

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DE DERIVADOS DA α -SANTONINA

Elson S. Alvarenga*, Luiz C. A. Barbosa, William A. Saliba, Francisco F. P. Arantes e Antônio J. Demuner

Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa – MG, Brasil

Antônio A. Silva

Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa – MG, Brasil

Recebido em 13/5/08; aceito em 12/9/08; publicado na web em 2/2/09

SYNTHESIS AND EVALUATION OF THE PHYTOTOXIC ACTIVITY OF α -SANTONIN DERIVATIVES. Mixtures of α -Santonin and various solvents were irradiated by either high or low pressure mercury lamps. The photochemical reactions afforded lumisantonin (**11**) (76% in acetonitrile), (3*S*,3*aS*,9*bS*)-3,6,6-trimethyl-3,3*a*,4,5-tetrahydronafto[1,2-*b*]furan-2,7(6*H*,9*bH*)dione (**12**) (100% in acetonitrile), 10*α*-acetoxy-3-oxo-1,7*α*H,6,11*β*H-guaia-4-en-6,12-olide (**8**) (26% in acetic acid), 10*α*-hydroxy-3-oxo-1,7*α*H,6,11*β*H-guaia-4-en-6,12-olide (**10**) (32%) and (*E*)-3-((3*S*,3*aS*,7*aS*)-3-methyl-2-oxo-6-(propan-2-ylidene)hexahydrobenzofuran-7-(7*aH*)-ylidene)propanoic acid (**9**) (44%) (in water/ acetic acid 1:1, v/v). Lactone **12** was also prepared by irradiation of lumisantonin in diethyl ether. Lactones **8** and **10** were converted, respectively, into the 10*α*-acetoxy-3*β*-hydroxy-1,7*α*H,6,11*β*H-guaia-4-en-6,12-olide (**13**) (87%) and 3*β*,10*α*-dihydroxy-1,7*α*H,6,11*β*H-guaia-4-en-6,12-olide (**14**) (75%) by sodium borohydride reduction. The effects of the compounds on the development of radicle of *Sorghum bicolor* and *Cucumis sativus* were evaluated.

Keywords: α -santonin; photochemistry; herbicide.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 60 anos, a indústria de agroquímicos vem constantemente disponibilizando no mercado novos compostos cada vez mais seletivos, eficientes e seguros sob o ponto de vista ambiental.¹

Produtos naturais têm sido muito utilizados no desenvolvimento de herbicidas com novos mecanismos de ação, uma vez que fitotoxinas naturais apresentam freqüentemente sítios de ação diferentes dos que são alvos comuns de herbicidas sintéticos. As fitotoxinas naturais apresentam ampla diversidade estrutural incluindo, entre outros, sesquiterpenos, compostos fenólicos, substâncias heterocíclicas.¹⁻⁴

As lactonas sesquiterpênicas representam uma classe de produtos naturais encontrados em plantas da família Asteraceae. Mais de 7000 estruturas já foram descritas, incluindo, germacranolídeos, eudesmanolídeos, pseudoguaianolídeos e guaianolídeos.⁵ Essas lactonas apresentam amplo espectro de atividades biológicas, incluindo atividades fitotóxica, inseticida e fungicida.¹ Como exemplos de lactonas sesquiterpênicas que apresentam atividade fitotóxica podem-se citar os guaianolídeos **1**, **2** e **3** provenientes de folhas de girassol (Figura 1). Os compostos **1** e **2** mostraram alta atividade inibitória sobre a germinação das sementes de alface (*Lactuca sativa*) e pouco ou nenhum efeito sobre o desenvolvimento das raízes e das partes aéreas dessa planta. Por outro lado, o composto **3**, que possui três carbonilas α,β -insaturadas, estimulou a germinação da alface e inibiu o crescimento das raízes e da parte aérea da alface.⁶

Outros exemplos de lactonas com atividade fitotóxica são os germacranolídeos **4**, **6** e **7** (Figura 2). O composto **4**, derivado do produto natural denominado Glaucolídeo B (**5**), causou forte inibição da germinação da espécie dicotiledônea *Physalis ixocarpa* (90% de inibição na concentração de 2×10^{-4} M). Já os compostos **6** e **7**, nessa mesma concentração, causaram inibição moderada da germinação da monocotiledônea *Lolium multiflorum*, (40 e 48% de inibição, respectivamente).⁷

Dando continuidade aos nossos esforços para o desenvolvimento

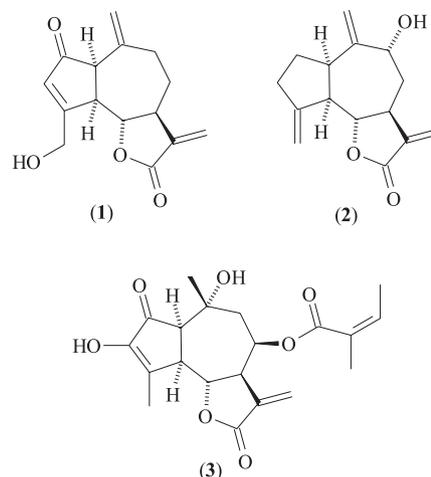


Figura 1. Exemplos de guaianolídeos que apresentam atividade fitotóxica

de novas substâncias com potencial uso como agroquímicos⁸ descrevemos neste trabalho a preparação de lactonas sesquiterpênicas derivadas da α -santonina, um sesquiterpeno isolado de *Artemisia santonica*.⁹ Reportamos também a avaliação da atividade fitotóxica destas lactonas sobre plantas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*).

PARTE EXPERIMENTAL

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-301 e não foram corrigidas. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer FTIR 1000, na região de 4000 a 500 cm^{-1} , sendo as amostras preparadas na forma de pastilhas de KBr (1% m/m). Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram obtidos em espectrômetros Varian Mercury 300 (300 MHz), Bruker DPX 200 (200 MHz) ou Bruker DRX 400 (400 MHz), utilizando-se CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna. Os valores das constantes de acoplamento (*J*) são apresenta-

*e-mail: elson@ufv.br

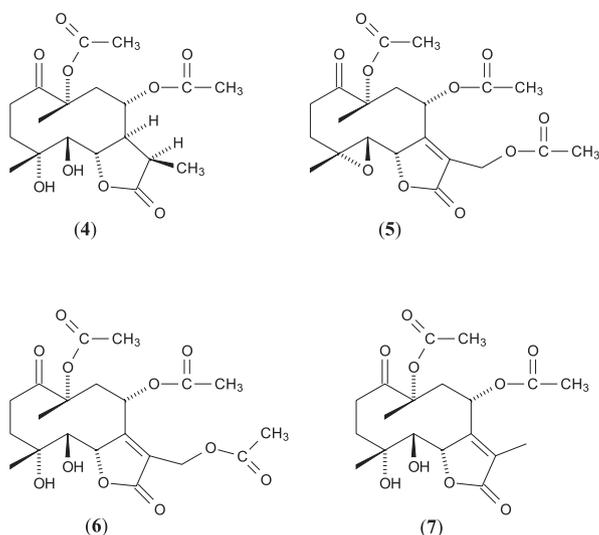


Figura 2. Exemplos de germacranolídeos que apresentam atividade fitotóxica

dos em Hz. Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro Shimadzu GCMS-QP5050A, por inserção direta, operando a 70 eV e faixa de varredura de 29-450 Da. Os solventes utilizados nas reações e nas separações por cromatografia em coluna de sílica gel foram previamente purificados e secados de acordo com os procedimentos descritos na literatura.¹⁰ Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada utilizando-se placas de sílica gel Polygram - UV₂₅₄, 0,25 mm Macherey - Nagel (MN).

Procedimentos sintéticos

10 α -acetoxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-guaia-4-en-6,12-olídeo (8)

A um reator de borossilicato (250 mL) resfriado por água corrente, foram adicionados α -santonina (3,00 g; 12,18 mmol) e ácido acético anidro (150 mL) e borbulhado nitrogênio por 30 min. A mistura foi irradiada por uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W) durante 36 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi dissolvido em metanol a quente (10 mL). Após 24 h a -17 °C, cristais brancos da lactona **8** (0,40 g) foram obtidos por filtração a vácuo e lavados com metanol resfriado a 10 °C (10 mL). O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo e o resíduo obtido foi purificado em coluna de sílica-gel (hexano/acetato de etila 2:1, v/v), fornecendo mais 0,47 g do mesmo produto (total 0,87 g; 26% de rendimento). $T_f = 174,7-175,9$ °C. IV ($\bar{\nu}_{\max}$, cm⁻¹): 2968, 2934, 2878, 1777, 1735, 1706, 1649, 1453, 1370, 1317, 1275, 1249, 1218, 1185, 1157, 1089, 1056, 1020, 987, 969, 951, 890, 848, 712. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,09 (s, 3H, H14), 1,25 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,8$, H13), 1,40 - 1,53 (m, 1H, H8'), 1,91 (s, 3H, H15); 2,00 (s, 3H, CH₃CO); 2,05 - 2,13 (m, 1H, H8); 2,15 - 2,25 (m, 2H, H7 e H9'); 2,33 (dq, 1H, $J_{11,7} = 12,2$, $J_{11,13} = 6,8$, H11); 2,40 (dd, 1H, $J_{2,2'} = 19,4$, $J_{2,1} = 2,6$, H2); 2,50 (dd, 1H, $J_{2,2'} = 19,4$, $J_{2,1} = 6,3$, H2'); 2,62 (dt, 1H, $J_{9,9'} = 13,5$, $J_{\text{vic}} = 4,4$, H9); 4,15 - 4,17 (m, 1H, H1); 4,81 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,9$, H6). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 9,4 (C15); 12,4 (C13); 20,0 (C14); 22,2 (CH₃CO); 25,3 (C8); 36,8 (C2); 37,9 (C9); 41,3 (C11); 47,2 (C1); 48,2 (C7); 81,2 (C6); 85,5 (C10); 143,2 (C4); 160,8 (C5); 170,3 (C=O, acetato); 177,0 (C12); 206,9 (C3). EM, *m/z* (%): 306 (M⁺, C₁₇H₂₂O₅, 1%), 264 (10), 246 (20), 231 (10), 173 (7), 55 (15), 43 (100).

Ácido (E)-3-((3S,3aS,7aS)-3-metil-2-oxo-6-(propan-2-ilideno)hexa-hidrobenzo furan-7-(7aH)-ilideno)propanóico (9) e 10 α -hidroxi-3-oxo-1,7 α H,6,11 β H-guaia-4-en-6,12-olídeo (10)

A um reator de borossilicato resfriado por água corrente, contendo uma mistura de água (90 mL) e acetonitrila (70 mL) foi adicionado α -santonina (1,00 g; 4,06 mmol) e borbulhado nitrogênio por 30 min. A mistura reacional foi então irradiada com uma lâmpada de mercúrio de alta pressão (125 W) por 36 h. A acetonitrila foi removida sob vácuo e a fase aquosa extraída com acetato de etila (3 x 70 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi fracionado em coluna de sílica-gel (hexano/acetato de etila 1:1 v/v) fornecendo a lactona **10** (0,39 g, 37% de rendimento) e o ácido **9** (0,13 g, 12% de rendimento) como sólidos brancos.

Em um segundo método foi empregado como solvente da reação uma mistura de ácido acético (70 mL) e água (70 mL) sendo as outras condições idênticas ao procedimento descrito anteriormente. A lactona **10** e o ácido **9** foram obtidos em 32 e 44% de rendimento, respectivamente.

Dados referentes ao composto (**9**). $T_f = 145,4-146,2$ °C. IV ($\bar{\nu}_{\max}$, cm⁻¹): 2983, 2932, 2879 1781, 1709, 1654, 1455, 1380, 1240, 1221, 1183, 1161, 1139, 1081, 1052, 1035, 1006, 935, 876, 743, 680, 624, 596, 513. RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,23 (d, 3H, $J_{12,3} = 6,9$, H12); 1,28 - 1,45 (m, 1H, H4); 1,64 (s, 3H, H13); 1,77 (d, 3H, H14); 1,77 - 1,91 (m, 2H, H3a, H5'); 1,92 - 2,06 (m, 1H, H4'); 2,34 (dq, 1H, $J_{3,3a} = 12,6$, $J_{3,12} = 6,9$, H3); 2,80 - 2,89 (m, 1H, H5); 2,98 (ddd, 1H, $J_{9,9'} = 17,4$, $J_{9,8} = 7,8$, $J_{9,7a} = 1,2$, H9); 3,03 (ddd, 1H, $J_{9,9'} = 17,4$, $J_{9,8} = 6,5$, $J_{9,7a} = 2,0$, H9'); 4,13 (dd, 1H, $J_{7a,3a} = 10,6$, $J_{7a,8} = 1,4$, H7a); 5,67 (ddd, 1H, $J_{8,9} = 7,8$, $J_{8,9'} = 6,5$, $J_{8,7a} = 1,4$, H8). RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 12,5 (C12); 20,0 (C14); 22,1 (C13); 27,4 (C4); 30,4 (C5); 33,7 (C9); 42,2 (C3); 54,2 (C3a); 83,4 (C7a); 110,4 (C8); 127,6 (C6); 131,0 (C11); 140,2 (C7); 177,5 (C2); 178,7 (C10). EM, *m/z* (%): 264 (M⁺, C₁₅H₂₀O₄, 1%), 263 (20), 218 (16), 145 (96), 73 (100), 55 (74).

Dados referentes ao composto (**10**). $T_f = 160,1-161,0$ °C. IV ($\bar{\nu}_{\max}$, cm⁻¹): 3448, 2972, 2931, 2878, 1776, 1699, 1641, 1458, 1381, 1340, 1313, 1233, 1177, 1154, 1099, 1055, 1025, 991, 965, 947, 884, 735, 708, 630. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,00 (s, 3H, H14); 1,31 (d, 3H, $J_{13,11} = 6,0$, H13); 1,40 - 1,60 (m, 1H, H8'); 1,70 - 1,88 (m, 1H, H9'); 1,90 (s, 3H, H15), 2,00 - 2,29; (m, 3H, H7, H8, H9); 2,32 (dq, 1H, $J_{11,7} = 12,2$, $J_{11,13} = 6,9$, H11); 2,50 - 2,70 (m, 2H, H2, H2'); 3,20 - 3,35 (m, 1H, H1); 4,86 (d, 1H, $J_{6,7} = 11,1$, H6). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 9,8 (C14); 12,8 (C13); 21,5 (C15); 26,1 (C8); 37,5 (C2); 41,7 (C11); 45,5 (C9); 48,7 (C7); 50,8 (C1); 74,7 (C10); 81,8 (C6); 143,3 (C4); 161,9 (C5); 177,6 (C12); 208,4 (C3). EM, *m/z* (%): 264 (M⁺, C₁₅H₂₀O₄, 90%), 221 (10), 206 (20), 193 (58), 123 (50), 55 (100).

Lumissantonina (11)

Nitrogênio foi borbulhado por 30 min em uma solução da α -santonina (0,5 g; 2,03 mmol) em acetonitrila anidra (120 mL) em um tubo de quartzo. O tubo foi tampado e imerso em banho de água gelada mantendo a temperatura da solução constante em 15 °C durante a reação. A mistura reacional foi irradiada por 4 lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão (4 x 15 W) por 6 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo recristalizado em uma mistura de hexano e acetona (aproximadamente 2:1, v/v), resultando na obtenção do composto **11** como um sólido amarelo palha (0,38 g, 76% de rendimento).

Em um outro experimento, mantiveram-se as mesmas condições de reação, exceto a temperatura que foi mantida a 70 °C por 2 h de reação. Nessas condições obteve-se a lactona (**11**) com rendimento de 76%. $T_f = 147,8-148,9$ °C. IV ($\bar{\nu}_{\max}$, cm⁻¹): 2993, 2943, 2883, 1776, 1699, 1572, 1460, 1138, 1299, 1253, 1167, 1145, 1093, 1029, 998, 830, 742, 725, 656, 534, 495. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,11 (s, 3H, H14); 1,12-1,21 (m, 1H, H9a); 1,22 (s, 3H,

H15); 1,25 (d, 1H, $J_{13,11} = 6,9$, H13); 1,57-1,69 (m, 1H, H8); 1,79-1,98 (m, 3H, H9e, H10e, H10a); 2,30 (dq, 1H, $J_{11,8} = 12,3$, $J_{11,13} = 6,9$, H11); 3,81 (d, 1H, $J_{7,8} = 10,8$, H7); 6,01, (d, 1H, $J_{4,5} = 5,7$, H4); 7,59 (d, 1H, $J_{5,4} = 5,7$, H5). RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ 7,7 (C15); 12,7 (C13); 17,5 (C14); 22,8 (C9); 29,9 (C10); 40,6 (C6); 41,5 (C11); 43,0 (C2); 49,0 (C8); 60,4 (C1); 77,9 (C7); 131,7 (C4); 158,0 (C5); 178,9 (C12); 206,9 (C3). EM, m/z (%): 246 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$, 35%); 173 (49); 145 (24); 135 (60); 107 (38); 91 (81); 77 (52); 55 (100).

(3*S*,3*aS*,9*bS*)-3,6,6-trimetil-3,3*a*,4,5-tetra-hidronafto[1,2-*b*]furan-2,7(6*H*,9*bH*)diona (**12**)

A um reator de borossilicato, resfriado com um condensador de água à temperatura ambiente, adicionou-se α -santonina (2,0 g; 8,61 mmol) e acetonitrila anidra (150 mL). A solução foi borbulhada com nitrogênio por 30 min e irradiada por 36 h utilizando-se uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (125 W). O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo fracionado em coluna de sílica-gel (hexano/acetato de etila 1:1, v/v) sendo obtido o composto **12** como um óleo amarelado (0,77 g; 39% de rendimento).

A reação foi repetida nas seguintes condições: nitrogênio foi borbulhado por 30 min em uma solução da α -santonina (2,0 g; 8,12 mmol) em acetonitrila anidra (150 mL) em um tubo de quartzo, que foi posteriormente vedado com rolha esmerilhada. A mistura reacional foi irradiada por 24 h por 4 lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (4 x 15 W) e o solvente removido sob vácuo. A lactona **12** foi obtida (2,00 g; 100%) como um óleo amarelado. IV ($\bar{\nu}_{\text{max}}$, cm^{-1}): 2972, 2935, 2876, 1783, 1698, 1661, 1626, 1561, 1459, 1380, 1334, 1300, 1251, 1165, 1139, 1117, 1099, 1028, 997, 895, 837, 800, 653, 528. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,17 (s, 3H, H11); 1,20 (s, 3H, H12); 1,30 (d, 3H, $J_{10,3} = 6,9$, H10); 1,50 – 2,00 (m, 2H, H4, H5); 2,10 – 2,20 (m, 1H, H4'); 2,30 – 2,60 (m, 3H, H3, H3a, H5'); 3,80 (d, 1H, $J_{9b,3a} = 10,6$, H9b); 6,00 (d, 1H, $J_{8,9} = 9,6$, H8); 7,15 (d, 1H, $J_{9,8} = 9,6$, H9). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 12,7 (C10); 22,6 (C4); 24,7 (C11); 25,6 (C12); 26,2 (C5); 41,9 (C3); 48,7 (C3a); 50,2 (C6); 79,6 (C9b); 123,5 (C8); 125,3 (C9a); 138,7 (C9); 152,3 (C5a); 179,3 (C2); 206,0 (C7). EM, m/z (%): 246 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$, 2%), 55, 65, 77, 91, 107, 119, 135, 147, 161, 175, 183, 203, 217, 131, 246.

10*α*-Acetoxi-3*β*-hidroxi-1,7*α*H,6,11*β*H-guaia-4-en-6,12-olídeo (**13**)

Boroidreto de sódio (0,15 g; 4,00 mmol) foi adicionado à uma solução da lactona **8** (0,31 g; 1,01 mmol) em metanol anidro (70 mL). Após 2 h de reação sob agitação magnética, solução saturada de cloreto de amônio (70 mL) foi adicionada à mistura. O resíduo sólido foi removido por filtração, lavado com metanol (10 mL). O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida para a remoção do metanol, sendo a fase aquosa resultante extraída com acetato de etila (3 x 70 mL). A fase orgânica foi então lavada com solução saturada de cloreto de sódio (50 mL), secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo amarelado obtido foi purificado em coluna de sílica gel (hexano/acetato de etila 1:1, v/v) fornecendo o álcool **13** como um sólido branco (0,27 g; 87% de rendimento). $T_f = 106-107$ °C. IV ($\bar{\nu}_{\text{max}}$, cm^{-1}): 3434, 2970, 2933, 2873, 1770, 1726, 1456, 1369, 1250, 1216, 1180, 1153, 1124, 1087, 1055, 1017, 987, 963, 850, 801, 755, 735, 699, 607. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,16 (s, 3H, H14); 1,20 (d, 3H, $J_{13,11} = 7,2$, H13); 1,36 – 1,40 (m, 1H, H8'); 1,57 (ddd, 1H, $J_{2,2'} = 14,0$, $J_{2,1} \cong J_{2,3} \cong 6,4$, H2); 1,73 (sl, 1H, OH); 1,85 (s, 3H, H15); 1,95 (s, 3H, CH_3CO); 1,99 – 2,25 (m, 4H, H7, H8, H9', H11); 2,36 – 2,48 (m, 2H, H2', H9); 3,67 – 3,80 (m, 1H, H1); 4,48 – 4,60 (m, 1H, H3); 4,65 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,8$, H6). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 12,6 (C13); 12,7 (C15); 20,4 (C14); 22,7 (CH_3CO); 25,4 (C8); 34,8 (C2); 38,1 (C9); 41,7 (C11); 49,1 (C7); 51,4 (C1); 77,9 (C3); 81,7

(C6); 86,8 (C10); 131,3 (C5); 144,4 (C4); 170,7 (C=O, acetil); 178,5 (C12). EM, m/z (%): 308 (M^+ , $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_5$, 1%), 248 (17), 233 (35), 175 (15), 55 (20), 43 (100).

3*β*,10*α*-Diidroxí-1,7*α*H,6,11*β*H-guaia-4-en-6,12-olídeo (**14**)

Boroidreto de sódio (0,07 g; 1,87 mmol) foi adicionado a uma solução da lactona **10** (0,120 g; $4,54 \times 10^{-4}$ mol) em metanol anidro (20 mL). Após 2 h de reação sob agitação magnética, solução saturada de cloreto de amônio (20 mL) foi adicionada à mistura. O resíduo sólido foi removido por filtração, lavado com metanol (10 mL) e o filtrado foi concentrado sob vácuo para a remoção do metanol. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL), e o extrato orgânico foi lavado com solução saturada de cloreto de sódio (20 mL), secado com sulfato de magnésio anidro, filtrado e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo oleoso obtido foi fracionado em coluna de sílica gel (hexano/acetato de etila 1:5, v/v) fornecendo o composto **14** como um sólido branco (0,091 g; 75%). $T_f = 168,5-169,5$ °C. IV ($\bar{\nu}_{\text{max}}$, cm^{-1}): 3398, 2971, 2920, 2851, 1762, 1655, 1458, 1379, 1341, 1319, 1262, 1234, 1210, 1179, 1132, 1103, 1077, 865, 751, 735, 669. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (m, Int., *J*, atrib.): 1,05 (s, 3H, H14); 1,20 (d, 3H, $J_{13,11} = 7,0$, H13); 1,30 – 1,45 (m, 1H, H8'); 1,60 – 1,69 (m, 4H, 2OH, H2, H9'); 1,89 (s, 3H, H15); 1,90-2,10 (m, 3H, H7, H8, H9); 2,20 (dq, 1H, $J_{11,7} = 12,2$, $J_{11,13} = 7,0$, H11); 2,50 (dt, 1H, $J_{2,2'} = 16,0$, $J_{2,3} = J_{2,1} = 8,0$, H2'); 2,80 – 3,00 (m, 1H, H1); 4,40 – 4,60 (m, 1H, H3); 4,68 (d, 1H, $J_{6,7} = 10,8$, H6). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 12,7 (C15); 12,7 (C13); 21,9 (C14); 25,9 (C8); 35,0 (C2); 41,7 (C11); 45,1 (C9); 49,3 (C7); 54,9 (C1); 74,8 (C10); 77,9 (C3); 82,0 (C6); 132,0 (C4); 144,2 (C5); 178,4 (C12). EM, m/z (%): 266 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_4$, 1%), 264 (10), 248 (28), 193 (45), 123 (60), 55 (100).

Ensaios biológicos

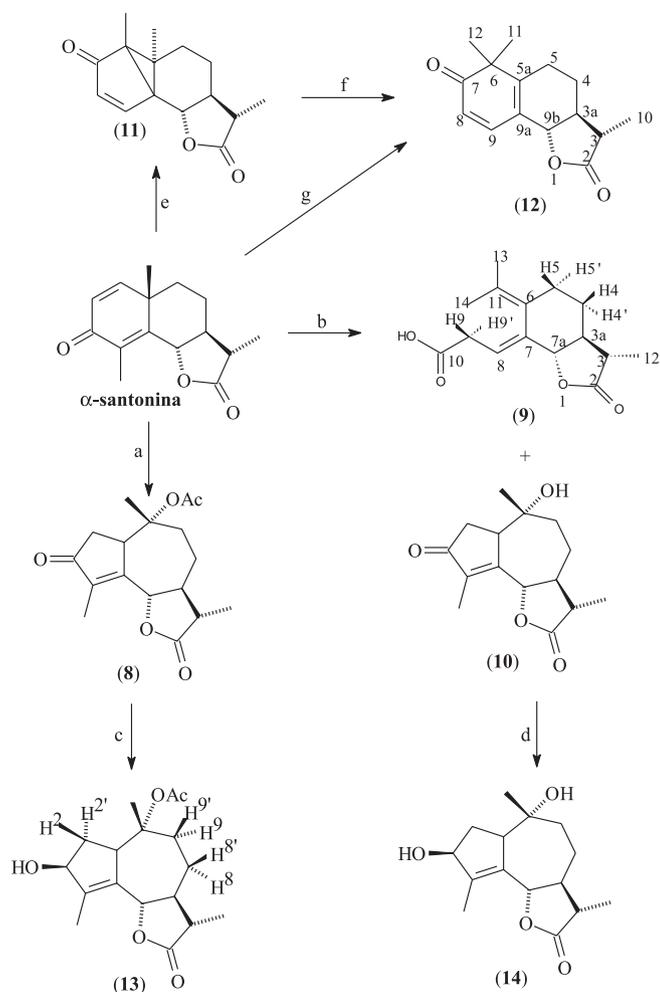
Pentan-3-ona (24 μL), xileno (48 μL), monoleato de polietileno glicol (Tween 80, 72 μL), água destilada (2 mL) e o composto avaliado (0,02 mmol) foram adicionados a um tubo de ensaio. Após este tubo ter sido agitado vigorosamente por 1 min, seu conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com água destilada. Uma mistura de mesma composição, porém sem o composto a ser avaliado, foi utilizada como controle. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições.¹¹ Cada repetição foi composta por uma placa de Petri (9 cm de diâmetro por 3 cm de altura) contendo 20 sementes de pepino (*Cucumis sativus*) ou de sorgo (*Sorghum bicolor*) mantidas sobre papel filtro embebido com 5 mL de solução de um dos compostos sintetizados na concentração de 4×10^{-4} M.

As placas de Petri foram mantidas por 72 h em estufas incubadoras a $25 \pm 0,5$ °C. Após esse período, contaram-se as sementes que germinaram e mediu-se o comprimento das raízes. A média do comprimento radicular e a porcentagem de inibição do crescimento das raízes foram calculadas em relação ao controle e os dados foram submetidos à análise de variância. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.¹²

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese

Visando a obtenção de lactonas com esqueletos guaianolídeo e eudesmanolídeo para fins de estudo de suas propriedades fitotóxicas, o produto natural α -santonina foi submetido a reações fotoquímicas sob diferentes condições. Nesse trabalho variou-se o solvente, a temperatura, a fonte de radiação e o tipo de reator, conforme apresentado no Esquema 1.



Esquema 1. a) Hg-AP/RB^a, AcOH, 25 °C, 36 h, 26%; b) Hg-AP/RB, H₂O/AcOH 1:1 v/v, 25 °C, 36 h, (9) 44%, (10) 32%; c) NaBH₄, MeOH, 2 h, 87%; d) NaBH₄, MeOH, 2 h, 75%; e) Hg-BP/RQ^b, MeCN, 70 °C, 2 h, 76%; f) Hg-BP/RQ, Et₂O, 15 °C, 12 h, 100%; g) Hg-BP/RQ, MeCN, 70 °C, 24 h, 100%; Hg-AP/RB – lâmpada de mercúrio de alta pressão/reator de borossilicato; # Hg-BP/RQ – lâmpada de mercúrio de baixa pressão/reator de quartzo

Como pode ser observado no Esquema 1 e na Tabela 1, a variação das condições de reação mencionadas, resultou na formação de produtos diferentes, ou em alguns casos observou-se apenas variação nos rendimentos dos compostos obtidos.

A irradiação da α -santonina, dissolvida em ácido acético anidro em reator de borossilicato, com lâmpada ultravioleta de alta pressão, resultou na formação do composto **8** em 26% de rendimento. Apesar

da síntese de **8** já ter sido relatada na literatura,¹³⁻¹⁷ esse composto havia sido apenas parcialmente caracterizado e nenhum relato de suas propriedades fitotóxicas foi encontrado. Em função disso, sua obtenção foi necessária no presente estudo.

O espectro no infravermelho de **8** apresentou bandas de absorção em 1783, 1729 e 1707 cm⁻¹, relativas aos estiramentos C=O da lactona, do grupo acetil e da cetona, respectivamente. O pico do íon molecular em *m/z* = 306, correspondendo à fórmula molecular C₁₇H₂₂O₅, foi observado no espectro de massas.

Por meio da análise de experimentos bidimensionais de ressonância magnética nuclear (COSY e NOESY), foi feita a atribuição completa dos sinais de todos os átomos de hidrogênio e de carbono, o que não foi relatado em trabalhos anteriores.¹³⁻¹⁷ Essa reação foi repetida várias vezes, sempre com rendimento do produto em torno de 26%.

Visando o preparo das lactonas **9** e **10** a partir da α -santonina, para fins de estudo da atividade fitotóxica, empregaram-se as condições reacionais ligeiramente diferentes das relatadas na literatura. Barton *et al.*¹³ utilizaram na reação fotoquímica uma mistura de ácido acético e água (9:11, v/v), em reator de borossilicato, mantendo a temperatura de -5 a +5 °C, e irradiação por 90 min com lâmpada ultravioleta de alta pressão. Nessas condições os autores obtiveram os compostos **9** e **10** com rendimentos de aproximadamente 16% cada.

Neste trabalho a α -santonina, dissolvida em uma mistura de ácido acético e água (1:1, v/v), em um reator de borossilicato, foi irradiada com uma lâmpada de mercúrio de alta pressão por 36 h, mantendo-se a temperatura a 25 °C. Nessas condições as lactonas **9** e **10** foram isoladas com rendimentos de 44 e 32%, respectivamente, superiores aos relatados na literatura.¹³ Não foi possível isolar e caracterizar outros subprodutos dessa reação.

A caracterização dos compostos **9** e **10** foi feita por meio das espectroscopias no infravermelho (IV), RMN de ¹H, RMN de ¹³C, dos experimentos em duas dimensões HMBC e NOESY e por meio da espectrometria de massas. A estereoquímica de tais compostos foi originalmente proposta com base em dados de raio-x.^{18,19}

Com vistas a avaliar a influência do solvente sobre o resultado da reação discutida acima, a α -santonina foi irradiada com a lâmpada de alta pressão no reator de borossilicato, utilizando-se, os seguintes solventes: mistura de acetonitrila e água (9:7, v/v) e acetonitrila pura (Tabela 1). Com acetonitrila e água foram obtidas as lactonas **10** (37%) e **9** (12%), enquanto que com o uso de acetonitrila anidra apenas o composto **12** foi isolado em 39% de rendimento.

A formação dos guaianólídeos **8** e **10** pode ser explicada, mecanicamente, pelo ataque nucleofílico do ácido acético ou da água ao carbono C-10 da α -santonina.^{20,21}

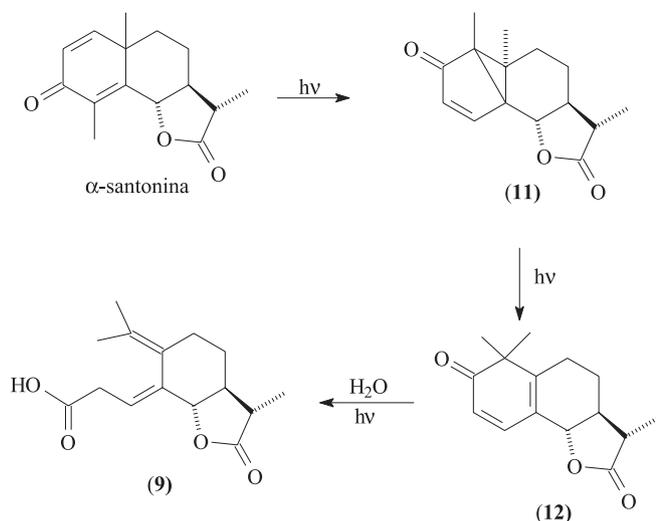
Visando ainda avaliar a influência da fonte de radiação sobre os produtos da reação, a α -santonina dissolvida em acetonitrila, em um tubo de quartzo, foi irradiada com lâmpada de mercúrio de baixa

Tabela 1. Condições e rendimentos das reações fotoquímicas da α -santonina e da lumissantonina

Lâmpada de mercúrio	Material de partida	Reator	Solvente	Temp. (°C)	Tempo (h)	Rendimento (Produto)
Alta Pressão	α -santonina	Borossilicato	AcOH anidro	25	36	26%(8)
Alta Pressão	α -santonina	Borossilicato	H ₂ O/MeCN (9:7)	25	36	37%(10) e 12%(9)
Alta Pressão	α -santonina	Borossilicato	AcOH/H ₂ O (1:1)	25	36	32% (10) e 44% (9)
Alta Pressão	α -santonina	Borossilicato	MeCN anidra	25	36	39% (12)
Baixa Pressão	α -santonina	Quartzo	MeCN anidra	15	6	76%(11)
Baixa Pressão	α -santonina	Quartzo	MeCN anidra	70	2	76%(11)
Baixa Pressão	α -santonina	Quartzo	MeCN anidra	70	24	100% (12)
Baixa Pressão	lumissantonina	Quartzo	Et ₂ O anidro	15	12	100% (12)

pressão, mantendo o sistema resfriado a 15 °C. Nessas condições foi isolada apenas a lactona **11** em 76% de rendimento. A influência da temperatura sobre essa reação foi avaliada irradiando-se a α -santonina nas mesmas condições, mas deixando o sistema aquecer até 70 °C, o que resultou no mesmo rendimento de **11**, mas com apenas 2 h de reação. Ao se repetir a reação por um tempo mais prolongado (24 h), a α -santonina foi quantitativamente transformada na lactona **12** (Tabela 1). A lumissantonina (**11**) pode também ser obtida irradiando-se a α -santonina em solução de dioxano ou em álcool etílico.²²

Segundo Fisch e Richards,²³ a formação do ácido **9** envolve a participação dos intermediários **11** e **12**, conforme apresentado no Esquema 2.



Esquema 2. Intermediários formados na transformação da α -santonina no ácido **9**

Em outro experimento, a irradiação da lactona **11**, dissolvida em éter dietílico, resultou na sua total conversão na lactona **12** (Tabela 1). Esse resultado está de acordo com a proposta de que **11** é intermediário na transformação da α -santonina em **12**.^{24,25}

No espectro de massas do composto **12** foi observado o pico do íon molecular em $m/z = 246$, em conformidade com a fórmula molecular $C_{15}H_{18}O_3$. O espectro de RMN de ^{13}C apresentou sinais em $\delta = 123,5, 125,3, 138,7$ e $152,3$ referentes aos carbonos sp^2 , além de sinais em $\delta = 179,3$ e $206,0$, correspondentes às carbonilas da lactona e da cetona, respectivamente.

Posteriormente, o tratamento das lactonas **8** e **10** com boroidreto de sódio em metanol resultou na formação dos respectivos álcoois **13** (87%) e **14** (75%).

Zhang *et al.*¹⁷ submetteram a lactona **8** à reação com boroidreto de sódio e obtiveram um par de diastereoisômeros com rendimento de 99%, sendo proposta uma estrutura para o epímero majoritário com a hidroxila na face α (configuração *R*). No entanto, neste trabalho, o composto **13** apresentou a hidroxila na face β . Ao se analisar o mapa de contornos NOESY (Figura 3) observa-se uma correlação intensa entre os hidrogênios H3 e H2', bem como entre os hidrogênios H1 e H2' evidenciando a proximidade espacial destes hidrogênios. Tais correlações destacadas no mapa de contornos NOESY (Figura 3) confirmam, portanto, a estereoquímica proposta para o grupo OH.

Quanto ao composto **13** seu espectro no infravermelho apresentou uma banda larga em 3434 cm^{-1} , referente ao estiramento do grupo OH.

Os dados de RMN de 1H foram concordantes com aqueles obtidos por Zhang *et al.*²¹ Isto pode ser observado pela análise dos sinais correspondentes aos hidrogênios H1, H3 e H6, que apresentaram deslocamentos químicos e multiplicidades idênticas àqueles apresen-

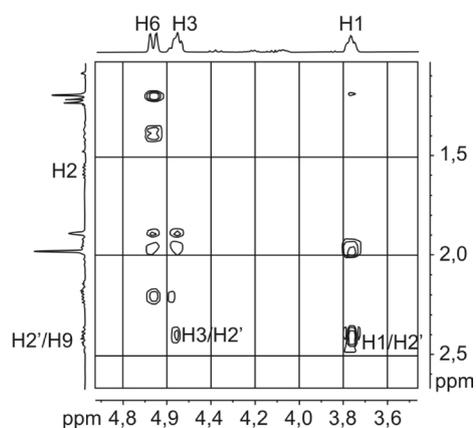


Figura 3. Mapa de contornos NOESY do composto **13**

tadas por Zhang *et al.*¹⁷ No espectro de RMN de ^{13}C do composto **13** observou-se uma mudança no deslocamento químico do sinal referente ao carbono 3 ($\delta = 206,9$ para $\delta = 77,9$), evidenciando a redução do grupo carbonila. Dados de RMN de ^{13}C não foram descritos por Zhang *et al.*¹⁷

Similarmente ao caso do composto **13**, o álcool **14** apresentou a hidroxila no carbono C-3 na face β , conforme depreendido pela análise do mapa de contornos NOESY, onde se observam as mesmas correlações em destaque na Figura 3.

Ensaios biológicos

Dos compostos submetidos à avaliação da atividade fitotóxica em placa de Petri na concentração de 4×10^{-4} M, **9**, **10**, **12** e **14** estimularam o crescimento radicular das plântulas de pepino (Tabela 2). Os demais compostos causaram inibição, sendo que o composto **8** provocou a maior inibição (48,1%). O álcool **13** causou menor efeito inibitório (11,2%) que a cetona **8**. Esse resultado, em parte, pode ser entendido considerando que grupos que podem reagir com nucleófilos estão associados à atividade fitotóxica.⁶ Dessa forma, o fato do composto **8** ter causado maior atividade inibitória, pode estar

Tabela 2. Fitotoxicidade da α -santonina e dos compostos **8**, **9**, **10**, **12**, **13**, e **14**, na concentração de 4×10^{-4} M, sobre o desenvolvimento do sistema radicular de *Cucumis sativus* e *Sorghum bicolor*, em placa de Petri, 72 h após semeadura

Tratamentos	Comprimento da radícula (cm)		Inibição da radícula (%)**	
	<i>C. sativus</i> *	<i>S. bicolor</i> *	<i>C. sativus</i>	<i>S. bicolor</i>
Controle	3,8 f	2,5 a	0,0	0,0
α -santonina	2,7gh	0,4 cde	27,9	84,0
8	2,0 h	0,4 cde	48,1	84,0
9	6,0 a	0,4 cde	-56,8	84,0
10	4,8 bcde	1,0 b	-25,4	60,0
12	5,6 ab	0,7 bc	-48,2	72,0
13	3,3 fg	0,4 cde	11,2	84,0
14	5,3 abc	0,6 cd	-39,8	76,0
CV (%)	7,5	8,9	-	-

*Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. **% de inibição em relação ao tratamento controle.

relacionado ao fato dele apresentar em sua estrutura um grupo cetona α,β -insaturado que funciona como aceptor de Michael (ausente em **13**), reagindo com grupos SH de enzimas.²⁶ Foi observado também aumento no estímulo do crescimento para **14** (39,8%) quando comparado com o composto **10** (25,4%). Os resultados obtidos nesse ensaio permitiram estabelecer a correlação estrutural preliminar dos derivados da α -santonina com a atividade herbicida. Os guaianolídeos **8** e **13** provocaram inibição à raiz do pepino enquanto **10** e **14** estimularam o crescimento. Esses resultados podem estar associados à presença do grupo acetil no carbono C-10 nos guaianolídeos **8** e **13**.

O composto **12** estimulou o crescimento das raízes do pepino em 48,2%, enquanto a α -santonina inibiu em 27,9%. Embora ambas as moléculas possuam um esqueleto eudesmanolídeo e grupo capaz de atuar como receptor de Michael, tal diferença de atividade pode estar associada à baixa estabilidade de **12** quando armazenado na forma de óleo.²¹ Portanto, esse composto pode ter se degradado durante o período de armazenagem ou mesmo durante a realização dos ensaios biológicos. Nos bioensaios utilizando o sorgo como planta-teste verificou-se que todos os compostos, quando aplicados na concentração de 4×10^{-4} M, apresentaram atividade fitotóxica, inibindo o crescimento radicular das plântulas de 60,0 a 84,0% (Tabela 2).

Os compostos **8**, **9** e **13**, e a α -santonina foram os que apresentaram maior atividade inibitória e apesar dos diferentes esqueletos carbônicos os efeitos foram de 84,0%.

A cetona **8** (84,0%) e o álcool **13** (84,0%) apresentaram a mesma atividade inibitória ao passo que o diol **14** (76%) apresentou maior atividade que a cetona **10** (60%) em avaliações com o sorgo.

CONCLUSÕES

Com o objetivo de avaliar o potencial fitotóxico de lactonas sesquiterpênicas em *Cucumis sativus* e *Sorghum bicolor* foram preparados 7 derivados da α -santonina. Cinco compostos foram preparados pela reação fotoquímica da α -santonina variando o solvente, o reator (quartzo ou borossilicato) e a fonte de radiação (lâmpada de mercúrio de alta ou baixa pressão). Os álcoois **13** e **14** foram preparados, respectivamente, pela redução dos compostos **8** e **10** com boroidreto de sódio.

Quanto à atividade biológica dos compostos sintetizados, a lactona **8** apresentou a maior atividade fitotóxica tanto para pepino (48,1% de inibição das raízes) quanto para sorgo (84,0% de inibição das raízes). A diferença deste composto para os demais é a presença simultânea do grupo acetil no carbono 10 e do grupo carbonila α,β -insaturado. Nenhum dos outros compostos avaliados apresentou a mesma combinação de grupos funcionais. Tais grupos podem reagir com os tióis das enzimas presentes nas plantas, resultando na atividade fitotóxica.

De modo geral, o sorgo foi mais susceptível aos compostos avaliados, enquanto o pepino teve seu crescimento radicular estimulado por algumas das moléculas preparadas (**9**, **10**, **12** e **14**).

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ e à FAPEMIG pelo apoio financeiro e bolsas de mestrado (F. F. P. Arantes) e de pesquisa (L. C. A. Barbosa, A. J. Demuner); à CAPES pela bolsa de mestrado (W. A. Saliba).

REFERÊNCIAS

- Duke, S. O.; Romagni, J. G.; Dayan, F. E.; *Crop Protection* **2000**, *19*, 583.
- Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Kagan, I. A.; Baerson, S. R. Em *New Discoveries in Agrochemicals*; Clark, J. M.; Ohkawa, H., eds.; ACS: New York, 2005.
- Vyvan, J. K.; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1631.
- Macías, F. A.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G.; Varela, R. M.; Galindo, J. C. G.; *Pest. Manag. Sci.* **2007**, *63*, 327.
- Macías, F. A.; Fernández, A.; Varela, R. M.; Molinillo, J. M. G.; Torres, A.; Alves, P. L. C. A.; *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 795.
- Macías, F. A.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G.; Varela, R. M.; Castellano, D.; *Phytochemistry* **1996**, *43*, 1205.
- Barbosa, L. C. A.; Costa, A. V.; Veloso, D. P.; Lopes, J. L. C.; Terrones, M. G. H.; King-Diaz, B.; Lotina-Hensen, B.; *Z. Naturforsch. C* **2004**, *59*, 803; Costa, A. V.; Barbosa, L. C. A.; Lopes, J. L. C.; Veloso, D. P.; *Magn. Reson. Chem.* **2000**, *38*, 675.
- Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Borges, E. E. L.; Mann, J.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1997**, *8*, 19; Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; Veloso, D. P.; Howarth, O. W.; *Aust. J. Chem.* **1998**, *51*, 61; Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; Veloso, D. P.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1173; Costa, A. V.; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Silva, A. A.; *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 4807; Costa, A. V.; Barbosa, L. C. A.; Lopes, J. L. C.; Piló-Veloso, D.; *Magn. Res. Chem.* **2000**, *38*, 675; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Maltha, C. R. A.; Silva, P. S.; Silva, A. A.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 655; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J.; Filomeno, C. A.; Silva, A. A.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 241; Barbosa, L. C. A.; Alvarenga, E. S.; Demuner, A. J.; Virtuoso, L. S.; Silva, A. A.; *Chem. Biodiversity* **2006**, *3*, 553; Barbosa, L. C. A.; Rocha, M. E.; Teixeira, R. R.; Maltha, C. R. A.; Forlani, G.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 8562; Teixeira, R. R.; Barbosa, L. C. A.; Forlani, G.; Piló-Veloso, D.; Carneiro, J. W. de M.; *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 2321.
- Picman, A. K.; *Biochem. Syst. Ecol.* **1986**, *14*, 255.
- Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press: New York, 1988.
- Barbosa, L. C. A.; Alvarenga, E. S.; Demuner, A. J.; Figueiredo, R.; Silva, A. A.; *Pest. Manag. Sci.* **2003**, *59*, 1043.
- Gomes, F. P.; *Curso de Estatística Experimental*, 3^a ed., Nobel: Piracicaba, 1990.
- Barton, D. H. R.; Mayo, P.; Shafiq, M.; *J. Chem. Soc.* **1958**, *140*, 140.
- Greene, A. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5337.
- Bargues, V.; Blay, G.; Cardona, L.; García, B.; Pedro, J. R.; *Tetrahedron* **1998**, *54*, 1845.
- Blay, G.; Bargues, V.; Cardona, L.; García, B.; Pedro, J. R.; *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9719.
- Zhang, W.; Luo, S.; Fang, F.; Chen, Q.; Hu, H.; Jia, X.; Zhai, H.; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18.
- Asher, J. D. M.; Sim, G. A.; *Proc. Chem. Soc.* **1962**, 111.
- Barton, D. H. R.; Miki, T.; Pinhey, J. T.; Wells, R. J.; *Proc. Chem. Soc.* **1962**, 112.
- Barton, D. H. R.; De Mayo, P.; Shafiq, M.; *J. Chem. Soc.* **1957**, 929.
- Zimmerman, H. E.; Schuster, D. I.; *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 4527.
- Arigoni, D.; Bosshard, H.; Bruderer, H.; Büchi, G.; Jeger, O.; Krebaum, L. J.; *Helv. Chim. Acta* **1957**, *180*, 1732.
- Fisch, M. H.; Richards, J. H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3029.
- Fisch, M. H.; Richards, J. H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1553.
- Chapman, O. L.; Englert, L. F.; *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3028.
- Macías, F. A.; Galindo, J. C. G.; Massanet, G. M.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1969.