

ESTERIFICAÇÃO DO EXTRATO DE *AUSTROPATORIUM INULAEFOLIUM* VISANDO A OBTENÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL ANTI- MICROBATERIANO

Higor Stirle Barbosa (PIBIC - UEM), Maria Eduarda Vieira de Souza (PIBIC - UEM)
Debora Cristina Baldoqui (Orientadora), e-mail:dcbaldoqui@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra – Química – Química Orgânica

Palavras-chave: Semissíntese; labdanos; acetilação

RESUMO:

Neste projeto foi realizado reações de esterificação de um labdano isolado das partes aéreas de *Austro eupatorium inualefolium* coletada na região dos Campos Gerais do Paraná. Foram utilizados os seguintes anidridos nas reações de esterificação: anidrido acético, propiônico, maleico e succínico, entretanto, apenas a reação com anidrido acético levou a formação do produto esperado, com um rendimento de 30%. Através da reação de acetilação do extrato bruto foram obtidos três labdanos esterificados, os quais estão sendo analisados por RMN de ^1H e ^{13}C .

INTRODUÇÃO

O gênero *Austro eupatorium*, pertencente à Asteraceae, surgiu da reestruturação do gênero *Eupatorium* (KING e ROBINSON, 1970), sendo que das quatorze espécies pertencentes a este gênero, apenas duas foram investigadas do ponto de vista fitoquímico. Diterpenos do tipo labdano são os principais metabólitos especializados descritos de *Austro eupatorium*, entretanto são relatados também a presença de flavonoides, triterpenos e lactonas sesquiterpênicas (SAITO *et al.*, 2011)

Produtos naturais podem ser utilizados como protótipos, a partir dos quais são realizadas modificações estruturais, que visam a obtenção de análogos com propriedades terapêuticas otimizadas, aumentando o potencial para se tornarem novos fármacos. Entretanto, um pré-requisito para essa estratégia é a disponibilidade de material de partida, uma vez que grande parte dos metabólitos especializados são obtidos em pequenas quantidades (VOLLMANN; WINAND; NETT, 2022).

O labdano **1** é um protótipo excelente para esse propósito, uma vez que é encontrado em quantidades significativas em *A. inualefolium* e possui duas hidroxilas que podem ser esterificadas (**Figura 1**). Estudos descritos na literatura mostram que o aumento da lipofilicidade, por exemplo, por acilação, pode levar a um aumento das atividades antitumorais das substâncias (NOVAKOVIC *et al.*, 2020).

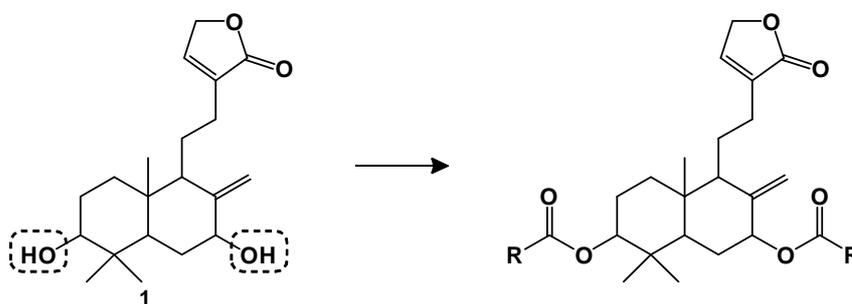


Figura 1: Proposta de esterificação do labdano 1.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

As partes aéreas e flores de *Austroeupatorium inulaefolium* foram coletadas em setembro de 2019 na Cachoeira da Mariquinha (S 25° 12' 10"; W 49° 56' 37"), no município de Ponta Grossa no Paraná. Foi identificado pela Profa. Dra. Marta Regina Barrotto do Carmo, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Procedimento experimental geral

A cromatografia em coluna (CC) foi realizada em coluna de vidro, empregando como fases estacionárias sílica gel 60 da Merck. As dimensões das colunas variaram de acordo com a quantidade de material empregado. As eluições foram feitas com solventes orgânicos destilados grau P.A (hexano, acetato de etila, metanol), puros ou em misturas.

As cromatografias de camada delgada comparativa (CCDC) foram realizadas utilizando placas de vidro de 5,0 x 2,0 cm, preparadas com sílica gel 60 GF254 da Merck, suspensa em água destilada e distribuída em uma espessura de 0,25 mm. Foi utilizado como fase móvel solventes orgânicos (acetato de etila, hexano), em misturas, de acordo com a polaridade. Para visualização das substâncias em CCDC utilizou-se uso de revelador H₂SO₄/anisaldeído/ácido acético (1:0.5:50 mL), seguido por aquecimento a 150° C.

Os espectros foram obtidos por análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em um espectrômetro operando a 300 MHz, usando clorofórmio deuterado como solvente.

Reação de esterificação do labdano 1

A acetilação do labdano 1 foi feita conforme a metodologia descrita por Luo e colaboradores (2015). Foi solubilizado 0,25mg do labdano 1 em 1,0mL de diclorometano, em temperatura ambiente, seguido da adição de 710µL de anidrido acético e 4-dimetilaminopiridina (DMAP), quantidade catalítica. A reação foi acompanhada utilizando CCD. Após 1 hora e 30 minutos de reação foi adicionado água destilada e separada a fase orgânica. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3x5mL). O extrato orgânico foi lavado com salmoura e seco com sulfato de sódio, em seguida foi filtrado. Posteriormente, foi realizada a purificação

por cromatografia de camada delgada preparativa e cromatografia em coluna. Foi utilizado o mesmo procedimento, com pequenas modificações, substituindo o anidrido acético por anidrido propiônico, anidrido maleico e anidrido succínico.

Reação de acetilação dos labdanos no extrato

Nesta reação, foi utilizado como material de partida o extrato bruto (0,1 g) da espécie *A. inulaefolium*, seguindo o mesmo procedimento, diferenciando as quantidades de solvente que foi de 2,0 mL e anidrido acético 0,13mL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Reação de esterificação do labdano 1

A reação de acetilação do labdano 1 ocorreu com um rendimento de 30% quando o produto foi purificado utilizando CC. O espectro de RMN de ^1H do produto de síntese mostrou a presença de dois sinais em δ_{H} 2,09 e δ_{H} 2,13, característicos das metilas dos grupos acetato (**Figura 2**).

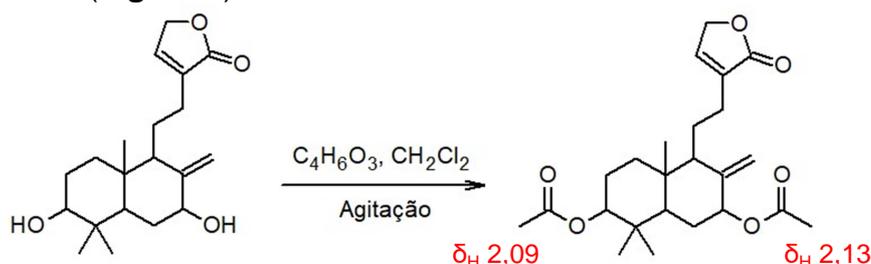


Figura 2: reação de acetilação do labdano 1.

A reação do labdano 1 com anidrido propiônico, anidrido maleico, anidrido succínico ficou sob agitação por 48, 48 e 20 horas, respectivamente, sendo acompanhada constantemente por CCDC e não foi observada a formação de produto.

Reação de acetilação na fração diclorometano de *A. inulaefolium*

Na reação tendo como material de partida a fração diclorometano de *A. inulaefolium* com anidrido acético, foi possível observar a formação de três produtos (**Figura 3**). Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel 60, utilizando hexano-acetato em gradiente crescente de polaridade como fase móvel. As amostras foram enviadas para análise por RMN de ^1H e ^{13}C .



Figura 3: Cromatografia em camada delgada do extrato bruto (C) e dos produtos da reação (D).

CONCLUSÕES

Apesar de utilizar quatro diferentes anidridos para a esterificação do labdano, somente o produto acetilado foi obtido. Foram avaliados dois métodos de purificação do produto formado, cromatografia em camada delgada preparativa e cromatografia em coluna, sendo que o segundo método foi mais eficiente. Outras rotas de síntese estão sendo avaliadas para a obtenção de uma série de labdanos esterificados. Não foi possível, até o momento, verificar se o aumento da lipofilicidade influenciará no potencial antimicrobiano deste labdano, uma vez que os ensaios biológicos ainda estão sendo realizados.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC/UEM, CNPq, Fundação Araucária e a organização do evento.

REFERÊNCIAS

KING, R. M.; ROBINSON, H. Studies in the Eupatorieae (Compositae). XXVI. A new genus *Austroeupatorium*. **Phytologia**, v. 19, n. 7, p. 433-435, 1970.

LUO, Y.; WANG, K.; ZHANG, M. Synthesis of new ent-labdane diterpene derivatives from andrographolide and evaluation on cytotoxic activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 1, p. 7, 2015.

NOVAKOVIC, M.; SIMIC, S.; KORACAK, L.; ZLATOVIC, M.; ILIC-TOMI, T.; ASAKAWA, Y.; NIKODINOVIC-RUNIC, I.; OPSENICA, I. Chemo- and biocatalytic esterification of marchantin A and cytotoxic activity of ester derivatives. **Fitoterapia**, v. 142, p. 104520, 2020.

SAITO, Y.; MATSUO, S.; SUTOYO, S.; TORI, M. Nine new norlabdane diterpenoids from the leaves of *Austroeupatorium inulaefolium*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 94, n. 2, p. 313-326, 2011.

VOLLMANN, D.; WINAND, L.; NETT, M. Emerging concepts in the semisynthetic and mutasynthetic production of natural products. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 77, p. 1-7, 2022.