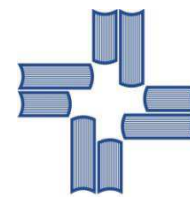




UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE BIOLOGIA E QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



**APLICAÇÃO DE DIFERENTES ARGILAS NA SÍNTESE DO 6-O-
ACETIL-1,2:3,4-DI-O-ISOPROPILIDENO- α -D-GALACTOPIRANOSE E
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA FRENTE ÀS LARVAS DA *ARTEMIA*
SALINA LEACH**

ANTÔNIO RUAN SOUTO DOS SANTOS

CUITÉ - PB

2017

ANTÔNIO RUAN SOUTO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DE DIFERENTES ARGILAS NA SÍNTESE DO 6-O-
ACETIL-1,2:3,4-DI-O-ISOPROPILIDENO- α -D-GALACTOPIRANOSE E
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA FRENTE ÀS LARVAS DA *ARTEMIA*
SALINA LEACH**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, como parte integrante do requisito para obtenção do Grau de Licenciado em Química.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

CUITÉ – PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

S237a Santos, Antônio Ruan Souto dos.

Aplicação de diferentes argilas na síntese do 6 – O – acetil – 1, 2; 3, 4 – Di – O – Isopropilideno – Alfa – D – Galactopiranosose e avaliação toxicológica frente às larvas da *Artemia Salina* Leach. / Antônio Ruan Souto dos Santos. – Cuité: CES, 2017.

55 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2017.

Orientador: Juliano Carlo Rufino Freitas.

1. Carboidratos. 2. D- galactose. 3. Reação de acetilação. 4. Montmorillonita k-10. I. Título.

ANTÔNIO RUAN SOUTO DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DE DIFERENTES ARGILAS NA SÍNTESE DO 6-O-
ACETIL-1,2:3,4-DI-O-ISOPROPILIDENO- α -D-GALACTOPIRANOSE E
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA FRENTE ÀS LARVAS DA *ARTEMIA*
SALINA LEACH**

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas (Orientador)
UFCG/CES/UAE

Prof. Dr. Fernando de Sousa Oliveira
UFCG/CES/ UAS

Prof.^a Dr. Wellington Sabino Adriano
UFCG/CES/ UAS

CUITÉ – PB

2017

Deus sempre me deu a vitória, pois
sempre enfrentei as dificuldades
cotidianas da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser muito presente em minha vida, por colocar verdadeiros amigos em minha vida, sem as bênçãos dele eu não teria chegado onde cheguei.

A Vera Neyde de Souto e Matias José dos Santos, essas duas pessoas foram fundamentais para mim, em especial ao meu pai que nunca mediu esforços para me auxiliar no que fosse necessário, sempre me dando apoio em todos os momentos. Meus pais sempre me guiaram e me orientaram a tomar as melhores decisões e escolhas, me mostraram a essência da humildade e da dignidade, meus pais mostraram e mostram que podemos chegar onde quisermos basta termos força de vontade, além disso utilizar as desconfianças, dúvidas, críticas destrutivas como um motivo para mostrarmos que somos capazes de chegar onde quisermos, que quanto maior a dificuldade maior a vitória e que no final tudo dará certo. Devo a eles infinita gratidão pela pessoa que me tornei e tenho muito orgulho de poder chamá-las de mãe e pai. Agradeço também a toda minha família pelo apoio.

A meus irmãos Elias e Carol, meu irmão por sempre estar ao meu lado, desde a minha infância me incentivando a ir a escola nunca irei esquecer. A minha irmã por estar mais presente em minha vida, por mais tempo morar na mesma casa que eu, apesar das brigas sempre fomos muito unidos, Carol é uma Joia rara, pessoa que amo, e que me ajudou imensamente, se não fosse ela eu não teria concluído esse curso, amo imensamente os meus irmãos.

A todos os professores e professoras, desde o jardim de infância até na faculdade, estes muito me ensinaram. Agradeço pelos ensinamentos e reconhecimento que contribuíram de forma significativa para a minha formação como cidadão e como profissional. Na faculdade agradeço ao professor José Carlos de Freitas Paula, que ao longo de 1 ano Participamos juntos do PET, que sem dúvida foi uma das melhores coisas que aconteceu na minha vida acadêmica, onde me transformei como pessoa e no âmbito da minha formação profissional, onde nesse projeto me lhei com o sentido de trabalho em grupo e de contribuição coletiva, isso foi alcançado graças a nossa amizade e confiança, meu muito obrigado.

Não poderia esquecer do professor Juliano, pela sua paciência, dedicação, compreensão e esforço, além de ser um professor amigo que sempre escuta e dá os

melhores concluídos possíveis. Agradeço infinitamente pelos ensinamentos compartilhados, o senhor é um cara incrível.

Em especial aos meus companheiros de laboratório, Jadson, Aqueline, Claudio, Cosme, Jaqueline, Francireinildo, Rayane, Evandro, Rodrigo, Erick, Douglas e Adla, com eles aprendi muito. E a todos os demais colegas de curso, Josy, Wanderley, Alison, Lioran, Junior, Josivaldo, Carlinhos, Robson, Jonas Joklevson e demais. Agradeço pela amizade e companheirismo, pois estiveram presentes em todos os momentos do meu curso.

Dos colegas de curso, fiz grandes amizades, e ganhei grandes amigos. Dentre eles posso citar, Josivaldo e Alison grandes colegas. Em Especial Lioran e Junior, esses foram grandes amigos que ganhei, juntos se tornamos confidentes e conhecedores da história de cada um, se não fosse esses dois o curso não seria o mesmo para mim, quero levar essa forte amizade para toda minha vida.

A Ielda, mesmo sendo de outro período sempre me ajudou muito, compartilhando experiências, materiais, listas, meu muito obrigado pela sua amizade.

Aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui

RESUMO

Os carboidratos são as macromoléculas polifuncionais mais abundantes da natureza, e apresentam inúmeras aplicações medicinais, biológicas e tecnológicas. Tendo em vista o exposto e ciente da importância dos carboidratos, este trabalho tem como objetivo central estudar as condições reacionais para a síntese do 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose empregando diferentes tipos de argilas e avaliar sua toxicidade frente ao bioensaio com *Artemia salina* Leach. Neste sentido, inicialmente foi sintetizado o 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose, a partir da D-galactose em meio ácido, onde obteve-se um rendimento de 83%. Em seguida, foi avaliado o potencial catalítico de diferentes argilas empregadas na reação de acetilação do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose, onde os melhores resultados foram obtidos utilizando a montmorilonita K-10 com o rendimento de 95%, adicionalmente, foi realizado o estudo da variação da concentração da montmorilonita K-10, onde o melhor resultado foi obtido utilizando 100% m/m da argila. Foi avaliado o reuso da argila em sucessivas reações de acetilação, onde a montmorilonita K-10 manteve sua atividade catalítica por 4 ciclos reacionais. Foram empregados na reação de acetilação do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose, os solventes diclorometano e acetato de etila, onde os rendimentos foram de 80% e 96%, respectivamente. Por fim, foram realizados bioensaios toxicológicos frente a *Artemia Salina* Leach, com o 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose e 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose, onde os mesmos se mostraram atóxicos. Dessa forma o reuso da argila é viável, os compostos sintetizados foram caracterizados e se mostraram atóxicos frente ao bioensaio, nas concentrações estudadas.

Palavras-chave: Carboidratos; D-galactose; Reação de acetilação; Montmorilonita K-10.

ABSTRACT

Carbohydrates are the most abundant polyfunctional macromolecules in nature, and have numerous medicinal, biological and technological applications. This study aims to study the reaction conditions for the synthesis of 6-O-acetyl-1,2: 3,4-di-O-isopropylidene- α -D- Galactopyranose using different types of clays and to evaluate their toxicity to the bioassay with *Artemia salina* Leach. In this sense, 1,2: 3,4-di-O-isopropylidene- α -D-galactopyranose was first synthesized from D-galactose in acid medium, yielding 83% yield. Then, the catalytic potential of different clays employed in the acetylation reaction of 1,2: 3,4-di-O-isopropylidene- α -D-galactopyranose was evaluated, where the best results were obtained using montmorillonite K-10 with The 95% yield, in addition, was carried out the study of the variation of the concentration of the montmorillonite K-10, where using 100% m / m of the clay, the reaction occurred in only 7.5 minutes with a yield of 95%. The reuse of the clay was studied in successive reactions of acetylation, where the montmorillonite K-10 maintained its catalytic activity for 4 reactional cycles. 1,2,3,4-di-O-isopropylidene- α -D-galactopyranose acetylation reaction, the solvents dichloromethane and ethyl acetate, where yields were 80% and 96%, respectively. Finally, toxicological bioassays were carried out against *Artemia Salina* Leach with 1,2: 3,4-di-O-isopropylidene- α -D-galactopyranose and 6-O-acetyl-1,2,4,4-di -O-isopropylidene- α -D-galactopyranose, where they were nontoxic comparing the data in the literature. In this way, the reuse of clay was possible, the synthesized compounds were characterized and proved to be non-toxic, thus promising for possible biological applications.

Keywords: Carbohydrates; D-galactose; Acetylation reaction; Montmorillonite K-10.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura monoméricas que compõem alguns polissacarídeos.....	19
Figura 2. Compostos contendo carboidratos que possuem atividade biológica	20
Figura 3. Exemplos de carboidratos importantes biologicamente	21
Figura 4. Estrutura da Quitosana.....	22
Figura 5. Estrutura da D-galactose e D-glicose	22
Figura 6. Estrutura química do pró-fármaco Galda.....	24
Figura 7. Estrutura química da pró-fármaco Nagal.....	24
Figura 8. Estrutura química da pró-fármaco Docetaxel	25
Figura 9. Estrutura da argila	27
Figura 10. (a) Imagem da <i>Artemia Salina</i> . (b) Peixe-palhaço ou peixe-das-anêmonas	29
Figura 11. Centrífuga utilizada no reuso da argila montmorillonita K-10	33
Figura 12. CCD realizada após a extração, para se obter o composto 3	39
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do composto 3	41
Figura 14. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) do composto 3	42

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Formação da Sacarose	19
Esquema 2. Síntese do 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudo da influencia do tipo de argila utilizada na reação de acetilação do 1,2:3,4-di- <i>O</i> -isoproleno- α -D-galactopiranosose (2).	37
Tabela 2. Estudo da influencia da quantidade de argila na reação de acetilação do 1,2:3,4-di- <i>O</i> -isoproleno- α -D-galactopiranosose (2).	38
Tabela 3. Estudo da influencia do tipo de solvente utilizado na reação de acetilação do 1,2:3,4-di- <i>O</i> -isoproleno- α -D-galactopiranosose (2).	40
Tabela 4. Estudo do ponto de fusão do 6- <i>O</i> -acetil-1,2:3,4-di- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-galactopiranosose (3).	42
Tabela 5. Estudo do reuso da argila montmorillonita K-10 em sucessivas reações de acetilação do 1,2:3,4-di- <i>O</i> -isoproleno- α -D-galactopiranosose (2).	43

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
ATP	Adenosina trifosfato
CL	Concentração letal
<i>J</i>	Constante de acoplamento
CCD	Cromatografia em camada delgada
δ	Deslocamento químico
DCM	Diclorometano
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo de dupleto
<i>dl</i>	Dupleto largo
MHz	Hertz x 10 ⁶
H	Hora
IV	Infravermelho
m/m	Massa/Massa
Min	Minutos
Ppm	Partes por milhão
<i>m</i>	Multiplete
<i>RMN</i>^{1H}	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>RMN</i>^{13C}	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>s</i>	Simpleto
<u><i>s</i></u>	Simpleto largo
SNC	Sistema nervoso central
t.a.	Temperatura ambiente

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Carboidratos: aspectos gerais	18
3.2 Carboidratos: aplicações biológicas, farmacológicas e tecnológicas	20
3.3 D-Galactose: um carboidrato com múltiplas aplicações	22
3.4 Reação de acetilação em carboidratos	25
3.5 Artemia salina Leach	28
4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	31
4.1 Local da pesquisa	31
4.2 Procedimentos gerais	31
4.3 Procedimento experimental	32
4.3.1 Preparação do 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (2).....	32
4.3.2 Preparação do 6-O-acetil-1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (3)	32
4.3.3 Reuso da argila.....	33
4.3.4 Cálculos estequiométricos para o rendimento	34
4.3.5 Bioensaio Toxicológico com as Larvas da <i>Artemia Salina</i> Leach	34
4.3.5.1 Análise de Letalidade.....	35
4.3.5.2 Análise estatística	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

Os carboidratos estão presentes em todos os seres vivos e são essenciais para a vida. Alguns carboidratos são facilmente encontrados em nosso cotidiano, a citar: a sacarose, o amido e a celulose, sendo este último encontrado no algodão, na madeira e no papel (FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2009). Assim como as proteínas, os lipídios e os ácidos nucleicos, os carboidratos são biomoléculas polifuncionais (FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2009).

O termo carboidratos denota hidratos de carbono, designação oriunda da fórmula geral $C_n(H_2O)_n$ apresentada pela maioria dessas moléculas. Sua oxidação é o principal meio de abastecimento energético da maioria das células não fotossintéticas. Além de ser suprimento energético, os carboidratos atuam como elementos estruturais da parede celular dos vegetais, passando pelo envolvimento em mecanismos muito específicos de reconhecimento molecular, como aqueles associados a respostas imunológicas e como sinalizadores no organismo, preservação das proteínas com o papel de manutenção e reparo e no crescimento dos tecidos corporais (BONDUELLE et al., 2013).

Os carboidratos são as biomoléculas mais abundantes na natureza, onde se estima que 100 bilhões de toneladas de carboidratos (glicose) são produzidos pela fotossíntese anualmente (NELSON; COX, 2014), além disso, a maior parte de toda biomassa produzida no planeta é constituída por diferentes tipos de carboidratos (OLIVEIRA, 2002).

Devido à abundância dos carboidratos na natureza e de suas aplicações em diversas áreas, é justificável o crescente aumento de artigos científicos, livros e grupos de pesquisas estudando a química dessas moléculas. Vale ressaltar que a maioria dos artigos científicos trata das aplicações tecnológicas e novas estratégias sintéticas dos carboidratos, além disso, nos últimos 100 anos o estudo de suas atividades tem aumentado de forma surpreendente, principalmente com relação à suas aplicações biológicas (NOGUEIRA; PARMANHAN; CORREA, 2009).

Como decorrência dessas atividades, os carboidratos têm sido submetidos a diferentes tipos de transformações, a citar, a reação de acetilação (NIGUDKAR; DEMCHENKO, 2015), uma vez que, esta reação vem sendo amplamente utilizada pelos químicos sintéticos (YU et al., 1999), no que diz respeito a preparação e

caracterização de compostos, a fim de modificar o seu grau de complexidade, propiciando diversas aplicações (OLIVEIRA, 2013). .

A literatura descreve várias metodologias para promover a acetilação de carboidratos empregando anidrido acético na presença de catalisadores básicos ou ácidos, tais como: piridina (HUDSON; DALE, 1915), perclorato de lítio (LU et al., 2004), $\text{HClO}_4\text{-SiO}_2$ (MISRA et al., 2005), triflato de cério-III (BARTOLI et al., 2004), ácido bromídrico (SHULL; KORREDA, 1996) e iodo (KARTHA; FIELD, 1997). De modo geral, todas estas metodologias apresentam algum tipo de limitação, tais como: i. Uso de reagentes tóxico, corrosivo ou caro; ii. Emprego de catalisadores homogêneos (em que na maioria dos casos, não podem ser recuperados, o que eleva a quantidade de resíduo químico); iii. Emprego de elevadas quantidades de solventes para isolamento e purificação do produto final; iv. Elevados tempos reacionais; entre outros. Deste modo, uma alternativa para contornar a maior parte dessas limitações sintéticas é através do emprego de catalisadores heterogêneos, a citar as argilas.

As argilas são estruturas lamelares constituídas de silicatos hidratados de alumínio/magnésio que apresentam tamanho de partícula inferior a 2 μm de diâmetro, podendo atuar como ácido de Lewis ou Brønsted (CADARS et al., 2012). De acordo com Florido e colaboradores (2013), as argilas são definidas como materiais encontrados em fontes naturais, arenosas, apresentando características plásticas quando exposta à água.

Além de sua eficiência em catalisar inúmeras reações químicas, as argilas apresentam vantagens na área econômica e ambiental, uma vez que são catalisadores disponíveis comercialmente. Por serem sólidas, são de fácil manipulação, podendo ser removidas através do processo físico filtração, o que implica em uma diminuição dos gastos com solventes e isolamento do produto desejado. Adicionalmente, as argilas são atóxicas, o que facilita o seu descarte no meio ambiente (CADARS et al., 2012).

Tendo em vista o interesse da comunidade acadêmica pela química dos carboidratos, faz-se necessário, após promover as modificações estruturais, realizar testes toxicológicos, a fim de avaliar a toxicidade desses novos compostos. Deste modo, um teste que se destaca é o bioensaio com *Artemia salina* Leach.

A *Artemia Salina* é uma espécie de microcrustáceo encontrado em águas salinas, que são capazes de viver em ambientes extremamente salinos e com pouca

concentração de oxigênio (RUIZ et al., 2005). Esse microcrustáceo tem distribuição cosmopolita e suportam sobreviver em largas faixas de variação de salinidade (PIMENTEL et al., 2011)

Os cistos de *Artemia salina* são de baixo custo e de fácil acesso no comércio, além de permanecerem estáveis por centenas de dias no estado seco, essas vantagens contribuem de forma significativa para a inserção desse organismo vivo nos bioensaios (LHULLIER; HORTA; FALKENBERG, 2006). Adicionalmente este ensaio é utilizado em pesquisas, relacionadas ao isolamento de agentes antitumorais e pesticidas produzidos por plantas (GUISALBERTI, 2008)

Tendo em vista, a importância dos carboidratos, o presente projeto visa estudar as condições reacionais da reação de acetilação do 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose utilizando diferentes argilas como promotor, e avaliar a toxicidade do composto sintetizado através do bioensaio com a *artemia salina* Leach.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O trabalho tem como objetivo central estudar as condições reacionais para a síntese do 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose empregando diferentes tipos de argilas e avaliar sua toxicidade frente ao bioensaio com *Artemia salina* Leach.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar o 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose;
- Avaliar o potencial catalítico de diferentes argilas na reação de acetilação do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose;
- Estudar a influência dos parâmetros (quantidade de argila e solvente) na reação de acetilação;
- Avaliar o reuso da argila em sucessivas reações de acetilação;
- Caracterizar o 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose;
- Avaliar a toxicidade do composto acetilado (6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose) frente a testes com *Artemia salina*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Carboidratos: aspectos gerais

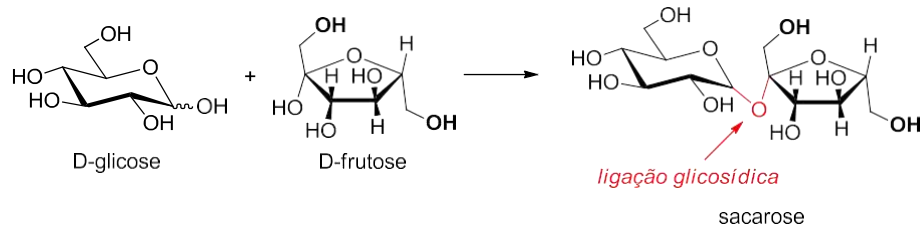
Os carboidratos, também denominados de açúcares, estão presentes nos mais variados tipos de organismos vivos, atuando principalmente como fonte energética (NELSON; COX, 2014). De acordo com Pomin e Mourão (2006), os carboidratos quando associados aos lipídios, ácidos nucleicos e proteínas desempenham várias funções biológicas que são fundamentais para manutenção da vida.

A palavra carboidrato surgiu pela primeira vez no século XIX com a função de nomear uma classe de compostos orgânicos que apresentavam uma fórmula geral $C_n(H_2O)_n$, daí o nome hidratos de carbono. No entanto, com o avanço tecnológico, novos compostos foram elucidados e verificou-se que os mesmos não apresentavam essa fórmula (NOGUEIRA et al. 2009).

Devido a diversidade natural e sintética dos carboidratos, os mesmos foram classificados, a fim de facilitar sua compreensão, como: monossacarídeos, oligossacarídeos (incluem os dissacarídeos) e polissacarídeos, que são polímeros de carboidratos de cadeias longas que apresentam geralmente mais de 20 unidades monossacarídicas (VARKI et al., 2009).

Os monossacarídeos correspondem as estruturas mais simples do universo dos carboidratos, apresentando apenas uma única unidade sacarídica. Podem ser classificados como aldose ou cetose, quando apresentam a função aldeído ou cetona, respectivamente. Os monossacarídeos podem apresentar em sua estrutura de três a sete átomos de carbono, sendo chamados de triose, tetrose, pentoses hexose ou heptose (MARZZOCO; TORRES, 1999). Segundo Vollhardt e Schore (2004), os monossacarídeos podem apresentar estruturas na forma de anéis de cinco (furanosídeo) ou seis (piranosídeos) membros.

Os oligossacarídeos são formados pela junção de dois ou mais monossacarídeos por meio de ligações glicosídicas, conforme mostra o esquema 1 (MARZZOCO; TORRES, 1999).



Esquema 1. Formação da sacarose.

Já os polissacarídeos são compostos com estrutura polimérica constituída de dezenas, centenas ou milhares de resíduos de monossacarídeos, formando assim, cadeias lineares ou ramificadas. Exemplos de polissacarídeos são: a celulose (Figura 1a), a quitina (Figura 1b), o glicogênio e o amido (MARZZOCO; TORRES, 1999). De acordo com Cunha (2009), os polissacarídeos são polímeros naturais ou sintéticos, formados por um único tipo de monossacarídeo (denominados de homopolissacarídeos) ou de diferentes tipos de monossacarídeos (denominados de heteropolissacarídeos), onde vários apresentam aplicações industriais.

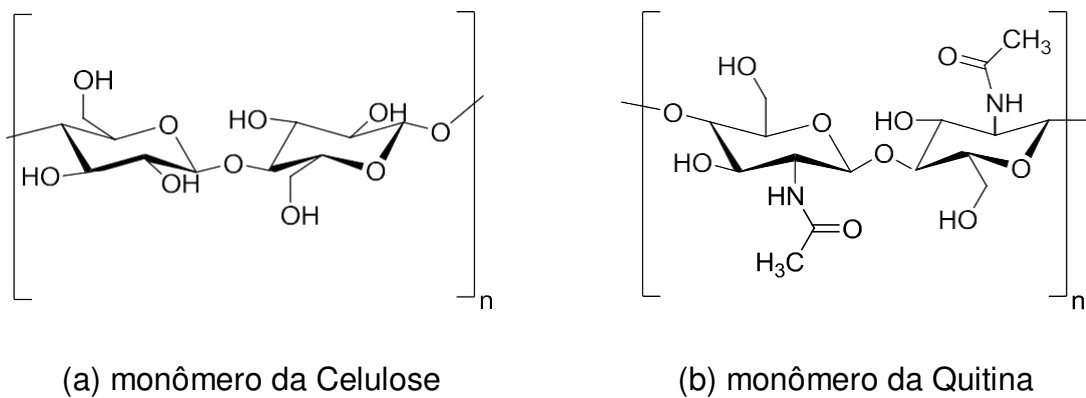


Figura 1. Estruturas monoméricas que compõem alguns polissacarídeos.

Segundo Nogueira e colaboradores (2009), os carboidratos são considerados como substâncias poli-hidroxiladas, sendo poli-hidroxialdeídos ou poli-hidroxicetonas, ou substâncias que geram esses compostos quando hidrolisados.

Ciente da importância dos carboidratos, o próximo tópico enfatizará as aplicações biológicas, farmacológicas e tecnológicas dessa classe de compostos.

3.2 Carboidratos: aplicações biológicas, farmacológicas e tecnológicas

Devido aos carboidratos estarem presentes nos mais diversos organismos vivos, suas aplicações vem sendo extensivamente estudada. Este dado é corroborado pelo elevado número de trabalhos publicados anualmente (*Web of Science*TM, 2017). Estes trabalhos descrevem inúmeras aplicações dos carboidratos, a citar: antibacteriana (BARRADAS et al., 2008), antiviral (HIDARI et al., 2008) antineoplásica (YANG et al., 2004) antiprotozoária (LEITÃO et al., 2004), antifúngica (MUHIZI; COMA; GRELIER, 2008), atenuação do estresse oxidativo (ZHANG et al., 2009), (Figura 2) entre outras (PUTERKA et al., 2003).

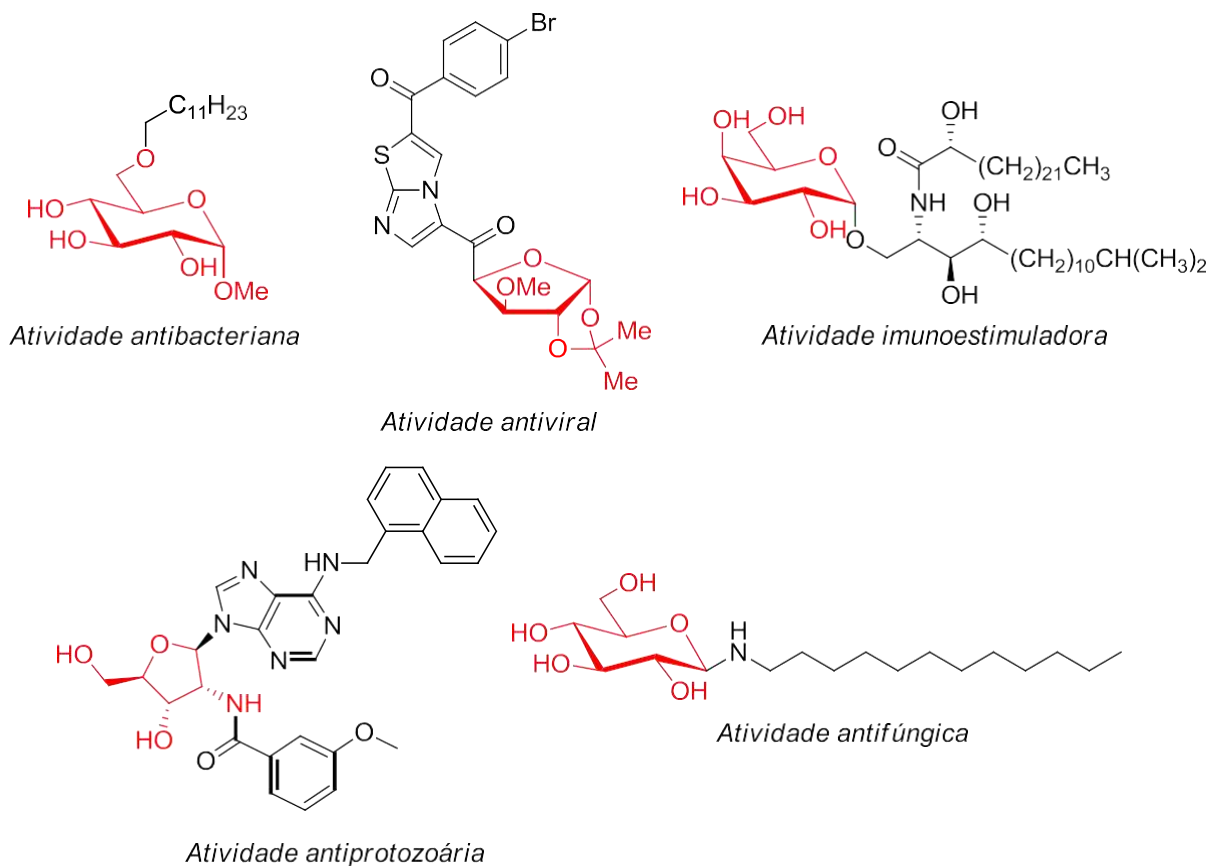


Figura 2. Compostos contendo carboidratos em suas estruturas que possuem aplicações biológicas.

De acordo com Nelson e Cox (2014), a glicose é o “combustível” do cérebro, atuando como importante reserva energética, onde é essencial a sua presença para a manutenção dos neurônios e conseqüentemente para um bom funcionamento do

sistema nervoso. Adicionalmente, a ausência desse composto no cérebro pode causar danos irreversíveis, causando letargia, coma e até a morte.

Os carboidratos participam de mecanismos de glicosidação de proteínas, os quais unem-se a grupos proteicos, possibilitando que proteínas se liguem a um determinado sítio ativo (BALZARINI et al., 2007).

Outros bons exemplos de compostos que possuem carboidratos em sua estrutura que são importantes biologicamente são: a vacomicina e teicoplanina (principais fármacos usados contra infecções causadas por bactérias gram-positivas; XAVIER; RAUTER, 2012), a *O*-macrolactina (um potente antiviral; ZHENG et al., 2007), a salicina (anti-inflamatório largamente utilizado; AKAO et al., 2002) e a adenosina trifosfato – ATP (responsável pelo armazenamento e transporte de energia; KLINGENBERG, 2008) (Figura 3).

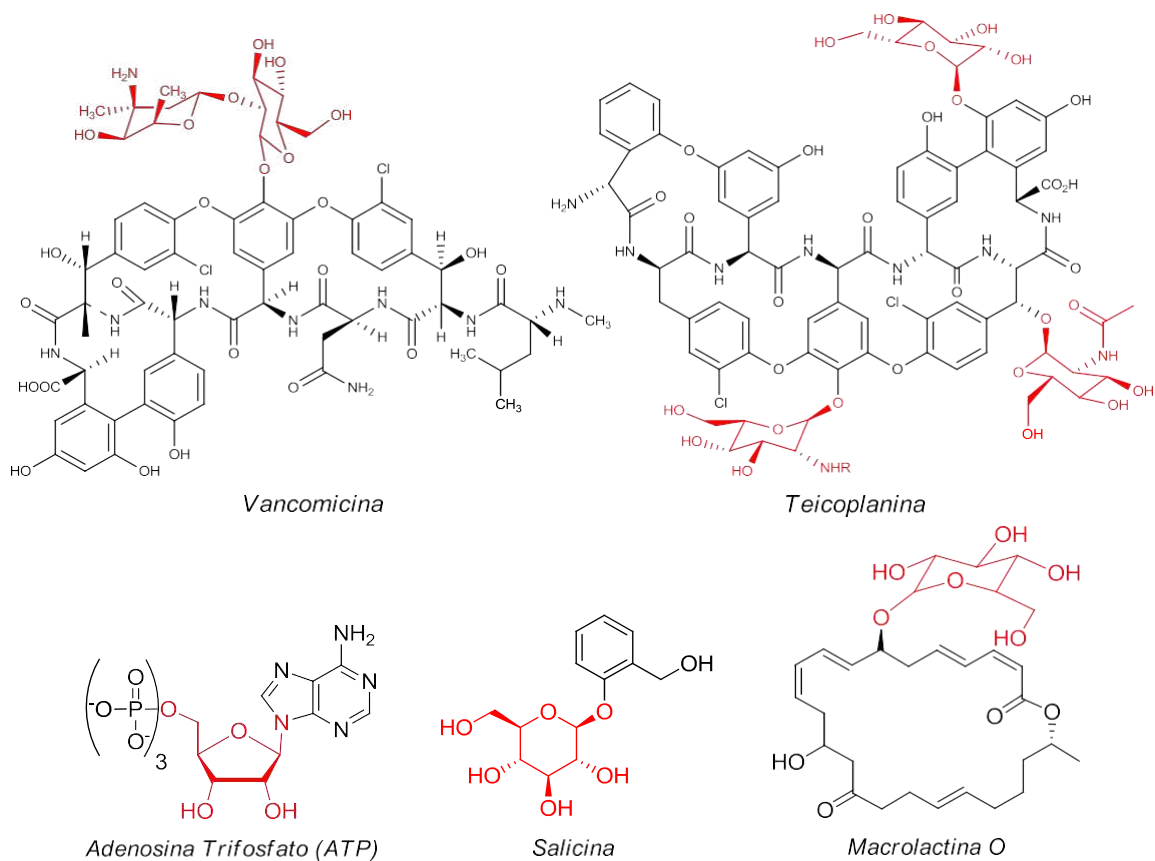


Figura 3. Exemplos de carboidratos importantes biologicamente.

Além dessas aplicações, os carboidratos podem ser utilizados como biossensores, que são pequenos dispositivos com componentes biológicos como elementos de reconhecimento (ZENG et al., 2012).

A quitosana (Figura 4) é um polissacarídeo nitrogenado, derivado do processo de desacetilação da quitina, e vem sendo largamente utilizada como redutor de gordura *in vitro*, e nos procedimentos de implantes cirúrgicos atuando na prevenção do crescimento de fungos e bactérias (AZEVEDO et al., 2007).

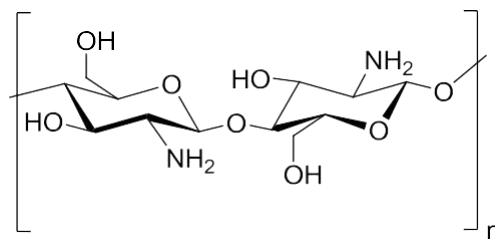


Figura 4. Estrutura da quitosana.

Além disso, a quitosana vem sendo muito estudada pela comunidade científica, devido a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (LARANJEIRA; FAVERE, 2009).

Tendo em vista a relevância e importância dos carboidratos, o próximo tópico abordará as possíveis aplicações do monossacarídeo da D-galactose.

3.3 D-Galactose: um carboidrato com múltiplas aplicações

A D-galactose é um monossacarídeo que apresenta fórmula geral $C_6H_{12}O_6$, semelhante a D-glicose, divergindo apenas na posição da hidroxila ligada ao carbono 4, a qual apresenta-se na posição axial, conforme mostra a Figura 5 (MARQUES, 2015).

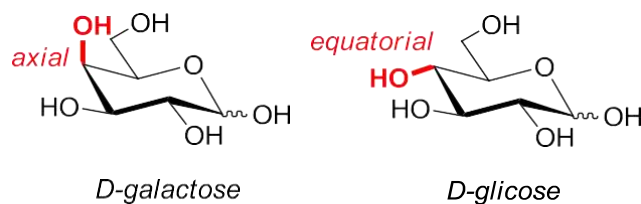


Figura 5. Estrutura da D-galactose e D-glicose.

A maior fonte da D-galactose é o leite, estando também presente em frutas (banana, abacaxi, melancia, maçã), vegetais (espinafre, alface, coentro) e frutos do mar (algas) (SERIQUE; CEYLÃO; SANTIAGO, 2008). De acordo com Melisi e colaboradores (2011), a D-galactose é um composto simples e natural, que vem sendo largamente utilizado como intermediário sintético visando a síntese de novos compostos que apresentem promissora atividade biológica.

A D-galactose oferece várias vantagens quando utilizada como intermediário para síntese de novos compostos, dentre elas, destacam-se: os produtos geralmente não apresentam efeitos colaterais ou elevada toxicidade dependendo das concentrações; os produtos apresentam solubilidade considerável em água; seus transportadores são universais sob condições patológicas; e sua estrutura bem caracterizada contribui para a síntese de novos compostos (MELISI et al., 2011). Adicionalmente, a D-galactose vem sendo amplamente estudada, como transportador enzimático no sistema nervoso central (SNC), pois ajuda a superar a baixa permeabilidade na barreira hematoencefálica (MELISI et al., 2011). Esse carboidrato é um dos compostos mais utilizados na síntese de pró-fármacos (fármacos que são administrados na forma inativa, sendo ativados somente após biotransformação) (ANDERSON, 1996).

Em parte, a atuação da D-galactose como transportador enzimático se deve a hidroxila ligada ao carbono 6, que atua como “âncora”, a qual outras moléculas se ligam, a fim de serem transportadas de forma convergente para o SNC, proporcionando melhores resultados nos tratamentos contra danos neurais (FERNANDEZ, et al., 2000). É importante enfatizar que fármacos como, ácido clorocinurênico (BATTAGLIA et al., 2000), ácido nipecótico (BONINA et al., 1999) e dopamina (BONINA et al., 2003), ao serem ligados a molécula de D-galactose minimizam os efeitos dessas drogas no SNC. No caso da dopamina, ao ser conjugada com a D-galactose forma a Galda (Figura 6) que é formada por uma ligação covalente entre a D-galactose e a dopamina, a qual altera a concentração plasmática cerebral diminuindo os danos que poderiam ser causados pela dopamina no cérebro (BALDWIN, 1993).

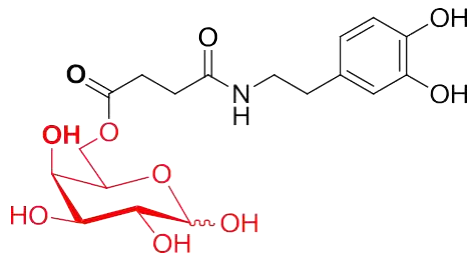


Figura 6. Estrutura química do pró-fármaco Galda

Um estudo recente revelou que a galactosidação do *N*-nitro-*L*-arginina, gera um pró-fármaco denominado de Nagal (Figura 7). Esse pró-fármaco possui eficácia nos tratamentos neuropáticos de forma geral (GIORDANO et al. 2010), e exerce atividade na medula e astrócitos (CIDAD et al. 2001), processo de transporte de proteínas para o cérebro, aumentando dessa forma, o efeito terapêutico (LOAIZA; PORRAI; BARROS, 2003).

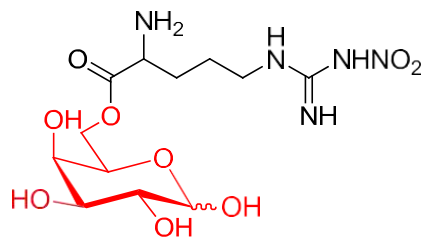


Figura 7. Estrutura química do pró-fármaco Nagal.

Pró-fármacos que possuem a D-galactose estão sendo utilizados no transporte de proteínas que inibem o crescimento desordenado das células, onde já foram realizados testes e *in vitro* e em *in vivo*, no combate ao câncer no colo retal, câncer de pulmão, câncer de mama e câncer na tireóide (ITO et al. 2002).

Paclitaxel e docetaxel são dois taxóides que apresentam atividades antitumorais, por inibição da montagem de microtubos em células tumorais. No entanto, possuem baixa solubilidade em água o que diminui em muitas vezes a ação anticancerígena. Dessa forma, novos taxóides solúveis em água foram sintetizados, formando produtos com hexoses em sua estrutura, entre esses taxóides temos a docetaxel que é ligada a D-galactose (Figura 8), onde esse composto possui uma maior solubilidade em água quando comparado a outros pró-fármacos utilizados

para o mesmo fim, apresentando assim, maiores atividades antitumorais *in vivo* (MIKUNI et al., 2008).

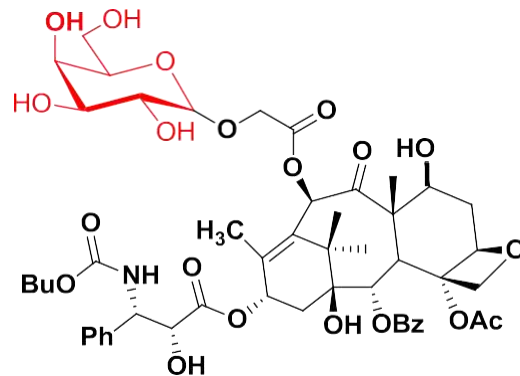


Figura 8. Estrutura química do pró-fármaco docetaxel.

De acordo com Qu e colaboradores (2016), apesar das várias aplicações desses carboidratos, é importante salientar que a injeção de D-galactose de forma constante durante 8 semanas numa quantidade de 100 mg/kg ao dia causou a indução do estresse oxidativo, apoptose dos neurônios e perda da memória em ratos.

Tendo em vista a relevância dos carboidratos, várias rotas sintéticas vem sendo estudas pela comunidade científica a fim de sintetizar novos compostos com aplicabilidades biológicas, como é o caso da reação de acetilação que será abordada no tópico a seguir.

3.4 Reação de acetilação em carboidratos

A reação de acetilação é empregada, no geral, para converter muitas vezes moléculas simples estruturalmente em moléculas com maior grau de complexidade estrutural. A conversão química de açúcares por meio da reação de acetilação, é chamada de per-*O*-acetilação, e geralmente, o anidrido acético é utilizado como agente acetilante (CARDOZO, 2016).

O produto da acetilação tem suas propriedades físico-químicas alteradas, tais como, polaridade, elasticidade, capacidade de absorção ou troca de íons, resistência a ataque microbiológico e térmico, o que propicia uma maior atividade biológica do

composto acetilado (SILVA, 2014). De acordo com Meier (2007), além do anidrido acético, também se emprega o cloreto de acetila na presença de uma base como a piridina, trietilamina ou DMAP, a fim de promover a acetilação.

De acordo com Silva (2014), a conversão de composto através da reação de acetilação pode ocorrer através da catálise heterogêneas ou homogêneas, onde o melhor tipo de catálise empregada depende das condições reacionais que serão empregadas.

Vale ressaltar que a reação de acetilação também serve de proteção do grupo hidroxila na química dos carboidratos, onde este tipo de reação experimentalmente é de fácil execução e envolve elevados rendimentos (MEIER, 2007).

No que se refere a química dos carboidratos, muitos monossacarídeos são acetilados, para posteriormente serem empregados como intermediários para a síntese de diversos outros carboidratos com atividades biológicas, como alguns oligossacarídeos e como também glicoconjugados (LU et al., 2004).

Tendo em vista as atividades biológicas inerentes a alguns glicoconjugados, a D-galactose é utilizada como intermediária em reações que envolvem a síntese destes compostos diméricos, triméricos e tetraméricos, com atividade anti-inflamatória (ANDRADE et al., 2012).

De acordo com Misra; Tiwari; Madhusudan (2005), a acetilação em açúcares é um técnica empregada na síntese orgânica para a proteção de grupos hidroxila, onde esses carboidratos acetilados muitas vezes são de preço acessível e intermediários importantíssimos para a preparação de glicosídeos, oligossacarídeos e glicoconjugados.

A literatura descreve o emprego de vários catalisadores para promover a acetilação de carboidratos, sendo eles: piridina (HOFLE; STGLICH; VORGRUGGEN, 1978), ácido sulfúrico (WOLFROM; THOMPSON, 1963), ácido perclórico (HYATT; TINDALL, 1993), iodo (KARTHA; FIELD, 1997), perclorato de lítio (LU et al., 2004), no entanto, nestas metodologias estes catalisadores são homogêneos, o que dificulta a sua remoção como também o isolamento do produto final, além de serem tóxicos, corrosivos, degradantes não respeitando assim os princípios da química verde (CADARS et al., 2012).

Cordeiro e colaboradores (2011), descrevem que diversas sínteses estão sendo realizadas utilizando como agente promotor catalisadores heterogêneos, tal estratégia oferece vantagens técnicas, ambientais e econômicas com relação à

catálise homogênea, pois na catálise heterogênea se tem uma maior facilidade no processo de purificação do produto final, dessa forma acarretando no menor gasto de solventes utilizados. Outro fator importante é a reciclagem do catalisador sólido ao longo de sua vida útil, minimizando assim, a geração de resíduos e efluentes.

Um bom exemplo de catalisador heterogêneo são as argilas. As argilas são estruturas lamelares formadas por silicatos hidratados de alumínio/magnésio que apresentam tamanho de partícula menor que 2 μm de diâmetro (Figura 9) (CADARS et al., 2012).

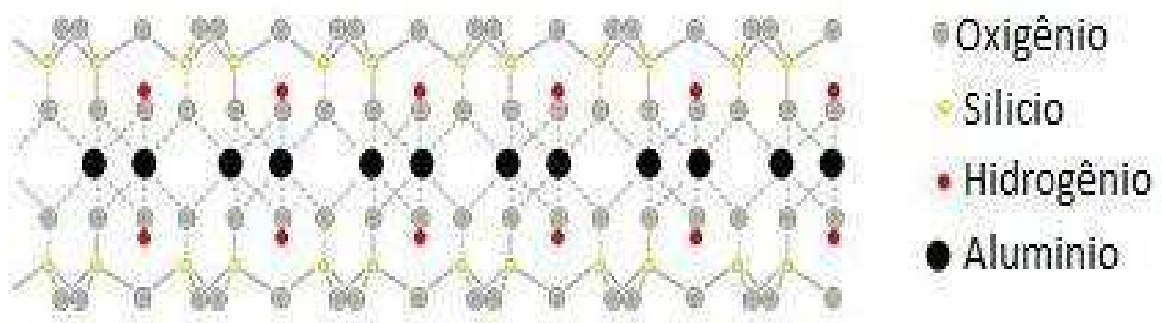


Figura 9. Estrutura da Argila.

Fonte. Adaptado do artigo de Cadars e colaboradores (2012).

As argilas, além de sua eficiência em catalisar inúmeras reações químicas, apresentam vantagens econômicas e ambientais, uma vez que são catalisadores disponíveis comercialmente, por ser um sólido é de fácil manipulação, podendo ser removido através de processo físico (filtração), o que implica em uma diminuição dos gastos com solventes e isolamento do produto desejado. Adicionalmente, as argilas são atóxicas, facilitando em seu descarte no meio ambiente (CADARS et al., 2012). Segundo Paiva, Morales e Díaz (2008), as argilas apresentam inúmeras aplicações devido as suas propriedades físico-químicas.

As argilas vêm sendo amplamente utilizadas em sucessivas reações orgânicas, a citar: agente promotor no craqueamento de hidrocarbonetos na produção da gasolina (BRAIBANTE; BRAIBANTE, 2014); como catalisador na síntese de biodiesel (MENDONÇA, 2013); adsorvente de metais pesados (BOSCO; VIGNADO; CARVALHO, 2006); purificação da glicerina (KRÜGEL, 2015).

Dentre as argilas uma das que mais se destaca é a argila montmorillonita que também é chamada de esmectita. Essa argila foi identificada por Knight em 1986 na

cidade de Montmorillon na região de Poitou na França. A montmorillonita é o argilomineral mais comum entre as esmectitas, tendo como fórmula geral $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$ (PAIVA; MORALES; DÍAZ, 2008). A montmorillonita vem sendo utilizada como catalisador em reações orgânicas em processos nos quais são utilizados como catalisadores ácidos de Lewis ou de Brønsted. É importante destacar, que a versatilidade dessas argilas possibilitam a utilização das várias formas de energia, refluxo em solventes orgânicos, em micro-ondas ou ultrassom e atendendo a preceitos da química verde em reações sem solventes (BRAIBANTE; BRAIBANTE, 2014).

Testes utilizados para determinar vários parâmetros em compostos sintetizados são comumente realizados, como é o caso dos compostos preparados a partir da reação de acetilação, um dos testes que é descrito pela literatura é o de toxicidade, que pode ser determinada por testes frente ao bioensaio com *Artemia salina*, que é descrito no próximo tópico.

3.5 *Artemia salina* Leach

As artêmias (Figura 10a) são microcrustáceos encontrados em águas salinas, e são capazes de viverem em ambientes extremamente salinos e com pouca concentração de oxigênio (RUIZ et al., 2005). De acordo com Camara e Castro (1983), as primeiras tentativas para disseminar a *Artemia salina* em ambientes naturais, foram realizadas no início da década de 60, nas lagoas hipersalinas da ilha Christmas, que em função das condições ecológicas adversas não foram bem-sucedida. A ideia nesta disseminação era proporcionar condições favoráveis para a reprodução da *Artemia Salina*, visando uma posterior liofilização das mesmas com o intuito de servir de alimentação para peixes de pequeno porte (peixes ornamentais, Figura 10b). Resultados significativos, através de inoculações temporárias foram obtidos em áreas salinas em países como Filipinas e Tailândia na década de setenta (CAMARA; CASTRO, 1983).



(a)



(b)

Figura 10. (a) Imagem da *Artemia Salina*. (b) Peixe-palhaço ou peixe-das-anêmonas

Fonte: imagem da artêmia - <https://br.pinterest.com/explore/artemia-salina/>

Fonte: imagem do peixe-palhaço - <http://www.encontropet.com.br/blog/peixe-palhaco/>

Na região Nordeste, essas espécies de microcústáceos chegaram através de inoculações feitas com seus cistos importados da Califórnia-EUA, em 1977, em Macau-RN, a partir daí as *Artemia salinas* se dispersaram por toda região salineira do Rio Grande do Norte e posteriormente da Região Nordeste (CAMARA; CASTRO, 1983).

De maneira geral, as artêmias são frequentemente utilizadas para testes de toxicidade, elas se alimentam principalmente de fitoplâncton, sendo assim importantes consumidores primário (LIBRALATO et al., 2016). No entanto, as artêmias necessitam de condições ideais, ou seja, a faixa de temperatura entre 25-30°C, elevada salinidade (45⁰/₀₀ a 160⁰/₀₀), e nível de oxigênio abaixo de 1 mL/L (CAMARA; CASTRO, 1983).

Os cistos de *Artemias salinas* são de baixo custo e de fácil acesso no comércio, além de permanecerem estáveis por centenas de dias no estado seco, essas vantagens contribuem de forma significativa para a inserção dos bioensaios (PALÁCIO et al., 2012).

Existem relatos na literatura que descrevem a utilização das artêmias para avaliação do efeito citotóxico de extratos (MOREIRA et al., 2002); ensaios citotóxicos de vegetais mais especificamente de plantas medicinais (MEYER et al., 1982); teste de letalidade em algas (LHULLIER; HORTA; FALKENBERG, 2006); detecção de compostos bioativos em extratos vegetais como também expressar a toxicidade (RUIZ et al., 2005); e estudo fitoquímico (NASCIMENTO et al., 2008).

De acordo com Pimentel e colaboradores (2011) a literatura tem relatado correlações entre o bioensaio de toxicidade utilizando *Artemia Salina* e a

citotoxicidade em cepas de células humanas de tumores sólidos, e atividade frente ao antitripanossoma cruzi.

No geral, os testes utilizando a *Artemia salina* são eficazes, e vários grupos de pesquisa utilizam a metodologia proposta por Meyer e colaboradores (1982). Deste modo, o trabalho propôs promover a acetilação no derivado da D-galactose estudando as condições reacionais e avaliar a toxicidade do produto acetilado utilizando a *Artemia salina* Leach.

4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1 Local da pesquisa

Os processos de síntese, purificação de todos os compostos, como também o teste de reuso da argila, foram realizados no laboratório de Síntese Orgânica (LASO), localizado no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité. Já os espectros de infravermelho e ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio (^1H) e carbono (^{13}C) dos compostos sintetizados foram realizados na Central Analítica da Universidade Federal do Pernambuco – *Campus* Recife. O bioensaio com a *Artemia* salina LEACH foi realizado no laboratório de toxicologia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité.

4.2 Procedimentos gerais

Em geral, foram utilizados reagentes e solventes na sua forma comercial, (P.A.), dos fornecedores *Sigma-Aldrich*, *Vetec* e Cinética. Os solventes utilizados foram purificados e secos conforme os protocolos Perrin e Armarego (1996), assim, o hexano e o acetato de etila (AcOEt) foram destilados através da coluna de *Vigreux* antes do uso em coluna, enquanto que o diclorometano (DCM) foi destilado sob hidreto de cálcio e mantido sob cloreto de cálcio. Outro solvente também foi destilado durante o desenvolvimento do trabalho como a acetona (destilada sob iodeto de sódio).

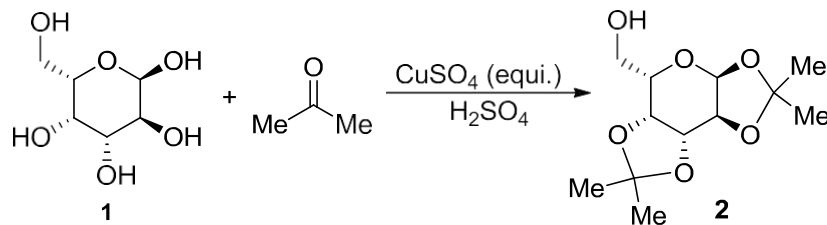
O acompanhamento das reações foi realizado através de cromatografia em camada delgada (CCD). Para revelação dos compostos foi utilizada solução etanólica ácida [(EtOH/H₂SO₄) (9,5:0,50)] sob aquecimento. Para cromatografia em coluna foi utilizada sílica-gel 60 (Merck, 70-230 mesh) como fase estacionária e sistemas hexano/acetato de etila como fase fluida.

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram registrados em um espectrômetro *Varian Unity Plus* de 300 MHz ou em um espectrômetro *Varian URMNS* de 400 MHz. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao pico residual do clorofórmio (7,258 ppm) para os espectros de hidrogênio, em relação ao pico central do CDCl₃ (77,0 ppm) para os

espectros de carbono. Todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz). Os espectros no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro de IV com transformadora de Fourier no instrumento Bruker Modelo IFS66, sendo as amostras preparadas com filmes finos ou pastilhas de KBr.

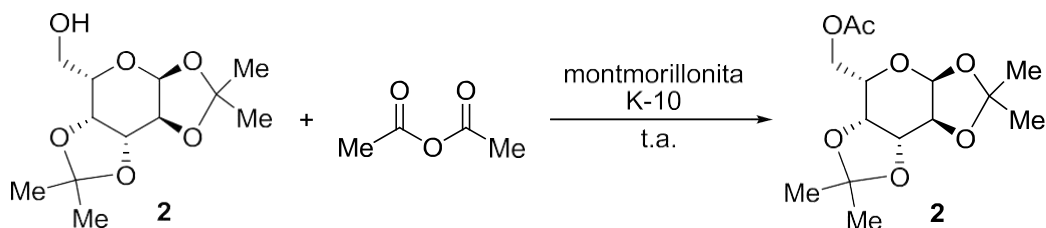
4.3 Procedimento experimental

4.3.1 Preparação do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (2)



Em um balão de fundo de 250 mL foi adicionada a D-galactose anidra (2,0 g, 6,6 mmol) e CuSO_4 anidro (4,5 g, 2,8 mmol). Em seguida a mistura foi dissolvida em 45 mL de acetona seca e destilada, e na sequência foi adicionado 0,23 mL de H_2SO_4 concentrado. A mistura reacional foi agitada por 24 horas em temperatura ambiente (t.a.). Uma vez comprovado o término da reação por CCD, o CuSO_4 foi removido por filtração a vácuo e lavado com acetona. Na sequência o filtrado foi neutralizado com $\text{Ca}(\text{OH})_2$. O produto bruto foi concentrado utilizando um evaporador rotativo e purificado por cromatografia em coluna em um sistema de eluente hexano/acetato de etila (7,5:2,5).

4.3.2 Preparação do 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (3)



Em um balão de fundo redondo com capacidade para 125 mL, contendo 1 mL de anidrido acético, foram adicionados a 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (65 mg; 0,25 mmol) e a montmorillonita K-10 (65 mg, 100% m/m). A mistura reacional foi agitada por 7,5 minutos em t.a. Após o término da reação a fase orgânica foi transferida para um funil de separação e lavada com solução saturada de NaHCO₃ (50 mL), sendo posteriormente seca com MgSO₄. O solvente foi filtrado e rota evaporado. O produto bruto foi concentrado utilizando um evaporador rotativo e purificado por cromatografia em coluna em um sistema eluente hexano/acetato de etila (7,5:2,5).

4.3.3 Reuso da argila

Nesta etapa, foi avaliada a eficiência do processo de recuperação da argila montmorillonita K-10, utilizada como agente promotor na reação de acetilação. Foram realizados 6 ciclos, no término de cada reação o tubo de ensaio contendo a mistura reacional com 0,25 mmol da 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -Dgalactopiranosose, 1 mL do anidrido acético como agente acetilante e com 100 % m/m da argila, foi levado para a centrífuga da marca CENTRIBIO e do modelo 80-2B (figura 11), onde foi realizada 3 lavagens com DCM, onde a cada lavagem para a extração do solvente o tubo de ensaio contendo a argila foi centrifugada, para garantir que a argila estivesse limpa, para a realização do ciclo seguinte.



Figura 11. Centrífuga utilizada no reuso da argila montmorillonita K-10

Fonte: da pesquisa

4.3.4 Cálculos estequiométricos para o rendimento.

$$\text{Rendimento Teórico} = \frac{\text{massa do composto pesado}}{\text{sua massa molar}} \times \text{massa molar do produto}$$

$$\text{Rendimetno da reação} = \frac{\text{massa obtida do produto após a purificação}}{\text{Rendimento teórico}} \times 100$$

4.3.5 Bioensaio Toxicológico com as Larvas da *Artemia Salina* Leach.

O bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach foi baseado no protocolo descrito por Meyer e colaboradores (1982). Foram utilizados 30 mg do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose, o qual foi adicionado 50 μ L de dimetilsulfóxido. A solução foi homogeneizada e o volume completado para 5 mL com água salinizada filtrada (água salina e água destilada 1:1) a pH = 8,0. Desta solução foram retiradas alíquotas de 2500, 2291, 2083, 1875, 1666, 1458 e 1250 μ L que foram transferidas para outros balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com o mesmo solvente, obtendo-se concentrações de 3000, 2750, 2500, 2250, 2000, 1750 e 1500 μ g/mL, para a solução aquosa de 1,2:3,4-Di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose. Adicionalmente, o procedimento para o bioensaio com a 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose foi feito com o mesmo protocolo, diferenciando apenas as alíquotas retiradas, que foram: 4166, 3333, 2916, 2500, 2083, 1666 e 1250 μ L, obtendo-se as concentrações de: 5000, 4000, 3500, 3000, 2500, 2000 e 1500 μ g/mL. O teste foi acompanhado por controle positivo onde foi utilizado o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) e controle negativo utilizando apenas água marinha artificial e dimetilsulfóxido. Os cistos de *Artemia salina* (20 mg) foram incubados sob iluminação artificial por 48 h para que favorecesse a eclosão das larvas (metanáuplios), e estas, separadas em nove grupos com 10 artêmias cada. O primeiro e o segundo grupo recebeu a solução controle positivo (solvente e dicromato de potássio) e controle negativo (solvente e dimetilsulfóxido, respectivamente) e as sete seguintes receberam a solução aquosa do composto em diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial

durante 24 h, e após este período foram contabilizadas as larvas vivas e mortas. O experimento foi realizado em triplicata para cada substância-teste.

4.3.5.1 Análise de Letalidade

Com relação aos efeitos citotóxicos de extratos e alguns outros testes com as artêmias, elas ficaram em um recipiente com água com salinidade relativamente alta simulando a água do mar, juntamente com a adição da substância testada em diferentes concentrações (MOREIRA et al., 2002).

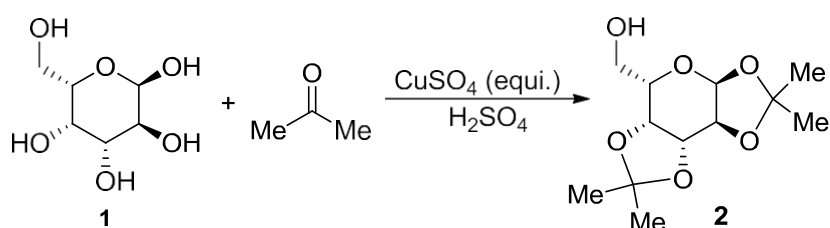
No que se refere ao teste de letalidade com as artêmias, as mesmas foram colocadas em ambientes similares ao ambiente natural, com a salinidade elevada e baixas concentrações de oxigênio, onde a substância colocada foi diluída, a partir daí, após um dia, se teve a contagem de larvas mortas como também vivas, para assim, se ter o teste de letalidade realizado em sua totalidade, através de análises estatística e como também análises comparativas com resultados já consolidados (LHULLIER; HORTA; FALKENBERG, 2006).

4.3.5.2 Análise estatística

Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}), foi utilizada a análise através do *software* POLO-PC (Copyright LeOra Software 1987) com 95% de confiança.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando estudar as condições reacionais da reação de acetilação do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose a partir da catálise heterogênea empregando diferentes argilas, o trabalho foi iniciado com a síntese deste composto a partir da D-galactose (Esquema 2). Este trabalho foi realizado em conjunto com a aluna de graduação Adlla Raiane Santos, seguindo o protocolo experimental estabelecido por Schmidt (1963).



Esquema 2. Síntese do 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose.

O 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose foi obtido na forma de líquido amarelo (coloração 109)¹ com rendimento de 83%, sendo este resultado superior ao descrito na literatura (Schmidt, 1963).

Uma vez que, o 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (**2**) apresenta cinco estereocentros definidos foi realizado a rotação específica, onde o valor encontrado foi de $[\alpha]_D^{25} - 44,3$ (c 1.0, MeOH).

Sintetizado e caracterizado o 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (**2**) foi iniciado o estudo da reação de acetilação. Neste estudo foram avaliados diferentes parâmetros, sendo eles:

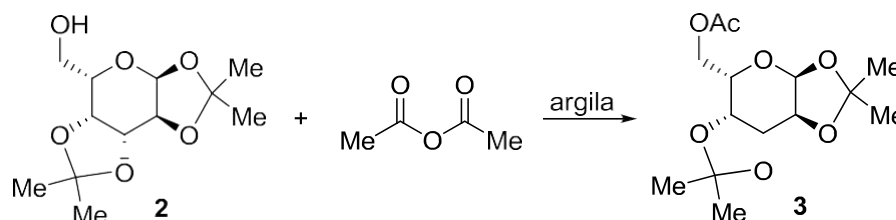
- i. Tipo de Argila;
- ii. Quantidade de argila;
- iii. Tipo de solvente;
- iv. Reuso.

¹ <https://www.hometeka.com.br/inspire-se/chega-de-monotonia-dicas-de-decoracao-com-amarelo/>

Deste modo, o trabalho prosseguiu avaliando diferentes argilas, onde as selecionadas foram: montmorillonita K-10; montmorillonita KSF e Tonsil. Os resultados estão detalhados na tabela 1.

Tabela 1: Estudo da influencia do tipo de argila utilizada na reação de acetilação do 1,2:3,4-di-O-isoproleno- α -D-galactopiranosose (**2**).

Esquema de Reação



Experimento ^a	Tipo de Argila (100 % m/m)	Tempo (min)	Rendimento (%) ^b
1	Montmorillonita K-10	7,5	95
2	Montmorillonita KSF	45	95
3	Tonsil	95	70

^aExperimento realizado utilizando 0,25 mmol do composto **2**, 1,00 mL do solvente; 100 % m/m da argila com relação ao carboidrato. ^b Rendimento dos produtos isolados.

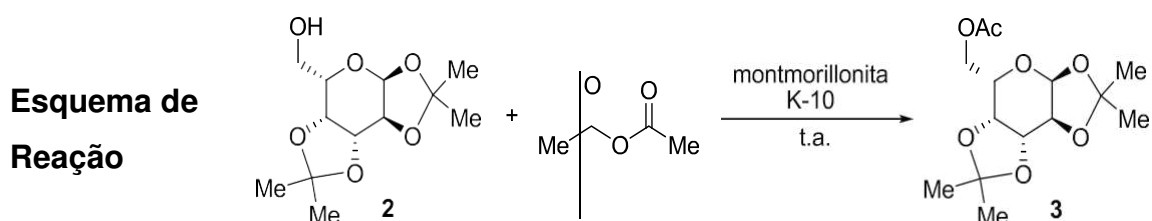
De acordo com a Tabela 1, ao serem empregadas as montmorillonitas K-10 e KSF nesta reação, foram obtidos rendimentos iguais de 95%, no entanto a reação com a argila montmorillonita K-10 ocorreu em menor tempo à temperatura ambiente. Foi constatado que a reação utilizando a argila tonsil levou ao produto desejado, porém a reação não foi completa, mesmo deixando por um mais tempo.

Deste modo, de acordo com a Tabela 1 as argilas Montmorillonitas K-10 e KSF forneceram os melhores resultados, e uma provável justificativa está associada as características peculiares desses agentes promotores, por exemplo, sua estrutura possui uma camada octaédrica (Al) intercalada entre duas camadas tetraédricas (Si), o que permite que essa argila atue como ácido de Lewis ou de Brønsted, (BRAIBANTE; BRAIBANTE, 2014), isso devido a presença de orbitais livres no metal Al, o que possibilita a interação dos oxigênios com esses metais, tornando o carbono carbonílico do anidrido acético mais eletrofílico e conseqüentemente susceptível a ataque nucleofílico da hidroxila do 1,2:3,4-di-O-isoproleno- α -D-galactopiranosose. Comparando as duas montmorillonitas, com o emprego da K-10, os

resultados foram melhores, isso pode ser justificado pelas diferentes áreas superficiais que essas argilas apresentam. A argila KSF possui área superficial variando em torno de 20-40m²/g e a argila K-10 possui área superficial que varia de 500-760m²/g (NOWROUZI, 2011).

Uma vez que foi constatado que a melhor argila foi a montmorillonita K-10, partiu-se para a próxima etapa, onde foi avaliada a influência da quantidade de montmorillonita K-10 na formação do 6-O-acetil-1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (**3**). Os resultados estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2: Estudo da influência da quantidade de argila na reação de acetilação do 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (**2**).



Experimento ^a	Montmorillonita K-10 (quant. m/m)	Tempo (min)	Rendimento (%) ^b
1	200 %	2,5	80
2	150 %	4,0	81
3	100 %	7,5	95
4	75 %	10	91
5	50 %	12	95
6	25 %	17	86
7	10 %	25	70
8	5 %	100	60
9	- ^a	-	-

^aExperimento realizado utilizando 0,25 mmol do composto **2**, 1,00 mL do solvente; ^b Rendimento dos produtos isolados.

De acordo com a tabela 2, os melhores resultados foram obtidos quando foi utilizado 50%, 75% e 100% m/m da argila (Experimentos 3, 4 e 5). No entanto, observa-se que tanto o aumento como a diminuição da quantidade de argila

acarretou em uma diminuição do rendimento (Experimentos 1, 2, 6, 7 e 8). Quando a reação foi promovida na ausência da argila, constatou-se que a reação não acontece.

Deste modo, esta reação de acetilação foi promovida utilizando 100% m/m de montmorillonita K-10. Foi observado, através do acompanhamento da reação no CCD (Figura 12), que a reação ocorreu em 7,5 minutos. De acordo com a CCD foi possível constatar que a reação utilizando esta argila formou apenas um produto.



Figura 12: CCD realizada após a extração, para se obter o composto **3**.

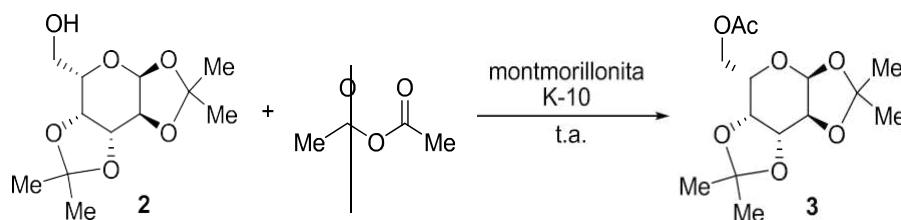
Fonte: da pesquisa.

Levando em consideração o custo *versus* o benefício da reação de acetilação do composto **2**, a quantidade de montmorillonita K-10 foi padronizada em 100 % m/m, tendo em vista que com o emprego dessa quantidade de argila a reação ocorreu em menor tempo e com um rendimento excelente.

Em seguida, foi investigado a influência do tipo de solvente empregado na síntese do 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (**2**) mantendo fixado a quantidade 100 % m/m da argila montmorillonita K-10. Os resultados estão descritos na tabela 3.

Tabela 3: Estudo da influencia do tipo de solvente utilizado na reação de acetilação do 1,2:3,4-di-*O*-isoproleno- α -D-galactopiranosose (**2**).

**Esquema de
Reação**



Experimento ^a	Tipo de solvente	Tempo (min)	Rendimento (%) ^b
1	Dicloro metano (DCM)	90	80
2	Acetato de etila (AcOEt)	125	96
3	Sem solvente	7.5	95

^aExperimento realizado utilizando 0,25 mmol do composto **2**, 1,00 mL do solvente; 0,30 mmol do anidrido; 100 % m/m da argila com relação ao carboidrato. ^b Rendimento dos produtos isolados.

Analisando a tabela 3 foi possível verificar que o melhor solvente empregado nessa síntese com relação ao rendimento foi o AcOEt no entanto com um maior tempo reacional, o melhor rendimento desse solvente com relação ao DCM é justificado devido a maior solubilidade do composto **3** em AcOEt com relação ao DCM. No entanto com relação ao tempo, o emprego do AcOEt promoveu um aumento no tempo reacional, isso devido a uma competição entre as carbolinas do solvente AcOEt e do agente acetilante anidrido acético. Adicionalmente a reação isenta do solvente apresentou os melhores resultados e vai de encontro aos princípios da química verde.

Uma vez que, as condições reacionais foram otimizadas, a estrutura do composto **3** foi confirmada através de dados espectrométricos (IV; RMN ¹H e RMN ¹³C). No espectro de RMN ¹H, foi observado quatro simpletos em campo alto na região entre 1,33 a 1,51 ppm que correspondem aos hidrogênios metílicos H-1, H-2, H-5 e H-6. Enquanto que o singleto em 2,08 ppm refere-se aos hidrogênios metílicos do grupo -OAc, o que confirma a acetilação do composto **2**. Outro sinal que merece destaque é o proveniente do H-3 que aparece como um duplete (expansão) em 5,53 ppm devido o acoplamento com H-4 ($J_{3,4} = 5,1$ Hz), que por sua vez também é desdobrado por H-5 ($J_{4,3} = 5,1$ Hz; $J_{4,5} = 2,4$ Hz) originando um duplete de duplete (expansão) com deslocamento químico de 4,32 ppm. O sinal em 4,6 ppm corresponde ao hidrogênio H-5, o qual é desdobrado por H-4 e H-8 em duplete de

duplete ($J_{5,4} = 2,3$; Hz; $J_{5,8} = 7,8$ Hz). Os demais hidrogênios e seus respectivos sinais podem ser vistos na Figura 13.

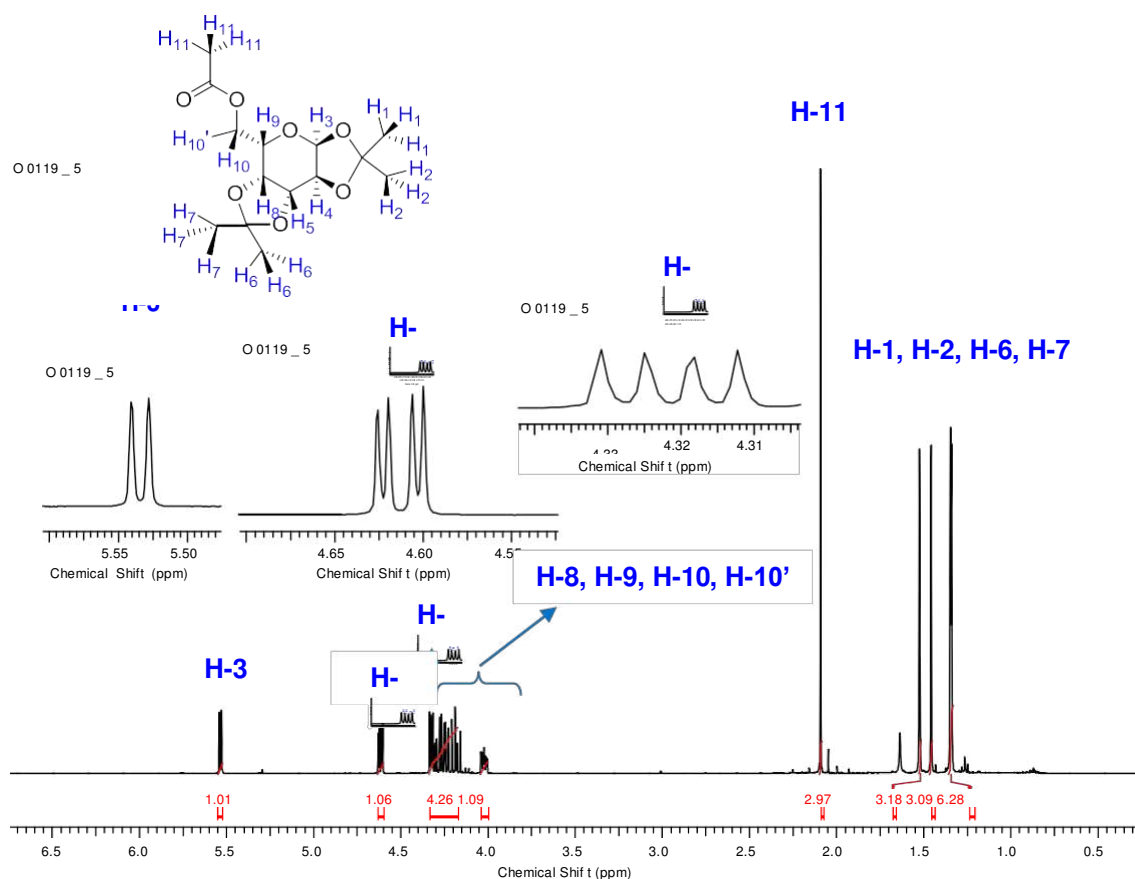


Figura 1: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **3**.

Examinado o espectro de RMN ^{13}C do composto **3** foi possível verificar a ocorrência de 14 sinais que corresponde exatamente a quantidade de carbonos presente na molécula. Os sinais em campo alto que se estende na região entre 20,90 a 25,98 ppm foram originados dos carbonos metílicos, pois estes se encontram em um ambiente de maior densidade eletrônica. Por outro lado, o sinal em campo baixo com deslocamento químico de 170,95 ppm característico de éster (155-185 ppm) corresponde ao carbono carbonílico do grupo $-\text{OAc}$ (desblindado devido a anisotropia diamagnética da ligação $\text{C}=\text{O}$), o que corrobora com a estrutura do composto **3**. Na Figura 14 é mostrado todos os sinais e os carbonos correspondentes.

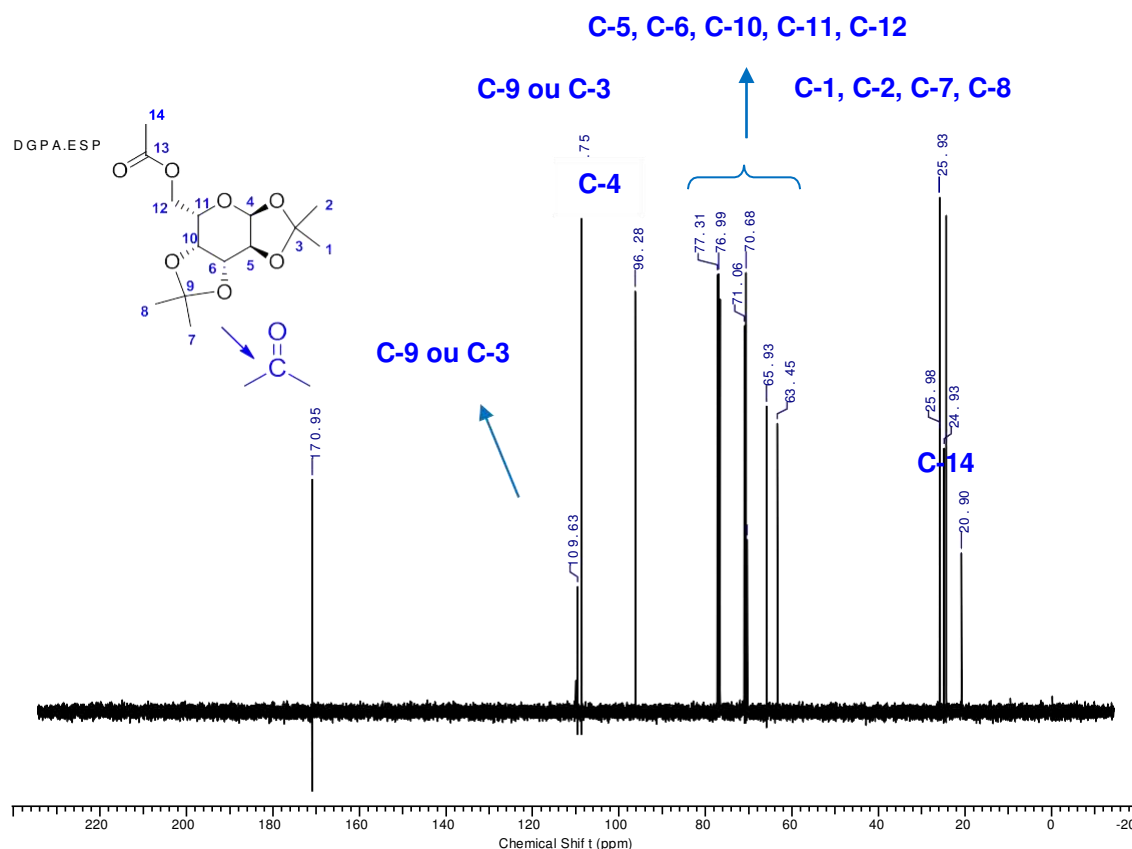


Figura 2: Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do composto 3.

Como o composto acetilado foi obtido na forma de um sólido cristalino branco, e a fim de otimizar a caracterização do composto, adicionalmente foi realizado o ponto de fusão, onde o teste foi realizado em triplicata, onde os resultados estão sumarizados na tabela seguinte:

Tabela 4: Estudo do ponto de fusão do 6-*O*-acetil-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose (3).

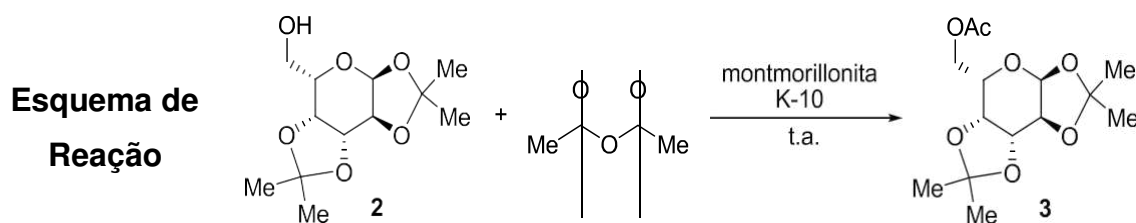
teste ^a	Ti ^b	Tf ^c	ΔT
1	104,4 °C	105,6 °C	1,2 °C
2	104,7 °C	105,8 °C	1,1 °C
3	104,4 °C	105,7 °C	1,3 °C

^aTeste realizado uma pequena alíquota do composto compactado em um tubo capilar, ;

^b Temperatura inicial da fusão; ^c Temperatura em que o sólido se converteu totalmente em líquido.

Em seguida, foi investigado a possibilidade de reuso da argila utilizada nas sucessivas reações de acetilação, onde a argila empregada a K-10 100 %m/m a qual apresentou os melhores resultados. Os resultados estão descritos na tabela 5.

Tabela 5: Estudo do reuso da argila montmorillonita K-10 em sucessivas reações de acetilação do 1,2:3,4-di-*O*-isopropileno- α -D-galactopiranosose (**2**).



ciclo ^a	Montmorillonita K-10 (quantidade m/m)	Tempo (min)	Rendimento (%) ^b
1	100 %	7,5	95
2	100 %	7,5	96
3	100 %	7,5	95
4	100 %	7,5	94
5	100 %	15	72
6	100 %	30	70

^aExperimento realizado utilizando 0,25 mmol do composto **2**, 1,00 mL do solvente; ^b

Rendimento dos produtos isolados.

De acordo com a tabela 5, a argila montmorillonita K-10 manteve sua atividade catalítica nos quatro primeiros ciclos reacionais, ou seja, essa argila pode ser reutilizada com agente promotor para essa reação quatro vezes mantendo suas características, isso foi constatado pelos tempos reacionais que se manterão em 7,5 minutos e pelos rendimentos que variaram entre 94-96%, essa variação pode ter ocorrido devido a erros experimentais que fazem parte do processo sintético. A partir do quinto ciclo as propriedades da montmorillonita foram diminuídas, isso foi constatado e comprovado pelo aumento do tempo reacional para 15 minutos e pela queda do rendimento para 72%, no sexto ciclo o tempo reacional da reação estabilizou em 30 minutos e com o rendimento de 70%. Tendo em vista as características e a importância das argilas como catalisadores, os resultados foram satisfatórios.

A literatura descreve a reutilização das argilas para alguns fins, tais como: produção do biodiesel (SOUZA, 2015); Obtenção de materiais cerâmicos (SILVA et al., 2010); refino de óleos vegetais (GAROFALO, 2011). No entanto, a literatura pouco relata sobre a reciclagem das argilas para a posterior utilização como catalisadores em sínteses de compostos.

Uma vez sintetizados, caracterizados e realizados estudos com vários parâmetros supracitados nos compostos 2 e 3, a próxima etapa do trabalho foi realizar bioensaios toxicológicos frente a larvas da *Artemia salina* Leach.

Os valores da taxa de mortalidade do composto **2** variou entre 0 e 100 %, visando determinar a concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}). Deste modo, a CL_{50} encontrada através do software POLO-PC, com 95% de confiança, foi de 2300,020 $\mu\text{g/mL}$ com intervalo nos limites 2242,612 a 2367,418 $\mu\text{g/mL}$. De acordo com Merino et al. (2015), o valor da CL_{50} igual a 2300,020 $\mu\text{g/mL}$ implica que o 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose apresenta baixa toxicidade, uma vez que esse valor se enquadra nos índices superiores a 1000 $\mu\text{g/mL}$. O controle negativo levou a morte de nenhuma larva, enquanto que a CL_{50} do controle positivo foi semelhante ao descrito por Belem et al. (2015). Devulapalle et al. (2004), relata que os derivados de carboidratos considerados não tóxicos são muito promissores, principalmente pela sua incorporação em produtos de prevenção contra cáries e de higiene oral para o combate da placa bacteriana.

A CL_{50} encontrada no composto **3**, foi de 3221,633 $\mu\text{g/mL}$, considerando uma variância de 2,5 % para mais (3365,438) e 2,5% para menos (3095,232), evidenciando que o composto **3** tem um toxicidade ainda menor com relação ao composto **2**.

Diante disso, os resultados da CL_{50} encontrados para o 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **2** e 6-O-acetil-1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **3**, servirá como motivação para futuros estudos de atividade biológica e/ou farmacológicas devido a baixa toxicidade de ambos os compostos sintetizados.

6 CONCLUSÃO

De forma geral foi possível concluir que:

- ✓ O 1,2:3,4-di-O-isopropilideno-a-D-galactopiranosose foi sintetizado, com um rendimento de 83 %;
- ✓ O 1,2:3,4-di-O-isopropilideno-a-D-galactopiranosose foi obtida na forma de um líquido de coloração amarela;
- ✓ A reação de acetilação do 1,2:3,4-di-O-isopropilideno-a-D-galactopiranosose foi melhor processada com o emprego de 100% m/m da Argila montmorillonita K-10, com um tempo reacional de apenas 7,5 minutos e um rendimento de 95 % à temperatura ambiente;
- ✓ Com o emprego de 50% e 100% m/m na argila montmorillonita K-10 foram obtidos os melhores rendimentos ambos de 95 %, nos respectivos tempos reacionais de 12 minutos e 7,5 minutos;
- ✓ O AcOET dentre os solventes utilizados foi o que obteve os melhores resultados, no entanto a reação isenta desses solventes apresentou resultados ainda mais significativos;
- ✓ O produto composto gerado pela reação de acetilação (6-O- acetil-1,2:3,4- di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose) foi obtido na forma de um sólido cristalino branco;
- ✓ O de fusão do composto acetilado variou de 104,4 °C – 105,6 °C;
- ✓ Tanto o 1,2:3,4-di-O-isopropilideno-a-D-galactopiranosose quanto o 6-O- acetil-1,2:3,4- di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose, se mostraram pouco atóxicos frente ao bioensaio, nas concentrações estudadas.

REFERÊNCIAS

AKAO, T.; YOSHINO, T.; KOBASHI, K.; HATTORI, M. Evaluation of Salicin as an Antipyretic Prodrug that does not Cause Gastric Injury. **Planta Medica**, v. 68, p. 714-718, 2002.

ANDERSON, B. D. Prodrugs for improved CNS delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. p. 171-202, 1996.

ANDRADE, S. F.; FIGUEIREDO, R. C.; FILHO, J. D. S.; ALVES, R. J. An Efficient Synthesis of D-Galactose-Based Multivalent Neoglycoconjugates. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 23, p.1062-1069, 2012.

Artemia salina. Disponível em:< <https://br.pinterest.com/explore/artemia-salina/>>. Acessado em: 20 de abr. 2017.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK, M. V. L.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v.2.3, p. 27-34, 2007.

BALDWIN, S. A. Mammalian passive glucose transporters: members of an ubiquitous family of active and passive transport proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**. p. 17-49, 1993.

BALZARINI, J.; LAETHEM, K. V.; DAELEMANS, D.; HATSE, S.; BUGATTI, A.; RUSNATI, M.; IGARASHI, Y.; OKI, T.; SCHOLS, D. Pradimicin A, a Carbohydrate-Binding Nonpeptidic Lead Compound for Treatment of Infections with Viruses with Highly Glycosylated Envelopes, Such as Human Immunodeficiency Virus. **Journal of Virology**. v. 81, p. 362, 2007.

BARRADAS, J. S.; ERREA, M.; D'ACCORSO, N.; DAMONTE, E. B. . Microwave-Assisted Synthesis of Pyrrolo[2,1- b]thiazoles Linked to a Carbohydrate Moiety. **Carbohydrate Research**. p. 2468, 2008.

BARTOLI, G.; NINO, A.; DALPOZZO, R.; TAGARELLI, A. Why has Cerium (III) Triflate been Forgotten Among the Catalysts for the Friedel-Crafts Acylation. **Green Chemistry and Engineering**. v. 6, p. 191, 2004.

BATTAGLIA, G. RUSSA, M. L.; BRUNO, V.; ARENARE, L. IPPOLITO, R. COPANI, A.; BONINA, F.; NICOLETTI, F. Systemically administered dglucose conjugates of 7-chlorokynurenic acid are centrally available and exert anticonvulsant activity in rodents. **Brain Research**. p. 149-156, 2000.

BELEM, V. A.; LIMA, F. G. C.; BARROS, L. M.; DUARTE A. E. Estudo da toxicidade e atividade antifúngica de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) como ferramenta de preservação da espécie. *Caderno de Cultura e Ciência*, ano IX, vol. 13, n. 2, p. 51-59, 2015.

BONDUELLE, C.; LECOMMANDOUX, S. Synthesis of Hydrophobic Carbohydrate Polymers and Their Formation of Thermotropic Liquid Crystalline Phases. **Biomacromolecules**. v. 13, p. 2973, 2013.

BONINA, F. P.; LOREDANA, A.; FRANCESCO, P.; ANTONELLA, S.; FELICE, N.; DOMENICO, T.; PAOLO, C. Synthesis, stability, and pharmacological evaluation of nipecotinic acid prodrugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. p. 561-567, 1999.

BONINA, F.; PUGLIA, C.; RIMOLI, M. G.; MELISI, D.; BOATTO, G.; NIEDDU, M.; CALIGNANO, A. L. A.; RANA, G. D. C. P. Glycosyl derivatives of dopamine and l-dopa as anti-parkinson prodrugs: synthesis, pharmacological activity and in vitro stability studies. **Journal of Drug Targeting**. p. 25-36, 2003.

BOSCO, S. M D.; VIGNADO, C.; CARVALHO, W. A. Adsorção de Mn(II) e Cd(II) por argilas in natura e modificadas com pirrolidinaditiocarbamato de amônio. **Geochimica Brasiliensis**. p. 219-232, 2006.

BRAIBANTE, H; T; S.; BRAIBANTE, M; E; F. A versatilidade do K-10, como suporte sólido, em reações orgânicas. **Ciência e Natura**. p. 724-731, v. 36, 2014.

CADARS, S.; GUÉGAN, R.; GARAGA, M. N.; BOURRAT, X.; FORESTIER, L. L.; FAYON, F.; HUYNH, T. V.; ALLIER, T.; NOUR, Z.; MASSIOT, D. New Insights into

the Molecular Structures, Compositions, and Cation Distributions in Synthetic and Natural Montmorillonite Clays. **Chemistry of Materials**. v. 24, p. 4376, 2012.

CAMARA, M. R.; CASTRO, E. V. Artemia salina L. (anostraca); uma opção para a aqui cultura do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. 1983.

CARDOZO, H. M. SÍNTESE DE DERIVADOS DE CARBOIDRATOS FUNDAMENTADA NOS PRECEITOS DA QUÍMICA VERDE. **Dissertação de mestrado**. 2016.

Chega de monotonia: dicas de decoração com amarelo. **HOMETEKA**. Disponível em: < <https://www.hometeka.com.br/inspire-se/chega-de-monotonia-dicas-de-decoracao-com-amarelo>>. Acesso em: 10 Jul. 2017.

CIDAD, P.; GARCIA, N. P.; ALMEIDA, A.; BOLANOS J. P. Expression of Glucose Transporter GLUT3 by Endotoxin in Cultured Rat Astrocytes: the Role of Nitric Oxide. **Journal of Neurochemistry**. p. 17-24, 2001.

CORDEIRO, C. S.; SILVA, F. R.; WYPYCH, F.; RAMOS, L. P. Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos. **Química Nova**. v. 34, p. 477-486, 2011.

CUNHA, P. L. R. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**. v.32, p. 649-660, 2009.

DEVULAPALLE, K. S.; SEGURA, A. G.; FERRER, M.; ALCALDE, G. M.; PLOU, F. J. Carbohydr. Res. 339, 1029, 2004.

FERNANDEZ, C.; RIVAS, E.; NETO, O.; MONTENEGRO, G.; FONTENLA, J. A.; FERNÁNDEZ, M. A. Synthesis and biological studies of glycosyl dopamine derivatives as potential antiparkinsonian agents. **Carbohydrate Research**. p. 353-365, 2000.

FERREIRA, V. FRANCISCO; ROCHA, D. R.; SILVA, F. C. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**. v. 32, p. 623, 2009.

FLORIDO, D. N.; BORGES, J. P. M. R.; ALMEIDA, A. P. C. Produção de Microesferas de Nanocompósitos de Quitosano e Argila para Libertação Controlada de Fármacos. **FCT- Universidade Nova de Lisboa**. p. 38, 2013

GAROFALO, M. N.; Regeneração de argilas clarificantes da indústria de refino de óleos vegetais. **Dissertação de mestrado – UFSC**. 2011

GIORDANO, C.; SINISCALCO, D.; SAPONE, A.; CIRILLO, A.; MAGISTRIS, L.; ROSSI, F.; FASANO, A.; BRADSTREET, J. J.; MAIONE, S.; ANTONUCCI, N. The galactosylation of N -Nitro-L-arginine enhances its anti-nocifensive or anti-allodynic effects by specifically targeting glia in healthy or neuropathic mice. **European Journal of Pharmacology**. p. 52-62, 2010.

GUISALBERTI, E. L. Detection and isolation of bioactive natural products. **S. M. COLEGATE, & R. J. MOLYNEUX, Bioactive natural products: detection, isolation and structural determination**. 2 ed, 2008.

HIDARI, K. I. P. J.; TAKAHASHI, N.; ARIHARA, M.; NAGAOKA, M.; MORITA, K.; SUZUKI, T. Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 91, p. 376, 2008.

HOFLE, G; STEGLICH, W; VORGRUGGEN, H. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. **Angewandte Chemie International Edition in English**. v. 17, 1978.

HUDSON, C. S.; DALE J. K. *J. Advances in Carbohydrate Chemistry* **Journal of the American Chemical Society**. v. 37, p. 1264, 1915.

HYATT, J. A.; TINDALL, G. W. Efficient acylation and sulfation of carbohydrates using sulfamic acid, a mild, eco-friendly catalyst under organic solvent-free conditions. **Heterocycles**. v. 35, p. 227-234, 1993.

ITO, S.; FUKUSATO, T.; NEMOTO, T.; SEKIHARA, H.; SEYAMA, Y.; KUBOTA, S. Coexpression of glucose transporter 1 and matrix metalloproteinase-2 in human cancers. **Journal of the National Cancer Institute**. p. 1080-1091, 2002.

KARTHA, K.; FIELD, R. IODINE: A versatile reagent in carbohydrate chemistry IV. Per-*O*-acetylation, regioselective acylation and acetolysis. **Tetrahedron**. v. 53, p. 11753, 1997.

KLINGENBERG, M. The ADP and ATP transport in mitochondria and its carrier. **Biochimica et Biophysica Acta**. München, v. 1778, p. 1978-2021, 2008.

KRÜGEL, M. Purificação de glicerina gerada na produção de biodiesel utilizando argilas montmorilonitas – bentonitas. **Dissertação de mestrado- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**. 2015.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**. v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LEITÃO, A.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G.; PUPO, M. T.; MARCHI, A. A.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; SÁ, M. M.; MORAES, V. R. S.; MONTANARI, C. A. Structure-activity relationships of novel inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. Belo Horizonte, v. 14, p.2199-2204, 2004.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A.; FALKENBER, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, 2006.

LIBRALATO, G. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. **Journal Elsevier**. p. 35-49, 2016.

LOAIZA, A.; PORRAI, O. H.; BARROS, L. F. Glutamate triggers rapid glucose transport stimulation in astrocytes as evidenced by realtime confocal microscopy. **Journal Neurosci**. p.7337-7342, 2003.

LU, K-C.; HSIEH, S.-Y.; PATKAR, L. N.; CHEN, C.-T.; LIN, C. C. Acylation of carbohydrates over Al₂O₃: preparation of partially and fully acylated carbohydrate derivatives and acetylated glycosyl chlorides. **Tetrahedron**. v. 60, p. 8967, 2004.

MARQUES, M. Galactose. **Know**. Disponível em:<
<http://know.net/ciencterravida/biologia/galactose/>>. Acessado em 06 de mai. 2017.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Estrutura de Carboidratos. **Bioquímica Básica**. v. 2, 2. ed, p. 91-94, 1999.

MEIER, L. DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA PARA ACETILAÇÃO DE NUCLEOSÍDEOS E α -METILENO- β - HIDRÓXI ÉSTERES (Derivados de Morita-BaylisHillman) EMPREGANDO CATÁLISE HETEROGÊNEA. **UFSC**. 2007.

MELISI, D.; CURCIO, A.; LUONGO, E.; MORELLI, E.; RIMOLI, M. G. D-Galactose as a Vector for Prodrug Design. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. P. 2288-2298, 2011.

MENDONÇA, D. R.; TEIXEIRA, L. S. G.; MENEGHETTI, S. M. P. Emprego da Argila Montmorillonita como catalisador para a síntese de Biodiesel de sebo bovino. **Tese de Doutorado em Engenharia Química - UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**. 2013.

MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J. D.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Planta Médica**. vol. 17, n. 4, p.1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, n. R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shimp: A conveniente general bioassay for active plant constituents. **Jornal of Medicinal plant Research**. v. 45, p. 31-34, 1982.

MIKUNI, K.; HUTTUNEN, K. M.; RAUTIO, J. In vivo antitumor activity of novel water-soluble taxoids. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. p. 1155-1158, 2008.

MISRA, A. K.; TIWARI, P.; MADHUSUDAN, S. K. HClO₄-SiO₂ catalyzed per-O-acetylation of carbohydrates. **Carbohydrate Research**. 2005.

MOREIRA, F. P. M.; COUTINHO, V.; MONTANHER, A. B. P.; CARO, M. S. B.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. FLAVONÓIDES E TRITERPENOS DE

Baccharis pseudotenuifolia – bioatividade sobre *Artemia salina*. **Química Nova**. v. 26, n.3, p. 309-311, 2002.

MUHIZI, T.; COMA, V.; GRELIER, S. Synthesis and evaluation of N-alkyl- β -D-glucosylamines on the growth of two wood fungi, *Coriolus versicolor* and *Poria placenta*. **Carbohydrate Research**. France, v. 343, p. 2369-2375, 2008.

NASCIMENTO, J. E.; ALBUQUERQUE, U. P. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 29, p. 145-150, 2008.

NELSON, D.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. Sarvier: São Paulo, 2014.

NIGUDKAR, S. S.; DEMCHENKO, A. V. Stereocontrolled 1,2-cis glycosylation as the driving force of progress in synthetic carbohydrate chemistry. **Chemical Science**. 2015.

NOGUEIRA C. M.; PARMANHAN, B. R.; FARIAS P. P.; CORRÊA, A. G. A importância crescente dos carboidratos em química medicinal. **Revista Virtual Química**. Rio de Janeiro, v.1, n. 2, p. 149-159, 2009.

NOWROUZI, F. The Synthetic Utility of Allylic Trifluoroborate Salts: Reactions of Ketones and Indoles using Montmorillonite, Indium and Lewis Acid. **Tese, 258f**. Departamento de Química: Universidade de Toronto, 2011.

OLIVEIRA, R.; L. Preparação e caracterização de derivados celulósicos obtidos a partir da celulose bacteriana e obtenção de filmes para aplicações óticas. **Tese de doutorado- UNESP**. p. 176, 2013.

OLIVEIRA, R.; N. Síntese Mediada por Microondas de Glicosídeos Contendo Diversas Agliconas e de 1,2,4-Oxadiazóis. **Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Pernambuco**. p. 87, 2002.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **BDPIC**. p. 213-226, 2008.

PALÁCIO, S. M.; NOGUEIRA, D. A.; MANENTI, D. R.; MÓDENES, A. N.; QUIÑONES, F. R. E.; BORBA, F. H. Estudo da toxicidade de efluente têxtil tratado por foto-fenton artificial utilizando as espécies *lactuca sativa* e *artemia salina*. **Engevista**. v. 14, p. 127-134, 2012.

Peixe-Palhaço (Amphiprion): Preço, Características. **Encontros pet**. Disponível em: < <http://www.encontropet.com.br/blog/peixe-palhaco/>>, Acessado em 06/06/2017.

PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F. Purification of Laboratory Chemicals. **Pergamon Press: Oxford**. 1996.

PIMENTEL, M.F; JÚNIOR, F. C. G. S.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O Uso de *Artemia* sp. como Organismo-Teste para Avaliação da Toxicidade das Águas Residuárias do Beneficiamento da Castanha de Caju Antes e Após Tratamento em Reator Biológico Experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**. v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011.

POMIN, V. H.; MOURÃO, P. A. S. Carboidratos. **Ciência Hoje**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 233, p. 24, 2006.

PUTERKA, G. J.; FARONE, W.; PALMER, T.; BARRINGTON, A. Structure-Function Relationships Affecting the Insecticidal and Miticidal Activity of Sugar Esters. **Journal of Economic Entomology**. v. 96, p. 636-644, 2003.

QU, Z.; ZHANG, J.; YANG, H.; HUO, L.; GAO, J.; CHEN, H.; GAO, W.. Protective effect of tetrahydropalmatine against D-galactose induced memory impairment in rat. **Journal Elsevier**. p. 114-125, 2016.

RUIZ, A. L. T.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. E.; SERRANO, D. R.; MAGALHÃES, E. M. Z.; MAGALHÃES, L. A. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. P. 98-102, 2005.

Schmidt (1963)

SCHMIDT, O. T.; In: Whistler, Roy L.; Wolfrom, M. L. ed.s. Methods in carbohydrate chemistry. Volume 2, Reactions of carbohydrates. Academic Press: New York, p. 318-325, 1963.

SERIQUE, A.; CEYLÃO, C.; SANTIAGO, E.; Galactose nos alimentos.

Galactosemia. 2008.

SHULL, B. K.; WU, Z.; KORREDA, M. A Convenient Highly Efficient One-Pot Preparation of Peracetylated Glycals From Reducing Sugars. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 15, p. 955-964, 1996.

SILVA, P. L. B.; BESEGIO, T. M.; VILLANOVA, D. L.; BERGMANN, C. P.; TUBINO, R. M.C. REAPROVEITAMENTO DE ARGILA CONTAMINADA COM HIDROCARBONETOS NA OBTENÇÃO DE MATERIAIS CERÂMICOS. **UFRS**. p. 8, 2010.

SILVA, V. L. Aproveitamento sustentável do bagaço de cana de açúcar para obtenção do acetato de celulose. **UFRN**. 2014.

SOUZA, B. F. B. UTILIZAÇÃO DE ARGILA RESIDUAL RECUPERADA COMO MEIO ADSORVENTE DE ÓLEO DE FRITURA PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL. **Trabalho de Conclusão de Curso- UTFP**. p. 50, 2015.

VARKI, A.; RICHARD D. C.; JEFFREY D. E.; FREEZE, H. H; STANLEY, P.; BERTOZZI, C. R.; HART, G. W.; ETZLER, M. E. Essentials of Glycobiology. **Cold Spring Harbor: New York**. 2009.

VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. "Química Orgânica Estrutura e Função". trad. Bicca, R.A. p. 913-914, 2004.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation methods. **General Carbohydrate Method**. p. 211-215, 1963.

XAVIER, N. M.; RAUTER, A. P. Environmentally friendly approaches to the synthesis of new antibiotics from sugars. **Pure Applied Chemistry**. Lisboa, v. 84, n. 3, p. 803-816, 2012.

YANG, G.; SCHEMING, J.; TSUJI, M.; FRANCK, R. W. The C-glycoside analogue of the immunostimulant alpha-galactosylceramide (KRN7000): synthesis and striking enhancement of activity. **Angewandte Chemie International Edition**. 2004.

YU, B.; XIE, J.; DENG, S.; HUI, Y. *J. First Synthesis of a Bidesmosidic Triterpene Saponin by a Highly Efficient Procedure*. **Journal of the American Chemical Society**. 1999.

ZENG, X.; ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, M. D.; SUN, X. L.. Carbohydrate–protein interactions and their biosensing applications. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. p. 3161-3176, 2012.

ZHANG, Z. F.; FAN, S. H.; ZHENG, Y. L.; LU, J.; WU, D. M.; SHAN, Q.; HU, B. Purple sweet potato color attenuates oxidative stress and inflammatory response induced by d-galactose in mouse liver. **Food and Chemical Toxicology**. P. 496-501, 2009.

ZHENG, C-J.; LEE, S.; LEE, C-H.; Kim, W.G. Macrolactins O–R, Glycosylated 24-Membered Lactones from *Bacillus* sp. AH159-1. **Journal of natural products. Pohang**, v. 70, p. 1632-1635, 2007.