

Semissíntese de compostos derivados da própolis verde com aplicações em distúrbios neurocomportamentais

Autores: Gabriel Soubihe De Sicco¹, Vanessa Leiria Campo²

Colaboradores: Débora Munhoz Rodrigues³

^{1,2}Centro Universitário Barão de Mauá

³Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP

¹soubihgab@gmail.com (Medicina) ²vanessa.campo@baraodemaua.br

Resumo

Diversos usos e aplicações farmacológicas da própolis verde já tiveram eficácia comprovadas, incluindo suas atividades antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana. Sob essa perspectiva, o presente trabalho propôs a semissíntese de derivados do ácido cinâmico e *p*-cumárico - compostos isolados da própolis verde - visando sua posterior avaliação em distúrbios neurocomportamentais.

Introdução

O termo própolis é utilizado para substâncias resinosas oriundas da coleta de fontes vegetais - como flores, brotos e cascas de árvores - pelas abelhas, seguidas do processamento desse material no interior da colmeia, onde é acrescentado cera, pólen e secreções salivares. Em território brasileiro, já foram descritos 13 tipos de própolis, de acordo com os diferentes perfis de composição química e atividades biológicas (CASTRO *et al*, 2007; FERREIRA, 2014, p.4), sendo a própolis verde classificada como grupo 12 (SP12).

A composição química da própolis é muito complexa e varia de acordo com fatores de localização geográfica, clima e a sazonalidade do local onde é produzido, além do tipo de espécie vegetal que está sendo utilizada na sua produção. Assim, a própolis é uma fonte natural de substâncias bioativas e, por essa razão, apresenta diversas propriedades farmacológicas e terapêuticas já comprovadas, incluindo suas atividades antioxidante, cicatrizante, antiinflamatória e antimicrobiana.

A própolis verde é oriunda da espécie vegetal *Baccharis dracunculifolia* (alecrim

do campo) e é produzida no Sudeste brasileiro, sendo o estado de Minas Gerais o seu maior produtor. Os principais componentes químicos não voláteis encontrados na própolis verde pertencem à classe dos polifenóis, como os ácidos fenólicos e os flavonoides. Os ácidos fenólicos - incluindo os derivados do ácido cinâmico e benzóico - são muito comuns na espécie vegetal, assim como na própolis verde. Os ácidos cafeico, ferúlico e *p*-cumárico também estão presentes na própolis e na *B. dracunculifolia*, assim como os derivados prenilados, tais como o artepillin C, bacarina e drupanina (PIRES, 2019). O Artepillin C é considerado um marcador químico da própolis verde e, portanto, somente pode ser encontrado nessa variedade do produto natural e na sua fonte botânica *B. dracunculifolia* (SALATINO *et al.*, 2005).

As desordens neurocomportamentais são classificadas como distúrbios comportamentais, cognitivos e emocionais associados a disfunções no sistema nervoso central e a processos de degeneração neural. Entre essas desordens, as doenças afetivas, como a depressão e a ansiedade, têm um papel relevante na saúde pública mundial, pois afetam, em ritmo crescente, milhares de pessoas em todo o mundo, gerando efeitos devastadores para a sociedade. Sabe-se que tais transtornos têm acometido uma parcela da população cada vez maior, principalmente após a ocorrência da pandemia da COVID-19, com a inerente alteração comportamental associada ao medo e imprevisibilidade do futuro. Com isso, as entidades psiquiátricas vêm alertando para uma “epidemia de transtornos mentais”, caracterizadas por sofrimento, redução da qualidade de vida, prejuízos econômicos em nível global e aumento dos casos de suicídio (MARTINHAGO, 2018).

Um agravante dessa situação é que as práticas médicas atuais têm se mostrado pouco avançadas para o tratamento destas desordens

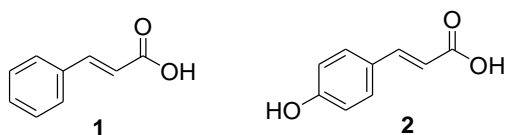
neuroológicas, e os tratamentos farmacológicos existentes estão se mostrando insuficientes e com elevado grau de efeitos colaterais extremamente prejudiciais aos pacientes (OLTHUIS, 2016).

Neste contexto, faz-se necessário a busca e desenvolvimento de terapias alternativas mais efetivas no tratamento das doenças de base neural para a consequente redução do índice de ocorrência das mesmas. Sendo assim, é crucial a prospecção de produtos naturais com este potencial terapêutico, assim como a elucidação dos mecanismos de ação envolvidos na ação dos mesmos. Por essa razão, considerando as inúmeras propriedades já descritas para a própolis verde e a necessidade crescente de novas descobertas para o tratamento de distúrbios neurocomportamentais, o presente estudo realizou a semissíntese de derivados de alguns componentes isolados da própolis verde para avaliação de tal propriedade.

Objetivos

Esse projeto tem como objetivo a semissíntese de derivados do ácido cinâmico **1** e *p*-cumárico **2** (Figura 1), os quais são compostos químicos isolados da própolis verde. A seguir, os derivados obtidos serão submetidos a ensaios para avaliação em modelos experimentais quanto às suas atividades antidepressivas e ansiolíticas.

Figura 1. Estruturas químicas dos compostos ácido cinâmico 1 e ácido *p*-cumárico 2



Fonte: os autores

Materiais e Métodos

Este projeto foi realizado em parceria com a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP-USP), com participação em Projeto Temático FAPESP ligado a

pesquisas com própolis (processo 2017/04138-8).

As reações químicas para obtenção dos compostos semissintéticos do ácido cinâmico **1** e *p*-cumárico **2** foram realizadas no laboratório de síntese orgânica na FCFRP-USP. As análises de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) para comprovação das estruturas obtidas foram realizadas no equipamento Bruker Advance DPX 400 (400 MHz) da FFCLRP-USP. Os ensaios em modelos neurocomportamentais com os derivados triazólicos obtidos serão realizados no biotério do Centro Universitário Barão de Mauá.

Semissíntese de derivados do ácido cinâmico

Síntese de benzilamina- ácido cinâmico 3

Uma solução de ácido cinâmico **1** (90 mg, 0,61 mmol) e benzilamina (133 µl, 1,22 mmol) em DMF foi tratada com os reagentes PyBOP (317 mg, 0,61 mmol), HOBt (82 mg, 0,61 mmol) e a base DIPEA (213 µl, 1,22 mmol) in DMF. A mistura reacional foi agitada por 16 horas, concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica, fase móvel Hex/AcOEt (1:1 v/v), fornecendo o produto **3** como um sólido branco, com rendimento de 55% (80 mg, 0,34 mmol).

Síntese de propargilamina-ácido cinâmico 4

Uma solução de ácido cinâmico **1** (90 mg, 0,61 mmol) e propargilamina (78 µl, 1,22 mmol) em DMF foi tratada com os reagentes PyBOP (317 mg, 0,61 mmol), HOBt (82 mg, 0,61 mmol) e a base DIPEA (213 µl, 1,22 mmol) in DMF. A mistura reacional foi agitada por 16 horas, concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica, fase móvel Hex/AcOEt (1:1 v/v), fornecendo o produto **4** como um sólido branco, com rendimento de 65% (74 mg, 0,40 mmol).

Síntese de L-treonina-ácido cinâmico 5

Uma solução de ácido cinâmico **1** (23 mg, 0,156 mmol) e o aminoácido L-NH₂ThrOBn (65 mg, 0,311 mmol) em DMF foi tratada com os reagentes PyBOP (81 mg, 0,156 mmol), HOBt (21 mg, 0,156 mmol) e a base DIPEA (54 µl, 0,311 mmol). A mistura reacional foi agitada por 16 horas, concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica, fase móvel Hex/AcOEt (1:1 v/v), fornecendo o produto **4** como um sólido branco, com rendimento de 61% (32 mg, 0,094 mmol).

Semissíntese de derivados do ácido *p*-cumárico

Síntese de acetil-ácido *p*-cumárico 6

O composto ácido *p*-cumárico (200 mg, 1,22 mmol) foi acetilado com piridina (5 ml) e anidrido acético (5,5 ml), sendo a solução agitada por aproximadamente 22 horas à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi retroevaporada a pressão reduzida para remoção do solvente e purificada por coluna cromatográfica clássica utilizando o sistema de solventes Acetato de etila (AcOEt)/ Hexano (Hex) 7:3. Feito isso, o produto acetilado **6** foi obtido com 93% de rendimento (233 mg, 1,13 mmol).

Síntese de benzilamina-acetil-*p*-cumárico **7**

Uma solução de acetil-ácido *p*-cumárico **6** (100 mg, 0,49 mmol) e benzilamina (107 µl, 0,98 mmol) em DMF foi tratada com os reagentes PyBOP (255 mg, 0,49 mmol), HOBT (66 mg, 0,49 mmol) e a base DIPEA (171 µl, 0,98 mmol) em DMF. A mistura reacional foi agitada por 16 horas, concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica, fase móvel Hex/AcOEt (1:1 v/v), fornecendo o produto **7** como um sólido branco, com rendimento de 57% (83 mg, 0,28 mmol).

Síntese de propargilamina-acetil-*p*-cumárico **8**

Uma solução de acetil-ácido *p*-cumárico **6** (100 mg, 0,49 mmol) e propargilamina (63 µl, 0,98 mmol) em DMF foi tratada com os reagentes PyBOP (255 mg, 0,49 mmol), HOBT (66 mg, 0,49 mmol) e a base DIPEA (171 µl, 0,98 mmol) em DMF. A mistura reacional foi agitada por 16 horas, concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica, fase móvel Hex/AcOEt (1:1 v/v), fornecendo o produto **4** como um sólido branco, com rendimento de 49% (58 mg, 0,24 mmol).

Síntese de *L*-treonina-acetil-*p*-cumárico **9**

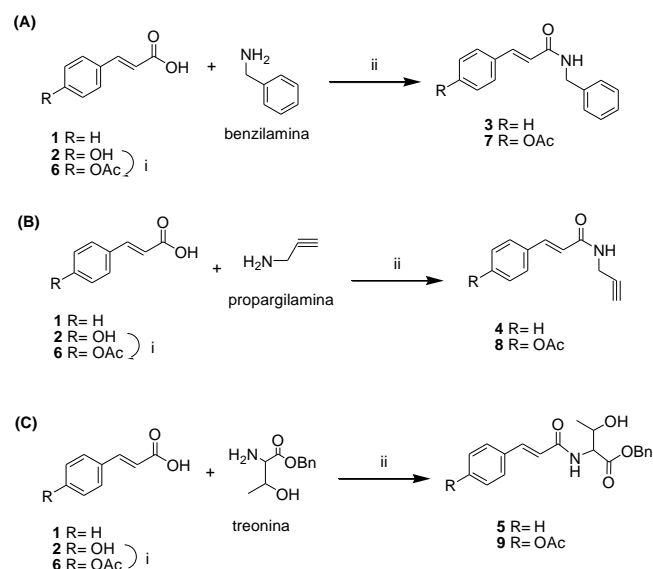
Uma solução de acetil-ácido *p*-cumárico **6** (32 mg, 0,156 mmol) e o aminoácido *L*-NH₂ThrOBn (65 mg, 0,311 mmol) em DMF foi tratada com os reagentes PyBOP (81 mg, 0,156 mmol), HOBT (21 mg, 0,156 mmol) e a base DIPEA (54 µl, 0,311 mmol). A mistura reacional foi agitada por 16 horas, concentrada e purificada por coluna cromatográfica clássica, fase móvel Hex/AcOEt (1:1 v/v), fornecendo o produto **4** como um sólido branco, com rendimento de 59% (37 mg, 0,093 mmol).

Resultados e Discussão

A semissíntese dos derivados do ácido cinâmico **1** e ácido *p*-cumárico **2** foi realizada a partir de reações de acoplamento com os compostos benzilamina, propargilamina e aminoácido *L*-NH₂ThrOBn, utilizando-se os reagentes de acoplamento PyBOP, HOBT e DIPEA (RODRIGUES, 2021), conforme apresentado no esquema 1. Em relação ao ácido *p*-cumárico, inicialmente foi realizada a reação de acetilação deste composto, utilizando-se piridina e anidrido acético, com o objetivo de aumentar a estabilidade da molécula para as reações subsequentes. De forma geral, as reações de acoplamento foram realizadas à temperatura ambiente durante 16 horas, com subsequente purificação dos produtos obtidos por coluna cromatográfica clássica.

Os derivados semissintéticos obtidos a partir de reações de acoplamento com o ácido cinâmico **1** foram os compostos benzilamina-ácido cinâmico **3**, propargilamina-ácido cinâmico **4** e *L*-treonina-ácido cinâmico **5**, com rendimentos de 55%, 65% e 61%, respectivamente.

Esquema 1. Síntese dos derivados de ácido cinâmico **1 e acetil-ácido *p*-cumárico **2** por reações de acoplamento. Condições reacionais: i. Piridina e anidrido acético; ii. PyBOP, HOBT, DIPEA e DMF.**

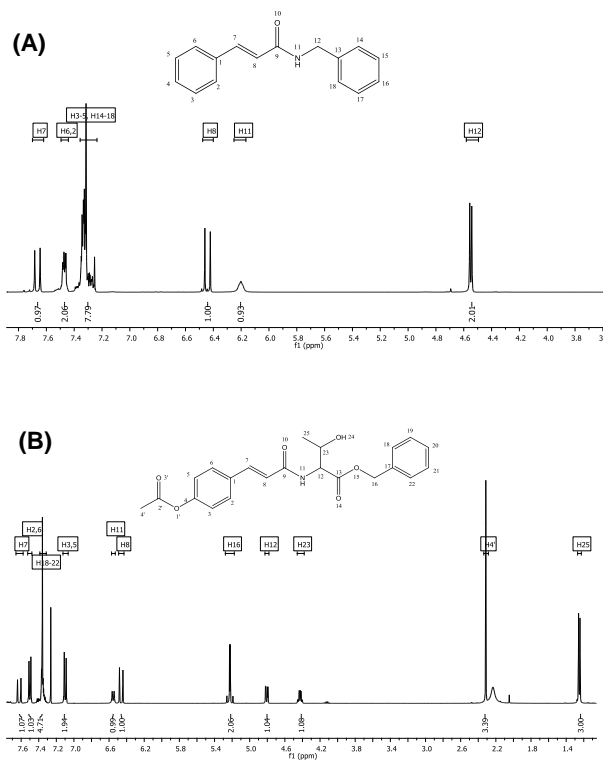


Fonte: Os autores

As estruturas dos compostos obtidos, **3-4** e **7-9**, foram comprovadas pelos espectros de RMN ¹H, conforme exemplificado para os compostos **3** e **9** na Figura 2. Nos espectros são observados sinais característicos referentes aos anéis aromáticos dos ácido cinâmico **1** e ácido *p*-cumárico **2**, bem

como dos compostos benzilamina e aminoácido L-NH₂ThrOBn.

Figura 2. Espectros de RMN ¹H dos compostos benzilamina- ácido cinâmico 3 (A) e L-treonina-acetil-*p*-cumárico 9 (B).



Fonte: Os autores

Conclusão

As semissínteses dos derivados de ácido cinâmico **1** e ácido *p*-cumárico **2**, isolados da própolis verde, foram realizadas de forma satisfatória a partir dos métodos sintéticos utilizados. Os compostos obtidos (**3-4** e **7-9**) serão, mais adiante, submetidos a ensaios em modelos neurocomportamentais para investigação de suas atividades antidepressivas e ansiolíticas. Isso se faz de suma importância devido à limitação existente de tratamentos farmacológicos frente a tais distúrbios neurológicos.

Referências

CASTRO, Myrella Léssio *et al.* Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e

composição fenólica. **Química Nova**, v. 30, n. 7, pág. 1512-1516, ago. 2007.

FERREIRA, Viviane Ulbrich. **Avaliação do efeito antileucêmico de amostras de própolis de 4 municípios do Rio Grande do Sul.** Orientador: Andrés Delgado Cañedo. 2014. 22 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel. Disponível em: <https://dspace.unipampa.edu.br/handle/riui/4361>. Acesso em: 01 mar. 2022.

MARTINHAGO, Fernanda; CAPONI, Sandra. Breve história das classificações em psiquiatria. **Revista Internacional Interdisciplinar INTERthesis**, Florianópolis, v. 16, n. 1, p. 73-90, fev. 2019.

NOGUEIRA, Nickolas Ferreira Nunes *et al.* Doenças Negligenciadas: depressão. **Revista Interdisciplinar Pensamento Científico**, Itaperuna, v. 4, n. 3, dez. 2018.

OLTHUIS, J. V.; WATT, M. C.; BAILEY, K.; HAYDEN, J. A.; STEWART, S. H. Therapist-supported Internet cognitive behavioural therapy for anxiety disorders in adults. **Cochrane Database Syst Rev.**, Canadá, v. 3, CD011565, mar. 2016.

PIRES, Lucas de Oliveira. **Isolamento, caracterização e avaliação da atividade antiparasitária (*Trypanosoma cruzi*) de derivados prenilados da própolis verde.** Orientadora: Dra. Rosane Nora Castro. 2019. 124 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/handle/jspui/5118#preview-link0>. Acesso em: 11 mar. 2022.

RODRIGUES, Débora Munhoz *et al.* Synthesis, antitumor activity and in silico analyses of amino acid derivatives of artemisinic acid, drupanin and baccharin from green propolis. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 47, p. 116372, out. 2021.

SALATINO, Antonio *et al.* Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2, n. 1, p. 33-38, jan. 2005.