



Desenvolvimento de uma metodologia para determinação da estereoquímica dos alcaloides piperidínicos de *Senna spectabilis* (Fabaceae)

Isabela L. Cytrângolo^{1*} (PG); Amanda D. Pivatto¹ (PQ); Marcos Pivatto¹ (PQ)

^{*}isabela.cytrangolo@ufu.br

¹Núcleo de Pesquisa em Compostos Bioativos (NPCBio), Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil, 38.400-902.

RESUMO

Senna spectabilis é utilizada na medicina tradicional e apresenta comprovada atividade biológica, rica em alcaloides piperidínicos quirais tem como metabólitos majoritários a (–)-cassina (**1**) e (–)-espectralina (**2**). Nesse sentido se faz necessário estudos mais aprofundados para compreender a estereoquímica destes compostos. Para isso foi desenvolvida uma metodologia utilizando o (S)-naproxeno (**3a**) como reagente de derivatização quiral (RDQ), juntamente com análises computacionais baseadas na dinâmica molecular de Born-Oppenheimer. A análise dos resultados teóricos, como energias livre de Gibbs, mostram que as conformações mais estáveis de cada uma das moléculas, estão de acordo com dados da literatura. Assim, os compostos **1**, **2** e **3a** foram obtidos e os ésteres de Mosher foram preparados, tendo suas estruturas confirmadas por espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear.

Palavras-chave: *Senna spectabilis*, estereoquímica, ésteres de Mosher, conformação, quiral.

Introdução

No decorrer da história humana, os produtos naturais se fizeram presentes nas civilizações e foram fundamentais para a evolução da sociedade, principalmente devido aos princípios ativos. Nesse sentido, *Senna spectabilis*, uma árvore presente no Cerrado brasileiro, vêm sendo estudada e tem comprovada atividade biológica como antimalárico [1], anti-chikungunya [2] e como inibidor de acetilcolinesterase, importante enzima relacionada a doença de Alzheimer [3]. Estas atividades são frequentemente associadas aos alcaloides quirais (–)-cassina (**1**) e (–)-espectralina (**2**), presentes na planta. Nesse sentido, a quiralidade dos compostos orgânicos é um importante fator a ser considerado ao longo do desenvolvimento de fármacos, uma vez que é uma característica capaz de determinar propriedades químicas, físicas e biológicas. A atividade biológica de compostos quirais está relacionada à estereoespecificidade dos receptores biológicos, sendo que a mudança na estereoquímica de um centro estereogênico pode resultar na modificação da resposta biológica [4]. Desse modo, para explorar de forma segura os metabólitos de *S. spectabilis*, é necessário a compreensão da estereoquímica relativa e absoluta dos centros estereogênicos dos alcaloides piperidínicos. Estudos anteriores sobre a estereoquímica destes alcaloides foram baseados em análises de infravermelho (IV) e de difração de raio X, sendo que essas técnicas não são adequadas para a análise destes compostos [5]. Sendo assim, este estudo visa o desenvolvimento de uma metodologia para determinação da estereoquímica dos alcaloides piperidínicos quirais presentes nas flores de *S. spectabilis* utilizando o (S)-naproxeno (**3a**), que é um fármaco enantioméricamente puro, como reagente de derivatização quiral

(RDQ), para a determinação da estereoquímica dos centros estereogênicos de **1** e **2**, através das análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (RMN ¹H e ¹³C) dos ésteres de Mosher sintetizados. Uma etapa importante no desenvolvimento da metodologia é a análise conformacional e a predição da(s) conformação(ões) preferenciais do éster de Mosher formado, para definir a posição do anel naftílico, que é responsável pelos efeitos anisotrópicos de proteção e/ou desproteção que permitem a atribuição da estereoquímica absoluta. Deste modo, os estudos teóricos através da química computacional e cálculos de dinâmica molecular (DM), são ferramentas importantes e podem ser utilizados para simular o comportamento das moléculas em diferentes solventes, analisando e prevendo as principais conformações moleculares [6].

Experimental

Cálculos de dinâmica molecular (DM)

A dinâmica do sistema foi simulada usando a Dinâmica Molecular de Born-Oppenheimer (DMBO), a qual foi conduzida no xTB, empregando o método GBSA para solvente implícito de clorofórmio e parâmetros semi-empíricos GFN2-xTB. O sistema inicial foi otimizado em energia e subsequentemente submetido a trajetórias de 200 ps, com passo de integração de 0,5 fs, mantendo temperatura de 298 K via termostato de Berendsen. Após o término das trajetórias, as conformações foram ponderadas pela distribuição de Boltzmann, considerando ΔG calculados internamente pelo xTB.

Preparo dos ésteres de Mosher

Os alcaloides **1** e **2** foram isolados a partir das flores de *S. spectabilis*, já o (S)-naproxeno (**3a**) foi extraído dos

medicamentos e racemizado em meio ácido utilizando anidrido acético. Em seguida os ésteres de Mosher foram sintetizados conforme reação de Steglich e as estruturas confirmadas por EM e RMN. Na sequência, serão feitas análises para observar os efeitos anisotrópicos do RDQ para determinação da estereoquímica absoluta dos centros estereogênicos de **1** e **2** (Fig. 1).

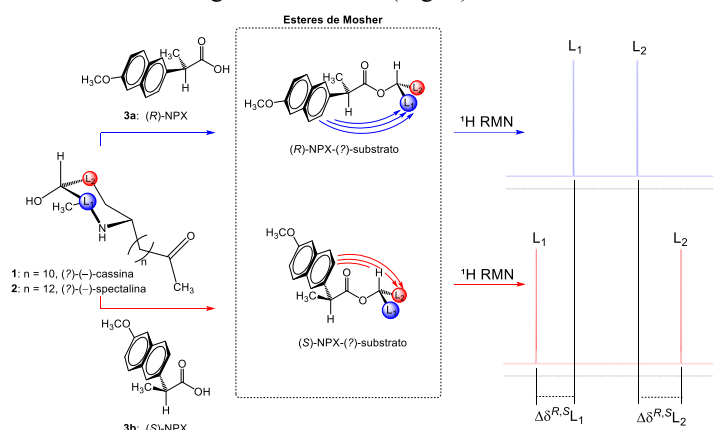


Figura 1. Método da dupla derivatização utilizando **3** como RDQ na determinação da configuração absoluta de **1** e **2**.

Resultados e Discussão

Os alcaloides **1** (212,6 mg) e **2** (90,2 mg) foram obtidos a partir do extrato etanólico das flores de *S. spectabilis* (100,0 g), através da extração líquido-líquido, de onde foi obtida a fração alcaloidica (CH_2Cl_2) (1,4 g), que foi submetida a cromatografia em coluna (CC) e cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE). O (*S*)-naproxeno (**3a**) (3,7 g), utilizado como RDQ, foi extraído a partir de fármacos que são comercializados nas farmácias na forma enantiomericamente pura. Foram utilizados dez comprimidos contendo 5,0 g de **3a**, que foram triturados e submetidos a extração ácido-base. Os produtos foram analisados por CCD e caracterizados por espectrometria de massas com ionização por eletrospray (EM-IES), RMN e análises polarimétricas. A síntese do éster de Mosher foi realizada a partir da reação entre **1** e **3a** para obtenção do éster (*S*)-naproxeno-(?) -cassina (**4a**), sendo possível acompanhar a formação do produto (R_f 0,86) por CCD, a partir da visualização da absorção de luz pelo grupo cromóforo (naftil), quando feita a inspeção sob luz UV254 nm e também utilizando o revelador iodocloroplatinado (Fig. 2), e confirmar por EM (m/z 510,3558 $[M + H]^+$, calculado. para $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{NO}_4^+$, 510,3578 (Δ -3,9 ppm). Também foram realizados estudos computacionais para avaliar as conformações de menor energia dos alcaloides derivatizados **4a** e **4b** e com isso contribuir para o estabelecimento das posições dos substituintes no núcleo piperidínico e compreender os efeitos anisotrópicos gerados por cada RDQ (*R* ou *S*). Assim, na projeção de Newman, no conformero mais estável, *ap* ($\Lambda \approx 180^\circ$), de **4a** é possível observar que o grupo naftil do

(*S*)-NPX está espacialmente próximo ao grupo L_2 (Fig. 3), o que deve gerar um efeito de proteção, deslocando o sinal de δ_H para a direita, no espectro de RMN ^1H , devido ao cone de proteção gerado pelo grupo naftil do RDQ. Da mesma maneira, os cálculos também indicam que o efeito de proteção gerado pelo (*R*)-NPX (**3b**) deve ser sobre o substituinte L_1 (Fig. 2).

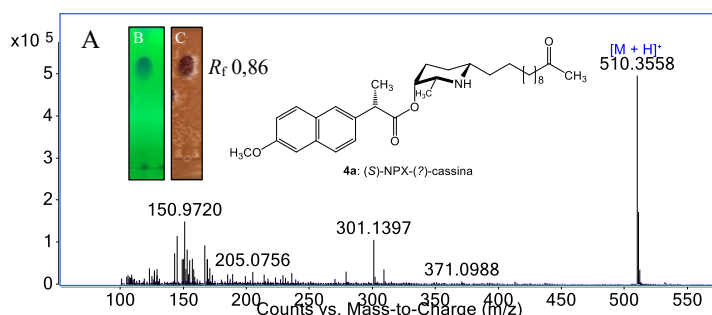


Figura 2. EM-IES(+) do éster de Mosher (**4a**) (A); CCDs: inspeção em luz UV254 nm (B) e com revelador ICIPIt (C).

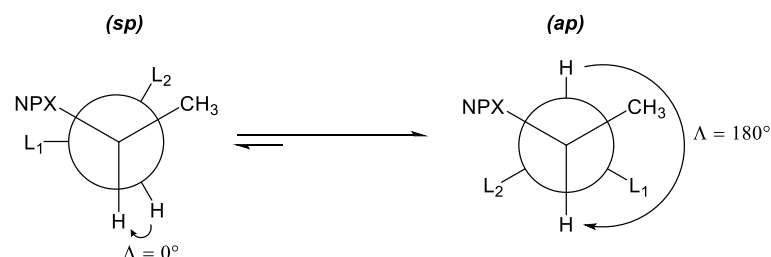


Figura 3. Representações de **4a**: Projeção de Newman e forma tridimensional mostrando o ângulo diedro (Λ) entre os hidrogênios do carbono assimétrico do naproxeno e do *C-3 do alcaloide (**1**) nas conformações simperiplanar (*sp*) e antiperiplanar (*ap*).

Conclusões

Os compostos **1**, **2** e **3a** foram isolados/purificados por técnicas cromatográficas e caracterizados por EM e RMN, assim como o éster de Mosher **4a**. Os dados computacionais de DM apresentaram resultados próximos aos estimados, auxiliando na determinação da conformação mais estável de **4a**, mostrando que a metodologia em desenvolvimento é eficiente, sendo possível utilizar **3a/3b** como RDQ.

Agradecimentos

À FAPEMIG, CNPq, CAPES e INCT-BioNat pelo auxílio à pesquisa e bolsas concedidas.

Referências

- Pivatto, M. *et al.* J. Braz. Chem. Soc. 25, 2014, 1900.
- Freitas, T. R. *et al.* Pharmacol. Rep. 74, 2022, 752.
- Freitas, T. R. *et al.* Rapid Commun. Mass Spectrom. 32, 2018, 1303.
- Hamidi, S. *et al.* Pharm. Sci. 21, 2015, 229.
- Hightet, R. J. J. Org. Chem. 29, 1964, 471.
- Schlick, T. Springer. 82, 1996, 219.