

## ADUTOS DE BIGINELLI DERIVADOS DE ÁCIDOS BORÔNICOS: UMA ESTRATÉGIA INOVADORA NO DESIGN DE INIBIDORES DE UREASES DE INTERESSE AGRÍCOLA E MEDICINAL

Pedro H. C. Santos<sup>1,2\*</sup>; Nathália E. M. Costa<sup>1</sup>; Luzia V. Modolo<sup>2</sup>; Eduardo E. Alberto<sup>1</sup>;  
 Ângelo de Fátima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

<sup>2</sup>Departamento de Botânica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

\*pedrohcdsantos@gmail.com

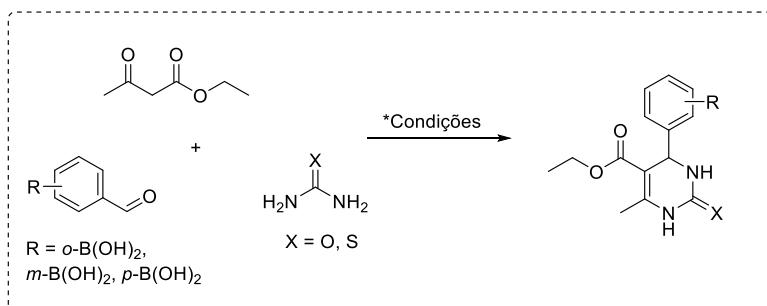
**Palavras-Chave:** antiureolítico, boro, dihidropirimidinonas.

### Introdução

A preocupação mundial com a segurança alimentar está crescendo devido ao rápido aumento da população global. Estudos apontam que a população poderá ultrapassar 10 bilhões até 2080 [1]. No que tange à química, diversas estratégias podem ser utilizadas para mitigar esse desafio, como a pesquisa de novos bioestimulantes e fertilizantes de eficiência aumentada. Um dos fertilizantes mais empregados na produção agrícola são os à base de nitrogênio, uma vez que a ureia, principal fonte de nitrogênio nesses fertilizantes, é um composto de baixo custo e de fácil produção industrial [2]. Contudo, a urease, enzima presente no solo, catalisa a hidrólise da ureia, resultando na perda de nitrogênio por volatilização da amônia. A proposta deste trabalho é a síntese de adutos de Biginelli e derivados de ácidos borônicos, compostos já reportados como inibidores de urease [3,4], e sua avaliação in vitro quanto à atividade inibitória dessa enzima.

### Material e Métodos

A síntese *one-pot* foi realizada utilizando três reagentes: (tio)ureia, um composto dicarbonílico e um aldeído fenólico contendo o grupo ácido borônico em diferentes posições do anel aromático, conforme ilustrado na Figura 1.



**Figura 1.** Esquema geral para a síntese de adutos de Biginelli.

**Metodologia geral para o preparo dos adutos de Biginelli derivados da ureia (X = O):** Em um balão de fundo redondo, foram adicionados o aldeído formilfenilborônico de interesse (1 mmol), ureia (3 mmol), acetoacetato de etila (1 mmol) e CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O (2,5 mmol). A mistura reacional foi submetida a refluxo em etanol sob agitação magnética por quatro horas, com o acompanhamento do progresso da reação por cromatografia em camada delgada (CCD). Ao término da reação, adicionou-se lentamente água destilada gelada, resultando na precipitação do produto na forma de um sólido branco, o qual foi isolado por filtração a vácuo. Os produtos foram obtidos com rendimentos entre 81% e 83%.

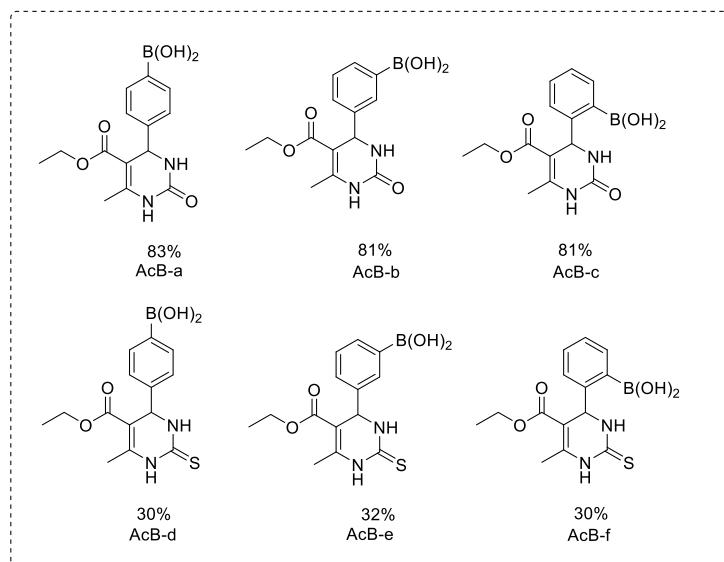
**Metodologia geral para o preparo dos adutos de Biginelli derivados da tioureia (X = S):** Em um balão de fundo redondo, foram adicionados o aldeído formilfenilborônico de interesse (1

mmol), tiourea (3 mmol), acetoacetato de etila (1 mmol) e cloreto de amônio (0,75 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo em metanol com agitação magnética por 12 horas, sendo o progresso da reação monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD). Posteriormente, a mistura foi submetida à extração com acetato de etila e água. A fase orgânica foi lavada com solução de NaCl saturada (brine), seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em evaporador rotativo. O produto bruto foi purificado por recristalização em diclorometano, obtendo-se um sólido branco com rendimentos entre 30% e 50%.

**Avaliação da atividade antiureolítica dos adutos de Biginelli sintetizados:** Para os testes de avaliação da atividade inibitória de urease *in vitro*, empregou-se o método colorimétrico do indofenol, conforme descrito na literatura [5]. Os ensaios foram realizados na concentração de 170 µM, em quadruplicata, utilizando urease de *Canavalia ensiformis* (Jack bean) como enzima modelo.

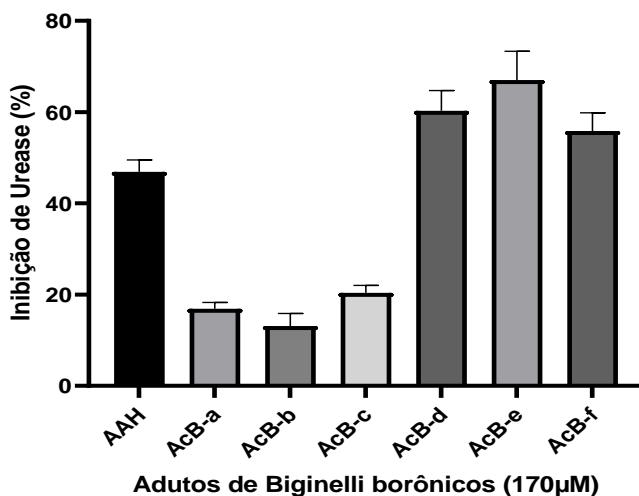
## Resultados e Discussão

Os produtos sintetizados foram purificados, isolados e caracterizados por técnicas espectroscópicas - incluindo ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia no infravermelho (IV) - e por análises físicas, como determinação do ponto de fusão. Os adutos de Biginelli foram obtidos com rendimentos variando entre 30% e 83% (Figura 2), observando-se os melhores rendimentos para os derivados contendo ureia em sua estrutura.



**Figura 2.** Rendimentos das reações de Biginelli estudadas.

Após a síntese, realizou-se um ensaio preliminar para avaliar a atividade inibitória dos adutos de Biginelli derivados de ácidos formilfenilborônicos sobre a urease de *Canavalia ensiformis*. Os resultados dos ensaios enzimáticos estão apresentados na Figura 3.



**Figura 3.** Inibição da urease a 170  $\mu$ M dos adutos de Biginelli. AAH representa o padrão positivo do teste, neste caso, ácido acetohidroxâmico.

Notavelmente, os resultados dos ensaios *in vitro* revelaram uma tendência clara: os adutos derivados de tioureia apresentaram atividade inibitória significativamente superior à dos derivados de ureia. Esta observação experimental pode ser explicada pela teoria ácido-base de Pearson, considerando que o níquel do sítio ativo da urease, sendo um átomo metálico "macio", forma ligações mais fortes com o enxofre (também classificado como "macio") dos *tiо*-derivados em comparação com o oxigênio (classificado como "duro") dos *oxо*-derivados. Além disso, as interações entre átomos macios apresentam maior caráter covalente, resultando em ligações mais estáveis.

## Conclusões

Os adutos de Biginelli derivados dos ácidos formilfenilborônicos e ureia/tioureia foram obtidos em rendimentos que variaram de 30 a 83%. Os ensaios preliminares de atividade antiureolítica demonstraram que os compostos contendo enxofre apresentaram maior potência inibitória em comparação aos derivados de ureia. Atualmente, estratégias de otimização sintética estão sendo desenvolvidas para melhorar os rendimentos da série sulfurada, paralelamente a estudos *in silico* e *in vitro* destinados a elucidar o mecanismo de inibição dos adutos de Biginelli derivados de ácidos formilfenilborônicos.

## Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPEMIG, FINEP, INCT de Inibidores de Urease, Rede Mineira de Bioestimulantes e Fertilizantes com Eficiência Aumentada, PRPq-UFMG e LIPQ-LAREMAR da UFMG.

## Referências

- [1]. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS – ONU. População mundial atingirá 10,3 bilhões em meados da década de 2080. Disponível em <https://news.un.org/pt/story/2024/07/1834411>. Acesso em 04 de agosto de 2025. 2024.
- [2]. ZHANG, Y.; WANG, W.; YAO, H. Urea-based nitrogen fertilization in agriculture: a key source of N<sub>2</sub>O emissions and recent developments in mitigating strategies. **Arch. Agron. Soil Sci.**, 69, 663–678, 2022.
- [3]. MODOLO, L. V. et al. A minireview on what we have learned about urease inhibitors of agricultural interest since mid-2000s. **J. of Adv. Res.**, 13, 29–37, 2018.
- [4]. REDDY, K. R. C. et al. Urea-based nitrogen fertilization in agriculture: a key source of N<sub>2</sub>O emissions and recent development in mitigating strategies. **J Enzyme Inhib Med Chem.**, 4, 467–470, 2006.

[5]. WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.*, 39, 8, 971–974, 1967.