SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *N*-DECIL-O-FLAVANONAS

Ayron Marryel de Almeida Ferraz (PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Maycon Hudson Contador (PG), Jacqueline Aparecida Marques (Orientadora), e-mail: jmarques@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química

Química, Química Orgânica

Palavras-chave: Polifenóis, Hesperetina, O-alquilação.

Resumo

Entre os diversos tipos de flavonóides, as flavanonas são a classe mais abundante de compostos polifenólicos presentes nas frutas cítricas. Esses compostos são de grande interesse por possuírem atividade antioxidante, antimicrobiana e anticancerígena, dentre outras. Como exemplo desses compostos destaca-se a hesperetina, uma das flavanonas mais abundantes em frutas e vegetais. No entanto, em geral, as flavanonas ou possuem baixa absorção ou são metabolizadas antes mesmo de exercerem as atividades *in vitro* e *in vivo*. Portanto, presume-se que a preservação ou potencialização dessas atividades biológicas possa ser efetuada com modificações estruturais. Sendo assim, nesse trabalho a hesperetina passou por um processo de mono-O-alquilação para obter um derivado mais lipofílico, visando uma melhor interação com membranas celulares, alimentos e produtos com alto teor de óleos e gorduras.

Introdução

Como o Brasil é o segundo maior produtor de citrus do mundo, devido agrande produção de suco de laranja (CITRUSBR, 2016), há a produção de uma grande quantidade de resíduos do processamento destas frutas que constituem basicamente de cascas, as quais são ricas em flavanonas como a hesperidina e hesperedina (KHAN; HUMA; DANGLES, 2014; NOGATA *et al*., 2006).

Estes compostos possuem uma ampla gama de atividades biológicas como: antioxidante, anti-inflamatória (TEJADA *et al*., 2017); prevenção de decaimento cognitivo e doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão e Alzheimer, entre outras (LI; SCHLUESENER, 2015). Portanto, a hesperidina tornou-se um importante nutracêutico, ou seja, uma substância que quando ingerida exibe atividades farmacológicas, no entanto, muitas dessas propriedades são barradas pela baixa absorção deste composto (LI, Y. *et al*., 2008).

Portanto, torna-se interessante o preparo de derivados da hesperetina visando, principalmente, uma melhoria em sua absorção e, assim, produzir compostos farmacologicamente ativos. Além disso, ao se empregar este nutracêutico, que é isolado das cascas de laranja, possa se dar uma destinação a um resíduo industrial pouco aproveitado.

Materiais e Métodos

Os reagentes utilizados foram de grau analítico. As reações foram acompanhadas por CCD utilizando-se placas cromatográficas comerciais de alumínio impregnadas

com sílica gel adsorvida da Merck (Sílica gel 60 F254 0,2 mm). Na purificação por cromatografia em coluna utilizou-se sílica gel 60 (70-230 mesh). A absorção óptica no UV-Vis foi obtida em um espectrofotômetro Cary 100 da Varian utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm e 2 faces polidas. Para as reações foram utilizadas as duas flavanonas: hesperetina (aglicona) e hesperidina. Foram selecionados dois procedimentos gerais.

Síntese da 5-deciloxi-2-(3-deciloxi-4-metoxifenil)-7-O-(glicosídeo)croman-4-ona:
Para a síntese do composto alquilado do glicosídeo (hesperidina), adicionou-se a hesperidina, carbonato de potássio anidro e *N*,*N*-dimetilformamida, em um balão de fundo redondo. A mistura foi mantida sob agitação magnética a uma temperatura entre 100-110 °C por 15 minutos. Ao final desse tempo adicionou-se brometo de *n*-decila. A mistura foi mantida sob agitação e aquecimento por mais 30 minutos. Ao final desse tempo o balão foi removido do banho, a mistura foi resfriada até temperatura ambiente e filtrou-se a vácuo. O filtrado foi então transferido para um funil de separação e a fase orgânica (etérea) foi lavada com água destilada. Separou-se a fase orgânica, secou-se com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente em rotoevaporador. O produto bruto foi analisado em CCD utilizando-se como eluente uma mistura de acetato de etila e éter de petróleo (1:3). O material isolado foi caracterizado por UV-Vis e comparado com padrões da aglicona (hesperetina), do glicosídeo (hesperidina) e dados de literatura (MABRY, MARKHAM, THOMAS; 1970).

Determinação da atividade antioxidante:
Solubilizou-se os derivados poli e mono-alquilados da hesperidina em metanol; e o derivado da hesperetina em acetato de etila que, por ser mais apolar, apresentou baixa solubilidade em solventes mais polares como álcoois. Em seguida transferiu-se cada um para um balão volumétrico de 100 mL e preencheu-se com o solvente até o menisco. Logo após mediu-se 1 mL de cada flavonoide, 1,5 mL de metanol e 500 µL do reagente de sulfato de amônio e tris-(1,10-fenantrolina)ferro(II), e adicionou-se em uma placa de 12 poços. As medidas foram feitas em triplicata para cada derivado. Em seguida deixou-se incubado por 30 minutos em banho aquecido a 50 °C, e após a incubação, resfriouse até a temperatura ambiente para então terem suas absorbâncias lidas em um espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de 510 nm.

Resultados e Discussão
Na caracterização por espectroscopia de UV-Vis observou-se uma mudança muito grande nos espectros dos derivados poli e mono-alquilados da hesperidina, quando comparados ao espectro do padrão da mesma. No entanto, as bandas e os respectivos valores de comprimento de onda mostraram-se similares ao espectro de UV-Vis das chalconas (MABRY; MARKHAM; THOMAS, 1970) indicando que durante a reação de alquilação ocorreu a abertura do anel do anel C, um resultado inesperado mas bastante interessante. A grande variação de polaridade observada por CCD, e os dados de UV-Vis indicam a formação de uma chacona O-alquilada.
Já para o produto da O-alquilação da aglicona (hesperetina) observou-se o deslocamento da absorção da banda (UV-Vis) na presença de cloreto de alumínio ($AlCl_3$), porém não houve nenhum deslocamento quando foi utilizado o acetato de sódio (AcONa), o que comprova a O-alquilação na posição 7 conforme esperado. De

acordo com a literatura (MABRY; MARKHAM; THOMAS, 1970, MOON et al; 2013) o uso de acetato de sódio afeta o equilíbrio de desprotonação da hidroxila na posição 7 que é a mais ácida. Sendo assim, uma base fraca como o acetato é capaz de desprotonar apenas a hidroxila dessa posição e provocar um deslocamento batocrômico de cerca de 34 a 36 nanômetros na banda II. Já o ombro localizado geralmente entre 300 e 350 nm não foi observado, indicando que a posição está alquilada. Posteriormente foram realizados os ensaios de capacidade antioxidante, obtendo-se os seguintes resultados mostrados na Tabela 1.

Tabela 1– Determinação da atividade antioxidante, com os três derivados dos flavanonas.

Composto	Absorbância	Poder Redutor (g/L)	Poder Redutor (%)	Média
T	0,3696	0,005861	0,488376	
T	0,4022	0,006777	0,564773	54%
T	0,4053	0,006864	0,572038	
M	0,4268	0,007469	0,746907	
M	0,3867	0,006341	0,634139	88%
M	0,6094	0,012604	1,260405	
P	0,4883	0,009199	0,766545	
P	0,5422	0,010714	0,892857	95%
P	0,6646	0,014156	1,179696	

As avaliações iniciais mostraram uma maior atividade antioxidante para o derivado poli-alquilado da hesperidina, e a abertura do anel C melhorou a solubilidade quando comparado aos demais derivados e a hesperidina. Já o derivado mono-alquilado da hesperetina apresentou atividade ligeiramente menor e solubilidade maior em solventes apolares. A caracterização por espectroscopia de RMN será determinante para confirmação dos resultados obtidos na caraterização por espectroscopia de UV-Vis.

Conclusão

As caracterizações por espectroscopia de UV-Vis indicaram a mono-alquilação da hidroxila na posição 7 da hesperetina, portanto, as condições reacionais utilizadas foram adequadas e a capacidade antioxidante não foi comprometida. Conforme previsto, a solubilidade desse derivado diminuiu em solventes polares e mostrou-se maior em solventes apolares. Portanto, os compostos mono ou poli-alquilados constituem derivados de baixo custo obtidos de flavonoides de origem natural, com potencial uso como antioxidantes em alimentos ou como nutracêuticos.

Agradecimentos

A UEPG; ao Grupo de Síntese e Caracterização Espestroscópica de Compostos Orgânicos e Materiais (GSCECOM); aos órgãos de fomento: SETI FUNDO PARANÁ, Capes/PROAP e Fundação Araucária, pelo apoio financeiro.

Referências

BERKER, K. et al. Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, *batho*-phenanthroline,

tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. **Talanta**. 72 (3), 1157-1165, 2007.
CITRUS BR. Mundo: Exportações totais de suco de laranja em toneladas de FCOJ equivalente e milhares de US$ FOB. Disponível em: <www.citrusbr.com/download/Relatorio_julho_2016_ano_safra_2.pdf>. Acesso em: 15 de agosto de 2017.
KHAN, M. K.; HUMA, Z. E.; DANGLES, O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, 33, 85-104, 2014.
LI, C.; SCHLUESENER, H. Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 57 (3), 613-631, 2015.
LI, Y. et al. In Vivo Pharmacokinetics of Hesperidin Are Affected by Treatment with Glucosidase-like BglA Protein Isolated from Yeasts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56 (14), 5550-5557, 2008.
MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. The Systematic Identification of Flavonoids. New York: Springer-Verlag, 1970, p. 40, 165-167.
MOON, S. H. et al. Antimicrobial Effect of 7-O-Butylnaringenin, a Novel Flavonoid, and Various Natural Flavonoids against *Helicobacter pylori* Strains. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 10, 5459-5469, 2013.
NOGATA, Y. et al. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. 70 (1), 178-192, 2006.
TEJADA, S. et al. Potential anti-inflammatory effects of hesperidin from the genus Citrus. **Current Medicinal Chemistry**. 24, 2017.