

## SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO TEPENIL 4,6-DI-O-ACETIL-2,3-DIDEOXI- $\alpha$ -D-ERITRO-HEX-2-ENOPIRANOSÍDEO, CONTRA O *TETRANYCHUS URTICAE*

Jonatas T. da Silva<sup>1</sup>; Mirian L. da Silva<sup>1</sup>; Marcilio M. de Moraes<sup>1</sup>; João R. F. Filho<sup>1</sup>

*1 Universidade Federal Rural de Pernambuco*

*jonatas.silva001.js@gmail.com*

**Palavras-Chave:** *O*-glicosídeo 2,3-insaturados; Rearranjo de Ferrier; Terpenos

### Introdução

*Tetranychus urticae*, popularmente conhecido como ácaro-rajado ou ácaro de duas manchas, é um artrópode altamente cosmopolita e polífago. Mede aproximadamente 1 mm de comprimento e 0,6 mm de largura quando adulto e vivem na superfície inferior das folhas em grande número, no qual tecem finas camadas de teias para proteção da colônia (Moscardi *et al.*, 2012).

Podem se multiplicar e conviver com uma vasta gama de hospedeiros capazes de causando danos significativos as plantas, provocando principalmente manchas amareladas nas folhas que ocasionam a necrose e desfolha precoce, prejudicando o desenvolvimento, floração e frutificação das espécies vegetais acometidas, reduzindo significativamente a produtividade e o seu valor comercial (Quintela, 2012; Santos *et al.*, 2016).

Embora possua uma ampla distribuição pelo mundo, o ácaro-rajado possui preferências por climas mais quentes e secos principalmente em países tropicais e subtropicais, onde o artrópode encontra condições favoráveis para reprodução, sendo prevalente em culturas como o morango, lúpulo, amendoim, algodão, acerola, feijão, abóbora, pimentão, tomate, couve, maçã, mamão, rosas etc. (Bueno *et al.*, 2024; Caruzo Filho, 2024,).

Fazer o controle dessa espécie de ácaro é um grande desafio, visto que ele é resistente a diversos acaricidas disponíveis no mercado e o *T. urticae* depende fortemente da aplicação de acaricidas e/ou inseticidas sintéticos desenvolvidos para realizar o controle químico em plantações de larga escala (Assouguem *et al.*, 2022).

Desta forma, a urgência por novas moléculas com potenciais de atividades biológicas deve-se, principalmente, a capacidade de resistência que pragas e agentes patogênicos tende de desenvolver ao longo dos anos aos compostos disponíveis no mercado (Quemel *et al.*, 2021). Além disso, o surgimento de pragas resistentes com potenciais de provocar perdas em larga escala, associada a necessidade de aperfeiçoar os métodos de combate já existentes via uso de moléculas mais seguras, reforçam ainda mais a necessidade de investir na síntese de novas moléculas (Cartilho *et al.*, 2024).

Nesse sentido, a química orgânica tem exaustivamente desenvolvido e aperfeiçoado diversos protocolos sintéticos para obtenção de novos glicoconjugados bem definidos com régio e estereosseletividade desejada envolvendo a posição anomérica (C-1) em quantidades suficientes e livres de contaminantes com potencial de aplicação em condições patológicas diversas como infecções virais, bacterianas, tumorais, fúngicas, parasitárias, inseticidas e anticaricidas (Neto *et al.*, 2021; Freitas Filho, et al., 2024).

Na classe dos glicoconjugados, os *O*-glicosídeos 2,3-insaturados são moléculas derivadas de fontes naturais proveniente de carboidratos simples que tem chamado a atenção

de diversos cientistas ao redor do mundo devido a sua capacidade de apresentar atividades biológicas de largo espectro, além de apresentar uma maior biocompatibilidade com organismos diversos (Moura *et al.*, 2018).

Destaca-se que, a adição de grupos glicosídicos a moléculas bioativas hidrofóbicas de origem natural como os terpenos, pode aumentar a solubilidade e estabilidade desses compostos em meio aquoso (Neto *et al.*, 2021). Desta forma, terpenos glicosilados relativamente mais estáveis que seus precursores quando aplicados em culturas agrícolas que apresentam determinados níveis de infestações por pragas, como insetos e artrópodes, permanecem ativos no ambiente por um período de tempo mais prolongando, assim, a sua ação e eficácia contra os organismos alvos (Neto *et al.*, 2021; He; Zhou; Wang, 2024).

Mediante o exposto, o presente trabalho tem como objetivo a síntese e avaliação da atividade biológica de novos terpenil *O*-glicosídeos 2,3-insaturados.

## Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ecoquímica e Síntese (LEQS) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em parceria com o Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LABIQUI) da mesma instituição, onde foram realizados os testes acaricidas. Os ácaros (*T. urticae*) foram criados em laboratório e mantidos sob controle com auxílio de plantas conhecidas como feijão de porco (*C. ensiformes* L).

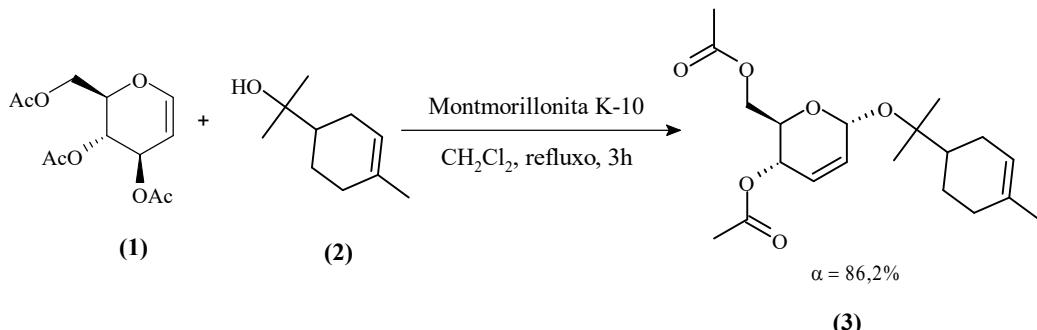
## Reação de síntese do *O*-glicosídeo 2,3-insaturado

O doador sacarídeo, o 3,4-6-tri-*O*-acetil-D-glical **1**, foi obtido a partir da (+)-D-glicose anidra (Sigma Aldrich), utilizando como rota sintética metodologia desenvolvida por Regueira *et al.* (2016) em uma reação do tipo *one pot*, em que a glicose foi inicialmente acetilada; seguida por reação de bromação na posição C1 com neutralização do meio reacional. Por fim, foi realizado a eliminação do bromo na posição C1 e de um íon acetado na posição C2 seguida de formação da dupla-ligação na posição C1-C2.

O grupo aceptor de glicosila (terpineol) **2** foi obtido comercialmente da Sigma Aldrich. O glicosídeo 2,3-insaturado, foi obtido por meio de reação de glicosilação entre o grupo doador e aceptor, utilizando como método a rota sintética proposta por Toshima e Colaboradores (1995), onde o tri-*O*-acetil-D-glical (0,400 g) foi solubilizado em diclorometano anidro ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (50 ml), com subsequente adição do terpineol (0,340g). O meio foi mantido sob agitação em banho de gelo a 0 °C por 15 minutos e a argila montmorillonita K-10 (0,240g; 60% M/M do doador) foi adicionada vagarosamente. Em seguida, o balão foi acoplado em um sistema de refluxo e deixado sob aquecimento entre 50-55 °C em agitação magnética por aproximadamente 3 horas, sendo acompanhada em placa CCD em sistema  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{AcOEt}$  (9:1).

Ao fim da reação a solução foi filtrada e rota-evaporada para remoção do solvente. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando um sistema eluente de hexano-AcOEt (98,5%-1,5%).

**Esquema 01:** Síntese do Terpenil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranossídeo



Fonte: Própria, 2025

## Caracterização

O produto obtido foi caracterizado utilizando técnicas de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ . O espectro de Infravermelho, foi obtido em um espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier (FTIR) por meio do instrumento modelo IR-Tracer 100 da Shimadzu, no modo ATR, no Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), utilizando como janela espectral a região do infravermelho médio ( $4000$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ ). O RMN de  $^1\text{H}$  foi obtido utilizando o equipamento Bruker Avance com frequência de  $400\text{ MHz}$  para próton ( $^1\text{H}$ ) também da UFPE, usando  $\text{CDCl}_3$  como solvente e tetrametilsilano (TMS) ou o sinal residual do solvente como padrão interno de referência.

## Atividade Acaricida

Os bioensaios foram realizados seguindo metodologia adaptada de Ribeiro *et al.*, (2016). Os testes foram conduzidos utilizando 4 grupos de tratamentos, dos quais: Um grupo teste correspondem ao *O*-glicosídeo 2,3 insaturado; um grupo teste correspondem ao álcool monoterpeno precursor; um grupo destinado para controle negativo sem presença de substância e um grupo destinado para controle positivo referente ao composto Azamax®. Além disso, as concentrações aplicadas foram determinadas a partir de bioensaios preliminares de  $1,0$ ;  $2,5$ ;  $5,0$  e  $10\text{ }\mu\text{L/ml}$  que foram realizadas em triplicatas.

Foram utilizadas  $10$  fêmeas adultas do ácaro rajado (*T. urticae*) distribuídas aleatoriamente em discos foliares da espécie *C. ensiformes L.* de  $2,5\text{ cm } \varnothing$ . Os discos foliares foram previamente imersos em solução do composto isolado durante  $15$  segundos, secos ao ar livre e depositados em placas de Petri de  $10\text{ cm } \varnothing$  e  $1,5\text{ cm}$  de altura. Cada placa de Petri continha três discos foliares colocados em papel de filtro sob espuma de polietileno saturado com água, totalizando  $30$  espécimes por grupo de tratamento. O período de observação da atividade acaricida foi de  $24\text{ h}$  sendo considerados mortos os indivíduos que apresentaram incapacidade de reagir a ação de um leve toque com as cerdas de um pincel fino e caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo.

Os resultados coletados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de variância (Proc Univariate) e em seguida, os dados de mortalidade foram submetidos à ANOVA e as comparações das médias realizadas através do teste de Tukey a  $5\%$  de

probabilidade, utilizando o software SAS (versão 9.0) SAS INSTITUTE 2002. A CL<sub>50</sub> foi determinada por meio da análise de PROBIT através do software POLO-PC (Finney, 1971).

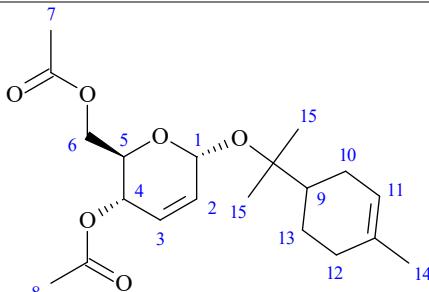
## Resultados e Discussão

A reação de glisocilação entre o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glical com o 2-(4-metilciclohex-3-en-1-il)propan-2-ol ( $\alpha$ -terpineol) realizada em dicloro anidro (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) na presença de montmoriolina K-10 como catalisador em sistema de refluxo, para fornecer o terpenil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranossídeo **03** correspondente em um tempo reacional de 3 horas e rendimento de 86,2%, além disso, o produto foi obtido como um óleo à temperatura ambiente de coloração amarelo levemente esverdeado e com forte aroma cítrico herbal.

Analizando os dados do espectro de infravermelho (IV) do glicosídeo, observou-se um estiramento intenso em 1739 cm<sup>-1</sup> referente ao grupo carbonila (C=O) do grupo éster presente na estrutura do composto e outro sinal de alta intensidade em 1220 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento do grupo C-O também do grupo éster. Além disso, na região de 1645 cm<sup>-1</sup> foi possível observar um estiramento axial da ligação (C=C) endociclícica do açúcar e um estiramento intenso em 1039 cm<sup>-1</sup> referente ao grupo C-O do éter (tabela 01).

No espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto, o hidrogênio anomérico (hidrogênio ligado ao carbono C1), apareceu como um simpleto largo em  $\delta$  5,20 ppm e em campo baixo devido ao efeito anisotrópico gerado pela dupla ligação no carbono adjacente (C2) e pelos átomos de oxigênio vizinhos. Além deste, também é possível observar os sinais dos hidrogênios alílicos H3 e H2 que aparecem como dupletos na região de  $\delta$  6,35 ppm e um outro dupletos na região de 6,10 ppm, respectivamente. O hidrogênio H4 do anel piranosídico apareceu como um multipletos na região de  $\delta$  5,40 – 5,38 ppm. Os hidrogênios metilas dos grupos OAc H7 e H8, aparecem como dois simples em  $\delta$  2,08 e 2,00 ppm com área de integral relativa a três hidrogênios cada, totalizando os seis hidrogênios. Na parte aglicona, os picos de hidrogênios característicos são referentes as metilas H14 e H15, que aparecem como simples na região de  $\delta$  1,81 e 1,32 ppm e o hidrogênio alílico H11 do ciclohexeno que aparece na região entre  $\delta$  5,37 – 5,34 ppm como um multipletos (tabela 01).

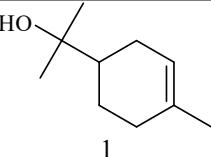
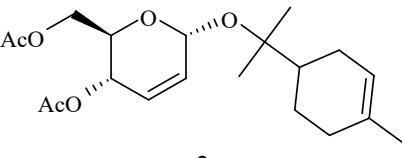
**Tabela 01:** Dados espectroscópicos do *O*-glicosídeo 2,3-insaturado contendo uma unidade de terpeniol como aglicona.

Composto	IV	RMN <sup>1</sup> H		RMN <sup>13</sup> C	
	Vmax (ATR)	(400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )			
	2929; 2856; 1739; 1645; 1367; 1220; 1039 cm <sup>-1</sup> .	$\delta$ 6.36 (dd, 1H, H3), 6.11 (dd, 1H, H2), 5.49 – 5.5 (m, 1H, H11), 5.38 (m, 1H, H4), 5.21 (s, 1H, H1), 4.14 (dd, 2H, H6), 4.1 (dd, 2H, H5), 2.26 – 2.22 (m, 1H, H10), 2.08-2.06 (m, H1, H12), 2.03 (s, 3H, -OAc), 1.99 (s, 3H, -OAc), 1.88-1.86 (m, 1H, H10'), 1.83-		$\delta$ 171,89; 170,57; 139,57; 134,00; 120,35; 120,28; 84,00, 89,00; 82,85; 81,55; 66,40;	

<b>Aspecto:</b>	Óleo amarelo levemente amarelo-esverdeado com aroma cítrico floral.	1.81 (m, 1H, H12), 1.80 – 1.79 (m, 2H, H13 e H13'), 1,63 (s, 3H, H14), 1.46 (s, 3H, H15), 1,43 (s, 3H, H15') ppm.	65,88; 41,85; 30,88; 29,71;	42,56; 34,63; 30,41; 26,37;
<b>Ponto de fusão:</b>	Óleo a t.a.		25,20; 23,27; 13,15; 22,83;	23,33; 23,10; 22,71
<b>Rf:</b>	0,93 (dicloro:acetato, 9:1)		ppm	

Os resultados da atividade acaricida por contato residual do terpenil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranossídeo contra espécimes adultas do *Tetranychus urticae* (ácaro-rajado) estão apresentados na Tabela 02.

**Tabela 02:** Toxidade por contato residual de *O*-glicosídeos 2,3-insaturados contendo unidades terpenicas como aglicona contra *Tetranychus urticae*.

Composto	N	DF	LC <sub>50</sub> (95% C.I.) ( $\mu$ g/mL)	Slope±S.E	$\chi^2$
	630	6	29.33 (25.67–33.51)	2.23 ± 0.16	3.65
	443	5	3.22 (2.83-3.63)	2.54 ± 0.34	4.69
<i>Azamax®</i>	531	5	0.55 (0.46 - 0.64)	0.99 ± 0.04	2.02

N: Número de ácaros utilizados. CL<sub>50</sub>: Concentração letal média para reduzir a população em 50%. E.P.: Erro padrão. X<sup>2</sup>: Qui-quadrado. G.L.: Grau de Liberdade.

Os resultados demonstraram que o composto terpenil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranossídeo apresentou uma atividade tóxica significativa contra adultos do *T. urticae*, apresentando uma CL<sub>50</sub> de 3.22  $\mu$ g/mL e uma atividade tóxica de 9,1 vezes maior que seu álcool monoterpênico isolado (terpineol).

Em 2017, um estudo realizado por Tak e Isman, avaliou a atividade acaricida e repelente de vinte compostos terpenóides comumente encontrados em óleos essenciais de plantas, dentre eles o  $\alpha$ -terpineol, onde foram usados contra o ácaro-rajado (*T. urticae*). Nesse estudo, o terpineol apresentou uma taxa de mortalidade de  $63,33 \pm 3,3\%$  e uma capacidade de repelir  $93,33 \pm 6,7\%$  em um tempo de 24 horas em discos foliares de feijão. Além disso, o  $\alpha$ -terpineol também apresentou efeitos de sinergismo quando aplicado com 1,8-cineol e vanilina, mostrando que o  $\alpha$ -terpineol potencializa o efeito tóxico de outros compostos quando aplicados em soluções binárias ou óleos compostos.

Abdelgaleil e colaboradores (2019), realizaram um estudo que avaliaram o potencial acaricida de seis monoterpenos que apresentavam diferentes classes bioquímicas, a saber: hidrocarbonetos ( $\alpha$ -pineno), álcool (1,8-cineol e terpineol), aldeído (( $-$ )-citronelal) e cetona

(limoneno e pulegona) por técnicas de contato e fumigação contra as fêmeas adultas de *T. urticae*. Todos os seis monoterpenos apresentaram uma alta atividade acaricida por ação fumigante em testes de toxicidade de cotado por 24 e 48 horas de tratamento com valores de CL<sub>50</sub> que variaram de < 160 e 45 mg/L. Tais resultados corroboram para a afirmativa que o α-terpineol apresenta atividade tóxica contra pragas de lavouras.

Recentemente, Araujo e colaboradores (2020) realizaram um estudo onde testaram misturas binárias de óleos essenciais e constituintes químicos dos óleos essenciais isolados foram selecionados contra o *T. urticae* em experimento de laboratório. Os autores observaram que, para os isômeros terpinen-4-ol e α-terpineol, a posição do grupo hidroxila no anel ciclohexênico no terpinen-4-ol contribuiu para a maior suscetibilidade do ácaro à fumigação. Por contato residual, no entanto, α-terpineol (LC<sub>50</sub>=29,33 μL L-1) era aproximadamente 11 vezes mais tóxico que seu isômero.

Os resultados de toxicidade por contato apresentados neste estudo para o O-glicosídeo 2,3-insaturado, contendo uma unidade de α-terpineol como aglicona, corroboram achados prévios obtidos com o α-terpineol isolado. Essa consistência sugere que a presença do α-terpineol na estrutura glicosídica mantém sua atividade tóxica, mesmo quando conjugado a uma fração sacarídica, reforçando seu papel como agente bioativo.

Uma questão relevante que emerge é o impacto da conjugação glicosídica na biodisponibilidade e seletividade do α-terpineol. Embora os resultados indiquem manutenção da toxicidade, é possível que o glicosídeo modifique parâmetros farmacocinéticos, como absorção cutânea ou estabilidade metabólica. Investigar se essa modificação estrutural influencia a penetração celular ou a interação com alvos moleculares específicos pode abrir caminho para aplicações mais seguras e direcionadas, especialmente em formulações agroquímicas ou farmacêuticas, desta forma, estudos *in silico* podem ser úteis para prever essas mudanças de parâmetros farmacocinéticos.

## Conclusões

Conclui-se que a reação entre o de glisocilação entre o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glical com o 2-(4-metilciclohex-3-en-1-il)propan-2-ol (α-terpineol) resultou no O-glicosídeo 2,3-insaturado terpenil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi-α-D-eritro-hex-2-enopiranossídeo em bom rendimento. Além disso, o composto apresentou excelente atividade acaricida contra adultos do ácaro rajado (*T. urticae*), sendo 9,1 mais potente que seu álcool precursor. Os resultados indicam que o O-glicosídeo apresenta potencial para compor produtos de interesse agronômico usados no combate a pragas em lavouras.

## Agradecimentos

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco pelo fomento das bolsas e ao DQF pelas análises realizadas.

## Referências

- ABDELGALEIL, S. A. M. *et al.* Acaricidal activity, biochemical effects and molecular docking of some monoterpenes against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 156, p. 105-115, 2019.
- ARAÚJO, M. J. C. *et al.* Acaricidal activity of binary blends of essential oils and selected constituents against *Tetranychus urticae* in laboratory/greenhouse experiments and the impact on *Neoseiulus californicus*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 80, n. 3, p. 423-444, 2020.
- ASSOUGUEM, A. *et al.* Current situation of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in Northern Africa: The sustainable control methods and priorities for future research. **Sustainability**, v. 14, n. 4, p. 2395, 2022.
- BUENO, J. M. *et al.* Controle populacional do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) coletado em lúpulo. **Revista Thema**, v. 23, n. 2, p. 450-462, 2024.

CARUZO FILHO, J. R. Controle do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) com o novo inseticida-acaricida isocicloseram em amendoim. 2024.

CASTILHO, P. F. et al. Desafios e alternativas promissoras na luta contra a resistência antimicrobiana. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 24, n. 5, p. e15237-e15237, 2024.

FREITAS FILHO, J. R. et al. Absolute Configuration Determination of Sugar: A Review of the Different Methods. **International Research Journal of Pure and Applied Chemistry**, vol. 25, n. 1, p. 28-44, 2024.

HE, M.; ZHOU, X.; WANG, X. Glycosylation: mechanisms, biological functions and clinical implications. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, 9:194, 2024. DOI: 10.1038/s41392-024-01886-1.

MOSCARDI, F. et al. Artrópodes que atacam as folhas da soja. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**, v. 4, p. 859, 2012.

MOURA, A. L. et al. O-glicosídeos 2,3-isanturados: Aplicações, Rearranjo de Ferrier e Reações. **Química Nova**, vol. 41, n. 5, p. 550-566, 2018.

NETO, P. R. S. et al. Desenvolvimento nos métodos de glicosilação: Uma chave para acessar suas aplicações na síntese de moléculas bioativas. **Química Nova**, vol. 44, n. 4, p. 432-459, 2021.

QUEMEL, G. K. et al. A importância dos biofármacos no tratamento das doenças imunológicas: Uma revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e3610816858-e3610816858, 2021.

QUINTELA, Eliane Dias. **Manual de identificação dos insetos e outros invertebrados pragas do feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012.

RIBEIRO, N.; CAMARA, C.; RAMOS, C. Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). **Chilean journal of agricultural research**, v. 76, n. 1, p. 71-76, 2016.

SANTOS M. D. et al. Pragas do mamoeiro. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 37, n. 293, p. 30-42, 2016.

TAK, Jun-Hyung; ISMAN, M. B. Acaricidal and repellent activity of plant essential oil-derived terpenes and the effect of binary mixtures against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 786-792, 2017.

TOSHIMA, K. et al.; Practical Glycosidation Method of Glycals Using Montmorillonite K-10 as an Environmentally Acceptable and Inexpensive Industrial Catalyst. **Synlett**, Yokohama, v. 4, p. 306-308, 1995.