

SÍNTESE DE MOLÉCULAS BIOATIVAS: ANÁLOGOS DE CAPSAICINA



01618870009913 - CCT
Síntese de moléculas bioativas
541.39 G635s MON



UNIVERSIDADE ESTADUAL NORTE
FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - BIBLIOTECA CCT

REGISTRO 9913 DATA 22/11/2007

PAULA DOS SANTOS GONÇALVES

541.39
G635M
MON

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES

AGOSTO 2006

SÍNTESE DE MOLÉCULAS BIOATIVAS: ANÁLOGOS DE CAPSAICINA

PAULA DOS SANTOS GONÇALVES

Monografia apresentada ao Laboratório de Ciências Químicas do Centro de Ciências e Tecnologias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro para a obtenção do Grau de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Edmilson José Maria



CAMPOS DOS GOYTACAZES

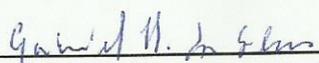
AGOSTO 2006

SÍNTESE DE MOLÉCULAS BIOATIVAS: ANÁLOGOS DE CAPSAICINA

PAULA DOS SANTOS GONÇALVES

Monografia apresentada ao Laboratório de Ciências Químicas do Centro de Ciências e Tecnologias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro para a obtenção do Grau de Licenciado em Química.

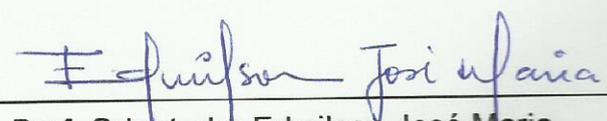
Comissão Examinadora:



Prof. Gabriel Henrique da Silva



Prof. José Glauco Tostes



Prof. Orientador Edmilson José Maria

Agradecimentos

Agradeço inicialmente a Deus por me dar força para superar todos os obstáculos em minha vida e por tudo que ele tem me proporcionado.

Aos meus pais, minhas irmãs, minha avó e ao meu namorado, pelo apoio e incentivo.

Aos colegas do laboratório pelos conselhos, cooperação e compreensão.

Em especial ao professor Carlos Roberto Ribeiro Matos e todos aqueles que de alguma forma colaboraram com a minha formação.

E principalmente ao professor Edmilson José Maria, pela sua paciência, disposição e competência em orientar.

SUMÁRIO

<i>Agradecimentos</i>	<i>iii</i>
SUMÁRIO	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE SIGLAS	vii
<i>Resumo</i>	<i>viii</i>
1- INTRODUÇÃO	9
2- ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE AS PIMENTAS	11
2.1- Aspectos Nutricionais _____	13
2.2- Aroma, Cor e Sabor _____	13
2.3- Gosto e Sabor _____	13
2.3.1- Refrescando o Calor.....	15
2.4- Escala de Scoville _____	16
2.5- Tabela simplificada de ardência das pimentas _____	16
2.6- Química das pimentas _____	19
2.7- Estrutura química da Capsaicina _____	19
2.8- Toxicidade dos capsaicinóides _____	20
2.9- Oleoresinas de Capsicum _____	20
2.10- Determinação da Pungência _____	21
2.11- Anatomia da flor fruto de capsicum _____	22
2.11.1- Anatomia da pimenta	22
2.11.2- Anatomia das flores.....	23
2.12- Taxonomia _____	23
2.12.1- Capsicum annum.....	24
2.12.2- Capsicum baccatum.....	24
2.12.3- Capsicum pubescens.....	25
2.12.4- Capsicum chinense.....	25
2.12.5- Capsicum frutescens.....	26
3 -OBJETIVO	26
4- METODOLOGIA	26

5- DISCUSSÃO E RESULTADOS	28
6- MATERIAIS E MÉTODOS	34
7- PARTE EXPERIMENTAL	35
7.1- Aminoação redutiva da vanilina: _____	35
7.2- Oxidação da ciclohexanona: _____	35
7.3- Abertura da Lactona: _____	35
7.4- Halogenação do éster alifático: _____	36
7.5- Acoplamento para formação da olefina trans e Hidrólise ácida: _____	36
7.6- Síntese da Capsaicina: _____	36
7.7 – Reação de acoplamento da Bixina com a parte aromática: _____	37
8- CONCLUSÃO	37
9- BIBLIOGRAFIA	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Capsaicina	9
Figura 2 - Dihidrocapsaicina.....	9
Figura 3 - Nordihidrocapsaicina.....	10
Figura 4 - Homodihidrocapsaicina.....	10
Figura 5 - Homocapsaicina.....	10
Figura 6 - Escala de Scoville ¹⁰	16
Figura 7 - Estrutura química 3D da Capsaicina.....	19
Figura 8 - O Fruto ⁶	22
Figura 9 - Flor de Capsicum ⁹	23
Figura 10 - Capsicum annum ²	24
Figura 11 - Capsicum baccatum ²	24
Figura 12 - Capsicum pubescens ²	25
Figura 13 - Capsicum chinense ²	25
Figura 14 - Capsicum frutescens ²	26
Figura 15 - Aminoação reductiva.....	27
Figura 16 - Síntese da parte alifática.....	27
Figura 17 - Síntese da capsaicina	28
Figura 18 - Reação de acoplamento	28
Figura 19 - Espectro de RMN ¹ H do derivado aminado da vanilina	29
Figura 20 - Oxidação da cicloexanona	30
Figura 21 - Espectro de RMN ¹ H da Lactona	30
Figura 22 - Abertura da Lactona.....	31
Figura 23 - Espectro de RMN ¹ H do éster alifático.....	31
Figura 24 - Halogenação.....	31
Figura 25 - Reação de acoplamento 2	32
Figura 26 - Espectro de RMN ¹ H da Capsaicina	32
Figura 27 - Síntese de análogos da capsaicina.....	33
Figura 28 - Espectro de RMN ¹ H do análogo resultante.....	34

LISTA DE SIGLAS

- b: banda
bl: banda larga
CCDS: cromatografia em camada delgada de sílica
C: Capsaicina
d: duplete
DCC: dicicloexilcarbodiamida
DHC: Dihidrocapsaicina
DMF: N'N'-dimetilformamida
dt: duplete triplo
HDHC: Homodihidrocapsaicina
HC: Homocapsaicina
HPLC: (High Performance Liquid Chromatography)
m: multiplete
NDHC: Nordihidrocapsaicina
PBr₃: tribrometo de fósforo
q: quarteto
s: singleto
RMN¹H: ressonância magnética nuclear de hidrogênio
t: tripleto
THF: tetraidrofurano
VNA: vanilamida de ácido n-nonanóico

Resumo

A presente monografia trata de uma nova rota de síntese da capsaicina, um produto natural encontrado nas pimentas. Estes componentes químicos, denominados capsaicinóides dão a ardência característica às pimentas.

A capsaicina tem grande utilização fitoterápica e cosmética, principalmente em cremes contra coceira e ardência, bem como nas preparações cosméticas em shampoos estimulantes de crescimento capilar.

A homologação e elaboração da cadeia alifática apresentam um grande desafio para os químicos, na busca de análogos de cadeia lateral lipofílica, com vista a elucidar seu mecanismo de ação e a sua correlação estrutura/atividade.



Figura 1 - Capsaicina



Figura 2 - Dihidrocapsaicina

1- INTRODUÇÃO

As pimentas pertencem ao gênero *Capsicum*, da família *Solanaceae*, a mesma da batata, tabaco, petúnia entre outras. Ao longo dos anos as plantas foram sendo domesticadas e sua cor, sabor, tamanho e forma se modificando pela seleção humana. Sua ardência, única no reino vegetal, resulta da presença de um grupo de alcalóides específicos¹¹.

O princípio ativo que causa o "calor" das pimentas é um alcalóide cristalino denominado de CAPSAICINA. Ele é produzido por glândulas localizadas na junção da placenta e a parede do fruto. Esta substância se espalha por todo o interior do fruto, mas é mais concentrado no tecido placentário¹².

A palavra capsaicina descreve atualmente um complexo de componentes relacionados chamados capsaicinóides. Estes são componentes químicos que dão às pimentas sua ardência característica. Foram identificados e isolados cinco componentes naturais da família e um primo sintético, o qual é usado como medida de referência para determinar a pungência relativa das outras. Suas concentrações são: Capsaicina (C) 69%, Dihidrocapsaicina (DHC) 22%; Nordihidrocapsaicina (NDHC) 7%; Homocapsaicina (HC) 1% e Homodihidrocapsaicina (HDHC) 1%, naturais e a vanilamida de ácido n-nonanóico (VNA) sintético¹³.

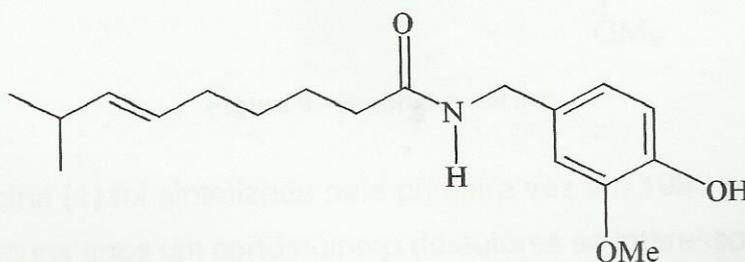


Figura 1 - Capsaicina

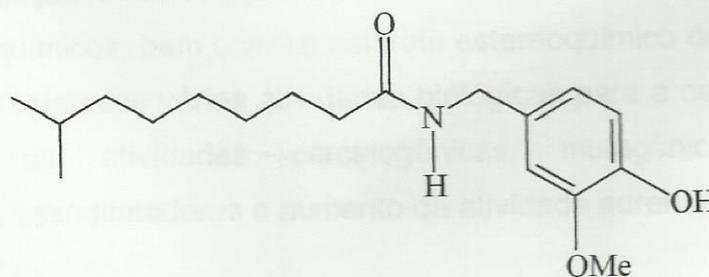


Figura 2 - Dihidrocapsaicina

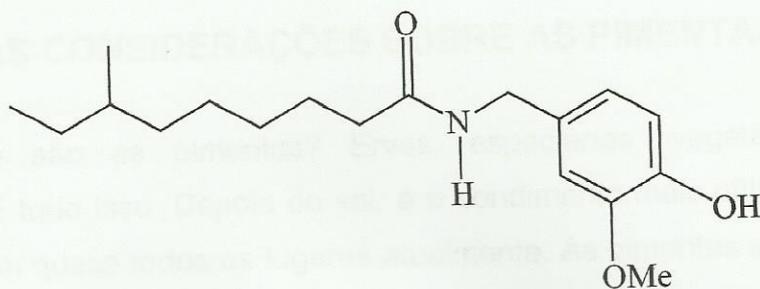


Figura 3 - Nordihidrocapsaicina

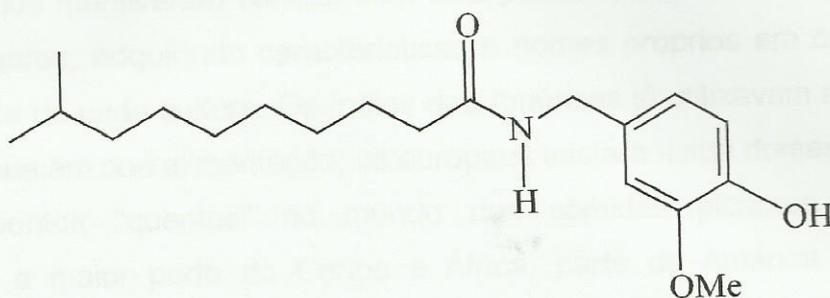


Figura 4 - Homodihidrocapsaicina

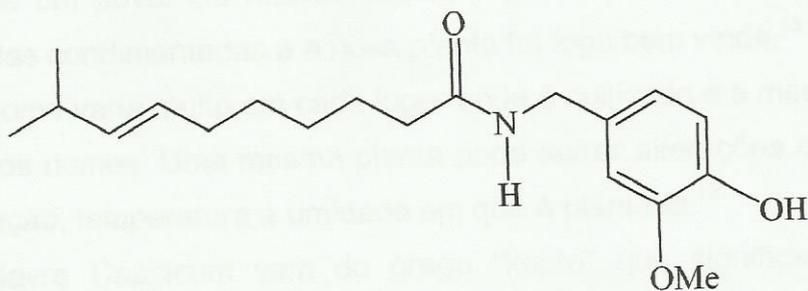


Figura 5 - Homocapsaicina

A capsaicina (1) foi sintetizada pela primeira vez em 1930 por E. Spatti e F. S. Darlind. Após alguns anos um certo número de autores se interessou pela síntese da capsaicina e seus análogos.

A homologação e elaboração da cadeia alifática apresentaram um grande desafio para os químicos, bem como o controle estereoquímico da olefina E (trans). Na literatura são relatadas várias atividades biológicas para a capsaicina incluindo dentre essas as atividades carcinogênicas, mutagênicas, analgésicas, antiinflamatórias, vasodilatadoras e aumento da atividade adrenal.⁵

2- ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE AS PIMENTAS

O que são as pimentas? Ervas, especiarias, vegetais, condimentos, decoração? É tudo isso. Depois do sal, é o condimento mais utilizado no mundo e encontrado em quase todos os lugares atualmente. As pimentas são originárias das Américas e foi no tempo do Descobrimento que elas foram introduzidas no resto do mundo: Europa, Ásia e África. Os espanhóis e portugueses foram os primeiros, fora os nativos, que mantiveram contato com esta planta e daí em diante levaram para todos os lugares, adquirindo características e nomes próprios em cada um deles, fazendo parte de cada cultura. Os índios das Américas já utilizavam as pimentas de forma contínua em sua alimentação, os europeus iniciaram sua domesticação.¹²

Os pontos "quentes" no mundo das comidas picantes são: México, Guatemala, a maior parte do Caribe e África, parte da América do Sul, Índia, Indonésia, Malásia, Coréia, Tailândia, sudoeste da China, os Balcãs e América do Norte. A culinária é uma das mais características e menos complicadas expressões da cultura de um povo. Os nativos destas regiões quentes eram acostumados a comer comidas condimentadas e a nova planta foi logo bem vinda.¹³

Seu nome varia muito em cada lugar onde é cultivada e a mesma planta pode receber vários nomes. Uma mesma planta pode sofrer alterações de acordo com o local, ensolação, temperatura e umidade em que é plantada.¹²

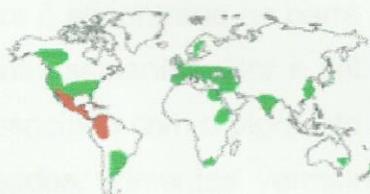
A palavra *Capsicum* vem do grego "kpto" que significa "morder" (uma referência à sua ardência ou calor). Para confundir ainda mais o assunto, a pimenta pode ser chamada de doce ou quente. Do dialeto Nahuatl do idioma Asteca, surgiu o nome Chiltepin. Este era o nome dado a uma das variedades conhecidas de pimentas mais antigas. Acredita-se que o nome é uma união das palavras chile e tecpintl e sua combinação traduz-se: "Chile Pulga" que é atribuída ao gosto picante da pimenta chile. Através dos tempos o nome foi sofrendo alterações do nome original: chile + tecpintl para chiltecping, para chiltepin, para chilepiquin. Os últimos dois nomes são razoavelmente conhecidos. O nome botânico moderno usado pelos taxonomistas para esta variedade é *Capsicum annuum* var. *aviculare*.

Hoje em dia, a versão "chili" identifica um tipo de prato, que é uma combinação de carne e pimentas ardentes. Em algumas receitas, serão somados também feijões.

Pimenta de "sino" (Bell) ou pimenta doce, geralmente refere-se às pimentas não picantes ou pouco picantes, de aspecto maciço (pimentão), enquanto a pimenta chile significa as variedades de pimentas ardentes ou quentes, que nós adoradores de pimentas tanto apreciamos.¹³

As pimentas parecem ter surgido a 7.000 anos AC na região do México Central. O primeiro europeu a descobrir foi Cristóvão Colombo em uma das suas viagens históricas para a América em 1493. Ele estava procurando uma fonte alternativa de pimenta preta, que na ocasião era o condimento favorito na Europa. O que ele "descobriu" era um fruto vermelho pequeno, muito usado pelos nativos americanos a séculos - a pimenta vermelha. Colombo os chamou "pimiento", palavra espanhola para pimenta preta. Capsicum não está relacionado ao gênero Piper, que contém Piper nigrum L., a fonte de pimenta preta e pimenta branca. Após um século, as pimentas vermelhas tinham se espalhado por todos os continentes.

Região de origem: ■ Região de cultivo: ■



A pimenta vermelha é nativa do Hemisfério Ocidental e provavelmente evoluiu de uma forma ancestral na região da Bolívia e Peru. As primeiras pimentas consumidas foram coletadas provavelmente de plantas selvagens. Aparentemente os índios já cultivavam pimentas entre 5200 e 3400 a.C., o qual colocam as pimentas entre as plantas cultivadas mais antigas das Américas. Os americanos pré-históricos já partiram da pimenta selvagem Piquin e promoveram a seleção, obtendo os vários tipos hoje conhecidos.

Não é exatamente conhecida a época em que foram introduzidas as pimentas no Novo México. Elas podem ter sido usadas pelos nativos indígenas como um medicamento, uma prática comum entre os Maias. Até que o espanhol chegasse no México, os agricultores Astecas já tinham desenvolvido dúzias de variedades. Indubitavelmente, estas pimentas foram às precursoras do grande número de

variedades achadas hoje no México. Se foram comercializadas pimentas nos pueblos de Novo México ainda não está claro. Porém, as pimentas são cultivadas no Novo México durante pelo menos quatro séculos.¹⁰

2.1- Aspectos Nutricionais

Pimentas não são apenas de bom paladar, mas também nutritivas. Elas contêm mais vitamina A que qualquer outra planta e são excelentes fontes de vitamina C e B. Elas possuem também quantidade significativa de magnésio, ferro e aminoácidos. As pimentas aumentam a taxa metabólica do organismo e este efeito térmico faz com que aproximadamente seis gramas de pimenta queimem cerca de 45 calorias. Mas as pessoas não comem pimenta pelas vitaminas ou minerais, mas pela sua ardência e todas, inclusive as ornamentais, são comestíveis.¹¹

2.2- Aroma, Cor e Sabor

O componente do sabor é encontrado na parte mais externa da planta, muito pouco internamente e nada nas sementes. Cor e sabor caminham lado a lado e o "condimento" parece estar associado com o pigmento carotenóide. Cores e sabores fortes estão intimamente ligados. Pimentas vermelhas vivas são superiores em sabor que as verdes. A variedade *Habanero* é uma das mais aromáticas e seu sabor inigualável. É considerada a mais forte que existe. Sabor e cheiro são percepções distintas que adicionam agradável sensação quando comemos.

A cor é um elemento importante na composição de um prato. Poucas comidas são mais estimulantes que um prato com pimentas vermelhas, amarelas, verdes, marrom, laranja e púrpura. Toda pimenta muda de cor de acordo com sua maturação, indo do verde para outro matiz, principalmente o vermelho.¹¹

2.3- Gosto e Sabor

A sensação de calor criada pela capsaicina em pimentas é causada pela irritação de células trigeminais, localizadas na boca, nariz e estômago, as quais são receptores para a dor. Estes neurônios sensitivos lançam substâncias P, um

neurotransmissor químico que comunica ao cérebro sobre a dor ou inflamação na pele. O consumo repetido de pimenta confunde receptores da substância P. Por esta razão e que algumas pessoas toleram comer cada vez mais pimentas, tendo a sensação de menos calor. Quando aplicada topicamente sobre a pele, a capsaicina ativa uma explosão da substância P das fibras C, sendo este o início da sensação de queimação.

Existe uma confusão sobre os efeitos da capsaicina na língua e botões gustativos, começando com a noção de que o homem que conseguir comer a pimenta mais quente seria conseqüentemente mais viril, pura ilusão. A realidade é que estes homens não são melhores que os outros, apenas não possuem ou tem pouca sensibilidade para a capsaicina. Cerca de 50% da população sensíveis normais, o que vale dizer que possuem um número suficiente de botões gustativos por cm^3 em suas línguas. O restante da população é dividido entre os supersensíveis, que possuem muito mais botões gustativos e os não-sensíveis, que tem pouco ou praticamente nenhum botão gustativo na língua. Algumas vezes, sensíveis normais e supersensíveis comem comidas que são picantes demais e sua língua pode sofrer queimaduras de contato. Isto certamente danifica os botões gustativos, mas eles são logo recolocados em cerca de duas semanas.

De modo geral, pessoas que amam comer pimentas concordam que elas melhoram o sabor das outras comidas, enquanto pessoas que evitam comidas quentes afirmam que as pimentas reduzem ou mascaram seu sabor. De fato, há muito tempo se fala que a capsaicina das pimentas destrói ou danifica os botões gustativos. Ocorre, segundo estudos recentes, uma desensibilização, causando um decréscimo da sensibilidade tátil e gustativa na língua, mas este efeito parece ser temporário e não destrói os botões gustativos. Mas esta desensibilização significa também uma maior tolerância para a capsaicina, então, o mesmo nível de calor não seria percebido da mesma maneira em pessoas diferentes.

Tudo é muito relativo e a explicação mais fácil do porque as pessoas gostam de sentir dor quando comem é simplesmente que isto adiciona uma nova dimensão e complementa o sabor.¹²

2.3.1- REFRESCANDO O CALOR

Muitas substâncias têm sido propostas como um antídoto para a boca no caso de queimação pelas pimentas, incluindo água, leite, açúcar, pão, frutas cítricas, cerveja entre outros. Teoricamente, estas substâncias tanto podem lavar ou diluir a capsaicina ou como o pão, pode absorvê-la. O problema, no entanto, é que a capsaicina é "ligada" a sítios receptores nervosos na boca e não é facilmente deslocada ou diluída. Lembrando que a capsaicina é muito miscível com álcool, gorduras e óleos, mas não muito em água.¹³

John Riley em 1989, editor da revista *Solanacea*, testou várias substâncias reportadas como removedoras da queimação pela capsaicina em pimentas. Em cada teste, um pequeno pedaço de pimenta Serrano foi mastigado por um minuto, e então uma das substâncias foi aplicada. O período de tempo até a sensação de queimação aliviar foi medida e os resultados foram estes:

Substâncias	Minutos
Lavagem da boca somente com água.	11
Lavagem da boca com uma colher de sopa de óleo	10
Beber 1/2 xícara de xarope de suco concentrado	10
Lavagem da boca com uma colher de sopa de glicerina	8
Beber 1/2 xícara de leite, bochechando	7

Tabela 1- período de tempo até a sensação de queimação aliviar

Como podem ver o leite foi o vencedor, e de fato, produtos derivados do leite tem sido há muito tempo relatado como o melhor refrescante para os efeitos da capsaicina.

Cientistas acreditam que a caseína do leite é a responsável por este efeito refrescante. A caseína é uma fosfoproteína que age como um detergente e retira a capsaicina dos sítios de ligação dos receptores nervosos da boca, contidos nos botões gustativos. A caseína no leite está sob a forma de caseinato de cálcio, o qual constitui cerca de 3% do leite. Outros produtos que possuem caseína são o chocolate ao leite, algumas nozes e feijões.¹²

2.4- Escala de Scoville

Em 1912 um químico chamado Wilbur Scoville que trabalhava para a companhia farmacêutica Parker Davis desenvolveu um método para medir o nível de "calor" das pimentas. O teste foi chamado depois de, " Scoville Organoleptic Teste ".

No teste original, Wilbur misturou pimentas puras moídas com açúcar e água. Provadores tomavam a solução em concentrações crescentemente diluídas, até que eles alcançaram o ponto que o líquido já não queimava a boca. Um número foi então dado a cada pimenta, baseado em quanto precisou ser diluída até que eles já não pudessem provar (sentir) o calor. É um procedimento de diluição subjetivo, levando em conta o gosto.

A ardência (ou fator de calor) das pimentas é medida em múltiplos de 100 unidades. Da *Sweet Bell*, zero unidades de Scoville ao poderoso *Habanero*, 300,000 unidades de Scoville! A substância que faz uma pimenta tão quente é chamada *Capsaicina*, que fica entre 15,000,000 e 16,000,000 unidades de Scoville! ¹⁰

2.5- Tabela simplificada de ardência das pimentas

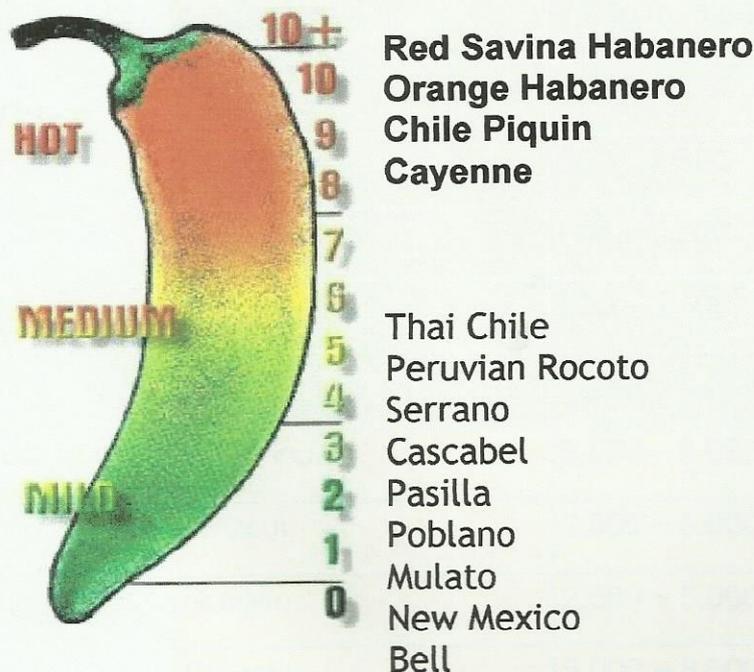


Figura 6 - Escala de Scoville¹⁰

Confira a tabela de algumas variedades de pimentas e sua unidade Scoville. Devido a condições de crescimento, solo e temperatura, pimentas tendem a variar

entre níveis mais acima ou abaixo dos aqui listados, mas também pode ir além deles.¹⁰

Pimentas	Grau de Ardência
Sweet Bell	0
Pimento	0
Cherry	00 ~ 500
Pepperoncini	100 ~ 500
El-Paso	500 ~ 700
Santa Fe Grande	500 ~ 750
Colorado	700 ~ 1,000
Espanola	1,000 ~ 2,000
Poblano	1,000 ~ 2,000
Ancho	1,000 ~ 2,000
Mulato	1,000 ~ 2,000
Pasilla	1,000 ~ 2,000
Anaheim	500 ~ 2,500
Sandia	500 ~ 2,500
Big Jim	500 ~ 2,500
Rocotillo	1,500 ~ 2,500
Jalapeno	2,500 ~ 5,000
Mirasol	2,500 ~ 5,000
Guajillo	2,500 ~ 5,000
Chipotle	5,000 ~ 8,000
Hot Wax	5,000 ~ 10,000
Puya	5,000 ~ 10,000

Hidalgo	6,000 ~ 17,000
Serrano	5,000 ~ 25,000
Manzano	12,000 ~ 30,000
Shipkas	12,000 ~ 30,000
De Arbol	15,000 ~ 30,000
Aji	30,000 ~ 50,000
Tabasco	30,000 ~ 50,000
Cayenne	30,000 ~ 50,000
Piquin	30,000 ~ 55,000
Santaka	45,000 ~ 60,000
Yatsafusa	50,000 ~ 75,000
Haimen	70,000 ~ 80,000
Chiltepin	60,000 ~ 85,000
Thai	50,000 ~ 100,000
Tabiche	85,000 ~ 115,000
Bahamian	95,000 ~ 110,000
Kumataka	125,000 ~ 150,000
Birds Eye	100,000 ~ 225,000
Jamaican Hot	100,000 ~ 200,000
Habanero	100,000 ~ 325,000
Scotch Bonnet	150,000 ~ 325,000
Red Savina Habanero	300,000 ~ 570,000

Tabela 2 - ardência das pimentas

2.6- Química das pimentas

O princípio ativo que causa o "calor" das pimentas é um alcalóide cristalino denominado de CAPSAICINA. Ele é produzido por glândulas localizadas na junção da placenta e a parede do fruto. A capsaicina se espalha por todo o interior do fruto, mas é mais concentrado no tecido placentário. Portanto, se quiser comer a pimenta mais suave, retire as sementes, isto ajuda a tirar grande parte do alcalóide.

P. A. Buchholz em 1816 descobriu pela primeira vez que o princípio ativo das pimentas poderia ser extraído dos frutos macerados em solventes orgânicos. Em 1846, L. T. Thresh documentou que o princípio ativo poderia ser extraído em estado cristalino. Foi Thresh que nomeou esta substância de capsaicina. Em 1878, um cientista húngaro chamado Endre Hogenes extraiu capsaicina, o qual chamou de capsaicicol e descobriu que ela estimulava a membrana das mucosas da boca e estômago e aumentava a secreção do suco gástrico. A capsaicina foi sintetizada pela primeira vez em 1930 por E. Spatti e F. S. Darling.⁵

2.7- Estrutura química da Capsaicina

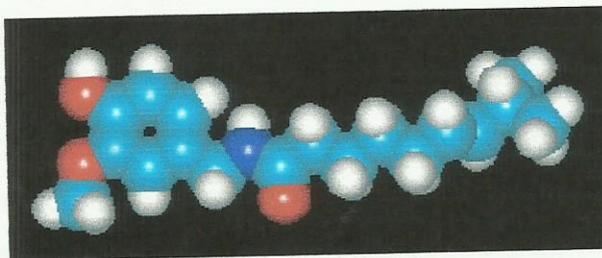


Figura 7 - Estrutura química 3D da Capsaicina

A Capsaicina é um alcalóide incrivelmente poderoso e estável, aparentemente não afetado pelo frio ou calor, o qual retém seu potencial original, a despeito do tempo, cozimento ou congelamento.¹²

Devido ele não possuir sabor, odor ou cor, é um dos compostos mais "pungentes" (picantes) até agora conhecidos, detectado no palato (céu da boca) em diluições de 1 para 17 milhões. É ligeiramente solúvel em água, mas muito solúvel em álcoois, gorduras e óleos (isto vale dizer que quando comer uma pimenta e arder

muito na boca e língua, o melhor seria tomar uma pequena dose de vodka para amenizar, ao invés de tomar água).

A capsaicina é o mais poderoso destes componentes e os químicos, quando utilizam o pó cristalino precisam manipulá-lo com extremo cuidado, numa sala especial e com proteção total do corpo. "Sua inalação não é tóxica, mas você desejaria estar morto antes disso acontecer".⁹

2.8- Toxicidade dos capsaicinóides

Um método para determinar o nível tóxico letal dos capsaicinóides em animais, e extrapolando para seres humanos, pesquisadores utilizaram ratos, camundongos, cobaias e coelhos. Foi administradas capsaicina pura, intravenosa e subcutaneamente, no estômago e aplicação tópica, até a morte dos animais. A dose tóxica letal de capsaicina, medida em miligramas por Kg do animal foi de 0,56 mg, intravenosa, até 190 mg, quando consumida e 512 mg na aplicação tópica. A provável causa da morte em todos os casos foi parada respiratória. Em seres humanos a dose tóxica está em torno de 13 gramas de capsaicina cristalina pura. Acredita-se que doses menores que esta poderia ser letal. Uma pessoa teria que consumir cerca de 1,8 litros de molho Tabasco de uma vez para ficar inconsciente.⁵

Existem pesquisas do perigo em seres humanos de vários produtos que contém capsaicina como ingrediente. Óleo-resinas de capsicum é um ingrediente extremamente forte usado em molhos picantes. Para algumas pessoas, com poucos botões gustativos, estes molhos não chegam a preocupar, mas para outras ocorre uma reação muito negativa, experimentando queimaduras severas e algumas vezes com bolhas na boca e na língua. Outra reação imediata pode ser náusea, alteração na respiração, desmaio e vômito espontâneo. Mais cuidado com molhos que contém óleo-resinas de capsaicina como ingrediente daqui para frente. Apesar dos efeitos adversos que isto pode causar, molhos super fortes não são letais.⁵

2.9- Oleoresinas de Capsicum

Oleoresinas são extratos, ou óleos altamente concentrados, feitos de pimentas secas, picantes ou não, usados na culinária, medicina e corantes além de

outros propósitos. Existem três tipos principais: oleoresinas de capsicum, oleoresinas de pimentas vermelhas e oleoresinas de páprica.

Oleoresinas de capsicum são feitas das pimentas mais fortes disponíveis, geralmente da África, Índia ou Ásia, apesar de que qualquer outra pimenta picante pode ser usada. A escala de calor fica geralmente entre 500.000 e 1.800.000 S.U. (Scoville Units) ou 4% a 14% de capsaicina. 500g de oleoresina equivale a 10Kg de pimentas cayenne. Este tipo de oleoresina é extremamente forte é usado em defesa pessoal como spray de pimenta, em molhos superpicantes, em medicamentos como cremes analgésicos tópicos e em alguns alimentos industrializadas.⁹

Em extrato mais moderado de oleoresina de pimentas vermelhas são produzidas em abundância no México, USA, Índia e Turquia. Ele atinge de 80.000 a 500.000 S.U. e 500g desta oleoresina equivale a 5 Kg de pimentas vermelhas de boa qualidade. É usado principalmente em alimentos processados.

A oleoresina de páprica é extraído de um grande número de variedades de páprica não picantes. Contudo, quanto mais moderada a pimenta, maior seu conteúdo de coloração e são usadas basicamente como corantes vermelhos em alimentos manufaturados.¹²

2.10- Determinação da Pungência

Determinar a pungência (ardência, calor, picância) das muitas variedades de pimentas e dos alimentos preparados com elas tem sido há muito tempo a meta de cozinheiros e pesquisadores. Em 1912, Wilbur L. Scoville, um farmacologista da companhia Parke Davis desenvolveu um método para separar as pimentas de acordo com sua pungência. Este método leva em conta o julgamento humano e, portanto subjetivo, passível de erros e diferentes opiniões³.

A técnica para determinar a pungência de pimentas utilizando alta tecnologia é a HPLC, (do inglês High Performance Liquid Chromatography). Este método foi desenvolvido por James Woodbury da Cal-Compack Foods em 1980. O processo consiste em dissolver uma amostra de pimentas moídas em etanol saturado com acetato de sódio para separar os capsaicinóides. Os capsaicinóides são então analisados com um espectrofluorímetro que mede o nível de capsaicina em partes

por milhão (ppm), os quais são então convertidos para S.U., medida standard usada pela indústria.¹²

O método é sensível para 2 partes por milhão, cerca de 30 S.U., o qual significa dizer que testar pimentas individualmente é agora muito mais confiável. A respeito de o método HPLC ser muito apurado devemos ter em mente as diferenças entre uma mesma variedade quanto a sua localização de plantio, estação, solo, fertilizantes, umidade e calor, o que pode acarretar diferentes valores de pungência.¹⁰

2.11- Anatomia da flor fruto de capsicum

Pimentas são plantas autógamas, ou seja, o pólen e o óvulo que é fecundado, são da mesma flor. A reprodução das pimentas se dá pelo seu órgão reprodutor - as flores. Nelas estão os aparelhos reprodutores femininos e masculinos, o que facilita este tipo de reprodução.

Na natureza, porém ocorre a troca de genes entre plantas da mesma espécie ou entre espécies diferentes do gênero *Capsicum* através da polinização cruzada, pela ação do vento ou insetos polinizadores, ou pela ação do homem. Isto acarreta numa variabilidade genética e numa diversificação enorme de variedades.¹⁰

2.11.1- ANATOMIA DA PIMENTA

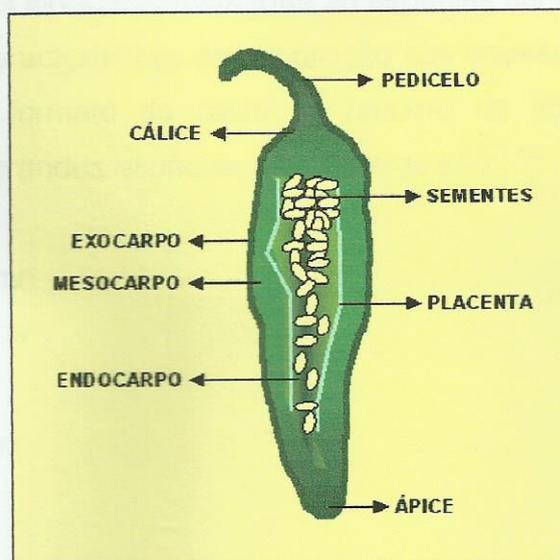


Figura 8 - O Fruto⁶

2.11.2- ANATOMIA DAS FLORES

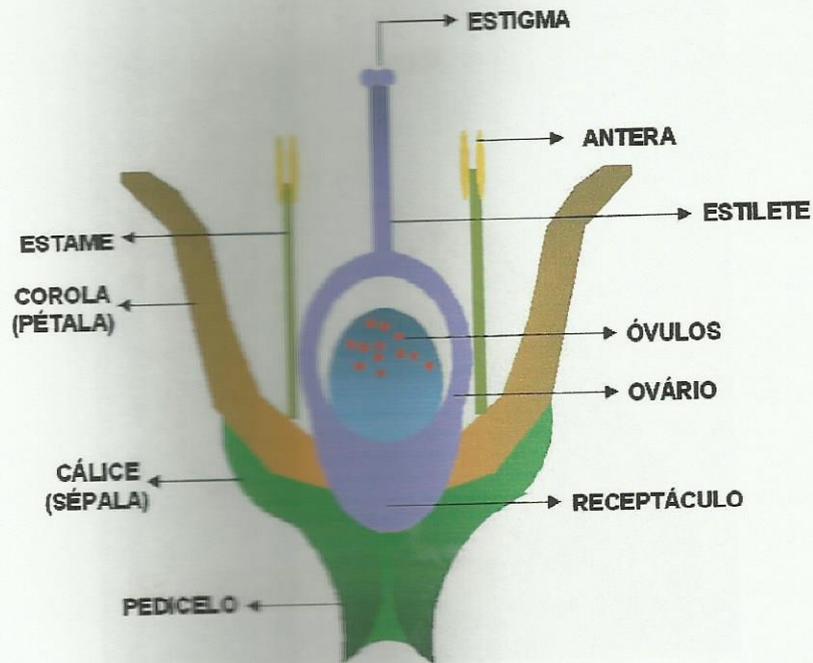


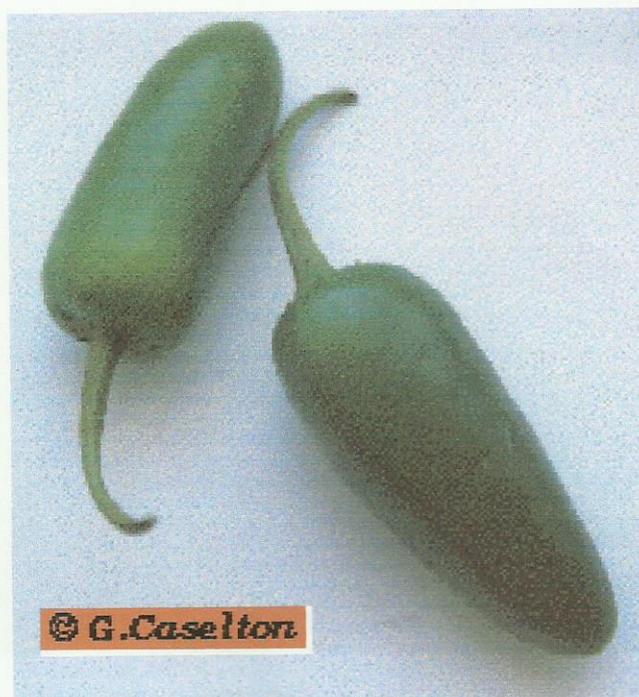
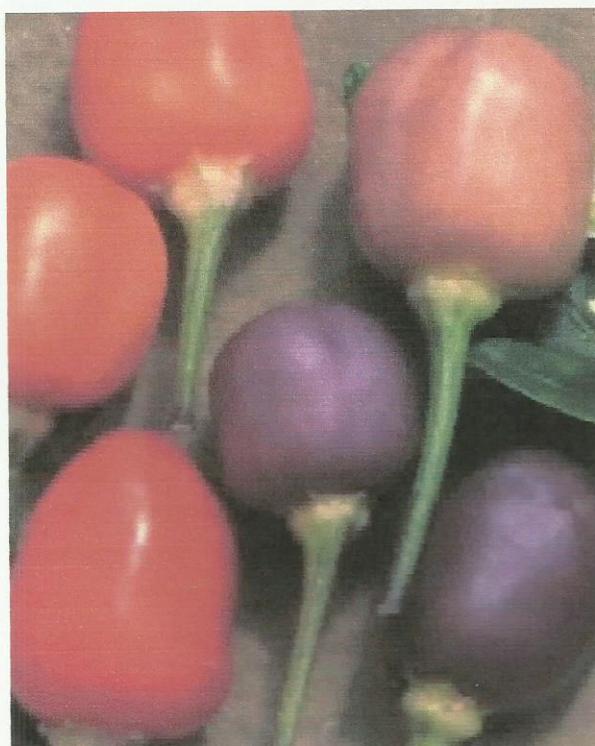
Figura 9 - Flor de Capsicum⁹

2.12- Taxonomia

Após muito trabalho de taxonomistas sobre a classificação das espécies atualmente domesticadas de *Capsicum*, eles consideraram as pimentas como pertencente a uma das cinco espécies (das 26 espécies conhecidas).

As primeiras características de separação são baseadas nas flores e cor das sementes, depois o formato do cálice, o número de flores por nódulo e sua orientação. As cinco grandes espécies de pimentas são:^{1 e 2}

- *Capsicum annum*
- *Capsicum baccatum*
- *Capsicum pubescens*
- *Capsicum chinense*
- *Capsicum frutescens*

2.12.1- CAPSICUM ANNUUM**Figura 10 - Capsicum annum²****2.12.2- CAPSICUM BACCATTUMN****Figura 11 - Capsicum baccatum²**

2.12.3- CAPSICUM PUBESCENS



Figura 12 - *Capsicum pubescens*²

2.12.4- CAPSICUM CHINENSE



Figura 13 - *Capsicum chinense*²

2.12.5- CAPSICUM FRUTESCENS

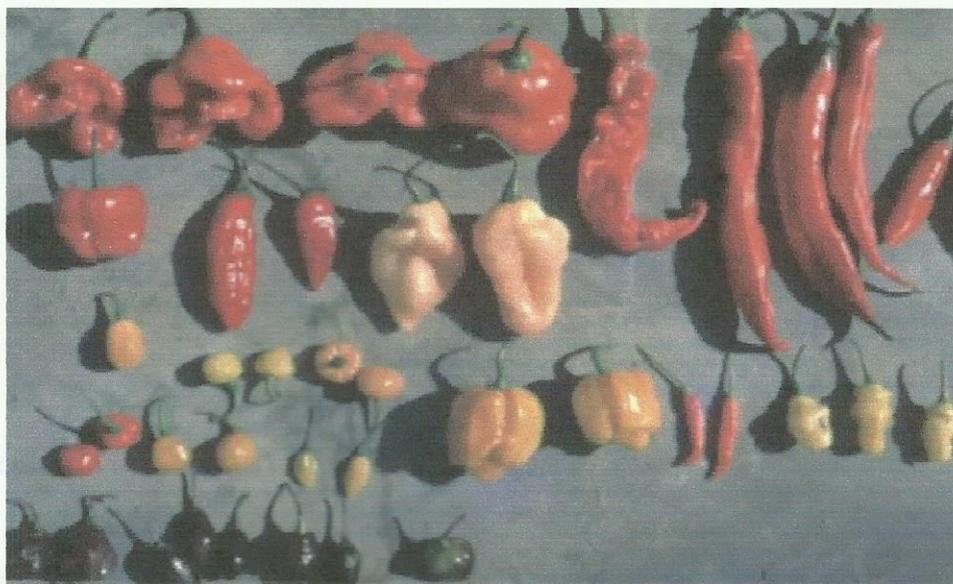


Figura 14 - Capsicum frutescens²

3 -OBJETIVO

Os objetivos desta monografia são:

- a) Sintetizar a capsaicina através de uma rota de síntese de baixo custo.
- b) Sintetizar análogos de capsaicinóides, com ácidos graxos saturados e insaturados de cadeia longa, aumentando assim a lipossolubilidade, vislumbrando assim incrementar a atividade biológica.
- c) Caracterizar as moléculas e os intermediários sintetizados.

4- METODOLOGIA

Para a síntese da capsaicina utilizaremos a vanilina como material de partida. A vanilina (6) será submetida a uma aminação redutiva utilizando formiato de amônio para obtenção da parte aromática.

Na obtenção da cadeia alifática utilizaremos a cicloexanona (8) como material de partida. Esta será submetida a reação de oxidação de Baeyer Villiger para formação da lactona (9) em presença de ácido acético e peróxido de hidrogênio.

A abertura da lactona será efetuada em presença de metóxido de sódio em metanol para formação do hidroxi-éster (10). Este será submetido à reação de halogenação do grupo hidroxila em presença de PBr_3 . Este produto (11) formado será submetido à reação de Wittig utilizando isobutiraldeído em presença de trifetilfosfina e posterior hidrólise ácida para formação do ácido (13).

A reação de acoplamento entre a parte aromática (7) e a parte alifática (13) ocorrerá em presença de DCC para formação da capsaicina (1).

Do mesmo modo, a reação entre a parte aromática (7) e a bixina (14) ocorrerá a formação do análogo da capsaicina.

I) Nova rota de síntese da capsaicina:

a) Síntese da parte aromática:

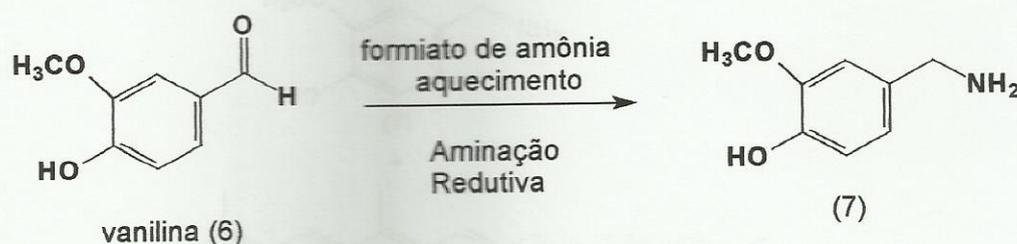


Figura 15 – Aminoação redutiva

b) Síntese da parte alifática

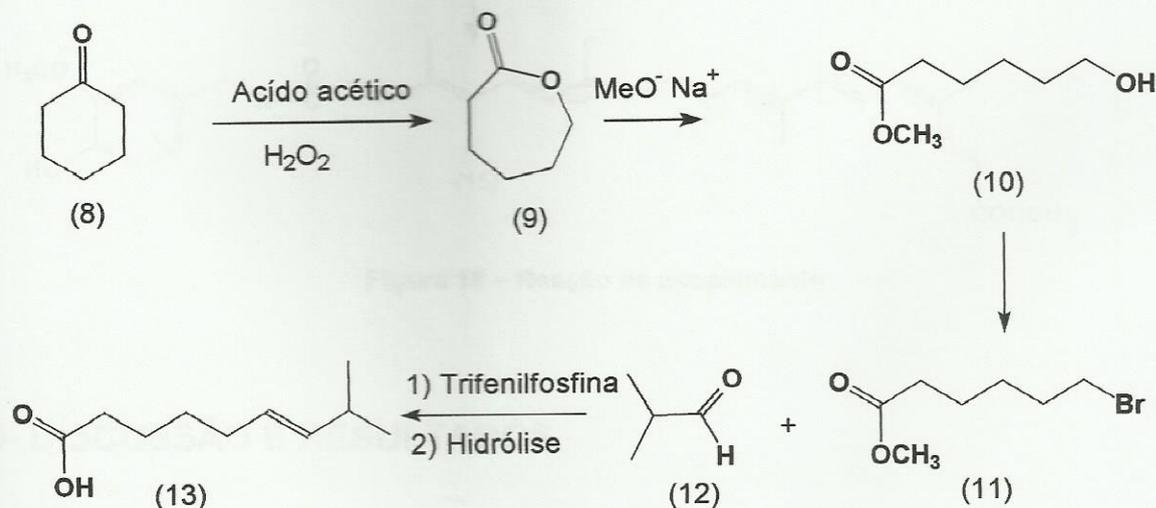


Figura 16 - Síntese da parte alifática

c) Reação de acoplamento

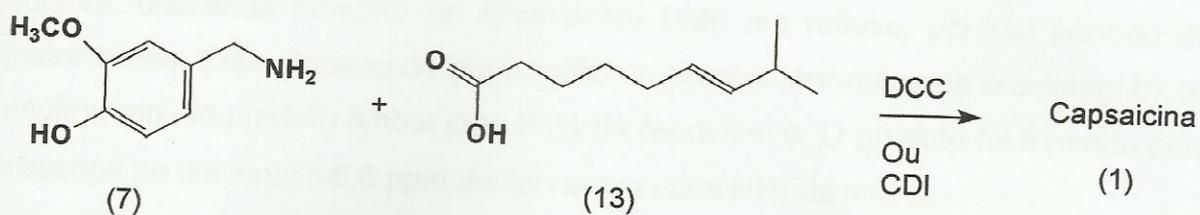


Figura 17 – Síntese da capsaicina

II) Síntese de análogos da capsaicina:

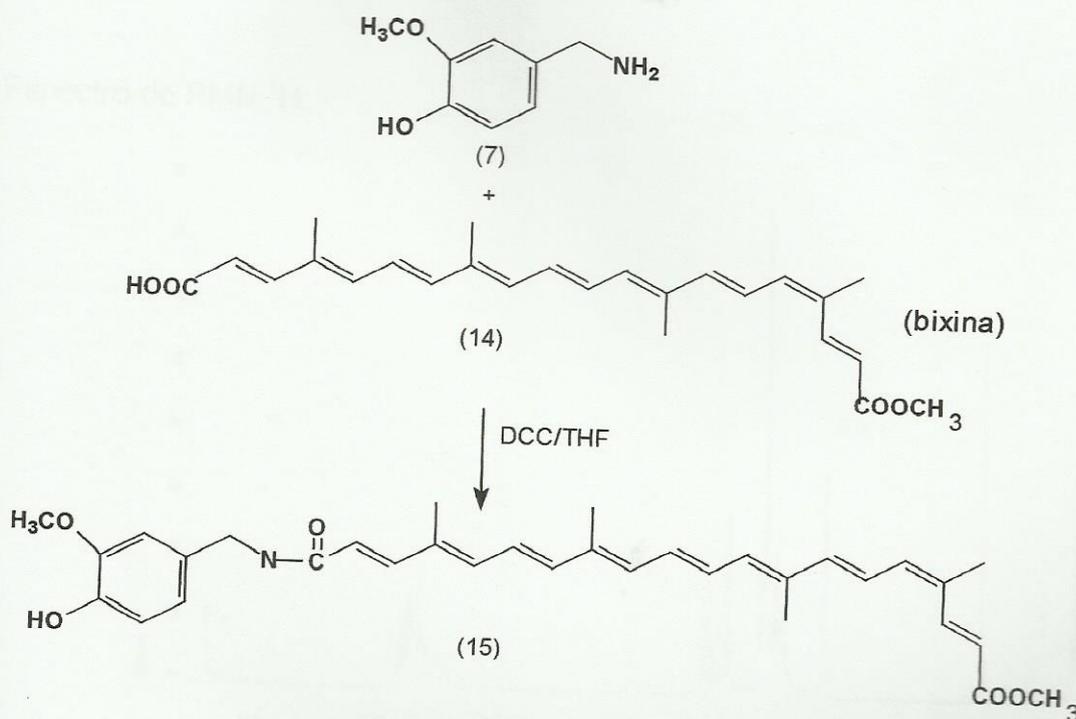
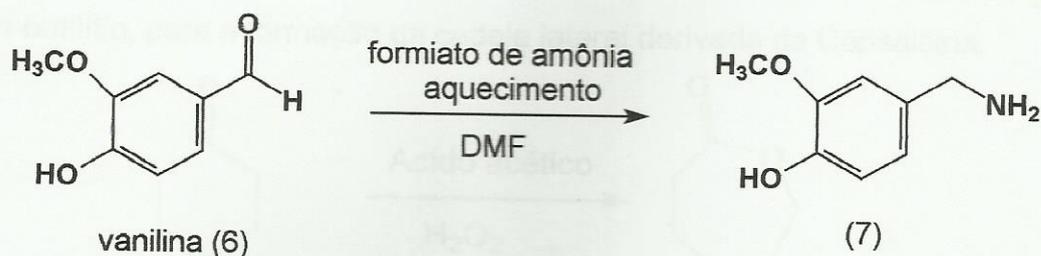


Figura 18 – Reação de acoplamento

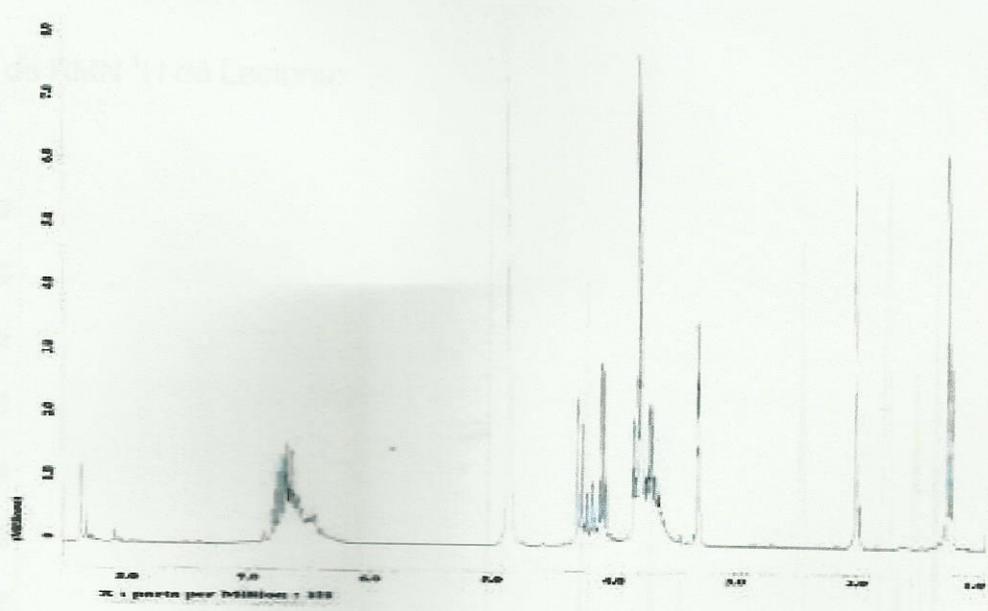
5- DISCUSSÃO E RESULTADOS

A estratégia por nós utilizada para a síntese da capsaicina foi dividida em três etapas: síntese da catecolamina, síntese da cadeia lateral e acoplamento.

Na primeira etapa, a síntese da catecolamina derivada da vanilina baseou-se no procedimento experimental descrito por VOGEL⁸ para realização da aminação redutiva, utilizando formiato de amônio em DMF em refluxo, por um período de quatro horas. Esta etapa após purificação do produto por métodos cromatográficos resultou em um produto âmbar com 65% de rendimento. O produto foi formado pela presença de um sinal δ 6,6 ppm devido aos grupos NH_2 da amina.



Espectro de RMN ^1H :



RMN ^1H : (400 MHz; CDCl_3): 6,78 (b, 1H, NH); 6,6 (d, 1H, H6); 6,40(d, 1H, H2); 6,39(d, 1H, H5); 3,8 (s, 3H, OMe); 4,2(t, 2H, CH_2Ar).

Figura 19 - Espectro de RMN ^1H do derivado aminado da vanilina

A etapa posterior consistiu na síntese da cadeia lateral da capsaicina que teve como material de partida a ciclohexanona. Esta foi submetida à reação de oxidação utilizando peróxido de hidrogênio concentrado em meio ácido segundo o procedimento clássico de reação de Bayer Villiger. A reação de lactonização foi acompanhada por CCDS e o produto após purificação foi submetido abertura nucleofílica utilizando metóxido de sódio em metanol. O produto da abertura do anel lactônico foi submetido a halogenação em presença de PBr_3 , este produto foi submetido à reação de Wittig, utilizando isobutiraldeído e trifenilfosfina em presença de n-butilítio, para a formação da cadeia lateral derivada da Capsaicina.

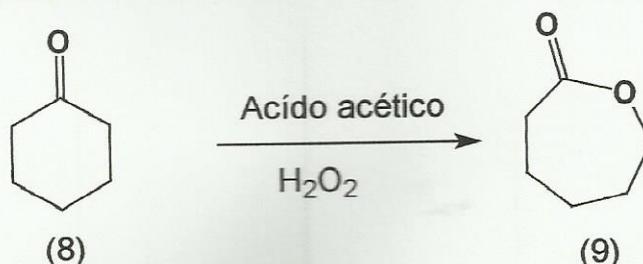
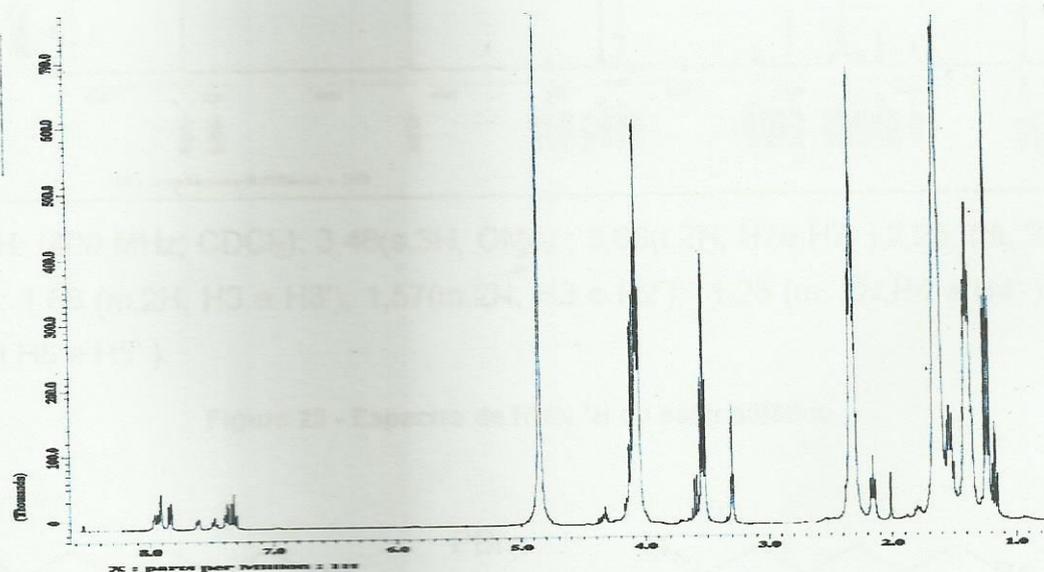


Figura 20 – Oxidação da ciclohexanona

Espectro de RMN ^1H da Lactona:



RMN ^1H : (400 MHz; CDCl_3): 4,08-4,05(dt,2H5 e H5'; CH_2 alfa $\text{OC}=\text{O}$); 2,25, (m, 2H, H1 e H1'; CH_2 alfa $\text{C}=\text{O}$); 1,68 (dt,2H, H4 e H4'; CH_2 beta $\text{OC}=\text{O}$); 1,57(m,2H, H2 e H2'; CH_2 alfa $\text{C}=\text{O}$); 1,27 (m, 2H,H3 e H3').

Figura 21 - Espectro de RMN ^1H da Lactona

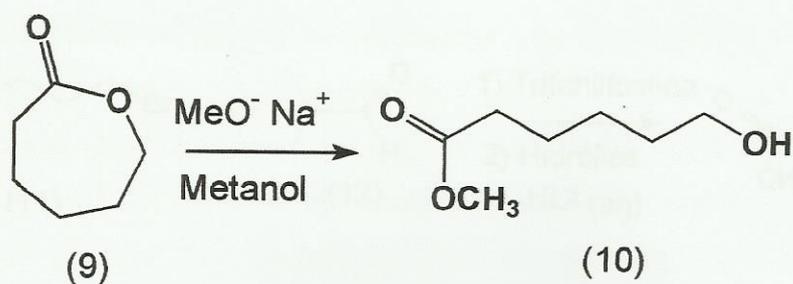
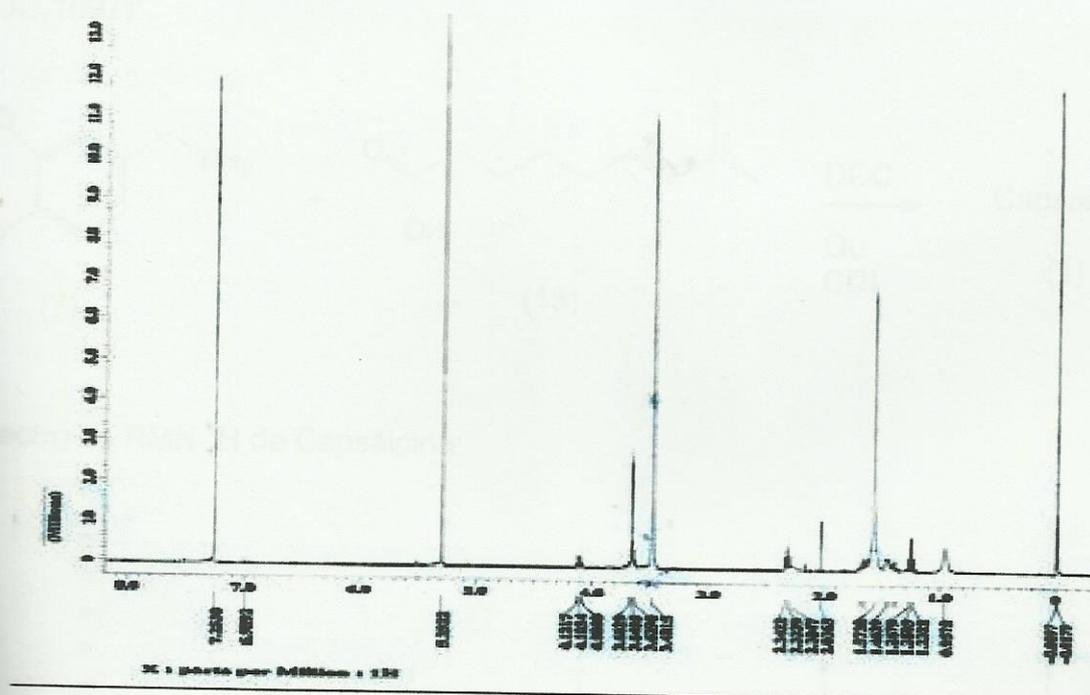


Figura 22 – Abertura da Lactona

Espectro de RMN ^1H do éster alifático:



RMN ^1H : (400 MHz; CDCl_3): 3,48(s,3H, OMe) ; 3,66(t,2H, H7e H7'); 2,25, (dt, 2H, H2 e H2'); 1,68 (m,2H, H3 e H3'); 1,57(m,2H, H2 e H2'); 1,25 (m, 2H,H4 e H4'); 1,27 (m, 2H,H5 e H5').

Figura 23 - Espectro de RMN ^1H do éster alifático

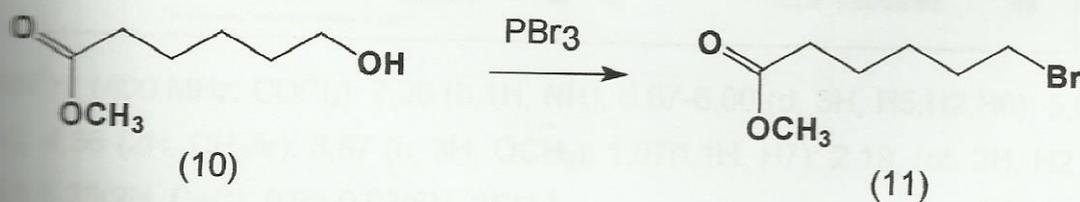


Figura 24 - Halogenação

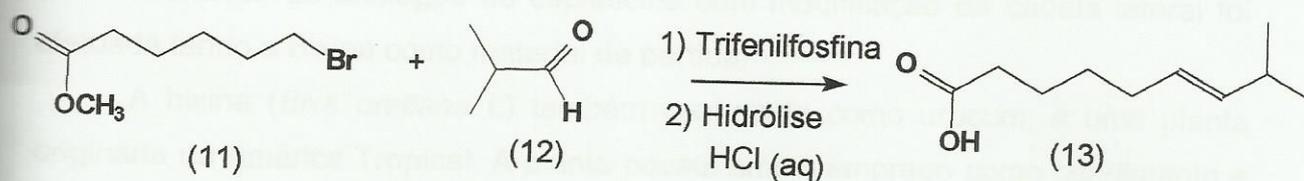
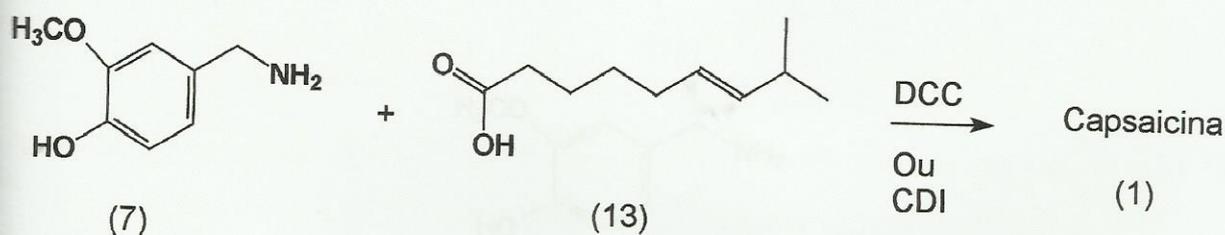
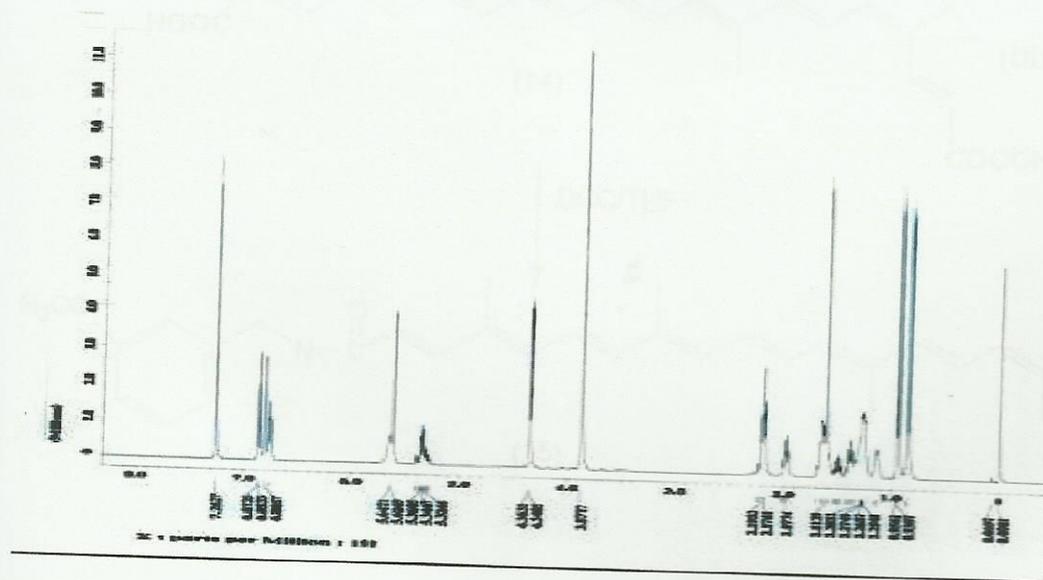


Figura 25 – Reação de acoplamento 2

A etapa de acoplamento da cadeia lateral com o derivado aromático da vanilina foi efetuada em presença de DCC e tetrahidrofurano como solvente (WOO,1997)⁷.



Espectro de RMN ¹H da Capsaicina:



RMN¹H: (400 MHz; CDCl₃): 7,26 (b, 1H, NH); 6,87-6,80 (d, 3H, H5,H2,H6); 5,64 (1H, OH); 4,36 (2H, CH₂Ar); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 1,97(t, 1H, H7); 2,19, (dt, 2H, H2 e H2'); 1,28-1,25(2H, C=C), 0,95-0,93(6H, 2CH₃).

Figura 26 - Espectro de RMN ¹H da Capsaicina

A síntese de análogos de capsaicina com modificação da cadeia lateral foi efetuada tendo a Bixina como material de partida.

A bixina (*Bixa orellana* L) também conhecida como urucum, é uma planta originária da América Tropical. A planta possui amplo emprego como condimento e na medicina popular. O principal constituinte da matéria corante da *B. orellana* restrição é o éster monometílico do ácido 4,8,13,17-tetrametil-eicosa-2,4,6,8,10,12,14,16,18-nonenadióico. Este composto foi isolado em nosso laboratório tendo como material de partida o urucum segundo o procedimento descrito por Mercadante⁴ et al e posteriormente utilizado para acoplamento com a parte aromática derivada da vanilina, segundo o mesmo procedimento para a síntese da capsaicina.

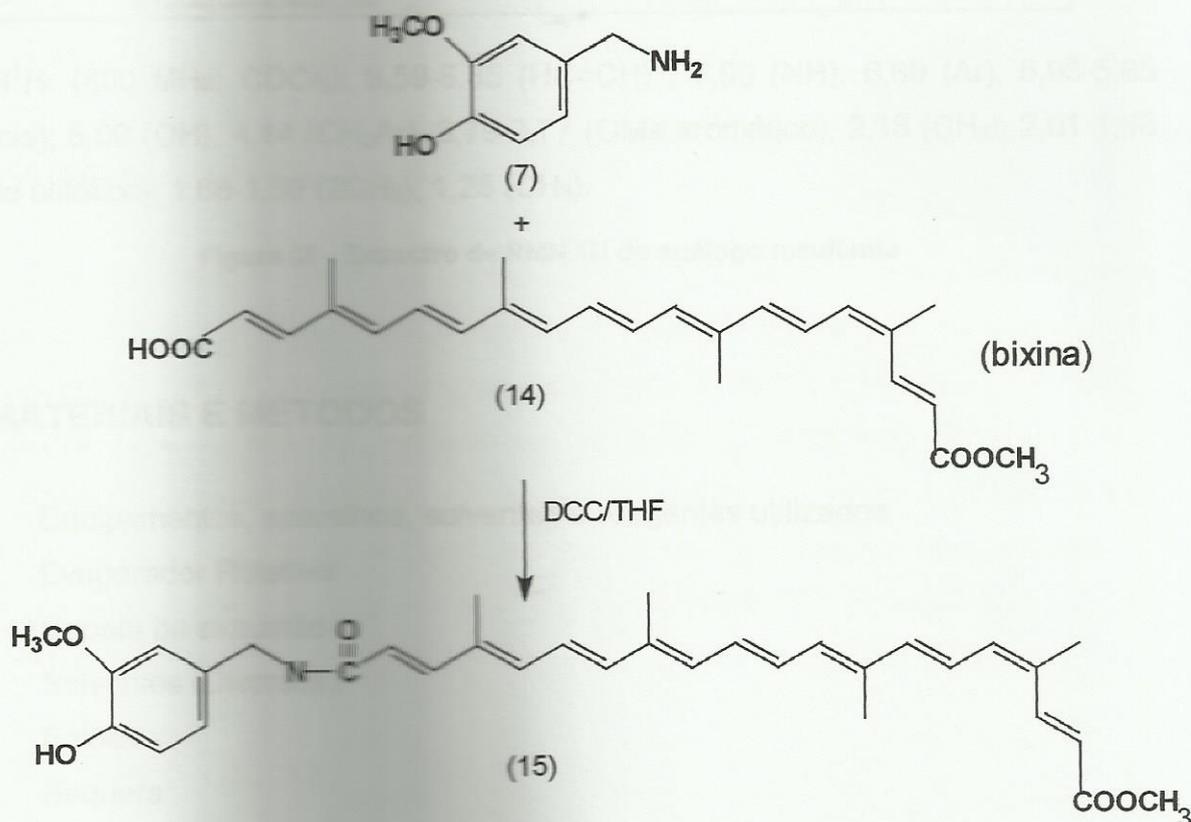
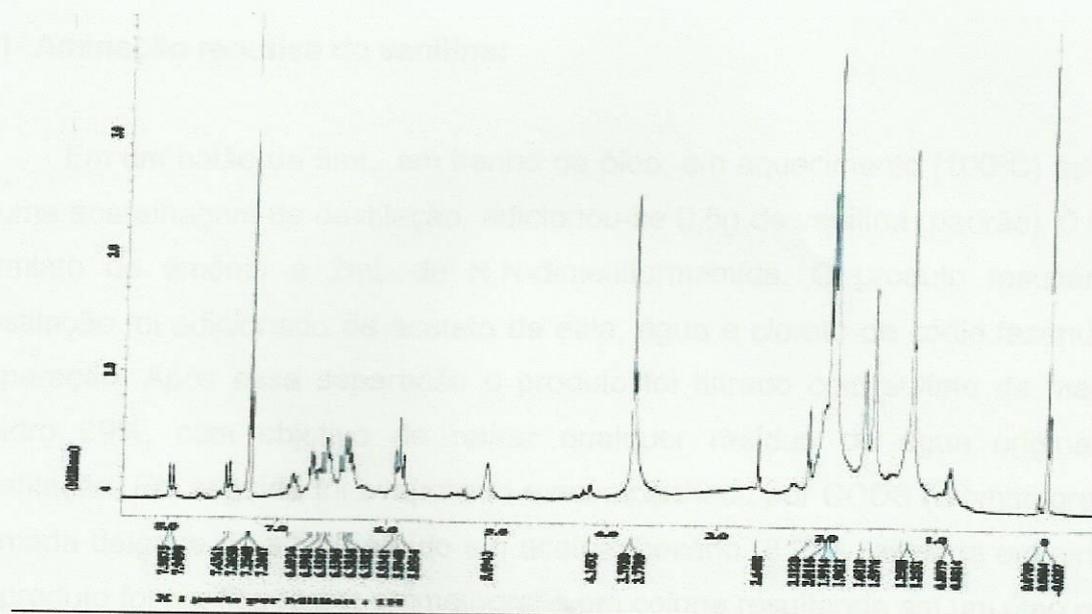


Figura 27 – Síntese de análogos da capsaicina

Espectro de RMN 1H:



RMN¹H: (400 MHz; CDCl₃): 6,59-6,35 (HC=CH) ; 7,98 (NH), 6,69 (Ar), 5,93-5,85 (CH_{cis}); 5,09 (OH), 4,14 (CH₂Ar), 3,79-3,77 (OMe aromático), 2,18 (CH₂), 2,01-1,96 (OMe alifático); 1,68-1,59 (2CH₃), 1,25 (CH₃).

Figura 28 - Espectro de RMN 1H do análogo resultante

6- MATERIAIS E MÉTODOS

Equipamentos, aparelhos, solventes e reagentes utilizados.

Evaporador Rotativo

Capela de exaustão

Solventes (Diversos)

Balões

Bequers

Balança Analítica

Silicagel 60 S

Sílica gel suportadas em cromatofolhas de alumínio

Lâmpada de Ultra Violeta

Aparelho de Infra-Vermelho

7- PARTE EXPERIMENTAL

7.1- Aaminação redutiva da vanilina:

Em um balão de 5mL, em banho de óleo, em aquecimento (100°C) adaptado a uma aparelhagem de destilação, adicionou-se 0,5g de vanilina (padrão), 0,63g de formiato de amônio e 2mL de N,N-dimetilformamida. O produto resultante da destilação foi adicionado de acetato de etila, água e cloreto de sódio fazendo-se a separação. Após essa separação o produto foi filtrado com sulfato de magnésio anidro 99%, com objetivo de retirar qualquer resíduo de água originada da destilação. Em seguida foi evaporado e acompanhado por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica) eluído em acetato/hexano (8:2) e revelada em ninidrina. O produto foi purificado por cromatografia em coluna resultando em um óleo marrom escuro. O rendimento da reação foi de 65% (0,32g).

7.2- Oxidação da ciclohexanona:

Em um balão de 25mL, adicionou-se 1,0g de ciclohexanona, 20mL de ácido acético e 2,5mL de H₂O₂ 50%. A reação foi mantida por 24 horas a 0°C e foi acompanhado por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica), eluída em acetato de etila: hexano 5:5. Após as 24 horas fez-se a extração do produto com diclorometano e água destilada. Filtrou-se em sulfato de sódio e evaporou sem aquecimento, resultando-se em um óleo incolor que em seguida precipitou-se em forma de cristais brancos. O rendimento da reação foi de 75% (0,85g).

p.e.: 96-97,5°C

7.3- Abertura da Lactona:

Em um balão de 10mL, adicionou-se 0,4g de lactona, 0,2g de metóxido de sódio e 3mL de metanol. A reação foi mantida por 2 horas em refluxo em banho de gelo. Após o refluxo a reação foi evaporada e acompanhada por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica). Resultando-se em um óleo âmbar com um rendimento de 75%.

7.4- Halogenação do éster alifático:

Em um balão de 5mL, adicionou-se 0,5g do ϵ -hidroxi-éster e 1,0 g Tribrometo de fósforo em 5mL de diclorometano seco à -78°C . A reação foi mantida por 6 horas em banho de gelo e acompanhada por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica). Resultando-se em um óleo âmbar com um rendimento de 75%(0,38g).
p.e. $109-110^{\circ}\text{C}$

7.5- Acoplamento para formação da olefina trans e Hidrólise ácida:

Em um balão de 50mL, adicionou-se 0,2g do ϵ -bromo-éster e 0,5 g Trifenilfosfina e isobutiraldeído em a 5mL de THF seco à -78°C . Com auxílio de uma seringa adicionou-se n-butilitio (1,5 M em hexano 3,0 mL). A reação foi mantida por 6 horas em banho de gelo e acompanhada por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica). O produto foi extraído com acetato de etila, a fase orgânica foi seca e evaporada a securo para obter após purificação.

A produto resultante foi submetido à hidrólise do grupamento éster em presença de ácido clorídrico aquoso e temperatura de 60°C por um período de 6 horas. O produto foi extraído com acetato de etila, e a fase orgânica foi seca e evaporada a securo para obter após purificação 0,09g (60%).
p.e.: 207°C

7.6- Síntese da Capsaicina:

Em um balão de 10 mL adicionou-se 0,05g da olefina trans e 0,05g do derivado aminado da vanilina em 5 mL de THF. Uma solução de 1 mL de THF e N,N- dicianilhexilcarbodiimida (DCC) 0,5 g foi adicionada lentamente e agitada por 24 horas a 25°C . A mistura reacional foi evaporada a pressão reduzida a temperatura ambiente e diluída com água 20 mL. O precipitado resultante foi extraído três vezes com acetato de etila,(10mL cada). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e filtrada, sendo posteriormente evaporada a securo obtendo-se um produto sólido com 0,01g.

7.7 – Reação de acoplamento da Bixina com a parte aromática:

Em um balão de 5 mL adicionou-se 0,5g de bixina e 0,5g do derivado da vanilina em 30 mL de THF. Uma solução de 5 mL de THF e N,N-diciclohexilcarbodiimida (DCC) 1,0g foi adicionada lentamente e agitada por 24 horas a 25°C. A mistura reacional foi evaporada a pressão reduzida à temperatura ambiente e diluída com água 20 mL. O precipitado resultante foi extraído três vezes com acetato de etila, (10mL cada). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e filtrada, sendo posteriormente evaporada a secura obtendo-se um produto sólido com 0,3g.

8- CONCLUSÃO

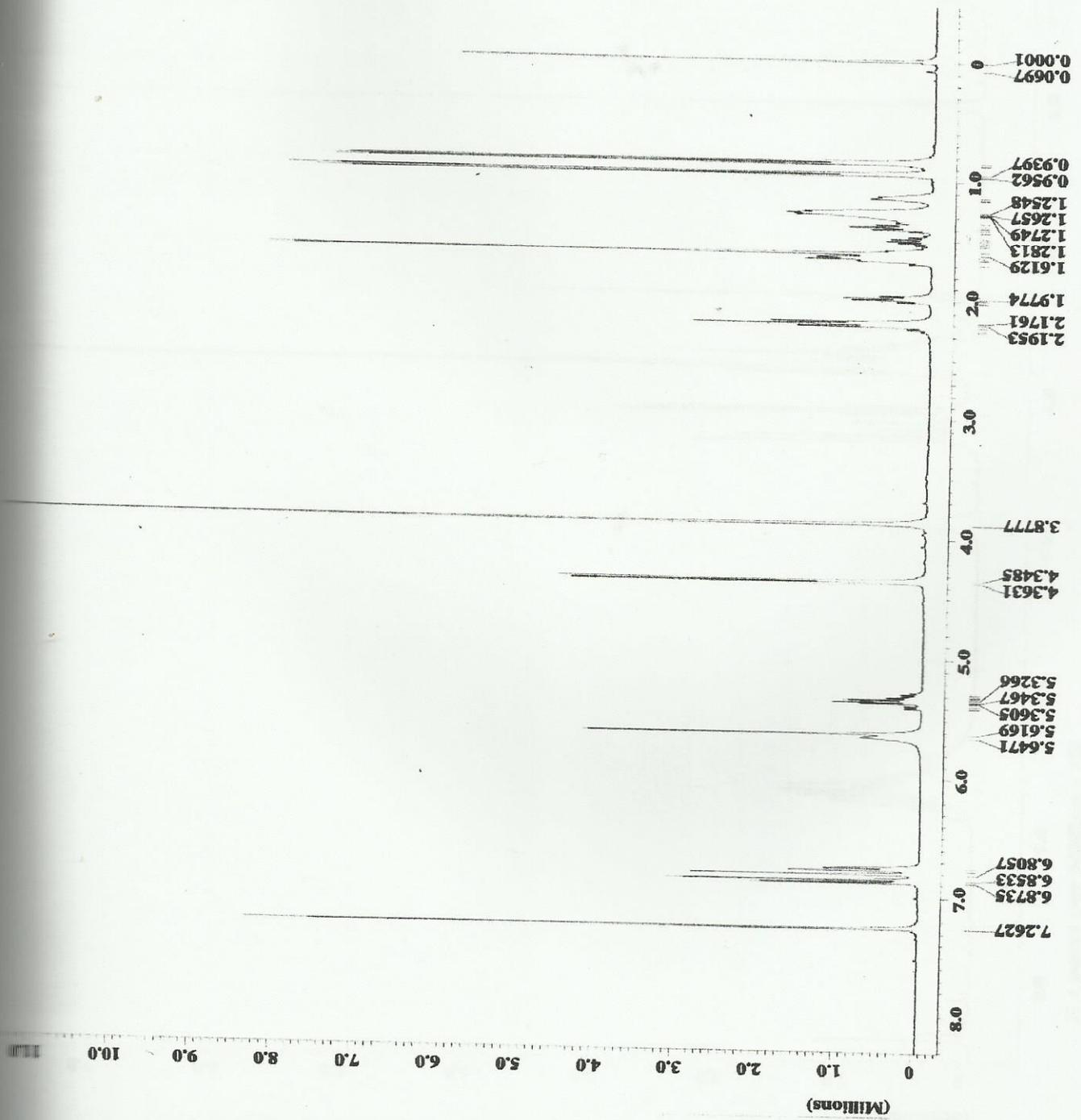
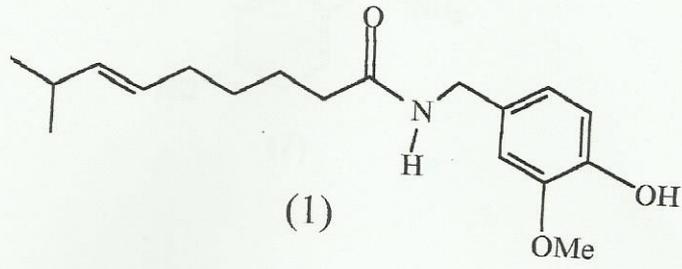
O trabalho colaborou para meu aprendizado no laboratório em nível de sínteses de reações, técnicas de análise e um enriquecimento pessoal que me motivou a inserção à pós-graduação.

Este trabalho poderá ser estendido para a síntese de outros capsaicinóides, bastando realizar a reação de acoplamento da amina derivada da vanilina, com outros ácidos carboxílicos de cadeia longa saturados e insaturados, aumentando a lipossolubilidade, podendo assim incrementar sua atividade biológica.

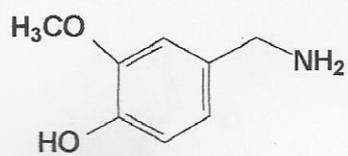
9- BIBLIOGRAFIA

- 1- ANDREWS Jean. *Peppers: The Domesticated Capsicum*. New Edition. University of Texas Press. USA, 1984.
- 2- BOSLAND, Paul W. and DEWITT, Dave. *The Pepper Garden*. Berkeley: Ten Speed Press, 1993.
- 3- KAGA, H. et alli, *A general and stereoselectives synthesis of capsaicinoids via the orthoester claisen rearrangement*. **Tetrahedron**, v. 52, n. 25, p. 8451-8470, 1996.
- 4- MERCADANTE, A.Z.; et al. *Isolation and structure elucidation of minor carotenoids from annatto (*Bixa orellana* L.) seeds*. **Phytochem.**, v. 46, p. 1379, 1997.
- 5- MORROW William, *The Chile Pepper Encyclopedia*, 1999.
- 6- REIFSCHNEIDER, F.J.B. (org.) *Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil*. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia p 113, 2000.
- 7- WOO, N. T. et alli, *Synthesis of substituid cinnamoyl-tyramine derivatives and platelet anti-aggregatory activities*. **Arch. Pharm. Res.**, v. 20, n. 1, p 80-84, 1997.
- 8- VOGEL, *Química Orgânica Prática*, p778.
- 9- www.creces.cl/new
- 10- www.geocities.com/NapaValley/1819/ardência
- 11- www.geocities.com/NapaValley/1819/botânica
- 12- www.geocities.com/NapaValley/1819/química
- 13- www.kalsec.com/es/products

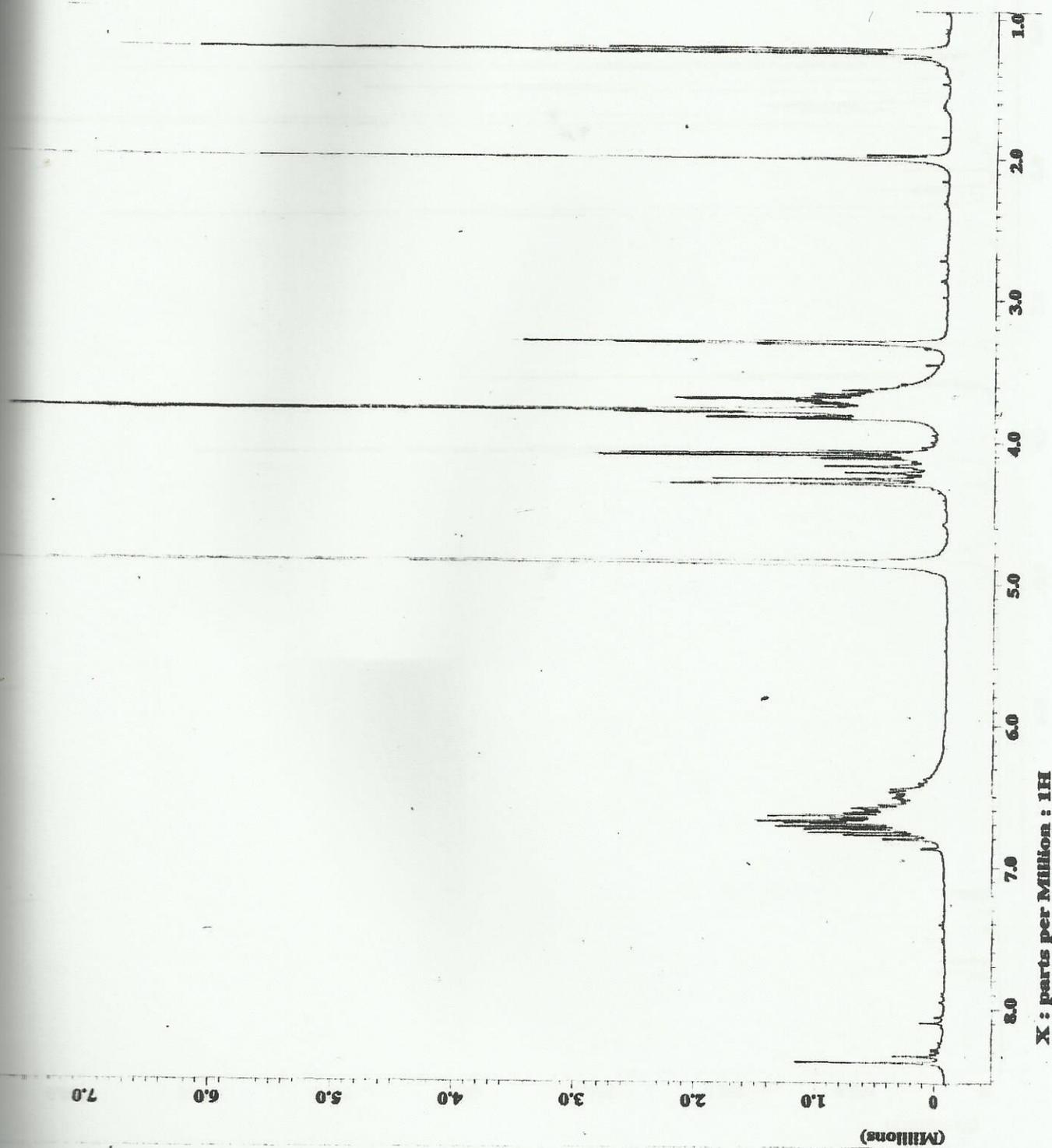
ESPECTRO DE RMN¹H DO COMPOSTO 1:



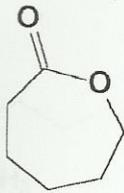
ESPECTRO DE RMN¹H DO COMPOSTO 7:



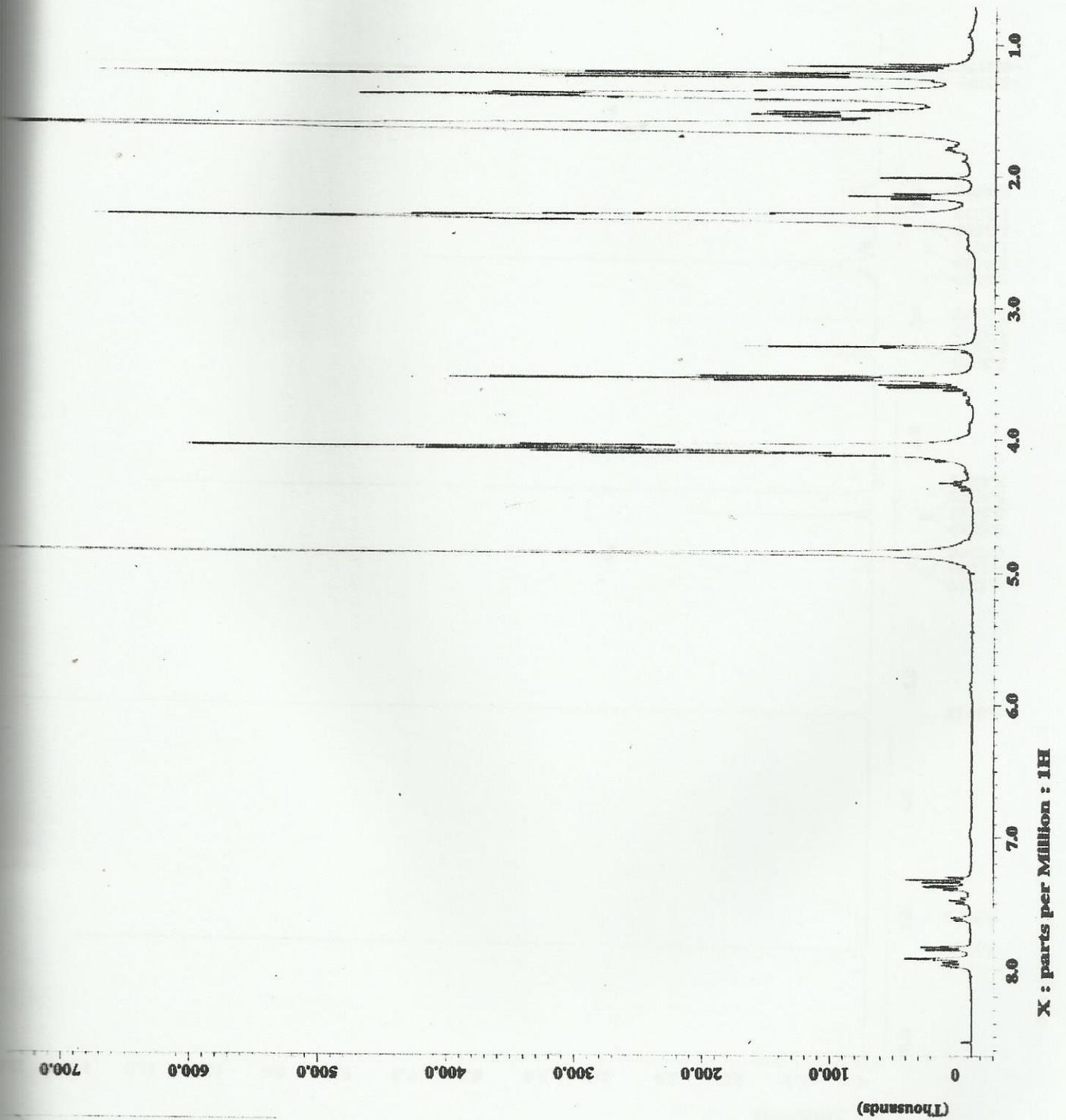
(7)



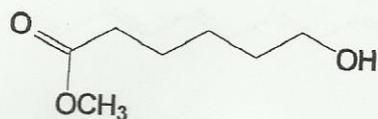
ESPECTRO DE RMN¹H DO COMPOSTO 9:



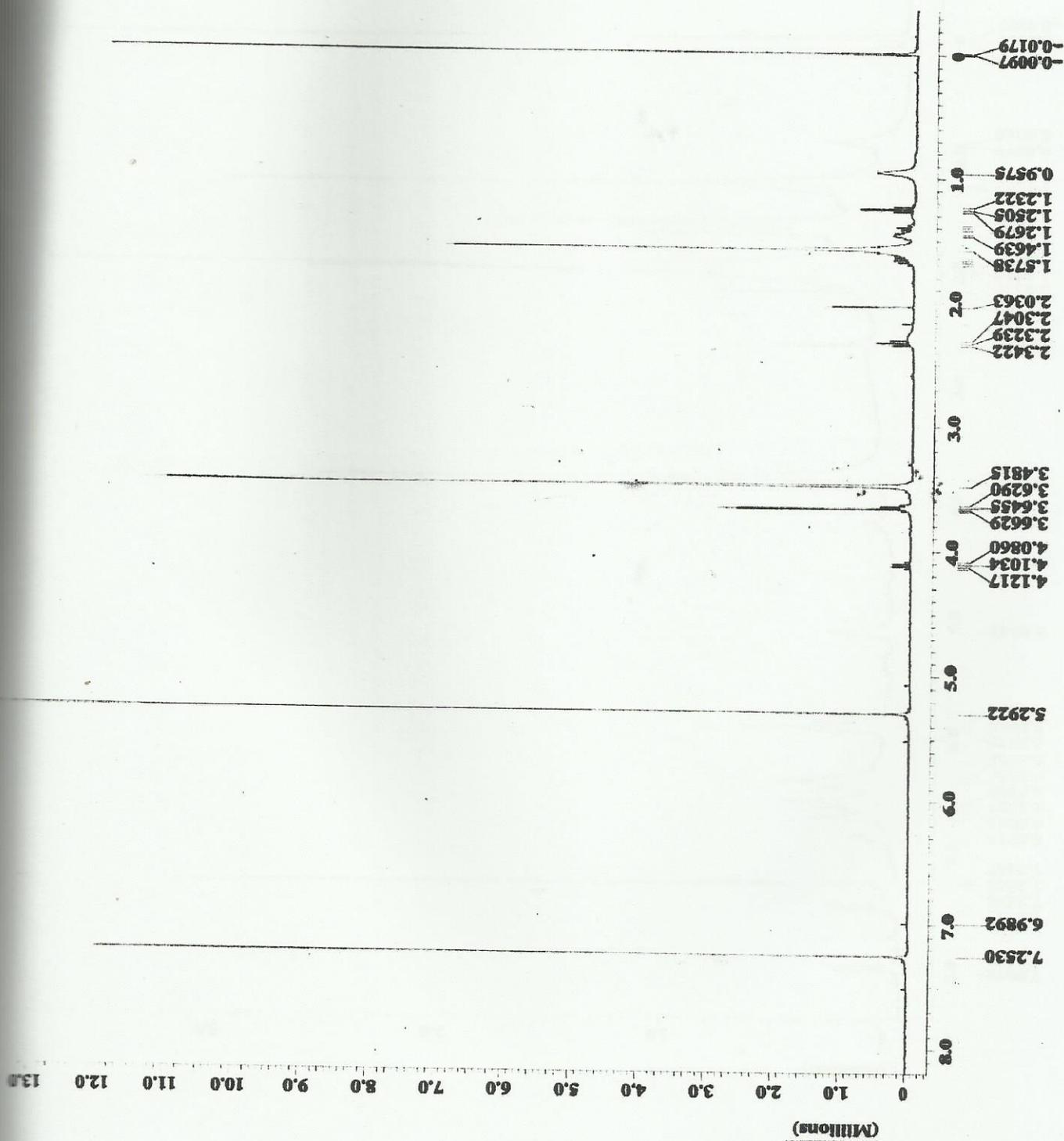
(9)



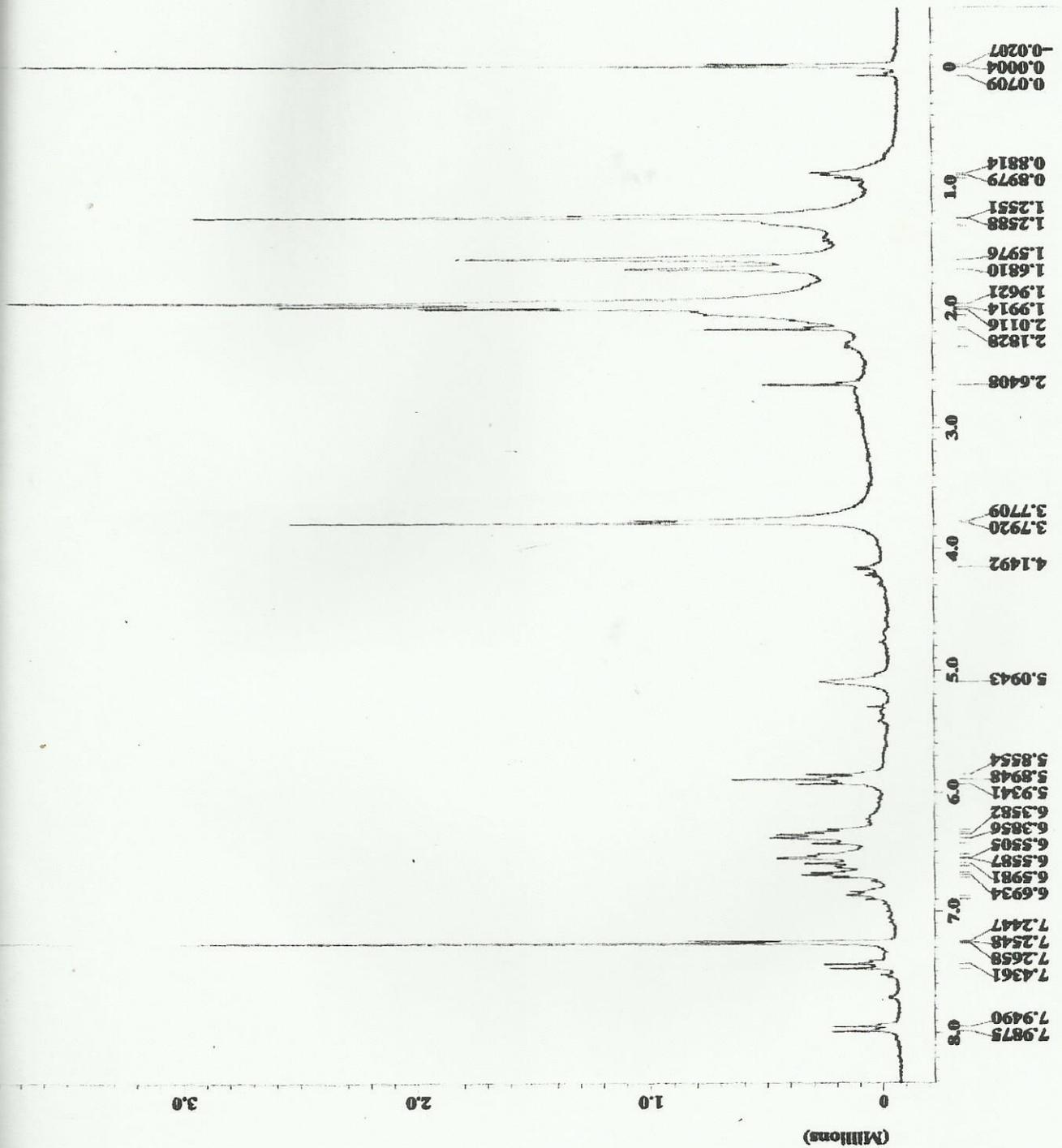
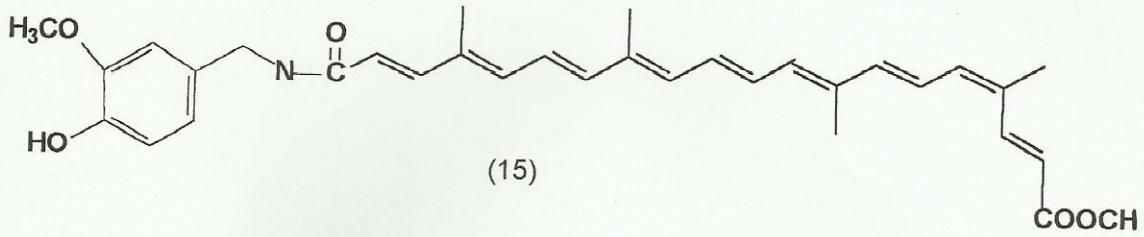
ESPECTRO DE RMN¹H DO COMPOSTO 10:



(10)



ESPECTRO DE RMN¹H DO COMPOSTO 15:



X : parts per Million : 1H