

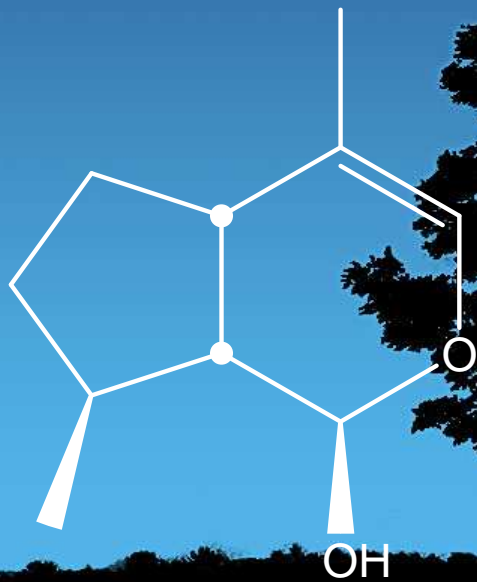
Chimica delle Sostanze Organiche Naturali

Iridoidi

Martina Paro 5SA Ylenia Vinetti 5SB

I.I.S "A.Maserati" Voghera

Il termine *iridoide* deriva dal nome di un genere di formiche (*Iridomyrmex*) che utilizzano **iridomirmecina** e **iridodiale** nei loro **secreti difensivi**.



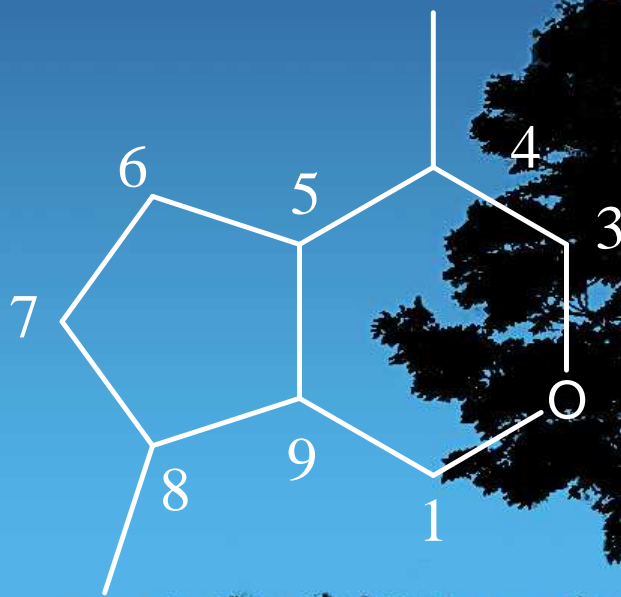
Iridodiale



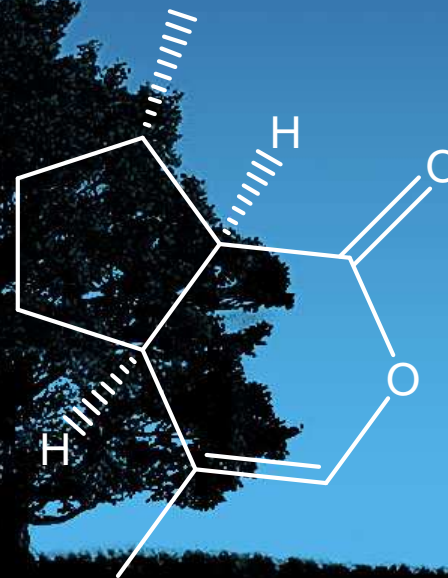
Iridomirmecina

Struttura

Lo scheletro degli iridoidi è di origine monoterpeneica, formato cioè da 10 atomi di carbonio e contiene un anello ciclopentanico generalmente fuso ad un anello tipo glucosio, come ad esempio nel nepetalattone da *Nepeta Cataria* un attrattore sessuale ed eccitante per gatti!

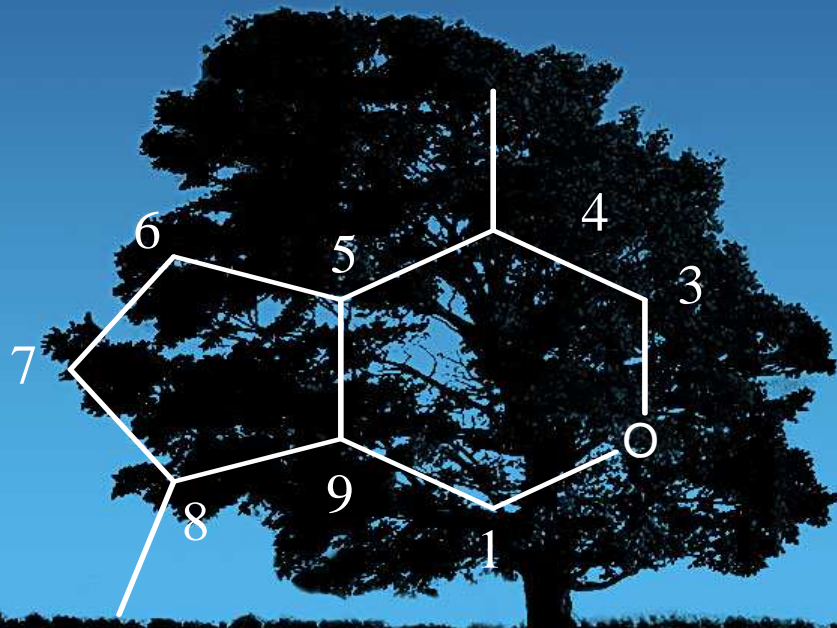


Iridoidi



nepetalattone

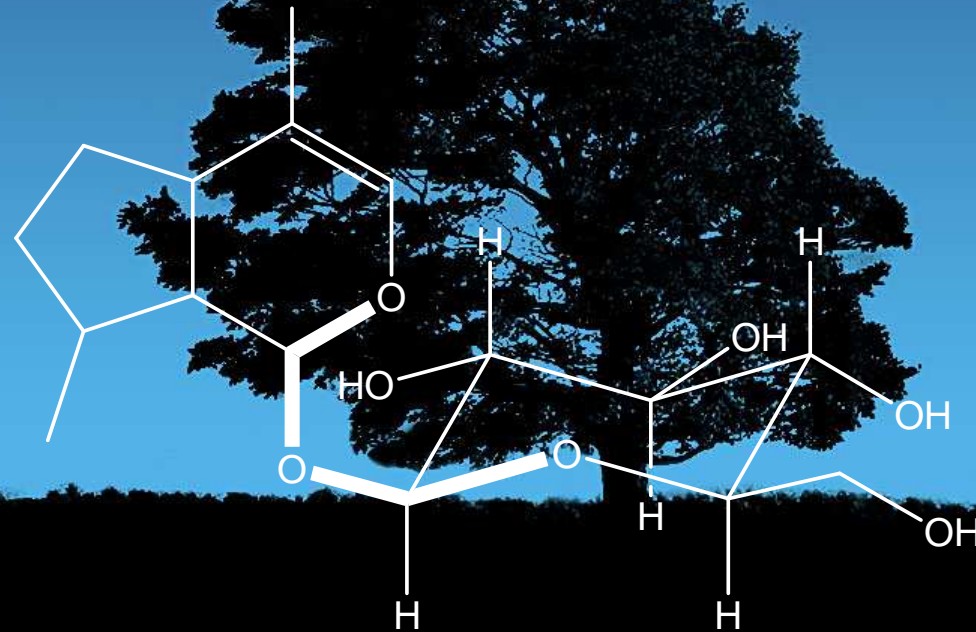
Gli iridoidi naturali (più di 500!) hanno spesso una struttura caratterizzata dalla presenza di un **doppio legame C-C** in posizione **3-4**, quasi sempre accompagnato da un **gruppo ossidrilico (-OH)** sul carbonio **1** e **7**. Frequentemente in posizione **1** o **3** si trova un **carbonile (C=O)**.



Iridoidi

Molti di questi composti sono **glicosidi** (legati a zuccheri).

Gli iridoidi presentano la peculiarità, molto rara in altre classi di composti, di essere dei **doppi acetali**. Questa caratteristica conferisce loro stabilità.



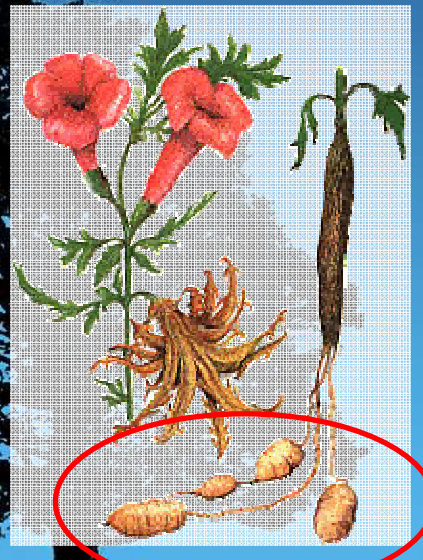
Iridoidi ed attività farmacologica

Gli iridoidi glicosidici presentano **attività biologiche** anche nei confronti dell'organismo umano.

Un esempio è dato dagli iridoidi estratti dai frutti della *Gardenia jasminoides* che sono stati utilizzati nella medicina tradizionale cinese per il trattamento dell'**itterizia** da processi infiammatori ed in alcune **patologie epatiche**



Gli iridoidi glicosidici che sono i **costituenti principali** dell'estratto del tubero secondario dell'**artiglio del diavolo** (*Harpagophytum procumbens*) sembrano essere i responsabili dell'**effetto antidolorifico** nei casi di **reumatismi degenerativi**.





Esperimenti farmacologici hanno evidenziato anche un **effetto analgesico, antiflogistico e antinfiammatorio**, come per esempio nel *Viticis fructus*, utilizzata nella medicina tradizionale giapponese e cinese nel trattamento del raffreddore e dell'emicrania.

Alcuni iridoidi glucosidici si sono dimostrati essere i responsabili dell'attività antivirale di certe piante medicinali come la *Barleria prionitis* L.



Gli estratti di questa pianta, distribuita in Africa, India, Sri Lanka e Asia tropicale, vengono assunti oralmente per il trattamento della febbre, della bronchite e della tosse di origine virale da *Syncytial virus*.

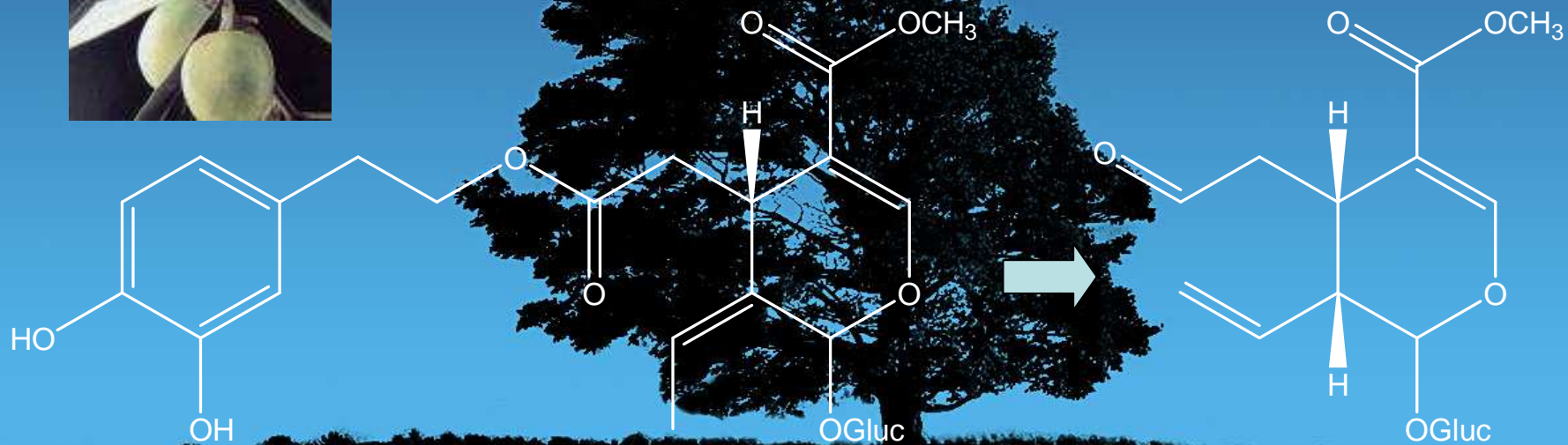
Un altro aspetto particolarmente interessante degli iridoidi glicosidici è rappresentato dall'abilità di regolare l'espressione di alcuni importanti geni umani, come il VEGF, l'EPO e l'HIF-1.

Il Picroliv, una frazione di iridoidi glicosidici estratta dalle radici della *Picrorhiza kurrooa*, è risultato essere un agente protettivo nei confronti dei danni cellulari prodotti in seguito ad ipossia riducendo l'attivazione del VEGF e del HIF-1.

Il picroliv è inoltre utilizzato come epatoprotettore, agente antinfiammatorio, antiallergico ed antiossidante.



Un particolare secoiridoide glicosidico, l'oleuropeina, si trova nell'olivo (*Olea europaeae*): esso possiede attività antivirale, antibatterica, antimalarica, antinfiammatoria, antiossidante, vasodilatatrice ed ipotensiva.



secologanina

La *valeriana officinalis* è una pianta perenne distribuita in tutta Europa di cui si adoperano le radici, che vanno accuratamente essiccate a - 40 °C per minimizzarne la decomposizione. In esse sono stati identificati una serie di **iridoidi** che sono responsabili dell'**attività sedativa e tranquillanti**.

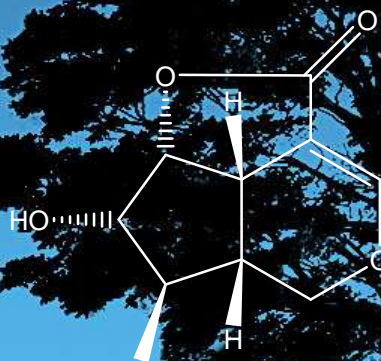


Valeriana officinalis

Durante il nostro stage abbiamo seguito Alessandro D'Alfonso, un laureando all'ultimo anno di specialistica che si occupa, appunto, degli iridoidi e della loro sintesi in laboratorio.

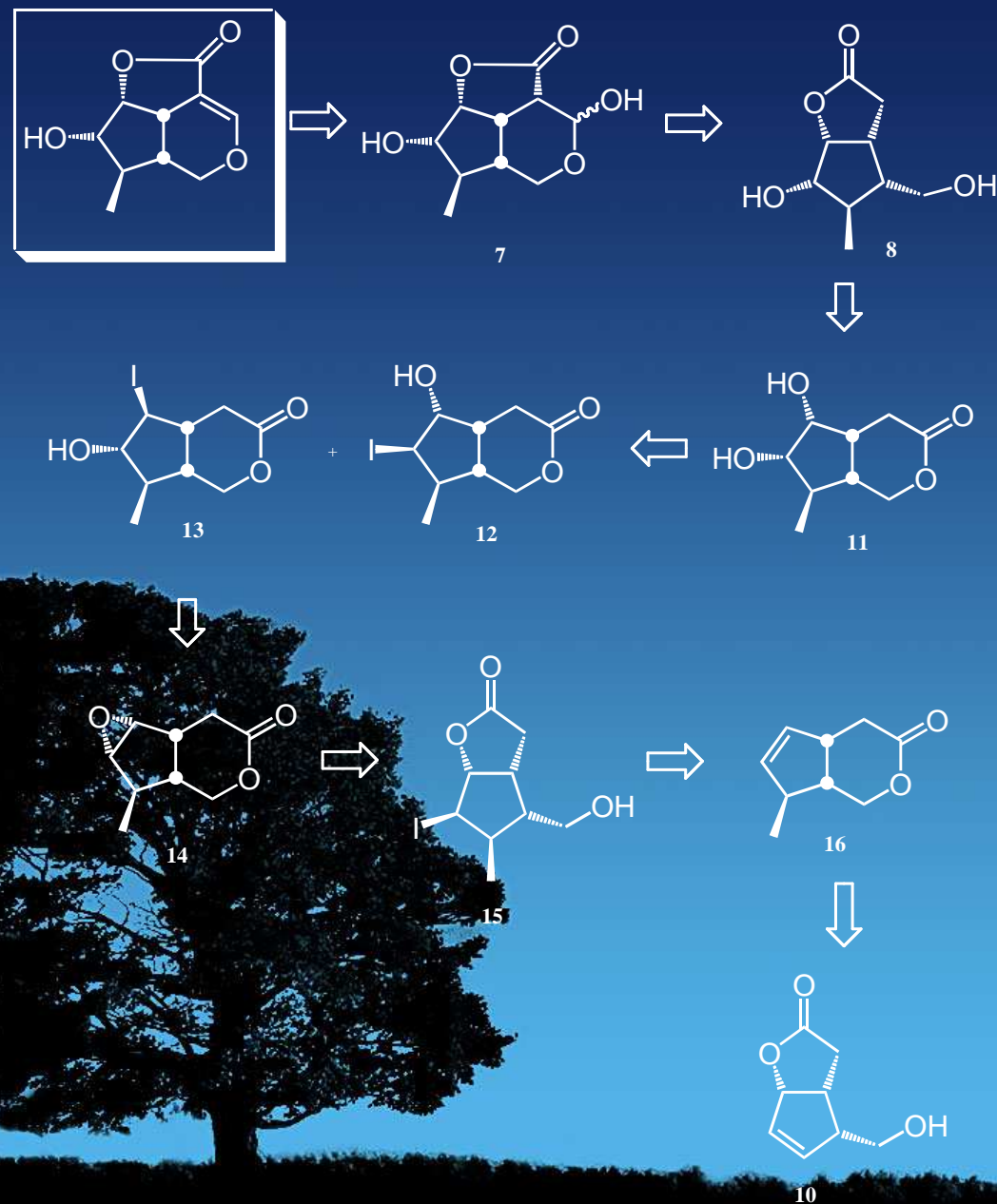
La sintesi di composti naturali estratti da organismi viventi è utile per lo sviluppo delle conoscenze nella sintesi organica e, soprattutto, per lo sviluppo di nuovi farmaci.

L'iridoide di cui abbiamo seguito in parte la sintesi è il **9-deossigelsemide**

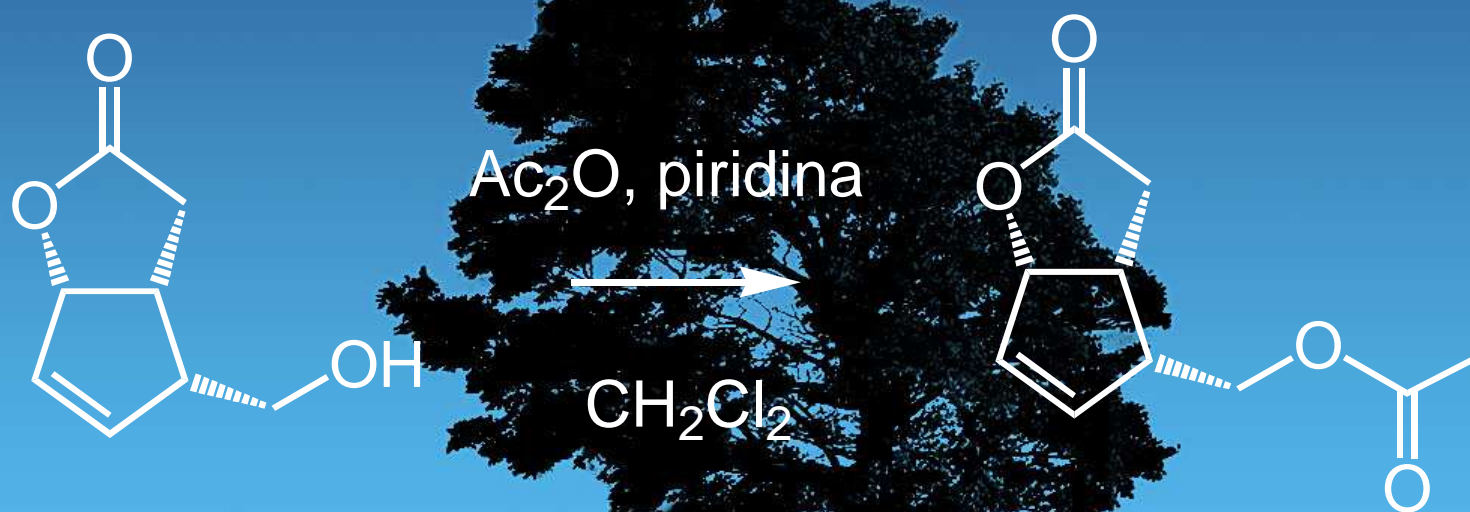


9-deossigelsemide

Poiché il nostro stage è stato di breve durata abbiamo potuto assistere e partecipare a una piccola parte di questa complessa catena di sintesi, che può richiedere mesi e a volte anni per essere portata a termine.



Una delle reazioni a cui abbiamo potuto partecipare attivamente è l'**acetilazione**, ossia la trasformazione di un alcol (-OH) nel corrispondente estere (-COOR) dell'acido acetico:



Procedimento

Abbiamo sciolto il composto in un pallone a due colli in CH_2Cl_2 (10 mL) e raffreddato a 0°C la soluzione così ottenuta usando un bagno a ghiaccio.

Mantenendo la miscela di reazione in agitazione con un agitatore magnetico, abbiamo aggiunto anidride acetica, piridina e una punta di spatola di dimetilamminopiridina (DMAP). Quest'ultima ha il ruolo di rendere sensibilmente più veloce la reazione permettendo la trasformazione dell'anidride acetica in un intermedio molto più reattivo

La reazione è stata effettuata utilizzando precauzioni per evitare l'ingresso di umidità nell'ambiente di reazione. L'anidride acetica risulta infatti instabile all'acqua decomponendosi in acido acetico.

Work-up

Quando la reazione è terminata è stata diluita con diclorometano e spenta per aggiunta di una soluzione 1.2 M di HCl.

La miscela di reazione è stata quindi posta in un imbuto separatore dove le due fasi sono state separate.

Quella organica sottostante (il CH_2Cl_2 è più denso dell'acqua) è separata dalla fase acquosa sovrastante.

La fase acquosa è lavata per tre volte con CH_2Cl_2 , quindi le fasi acquose sono seccate su MgSO_4 allo scopo di allontanare l'acqua residua rimasta nella fase organica.

MgSO_4 viene filtrato e il solvente allontanato al rotavapor a dare il grezzo di reazione.

Purificazione cromatografica

Il grezzo di reazione è stato sottoposto a purificazione su colonna cromatografica usando come fase stazionaria gel di silice. Questa tecnica di purificazione permette di separare diversi composti sulla base delle loro polarità.

Il solvente in uscita dalla colonna (esano/acetato di etile 7/3) è stato raccolto in provette.

L'analisi TLC delle varie provette ha permesso di individuare quelle contenenti il prodotto desiderato oltre che di valutare l'efficacia della purificazione (l'eventuale presenza di altre macchie sulla lastrina TLC indicherebbe una purificazione non ottimale).

Le provette contenenti il prodotto desiderato sono riunite in un pallone e il solvente è stato allontanato al rotavapor. Il prodotto finale è ottenuto sotto forma di olio trasparente.

Il prodotto ottenuto è stato sottoposto ad una serie di analisi al fine di confermarne la struttura e di valutarne la purezza:

- la SPETTROSCOPIA NMR

- la GASCROMATOLOGRAFIA (GC)

- la SPETTROMETRIA DI MASSA (GC-MS)

- la SPETTROSCOPIA INFRAROSSA (IR)



LA SPETTROSCOPIA ^1H -NMR

La spettroscopia ^1H -NMR è forse la tecnica più utilizzata per la caratterizzazione di composti organici.

Il funzionamento di questo strumento è basato sull'assorbimento di radiazioni elettromagnetiche da parte di composti organici immersi in un campo magnetico.

Ciascun idrogeno presente nel composto fornisce un segnale nello spettro NMR. La posizione del segnale all'interno dello spettro unitamente alla sua forma e al suo integrale permettono al chimico organico di trarre importanti informazioni.

Lo spettro del composto è compatibile con la sua struttura e l'assenza di segnali dovuti ad altri composti è indicativa della buona purezza del composto da noi ottenuto



La gascromatografia

Il **gascromatografo** è uno strumento in grado di separare i composti all'interno di una miscela.

La miscela complessa viene introdotta tramite una siringa nell'iniettore dove viene vaporizzata istantaneamente. Qui il campione vaporizzato incontra un flusso di gas (elio o azoto) che lo trascina all'interno della colonna nella quale avviene la separazione.

Il flusso di gas in uscita dalla colonna viene convogliato in un rivelatore chiamato FID (Flame Ionization Detector), il quale è costituito da una vera e propria fiammella alimentata da idrogeno e aria.

Il FID fornisce un segnale direttamente proporzionale alla quantità di sostanze organiche in uscita dalla colonna. Questo segnale viene registrato in funzione del tempo su un particolare grafico chiamato cromatogramma.

Fissate le condizioni di temperatura all'interno dello strumento e il tipo di colonna utilizzata, ogni sostanza avrà un tempo di permanenza in colonna (detto *tempo di ritenzione*) caratteristico, ossia ogni sostanza impiegherà sempre lo stesso tempo a percorrere la colonna dall'iniettore al rivelatore e potrà così essere identificata.

L'iniezione di una soluzione del composto da noi sintetizzato in GC usando due diverse colonne e diverse condizioni di temperatura ha portato sempre ad osservare un solo picco. Questo fa supporre che il composto da noi preparato presenti una buona purezza.



GC - MS

Il gascromatografo può anche essere collegato ad uno spettrometro di massa, il quale fornisce molto più informazioni di un GC-FID.

Questo strumento oltre a rivelare l'intensità in funzione del tempo di ritenzione, permette anche una identificazione dei picchi. Infatti ogni molecola in uscita dalla colonna viene "frammentata" da un flusso di elettroni in ioni generando uno "ione molecolare" (che fornisce l'importante informazione del peso molecolare della sostanza in questione) e altri ioni figlio.

Si ha così una sorta di "impronta digitale" della molecola e grazie ad una libreria presente nel computer, l'operatore a volte può dare un'identità alla sostanza in pochi minuti.

L'analisi del composto da noi sintetizzato con questa tecnica ci ha fatto osservare la presenza di un solo picco gascromatografico con uno spettro di massa presentante uno ione molecolare con massa compatibile con quella attesa per il composto da noi ottenuto



La spettroscopia IR

La **spettroscopia infrarossa** è una tecnica analitica che consiste nell'irraggiare il campione con una radiazione infrarossa policromatica.

Dopo aver attraversato il campione, che viene posto tra due pastiglie di NaCl, la radiazione viene rilevata da un apposito rivelatore. Molti gruppi funzionali presenti nei comuni composti organici sono caratterizzati da un ben preciso assorbimento ad una particolare lunghezza d'onda e questa informazione può essere utilizzata per comprendere la struttura della sostanza stessa.

Lo spettro IR del composto da noi sintetizzato mostra la presenza di un segnale dovuto alla presenza di un gruppo funzionale estere.

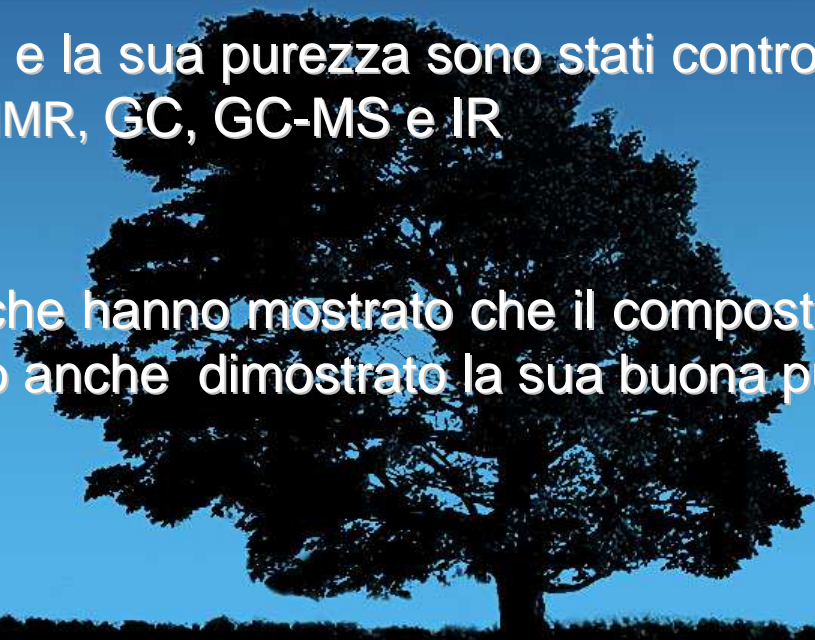


Conclusioni

In questo stage abbiamo svolto una reazione curandone tutti gli aspetti compresi lo spegnimento (work-up) e la purificazione (colonna cromatografica).

Il prodotto ottenuto e la sua purezza sono stati controllati attraverso una serie di tecniche: NMR, GC, GC-MS e IR

Tutte queste tecniche hanno mostrato che il composto ottenuto è quello desiderato e hanno anche dimostrato la sua buona purezza



UN RINGRAZIAMENTO SPECIALE PER IL LORO AIUTO E LA LORO PAZIENZA A:

Prof. Righetti Pierpaolo

Prof. Zanoni Giuseppe

Prof. Vidari Giovanni

Dott. Bruno Paolo

Dott. Boschetti Paolo

Dott. D'Alfonso Alessandro

Dott. Brunoldi Enrico

Dott. Luparia Marco

Dott. Giambelli Mirko

Dott. Porta Alessio

Dott. Marchetti Alberto

