



Preparação do análogo da Capsaicina em larga escala com vistas a desenvolvimento de microcápsulas

Preparation of the Capsaicin analog on a large scale with a view to the development of microcapsules

Alexandre Engel Visentin¹, Gabriela Cassim Rissi², Clara Cristina Ansolin³, Alessandra Machado-Lunkes⁴

RESUMO

A capsaicina é a principal representante dos capsaicinóides, é responsável pela pungência, toxicidade e efeitos benéficos à saúde, desta forma o manuseio deste composto é difícil, devido ao risco de intoxicação. Sendo assim, realizou-se um estudo sobre moléculas análogas, as quais não possuem pungência e toxicidade, mas têm seus efeitos benéficos preservados e assim, faz-se necessário realizar a síntese destes compostos. O trabalho tem como objetivo sintetizar o cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina, para posteriormente preparar a *N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)hexanamida, o qual é um dos análogos da capsaicina e ainda realizar a caracterização química por *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Para a síntese do cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina, realizou-se a conversão de um aldeído para uma oxima e posteriormente a redução desta oxima para uma amina. Para a síntese da amida realizou-se uma acilação seletiva entre a vanililamina e o cloreto de hexanoíla através de um sistema bifásico entre CHCl_3 e H_2O . A síntese responsável pela amina não foi realizada com a preocupação de quantificar o resultado obtido e sim de verificar a funcionalidade dos protocolos utilizados. Já a síntese responsável pela amida, pode-se concluir que o resultado foi satisfatório, pois obteve-se um rendimento e uma pureza de 99%.

PALAVRAS-CHAVE: análogo; capsaicina; síntese orgânica.

ABSTRACT

Capsaicin is the main representative of capsaicinoids, it is responsible for pungency, toxicity and beneficial health effects, so the handling of this compound is difficult, due to the risk of intoxication. Thus, a study was carried out on analogous molecules, which do not have pungency and toxicity, but have their beneficial effects preserved and thus, it is necessary to perform the synthesis of these compounds. The work aims to synthesize the hydrochloride of 4-hydroxy-3-methoxybenzylamine, to later prepare the *N*-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)hexanamide, which is one of the analogues of capsaicin and perform the chemical characterization by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). For the synthesis of 4-hydroxy-3-methoxybenzylamine hydrochloride, an aldehyde was converted to an oxime and then reduced to an amine. For the synthesis of amide, a selective acylation between vanillamine and hexanoyl chloride was performed through a biphasic system between CHCl_3 and H_2O . The synthesis responsible for the amine was not performed with the concern of quantifying the result obtained, but of verifying the functionality of the protocols used. As for the synthesis responsible for amide, it can be concluded that the result was satisfactory, a yield and purity of 99% were obtained.

KEYWORDS: analog; capsaicin; organic synthesis.

¹ Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: alexandrevisentin@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 7471224421657930.

² Bolsista voluntário. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: gabrielacassimrissi@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 6309266067430826.

³ Bolsista voluntário. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: claraansolin@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2613460257302753.

⁴ Docente no Departamento Acadêmico de Química e Ciências Biológicas. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: amachado@utfpr.edu.br. ID Lattes: 9970617360931344.



INTRODUÇÃO

Durante décadas, as plantas têm sido utilizadas como objeto de estudo pelas pessoas com o objetivo principal de tratar problemas referentes à saúde, devido a riqueza de compostos orgânicos e inorgânicos benéficos para o ser humano (PEDROSO *et al.*, 2021). Com o passar dos anos, com o avanço da ciência e do entendimento das substâncias que estavam por trás desses efeitos, foi possível isolar estes compostos químicos e transformá-los em medicamentos (ATANASOV *et al.*, 2021). Sendo assim, é uma área que possui um grande potencial de promover qualidade de vida para as pessoas (PEREIRA *et al.*, 2012).

Neste contexto, as pimentas do gênero *Capsicum*, têm sido estudadas devido ao fato de possuírem uma vasta variedade de espécies, sendo possível citar as principais espécies, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. annum*, *C. baccalum*, *V. pendulum* (BARBOSA *et al.*, 2002; HERNÁNDEZ-PÉREZ *et al.*, 2020). Estas possuem diversas substâncias químicas em sua composição, dentre elas pode-se citar as mais relevantes, os alcalóides, carotenóides, compostos voláteis, flavonóides, capsaicinóides (ANTONIO *et al.*, 2018).

O principal representante dos capsaicinóides, que é a capsaicina, é responsável pela pungência e toxicidade das pimentas vermelhas, o que torna o manuseio desta substância complicado (SRINIVASAN, 2015; XIANG *et al.*, 2021). Desta forma, há a necessidade de estudar a estrutura química da capsaicina com o intuito de conseguir moléculas análogas sem os efeitos colaterais desagradáveis.

Sendo assim, de acordo com CASTILLO *et al.*, 2007, os análogos da capsaicina que possuem uma cadeia carbônica menor que seis ou maior que doze carbonos perdem as características desagradáveis, ou seja, perdem a pungência e toxicidade e mantem os efeitos benéficos à saúde. Possuem como efeito benéfico a ação anti-inflamatória, analgésica, anticancerígena, antioxidantes e auxílio na perda de peso (LUO; PENG; LI, 2011; HERNÁNDEZ-PÉREZ *et al.*, 2020).

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo sintetizar o cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina, para posteriormente preparar a *N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)hexanamida, o qual é um dos análogos da capsaicina e ainda realizar a caracterização química por *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

MATERIAIS E MÉTODOS

SÍNTESE DO CLORIDRATO DE 4-HIDRÓXI-3-METÓXI-BENZILAMINA

Para a síntese da oxima, adicionou-se o cloridrato de hidroxilamina (CAQ, Brasil), álcool metílico (VETEC, Brasil), a solução de hidróxido de sódio (Dinâmica, Brasil) e colocou-se a solução para agitação. Após adicionou-se a 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), deixou-se sob agitação com aquecimento a 70 °C e realizou-se o acompanhamento da síntese com o auxílio da cromatografia em camada delgada. Para a extração da oxima, adicionou-se o produto em um funil de separação (FORTLABOR, Brasil) e realizou-se a extração com acetato de etila (NEON, Brasil). Utilizou-se sulfato de magnésio (ISOFAR, Brasil) para retirar qualquer molécula de água restante e levou-se ao rota-evaporador (Fisatom, Brasil) (JIANG *et al.*, 2017).

Para a redução da oxima, preparou-se uma solução de oxima, álcool metílico, formiato de amônio (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) e zinco em pó (Sigma-Aldrich, Estados



Unidos). Manteve-se a mistura sob agitação e refluxo, e realizou-se o acompanhamento da reação com o auxílio da cromatografia em camada delgada. Para a extração do cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina, filtrou-se o produto utilizando funil de Buchner. Com o auxílio do clorofórmio, transferiu-se o produto para o funil de separação. Realizou-se a lavagem do produto com solução salina saturada a 80% e com água destilada. Utilizou-se sulfato de magnésio (ISO FAR, Brasil) para retirar qualquer molécula de água restante e levou-se ao rota-evaporador (Fisatom, Brasil) (ABIRAJ *et al.*, 2003).

SÍNTESE DA N-(4-HIDRÓXI-3-METÓXIBENZIL)HEXANAMIDA

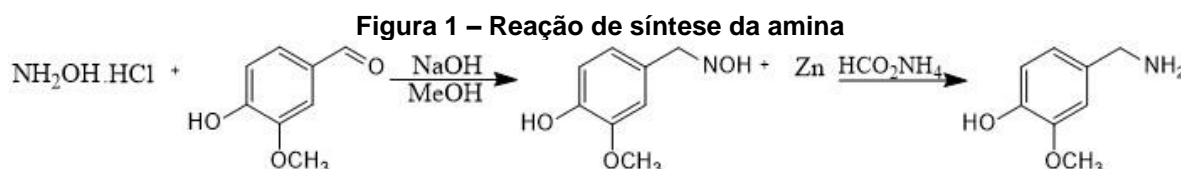
Para a síntese da N-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)hexanamida, adicionou-se o cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), o bicarbonato de sódio (Dinâmica, Brasil) e água destilada, deixou-se sob agitação a uma temperatura de 20 °C. Após os trinta minutos, adicionou-se o clorofórmio (Dinâmica, Brasil). Depois dos quinze minutos, adicionou-se a solução de clorofórmio com cloreto de hexanoíla (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) e manteve-se a agitação e o aquecimento. Após os trinta minutos, aqueceu-se a solução entre 35-40 °C e realizou-se o acompanhamento da síntese com o auxílio da cromatografia em camada delgada. Para a extração da síntese, adicionou-se o produto em um funil de separação (FORTLABOR, Brasil) e então lavou-se o balão com clorofórmio. Com a fase orgânica no funil de separação, lavou-se utilizando ácido clorídrico a 2% e solução salina a 20%. Utilizou-se sulfato de magnésio anidro (ISO FAR, Brasil) para retirar qualquer molécula de água restante, e levou-se ao rota-evaporado (Fisatom, Brasil) (WANG *et al.*, 2009).

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Realizou-se a caracterização do análogo desenvolvido em laboratório através de cromatografia de alta performance (Dionex U300 da UTFPR - Francisco Beltrão), possuindo uma coluna de fase reversa Vydac 218 TP C18 analítica (0,45 x 25,0 cm tamanho da partícula de 5 µm e de poro de 300 Å).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A síntese do cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina trata-se da conversão do 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído para uma amina através de um intermediário conhecido como oxima. O protocolo descrito por JIANG *et al.*, (2017) não possibilitou a obtenção do cloridrato de 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina, utilizou-se o protocolo descrito por ABIRAJ *et al.*, (2003) para obter o produto desejado, como está sendo representado na Figura 1.



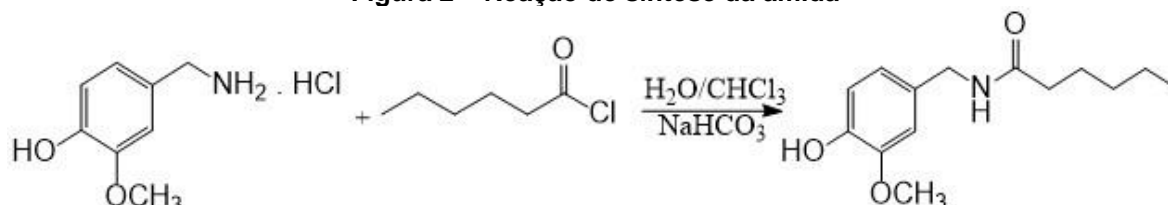
Fonte: Autores (2023)

Os rendimentos não foram computados, porque as reações foram realizadas com o intuito de verificar se os protocolos funcionariam, sem a preocupação de quantificar o resultado obtido. Já sobre a síntese da N-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)hexanamida, trata-se



de uma acilação seletiva da vanililamina com um cloreto ácido, como está sendo representado na Figura 2.

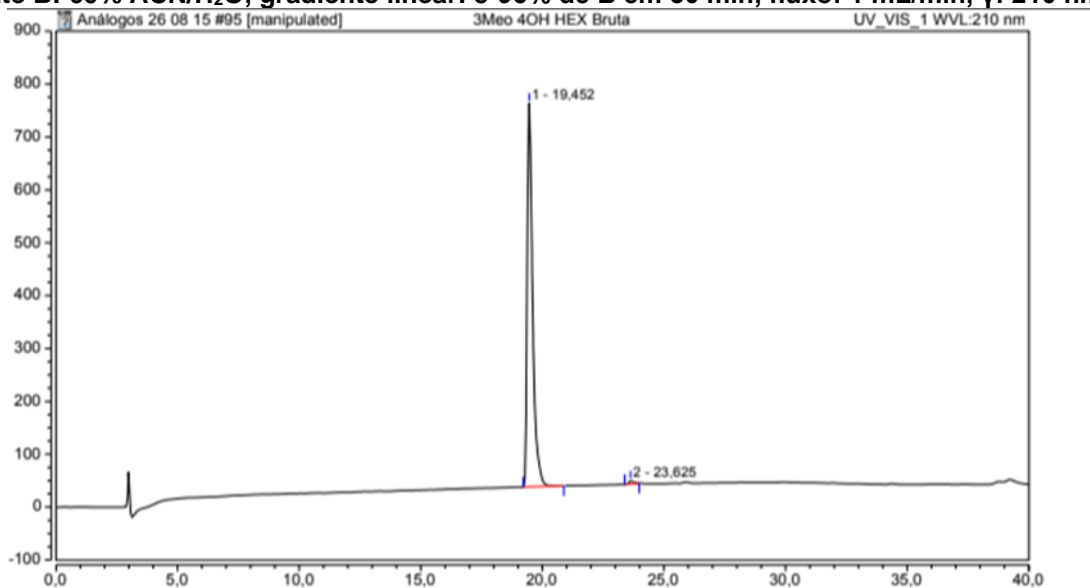
Figura 2 – Reação de síntese da amida



Fonte: Adaptado (WANG *et al.*, 2009)

Nesta reação, o sistema bifásico usando CHCl₃/H₂O é responsável por minimizar as reações paralelas (hidrólise do cloreto ácido ou esterificação da hidroxila fenólica) e assim a condensação do cloreto de hexanoíla com a vanililamina gera a amida correspondente desejada (WANG *et al.*, 2009). Com a utilização deste protocolo, a síntese da N-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)hexanamida ocorreu de forma eficiente, onde obteve-se um produto com 99% pureza, como mostra a Figura 3. O rendimento final foi de 99% e não houve a necessidade de realizar uma purificação.

Figura 3 – HPLC do produto bruto. Condições experimentais: Solvente A: 0,1% TFA /H₂O, solvente B: 60% ACN/H₂O, gradiente linear: 5-95% de B em 30 min, fluxo: 1 mL/min, γ: 210 nm



Fonte: Autores (2023)

Tomando como base o trabalho realizado por ZANOTTO (2016), o qual obteve um tempo de retenção de 22,8 minutos e o resultado obtido através do cromatograma, que indica um tempo de retenção de 19,45 minutos, a diferença no tempo de retenção do composto pode ser atribuída ao fato das marcas, dos modelos dos equipamentos e das colunas utilizadas para realizar o HPLC serem diferentes. Por exemplo, ZANOTTO (2016) utilizou um cromatógrafo da marca *Thermo Scientific*, uma coluna de fase reversa utilizada foi uma ACE 221-2546 C18-300 analítica (0,45 x 25,0 cm tamanho da partícula de 4,6 μm e poro de 300 Å).



CONCLUSÃO

A amina precursora ainda está em fase de preparação em larga escala, mas neste trabalho a rota sintética de produção do análogo foi estabelecida. A *N*-(4-hidróxi-3-metóxi-benzil)hexanamida foi obtida com rendimento de 99% e pureza de 99%.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio através da bolsa de iniciação científica. Ao auxílio financeiro para este trabalho oriundo do edital PROPPG – 07/2022 - PAPCDT. Ao servidor João Paulo Fernando Mileski pelas análises no cromatógrafo líquido.

Conflito de interesse

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

ABIRAJ, Keelara.; GOWDA, Channe D. Zinc/ammonium formate: a new facile system for the rapid and selective reduction of oximes to amines. **Journal of Chemistry Research**, v. 6, p. 332-334, 2003.

ANTONIO, Ananda da Silva *et al.* The genus: Capsicum: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. RSC Advances. **Royal Society of Chemistry**, 2018.

ATANASOV, Atanas *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Review Drug Discovery**, v. 20, p. 200–216, 2021.

BARBOSA, Reinaldo Imbrozio *et al.* Pimentas do gênero Capsicum cultivadas em Roraima, Amazônia Brasileira. I. Espécies domesticadas. **Acta Amazonica**, v. 32, n. 2, p. 177–177, abr. 2002.

CASTILLO, Edmundo *et al.* Lipase-catalyzed synthesis of pungent capsaicin analogues. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1202-1208, 2007.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, Talía *et al.* Capsicum annum (hot pepper): An ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 19, n. 6, p. 2972– 2993, 2020.

JIANG, Long *et al.* Design and synthesis of neolamellarin a derivative targeting heat shock protein 90. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 24-33, 2017.



KAGA, Harumi *et al.* A general and stereoselective synthesis of the capsaicinoids via the orthoester Claisen rearrangement. **Tetrahedron**, v. 52, n. 25, 8451–8470, 1996.

LUO, Xiu-Ju *et al.* Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology**, v. 650, n. 1, p. 1-7, 2011.

PEREIRA, Érico Felden *et al.* Qualidade de vida: abordagens, conceitos e avaliação. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 26, n. 2, p. 241–250, abr. 2012.

PEDROSO, Reginaldo dos Santos *et al.* Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. Physis: **Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, n. 2, p. e310218, 2021.

SRINIVASANS, Krishnapura. Biological activities of red pepper (*Capsicum annum*) and its pungent principle capsaicin: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 9, p. 1488–1500, 2015.

WANG, Bo *et al.* Highly efficient synthesis of capsaicin analogues by condensation of vanillylamine and acyl chlorides in a biphasic H₂O/CHCl₃ system. **Tetrahedron**, v. 65, n. 27, p. 5409–5412, 2009.

XIANG, Qunran *et al.* Capsaicin—the spicy ingredient of chili peppers: A review of the gastrointestinal effects and mechanisms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 755–765, 2021

ZANOTTO, Aline Wasem. **EMPREGO DE COMPOSTOS AMÍDICOS PARA O CONTROLE DE PENICILLIUM EXPANSUM EM MAÇÃ**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2016.