INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA DIFENILCARBAZONA E DO SEU COMPLEXO DE Co (II) UTILIZANDO *Aspergillus niger*.

Ana Mena Barreto Bastos[1], Sônia Maria de Melo Lima[2], André da Silva Sampaio[3]

[1]Prof. Drª / Orientadora - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas- IFAM
[2] Prof. Drª / Co - orientadora - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas- IFAM
[3] Aluno de Iniciação Científica - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas IFAM

Resumo: Este estudo teve por objetivo investigar atividade antifúngica da difenilcarbazona e do seu complexo Co (II) frente ao *Aspergillus niger*. Os motivos que levaram a essa investigação foram: A frequência das infecções fúngicas sistêmicas, como a aspergilose, resistências aos tratamentos que têm crescido drasticamente, as atividades biológicas difundidas no meio científico para as carbazonas como as atividades antitumoral, antibacteriana, antiviral, antiprotozoária, antifúngica, o fato de esta substância apresentar na sua estrutura química, heteroátomos N, S e O, que facilita a ligação química com metais essenciais para a sobrevida de diversos organismos vivos e aos relatos do aumento da atividade biológica, quando estas substâncias estão ligadas a um centro metálico. Diante do exposto, foram utilizadas cepas dos fungos *Aspergillus niger* - ATCC *10535*, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS/FIOCRUZ, que foram cultivadas em tubos de ensaio com meio inclinado por um período de 7 dias à temperatura de 30ºC em estufa de incubação, sendo o meio utilizado Agar Batata Dextrose (BDA), preparou-se suspensão de esporos do *Aspergillus niger* na concentração de 10^7 esporos/mL, sendo retirada da mesma 55µL e posteriormente semeada em placas de petri contendo poços em meio Agar Batata Dextrose (BDA). Os poços foram preenchidos com as soluções dos compostos nas concentrações de 80.000 a 200.000 µg/mL e incubadas a 30^{o}C por 72 horas. A inibição foi medida através de um paquímetro, sendo retirada a média do diâmetro dos halos formados e comparada a inibição do controle Nistatina que foi de 14 mm. Os resultados mostraram que a difenilcarbazona não inibiu o crescimento do *Aspergillus niger*, enquanto que o seu complexo de Co (II) apresentou inibição em todas as concentrações testadas, onde a inibição máxima foi na concentração de 150.000 µg/mL e o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) não apresentou inibição do crescimento frente ao fungo.

Palavras–chave: atividade antifúngica, complexos organometálicos, difenilcarbazona.

1. INTRODUÇÃO

A difenilcarbazona é uma substância que pertence ao grupo das carbazonas, que são compostos que apresentam diversas atividades biológicas, assim como seus complexos metálicos (BERALDO, 2004).

As carbazonas são compostos de considerável interesse científico, devido as suas importantes propriedades químicas e biológicas, tais como antitumoral, antibacteriana, antiviral, antiprotozoária, citotóxica. Entre as razões estruturais que explicariam esse amplo perfil está o fato de serem esses compostos bons agentes quelantes, por apresentarem na estrutura do ligante, heteroátomos como o N, S, O (SHIGERU, 2001).

Nos últimos anos, a frequência das infecções fúngicas sistêmicas, principalmente as oportunistas invasivas, têm crescido drasticamente. Entre estas, a mais comum é a candidíase, seguida da aspergilose, que apresenta maior incidência (BASTOS, 2004)

Até o momento, poucos estudos voltados para busca de atividade biologica da difenilcarbazona e de seus complexos metálicos foram publicados. Diante deste fato, propomos investigar atividade antifúngica da difenilcarbazona (DFCZ) e do seu complexo de Co (II) [Co $(DFCZ)_2$] contra *Aspergillus niger* e com este estudo, espera-se contribuir com a definição do perfil farmacológico destes compostos.

ISBN 978-85-62830-10-5

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas cepas dos fungos *Aspergillus niger* - ATCC *10535*, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS/FIOCRUZ, que foram cultivadas em tubos de ensaio com meio inclinado por um período de 7 dias à temperatura de 30ºC em estufa de incubação, sendo o meio utilizado Agar Batata Dextrose (BDA), preparou-se suspensão de esporos do *Aspergillus niger* na concentração de 10^7 esporos/mL, sendo retirada da mesma 55µL e posteriormente semeada em placas de petri contendo poços em meio Agar Batata Dextrose (BDA). Os poços foram preenchidos com as soluções dos compostos nas concentrações de 80.000 a 200.000 µg/mL e incubadas a 30^{o}C por 72 horas. A inibição foi medida através de um paquímetro, sendo retirada a média do diâmetro dos halos formados e comparada a inibição do controle Nistatina que foi de 14 mm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) foram testados nas concentrações de 80.000 a 200.000 µg/mL, onde a difenilcarbazona não apresentou inibição do crescimento em nenhuma das concentrações testadas conforme Figura 1, enquanto seu complexo de Co (II) apresentou inibição do crescimento em todas as concentrações testadas, Figura 2.

A Tabela 1 apresenta a não inibição do crescimento do fungo *Aspergillus niger* pelas soluções de maiores concentrações da difenilcarbazona e a Tabela 2, apresenta a inibição pelo complexo de Co (II) da difenilcarbazona. Observou-se a inibição do crescimento em todas as soluções testadas do complexo de Co (II).

Tabela 1- Soluções da difenilcarbazona testadas frente ao *Aspergillus niger*.

Concentração µg/mL	HIC*	HIC em mm.**
200.000	NH	NH
150.000	NH	NH
100.000	NH	NH

*HIC= halo de inibição do crescimento e NH= não houve inibição.

Tabela 2- Soluções do complexo de Co (II) testadas frente ao *Aspergillus niger*.

Concentração µg/mL	HIC*	HIC em mm.**
200.000	H	23
150.000	H	29
100.000	H	22
90.000	H	20
88.000	H	20
86.000	H	20
84.000	H	20
82.000	H	18
80.000	H	18

*HIC= halo de inibição do crescimento, **HIC em mm , ***H= houve inibição

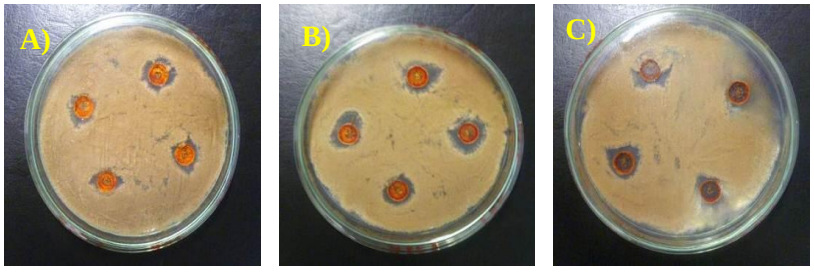

Figura 1 - Não inibição pelas soluções da difenilcarbazona nas concentrações de (A) 200.000, (B) 150.000 e (C) 100.000 µg/mL com 72 horas frente ao *Aspergillus niger*.

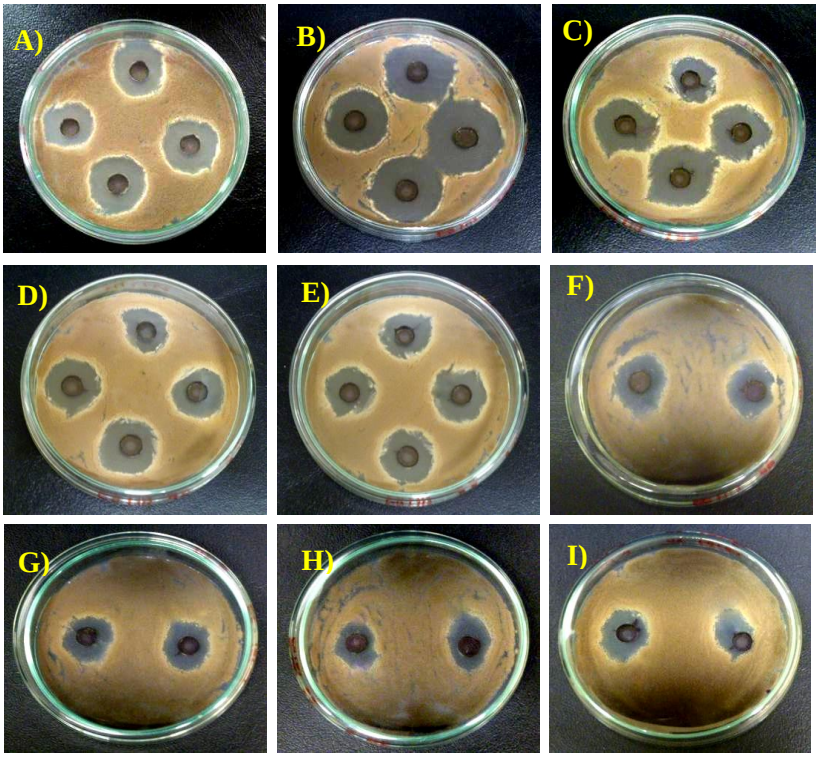

Figura 2 - Inibição pelas soluções do complexo de Co (II) da difenilcarbazona nas concentrações de (A) 200.000 a 80.000 µg/mL (I) com 72 horas frente ao *Aspergillus niger*.

Também foi realizado o teste com o solvente dimetilsulfóxido (DMSO), pois o mesmo poderia ser o inibidor do crescimento do fungo e não o complexo de Co (II) da difenilcarbazona, os resultados mostraram que o solvente DMSO não apresentou inibição do crescimento no teste com a difenilcarbazona e no teste com o complexo de Co (II), mostrando que o inibidor frente ao *Aspergillus niger* é o complexo de Co (II) e não o solvente DMSO utilizado para preparar as soluções dos compostos, Figura 3.

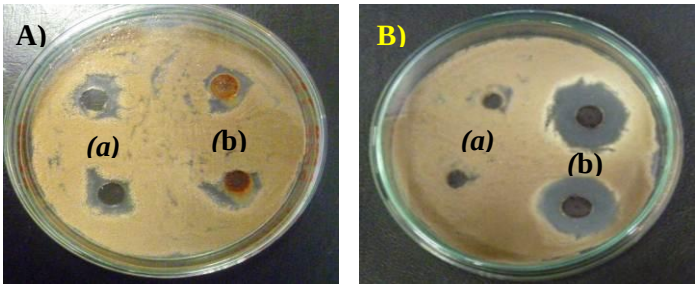

Figura 1 – A) Não inibição pelo DMSO (a) e pela difenilcarbazona (b) e B) a não inibição pelo DMSO (a) e a inibição pelo complexo de Co (II) (b) frente ao *Aspergillus niger* com 72 horas.

4. CONCLUSÕES

Apesar de preliminares, os resultados dos testes de atividade antifúngica para a difenilcarbazona e seu complexo de Co (II) mostram que o ligante não inibiu o crescimento das colônias do *Aspergillus niger* enquanto que soluções do complexo de Co (II) apresentaram inibições em todas as concentrações testadas, onde a maior inibição foi presenciada na concentração de 150.000 µg/mL, e o

teste contraprova mostra que o complexo de Co (II) da difenilcarbazona é o único inibidor frente ao fungo, enquanto que a difenilcarbazona e o solvente DMSO não apresentaram atividade antifúngica frente ao *Aspergillus niger*. Esse resultado confirma os relatos da literatura de que a coordenação com um centro metálico aumenta a atividade antifúngica.

Com os resultados obtidos no presente trabalho, novos aspectos da química e da atividade farmacológica até hoje inexplorados da difenilcarbazona e do seu complexo Co (II) foram investigados, espera-se está contribuindo com o perfil farmacológico dos compostos analisados.

REFERÊNCIAS

BASTOS, A. M. B; LIMA, S. M. M; SAMPAIO, A. S.. **Investigação da Atividade Antifúngica da 4-Hidroxi-Benzoiltiossemicarbazona e do seu Complexo de Cu (II)**. In: VI CONNEPI - Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica., 2011, Natal - RN. Anais do Congresso de Pesquisa, Inovação da Rede Norte Nordeste da Educação Tecnológica, 2011., 2011.

BASTOS, A. M. B., **Investigação de Algumas Semicarbazonas e Tiossemicarbazonas: Estudos por Rmn e Atividade Insulino-Mimética, Antimicrobiana e Mimetizadora da Superóxido Dismutase de Complexos Metálicos**. Tese de Doutorado, 208p., Departamento de Química/ ICEx, UFMG,2004.

BERALDO H., **Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos**. Química Nova, v. 27, No. 3, 2004.

BERALDO,H ; BASTOS, ANA MENA BARRETO ; VIEIRA, R, P. ; REBOLLEDO, A. P. ; SPEZIALI, N. ; PINHEIRO, C. B. ; CHAPIUS, G. . **Structural studies and spectral characteristics of 4-benzoylpyridine thiosemicarbazone and N(4?)-phenyl-4-benzoylpyridine thiosemicarbazone. Journal of Molecular Structure**, v. 645, p. 213-220, 2003.

CERETTO, H., DI MAIO, R., GONZÁLEZ, M., RISSO, M., SAGRERA, G., SEOANE, G., DENICOLA, A., PELUFFO, G., QUIJANO, C., STOPPANI, A. O., M., PAULINO, M., OLEA-AZAR, C., BASOMBRIO, M. A ., **Synthesis antitrypanosomal evaluation of E-isomers of 5-nitro-2-furaldehyde and 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde semicarbazone derivatives. Structure-activity relationships.** *Eur. J. Med. Chem.*, **35**, 343 (2000).

COLEMAN, D. C.; BENNETT, D. E.; SULLIVAN, D. J.; GALLAGHER, P. J.; HENMAN, M. C.; STANLEY, D.B AND RUSSEL R. J.; *Crit.* ***Rev. Microbiol.*** **1993**, *19*, 61.

GOODMAN & GILMAN. - **AS BASES FARMACOLÓGICAS DA TERAPÊUTICA**. 9A ED. RIO DE JANEIRO, MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES. P.1436. 1996.

H. BERALDO, D. GAMBINO, ***Mini Rev. Med. Chem***., 4 (2004) 159-165.

HANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; ***Farmacologia,*** 3a ed., Ed. Guanabara Koogan, 1995, cap.30, p.474

RIGOL, C, OLEA-AZAR C., MENDIZÁBAL, F, OTERO, L, GAMBINO, D, GONZÁLEZ, M, CERECETTO, H. **Electrochemical and ESR study of 5-nitrofuryl-containing thiosemicarbazones antiprotozoal drugs**. **Spectrochimica Acta Part A.,** v.61, n.13-14, p. 2933-2938, 2005.

SAWAF, A. K.; WEST, D. X.; EL-SAIED, F. A.; EL-BAHNASAWY, R. M.*;* ***Inorg. . Me. Chem***., 27, 1127, 1999.

SHIGERU, T.; IKUO, K.; CHIAKI, K.; TADASHI, Y.; JIRO, S.; ASUKA, T.; HIROMU S.; TOSHIO, G.; ***J.Inorg.Biochem***.85, 179, 2001.