

SÍNTESE DO 1-(4-NITROFENIL)-BUT-3-EN-1-OL PROMOVIDA POR MONTMORILLONITA KSF E ANÁLISE TOXICOLÓGICA FRENTE AS LARVAS DA *ARTEMIA SALINA*

Sara Ingrid Medeiros de Aquino¹
Naama Maria Dantas Dias¹
Juliano Carlo Rufino de Freitas²

RESUMO

As metodologias que propõe a formação de novas ligações C-C são de suma importância para a química sintética. Uma das reações que promove a formação dessas novas ligações é a reação de alilação, que proporciona o aumento da cadeia carbônica e consequente a formação de compostos biologicamente ativos de interesse farmacêutico e químico. Dentre os diversos reagentes que podem ser utilizados nesse procedimento reacional, foi escolhido como doador do grupamento alila o alil-trifluoroborato de potássio por sua solubilidade em água e o composto carbonílico 4-nitrobenzaldeído devido a sua elevada reatividade, permitindo que a reação ocorra em condições sustentáveis e verdes. A montmorillonita KSF foi utilizada como promotora/catalisador da reação de obtenção do álcool homoalílico 1-(4-nitrofenil)but-3-en-1-ol, numa concentração de 200% m/m, em que a reação foi concluída após 30 minutos. Devido a montmorillonita KSF possui poros e certa acidez, a reação foi completa com a presença de apenas água como solvente. Uma vez sintetizado, o 1-(4-nitrofenil)but-3-en-1-ol, o mesmo foi submetido a avaliação de toxicidade mediante a larvas de *Artemia salina*, em que obteve-se a IC₅₀ 71,642 µg/mL, caracterizando-o como muito tóxico. Em suma, a reação de alilação utilizando a montmorillonita KSF como promotor foi eficiente e o 1-(4-nitrofenil)but-3-en-1-ol obtido apresentou elevada toxicidade frente as larvas da *Artemia salina*, logo esse método pode ser utilizado como complementar as metodologias já existentes.

Palavras-chave: Alilação, Toxicidade, Álcool homoalílico.

INTRODUÇÃO

As reações de alilação são muito importantes e extensivamente utilizadas pelos químicos sintéticos, uma vez que viabilizam a formação de novas ligações C-C (LI, Zhen et al., 2017). Além disso, este tipo de reação possibilita a síntese de diversos compostos biologicamente ativos como, por exemplo, a (S)-Tiloforina, Rifamicina S, Epotilona D, (+)-Antimicina A, (R)-Goniotalamina e Hemibrovetoquina B (ANDRADE, 2018).

¹Graduanda do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande - PB, sara_medeiros@live.com;

¹Graduanda do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande - PB, naama.dias@hotmail.com;

²Professor orientador, Doutor em Química pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, julianocrf@gmail.com

De modo geral, a reação de alilação consiste na adição do grupamento alílico a um composto carbonílico levando a formação de um álcool homoalílico. Vale ressaltar que esses álcoois apresentem um centro estereogênico, o que auxilia na preparação de substâncias enantiomericamente puras, dando origem a novos protótipos e consequentemente a diversos produtos farmacêuticos de interesse social. (CORREIA, COSTA, FERREIRA, 2002).

Diferentes doadores do grupamento alílico podem ser utilizados na reação de alilação, a citar os reagentes de organoboro. Os reagentes de organoboro apresentam uma posição de destaque no meio acadêmico e na indústria farmacêutica. No entanto, a popularização dos reagentes de organoboro foi devido às contribuições de Suzuki-Miyaura (Souza, 2015).

A literatura descreve várias classes de organoboro, no entanto, uma que merece destaque são os sais de organotrifluorboratos (RAMADHAR, BATEY, 2011), devido sua estabilidade ao ar e calor, não serem hidrosscópicos, e por serem sais às reações envolvendo esses compostos podem ser conduzidas em meio aquoso (DARSES, GENET, 2008).

Nos últimos anos tem-se buscado métodos sustentáveis, rápidos e eficientes para o processo sintético. Visando atender esses pontos, vários pesquisadores vem utilizando catalisadores heterogêneos em suas rotas sintéticas. Os catalisadores heterogêneos são aqueles que estão em uma fase diferente dos reagentes, em que os mais comuns são os sólidos finamente divididos ou porosos, para que tenham uma grande superfície de adsorção (ATKINS, JONES, 2005). Um catalisador heterogêneo que vem atraindo a atenção da comunidade acadêmica é a argila montmorillonita, uma vez que apresenta uma acidez moderada.

Diante do exposto, o trabalho descreve a síntese do 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol através da reação de alilação promovida pela montmorillonita KSF, visando substituir os catalisadores homogêneos, proporcionando procedimentos experimentais mais ecológicos (UDDIN, 2018). Além disso, o 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol foi submetido a uma análise toxicológica utilizando as larvas de *Artemia salina*. A *Artemia salina* é um microcrustáceo, muito utilizada como indicador toxicológico, devido a facilidade de manuseio e possuir um menor dispêndio (CALOW, 1993). Adicionalmente, ovos de *A. salina* estão prontamente disponíveis no mercado a baixo custo, e podem permanecer viáveis por anos quando bem armazenados. O ensaio contempla um grande número de indivíduos para a validação estatística e nenhum equipamento especial é necessário para o experimento (RAJABI et al., 2015).

Estudos recentes têm mostrado o potencial citotóxico da *Artemia salina* como a avaliação das plantas condimentares no qual observou-se que alguns destes apresentaram uma menor toxicidade, requerendo mais estudos complementares. (PEREIRA et al., 2015). Também é bastante evidenciado sua utilização em compostos sintetizados baseados em espécies organometálicas (CHOHAN, Z. H., 2008).

METODOLOGIA

Procedimento para a síntese do álcool homoalílico

Em um tubo de ensaio foi adicionado o *p*-nitrobenzaldeído (0,025 mmol, 0,0037 g), dissolvido em 0,5 mL de diclorometano e o alil-trifluoroborato de potássio (0,03 mmol, 0,0044 g), dissolvido em 0,5 mL de H₂O. Após a mistura dos reagentes fez-se a adição da montmorillonita KSF. A mistura reacional foi submetida à agitação pelo tempo expresso na **Tabela 1**. A reação foi monitorada por cromatografia de camada delgada (CCD) em um sistema de eluição de diclorometano. Ao sistema bifásico foi adicionado acetato de etila (3 x 2 mL) e uma solução saturada de bicarbonato de sódio. Após a separação das duas fases foi adicionado à fase orgânica sulfato de sódio anidro para a secagem seguida de filtração. O solvente foi removido por evaporação rotativa à pressão reduzida e o solvente restante agregado ao produto foi eliminado utilizando uma bomba de alto vácuo.

Procedimento para a análise citotóxica utilizando *Artemia salina*

A incubação dos artemias foi realizada em uma cuba de vidro com solução salina, sob iluminação por 24 horas. Após a eclosão desses crustáceos, foram adicionados as soluções contendo o controle negativo, o controle positivo e o 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol a ser analisado em tubos de ensaio contendo 10 artêmias em cada tubo. O teste foi realizado em triplicata para concentrações de 10, 100 e 1000 ppm.

Para o preparo do controle negativo foi adicionado 0,1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) em um balão de 10 mL, que foi preenchido com solução salina até aferir o menisco do balão volumétrico. No controle positivo foi utilizado 10 mg de benzamidoxima (composto tido como tóxico para as artêmias) que foi solubilizado em 0,1 mL de DMSO em um balão de 10 mL, onde houve a adição de solução salina até atingir o menisco.

Para a realização do teste toxicológico foram retiradas 10 mg do 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol que foi diluído em 0,1 mL de DMSO seguido da adição de solução salina até aferir o menisco do balão volumétrico de capacidade de 10 mL.

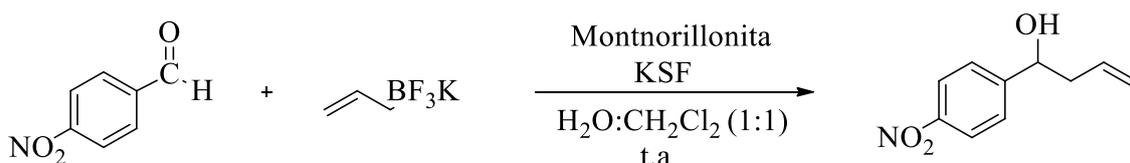
As amostras foram submetidas à iluminação artificial por 24 horas. Após este período de tempo, foram contabilizadas as larvas baseando-se na mortalidade ou perda de mobilidade dos organismos. Após o *screening* inicial o 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol foi submetido a novos ensaios toxicológicos nas concentrações de 20, 40, 50, 60 e 80 ppm.

Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}), foi utilizada a análise através do *software* POLO-PC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O projeto teve início com a síntese do 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol, obtido na forma de um óleo, à partir da reação de alilação do *p*-nitrobenzaldeído e alil-trifluoroborato de potássio promovida pela montmorillonita KSF. Desta forma, no primeiro momento foi avaliada as quantidades de montmorillonita KSF necessária para que a reação aconteça, conforme expressas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Influência da porcentagem de montmorillonita KSF no tempo reação de alilação do *p*-nitrobenzaldeído via alil-trifluoroborato de potássio em temperatura ambiente.



EXPERIMENTO	QUANTIDADE DE KSF (% m/m)	TEMPO (min)	RENDIMENTO* (%)
1	400	30	100
2	200	30	100
3	100	30	75
4	75	30	66
5	50	30	50
6	25	30	33
7	10	30	20

8

-

30

15

*Rendimento conforme a cromatografia de camada delgada (CCD).

De acordo com a Tabela 1 é possível observar que a reação de alilação na ausência da montmorillonita KSF não foi completa, pois foi constatada a presença do *p*-nitrobenzaldeído (reagente de partida) através de cromatografia de camada delgada sob sistema eluente de diclorometano. Constatou-se que a redução gradativa da quantidade de montmorillonita KSF de 200% para 10% m/m implicou na diminuição do rendimento após o intervalo de 30 minutos, o que indica que a reação não foi completa no tempo imposto, possivelmente necessitando de um tempo mais longo devido a diminuição da porcentagem do promotor. Cabe ressaltar que a partir de uma quantidade bastante significativa, 200% m/m do promotor em comparação ao aldeído, foi efetiva para acelerar a reação, obtendo o tempo final de 30 minutos. No entanto a adição de uma grande quantidade da montmorillonita KSF não possui impacto significativo na reação de alilação, visto que o tempo final de reação de 400% e 200% m/m do promotor foi o mesmo, sendo desnecessário a adição de uma quantia tão elevada. Sendo assim, o melhor resultado foi observado quando é aplicada 200% m/m da montmorillonita KSF, apresentando um rendimento total de 80% após a extração.

Na sequência foi avaliado o tipo e a proporção de solventes ideais a serem empregado na reação de alilação promovida pela montmorillonita KSF, deste modo, foi utilizado apenas H₂O, apenas diclorometano e o sistema bifásico H₂O:CH₂Cl₂. A quantidade de promotor foi fixada em 200% m/m. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Interferência da proporção de solvente H₂O : CH₂Cl₂ na reação de alilação do *p*-nitrobenzaldeído via aliltrifluoroborato de potássio promovida pela montmorillonita KSF em temperatura ambiente.

H ₂ O : CH ₂ Cl ₂	TEMPO (min)	RENDIMENTO (%)*
1:0	30	100
1:1	30	100
0:1	30 (180)	33 (100)

*Rendimento conforme a cromatografia de camada delgada (CCD).

Conforme a **Tabela 2**, foi constatado que a reação de alilação acontece utilizando apenas a água como solvente, apesar do *p*-nitrobenzaldeído apresentar baixa solubilidade neste solvente, possibilitando que a reação tenha um carter verde e sustentável (DA SILVA, DE LACERDA, JUNIOR, 2005). A proporção 1 : 1 de H₂O e CH₂Cl₂ obteve um tempo de 30 minutos, porém o diclorometano é um solvente orgânico tóxico e tendo em vista que esta proporção apresenta resultados semelhantes de tempo e rendimento que a com somente com

água, a reação utilizando apenas água apresenta maior viabilidade, tanto econômica como sustentável. A reação com apenas diclorometano como solvente não foi completa em 30 minutos como as demais, obtendo um baixo rendimento neste tempo. O tempo total de reação foi longo quando comparado com as demais proporções de solventes, pois o alil-trifluoroborato de potássio possui baixa solubilidade em solventes orgânicos. Ainda assim a reação ocorre pois, segundo UDDIN (2018) a argila montmorillonita possui na sua constituição molecular poros que podem adsorver compostos orgânicos e inorgânicos, permitindo uma interação maior entre estes. Isso justifica a ocorrência da reação quanto a proporção de solvente 1:0 de CH_2Cl_2 : H_2O , que pode ter sido completa devido a adsorção dos reagentes na argila, e a introdução destes nos seus complexos porosos. Diante dessa informação e tendo em vista o princípio de L^ê Chantelier, quando uma molécula de alil-trifluoroborato de potássio é adsorvida pela argila e interage com uma molécula de *p*-nitrobenzaldeído há formação de produto, abrindo espaço para que mais uma molécula de alil-trifluoroborato de potássio se agregue a argila e interaja com o aldeído, repetindo o ciclo mais uma vez, até que a reação seja completa.

Após sua síntese o composto foi submetido a avaliação da toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, para determinar a concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}). A primeira triagem foi feita com as concentrações de 10, 100 e 1000 ppm, conforme a Tabela 3. Após a triagem foi obtido um intervalo entre 10 e 100 ppm no qual foram introduzidas concentrações de 20, 40, 50, 60 e 80 ppm, a fim de se obter a IC_{50} .

Tabela 3. Efeito toxicológico do 1-(4-nitrofenil)but-3-en-1-ol sobre larvas de *Artemia saliana*

1-(4-nitrofenil)- but-3-en-1-ol (ppm)	10	20	40	50	60	80	100	1000
Número de artêmias vivas	30	28	25	21	18	12	4	0

Conforme a Tabela 3, foi possível observar que intervalo de 60 - 80 ppm houve a morte de 50% dos indivíduos. Geetha et al. (2013) verificou que o etanol e metanol, compostos similares da classe álcool, são solventes orgânicos que possuem efeito tóxico contra *A. salina*, pois todos os indivíduos testados foram mortos a concentração de 2,5% de etanol, com IC_{50} 3,4 $\mu\text{g/mL}$ e 5% de metanol, com IC_{50} 6,4 $\mu\text{g/mL}$.

A análise toxicológica foi monitorada através do controle negativo, onde observou-se que o solvente dimetilsulfóxido não é tóxico para as artêmias em concentrações de até 1,25% (GEETHAA et al., 2013); todas sobreviveram após as 24h de testagem, comprovando sua tolerância ao solvente. O teste também foi monitorado via controle positivo, onde verificou-se que as artêmias não usadas no procedimento não apresentavam resistência, pois a benzamidoxima na concentração de 100 ppm, já testada previamente, foi eficaz para eliminá-las.

Após a coleta dos dados foi possível a realização de uma análise mais precisa através do *software* POLO-PC. A IC_{50} encontrada através do *software*, com 95% de confiança, foi de 71,642 $\mu\text{g/mL}$ com intervalo de confiança nos limites 59,952 a 99,905 $\mu\text{g/mL}$, classificada como altamente tóxica segundo NGUTA et al. (2011).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol foi adquirido na forma de um óleo com rendimento de 80%, através de uma nova metodologia que emprega a montmorillonita KSF à 200% m/m como promotora. Vale ressaltar que a reação ocorre com a presença de somente água como solvente, o que é bastante viável tanto do ponto de vista ecológico quanto do ponto de vista econômico. O 1-(4-nitrofenil)-but-3-en-1-ol foi submetido à análise toxicológica frente a larvas de *Artemia salina* Leach, onde foi possível a obtenção da IC_{50} 71,642 $\mu\text{g/mL}$, tratando-se de um composto altamente tóxico. Portanto, a reação de alilação utilizando a montmorillonita KSF como promotor foi eficaz em produzir o 1-(4-nitrofenil)but-3-en-1-ol obtido, que apresentou elevada toxicidade frente as larvas da *Artemia salina*. Desse modo, este método pode ser utilizado como complementar as metodologias já existentes.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, D.; FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. C. R. Aplicação de amidoximas como catalisadores da reação de alilação por aliltrifluoroborato de potássio em meio bifásico. **Química nova**, v. 39, n. 10, p. 1225-1235, 2016.
- ATKINS, P.; JONES, L. Princípios da química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3 .ed., p. 613-614. Porto Alegre: Bookman, 2006.

- CHOHAN, Z. H. Synthesis of organometallic-based biologically active compounds: In vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of some sulfonamide incorporated ferrocenes. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 24, n. 1, p. 169-175, 2009.
- CORREIA, C. R. D.; COSTA, P. R.; FERREIRA, V. F. Vinte e cinco anos de reações, estratégias e metodologias em química orgânica. **Química nova**, V. 25, S. 1, p. 74-81, 2002.
- DA SILVA, F.M.; DE LACERDA, P.S.B.; JUNIOR, J.J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química Nova**, v.28, n.1, 2005.
- DARSES, S.; GENET, J. P. Potassium organotrifluoroborates: new perspectives in organic synthesis. **Chemical reviews**, v. 108, n. 1, p. 288-325, 2008.
- FREITAS, J. C. R. Modificação Estrutural no Eugenol: Síntese, Caracterização e Atividade Toxicológica frente à *Artemia Salina* Leach. In: Elisa Miranda Costa. (Org.). **Bases Conceituais da Saúde** 6, v. 6, n. 1, p. 174-183, 2019.
- GEETHAA, S.; THAVAMANY, J. P.; CHIEW, P. S.; THONG, M. O. Interference from ordinarily used solvents in the outcomes of Artemia salina lethality test. **Journal Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 4, n. 4, p. 179–182, 2013.
- HUANG, Y. et al. Alilação de Alcenos Heterobíclicos Catalisados por Cobalto: Reatividades Divergentes Induzidas por Ligantes. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 54, n.46, p. 13696–13700, 2015.
- LI, Z.; PI, Y.; XU, D.; LI, Y.; PENG, W.; ZHANG, G.; ZHANG, F.; FAN, X. Utilization of MoS₂ and graphene to enhance the photocatalytic activity of Cu₂O for oxidative CC bond formation. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 213, p. 1-8, 2017.
- LIMA, J. A. C.; MEDEIROS, H. I. R.; SILVA, J. F.; OLIVEIRA, R. J.; SANTOS, C. S.; MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. de. Solubilidade das substâncias orgânicas. 2013.
- MIYAURA, N.; YANAGI, T.; SUZUKI, A. The palladium-catalyzed cross-coupling reaction of phenylboronic acid with haloarenes in the presence of bases. **Synthetic Communications**, v. 11, n. 7, p. 513-519, 1981.
- NGUTAA, J. M.; MBARIAA, J.M.; GAKUYAB, D. W.; GATHUMBIC P. K.; KABASAD, J. D.; KIAMA S. G. Biological screening of kenyan medicinal plants using *Artemia salina* L. (ARTEMIIDAE). **Pharmacologyonline** n. 2, p. 458-478, 2011.

PEREIRA, E. M.; LEITE, M. T. F.; DE ASSIS, F. M.; MARTINS, A. N. A.; ROCHA, A. P. T. Potencial toxicológico frente Artemia Salina em plantas condimentares comercializadas no município de Campina Grande-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 2015.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJI T. Artemia salina as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, Vol. 23, nº 1, p. 20, 2015.

RAMADHAR, T. R.; BATEY, R. A. Allylation of imines and their derivatives with organoboron reagents: stereocontrolled synthesis of homoallylic amines. **Synthesis**, v. 2011, n. 09, p. 1321-1346, 2011.

SIQUEIRA, J. M. D.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico de Unonopsis lindmanii-Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a Artemia salina leach. 1998.

SOUZA, Túlio Ricardo Couto de Lima. Métodos verdes de alilação de aldeídos com organotrifluoroboratos. 2015

SOUZA, V. P.; OLIVEIRA C. K.; SOUZA, T. M.; MENEZES, P. H.; ALVES, S.; LONGO, R. L.; MALVESTITI I. A green approach for allylations of aldehydes and ketones: combining allylborate, mechanochemistry and lanthanide catalyst. **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1539, 2016.

UDDIN, F. Montmorillonite: An Introduction to Properties and Utilization. **Current Topics in the Utilization of Clay in Industrial and Medical Applications**, p. 1, 2018.

WU, L.; SHAO Q.; YANG G.; ZHANG W. Cobalt-catalyzed Asymmetric Allylation of Cyclic Ketimines. **Chemistry - A European Journal**, v.24, n.6, p. 1241-1245, 2017.