

MODIFICAÇÕES MOLECULARES NA ESTRUTURA DA β -LAPACHONA: UMA ABORDAGEM INTERDISCIPLINAR INCLUINDO A FITOQUÍMICA, A QUÍMICA ORGÂNICA E A QUÍMICA MEDICINAL

Marcelle Liebert¹
Anderson Hollerbach Klier²

Resumo: Após isolamento do lapachol do material vegetal, o mesmo foi submetido à ciclização em meio ácido para obtenção da alfa e beta-lapachona. Após separação cromatográfica a beta-lapachona foi submetida a modificação molecular por reações de adição e cicloadição, na tentativa de obtenção de derivados tetrazólicos e oxazólicos.

Palavras-chave: β -Lapachona. Heterociclo. Modificação molecular.

Abstract: After lapachol isolation from vegetable material, it was subjected to cyclization in an acid medium to obtain the alpha- and beta-lapachone. After chromatographic separation beta-lapachone was subjected to molecular modification by reactions of addition and cycloaddition in an attempt to obtain tetrazolics and oxazole's derivatives.

Key-words: β -Lapachone. Heterocycle. Molecular modification.

INTRODUÇÃO

A defasagem que existe na fundamentação científica do ensino médio brasileiro não é inédita, e esta, tem reflexo direto no desempenho dos discentes quando são inseridos no ensino superior. Como ciência, a química sofre com tal defasagem, assim como a física e a matemática, pois em inúmeros cursos superiores uma vasta gama de disciplinas dependem de um mínimo embasamento prévio nesses conteúdos. Entretanto, mesmo com esta defasagem, cabe às Instituições superiores cativar seu corpo discente para que mesmo com as dificuldades, inerentes à falta de conhecimento, não ocorra com uma grande evasão em seus cursos.

Neste intuito, uma interdisciplinaridade entre conteúdos de tronco comum, como por exemplo entre as disciplinas de fitoquímica, química orgânica e química medicinal, favoreceria e fortaleceria estas nos ciclos básicos e profissionais dos cursos em que são vigentes. Como consequência direta desta interdisciplinaridade, os alunos passam a reconhecer gradativamente a importância dos conhecimentos ministrados em cada disciplina do ciclo básico, pois com o decorrer do curso, percebem que conteúdos prévios sedimentados, facilitam o entendimento subsequente, o que motiva o aluno no decorrer do curso.

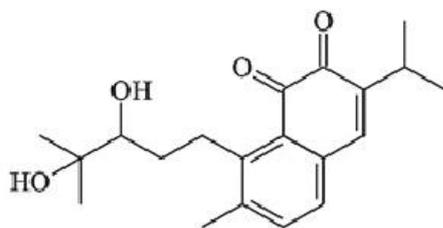
Neste contexto, a percepção desta possibilidade num projeto de graduação seria extremamente oportuno, pois o aluno reconhece a aplicação de fundamentos prévios da química orgânica em disciplinas aplicadas como fitoquímica e química medicinal, e destas em tecnologias específicas de produção de

medicamentos e processos biotecnológicos.

A proposta de projetos interdisciplinares se justifica não só pela importância da não compartimentalização de conteúdos, mas acima de tudo pela multidisciplinaridade inerente ao desenvolvimento de moléculas bioativas. Atualmente cerca de 25% dos protocolos terapêuticos associam moléculas sintéticas a compostos de origem natural, especialmente derivados de vegetais superiores, principalmente nas classes antineoplásicas e antibacterianas (VIEGAS Jr, 2006). Neste campo as naftoquinonas, em específico as lapachonas, assumem um papel bastante interessante no meio científico, principalmente pela capacidade destas biomoléculas de induzir o estresse oxidativo celular (SILVA, 2003).

Esse estresse pode resultar da ação de muitos agentes ambientais sobre os seres vivos, como radiação ultravioleta, ozônio, poluentes automotivos, compostos derivados da cadeia alimentar e derivados do tabagismo. Como reflexo da importância do interesse pelos estudos envolvendo a β -lapachona, podemos citar as diversas patentes concedidas ao longo dos últimos anos envolvendo essa quinona, provavelmente como garantia de uso comercial futuro (SILVA, 2003, FERREIRA, 2002). Como estímulo à manutenção do interesse químico pelas quinonas, recentemente a salvicina, uma naftoquinona diterpenica (figura 1), isolada da espécie chinesa *Salvia prionitis*, apresentou acentuada atividade anticancerígena *in vitro* e *in vivo* contra tumores humanos sólidos e três tipos de leucemia, com potência equivalente ao etoposídeo (SILVA, 2003).

Figura 1 - Estrutura da salvicina



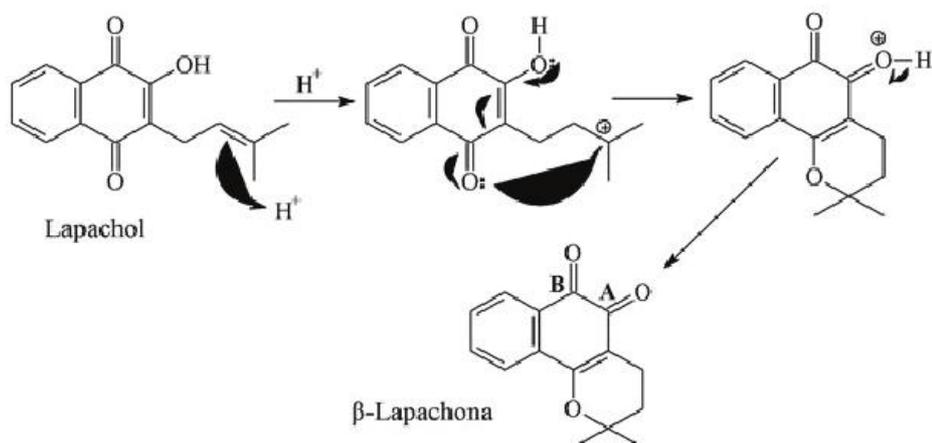
Fonte: Ferreira, 2002

Associada à ideia de bioatividade, as naftoquinonas são substratos naturais com reatividade adequada para a obtenção de heterociclos por modificação molecular, principalmente os tetrazóis, oxazóis e oxadiazóis.

Como produto de origem natural, o lapachol é uma naftoquinona isolada a partir da madeira de algumas

espécies vegetais das Bignoniáceas, especialmente abundantes em várias regiões brasileiras (ARAÚJO, 2002). Uma vez extraído da matéria de origem vegetal, o lapachol pode ser convertido em β -lapachona, através da modificação molecular por ciclização em meio ácido apresentada na figura 2.

Figura 2 - Formação da β -Lapachona a partir do Lapachol

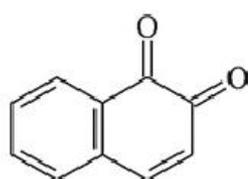


Fonte: elaborado pelo autor

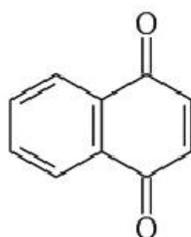
Apesar da metodologia de ciclização estabelecida do lapachol em meio ácido, estudos recentes indicam que a complexação da olefina exocíclica do lapachol com sais de tálio III também pode induzir a ciclização (RIBEIRO, 2008). As quinonas representam uma vasta gama de metabólitos secundários de origem natural, e despertam interesse especial, não só pela importância

em processos bioquímicos vitais, mas também pelo destaque na terapêutica e estudos farmacológicos (SILVA, 2003). As naftoquinonas são quinonas derivadas do sistema naftalênico, sendo denominadas sob duas formas isoméricas, *o*-naftoquinonas quando duas carbonilas estão nas posições 1,2 do anel naftaleno e *p*-naftoquinonas quando nas posições 1,4 (figura 3).

Figura 3 - Formas Isoméricas das naftoquinonas



o-Naftoquinona



p-Naftoquinona

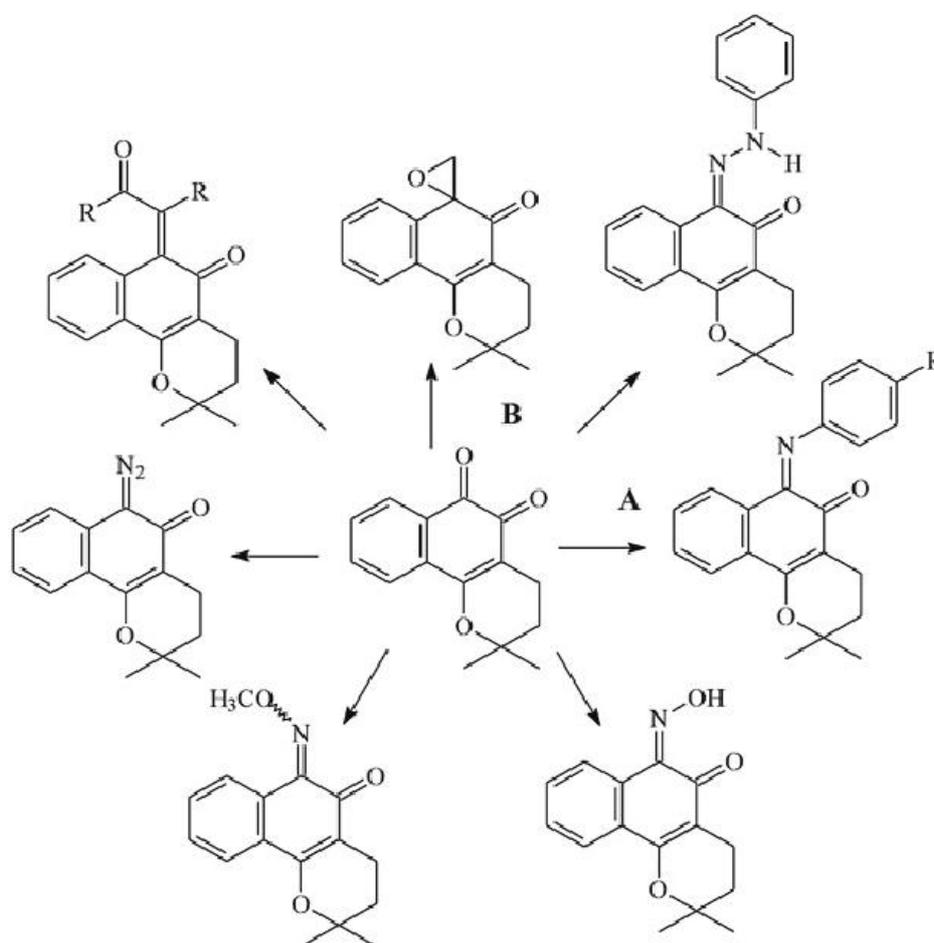
Fonte: elaborado pelo autor

Com propriedades redox, são disseminadas no reino vegetal participando em diferentes processos oxidativos biológicos. (FERREIRA, 2010).

Importante salientar que sendo um produto de controle cinético, ou seja, gerado mais rapidamente e com estrutura menos estável, a β -Lapachona (figura 2) pode ser convertida na α -Lapachona, favorecida termodinamicamente e estruturalmente mais estável. Portanto o controle de temperatura é fundamental para garantirmos a pureza isomérica do produto desejado. As tentativas descritas de modificação mo-

lecular na estrutura da β -Lapachona por reações de adição, são categóricas quanto a seletividade desta na carbonila **B**, figura 4. Esta carbonila é mais reativa frente a nucleófilos em função da sua maior densidade de carga positiva, +0,484, comparado a densidade de carga +0,472 da carbonila **A**, figura 4. Apesar da diferença de densidade de carga ser pequena, esta é suficiente para a regioseletividade de adição nucleofílica (FERREIRA, 2010), justificando estruturalmente os produtos monossubstituídos já obtidos a partir da β -Lapachona segundo a figura 4.

Figura 4 - Produtos monossubstituídos obtidos a partir da β -Lapachona



Fonte: (Ferreira, 2010).

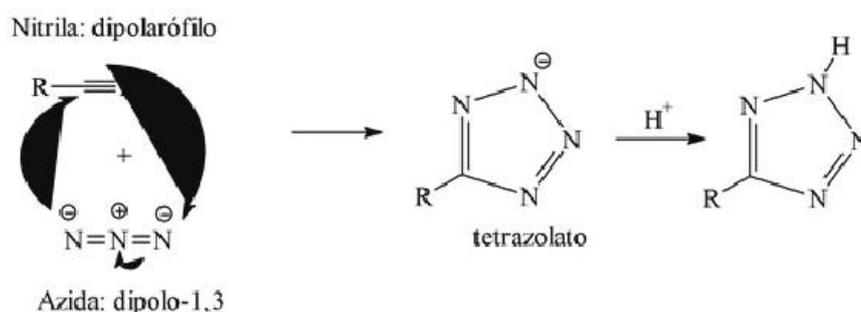
Além das modificações citadas anteriormente, o lapachol e seus derivados cíclicos foram estudados quanto a possibilidade de geração de heterociclos por reação com alquilaminas primárias, vislumbrando rotas preliminares para obtenção de oxazóis a partir de quinonas (CHAVES, 1990). A formação das hidrazonas por adição de aminas também será de fundamental importância no desenvolvimento do projeto, sendo relatadas explorações iniciais, nas quais são obtidos rendimentos quantitativos na reação da β -Lapachona com fenilaminas (SILVA, 2003).

Possivelmente tais rendimentos serão influenciados por possíveis substituintes aromáticos, especialmente os

desativadores do sistema aromático. A ideia de otimizar e desenvolver aspectos de síntese de heterociclos a partir de moléculas previamente conhecidas é bastante difundida, e permite a inserção dos mesmos em estruturas quimicamente privilegiadas, como por exemplo a pureza enantiomérica associada à região e estereosseletividade dos carboidratos (KLIER, 2000).

Os heterociclos tetrazólicos podem ser gerados por reação de cicloadição-1,3 dipolar entre a azida de sódio, que atua como um dipolo-1,3 e uma nitrila que participa como um dipolarófilo (CLAYDEN, 2001) conforme figura 5.

Figura 5 - Mecanismo de cicloadição-1,3 dipolar para geração do tetrazol



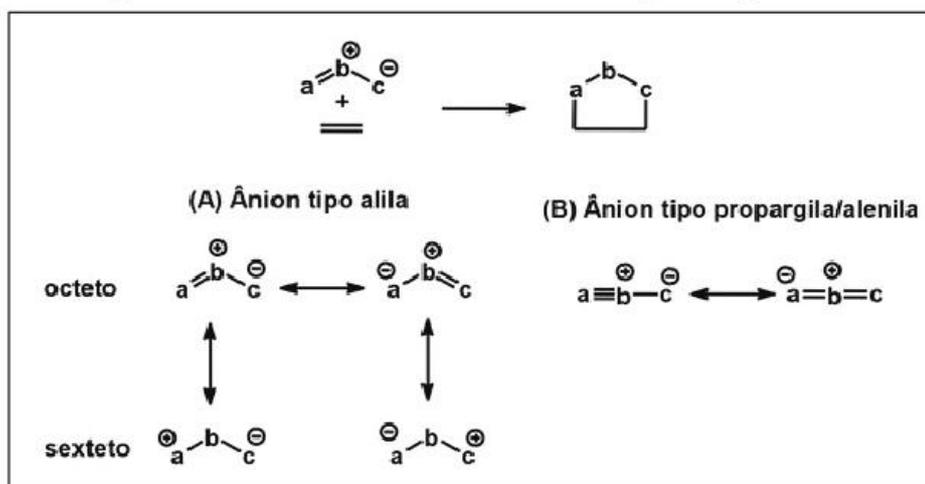
Fonte: elaborado pelo autor

Um dipolo-1,3 pode ser definido como uma estrutura do tipo a-b-c (Figura 7) capaz de participar de reações do tipo 1,3-dipolar apresentando um dipolo definido. Os dipolos-1,3 podem ser divididos em dois tipos: o ânion tipo alila e o ânion tipo propargila/alenila (GOTHELF & JORGENSEN, 1998). O ânion tipo alila é caracterizado por quatro elétrons em três orbitais p_z paralelos e perpendiculares ao plano molecular. Esses ânions podem ser representados por estruturas de ressonância, nas quais os três átomos têm um octeto eletrônico, e duas

estruturas nas quais **a** ou **c** tem um sexteto eletrônico.

O átomo central **b** pode ser nitrogênio, oxigênio ou enxofre (Figura 7 A). O ânion tipo propargila/alenila tem um orbital π extra, em relação ao ânion alila, no plano ortogonal ao orbital molecular do ânion, que não é diretamente envolvido nas estruturas de ressonância e reações do dipolo. Tal ânion é linear e o átomo central **b** é limitado ao nitrogênio (Figura 7 B). Os dipolos-1,3 consistem, principalmente, de elementos dos grupos IV, V e VI do segundo período da tabela periódica, e considerando a

Figura 7 - Estruturas de ressonância de dipolos-1,3

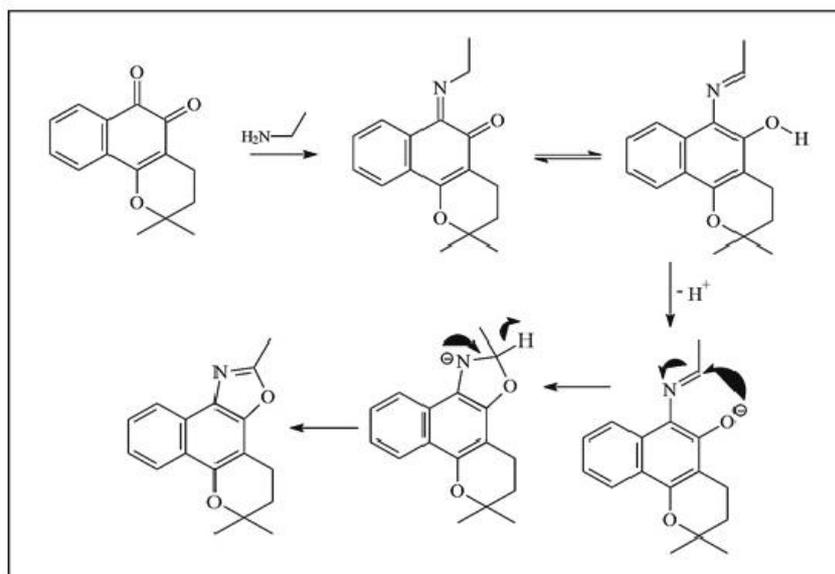


Fonte: (GOTHELF & JORGENSEN, 1998)

natureza do átomo central do dipolo, um número limitado de estruturas pode ser formado pelas trocas entre nitrogênio, carbono e oxigênio. Considerando a molécula heterocíclica proposta, o mecanismo de cicloadição se passa com a nitrila IV como dipolarófilo e a azida (NaN_3) como dipolo-1,3, sendo um ânion tipo propargila.

Os heterociclos oxazólicos derivados das naftoquinonas por sua vez, podem ser obtidos pelo refluxo da β -lapachona na alquilamina desejada por um período de 4 a 8 horas, passando pela hidrazona intermediária (CHAVES, 1990), segundo mecanismo apresentado na figura 8.

Figura 8 - Mecanismo proposto para geração do oxazol



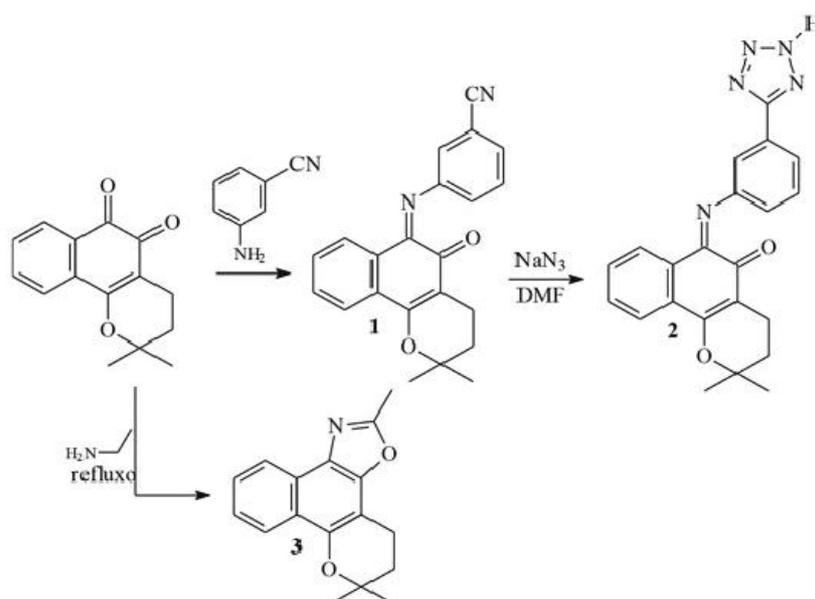
Fonte: elaborado pelo autor

OBJETIVO

Geral: Isolamento do Lapachol a partir do material vegetal original e conversão deste em β -Lapachona, submetendo a mesma a reações regioseletivas para obtenção de heterociclos.

Específicos: Desenvolver a sequência reacional da figura 9.

Figura 9 - Rota de síntese proposta



Fonte: elaborado pelo autor

A rota proposta compreende a conversão da β -Lapachona na hidrazonoil-nitrila **1** por reação desta com meta-cianofenilamina e por cicloadição 1,3-dipolar com azida de sódio, transformar esta nitrila no heterociclo tetrazólico **2**. Numa reação independente da β -Lapachona com etilamina sob refluxo, será obtido o oxazol **3**.

Caracterizar por CCD e espectrometria no infravermelho os intermediários e o produto obtidos

Desenvolver no corpo discente envolvidas técnicas laboratoriais relacionadas às reações para obtenção dos heterociclos propostos

A partir dos resultados preliminares expandir a obtenção de hidrazonas por reação com a aminoacetonitrila

METODOLOGIA

Métodos gerais

Para cromatografia em coluna de sílica (CCS) utilizaram-se sílica-gel 60 0,063- 0,200mm (70-230 mesh ASTM) MERCK e sílica-gel 0,040-0,063 mm (230-400 mesh ASTM) MERCK. Para cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se sílica-gel 60 G MERCK em lâminas de vidro e iodo sublimado como revelador. Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrômetro PERKIN-ELMER Spectrum One no laboratório de pesquisa do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde do Centro Universitário Newton Paiva. Todos os solventes e reagentes tratados foram obtidos a partir dos similares comerciais, sendo que nos procedimentos de purificação por cristalização e recristalização foram utilizados solventes VETEC e SYNTH.

Isolamento e Síntese

ISOLAMENTO DO LAPACHOL

Em um béquer de 1000 mL foram adicionados 100 g de madeira de ipê pulverizada. Foram adicionados 500 mL de solução aquosa a 5% de Na_2CO_3 mantendo o material após agitação mecânica sob repouso por 10 minutos. A solução extrativa foi filtrada, recolhida em béquer repetindo-se o processo por mais uma vez. As soluções extrativas foram reunidas em béquer de 2000 mL, adicionando-se lentamente ácido clorídrico concentrado, sob agitação que a mesma atingisse o valor de pH igual a 1. Após 72 horas de repouso o sólido foi filtrado a vácuo. O sólido foi recristalizado em etanol anidro. Após recristalização o sólido foi caracterizado por CCD comparativo com o lapachol padrão utilizando-se como eluente a mistura diclorometano:hexano (8:2).

SÍNTESE DAS α E β -LAPACHONAS

Foram adicionados a um balão de fundo redondo 500 mg de lapachol e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado sob agitação e resfriamento em banho de gelo. A agitação foi mantida por 10 minutos. Adicionaram-se lentamente sob agitação e resfriamento em banho de gelo 15 mL água destilada ao balão. Após resfriamento da mistura, a mesma foi adicionada a um funil de separação e submetida a extração com 50 mL de diclorometano por três vezes. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com 50 mL de água destilada por duas vezes. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e concentrada em evaporador rotatório. O bruto de reação foi submetido a cromatografia em camada delgada preparativa e CCS utilizando-se a mistura diclorometano/hexano 8:2 como eluente para separação dos isômeros α e β -lapachonas.

SÍNTESE DO DERIVADO OXAZÓLICO **3**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 25 mL de etilamina e 100 mg da beta-lapachona. A mistura foi mantida à agitação magnética e refluxo por 48 horas. A reação foi acompanhada por CCD utilizando-se a mistura diclorometano / hexano 8:2 como eluente. Após resfriamento foram adicionados 25 mL de água destilada a mistura foi feita extração com 20 mL de diclorometano por três vezes. Após separada a fase orgânica foi lavada por duas vezes com 30 mL de ácido clorídrico 0,1 mol/L. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e concentrada em evaporador rotatório. O produto bruto foi purificado por CCS utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila 7:3.

SÍNTESE DA HIDRAZONOIL-NITRILA **1**

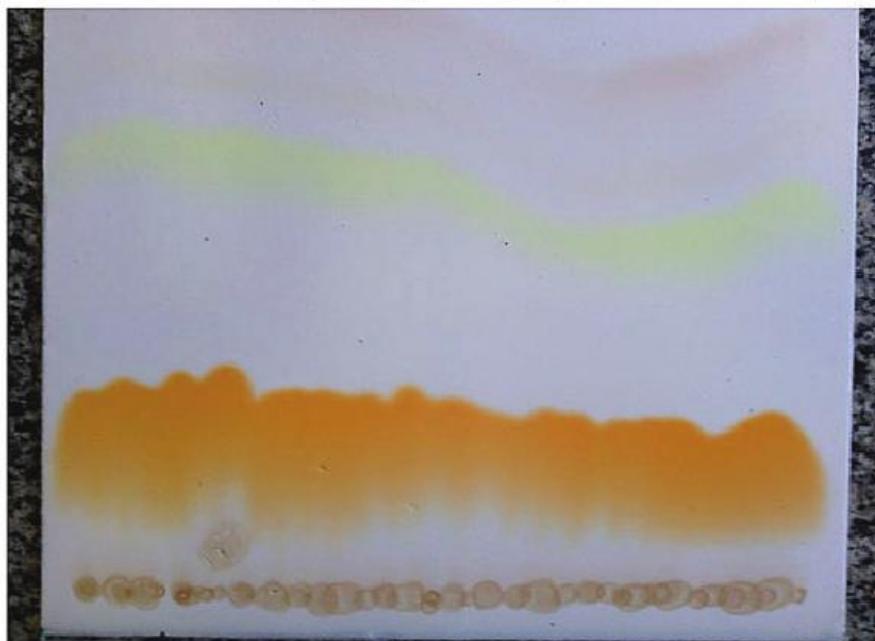
Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 30 mL de N,N-dimetilformamida, 80 mg da beta-lapachona e 15 mL de meta-cianofenilamina. A mistura foi mantida à agitação magnética e refluxo por 48 horas. A reação foi acompanhada por CCD utilizando-se a mistura diclorometano / hexano 8:2 como eluente. Após resfriamento foram adicionados 25 mL de água destilada a mistura foi feita extração com 20 mL de diclorometano por três vezes. Após separada a fase orgânica foi lavada por duas vezes com 30 mL de ácido clorídrico 0,1 mol/L. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e concentrada em evaporador rotatório. O produto final foi purificado por CCS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O lapachol foi obtido de maneira satisfatória a partir da massa seca de origem vegetal, sendo obtidos 1,2 gramas recristalizados em etanol. A caracterização foi feita por CCD comparativo com o lapachol padrão obtendo-se o mesmo valor de fator de reten-

ção (Rf). A ciclização em meio ácido para obtenção das alfa e beta-lapachonas (Figura 2) foi realizada com sucesso, sendo os produtos isolados por cromatografia em camada delgada preparativa conforme figura 10. A alfa-lapachona (mancha amarela) apresentou maior Rf e a beta-lapachona (mancha laranja) apresentou menor Rf.

Figura 10 - Placa de CCD preparativa para separação das alfa e beta-lapachonas



Fonte: elaborado pelo autor

Após isolamento as alfa e beta-lapachonas foram caracterizadas por espectrometria no infravermelho, sendo os dados apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Dados de caracterização das alfa e beta-lapachonas no infravermelho

cm^{-1} (α -lapachona)	atribuição	cm^{-1} (β -lapachona)
3076	Estiramento C-H aromático	3072
2976	Estiramento C-H alifático	2975
1576	Estiramento C = C	1567
1682	Estiramento C = O	1694
1635	Estiramento C = O	1682
1454	Deformação CH_3 simétrica	1455
1117	Estiramento C - O	1116

Fonte: Elaborado pelo autor

A distinção dos produtos de reação se faz principalmente pelos diferentes números de onda referentes aos carbonos carbonílicos; 1682 e 1635 cm^{-1} para a alfa-lapachona e 1964 e 1682 cm^{-1} para a beta-lapachona. Foram obtidos 310 mg com um rendimento de 62% na reação de ciclização.

A tentativa de reação para a obtenção do derivado oxazólico 3 (figura 9) aconteceu com consumo total da beta-lapachona como material de partida, fornecendo o produto desejado com rendimento de 36%, correspondente a 36 mg. O produto foi caracterizado por espectrometria no infravermelho no infravermelho conforme tabela 2.

Tabela 2 - Dados de caracterização do derivado oxazólico 3 no infravermelho

cm^{-1}	Atribuição
3054	Estiramento C-H aromático
2981	Estiramento C-H alifático
1593	Estiramento C=C
1120	Estiramento C-O
1435	Deformação CH_3
2230	Estiramento C=N

Fonte: Elaborado pelo autor

A caracterização por espectrometria no infravermelho confirmou o consumo do material de partida, uma vez que os sinais referentes aos estiramentos carbonílicos desapareceram no produto analisado. A não existência reforça a reação de ciclização e formação do derivado oxazólico 3 como esperado, confirmado pelo estiramento $\text{C}=\text{N}$ em 2230 cm^{-1} que caracteriza o produto.

As tentativas de reação para obtenção do derivado hidrazonoil-nitrila 1 (figura 9) a partir da beta-lapachona, se mostrou bastante infrutífera. Apesar do consumo do material de partida, os produtos de reação observados por CCD, se apresentaram com valores de R_f muito próximos, característicos de produtos de degradação. Mesmo após isolados do bruto de reação por CCS, nenhum dos produtos caracterizados por espectrometria no infravermelho apresentou concomitantemente sinais referentes aos estiramentos $\text{C}=\text{O}$ (1700 cm^{-1}), $\text{C}=\text{N}$ (2200 cm^{-1}) e $\text{C}-\text{N}$ (2100 cm^{-1}) no mesmo espectro, o que reforça a degradação do material de partida sem geração do produto de adição nucleofílica. Este resultado pode ser explicado pela menor reatividade das aminas aromáticas em reações de adição para obtenção de hidrazonas, associado ao efeito retirador de elétrons da nitrila em posição meta da meta-cainofenilamina utilizada como reagente. A não obtenção da hidrazonoil-nitrila 1 impossibilitou a tentativa de obtenção do derivado tetrazólico 2 (figura 9) por falta de material de partida.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Das metodologias propostas, a obtenção do heterociclo oxazólico a partir da beta-lapachona foi executada

de maneira satisfatória, assim como o isolamento do lapachol a partir do material de origem vegetal. Apesar de não ter alcançado o objetivo desejado, a metodologia de reação de adição nucleofílica a beta-lapachona seguida de cicloadição 1,3-dipolar, para obtenção de heterociclos tetrazólicos, se mantém como técnica promissora. Para tanto, podem ser utilizadas cianoaminas alifáticas mais reativas, que serão reagentes potenciais para formação das hidrazonoil-nitrilas como intermediários chave para a obtenção de derivados tetrazólicos.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E.L., ALENCAR, J.R.B., ROLIM NETO, P.J. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica, *Ver. Bras. Farmacog.*, v.12, supl., 57-59, 2002.
- CHAVES, J.P., PINTO, M.C.F.R., PINTO, A.V. Heterocyclics from quinones. I - The Reaction of Lapachol with Primary Alkyl Amines, *J. Braz. Chem. Soc.*, v.1, n.1, 22-27, 1990.
- CLAYDEN, J., GREEVES, N., WARREN, S., WOTHERS, P. *Organic Chemistry*. Oxford: Oxford University Press, 2001, 1512p.
- CORREIA, C.R.D., COSTA, P.R.R., FERREIRA, V.F. Vinte e Cinco anos de Reações, Estratégias e Metodologias em Química Orgânica, *Quim. Nova*, v.25, Supl.1, 74-81, 2002.
- FERREIRA, S.B., GONZAGA, D.T.G., SANTOS, W.C., ARAÚJO, K.G.L., FERREIRA, V.F. β -Lapachona: Sua Importância em química medicinal e modificações estruturais, *Rev. Virtual Quím.* v.2, n.2, 140-160, 2010.
- FERREIRA, V.F., DE SOUZA, M.C.B.V., DA SILVA, M.N., PINTO, A.V. *Pedido de Privilégio de Patente*, INPI-PI 0200273-6, depósito em 31/01/2002.
- GOTHELF, K.V., JORGENSEN, K.A. Asymmetric 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions. *Chem. Rev.*, v.98, p.863-909, 1998.
- KLIER, A.H., ALVES, R.J., PRADO, M.A.F., SOUZA FILHO, J.D., D'ACCORSO, N.B. Synthesis of New Five Membered nitrogen Containing Heterocycles Bearing D-galactose Side Chains. *Synth. Comm.*, v.30, n.23, p.4363-4374, 2000.

RIBEIRO, C.M.R., SOUZA, P.P., FERREIRA, L.L.D.M., PINTO, L.A., ALMEIDA, L.S., JESUS, J.G., Ciclização do Lapachol induzida por sais de Tálío III, *Quim. Nova*, v.31. n.4, 759-762, 2008.

SILVA, M.N., FERREIRA, V.F., SOUZA, M.C.B.V. Um Panorama Atual da Química e da Farmacologia de Naftoquinonas com ênfase na β -Lapachona e derivados, *Quim. Nova*, v.26. n.3, 407-416, 2003.

VIEGAS Jr., C., BOLZANI, V.S., BARREIRO, E.J. Os produtos Naturais e a química Medicinal Moderna, *Quim. Nova*, v.29. n.2, 326-337, 2006.

NOTAS

¹ Discente do curso de Farmácia, alunos bolsistas do XIII Programa de Iniciação Científica do Centro Universitário Newton Paiva.

² Professor Pesquisador e Coordenador do projeto, Docente do Centro Universitário Newton Paiva. Contato: anderson.klier@newtonpaiva.br