [s.n.]. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts;** Third edit ed. Wayne, Pa, USA: [s.n.].

CORREA, J. D. S. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE EMULSÃO POLIÉSTER PROVENIENTE DE RESINA DE PINUS. **Ekp**, v. 13, n. 3, p. 1576–1580, 19 fev. 2017.

CORREA, J. S. et al. Ecofriendly synthesis of Zn-abietate complex derived from Pinus elliottii resin and its application as an antibacterial pigment against S. aureus and E. coli. **Dyes and Pigments**, v. 197, p. 109946, 1 jan. 2022a.

CORREA, J. S. et al. Experimental data for green synthesis of Zn-abietate complex from natural resin. **Data in Brief**, v. 40, p. 107776, fev. 2022b.

DA SILVA, E. B. **ANTIMICROBIANOS.** Disponível em: <<http://www.fmt.am.gov.br/manual/antimic.htm>>. Acesso em: 15 fev. 2023.

DA SILVA RODRIGUES-CORRÊA, K. C. et al. Dual allelopathic effects of subtropical slash pine (Pinus elliottii Engelm.) needles: Leads for using a large biomass reservoir. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 113–120, 1 dez. 2017.

DANKHOFF, K. et al. Anticancer properties of a new non-oxido vanadium(IV) complex with a catechol-modified 3,3'-diindolylmethane ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 194, p. 1–6, 1 maio 2019.

DATTA, C. et al. Novel water soluble neutral vanadium(IV)-antibiotic complex: Antioxidant, immunomodulatory and molecular docking studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 214–224, 2015.

DE LIMA SILVA, M. G. et al. Antibacterial effect and evaluation of the inhibitory effect against efflux pump in Staphylococcus aureus by abietic acid: In vitro and in silico assays. **Process Biochemistry**, v. 122, p. 363–372, 1 nov. 2022.

DEACON, G. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 33, n. 3, p. 227–250, out. 1980.

EMBRAPA, P. **Pinus.** Disponível em: <<https://www.embrapa.br/florestas/transferencia-de-tecnologia/pinus>>. Acesso em: 4 fev. 2023.

**Entendendo o Espaço de Cor L\*a\*b\*.** Disponível em: <<https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

ESTRELA, C.; PÉCORA, J. D. **Características da Citologia Bacteriana.** Disponível em: <<http://www.forp.usp.br/restauradora/calcio/citolog.htm>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

FARZANFAR, J. et al. Synthesis, characterization, X-ray crystal structure, DFT calculation and antibacterial activities of new vanadium(IV, V) complexes containing chelidamic acid and novel thiourea derivatives. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 147, p. 54–64, 1 jun. 2015.

FERREIRA, A. M. DA C. **Elementos Químicos - Vanádio.** Disponível em: <[https://www.crq4.org.br/tp150\\_vanadio](https://www.crq4.org.br/tp150_vanadio)>. Acesso em: 23 fev. 2023.

FLORESTAS, I. B. DE. **Reflorestamento de Pinus: vantagens e desvantagens -.** Disponível em: <<https://mercadoflorestal.com.br/artigos/reflorestamento-de-pinus-vantagens-e-desvantagens>>. Acesso em: 21 mar. 2023.

KHOSRAVAN, M.; ABDOLAH, L.; EBRAHIMIPOUR, S. Y. A novel anionic di-oxido vanadium(V) Schiff base complex: Synthesis, spectral characterization, X ray crystal structure, catalytic activity for the preparation of tetrahydro-4H-chromene derivatives and antibacterial properties. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 128, p. 108561, 1 jun. 2021.

KONICA MINOLTA. **Conceitos Básicos de Colorimetria - Konica Minolta Sensing**. Disponível em: <<https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/conceptos-basicos-de-colorimetria/>>. Acesso em: 17 fev. 2023a.

KONICA MINOLTA. **Entendendo o Espaço de Cor L\*a\*b\***. Disponível em: <<https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>>. Acesso em: 15 fev. 2023b.

LI, X. Q. et al. Abietic acid ameliorates psoriasis-like inflammation and modulates gut microbiota in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 272, p. 113934, maio 2021.

LIM, E. J. et al. Rationalisation of Antifungal Properties of  $\alpha$ -Helical Pore-Forming Peptide, Mastoparan B. **Molecules** 2022, Vol. 27, Page 1438, v. 27, n. 4, p. 1438, 21 fev. 2022.

LIMA, O. DE S. **PINUS: O PRODUTO ÓLEO RESINA NO BRASIL**. 1. ed. [s.l.] Associação dos Resinadores do Brasil, 2013.

MARTÍNEZ, M. et al. Synthesis and Biological Evaluation of Ru(II) and Pt(II) Complexes Bearing Carboxyl Groups as Potential Anticancer Targeted Drugs. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 22, p. 13679–13696, 20 nov. 2017.

MELCHOR-MARTÍNEZ, E. M. et al. Active Flavonoids from *Colubrina greggii* var. *greggii* S. Watson against Clinical Isolates of *Candida* spp. **Molecules** 2021, Vol. 26, Page 5760, v. 26, n. 19, p. 5760, 23 set. 2021.

MENEZES, W. G. et al. V2O5 nanoparticles obtained from a synthetic bariandite-like vanadium oxide: Synthesis, characterization and electrochemical behavior in an ionic liquid. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 337, n. 2, p. 586–593, 15 set. 2009.

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

MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. Química de coordenação I: estruturas e isômeros. In: **Química Inorgânica**. 6th. ed. São Paulo: Bookman, 2014b. p. 878.

MITIĆ, Z. S. et al. Comparative study of the essential oils of four *Pinus* species: Chemical composition, antimicrobial and insect larvicidal activity. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 55–62, 1 jan. 2018.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M. DE; FROTA, C. C. **Visualização bacteriana e colorações**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2015.

MOREIRA, J. P. et al. Ganho esperado na seleção de progênie de *Pinus elliottii* var. *elliottii* em idade precoce para produção de madeira. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 34, n. 78, 7 jul. 2014.

NOGUEIRA, J. M. DA R.; MIGUEL, L. DE F. S. Bacteriologia. In: **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. [s.l.] Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, 2013. p. 221–397.

NOSSIG, B. **Método mais eficiente na produção de antifúngicos é patenteado pela Auspin – Agência USP de Inovação**. Disponível em: <<https://www.inovacao.usp.br/metodo-mais-eficiente-de-producao-de-antifungicos-e-patenteado-pela-auspin/>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

NUNES, G. G. et al. **Synthesis, characterization and chemoprotective activity of polyoxovanadates against DNA alkylation**. *Journal of Inorganic Biochemistry*. **Anais...Elsevier**, 1 mar. 2012

PAVIA, D. L. et al. **Introdução a Espectroscopia**. 4th. ed. [s.l.] Cengage Learning, 2010.

PEDERSEN, T. **Facts about Vanadium**. Disponível em: <<https://www.livescience.com/29155-vanadium.html>>. Acesso em: 7 fev. 2023.

PEIXOTO, E. M. A. Vanádio. **QUÍMICA NOVA NA ESCOLA**, 2006.

**Periodic Table - Vanadium**. Disponível em: <<https://www.rsc.org/periodic-table/element/23/vanadium>>.

PESSOA, J. C. et al. Vanadium (IV and V) Complexes of Reduced Schiff Bases Derived from the Reaction of Aromatic o-Hydroxyaldehydes and Diamines Containing Carboxyl Groups. 2006.

RAYNER-CANHAM, GEOFF; OVERTON, T. **QUÍMICA INORGÂNICA DESCRITIVA**. 5. ed. [s.l: s.n.].

ROCHA, D. P. et al. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 111–118, 2011.

RUY, F.; BELEM, L. P. **ANALISE E PESQUISA DA VARIAÇÃO DE COR GARDNER EM COLOFONIA LIQUIDA TROPICAL**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.unimep.br/phpg/mostracademica/anais/8mostra/4/210.pdf>>.

SCALARONE, D.; LAZZARI, M.; CHIANTORE, O. Ageing behaviour and pyrolytic characterisation of diterpenic resins used as art materials: colophony and Venice turpentine. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 64, n. 2, p. 345–361, 2002.

SCHIAVON, F. **Fluconazol: o que é, para que serve e como funciona esse remédio | Veja Saúde**. Disponível em: <<https://saude.abril.com.br/medicina/fluconazol-o-que-e-para-que-serve-e-como-funciona-esse-medicamento/>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

SCHONS, A. B. et al. Eco-Friendly Synthesis of an Oxovanadium(IV)-bis(abietate) Complex with Antimicrobial Action. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6679, 7 out. 2022.

SCHONS, A. B. et al. Green Synthesis of Na abietate Obtained from the Salification of Pinus elliottii Resin with Promising Antimicrobial Action. **Antibiotics 2023, Vol. 12, Page 514**, v. 12, n. 3, p. 514, 4 mar. 2023.

SHIMIZU, JARBAS Y. **Pínus na Silvicultura Brasileira**. 21. ed. Colombo: Embrapa, 2008.

SHRIVER, D. et al. **Inorganic chemistry**. 6. ed. [s.l: s.n.].

SILVA, R. A. DA et al. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, n. 126, p. 607–623, 16 nov. 2020.

SILVERSMIT, G. et al. Determination of the V2p XPS binding energies for different vanadium oxidation states (V5+ to V0+). **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v. 135, n. 2–3, p. 167–175, 1 abr. 2004.

SMITH, C.; ORVIG, C.; BULKIN, B. J. **Vanadium**. Disponível em: <<https://www.rsc.org/periodic-table/podcast/23/Vanadium>>. Acesso em: 7 fev. 2023.

THE RISK ASSESSMENT INFORMATION SYSTEM. **RAIS Toxicity Values and Physical Parameters Search**. Disponível em: <[https://rais.ornl.gov/cgi-bin/tools/TOX\\_search](https://rais.ornl.gov/cgi-bin/tools/TOX_search)>. Acesso em: 9 mar. 2023.

TIMENETSKY, J. **Antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos)**. Disponível em: <<https://microbiologia.icb.usp.br/cultura-e-extensao/textos-de-divulgacao/bacteriologia/bacteriologia-medica/antimicrobianos-antibioticos-e-quimioterapicos/>>. Acesso em: 15 fev. 2023.

UFMG, Q. DE C.-. **QUÍMICA INORGÂNICA I – Química de Coordenação. INTRODUÇÃO AOS COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO**. Disponível em: <[https://www2.ufjf.br/quimicaead/wp-content/uploads/sites/224/2013/09/QI\\_Aula4.pdf](https://www2.ufjf.br/quimicaead/wp-content/uploads/sites/224/2013/09/QI_Aula4.pdf)>. Acesso em: 5 jan. 2023.

ULUKANLI, Z. et al. Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean Pinus brutia and Pinus pinea resin essential oils. **Chinese journal of natural medicines**, v. 12, n. 12, p. 901–910, 1 dez. 2014.

**Vanádio (V)**. Disponível em: <<https://www.tabelaperiodicacompleta.com/elemento-quimico/vanadio/>>. Acesso em: 8 jan. 2023.

WANG, X. et al. Inverse Association of Plasma Vanadium Levels with Newly Diagnosed Type 2 Diabetes in a Chinese Population. **American Journal of Epidemiology**, v. 180, n. 4, p. 378–384, 15 ago. 2014.

WAZALWAR, S. S. et al. Microwave assisted synthesis and antimicrobial study of Schiff base vanadium(IV) complexes of phenyl esters of amino acids. **Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry**, v. 41, n. 5, p. 459–464, 2011.



## 8 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

### 8.1 Artigos completos publicados em periódicos

SCHONS, Aline B.; Correa, Jamille S.; Appelt, Patricia; Meneguzzi, Daiane; Cunha, Mário A. A.; Bittencourt, Carla; Toma, Henrique E.; Anaissi, Fauze J. *Eco-Friendly Synthesis of an Oxovanadium(IV)-bis(abietate) Complex with Antimicrobial Action*. MOLECULES, v. 27, p. 6679, 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27196679>



SCHONS, Aline B.; Appelt, Patrícia; Correa, Jamille S.; Cunha, Mário A. A.; Rodrigues, Mauricio G.; Anaissi, Fauze J. *Green Synthesis of Na abietate Obtained from the Salification of Pinus elliottii Resin with Promising Antimicrobial Action*. ANTIBIOTICS-BASEL, v. 12, p. 514, 2023.  
<http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics12030514>



## 8.2 Apresentação em eventos

SCHONS, A. B.; CORREA, J. S.; ANAISSI, F. J. Uso da resina de pinus como precursora na formação de um ligante para a síntese de um complexo de vanádio. **X Simpósio De Química - Química Em Foco**. Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2022.

SCHONS, A. B.; CORREA, J. S.; APPELT, P.; ANAISSI, F. J. Síntese e caracterização do carboxilato de vanádio [V-abietato] para aplicações microbiológicas. **V Workshop de Química Inorgânica**. Universidade Federal do Amazonas, 2022.

SCHONS, A. B.; APPELT, P.; MENEGUZZI, D.; da CUNHA, M. A. A.; CORREA, J. S.; ANAISSI, F. J. Síntese e caracterização do ligante abietato ( $C_{19}H_{29}COO^-$ ) obtido da salificação da resina natural de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **28ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química - Sul (28ª SBQ Sul)**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2022.