

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO *n*PROPIL 4,6-DI-*O*-ACETIL-2,3-DIDESOXI- α -D-ERITRO-HEX-2-ENOPIRANOSÍDEO

Rodrigo Ribeiro Alves Caiana¹; Herbert Igor Rodrigues de Medeiros²; Fernando de Sousa Oliveira³; Juliano Carlo Rufino Freitas⁴

1 Universidade Federal de Campina Grande, rodrigoriibeiroalves@hotmail.com

2 Universidade Federal de Campina Grande, igorpls_15@hotmail.com

3 Univerdade Federal de Campina Grande, fernandoufcg@hotmail.com

4 Univerdade Federal de Campina Grande, julianocrf@gmail.com

Introdução

Os carboidratos, também chamados de açúcares, representam o grupo mais abundante de compostos encontrados em fontes naturais, estando presentes desde organismos mais complexos, como plantas e animais (FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2009), até organismos mais simples, como animais marinhos e bactérias (BANDERA et al., 2014). Estes compostos podem realizar ligações especiais, denominadas ligações glicosídicas, e assim conjugar-se com outras moléculas formando os glicosídeos. A literatura relata um grande número de glicosídeos com importantes atividades farmacológicas, a saber: ação antiinflamatória, antibiótica, antiviral, antitumoral, imunológica, anticoagulante e antiprotozoária, (ALMEIDA, 2015). No entanto, para que seja sustentada a utilização destes compostos para os mais diversos fins, é necessário que os mesmos esboquem suas ações desencadeando o mínimo de toxicidade possível, sendo preferível a ausência de efeitos tóxicos. Partindo desta premissa, surge a necessidade de conhecer as condições de uso seguro destes compostos para a saúde humana e ambiental, assegurando a segurança de seu uso (BARROS; DAVINO, 2008). A realização de estudos toxicológicos possibilita a identificação dos riscos associados de um determinado composto e determina em quais condições de exposição esses riscos são induzidos (JAMES; ROBERTS; WILLIAMS, 2000). Estes estudos viabilizam a elaboração de medidas que protejam os seres vivos e o ambiente dos efeitos deletérios causados por esses compostos, bem como facilitam o desenvolvimento de agentes químicos nocivos mais seletivos, tais como drogas clínicas e pesticidas (HODGSON, 2004). Neste contexto, o bioensaio com *Artemia salina* Leach destaca-se no meio científico por se mostrar eficiente na avaliação da toxicidade geral, trazendo a vantagem de ser prático, apresentando facilidade e rapidez de execução associado ao baixo custo (MEYER et al., 1982), sendo por estas razões uma excelente ferramenta para a análise preliminar da toxicidade geral (LUNA et al., 2005). Tendo conhecimento das características químicas e biológicas dos glicosídeos, bem como a necessidade de estudos que avaliem a toxicidade destes compostos, o presente trabalho objetivou sintetizar o *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo, bem como avaliar a toxicidade deste composto através do bioensaio com *Artemia salina* Leach.

Metodologia

Material e instrumentação

Em geral utilizou-se reagentes e solventes na sua forma comercial P.A. O acompanhamento da reação foi realizada através de cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas prontas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F₂₅₄. Para revelação da CCD foi utilizado solução etanólica ácida [(EtOH/H₂SO₄) (9,5:0,5)] sob vapor aquecido. Para cromatografia em coluna foi utilizado sílica-gel 60 (Merck, 70-230 mesh) como fase estacionária e sistemas hexano/acetato de etila como fase móvel. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram registrados em um espectrômetro *Varian Unity Plus* de 300 MHz, enquanto que

o espectro no infravermelho foi registrado em um espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier no instrumento Bruker Modelo IFS66.

Procedimento para síntese do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo

A síntese do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo, foi realizada através do protocolo de Toshima et al. (1995), com algumas modificações. Deste modo, em um balão de fundo redondo de 100 mL, o tri-*O*-acetil-D-glucal (0,272 g; 1 mmol) foi dissolvido em diclorometano seco (20 mL), posteriormente foi adicionado o álcool *n*propílico (89,701 μ L, 1,2 mmol) e a K10 (0,1632 g; 60% m/m). Depois o balão foi acoplado a um sistema de refluxo e foi deixado sob aquecimento ($50 \pm 5^\circ\text{C}$) e agitação. Após o término da reação, verificado por CCD, a mistura reacional foi filtrada. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel, utilizando um sistema de solvente hexano/acetato de etila (9:1).

Bioensaio Toxicológico frente a Larvas de *Artemia Salina* Leach.

O perfil de toxicidade do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo foi avaliado utilizando a *Artemia salina* Leach, através do método proposto por Meyer et al. (1982). Em tubos de ensaio foram adicionados às larvas da artêmias em um padrão de 10 larvas por tubo. As artêmias foram expostas a um controle negativo e as concentrações de 10, 100, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ durante um período de 24 horas. Após este período, foi feita a leitura de larvas sobreviventes. As análises foram feitas em triplicatas.

Resultados e discussão

O trabalho foi iniciado com a síntese do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo a partir da reação entre o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal e o álcool propílico empregando a montmorillonita K-10 como ácido de Lewis. Este composto foi obtido com 89% de rendimento após 30 minutos de reação. O composto obtido apresentou aparência oleosa e translúcida e foi caracterizado pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN ^1H e ^{13}C , cujos os dados obtidos foram: no infravermelho (Pastilha de KBr), principais bandas de vibração, 2964, 2881, 1747, 1450, 1371, 1234, 1182, 1105 cm^{-1} ; no espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), sinais em ppm, 5,92-5,78 (m, 2H, H-2, H-3), 5,29-5,25 (m, 1H, H-4), 4,99 (sl, 1H, H-1), 4,21 (dd, 1H, H-6, $J_{6,6'} = 12,0$ Hz e $J_{6,5} = 5,4$ Hz), 4,14 (dd, 1H, H-6', $J_{6,6} = 12,0$ Hz e $J_{6,5} = 2,1$ Hz), 4,08 (ddd, 1H, H-5, $J_{5,4} = 9,6$ Hz, $J_{5,6} = 5,1$ Hz e $J_{5,6'} = 2,1$ Hz), 3,68 (dt, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 9,6$ Hz e $J = 7,5$ Hz), 3,45 (dt, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 9,6$ Hz e $J = 7,5$ Hz), 2,07 (s, 3H, -OAc), 2,05 (s, 3H, -OAc), 1,61 (qui, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7,5$ Hz), 0,91 (t, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7,5$ Hz); no espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz), sinais em ppm, 170,7; 170,2; 128,9; 127,8; 94,2; 70,5; 66,7; 65,2; 62,9; 22,9; 20,9; 20,7; 10,6.

Uma vez sintetizado e caracterizado o *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo, a próxima etapa do trabalho foi realizar o bioensaio toxicológico. Analisando o padrão de letalidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach do composto, foi observado que no padrão negativo não houve a morte de nenhum indivíduo, assegurando assim a viabilidade do teste. Ao analisar os testes nas concentrações de 10, 100, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, foi observado que nenhuma das concentrações desencadeou a morte de mais de 50% das larvas, já que estas permaneceram com a mobilidade semelhante a do padrão negativo. Tal fato leva à conclusão de que a concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados (CL_{50}) encontra-se em um valor acima de 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A partir de tal dado é possível classificar o glicosídeo de acordo com os parâmetros propostos por Meyer et al. (1982) e Nguta et al. (2011) como substância não tóxica.

Conclusões

A reação de glicosidação se mostrou simples, rápida e eficiente, levando ao composto desejado com rendimento semelhante aos descritos por de Oliveira (2002) e Melo (2007). As análises espectroscópicas corroboram com a estrutura objetivada, evidenciando sucesso na obtenção do composto.

Quanto ao perfil de toxicidade, Meyer et al. (1982) e Nguta et al. (2011), estabeleceram uma correlação entre o grau de toxicidade e a CL_{50} do agente testado, onde são considerados tóxicos, ou ativos, apenas valores de CL_{50} menores que $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (sendo estes classificados como altamente tóxicos, moderadamente tóxicos e suavemente tóxicos de acordo com o intervalo que se enquadram) e não tóxicos valores acima de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Partindo disto, o *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo testado demonstrou ser não tóxico, uma vez que a sua CL_{50} apresenta um valor acima de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, o que possibilita o seu emprego seguro nas mais diversas áreas da saúde e tecnologia.

Palavras-Chave: Glicosídeo; Toxicidade; *Artemia salina* Leach.

Fomento

CNPQ, CAPES, UFCG-CES.

Referências

- ALMEIDA, C. L. A. Planejamento sintético e avaliação antitumoral de carboidratos enônicos. Monografia (Licenciatura em química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, Cuité. 2015.
- BANDERA, D.; SAPKOTA, J.; JOSSET, S.; WEDER, C.; GAO, X.; FOSTER, E. J.; ZIMMERMANN, T. Influence of mechanical treatments on the properties of cellulose nanofibers isolated from microcrystalline cellulose. *React. Funct. Polym.*, v. 85, p. 134, 2014.
- BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Fundamentos de toxicologia. 3ª ed., São Paulo: Atheneu Editora, 2008.
- DE OLIVEIRA, R. N. Síntese mediada por microondas de glicosídeos contendo diversas agliconas e de 1,2,4-Oxadiazóis. 2002. 106 f. Dissertação em Química, UFPE, Recife. 2002.
- FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R.; SILVA, F. C. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Quim Nova*. v. 32, n. 3, p. 623-638, 2009.
- HODGSON, E. A Textbook of Modern Toxicology. 3ª ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2004, cap. 1.
- JAMES, R. C.; ROBERTS, S. M.; WILLIAMS, P. L. Principles of Toxicology: Environmental Industrial Applications. 2ª ed., New York: John Wiley & Sons, 2000, cap. 1.
- LUNA, J. S., SANTOS, A.F., LIMA, M.R.F, OMENA, M.C., MENDONÇA, F.A.C., BIEBER, L.W., SANT'ANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J. of Ethnopharm.* v.97, p.199, 2005.
- MELO, A. C. N. Síntese e avaliação farmacológica de *O*-Glicosídeos 2,3-insaturados. Dissertação (mestrado em química) – Universidade federal de Pernambuco, Recife. 2007.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* v.45, p.31, 1982.
- NGUTA, J M; MBARIA, J M; GAKUYA, D W; GATHUMBI, P K; KABASA, J D; KIAMA, S G. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). *Pharmacologyonline*, v.2, p.458, 2011.
- TOSHIMA, K.; ISHIZUKA, T.; MATSUO, G.; NAKATA, M. Practical glycosidation method of glycals Montmorillonite K-10 as an environmentally acceptable and inexpensive industrial catalyst. *Chem. Rev.* Vol. 4, p. 306-308, 1995.