UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

HELLEN FRANCIANE GONÇALVES BARBOSA

Síntese, caracterização e estudo da atividade biológica de bases de Schiff biopoliméricas, preparadas a partir de quitosanas e salicilaldeídos e seus complexos de Zn(II), Pd(II) e Pt(II)

São Carlos

2018

HELLEN FRANCIANE GONÇALVES BARBOSA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA
DE BASES DE SCHIFF BIOPOLIMÉRICAS, PREPARADAS A PARTIR DE
QUITOSANAS E SALICILALDEÍDOS E SEUS COMPLEXOS DE Zn(II),
Pd(II) E Pt(II)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química do Instituto de Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Éder Tadeu Gomes Cavalleiro

São Carlos

2018

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a síntese e a caracterização de bases de Schiff biopoliméricas e alguns de seus complexos formados a partir do biopolímero quitosana. Na primeira etapa do trabalho foram utilizados o salicilaldeído e seus derivados, 5-metóxisalicilaldeído e 5-nitrosalicilaldeído para produzir as bases de Schiff biopoliméricas com a quitosana ($\overline{GD} = 90,4\%$, $\overline{Mw} = 233kDa$), as quais foram utilizadas para a síntese dos complexos de Zn(II), Pd(II) e Pt(II). Na segunda etapa, bases de Schiff biopoliméricas anfifílicas foram sintetizadas utilizando as quitosanas ($\overline{GD} = 90,4$ e 89% , $\overline{Mw} = 223$ e $64 kDa$), e o grupo hidrofóbico salicilaldeído bem como o grupo hidrofílico 2,3-epóxi-1-propanol (glicidol). E esses ligantes também foram utilizados para complexar os metais Zn(II), Pd(II) e Pt(II). As bases de Schiff biopoliméricas anfifílicas foram sintetizadas a fim de se avaliar o efeito do aumento da solubilidade causado pela presença do grupo hidrofílico glicidol e também o efeito da variação dos valores de $\overline{Mw}$ nas propriedades físico-químicas e biológicas. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia (1H -RMN, FTIR, DRX, UV-Vis), análise térmica (TGA/DTG-DTA) e microscopia (MEV-EDX). Afim de se avaliar a atividade biológica das bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos foram utilizados dois agentes patógenos de plantas economicamente importantes: a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e o fungo de cereais *Fusarium graminearum*. Os resultados obtidos demonstraram que as bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos exibiram atividade antibacteriana significativa. Para os fungos, o potencial antifúngico dos compostos foi limitado e, para alguns complexos, até ineficiente, devido às diferenças morfológicas entre os microrganismos testados, que é um fator diretamente relacionado aos mecanismos de ação. A avaliação da citotoxicidade foi realizada *in vitro* contra células de carcinoma de mama MCF-7 por ensaio de MTT. Os resultados de citotoxicidade obtidos demonstraram que todos os compostos apresentaram uma diminuição na porcentagem da viabilidade celular, em função da concentração. Observou-se para as bases de Schiff biopoliméricas uma atividade antitumoral mais efetiva que para as quitosanas sem modificação. Em baixas concentrações dos complexos, observou-se uma baixa inibição celular, especialmente para os complexos de zinco. Porém, em concentrações mais elevadas, foi verificado um aumento significativo da toxicidade. Portanto, a principal contribuição esperada deste trabalho é a síntese caracterização e estudo desses novos compostos de bases de Schiff biopoliméricas e dos biocomplexos, com potencial para atuar em aplicações biológicas.

Palavras - chave: Quitosana, Bases de Schiff biopoliméricas, Complexos metálicos, Salicilaldeído e Atividade biológica.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Quitina

Macromoléculas é um termo atualmente consolidado utilizado para definir moléculas orgânicas de elevada massa molar relativa, constituídas de unidades estruturais que se repetem, podendo ser de origem natural como carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos entre outros ou de origem sintética como plásticos, borracha, nanotubos de carbono, entre outros. No entanto, a hipótese macromolecular é relativamente recente, pois surgiu apenas em 1922, quando o químico alemão Hermann Staudinger (1881 – 1965), sugeriu diversos termos dentre eles o de “macromoléculas” para descrever tais compostos. Nessa época o termo “polimerização” também foi consolidado por se referir às ligações de unidades repetitivas unidas por ligações covalentes e essas unidades individuais, monômeros, após se ligarem foram denominadas “polímeros” (MULHAUPT, 1999). Os polissacarídeos são definidos como macromoléculas com centenas ou até milhares de unidades de açúcares simples unidos por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$, esse grupo de compostos é o mais abundante e diversificado da natureza. Dentre os diversos polímeros produzidos pelos seres vivos, denominados biopolímeros, encontra-se a quitina.

A quitina é um polissacarídeo linear de média a alta massa molar, constituído por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glicopirranose (*N*-acetilglicosamina ou GlcNAc), unidas por ligações do tipo $\beta(1\rightarrow4)$, cuja a estrutura está representada na Figura 1. Quando os polissacarídeos contém carga eles são denominados polieletrólitos e geralmente são aniônicos, de natureza ácida ou neutra, tais como, celulose, dextrana, pectina, agarose, ácido algínico entre outros. No entanto, a quitina é um polieletrólito básico com carga positiva. Um biopolímero com função estrutural análoga à da celulose nas plantas ou colágeno em animais de grande porte (MAYER; SARIKAYA, 2002).

O descobrimento e descrição da quitina ocorreram no século XIX, pelo químico e farmacêutico francês Henri Braconnot (1780-1855). Ela foi o primeiro polissacarídeo descrito cientificamente, isso ocorreu 30 anos antes da descrição da celulose. A quitina foi descoberta e isolada de cogumelos e recebeu a denominação inicial de fungina. O nome “quitina” deriva da palavra grega “khitón”, que significa carapaça ou caixa de revestimento e foi definido por Odier em 1823 quando o polímero foi isolado de insetos (MUZZARELLI et al., 2012). A quitina, por ser um biopolímero de função estrutural é altamente insolúvel e de baixa reatividade química,

porém é biodegradável, biocompatível e classificada como não tóxica. Essas propriedades são pré-requisitos fundamentais para aplicações biomédicas, mas a insolubilidade da quitina limita a sua utilização (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

A quitina está presente em todos os ambientes terrestres, muito conhecida como um dos os principais componentes do exoesqueleto de artrópodes, como insetos, aracnídeos e crustáceos. Além disso, pode ser encontrada em várias partes do corpo de alguns organismos marinhos e é um componente indispensável da constituição de leveduras e da parede de celular fúngica (RINAUDO, 2006; GADD, 2007). Portanto, assim como outros polímeros naturais, a quitina é extremamente abundante na natureza, milhões de toneladas de quitina são sintetizados e degradados na biosfera a cada ano, tornando-a o segundo biopolímero mais abundante após celulose (HARISH PRASHANTH; THARANATHAN, 2007).

1.2 Quitosana

A descoberta da quitosana ocorreu em 1859 por Rouget, após submeter a quitina em contato com uma solução de hidróxido de potássio em ebulição. Porém, a denominação quitosana ao produto da desacetilação da quitina ocorreu mais tarde, em 1894 pelo alemão Felix Hoppe-Seyler. A quitosana foi produzida industrialmente pela primeira vez no Japão em 1971, e onze anos mais tarde, o país já possuía quinze indústrias produzindo quitina e quitosana em escala comercial. A partir de 1977, o interesse e a pesquisa sobre a quitina e a quitosana cresceu exponencialmente, após a 1ª Conferência Internacional de Quitina e Quitosana em Boston (HIRANO, 1988).

A quitosana é um polissacarídeo linear constituído de unidades 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glicopirranose (GlcNAc) e 2-amino-2-desoxi-*D*-glicopirranose (GlcN), unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1→4), com predomínio de unidades GlcN (Figura 1), porém, a distribuição dessas unidades é aleatória quando a produção da quitosana ocorre via química. Atualmente, a produção biotecnológica de quitosanas puras e com padrões de polimerização bem definidos, vêm se tornando algo viável utilizando enzimas modificas (KOHLHOFF et al., 2017).

Figura 1 - Representação esquemática da estrutura da quitina e da quitosana. De forma geral, quando monômero $m \geq 50\%$ o polímero é denominado quitosana, e se o monômero $n \geq 50\%$ o polímero é denominado quitina.

Fonte: Autoria própria.

A quitosana, por ser um derivado da quitina, também apresenta propriedades importantes, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, baixa imunogenicidade, mucoadesividade, baixo custo, entre outras. De forma geral, a sua composição, com grupos amino livres, faz da quitosana um biopolímero catiônico e solúvel em meio aquoso com ácido orgânicos minerais fracos, devido principalmente à protonação dos grupos amina (NH_3^+) presentes nas unidades GlcN (RINAUDO, 2006). Portanto, a solubilidade da quitosana é dependente do grau de ionização (α) dos seus grupos. Quando o valor do pH do meio é menor que o pK_a da quitosna $\sim 6,5$, meio moderadamente ácido, ocorre a solubilização do polímero, o que é fundamental em diversas condições reacionais.

A quitosana é um biopolímero com propriedades únicas. Isso inclui a capacidade de formar polioxisais, filmes (FOSTER et al., 2015) e complexar íons metálicos (MIRETZKY; CIRELLI, 2009). O polímero também pode facilmente interagir com vários poliânions formando nanopartículas e hidrogéis, entre outras estruturas (MUZZARELLI, 2009; MANDAPALLI et al., 2015).

Este biopolímero vem sendo amplamente utilizado nas mais diversas aplicações, como, por exemplo, na área biomédica-farmacêutica, como sistemas de liberação de fármacos (KUMAR et al., 2004; BARBOSA et al., 2016; SOARES et al., 2016), como agente de transfecção na terapia gênica não viral (OLIVEIRA et al., 2013; TIERA et al., 2013) e como material para engenharia de tecido (KHOR; LIM, 2003; LOGITHKUMAR et al., 2016). Além de ser atraente

para áreas diferentes como, cosmética (KING et al., 2017), agrícola (TAHIR et al., 2017), alimentos, especificamente, como revestimento de filmes comestíveis (REMYA et al., 2016) e no tratamento de águas residuais (CRINI, 2006). O biopolímero também apresenta atividades biológicas interessantes, como antibacteriana, antifúngica, antiviral e antitumoral (GOY; BRITTO; ASSIS, 2009; BADAWEY; RABEA, 2011; XIA et al., 2011; MOISE et al., 2012; SOARES et al., 2016), entre outras.

Entretanto, a composição da quitosana é variável em função das condições empregadas no processo de obtenção. A variação de propriedades como o grau médio de desacetilação ($\overline{GD}$) ou o grau médio de acetilação ($\overline{GA}$), massa molar média ($\overline{Mw}$) e o padrão de acetilação ou desacetilação, tem efeito marcante nas principais propriedades físico-químicas do polímero, como solubilidade e viscosidade que influenciam diretamente, na biodegradabilidade, biocompatibilidade e na toxicidade e, conseqüentemente, na eficiência do biopolímero na utilização em diversas aplicações (KUMAR, 2000). Sendo o ($\overline{GD}$) definido como a fração média de unidades GlcN e o ($\overline{GA}$) a fração média das unidades GlcNAc, presentes na cadeia polimérica. A distribuição das unidades GlcNAc e GlcN é denominada padrão de acetilação ou desacetilação.

A baixa solubilidade da quitosana em soluções com valores de pH acima do $pK_a \sim 6,5$ do biopolímero é uma restrição para algumas aplicações, principalmente aplicações em que se visa utilizar o material em condições fisiológicas (pH 7,4). Porém, a estrutura molecular da quitosana é passível de inúmeras modificações químicas e essa grande versatilidade possibilita a síntese de diversos derivados com propriedades distintas. Na estrutura do biopolímero há dois grupos que apresentam grande susceptibilidade para reagir, os grupos hidroxila do anel glicopiranosídeo, que apresentam reatividade relativamente menos intensa e os grupos amino, que são mais reativos (ABREU et al., 2009). Portanto, a quitosana é um polímero multinucleofílico e as reações de modificações podem ser quimiosseletivas, ocorrendo nos grupos amino da posição C-2, e não específicas ocorrendo simultaneamente nos grupos hidroxila das posições C-3 e C-6 e também nos grupos amino (BADAWEY; RABEA, 2011).

1.2.1 Modificações da Quitosana por Reações Químicas

Uma extensa gama de modificações químicas pode ser realizada, e grande parte delas contribuem para melhorar a solubilidade e também a biocompatibilidade da quitosana.

Compostos como, moléculas com grupos carboxílicos, policaprolactona (SAHOO et al., 2010), polietilenoglicol (PEG), (HU et al., 2008), compostos zwitteriônicos, ou seja, íons dipolares, como por exemplo, (hidróxido de 1-(3-sulfopropil)-2-vinilpiridina) (BARBOSA et al., 2016) e outros (MOURYA; INAMDAR, 2008), podem ser empregados. As modificações da estrutura da quitosana com grupos hidrofílicos visam uma maior solubilidade e principalmente melhor biocompatibilidade e quando associadas às modificações com grupos hidrofóbicos, possibilitam a obtenção de estruturas anfifílicas, capazes de se auto-organizar como nanoestruturas, sejam nanopartículas ou nanocomplexos que são muito atrativos para os estudos de liberação de fármacos e/ou genes (SHARMA; SINGH, 2017; SONG; TANG; YIN, 2018; TEZGEL et al., 2018)

Alguns compostos da classe dos epóxidos são utilizados para promover modificações na estrutura das quitosanas, pois de forma geral os epóxidos são grupos extremamente reativos. Estes compostos cíclicos apresentam diferenças na eletronegatividade devido às ligações carbono-oxigênio, como por exemplo, o 2,3-epoxi-1-propanol, também conhecido como glicidol (ZHOU et al., 2010; PEDRO et al., 2018a). Essas modificações, de forma geral, aumentam o número de hidroxilas na cadeia polimérica e consequentemente a solubilidade do biopolímero.

Existem várias modificações que estão relacionadas com a capacidade de ampliar número de cargas positivas na estrutura do biopolímero. De forma geral, essas modificações promovem um aumento da solubilidade da quitosana. A quaternização da quitosana pode ocorrer, por exemplo, por meio da trimetilação dos grupos aminas levando a formação de compostos *N, N, N*-trimetilquitosana esse é um métodos simples e ainda vem sendo extensamente estudado (GERMERSHAUS et al., 2008; HE et al., 2013; HU; TANG; YIN, 2014; RAHMANI et al., 2016; EL-SHERBINY et al., 2016).

Essa modificação foi relatada em 1985 por Muzzarelli e colaboradores (MUZZARELLI; TANFANI, 1985), e ainda desperta o interesse de muitos pesquisadores, pois esses derivados quaternários de quitosana apresentam potencial para diversas aplicações. Outro exemplo de reação amplamente estudada é a *O*- ou *N*-carboximetilação, o copolímero resultante dessa síntese apresenta solubilidade em uma ampla faixa de pH e, portanto, assim como as quitosanas trimetiladas apresentam potencial para diversas aplicações biomédicas (ANITHA et al., 2011; UPADHYAYA et al., 2013; PATRULEA et al., 2015; CAO et al., 2018; CAPANEMA et al., 2018; ZHONG et al., 2018). Além disso, todas as reações típicas de aminas,

como a *N*-acilação que inclui inúmeros compostos, a reação de Schiff entre outras reações podem ser empregadas para se obter derivados de quitosana com potencial interessante para as mais variadas aplicações (PETER, 1995).

1.2.2 Bases de Schiff Biopoliméricas a partir de Quitosana

O químico alemão Hugo Josef Schiff (1834-1915), em 1864 estudou a ação da anilina com aldeídos, acetaldeído, valeraldeído, benzaldeído e cinamaldeído, e descobriu que os produtos de condensação dessas reações e formavam compostos característicos denominados bases de Schiff. As bases de Schiff ou iminas constituem uma das famílias de compostos orgânicos amplamente utilizados, não apenas como intermediários sintéticos, mas também em química de coordenação. Portanto, as bases de Schiff são uma classe de compostos com fórmula geral $RR'C=NR''$ obtidos a partir da condensação de aldeídos e cetonas com aminas primárias, com as anilinas, com eliminação de água (Figura 2), que geralmente são produzidas utilizando aldeídos alifáticos utilizados principalmente como intermediários em sínteses orgânicas. O radical R pode ser tanto um grupo alquil ou aril, porém as bases de Schiff que apresentam substituintes aril são relativamente mais estáveis que as bases de Schiff de aldeídos alifáticos. Os aldeídos aromáticos apresentam efeitos de conjugação que contribuem para estabilização das ligações iminas, enquanto que os aldeídos alifáticos apresentam um efeito de polarizabilidade mais pronunciado (TIDWELL, 2008).

Figura 2 - Representação da reação de formação da base de Schiff (sendo R=H, alquil e/ou aril).

Fonte: Adaptado de TIDWELL, 2008.

De acordo com a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC), informação fornecida no glossário de nomes de classe de compostos orgânicos e intermediários de reatividade com base na estrutura (IUPAC, 2014), as bases de Schiff são definidas como:

Schiff bases (Schiff's bases) Imines bearing a hydrocarbyl group on the nitrogen atom $R_2C=NR'$ ($R' \neq H$). Considered by many to be synonymous with azomethines ¹

Imines:

- 1. Compounds having the structure $RN=CR_2$ ($R = H$, hydrocarbyl). Thus analogues of aldehydes or ketones, having NR doubly bonded to carbon; aldimines have the structure $RCH=NR$, ketimines have the structure $R'_2C=NR$ ($R' \neq H$). Imines include azomethines and Schiff bases. Imine is used as a suffix in systematic nomenclature to denote the $C=NH$ group excluding the carbon atom.*
- 2. [obsolete] An obsolete term for azacycloalkanes ¹*

¹ Tradução livre

Ao longo das últimas décadas, as bases de Schiff vêm recebendo uma crescente atenção de muitos pesquisadores devido à sua variedade estrutural e flexibilidade. Estes tipos de compostos desempenham um papel significativo em muitas reações catalíticas como oxidação, ciclopropanação assimétrica e polimerização (WU; XU; FENG, 2001; GOLCU et al., 2005; JIAO et al., 2012). Uma classe muito importante de bases de Schiff é composta por derivados de aldeídos aromáticos, pois são capazes de se complexar de forma eficiente com uma série de íons metálicos, podendo ser usados como catalisadores heterogêneos (ANTONY et al., 2013; BARAN; INANAN; MENTEŞ, 2016).

Há também um grande interesse nessas substâncias para serem utilizadas como reagentes analíticos devido ao fato de permitirem a determinação simples e barata de muitas substâncias orgânicas e inorgânicas (CIMERMAN; GALIC; BOSNER, 1997). Por exemplo, na área da bioinorgânica, as bases de Schiff possibilitam a construção de metalo-proteínas e metalo-enzimas. Além disso, podem ser utilizadas na remoção de metais tóxicos em ambientes aquáticos, ou em outros tipos de aplicações como na modificação de eletrodos com aplicações em eletroanalítica (TEIXEIRA et al., 2004).

Dentre as bases de Schiff já estudadas, a mais difundida é a *N-N*(bis-salicilideno) etilenodiamina (*Salen*), obtida a partir da reação de condensação entre o salicilaldeído e a etilenodiamina. O *Salen* é um ligante ácido, tetradentado com dois grupos hidroxila, podendo coordenar-se com íons metálicos por meio dos átomos de nitrogênio e oxigênio (CLARKE; HERASYMCHUK; STORR, 2017). Os compostos com grupo imina ($-RC=N-$) apresentaram uma excelente eficácia antimicrobiana, incluindo atividades antibacteriana, antifúngica e antitumoral (SALAMA; SAAD; SABAA, 2015; ELSHAARAWY; REFAEE; EL-SAWI, 2016; LAL; ARORA; SHARMA, 2016; XU; AOTEGEN; ZHONG, 2017).

De forma geral, as propriedades desejadas para as bases de Schiff podem ser adaptadas escolhendo grupos amina apropriados ou substituintes carboxílicos (ABDELWAHAB et al., 2015; NAGESH; MAHENDRA RAJ; MRUTHYUNJAYASWAMY, 2015; SALAMA; SAAD; SABAA, 2015). Especialmente quando um grupo funcional como $-OH$ ou $-SH$ está presente próximo do grupo azometina, é possível potencializar a capacidade de complexação das bases de Schiff (ANAN et al., 2011; BARAN; MENTEŞ, 2017).

As bases de Schiff biopoliméricas diferem-se das bases de Schiff convencionais, pois se caracterizam pela utilização de material de origem biológica como suporte polimérico e fonte

de grupos amino ou de grupos carbonílicos. A quitosana é um material de suporte muito interessante para síntese de iminas ou bases de Schiff biopoliméricas. Ela pode ser modificada quimicamente por condensação nas frações desacetiladas que contém os grupos amino livres, por reação de condensação com os aldeídos em uma fase homogênea. Esta condensação é realizada entre aminas primárias do polímero e grupos aldeído permitindo a obtenção de forma eficiente das bases Schiff biopoliméricas (CAVALHEIRO; CAVALHEIRO; CAMPANA FILHO, 2009).

A investigação de bases de Schiff biopoliméricas preparadas com quitosana cresce exponencialmente, sendo esse um campo de pesquisa com grande potencial a ser explorado. Já foram reportados estudos sobre o comportamento térmico de bases de Schiff biopoliméricas sintetizadas com quitosana e diferentes tipos de aldeídos aromáticos (CARDENAS; BERNAL; TAGLE, 1992; TIRKISTANI, 1998; DOS SANTOS; DOCKAL; CAVALHEIRO, 2005).

Alguns estudos de reações de substituição da quitosana com grupos amino livre e com compostos carbonílicos ativos, tais como aldeídos ou cetonas, vem sendo reportados nas últimas décadas. MOORE e colaboradores prepararam diferentes reações de *O*-Acetilação com derivados base de Schiff de quitosana com aldeídos alifáticos ramificados, alifáticos lineares e também com aldeído aromático (MOORE; ROBERTS, 1981). Fibras de quitosana com a adição de formaldeído, glioxal, propionaldeído, n-butiraldeído, benzaldeído, 2-hidroxibenzaldeído e vanilina foram preparadas por Hirano e colaboradores (HIRANO et al., 1999).

As condições experimentais das reações entre quitosana e salicialdeído, como razão molar, temperatura e tempo de reação foram otimizadas a fim de se obter compostos com maior extensão de substituição evitando a ocorrência de eventual hidrólise/despolimerização da matriz biopolimérica (GUINESI; CAVALHEIRO, 2006). Outros exemplos de bases de Schiff de quitosana com alguns benzaldeídos foram sintetizadas e caracterizadas estruturalmente por Gavalyan (GAVALYAN, 2016). E alguns estudos já demonstraram que as bases de Schiff apresentam significativa atividade antibacteriana e antifúngica (JIN; WANG; BAI, 2009; YIN et al., 2012; MARIN et al., 2015).

1.2.3 Complexos de bases de Schiff Biopoliméricas de Quitosana

Os complexos de coordenação apresentam potencial para serem utilizados em muitas aplicações, abrangendo desde as áreas de química analítica, bioinorgânica e também médico-farmacêutica, entre outras. Tais complexos podem ser utilizados em catálise, dispositivos de armazenamento de oxigênio (CHANTARASIRI et al., 2000) e sistemas miméticos de modelos enzimáticos (GUOFA; TONGSHUN; YONGNIAN, 1997). Os complexos de metais de transição têm importante atuação na área farmacológica, pois apresentam uma ampla versatilidade em relação à atividade biológica, que permite diferentes tipos de aplicações, destacando-se atividades antimicrobiana e antitumoral. E essa última sem dúvida, a aplicação mais amplamente investigada (SALAMA; SAAD; SABAA, 2015).

Em geral, compostos metálicos como a cisplatina são amplamente utilizados em tratamentos médicos quimioterápicos. Porém, esse composto pode causar sérios danos ao serem administrados, pois podem atacar as células saudáveis e, se utilizados em excesso, provocam sérios efeitos colaterais (FONTES; DE ALMEIDA; NADER, 1997).

Em relação à utilização e ao desenvolvimento de complexos metálicos para essa área, já foram desenvolvidas outras substâncias como uma alternativa à cisplatina. Entretanto, ainda há um grande interesse na pesquisa de novos compostos de coordenação, visando principalmente desenvolver alternativas que apresentem menor toxicidade para as células saudáveis, mas de eficiência tão satisfatória quanto à da cisplatina (WU; XIONG, 2011).

Dessa forma, a utilização de um ligante biocompatível pode minimizar tais problemas. Nesse sentido, o biopolímero quitosana mostra-se atraente, devido às suas propriedades já mencionadas, apresentando potencial para ser aplicado em sistema de transporte de agentes terapêuticos (SINHA et al., 2004). Portanto, a quitosana pode ser utilizada no preparo de bases de Schiff biopoliméricas complexadas com os metais de transição, como um veículo de maior biocompatibilidade. Entretanto, é necessário o ajuste do tamanho das cadeias poliméricas para que o biopolímero possa vencer as barreiras teciduais e atingir o efeito desejado. De forma geral, sistemas nanométricos, como nanopartículas, apresentem maior biocompatibilidade, permeabilidade e mucoadesividade (DA SILVA et al., 2016).

Nesse sentido, as bases de Schiff biopoliméricas são extensamente empregadas na preparação de uma grande variedade de ligantes, cujas estruturas podem ser intencionalmente arranjadas e modificadas quanto à flexibilidade, forma, tipo de átomos doadores de elétrons e

suas posições relativas na estrutura, para potencializar o número e tamanho dos sítios quelantes (GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009). As bases de Schiff apresentam vários sítios de coordenação, que permitem a formação de ligantes bidentados com espécies doadoras de elétrons, átomos de nitrogênio e oxigênio (GUO; ZHOU; LV, 2013). Além disso, na literatura contém vários trabalhos que propõem a utilização de complexos metálicos como agentes antimicrobianos. Segundo Garoufis (GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009) complexos de Pd(II) preparados a partir de ligantes de bases de Schiff sintetizados pela condensação de salicilaldeído com o ácido 5-aminossalicílico apresentaram atividade antifúngica apreciável contra os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*. Existem vários exemplos de complexos de base de Schiff com paládio e platina, que apresentam atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antitumorais (GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009; ANTONY et al., 2013; HAN et al., 2014; LIU et al., 2017).

Os complexos de base de Schiff, especialmente as bases de Schiff biopoliméricas sintetizadas com quitosana e salicilaldeído, apresentam átomos de nitrogênio e oxigênio que são de significativa influência no potencial de complexação dos íons metálicos e na atividade antimicrobiana e antitumoral. Segundo Abdelwahab e colaboradores e Elshaarawy e colaboradores a existência de grupos substituintes doadores ou retiradores de elétrons no anel aromático exercem influência significativa na complexação dos íons metálicos (ABDELWAHAB et al., 2015; ELSHAARAWY; REFAEE; EL-SAWI, 2016). Assim, complexos metálicos de bases de Schiff biopoliméricas sintetizadas com quitosana, representam uma alternativa em potencial para se alcançar avanços importantes a área do desenvolvimento de moléculas bioativas.

1.2.4 Aplicações Biológicas da Quitosana e seus Derivados

A quitosana tem atividade antimicrobiana bem conhecida, sendo capaz de atuar na proteção de diferentes culturas dificultando o crescimento de várias espécies de bactérias e fungos (RABEA et al., 2003). Esse potencial está diretamente relacionado com a relação estrutura/função do biopolímero (BRUNEL; EL GUEDDARI; MOERSCHBACHER, 2013). Destaca-se a atividade antimicrobiana contra muitas bactérias, fungos filamentosos e leveduras (KONG et al., 2010). Segundo os relatos sobre essa atividade, o efeito antimicrobiano da quitosana e derivados estão relacionados com inúmeros fatores intrínsecos e extrínsecos, tais

como valores de pH do meio, espécies de microrganismos, massa molar média, grau de desacetilação e outros importantes fatores (BADAWY; RABEA, 2011; XIA et al., 2011)

De forma geral, a atividade antimicrobiana da quitosana é geralmente relacionada com a forma solúvel do polímero. Isso faz com que as quitosanas modificadas apresentem atividade antimicrobiana mais expressiva que as quitosanas sem modificações (VERLEE; MINCKE; STEVENS, 2017), de forma que, normalmente, são utilizados derivados de quitosana para tais aplicações (VARMA; DESHPANDE; KENNEDY, 2004). Idealmente, o composto deve ser eficaz, nas menores concentrações possíveis para uma ampla gama de microrganismos. Em relação à atividade antitumoral, além de ser ativo em baixas concentrações e apresentar a menor toxicidade em relação às células e tecidos saudáveis, o composto deve ser estável durante o uso e armazenamento. Entretanto, é desejável que se degrade de forma rápida e segura no meio ambiente, após a aplicação ou excreção.

1.2.5 Atividade Antibacteriana e Antifúngica da Quitosana e seus Derivados

Além dos problemas de infecções em animais, as infecções por microrganismos patogênicos ainda causam perdas significativas em diferentes tipos de culturas agrícolas, pois as bactérias são capazes de infectar uma ampla gama de culturas causando problemas em diversas partes das plantas como folhas, caules e frutos, devido a liberação de toxinas. Após se instalarem nas culturas agrícolas, as bactérias se alimentam dos nutrientes, porém ao invés de clivar a parede celular, elas injetam proteínas capazes de impedir a planta de detectá-las. Isso pode causar desde manchas na superfície das frutas até a morte da planta, devido à influência que essas bactérias podem causar no transporte de nutrientes e de água (XIN; HE, 2013).

A bactéria *Pseudomonas syringae* é um patógeno hemibiotrófico, que infecta, principalmente, áreas da planta como folhas e frutos. Esse patógeno pode infectar diversos tipos de culturas, como por exemplo, maçã, feijão, ervilha, beterraba, cevada, trigo entre outras.

Fazendo uma analogia, pode-se afirmar que certamente, uma das principais razões para o sucesso e difusão da utilização dos antibióticos é o potencial que esses compostos tem em causar elevadas taxas de morte bacteriana contra bactérias específicas, porém com relativa baixa toxicidade para as células saudáveis dos mamíferos. O mesmo se espera da atividade da quitosana, uma especificidade no mecanismo de ação com um elevado efeito de inibição pra os microrganismos e uma baixa toxicidade para humanos (SHI et al., 2006; DUTTA; TRIPATHI; DUTTA, 2011).

De forma geral, a pesquisa sobre polímeros naturais ganhou grande interesse científico na década de 1970 (ALLAN; HADWIGER, 1979; BADAWEY; RABEA, 2011). Nessa década foram relatados efeitos significativos da quitosana como fungicida e alguns anos depois estudos antibacterianos foram mais difundidos. No início dos anos 90, testes realizados com várias espécies patogênicas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* relataram atividade antibacteriana expressiva de quitosana e seus derivados (MUZZARELLI et al., 1990). Apesar dos diversos estudos já realizados nessa área, o modo de ação do polímero depende de fatores intrínsecos e extrínsecos, como, espécies bacterianas, massa molar do polímero, grau de desacetilação ou acetilação, valores de pH do meio presença ou ausência de íons metálicos, entre outros. Porém, certamente o modo de ação é diferente para as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, uma vez que elas possuem constituição de parede celular diferente. No entanto, já foi demonstrado por diversos autores que o biopolímero é ativo contra as bactérias Gram-positivas e também contra as Gram-negativas, provavelmente devido às alterações dos fatores intrínsecos e extrínsecos (KONG et al., 2010).

Nas bactérias Gram-positivas a membrana citoplasmática é protegida por uma camada de peptidoglicanos permeada por ácidos teicóico e lipoteicóico, esses grupos aniônicos possuem funções estruturais na parede celular. Eles conectam as camadas de peptidoglicanos com a membrana citoplasmática e esse caráter polianiônico é crucial para a estabilidade da parede celular e o funcionamento da membrana (RAAFAT et al., 2008) (Figura 3 A). Na presença de quitosana, essas funções poderiam ser perturbadas, causando desintegração da parede celular, prejudicando suas tarefas metabólicas e estruturais (RAAFAT; SAHL, 2009).

As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa que transporta lipopolissacarídeos. Apresentam uma superfície hidrofílica com componentes de lipídeos que contém grupos fosfato aniônico e carboxílico. A membrana mantém interação eletrostática com cátions divalentes que são muito importantes para manter a estabilidade da membrana externa (HELANDER; VON WRIGHT; MATTILA-SANDHOLM, 1997). A remoção desses cátions através da competição ou complexação pela quitosana, por exemplo, resulta na desestabilização da membrana externa causando uma perda da função da barreira, expondo o conteúdo citoplasmático (KONG et al., 2010) (Figura 3 B).

Por sua vez, os fungos são considerados os maiores causadores de problemas na produção e no consumo de grãos em todo o mundo. Sendo agentes responsáveis pela degradação de culturas e produção de micotoxinas. Por isso, inúmeros agentes químicos são

investigados e utilizados no controle de infecções fúngicas em produtos agrícolas. Nesse sentido, o biopolímero quitosana mostra-se um composto atraente para tais aplicações. Há uma grande discussão na literatura sobre modelo de mecanismo de inibição microbiano promovido pela quitosana. O principal mecanismo se baseia na interação eletrostática do polímero que é carregado positivamente, com as cargas negativas presentes na parede celular dos microrganismos (GOY; BRITTO; ASSIS, 2009). Há um modelo que relaciona a redução do crescimento microbiano com a inibição da síntese do mRNA proveniente da ligação covalente entre a quitosana e o DNA do microrganismo. No entanto, a penetração do polímero na membrana celular deve ocorrer de forma eficiente, permitindo uma interação com o DNA.

A membrana dos microrganismos é complexa e dinâmica, pois é responsável por proteger o conteúdo intracelular das variações do meio, como acidez e pressão osmótica, portanto, atua como filtro de íons e proteínas, promovendo o crescimento celular (BOWMAN; FREE, 2006). A composição da membrana celular varia de acordo com a espécie (Figura 3 C).

O gênero *Fusarium* é classificado como Hifomiceto, da ordem Monilales, família Tuberculariaceae e apresenta ampla destruição geográfica, capaz de ocorrer em quase todos os ambientes. Este gênero apresenta dois tipos principais de esporos, os micronídios unicelulares e os macronídeos multicelulares. Os fungos do gênero *Fusarium graminearum* apresentam na constituição da parede celular açúcares neutros e 40% de *N*-acetilglicosamina (GORDON; MARTYN, 1997).

Diversos fungos desse gênero têm sido relatados como patógeno de plantas, contaminando alimentos e produzindo micotoxinas que acarretam em doenças graves em humanos e animais. Dentre as principais culturas que este gênero infecta, destacam-se a cultura de trigo que pode ser infectada por *Fusarium graminearum*, de milho, por *Fusarium moniloforme*, da banana, por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, do feijão, por *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, da cana de açúcar, por *Fusarium culmorum*, entre outras culturas (NICOLAISEN et al., 2009).

Portanto, diante desse contexto foram utilizados no presente trabalho a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e o fungo *Fusarium graminearum*, dois agente patógenos economicamente importantes, para se avaliar a potencial atividade antimicrobiana de bases de Schiff biopoliméricas e alguns de seus complexos metálicos.

Figura 3 - Representação da parede celular de bactérias sendo a) Gram-positivas e b) Gram-negativas e c) esquema da parede celular fúngica.

Fonte: Adaptado de de (BOWMAN; FREE, 2006; KONG et al., 2010).

1.2.6 Atividade Antitumoral de Quitosana e seus Derivados

O câncer é o conjunto de diversas doenças que se caracterizam pelo crescimento desordenado das células, que são capazes de se propagar por tecidos e órgãos, e pode ocorrer em qualquer órgão ou tecido, porém alguns órgãos são mais susceptíveis, como por exemplo, pulmão, mama, útero, próstata, medula óssea (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2016). Trata-se de um problema de saúde pública em todo o mundo, sendo a segunda principal causa de morte nos Estados Unidos, segundo a Sociedade Americana de Câncer (*American Cancer Society*). Estima-se que cerca de 1,7 milhões de novos casos de câncer sejam diagnosticados em 2018. Essa estimativa não inclui carcinoma *in situ* (câncer não invasivo) de qualquer local exceto a bexiga urinária, também não inclui neoplasia em células basais ou câncer de pele, pois nesses casos não é obrigatório o registro. Esses dados se traduzem em cerca de 1.670 mortes por dia em virtude dessas infecções (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

A previsão é que uma em cada oito mulheres norte-americanas e uma cada doze mulheres britânicas desenvolverão o câncer de mama ao longo da vida, sendo que os homens também são suscetíveis à doença. O câncer de mama é a neoplasia maligna mais frequente em mulheres. Estima-se que nos Estados Unidos, em 2018, haverá 266.120 novos casos de câncer de mama invasivo diagnosticado em mulheres e 2.550 casos diagnosticados em homens, essa é a tendência de incidências analisando dados desde 2005 (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). Nos países em desenvolvimento o câncer de mama representa metade de todas as causas de câncer e 62% das mortes. No Brasil, espera-se que a incidência da doença seja apenas de um quarto em relação ao que é observado nos EUA, porém a doença está associada a um número crescente de mortalidade (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2016).

Dentro desse contexto, inúmeras pesquisas vêm sendo desenvolvidas nessa área utilizando modelos *in vitro*, utilizando, por exemplo, linhagens celulares. As linhagens celulares correspondem a uma série de multiplicações, originadas de uma única célula ou grupo de células específicas, que possibilitam o controle em culturas celulares, facilitando investigação nessa área de pesquisa. Em 1970, a linhagem celular MCF-7 foi obtida de uma paciente com câncer de mama metastático e a denominação MCF-7 foi adotada em referência ao “Michigan Cancer Foundation -7”, centro de pesquisa em câncer em Detroit, EUA. Nas décadas de 1970 e 1980 as pesquisas utilizando as células MCF-7 promoveram o desenvolvimento e de importantes tecnologias que facilitaram sua clonagem e sequenciamento. Após a descoberta

dessa linha de células mamárias foi possível realizar estudos ao longo de meses, pois tais células são extremamente resistentes (COMŞA; CÎMPEAN; RAICA, 2015).

Nas últimas décadas, vários trabalhos científicos têm sido desenvolvidos visando à obtenção de novos complexos de coordenação de metais de transição, pois apresentam potencial para serem utilizados em diversas aplicações que abrangem diretamente a área médico-farmacêutica (GUOFA; TONGSHUN; YONGNIAN, 1997; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009). Dentre as várias possíveis aplicações que podem ser utilizadas, a coordenação de metais de transição como agentes antitumorais tem se apresentado como uma das mais destacadas aplicações.

O primeiro complexo a ser estudado foi a *cis*-diaminodicloroplatina (II), $\{cis-[PtCl_2(NH_3)_2]\}$, conhecido como *cisplatina*. Após a descoberta da atividade antitumoral, o significativo sucesso clínico obtido fez da cisplatina um dos agentes quimioterápicos mais utilizados nas últimas décadas (QUIROGA et al., 2011). Entretanto, um dos principais problemas em relação a esse composto são os efeitos colaterais, como por exemplo, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, entre outros.

Desde então, é crescente o interesse pela síntese de novos complexos de coordenação visando o tratamento de câncer, com características mais vantajosas em relação à cisplatina (BEHESHTI et al., 2017), e diversos complexos já foram sintetizados e tiveram suas propriedades estudadas. A carboplatina [diamino(1,1-ciclobutanodicarboxilato)platina(II)] e a oxaloplatina, *cis*-[1,2(diaminocicloexanooxalato)platina(II)], são exemplos de compostos que já são comercializados, mas que atuam como agentes suplementares no tratamento com cisplatina, pois esses compostos apresentam uma atividade biológica menos intensa (WHEATE et al., 2010).

Dentre os novos compostos sintetizados, destacam-se também os complexos de Pd(II), pois a química de coordenação destes compostos é muito similar à dos íons de Pt(II), os metais apresentam raios iônicos de valores muito similares, geralmente formando complexos de geometria quadrado-planar e, mais raramente, trigonal bipiramidal (GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009). Estudos preliminares envolvendo Pd(II) demonstraram que seus complexos apresentavam parâmetros cinéticos diferentes dos análogos de Pt(II), tendo sido observado ainda que os complexos de Pd(II) são mais reativos que os complexos de Pt(II). Porém, verificou-se uma baixa atividade antitumoral para os complexos de Pd(II), devido aos processos de hidrólise, que promovem a formação de espécies menos reativas, incapazes de

atingir seus alvos farmacológicos (BUTOUR et al., 1997). Entretanto, os estudos mais recentes envolvendo os complexos de paládio têm mostrado que esses problemas podem ser superados, pois eles estão diretamente relacionados ao tamanho, forma e posição dos ligantes (MOSTAFA; BADRIA, 2008; KARAMI et al., 2018; LAVANYA et al., 2018; MANZANO et al., 2018). Dessa forma, alterando tais propriedades é possível reduzir as interações entre os íons metálicos centrais e a água ou outras biomoléculas (KROGUL et al., 2013). Já foi observado que a utilização dos ligantes quelantes bidentados é uma alternativa promissora para suprimir a elevada reatividade dos compostos de Pd(II), pois dessa forma é possível obter compostos menos lábeis e com ação antitumoral mais eficiente (GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

A química de coordenação, que utiliza novos complexos metálicos com bases de Schiff expandiu-se e, atualmente, engloba temas diversificados como, por exemplo, a síntese de supramoléculas, polímeros de coordenação, dispositivos de catálise e armazenamento de oxigênio (CHANTARASIRI et al., 2000). Portanto, esses compostos podem atuar não só como agentes antitumorais, mas também como possíveis biossensores, catalisadores, modulares entre outras aplicações (MA et al., 2013).

Os complexos de outros metais, como, por exemplo, o Zn(II) também vêm sendo estudados, uma vez que eles permitem a formação de complexos estáveis além de executarem papel importante nos sistemas biológicos (LAVANYA et al., 2018). O Zn(II) é um metal largamente encontrado em metaloenzimas devido ao fato, principalmente, de ser classificado como um bom ácido de Lewis, dentro da classe dos metais(II), perdendo apenas para o Cu(II), por apresentar um valor de Nox estável comparado com Cu(II), Fe(II) e Mn(II) e também por originar geometrias de coordenação mais flexíveis que Ni(II) e Mg(II) (MAFRA; COZZOLINO, 2004). O zinco pode facilmente formar uma variedade de complexos estáveis, não só com ligantes *O*-doadores de elétrons, mas, também, com ligantes contendo *N* e *S* como átomos doadores. Nesse sentido, os complexos de zinco mostram-se como compostos promissores para aplicações biológicas.

Dessa forma, foram utilizados no presente trabalho a linhagem celular de câncer de mama (MCF-7), para se avaliar a potencial atividade antitumoral de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos metálicos de zinco(II), paládio(II) e platina(II).

2 CONCLUSÃO

Na primeira etapa desse trabalho foram sintetizadas e caracterizadas bases de Schiff biopoliméricas de quitosana com salicilaldeído e alguns de seus derivados substituídos no carbono 5 do anel aromático (5-metóxi e 5-nitrosalicilaldeído). A partir desses ligantes foram sintetizados os complexos de zinco(II), paládio(II) e platina(II). Os compostos sintetizados foram caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas, analíticas e térmicas. Os resultados demonstraram que as sínteses, a substituição e a complexação foram realizadas de forma satisfatória. O comportamento térmico, tanto de QP quando das bases de Schiff biopoliméricas foram relativamente semelhante, em relação às etapas de decomposição que foram observadas, porém a quitosana substituída com salicilaldeído e derivados demonstrou maior estabilidade térmica que o biopolímero sem modificação. As porcentagens de resíduo obtidas após a decomposição térmica foram utilizadas para se avaliar a quantidade de metal complexada pelas bases de Schiff. Para os complexos da primeira série de sínteses foi verificada uma maior porcentagem de resíduo após a queima para os complexos de platina, seguido de paládio e zinco. As interações metal-base de Schiff biopoliméricas foram evidenciadas também pelos resultados de FTIR, observando-se novas bandas relacionadas às ligações metal-nitrogênio e metal-oxigênio. Medidas de UV-Vis, com as amostras no estado sólido apresentaram bandas relacionadas às transições *d-d* dos complexos de paládio e platina. Além disso, os resultados de DRX também foram utilizados para caracterizar, tanto os resíduos obtidos após a análise térmica dos complexos, quanto para se avaliar a distribuição dos grupos funcionais nos biopolímeros sintetizados. Já as micrografias de MEV, juntamente com as análises de EDS indicaram claramente a presença dos metais na estrutura biopolimérica.

Na segunda etapa do trabalho foi sintetizada uma nova série de bases de Schiff biopoliméricas preparadas com quitosanas com diferentes massas molares (QP e QD), salicilaldeído (grupo hidrofóbico) e glicidol (grupo hidrofílico) produzindo as bases de Schiff biopoliméricas anfifílicas. A partir dessas bases de Schiff biopoliméricas anfifílicas, também foram sintetizados os complexos de zinco(II), paládio(II) e platina(II). Essa segunda série de compostos foi preparada a fim de se avaliar o efeito da presença do grupo hidrofílico glicidol na solubilidade e também o efeito da variação da massa molar nas possíveis aplicações biológicas desses compostos.

Esses novos compostos também foram caracterizados por diferentes técnicas e suas estruturas foram confirmadas por espectroscopia de ^1H -RMN e FTIR. Foi observado aumento na transmitância em função dos valores de pH causado pelo aumento da solubilidade. A

termogravimetria revelou que as bases de Schiff biopoliméricas anfífilas também apresentaram menor estabilidade térmica do que as quitosanas sem modificação.

A percentagem de resíduo inorgânico obtida após a análise termogravimétrica demonstrou que para as bases de Schiff biopoliméricas anfífilas QPSG e QDGS a complexação dos metais ocorreu de forma mais eficiente, pois as porcentagens de resíduos variaram de 10 a 40% para QPSG e QDGS, já para as bases QS, QMeO e QNO₂ foram observados valores entre 5 e 20%. Além disso, para os complexos de paládio e platina a redução da massa molar média das cadeias biopoliméricas aumentou a capacidade de complexação, pois rendimentos de complexação foram maiores para os complexos QDGS do que para QPSG. Todas as demais técnicas utilizadas para caracterizar os compostos sintetizados na primeira etapa foram empregadas para caracterizar os compostos produzidos nessa segunda etapa do trabalho.

Estudos preliminares sobre a atividade microbiológica e a avaliação da citotoxicidade das quitosanas, de todas as bases de Schiff biopoliméricas e dos complexos obtidos foram realizados contra dois agentes patogênicos: a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e o fungo de cereais *Fusarium graminearum*. Além disso, foram utilizadas células de carcinoma de mama MCF-7 na avaliação da viabilidade celular. As bases de Schiff biopoliméricas demonstraram uma atividade antimicrobiana muito melhor do que a quitosana sem modificação. E em geral, todas as bases de Schiff biopoliméricas foram mais eficientes contra as bactérias Gram-negativas testadas, do que contra o fungo. As bases de Schiff biopoliméricas anfífilas exibiram eficiência antibacteriana contra *Pseudomonas syringae*. Já as quitosanas sem modificação QP e QD exibiram melhor atividade antifúngica contra o fungo *Fusarium graminearum*. Os valores obtidos de IC₅₀ inferiores a 24 µg mL⁻¹, enquanto que para as quitosanas modificadas foram observados valores maiores de IC₅₀ nesses ensaios.

Os complexos sintetizados assim como as bases de Schiff biopoliméricas demonstraram atividade antibacteriana eficiente contra a bactéria Gram-negativa testada, porém para o fungo *Fusarium graminearum* a atividade foi limitada e, para alguns complexos, ineficiente. Isso evidencia que diferentes mecanismos de interação entre os compostos sintetizados e os microrganismos testados. Sendo assim, pode-se concluir que a morfologia dos microrganismos testados está diretamente relacionada com o principal mecanismo de ação o qual é responsável por uma efetiva atividade antimicrobiana.

Em relação à avaliação da citotoxicidade, as bases de Schiff biopoliméricas apresentaram maior efeito citotóxico contra as células de carcinoma de mama MCF-7 do que a quitosana. Para QPSG e QDGS a percentagem de viabilidade celular obtida foi em torno de 35%, mesmo em concentrações menores. Os ensaios antitumorais mostraram que todos os complexos, incluindo os de zinco, apresentaram eficiência antitumoral significativa em concentrações mais elevadas ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$). Interessante ressaltar que em baixas concentrações ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$) os complexos de zinco apresentaram baixa toxicidade, pois a percentagem da viabilidade relativa obtida foi em torno de 80%. Os complexos de paládio e platina apresentam o mesmo perfil de atividade, ou seja, com o aumento da concentração foi observado um aumento na toxicidade. Porém, mesmo em menor concentração, os complexos apresentaram significativa redução da viabilidade celular. Os complexos de platina foram ligeiramente mais citotóxicos que os de paládio para as células MCF-7 testadas. Portanto, pode-se concluir que quitosanas substituídas apresentam potencial para agirem como ligantes, na complexação de metais de transição, uma vez que, tanto os ligantes, quanto os complexos, foram caracterizados por diferentes técnicas e todas demonstram de alguma forma que a substituição ocorreu de forma satisfatória.

A funcionalização da quitosana com salicilaldeído e glicidol melhorou a solubilidade das bases Schiff biopoliméricas e contribuiu sinergicamente para potencializar a complexação dos metais. Além disso, de forma geral as bases de Schiff biopoliméricas e os respectivos complexos apresentaram atividade microbiológica mais significativa contra a bactéria *Pseudomonas syringae* do que contra do fungo *Fusarium graminearum*, devido às diferenças morfológicas entre os microrganismos. Assim, é importante manter um balanço entre o caráter hidrofílico e hidrofóbico dos polímeros, dependendo do microrganismo alvo. Sendo assim, esses resultados permitem concluir que, tanto as bases de Schiff biopoliméricas, quanto os complexos preparados apresentam potencial interessante para atuarem em diferentes aplicações biológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, S. M.; ZAYED, M. A.; MOHAMED, G. G. Synthesis and spectroscopic characterization of new tetradentate Schiff base and its coordination compounds of *NOON* donor atoms and their antibacterial and antifungal activity. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 103–113, 2010.
- ABDELWAHAB, H. E.; HASSAN, S. Y.; YACOUT, G. A.; MOSTAFA, M. A.; EL SADEK, M. M. Synthesis and biological evaluation of new imine-and amino-chitosan derivatives. **Polymers**, v. 7, n. 12, p. 2690–2700, 2015.
- ABREU, F. R.; CURTI, E.; BRITO, D.; CARDOSO, M. B.; CAVALHEIRO, E. T. G.; CAMPANA-FILHO, S. P. Polyelectrolyte derivatives of chitosan: Preparation and characterization of *N,N,N*-trimethylchitosan and *N,O*-carboxymethylchitosan. In: JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M. (Ed.). **Current research and developments on chitin and chitosan in biomaterials science**. 2. ed. Kerala: Research Signpost, 2009. p. 107–176.
- ALI, O. A. M. M. Synthesis, spectroscopic, fluorescence properties and biological evaluation of novel Pd(II) and Cd(II) complexes of *NOON* tetradentate Schiff bases. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 121, p. 188–195, 2014.
- ALLAN, C. R.; HADWIGER, L. A. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. **Experimental Mycology**, v. 3, n. 3, p. 285–287, 1979.
- ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; DE JONGH, D. C.; JOHNSON, C.R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Química orgânica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 961 p.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer Facts & Figures 2016**. 2018. p. 1–71.
Disponível em: < <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2016.html> >. Acesso em: 07 fev. 2018.
- ANAN, N. A.; HASSAN, S. M.; SAAD, E. M.; BUTLER, I. S.; MOSTAFA, S. I. Preparation, characterization and pH-metric measurements of 4-hydroxysalicylidenechitosan Schiff-base complexes of Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Ru(III), Rh(III), Pd(II) and Au(III). **Carbohydrate Research**, v. 346, n. 6, p. 775–793, 2011.
- ANITHA, A.; MAYA, S.; DEEPA, N.; CHENNAZHI, K. P.; NAIR, S. V.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Efficient water soluble *O*-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 452–461, 2011.
- ANTONY, R.; DAVID, S. T.; SARAVANAN, K.; KARUPPASAMY, K.; BALAKUMAR, S. Synthesis, spectrochemical characterisation and catalytic activity of transition metal complexes derived from Schiff base modified chitosan. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 103, p. 423–430, 2013.
- AYDIN, C.; ABD EL-SADEK, M. S.; ZHENG, K.; YAHIA, I. S.; YAKUPHANOGLU, F. Synthesis, diffused reflectance and electrical properties of nanocrystalline Fe-doped ZnO via sol-gel calcination technique. **Optics & Laser Technology**, v. 48, p. 447–452, 2013.

- BADAWY, M. E. I.; RABEA, E. I. A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 2011, p. 1–29, 2011.
- BARAN, T.; INANAN, T.; MENTEŞ, A. Synthesis, characterization, and catalytic activity in Suzuki coupling and catalase-like reactions of new chitosan supported Pd catalyst. **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 20–29, 2016.
- BARAN, T.; MENTEŞ, A. Microwave assisted synthesis of biaryls by C-C coupling reactions with a new chitosan supported Pd(II) catalyst. **Journal of Molecular Structure**, v. 1122, p. 111–116, 2016.
- BARAN, T.; MENTEŞ, A. Construction of new biopolymer (chitosan)-based pincer-type Pd(II) complex and its catalytic application in Suzuki cross coupling reactions. **Journal of Molecular Structure**, v. 1134, n. Supplement C, p. 591–598, 2017.
- BARBOSA, H. F. G.; LIMA, A. M. F.; TABOGA, S. R.; FERNANDES, J. C.; TIERA, V. A. O.; TIERA, M. J. Synthesis and self-assembly study of zwitterionic amphiphilic derivatives of chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 44, p. 1–9, 2016.
- BEHESHTI, F.; HASSANIAN, S. M.; KHAZAEI, M.; HOSSEINI, M.; SHAHIDSALES, S.; HASANZADEH, M.; MAFTOUH, M.; FERNS, G. A.; AVAN, A. Genetic variation in the DNA Repair pathway as a potential determinant of response to platinum-based chemotherapy in breast cancer. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 4, p. 2752–2758, 2017.
- BOWMAN, S. M.; FREE, S. J. The structure and synthesis of the fungal cell wall. **BioEssays**, v. 28, n. 8, p. 799–808, 2006.
- BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F. M.; ARGÜELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, v. 42, n. 8, p. 3569–3580, 2001.
- BRUNEL, F.; EL GUEDDARI, N. E.; MOERSCHBACHER, B. M. Complexation of copper(II) with chitosan nanogels: Toward control of microbial growth. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1348–1356, 2013.
- BUTOUR, J. L.; WIMMER, S.; WIMMER, F.; CASTAN, P. Palladium(II) compounds with potential antitumour properties and their platinum analogues: a comparative study of the reaction of some orotic acid derivatives with DNA *in vitro*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 104, n. 2–3, p. 165–178, 1997.
- CAO, Y.; DING, Y.; ZHANG, L.; SHI, G.; SANG, X.; NI, C. Preparation of surface-modified, micrometer-sized carboxymethyl chitosan drug-loaded microspheres. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 4, p. 1–7, 2018.
- CAPANEMA, N. S. V.; MANSUR, A. A. P.; DE JESUS, A. C.; CARVALHO, S. M.; DE OLIVEIRA, L. C.; MANSUR, H. S. Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-PEG hydrogels for potential wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 1218–1234, 2018.
- CARDENAS, T. G.; BERNAL, A. L.; TAGLE, D. L. Thermogravimetric studies of chitosan derivatives. **Thermochimica Acta**, v. 195, n. C, p. 33–38, 1992.

CARDOSO, L.; MICAELLO, N. M. DNA molecular solvation in neat ionic liquids. **ChemPhysChem**, v. 12, n. 2, p. 275–277, 2011.

CAVALHEIRO, E. T. G.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAMPANA FILHO, S. P. Chitosan-Schiff bases: preparation and applications. In: JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M. (Ed.). **Current research and development on chitin and chitosan in biomaterials science**. Kerala: Research Signpost, 2009. p. 89–106.

CAVALHEIRO, E. T. G.; LEMOS, F. C. D.; SCHPECTOR, J. Z.; DOCKAL, E. R. The thermal behaviour of nickel, copper and zinc complexes with the Schiff bases cis-and trans-*N*, *N'*-bis (salicylidene)-1,2- ciclohexadiamine (Salcn). **Thermochimica Acta**, v. 370, p. 129–133, 2001.

CHANTARASIRI, N.; TUNTULANI, T.; TONGRAUNG, P.; SEANGPRASERTKIT-MAGEE, R.; WANNARONG, W. New metal-containing epoxy polymers from diglycidyl ether of bisphenol A and tetradentate Schiff base metal complexes. **European Polymer Journal**, v. 36, n. 4, p. 695–702, 2000.

CIMERMAN, Z.; GALIC, N.; BOSNER, B. The Schiff bases of salicylaldehyde and aminopyridines as highly sensitive analytical reagents. **Analytica Chimica Acta**, v. 343, n. 1–2, p. 145–153, 1997.

CLARKE, R. M.; HERASYMCHUK, K.; STORR, T. Electronic structure elucidation in oxidized metal–salen complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 352, p. 67–82, 2017.

COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. **Introduction to infrared and Raman spectroscopy**. 3th. ed. San Diego: Academic Press, 1990. 547 p.

COMŞA, Ş.; CÎMPEAN, A. M.; RAICA, M. The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 years of experience in research. **Anticancer Research**, v. 35, n. 6, p. 3147–3154, 2015.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p. 1061–1085, 2006.

DA SILVA, S. B.; FERREIRA, D.; PINTADO, M.; SARMENTO, B. Chitosan-based nanoparticles for rosmarinic acid ocular delivery-*in vitro* tests. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p. 112–120, 2016.

DE ABREU, F. R.; CAMPANA-FILHO, S. P. Characteristics and properties of carboxymethylchitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 2, p. 214–221, 2009.

DE ARAUJO, E. L.; BARBOSA, H. F. G.; DOCKAL, E. R.; CAVALHEIRO, E. T. G. Synthesis, characterization and biological activity of Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of biopolymeric Schiff bases of salicylaldehydes and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 168–176, 2017.

DESBRIÈRES, J.; MARTINEZ, C.; RINAUDO, M. Hydrophobic derivatives of chitosan: Characterization and rheological behaviour. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 19, n. 1, p. 21–28, 1996.

DOS SANTOS, J. E.; DOCKAL, E. R.; CAVALHEIRO, E. T. G. Synthesis and characterization of Schiff bases from chitosan and salicylaldehyde derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 3, p. 277–282, 2005.

- DUAN, C.; TIAN, Y.; LIU, Z.; YOU, X.; MAK, T. C. W. Syntheses , electrochemistry and crystal structure studies of novel *cis*-configuration biferrocene trinuclear complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 570, p. 155–162, 1998.
- DUTTA, J.; TRIPATHI, S.; DUTTA, P. K. Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: A systematic study needs for food applications. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 1, p. 3–34, 2011.
- EL-SHERBINY, I.; SALIH, E.; REICHA, F.; EL-SHERBINY, I.; SALIH, E.; REICHA, F. New trimethyl chitosan-based composite nanoparticles as promising antibacterial agents. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, n. 5, p. 720–729, 2016.
- ELSHAARAWY, R. F. M.; REFAEE, A. A.; EL-SAWI, E. A. Pharmacological performance of novel poly-(ionic liquid)-grafted chitosan-*N*-salicylidene Schiff bases and their complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 376–387, 2016.
- EWEIS, M.; ELKHOLY, S. S.; ELSABEE, M. Z. Antifungal efficacy of chitosan and its thiourea derivatives upon the growth of some sugar-beet pathogens. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 38, n. 1, p. 1–8, 2006.
- FELICIO, R. C.; DA SILVA, G. A.; CERIDORIO, L. F.; DOCKAL, E. R. Tetradentate Schiff Base Copper(II) Complexes. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, v. 29, n. 2, p. 171–192, 1999.
- FONTES, A. P. S.; DE ALMEIDA, S. G.; NADER, L. D. A. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Química Nova**, v. 20, n. 4, p. 398–406, 1997.
- FOSTER, L. J. R.; HO, S.; HOOK, J.; BASUKI, M.; MARÇAL, H. Chitosan as a biomaterial: Influence of degree of deacetylation on its physiochemical, material and biological properties. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. e0135153, 2015.
- GADD, G. M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. **Mycological Research**, v. 111, n. 1, p. 3–49, 2007.
- GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 9–10, p. 1384–1397, 2009.
- GAVALYAN, V. B. Synthesis and characterization of new chitosan-based Schiff base compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 145, n. Supplement C, p. 37–47, 2016.
- GERMERSHAUS, O.; MAO, S.; SITTERBERG, J.; BAKOWSKY, U.; KISSEL, T. Gene delivery using chitosan , trimethyl chitosan or polyethylenglycol-graft-trimethyl chitosan block copolymers: Establishment of structure – activity relationships *in vitro*. **Journal of Controlled Release**, v. 125, p. 145–154, 2008.
- GOLCU, A.; TUMER, M.; DEMIRELLI, H.; WHEATLEY, R. A. Cd(II) and Cu(II) complexes of polydentate Schiff base ligands: Synthesis, characterization, properties and biological activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 358, n. 6, p. 1785–1797, 2005.
- GORDON, T. R.; MARTYN, R. D. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 111–128, 1997.

GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros**, v. 19, n. 3, p. 241–247, 2009.

GUINESI, L. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influence of some reactional parameters on the substitution degree of biopolymeric Schiff bases prepared from chitosan and salicylaldehyde. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, n. 4, p. 557–561, 2006.

GUO, C.; ZHOU, L.; LV, J. Effects of expandable graphite and modified ammonium polyphosphate on the flame-retardant and mechanical properties of wood flour-polypropylene composites. **Polymers and Polymer Composites**, v. 21, n. 7, p. 449–456, 2013.

GUOFA, L.; TONGSHUN, S.; YONGNIAN, Z. Infrared and raman spectra of complexes about rare earth nitrate with Schiff base from o-vanillin and 1-naphthylamine. **Journal of Molecular Structure**, v. 412, n. 1–2, p. 75–81, 1997.

HAN, T. Y.; GUAN, T. S.; IQBAL, M. A.; HAQUE, R. A.; SHARMILA RAJESWARI, K.; KHADEER AHAMED, M. B.; ABDUL MAJID, A. M. S. Synthesis of water soluble copper(II) complexes: Crystal structures, DNA binding, oxidative DNA cleavage, and *in vitro* anticancer studies. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, n. 5, p. 2347–2359, 2014.

HARISH PRASHANTH, K. V.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 3, p. 117–131, 2007.

HE, C.; YIN, L.; TANG, C.; YIN, C. Trimethyl chitosan-cysteine annoparticles for systemic delivery of TNF- α siRNA via oral and intraperitoneal routes. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 10, p. 2596–2606, 2013.

HELANDER, I. M.; VON WRIGHT, A.; MATTILA-SANDHOLM, T. M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobial against Gram-negative bacteria. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 5, p. 146–150, 1997.

HIRANO, S. Producing and application of chitin and chitosan in Japan. In: BRAEK, S.; ANTHOSEN, T.; SANDFOD, P. A. (Ed.). **Chitin and chitosan: sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications**. New York: Elsevier Applied Science, 1988. p. 37–43.

HIRANO, S.; NAGAMURA, K.; ZHANG, M.; KIM, S. K.; CHUNG, B. G.; YOSHIKAWA, M.; MIDORIKAWA, T. Chitosan staple fibers and their chemical modification with some aldehydes. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 4, p. 293–298, 1999.

HU, F.-Q.; MENG, P.; DAI, Y.-Q.; DU, Y.-Z.; YOU, J.; WEI, X.-H.; YUAN, H. PEGylated chitosan-based polymer micelle as an intracellular delivery carrier for anti-tumor targeting therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 3, p. 749–757, 2008.

HU, H.; TANG, C.; YIN, C. Folate conjugated trimethyl chitosan / graphene oxide nanocomplexes as potential carriers for drug and gene delivery. **Materials Letters**, v. 125, p. 82–85, 2014.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). **Compendium of chemical terminology**: Gold book, version 2.3.33, 2014. 1670 p. Disponível em: <<https://goldbook.iupac.org/>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

- JAIVIDHYA, P.; DHIVYA, R.; AKBARSHA, M. A.; PALANIANDAVAR, M. Efficient DNA cleavage mediated by mononuclear mixed ligand copper(II) phenolate complexes: The role of co-ligand planarity on DNA binding and cleavage and anticancer activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 114, p. 94–105, 2012.
- JIAO, T.; LI, X.; ZHANG, Q.; DUAN, P.; ZHANG, L.; LIU, M.; LUO, X.; LI, Q.; GAO, F. Interfacial assembly of a series of trigonal Schiff base amphiphiles in organized molecular films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 407, p. 108–115, 2012.
- JIN, X.; WANG, J.; BAI, J. Synthesis and antimicrobial activity of the Schiff base from chitosan and citral. **Carbohydrate Research**, v. 344, n. 6, p. 825–829, 2009.
- KAKANEJADIFARD, A.; ESNA-ASHARI, F.; HASHEMI, P.; ZABARDASTI, A. Synthesis and characterization of an azo dibenzoic acid Schiff base and its Ni(II), Pb(II), Zn(II) and Cd(II) complexes. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 106, n. Supplement C, p. 80–85, 2013.
- KARAMI, K.; RAFIEE, M.; LIGHVAN, Z. M.; ZAKARIAZADEH, M.; FAAL, A. Y.; ESMAEILI, S. A.; MOMTAZI-BOROJENI, A. A. Synthesis, spectroscopic characterization and in vitro cytotoxicities of new organometallic palladium complexes with biologically active β -diketones; biological evaluation probing of the interaction mechanism with DNA/Protein and molecular docking. **Journal of Molecular Structure**, v. 1154, p. 480–495, 2018.
- KAVITHA, P.; LAXMA REDDY, K. Synthesis, spectral characterisation, morphology, biological activity and DNA cleavage studies of metal complexes with chromone Schiff base. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, n. 4, p. 596–605, 2016.
- KHOR, E.; LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2339–2349, 2003.
- KING, C. A.; SHAMSHINA, J. L.; ZAVGORODNYA, O.; CUTFIELD, T.; BLOCK, L. E.; ROGERS, R. D. Porous chitin microbeads for more sustainable cosmetics. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 12, p. 11660–11667, 2017.
- KOHLHOFF, M.; NIEHUES, A.; WATTJES, J.; BÉNÉTEAU, J.; CORD-LANDWEHR, S.; EL GUEDDARI, N. E.; BERNARD, F.; RIVERA-RODRIGUEZ, G. R.; MOERSCHBACHER, B. M. Chitinosanase: A fungal chitosan hydrolyzing enzyme with a new and unusually specific cleavage pattern. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 1121–1128, 2017.
- KONG, M.; CHEN, X. G.; XING, K.; PARK, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51–63, 2010.
- KROGUL, A.; CEDROWSKI, J.; WIKTORSKA, K.; OZIMINSKI, W. P.; SKUPIŃSKA, J.; LITWINIENKO, G. Biological activity of Pd(II) complexes with mono and disubstituted pyridines - experimental and theoretical studies. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 9, p. 2765–2768, 2013.
- KSA ANALYTICAL SYSTEMS. **MDIJADE 5.0**. Livermore, 2010. Programa de computador.

- KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1–27, 2000.
- KUMAR, M. N. V. R.; MUZZARELLI, R. A. A.; MUZZARELLI, C.; SASHIWA, H.; DOMB, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6017–6084, 2004.
- KUMIRSKA, J.; CZERWICKA, M.; KACZYŃSKI, Z.; BYCHOWSKA, A.; BRZOZOWSKI, K.; THÖMING, J.; STEPNOWSKI, P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. **Marine Drugs**, v. 8, n. 5, p. 1567–1636, 2010.
- LAL, S.; ARORA, S.; SHARMA, C. Synthesis, thermal and antimicrobial studies of some Schiff bases of chitosan. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 124, n. 2, p. 909–916, 2016.
- LAVANYA, M.; JAGADEESH, M.; HARIBABU, J.; KARVEMBU, R.; RASHMI, H. K.; UMA MAHESWARI DEVI, P.; VARADA REDDY, A. Synthesis, crystal structure, DNA binding and antitumor studies of β -diketonate complexes of divalent copper, zinc and palladium. **Inorganica Chimica Acta**, v. 469, p. 76–86, 2018.
- LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQUI, A. N. N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.; WANG, D.; BUSCHMANN, M. D. D.; GUPTA, A. A validated ^1H -NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 32, n. 6, p. 1149–1158, 2003.
- LIU, W.; QIN, Y.; LIU, S.; XING, R.; YU, H.; CHEN, X.; LI, K.; LI, P. Synthesis, characterization and antifungal efficacy of C-coordinated *O*-carboxymethyl chitosan Cu(II) complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 160, n. Supplement C, p. 97–105, 2017.
- LOGITHKUMAR, R.; KESHAVNARAYAN, A.; DHIVYA, S.; CHAWLA, A.; SARAVANAN, S.; SELVAMURUGAN, N. A review of chitosan and its derivatives in bone tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 172–188, 2016.
- LOZANO, M. V.; TORRECILLA, D.; TORRES, D.; VIDAL, A.; DOMÍNGUEZ, F.; ALONSO, M. J. Highly efficient system to deliver taxanes into tumor cells: Docetaxel-loaded chitosan oligomer colloidal carriers. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 8, p. 2186–2193, 2008.
- MA, D. Y.; ZHANG, L. X.; RAO, X. Y.; WU, T. L.; LI, D. H.; XIE, X. Q. Synthesis, characterization, luminescence, antibacterial, and catalytic activities of a palladium(II) complex involving a Schiff base. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 66, n. 9, p. 1486–1496, 2013.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 79–87, 2004.
- MANDAPALLI, P. K.; LABALA, S.; CHAWLA, S.; JANUPALLY, R.; SRIRAM, D.; VENUGANTI, V. V. K. Polymer-gold nanoparticle composite films for topical application: Evaluation of physical properties and antibacterial activity. **Polymer Composites**, 2015.

- MANZANO, C. M.; BERGAMINI, F. R. G.; LUSTRI, W. R.; RUIZ, A. L. T. G.; DE OLIVEIRA, E. C. S.; RIBEIRO, M. A.; FORMIGA, A. L. B.; CORBI, P. P. Pt(II) and Pd(II) complexes with ibuprofen hydrazide: Characterization, theoretical calculations, antibacterial and antitumor assays and studies of interaction with CT-DNA. **Journal of Molecular Structure**, v. 1154, p. 469–479, 2018.
- MARIN, L.; AILINCAI, D.; MARES, M.; PASLARU, E.; CRISTEA, M.; NICA, V.; SIMIONESCU, B. C. Imino-chitosan biopolymeric films. Obtaining, self-assembling, surface and antimicrobial properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 762–770, 2015.
- MAYER, G.; SARIKAYA, M. Rigid biological composite materials: Structural examples for biomimetic design. **Experimental Mechanics**, v. 42, n. 4, p. 395–403, 2002.
- MIRETZKY, P.; CIRELLI, A. F. Hg(II) removal from water by chitosan and chitosan derivatives: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1, p. 10–23, 2009.
- MOISE, M.; SUNEL, V.; HOLBAN, M.; POPA, M.; DESBRIERES, J.; PEPTU, C.; LIONTE, C. Double crosslinked chitosan and gelatin submicronic capsules entrapping aminoacid derivatives with potential antitumoral activity. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 23, p. 8223–8233, 2012.
- MOORE, G. K.; ROBERTS, G. A. F. Reactions of chitosan: 3. Preparation and reactivity of Schiff's base derivatives of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 3, n. 5, p. 337–340, 1981.
- MOSTAFA, S. I. Synthesis, characterization and antineoplastic activity of 5-chloro-2,3-dihydropyridine transition metal complexes. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 61, n. 10, p. 1553–1567, 20 maio 2008.
- MOSTAFA, S. I.; BADRIA, F. A. Synthesis, spectroscopic, and anticancerous properties of mixed ligand palladium(II) and silver(I) complexes with 4,6-diamino-5-hydroxy-2-mercaptopyrimidine and 2,2'-bipyridyl. **Metal-Based Drugs**, v. 2008, p. 723634, 8 abr. 2008.
- MOURYA, V. K.; INAMDAR, N. N. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. **Reactive and Functional Polymers**, v. 68, n. 6, p. 1013–1051, 2008.
- MULHAUPT, R. International historic chemical landmark: the fundation of polymer science by herman staudinger (1881-1965). **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 200, n. 8, p. U5–U8, 1999.
- MUZZARELLI, R. A. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 167–182, 2009.
- MUZZARELLI, R. A. A.; BOUDRANT, J.; MEYER, D.; MANNO, N.; DEMARCHIS, M.; PAOLETTI, M. G. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: a tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 995–1012, 2012.
- MUZZARELLI, R. A. A.; TANFANI, F. The N-permethylation of chitosan and the preparation of N-trimethyl chitosan iodide. **Carbohydrate Polymers**, v. 5, n. 4, p. 297–307, 1985.

MUZZARELLI, R.; TARSI, R.; FILIPPINI, O.; GIOVANETTI, E.; BIAGINI, G.; VARALDO, P. E. Antimicrobial properties of *N*-carboxybutyl chitosan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 34, n. 10, p. 2019–2023, 1990.

NAGESH, G. Y.; MAHENDRA RAJ, K.; MRUTHYUNJAYASWAMY, B. H. M. Synthesis, characterization, thermal study and biological evaluation of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of Schiff base ligand containing thiazole moiety. **Journal of Molecular Structure**, v. 1079, p. 423–432, 2015.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**: Part A: Theory and Applications in inorganic chemistry. 6th. ed. New York: John Wiley, 2008. p. 424.

NICOLAISEN, M.; SUPRONIENE, S.; NIELSEN, L. K.; LAZZARO, I.; SPLIID, N. H.; JUSTESEN, A. F. Real-time PCR for quantification of eleven individual *Fusarium* species in cereals. **Journal of Microbiological Methods**, v. 76, n. 3, p. 234–240, 2009.

OLIVEIRA, F. P. P.; PICOLA, I. P. D.; SHI, Q.; BARBOSA, H. F. G.; TIERA, V. . A. O.; FERNANDES, J. C.; TIERA, M. J. Synthesis and evaluation of diethylethylamine-chitosan for gene delivery: Composition effects on the in vitro transfection efficiency. **Nanotechnology**, v. 24, n. 5, p. 55101, 2013.

OLIVEIRA E.N.J.; GUEDDARI N.E EL; MOERSCHBACHER B.M.; FRANCO T.T. Growth rate inhibition of phytopathogenic fungi by characterized chitosans. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 800–809, 2012.

PATRULEA, V.; APPELEGATE, L. A.; OSTAFE, V.; JORDAN, O.; BORCHARD, G. Optimized synthesis of *O*-carboxymethyl-*N,N,N*-trimethyl chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 46–52, 2015.

PAVINATTO, A.; SOUZA, A. L.; DELEZUK, J. A. M.; PAVINATTO, F. J.; CAMPANA-FILHO, S. P.; OLIVEIRA, O. N. Interaction of *O*-acylated chitosans with biomembrane models: Probing the effects from hydrophobic interactions and hydrogen bonding. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 114, p. 53–59, 2014.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles. **Journal of Chemical Education**, v. 45, n. 9, p. 581, 1968.

PEDRO, R. O.; PEREIRA, S.; GOYCOOLEA, F. M.; SCHMITT, C. C.; NEUMANN, M. G. Self-aggregated nanoparticles of *N*-dodecyl, *N'*-glycidyl(chitosan) as pH-responsive drug delivery systems for quercetin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 2, p. 45678–n/a, 2018a.

PEDRO, R. O.; SCHMITT, C. C.; CAVALHEIRO, E. T. G.; NEUMANN, M. G. Thermal analysis of amphiphilic quaternary ammonium chitosan derivatives. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, 2018b.

PETER, M. G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. **Journal of Macromolecular Science, Part A**, v. 32, n. 4, p. 629–640, 1995.

PILLAI, C. K. S. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 7, p. 641–678, 2009.

- QUIROGA, A. G.; PÉREZ, J. M.; LÓPEZ-SOLERA, I.; MASAGUER, J. R.; LUQUE, A.; ROMÁN, P.; EDWARDS, A.; ALONSO, C.; NAVARRO-RANNINGER, C. Novel tetranuclear orthometalated complexes of Pd(II) and Pt(II) derived from p-isopropylbenzaldehyde thiosemicarbazone with cytotoxic activity in cis-DDP resistant tumor cell lines interaction of these complexes with DNA. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 9, p. 1399–1408, 1998.
- QUIROGA, A. G.; RAMOS-LIMA, F. J.; ALVAREZ-VALDÉS, A.; FONT-BARDÍA, M.; BERGAMO, A.; SAVA, G.; NAVARRO-RANNINGER, C. Synthesis, characterization and tumor cell growth inhibition of new trans platinum complexes with phosphane derivatives. **Polyhedron**, v. 30, n. 10, p. 1646–1650, 2011.
- RAAFAT, D.; SAHL, H. G. Chitosan and its antimicrobial potential - a critical literature survey. **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 2, special issue, p. 186–201, 2009.
- RAAFAT, D.; VON BARGEN, K.; HAAS, A.; SAHL, H.-G. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 12, p. 3764–3773, 2008.
- RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.-T.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457–1465, 2003.
- RAHMANI, S.; MOHAMMADI, Z.; AMINI, M.; ISAEI, E.; TAHERITARIGH, S.; RAFIEE TEHRANI, N.; RAFIEE TEHRANI, M. Methylated 4-N,N dimethyl aminobenzyl N,O carboxymethyl chitosan as a new chitosan derivative: Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 131–139, 2016.
- REMYA, S.; MOHAN, C. O.; BINDU, J.; SIVARAMAN, G. K.; VENKATESHWARLU, G.; RAVISHANKAR, C. N. Effect of chitosan based active packaging film on the keeping quality of chilled stored barracuda fish. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 685–693, 2016.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603–632, 2006.
- SAHOO, S.; SASMAL, A.; NANDA, R.; PHANI, A. R.; NAYAK, P. L. Synthesis of chitosan–polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 1, p. 106–113, 2010.
- SALAMA, H. E.; SAAD, G. R.; SABAA, M. W. Synthesis, characterization and biological activity of Schiff bases based on chitosan and arylpyrazole moiety. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 996–1003, 2015.
- SÁNCHEZ, N. S.; KÖNIGSBERG, M. Using yeast to easily determine mitochondrial functionality with 1-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 34, n. 3, p. 209–212, 2006.
- SANTOS, J. E. Dos; SOARES, J. D. P.; DOCKAL, E. R.; CAMPANA FILHO, S. P.; CAVALHEIRO, É. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros**, v. 13, n. 4, p. 242–249, 2003.

- SHARMA, D.; SINGH, J. Synthesis and characterization of fatty acid grafted chitosan polymer and their nanomicelles for nonviral gene delivery applications. **Bioconjugate Chemistry**, v. 28, n. 11, p. 2772–2783, 2017.
- SHI, C.; ZHU, Y.; RAN, X.; WANG, M.; SU, Y.; CHENG, T. Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. **Journal of Surgical Research**, v. 133, n. 2, p. 185–192, 2006.
- SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics. **CA: Cancer Journal for Clinicians**, v. 66, n. 1, p. 7–30, 2016.
- SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. On the preparation and characterization of chitosan hydrochloride. **Polymer Bulletin**, v. 42, p. 159–166, 1999.
- SINHA, V. R.; SINGLA, A. K.; WADHAWAN, S.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; BANSAL, K.; DHAWAN, S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, n. 1, p. 1–33, 2004.
- SOARES, P. I. P.; SOUSA, A. I.; SILVA, J. C.; FERREIRA, I. M. M.; NOVO, C. M. M.; BORGES, J. P. Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems for doxorubicin: Optimization and modelling. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 304–312, 2016.
- SONG, Y.; TANG, C.; YIN, C. Enhanced antitumor efficacy of arginine modified amphiphilic nanoparticles co-delivering doxorubicin and iSur-pDNA via the multiple synergistic effect. **Biomaterials**, v. 150, p. 1–13, 2018.
- TAHIR, N.; BHATTI, H. N.; IQBAL, M.; NOREEN, S. Biopolymers composites with peanut hull waste biomass and application for Crystal Violet adsorption. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 210–220, 2017.
- TEIXEIRA, M. F. S.; MARINO, G.; DOCKAL, E. R.; CAVALHEIRO, E. T. G. Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B6) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)-Salen complex. **Analytica Chimica Acta**, v. 508, n. 1, p. 79–85, 2004.
- TEZGEL, Ö.; SZARPAK-JANKOWSKA, A.; ARNOULD, A.; AUZÉLY-VELTY, R.; TEXIER, I. Chitosan-lipid nanoparticles (CS-LNPs): Application to siRNA delivery. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 510, p. 45–56, 2018.
- TIDWELL, T. T. Hugo (Ugo) Schiff, Schiff bases, and a century of β -lactam synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 47, n. 6, p. 1016–1020, 2008.
- TIERA, M. J.; QIU, X.-P.; BECHAOUCH, S.; SHI, Q.; FERNANDES, J. C.; WINNIK, F. M. Synthesis and characterization of phosphorylcholine-substituted chitosans soluble in physiological pH conditions. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 11, p. 3151–3156, 2006.
- TIERA, M. J.; SHI, Q.; BARBOSA, H. F. G.; FERNANDES, J. C. Polymeric systems as nanodevices for siRNA delivery. **Current Gene Therapy**, v. 13, n. 5, p. 358–69, 2013.
- TIRKISTANI, F. A. A. Thermal analysis of some chitosan Schiff bases. **Polymer Degradation and Stability**, v. 60, n. 1, p. 67–70, 1998.
- TOMMERAAS, K.; VARUM, K. M.; CHRISTENSEN, B. E.; SMIDSRØD, O. Preparation and characterization of oligosaccharides produced by nitrous acid depolymerization of chitosan. **Carbohydrate Research**, v. 333, p. 137–144, 2001.

- UPADHYAYA, L.; SINGH, J.; AGARWAL, V.; TEWARI, R. P. Biomedical applications of carboxymethyl chitosans. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 452–466, 2013.
- VARMA, A. J.; DESHPANDE, S. V.; KENNEDY, J. F. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, n. 1, p. 77–93, 2004.
- VERLEE, A.; MINCKE, S.; STEVENS, C. V. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, n. Supplement C, p. 268–283, 2017.
- WANG, X.; DU, Y.; FAN, L.; LIU, H.; HU, Y. Chitosan- metal complexes as antimicrobial agent: Synthesis, characterization and Structure-activity study. **Polymer Bulletin**, v. 55, n. 1–2, p. 105–113, 2005.
- WHEATE, N. J.; WALKER, S.; CRAIG, G. E.; OUN, R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Transactions**, v. 39, p. 8113–8127, 2010.
- WU, X. W.; XIONG, Y. Preparation and characteristics of novelty chitosan schiff base and its zinc complexes. **Advanced Materials Research**, v. 239–242, p. 1364–1367, 2011.
- WU, Z.-Y.; XU, D.-J.; FENG, Z.-X. Synthesis and catalytic properties of a Ni(II) complex with tetraglycol aldehyde bis(methionine) Schiff base. **Polyhedron**, v. 20, n. 3, p. 281–284, 2001.
- XIA, W.; LIU, P.; ZHANG, J.; CHEN, J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 2, p. 170–179, 2011.
- XIN, X.-F.; HE, S. Y. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000: A model pathogen for probing disease susceptibility and hormone ignaling in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, n. 1, p. 473–498, 2013.
- XU, R.; AOTEGEN, B.; ZHONG, Z. Synthesis, characterization and biological activity of C6-Schiff bases derivatives of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, Part, p. 1563–1571, dez. 2017.
- YIN, X.; CHEN, J.; YUAN, W.; LIN, Q.; JI, L.; LIU, F. Preparation and antibacterial activity of Schiff bases from *O*-carboxymethyl chitosan and para-substituted benzaldehydes. **Polymer Bulletin**, v. 68, n. 5, p. 1215–1226, 2012.
- ZHANG, Y.; XUE, C.; XUE, Y.; GAO, R.; ZHANG, X. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 11, p. 1914–1917, 2005.
- ZHONG, Q.; TIAN, J.; LIU, T.; GUO, Z.; DING, S.; LI, H. Preparation and antibacterial properties of carboxymethyl chitosan/ZnO nanocomposite microspheres with enhanced biocompatibility. **Materials Letters**, v. 212, p. 58–61, 2018.
- ZHOU, H.; YU, W.; GUO, X.; LIU, X.; LI, N.; ZHANG, Y.; MA, X. Synthesis and characterization of amphiphilic glycidol–chitosan–deoxycholic acid nanoparticles as a drug carrier for doxorubicin. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 12, p. 3480–3486, 2010.