

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## SÍNTESE E EFEITO FITOTÓXICO DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS DO GLICEROL EM SEMENTES DE *Lactuca sativa*

Mariana Belizario de Oliveira, Thammyres de Assis Alves, Thayllon de Assis Alves, Aidene de Fátima Camilo Faria, Vagner Tebaldi de Queiroz, Milene Miranda Praça-Fontes, Adilson Vidal Costa.

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/  
Departamento de Química e Física, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre – ES,  
Brasil, belizmary@hotmail.com, thammyresalves@gmail.com, thayllonalves@gmail.com,  
aidenecfaria@gmail.com, vagner.queiroz@ufes.br, milenemiranda@yahoo.com.br,  
avcosta@hotmail.com.

### Resumo

A principal prática de controle de espécies invasoras em culturas é o emprego de herbicidas. Com isso, a exploração das propriedades químicas e biológicas de 1,2,3-triazóis, têm tornando-os alvos em estudos sobre o desenvolvimento de novas moléculas com alta eficiência e potencial herbicida. Dessa forma, objetivou-se sintetizar novos derivados 1,2,3-triazólicos do glicerol e avaliar seu potencial herbicida sobre sementes de *Lactuca sativa*. A estratégia sintética proposta é simples e acessível, abrangendo transformações químicas no material de partida e culminando na formação dos compostos (4a-4c). No ensaio biológico, os triazóis foram diluídos em DCM em concentrações de 300, 150, 75, 50 e 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e após 48 h avaliou-se %G, IVG e CR em comparação ao glifosato (0,1%), o controle positivo utilizado. Os compostos foram obtidos com rendimentos entre 67% e 91% e via reação “click”, proposta interessante para síntese de compostos bioativos. Todos os compostos apresentaram fitotoxicidade pronunciada nas sementes, em especial o triazol 4a, o inibidor mais eficiente para os parâmetros de germinação, devido à presença e a posição do átomo de cloro em sua estrutura química.

**Palavras-chave:** Triazol. Fitotoxicidade. Click Chemistry. Controle biológico.

**Área do Conhecimento:** Ciências Exatas e da Terra (Química).

### Introdução

O setor agropecuário brasileiro é característico por representar importância significativa no mercado e consequentemente na economia do país, tendo alta participação no PIB (Produto Interno Bruto), com destaque à exportação, em que as principais economias agroexportadoras são as carnes, leites e derivados, grãos, cereais, vegetais hortícolas, frutas e alimentos processados (VIEIRA FILHO e GASQUES, 2023).

Um dos principais problemas que acometem o meio agrícola são as plantas daninhas, que competem com os recursos das culturas e acarretam em problemas, como aumento nos custos de produção, reduções na produtividade, que podem ser superiores à 80%, além de serem hospedeiras de insetos e doenças indesejadas (GALON *et al.*, 2020). Como uma das alternativas para o controle das plantas daninhas, é comum empregar o uso de herbicidas.

Contudo, as plantas têm se tornado resistentes aos herbicidas comercializados devido ao seu uso contínuo e indiscriminado, assim como ao emprego de agroquímicos de mesmo princípio ativo. Como forma de manter a produtividade agrícola, tornou-se imprescindível explorar métodos alternativos de controle (SANTOS; FRANCO JUNIOR; BRIGANTE, 2022).

Os triazóis, compostos heterocíclicos nitrogenados de cinco membros, são compostos consideravelmente promissores, em especial para a pesquisa de novos agroquímicos devido às suas atividades biológicas diversas, como antibacteriana, herbicida e antifúngica (COSTA *et al.*, 2017, 2020; DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; MERMER; KELES; SIRIN, 2021). Existem diversas formas para o preparo dos 1,2,3-triazóis. O método de obtenção mais empregado é a reação de cicloadição 1,3-dipolar entre um alcino terminal e uma azida orgânica catalisada por Cu (I) (do inglês copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC)), também conhecida como reação “click”, de fácil execução e com altos rendimentos (LIMA, 2020).

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Esses compostos são frequentemente submetidos a ensaios biológicos a fim de avaliar seu potencial inibitório contra a evolução de diferentes organismos (BARCELOS *et al.*, 2023, SANTOS *et al.*, 2023). Como forma de avaliar a capacidade herbicida desses compostos, por exemplo, são conduzidos bioensaios vegetais a partir de espécies modelo, como a *Lactuca sativa*, comumente utilizada por apresentar resposta rápida e ser sensível mesmo em baixos níveis de toxicidade. A seleção dessa espécie também se justifica pela abundância de sementes e por ser facilmente encontrada em mercados locais. Além disso, essa planta apresenta um processo germinativo rápido e padronizado, ocorrendo em questão de poucas horas (ALVES *et al.*, 2021, 2022; COSTA *et al.*, 2017).

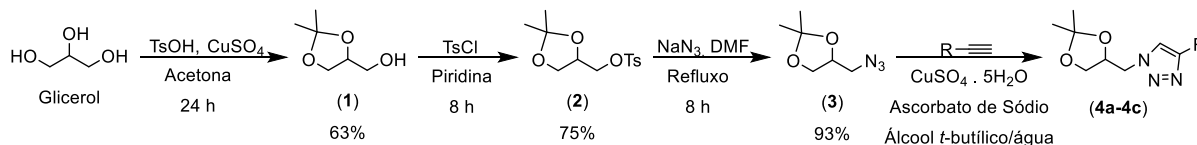
Nesses ensaios biológicos, são examinados os aspectos iniciais do crescimento das plântulas, abrangendo elementos vinculados à germinação e ao desenvolvimento (VASCONCELOS *et al.*, 2022). A análise desses elementos possibilita a avaliação do potencial herbicida dos compostos testados e sugere possíveis aplicações no controle prévio e/ou posterior emergente, direcionando desdobramentos futuros das pesquisas (VALENTE *et al.*, 2022).

Perante o exposto, o objetivo do presente trabalho foi sintetizar e posteriormente avaliar o potencial herbicida de três novos 1,2,3-triazóis, utilizando o glicerol como material de partida, no controle prévio e/ou posterior emergente de plantas.

## Metodologia

Os três 1,2,3-triazóis (**4a-4c**) utilizados no presente trabalho foram obtidos a partir de uma rota sintética simples e de fácil execução, desenvolvida em apenas 4 etapas e empregando-se o glicerol, um subproduto gerado na produção de biodiesel, como material de partida (Figura 1).

Figura 1 – Proposta sintética para obtenção dos derivados 1,2,3-triazólicos do glicerol.



Fonte: Próprio autor.

Os compostos intermediários foram sintetizados conforme relatado na literatura por Costa *et al.* (2020). Para obtenção dos derivados triazólicos, a azida (**3**) (1,00 g, 6,40 mmol), o alcino correspondente a cada triazol (9,60 mmol), a solução aquosa de álcool terc-butílico (1:1 v v<sup>-1</sup>, 12,0 mL), a solução aquosa de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (0,100 mol L<sup>-1</sup>, 1,00 mL, 0,0960 mmol), e o ascorbato de sódio (0,0600 g, 0,288 mmol) foram adicionados a um balão de fundo redondo e a mistura reacional foi agitada a 50°C durante 8 h. Após o final da reação, a fase orgânica foi extraída com diclorometano (3 x 20,0 mL) e os 1,2,3-triazóis (**4a**, **4b** e **4c**) obtidos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel.

Depois de devidamente caracterizados quanto à sua estrutura química via análise dos espectros de infravermelho, massas e RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, os três 1,2,3-triazóis foram submetidos à ensaios biológicos a fim de avaliar-se a potencial atividade fitotóxica contra as sementes da planta modelo (alface), obtidas comercialmente. Os compostos foram diluídos em diclorometano (DCM) nas concentrações de 300, 150, 75, 50 e 25 µg mL<sup>-1</sup>. Os controles negativos utilizados foram água destilada e DCM e o controle positivo foi o glifosato, na concentração recomendada pelo fabricante (0,1%).

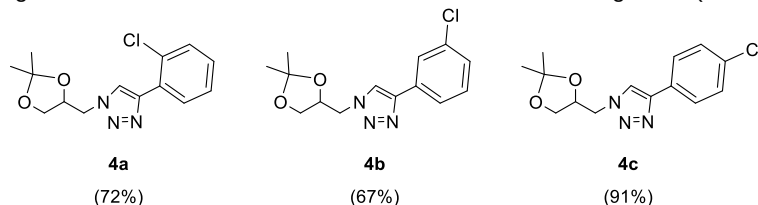
A germinação das sementes foi realizada em placas de petri de 9 cm de diâmetro, forradas com papel filtro fino, regadas com os tratamentos e lacradas com papel filme. As placas foram acondicionadas em câmara de germinação (BOD) à 24 °C durante o experimento (VASCONCELOS *et al.*, 2022). O experimento foi realizado em quadruplicatas, com 25 sementes por repetição, totalizando 100 sementes por tratamento, seguindo o método de aplicação contínua das soluções teste (ALVES *et al.*, 2021). Após 48 h de tratamento, as variáveis analisadas foram índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G) e crescimento radicular (CR), com as sementes sendo avaliadas em intervalos de 8h. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Dunnett a 5% de significância (VASCONCELOS *et al.*, 2022). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa GENES (CRUZ, 2013).

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## Resultados

As transformações químicas realizadas no material de partida, o glicerol, e o emprego da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre uma azida orgânica e um alcino terminal catalisada por cobre (Cu(I)), levaram a obtenção de três novos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos clorados (**4a**, **4b** e **4c**) com rendimentos satisfatórios de 72%, 67% e 91%, respectivamente (Figura 2).

Figura 2 - Estruturas dos derivados triazólicos inéditos do glicerol (**4a-4c**).

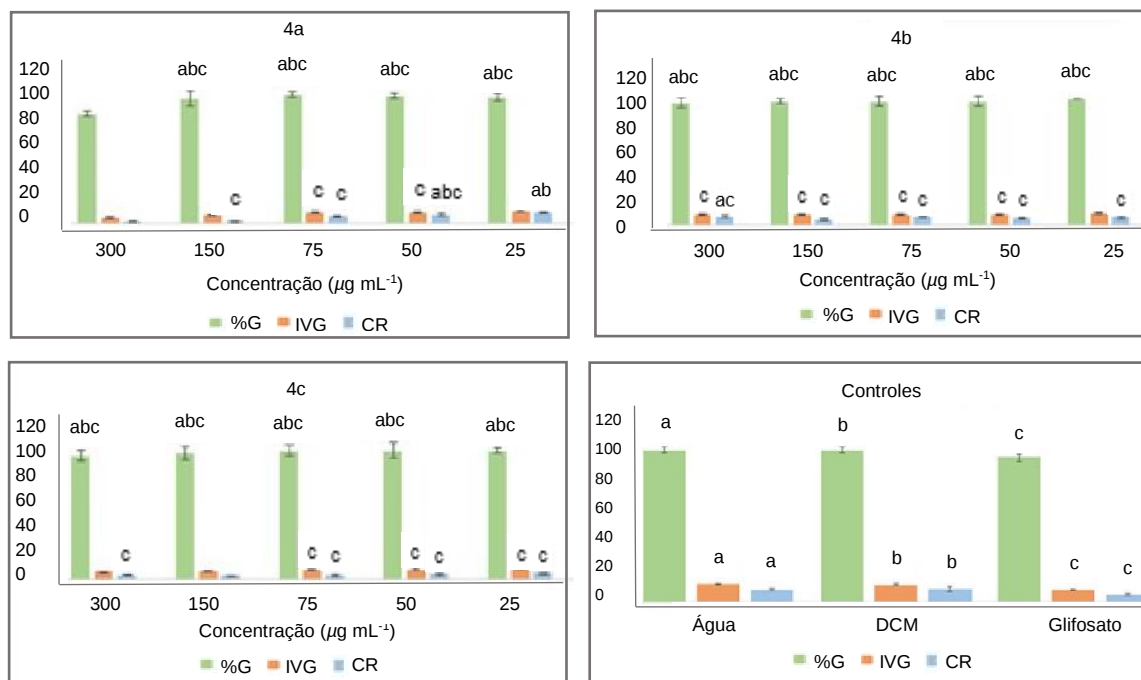


Fonte: Próprio autor.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por métodos espectroscópicos no infravermelho, ressonância magnética de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e por espectrometria de massas (COSTA *et al.*, 2017). A análise de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 4-(2-clorofenil)-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-1H-1,2,3-triazol (**4a**) permitiu identificar a presença de todos os hidrogênios presentes na estrutura deste composto, como o sinal do hidrogênio presente no anel triazólico, sendo observado como um singlete (integrado para um átomo de hidrogênio) em  $\delta_{\text{H}}$  8,30.

Os compostos **4a-4c** apresentados na Figura 3 foram avaliados quanto a atividade fitotóxica diretamente sobre as sementes da planta modelo *Lactuca sativa* (alface).

Figura 3 - Parâmetros germinativos de sementes de *Lactuca sativa* após 48 h de exposição às moléculas **4a**, **4b** e **4c** (300, 150, 75, 50 e 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e aos controles.



\*As médias seguidas pela letra a se igualaram com controle negativo água, as médias seguidas pela letra b se igualaram ao controle negativo diclorometano (DCM) e as médias seguidas pela letra c se igualaram ao controle positivo glifosato, de acordo com teste de Dunnett ( $p > 0,05$ ). Onde: %G - representa a porcentagem de sementes

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

germinadas após 48 h; IVG - representa o índice de velocidade de germinação avaliado de 8/8 h por 48 h; CR - representa as médias do crescimento radicular (cm) das plântulas após 48 h de exposição.

Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos por meio da avaliação da porcentagem de germinação (%G) dos compostos testados indicaram que somente o triazol **4a**, na maior concentração, divergiu estatisticamente dos controles, inibindo significativamente 16% das sementes tratadas. Na análise do índice de velocidade de germinação (IVG), observou-se que os triazóis **4a** e **4c**, nas maiores concentrações, e o triazol **4b**, na menor concentração, foram eficientes em inibir a variável, quando comparado aos controles negativos. Destaca-se ainda que em algumas concentrações, os 1,2,3-triazóis também apresentaram inibição superior em relação ao controle positivo. Essas evidências demonstram uma alteração no padrão de germinação das sementes tratadas. O estudo da variável relacionada ao crescimento radicular (CR) das sementes indicou que os tratamentos com **4b** e **4c**, nas maiores concentrações, foram inibidores iguais ou superiores ao controle positivo, o glifosato. As médias dos tratamentos com o composto **4a** para CR, também mostrou inibição semelhante ao controle positivo.

## Discussão

A primeira etapa da rota consistiu na reação e condensação do glicerol, na presença de ácido *p*-toluenossulfônico, sulfato de cobre anidro e acetona em meio ácido como solvente, levando a obtenção de (**1**) com 63% de rendimento. Em sequência, o composto (**2**) foi preparado via substituição nucleofílica bimolecular (S<sub>N</sub>2) entre (**1**) e o cloreto de tosilato, utilizando-se piridina como solvente. O intermediário (**2**) foi obtido com rendimento equivalente a 75%. Na terceira etapa, ocorreu a reação de síntese da azida de interesse, também via S<sub>N</sub>2, na presença de dimetilformamida e azida de sódio. Ao final do processo o produto (**3**) foi isolado com 93% de rendimento.

A etapa chave para síntese dos núcleos triazólicos (**4a-4c**) foi a reação "click" entre a azida orgânica (**3**) e três alcinos terminais distintos, na presença de cobre (I) como catalisador e uma solução de álcool *t*-butílico como solvente. Essa metodologia resultou na síntese regioespecífica dos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (**4a-4c**) com rendimentos entre 67% a 91%. A estrutura dos compostos sintetizados foi confirmada por métodos espectroscópicos de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e Espectrometria de Massas.

A reação "click" é comumente empregada na preparação de derivados triazólicos, levando a obtenção exclusiva e com bons rendimentos do regioisômero 1,4-dissubstituído-1,2,3-triazólico, devido à regioespecificidade da reação ocasionada pela utilização de sais de cobre como catalisador (KOLB; SHARPLESS; FINN, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Ao buscar por compostos biologicamente ativos frente ao principal patógeno que acomete a cultura do mamoeiro, o *Colletotrichum gloeosporioides*, Costa *et al.* (2020) empregaram a reação CuAAC para a síntese de oito 1,2,3-triazóis inéditos e obtiveram rendimentos variando entre 65% e 84%. Essas evidências indicam que a metodologia proposta é versátil, de fácil execução e de fato eficiente para obtenção de 1,2,3-triazóis.

Os bioensaios vegetais relacionados à avaliação da fitotoxicidade envolvem o estudo de parâmetros fisiológicos macroscópicos, como porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação de sementes e crescimento radicular da plântula (ALVES *et al.*, 2018; ARAGÃO *et al.*, 2015). No que tange à variável %G, o triazol **4a**, em sua maior concentração, apresentou maior nível inibitório, indicando seu potencial herbicida no controle pré-emergente de sementes. Um possível fator que pode ter influenciado nesta inibição é a inclusão de átomos de cloro e suas respectivas posições no anel triazólico que podem ter causado um desequilíbrio em rotas hormonais inerentes à germinação de sementes (ZHANG *et al.*, 2020).

Em relação ao IVG, variável altamente sensível, todos os três triazóis (**4a**, **4b** e **4c**) apresentaram fitotoxicidade sobre as sementes. Esse efeito também pode estar relacionado à alterações decorrentes da presença do halogênio nas moléculas, como aumento na biossíntese de hormônios responsáveis pela promoção e manutenção do estado de dormência das sementes. Além disso, a associação do cloro à inativação de genes promotores de crescimento auxilia na compreensão da inibição do CR promovida pelos triazóis **4a**, **4b** e **4c** avaliados, evidenciando sua importância no controle pós-emergente (CHEN *et al.*, 2020).

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## Conclusão

Os compostos 1,2,3-triazólicos clorados (**4a-4c**) foram sintetizados com rendimentos aceitáveis pela reação de cicloadição contando com o cobre como catalisador, e devidamente caracterizados pela análise via IV, Massas e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Nos ensaios biológicos, os compostos testados demonstraram um efeito fitotóxico significativo nas sementes da planta modelo utilizada no presente trabalho, sendo o **4a** o melhor inibidor para o controle pré-emergente de sementes.

Portanto, conclui-se que a rota empregada foi eficiente para preparação e obtenção de todos os compostos, mostrando-se uma estratégia promissora para o desenvolvimento de compostos bioherbicidas. Além disso, o efeito fitotóxico apresentado e atribuído à incorporação de átomos de cloro na estrutura química dos compostos demonstra a importância desse halogênio para o ramo sintético, no que concerne ao desenvolvimento de compostos mais eficazes e com menor nocividade ao meio ambiente e à saúde humana para atuarem no controle de espécies invasoras em lavouras.

## Referências

- ALVES, T. A. *et al.* Toxicity of thymol, carvacrol and their respective phenoxy acetic acids in *Lactuca sativa* and *Sorghum bicolor*. **Industrial Crops and Products**, v. 114, p. 59-67, 2018.
- ALVES, T. A. *et al.* Searching an auxinic herbicide to use as positive control in toxicity assays. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.
- ALVES, T. A. *et al.* Phytotoxicity and cytogenetic action mechanism of leaf extracts of *Psidium cattleianum* Sabine in plant bioassays. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. 1-10, 2022.
- ARAGÃO, F. B. *et al.* Phytotoxicity and cytotoxicity of *Lepidaploa rufogrisea* (Asteraceae) extracts in the plant model *Lactuca sativa* (Asteraceae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 65, n. 2, p. 1-10, 2017.
- BARCELOS, F. F. *et al.* Synthesis of novel glycerol-fluorinated triazole derivatives and evaluation of their phytotoxic and cytogenotoxic activities. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 95, n. 1, p. e20211102, 2023.
- CHEN, X. *et al.* Transcriptomic analysis of the phytotoxic effects of 1-allyl-3-methylimidazolium chloride on the growth and plant hormone metabolic pathways of maize (*Zea mays* L.) seedlings. **Chemosphere**, v. 241, p.125013, 2020.
- COSTA, A. V. *et al.* Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.
- COSTA, A. V. *et al.* Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 821-832, 2020.
- CRUZ, C. D. Genes: A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, p. 271-276, 2013.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1, 2, 3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 30-54, 2017.
- GALON, L. *et al.* Competição entre híbridos de milho com plantas daninhas. **South American Sciences**, v. 2, n. 1, 2020.
- KOLB, H. C.; SHARPLESS, K. B.; FINN, M. G. Click Chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 11, p. 2004-2021, 2001.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

LIMA, L. E. B. de. **“Click chemistry”: síntese, relação estrutura-atividade e avaliação in vitro de compostos híbridos inéditos de derivados de 1, 2, 3-triazol contra *Trypanosoma cruzi***. 2020. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

MERMER, A.; KELES, T.; SIRIN, Y. Recent studies of nitrogen containing heterocyclic compounds as novel antiviral agents: A review. **Bioorganic Chemistry**, v. 114, p. 105076, 2021.

OLIVEIRA, M. B. de et al. A reação CuAAC (reação click): Aspectos químicos, mecanísticos e alguns exemplos de sua utilização na preparação de compostos com interesse agroquímico. In: COSTA, A. V. et al. **Tópicos Especiais em Agroquímica II**. Vitória: UFES, 2022. 300 p.

SANTOS, E. B. S.; FRANCO JUNIOR, K. S.; BRIGANTE, G. P. Evaluation of herbicides to control weeds in coffee trees. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, p. e519111638529, 2022.

SANTOS, F. S. dos et al. Synthesis of 1,2,3-triazole-containing methoxylated cinnamides and their antileishmanial activity against the *Leishmania braziliensis* species. **Pharmaceuticals**, v. 16, p. 1113-1133, 2023.

VALENTE, P. M. et al. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of *Dionaea muscipula* Ellis extracts and its major compound against *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. **Biologia**, v. 1, p. 1-15, 2022.

VASCONCELOS, L. C. et al. Phytochemical screening and phytocytotoxic effects of the tropical *Myrcia vittoriana* (Myrtaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, p. 1-20, 2022.

VIEIRA FILHO, J. E. R.; GASQUES, J. G. **Agropecuária Brasileira: evolução, resiliência e oportunidades**. Rio de Janeiro: Ipea, 2023. 292 p.

ZHANG, C. et al. Hormonal and enzymatic responses of maize seedlings to chilling stress as affected by triazoles seed treatments. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 220-227, 2020.

## Agradecimentos

Os autores do presente trabalho agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Grupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo apoio.