

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H E DE ^{13}C DE LACTONAS

Anderson Barros Archanjo, André Kulitz Marins, Patrícia Fontes Pinheiro, Vagner Tebaldi de Queiroz, Adilson Vidal Costa

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alto Universitário, s/n, caixa postal 16, Guararema, Cep. 29.500-000 - Alegre - ES, E-mail: avcosta@hotmail.com

Resumo- As lactonas sesquiterpênicas são compostos de grande ocorrência na natureza e representam um importante grupo de metabólitos secundários da família Asteraceae. Devido ao seu amplo espectro de atividade biológica, as lactonas sesquiterpênicas constituem uma classe de substâncias com potencial atividade, antitumoral, antibacteriana, esquistossomicida, antifúngica e têm sido responsáveis também por efeitos alelopáticos sobre algumas plantas. Desse modo, tendo em vista que as lactonas sesquiterpênicas apresentam potencial atividade herbicida, objetivou-se, com este trabalho, contribuir com as pesquisas de novos agroquímicos. Para isso, o Glaucolídeo B (composto 1) foi isolado da parte aérea da planta *Vernonia fruticulosa* Mart. pertencente à família Asteraceae. A hidrogenação catalítica do composto 1 resultou na obtenção do composto 2 com 74% de rendimento e do composto 3 com 25 % de rendimento. As substâncias estudadas tiveram as suas estruturas determinadas através da utilização de métodos espectrométricos: infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13, variando a temperatura de - 43 °C a 27 °C, com intervalos de 10 °C em função da flexibilidade das moléculas.

Palavras-chave: Lactonas sesquiterpênicas, variação de temperatura e RMN de ^1H e de ^{13}C .

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra

Introdução

Nos últimos anos, a indústria de agroquímicos vem constantemente disponibilizando no mercado, novos compostos cada vez mais seletivos, eficientes e seguros ao homem e ao meio ambiente. 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 (ALVARENGA *et al.*, 2009).

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, pseudoguainolídeos e guaianolídeos. Essas lactonas apresentam amplo espectro de atividades biológicas, incluindo atividades fitotóxica e inseticida (COSTA *et al.*, 2000).

O objetivo do trabalho foi estudar o efeito da variação de temperatura sobre os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de lactonas sesquiterpênicas, derivadas do Glaucolídeo B.

Metodologia

A planta *Vernonia fruticulosa* Mart. foi coletada próximo a Termópolis, Minas Gerais, em janeiro de 1997. A planta foi identificada pelo professor Hermógenes de Freitas Leitão Filho, Departamento de Morfologia e Sistemática de Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, S.P.. A exsiccata (N^o 101) encontra-se depositada no herbário do mesmo instituto.

A parte aérea seca e pulverizada da planta (5 Kg) foi extraída com 7 L de hexano/acetato de etila (4:1, v/v) obtendo-se 200 g de um resíduo, após a remoção do solvente. Esse resíduo foi dissolvido em 1L de metanol/água (9:1), extraído com clorofórmio (1,2 L) e concentrado no evaporador rotatório, obtendo-se 30 g de um resíduo contendo o Glaucolídeo B. Esse material foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como solvente hexano/acetato de etila (1:1) (7L) como eluente, obtendo-se 12 g do composto puro (ALARCON *et al.*, 1990).

Para obtenção dos compostos 2 e 3 foi utilizado um balão de fundo redondo bitubulado (50 mL), sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética, onde foram adicionados acetato de etila destilado (10 mL), Glaucolídeo B [1] (1,1 g, 2,5 mmol) e Pd/C 10% (14 mg, 0,13 mmol). O meio reacional foi deixado à temperatura ambiente por seis horas, quando todo material de partida foi consumido, conforme indicado pela análise por cromatografia em camada delgada. A mistura

reagente foi filtrada, o filtrado foi secado com MgSO_4 anidro e concentrada em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo amarelo claro. O produto resultante (980 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel (Clorofórmio/Éter dietílico 5:1), levando à obtenção do composto **2**, (cristais claros, 700 mg, 1,84 mmol, 74%), e do composto **3** (cristais claros, 240 mg, 0,63 mmol, 25%). O composto **2** foi recristalizado em éter dietílico e o composto **3** recristalizado em éter dietílico e hexano (2:1).

Os espectros de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C foram registrados em espectrômetro BRUKER AVANCE DRX 400. Foi utilizado o clorofórmio deuterado como solvente e o tetrametilsilano como padrão interno.

Resultados

A lactona **2** foi obtida por hidrogenólise a partir de **1** e o composto **3** foi obtido por hidrogenólise seguido de hidrogenação usando o Glaucolídeo B [**1**] como material de partida, conforme a Figura 1.

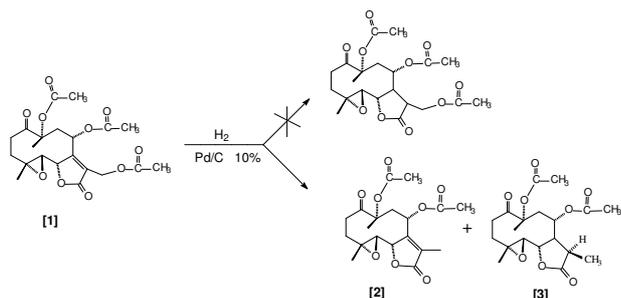


Figura 1. Hidrogenação do Glaucolídeo B [**1**].

Os espectros de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C foram obtidos inicialmente em CDCl_3 a 27°C . Nesta temperatura, os sinais de muitos grupos apresentaram alargados e superpostos. Essa má resolução nos espectros foi devida à existência de vários conformeros em equilíbrio por causa da flexibilidade do anel de dez membros das lactonas. Desse modo, decidiu-se obter espectros variando-se a temperatura de 27°C a -43°C , com intervalos de 10°C , que tiveram a resolução, como esperado, variada com a temperatura, obtendo-se o melhor resultado à temperatura de -13°C . Na temperatura ótima para obtenção dos espectros, -13°C , foi observado apenas um conformero para a lactona **2** enquanto para o composto **3** foi observado a existência de dois conformeros predominantes, com aproximadamente 50% de abundância para cada, como calculado pelas integrais dos sinais de RMN de ^1H .

Discussão

O espectro de RMN do composto **2**, foi obtido inicialmente em CDCl_3 à temperatura ambiente (Figura 2), mas como os sinais ficaram mal resolvidos, decidiu-se obter o espectro em -13°C , conforme êxito alcançado com o composto **1**. Como ocorrido para o composto **1**, o espectro de RMN de ^1H para o composto **2**, apresentou melhor resolução na temperatura de -13°C .

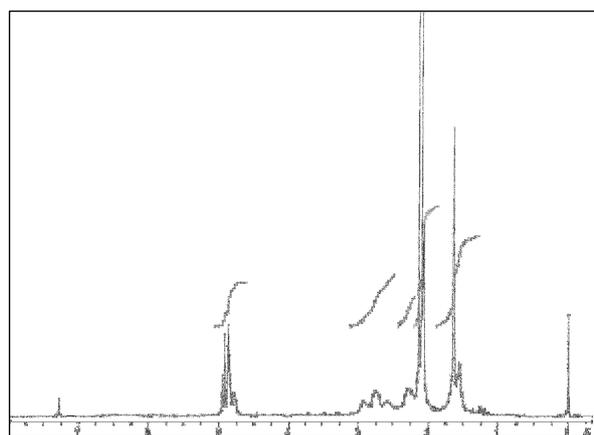


Figura 2 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **2**, em 27°C .

A Figura 3 apresenta o espectro de RMN de ^1H de **2** em CDCl_3 , à temperatura de -13°C e expansões. Ao compará-lo com os espectros correspondentes do composto **1**, algumas modificações foram observadas. A ausência, no espectro de RMN de ^1H da Figura 1.18 (página 64), de sinais do sistema AB que foram observados em δ 4,84 (d, $J_{13a,13b}=12,70$ Hz, H-13a) e em δ 4,91 (d, $J_{13b,13a}=12,70$ Hz, H-13b) para os hidrogênios H-13a e H-13b do composto **1**. Um sinal duplete duplo em δ 4,78 ($J_{6,5}=9,60$ Hz, $J_{6,\text{CH}_3-13}=1,50$ Hz) integrando para um hidrogênio foi atribuído ao H-6 de **2**, que no composto de partida apresentou o sinal de ressonância em 4,89 (d, $J_{6,5}=9,60$ Hz, H-6). Sua multiplicidade é devida ao acoplamento vicinal com H-5 e ao acoplamento homoalílico a longa distância com CH_3 -13. O H-8 produziu o duplete em δ 4,67 ($J=8,60$ Hz). Este sinal mostrou acoplamento com o hidrogênio H-9 α atribuído pela análise do valor da constante de acoplamento. O aparecimento de um sinal em δ 2,78 (dd, $J_{9\alpha,9\beta}=16,50$ Hz, $J_{9\alpha,8}=8,60$ Hz) foi atribuído ao H-9 α . Este sinal foi parcialmente superposto pelas linhas de H-5. O sinal de ressonância de H-5 apareceu em δ 2,75 (duplete, $J=9,60$ Hz). Os sinais em δ 2,10 e 2,13 ambos como simpleto, evidenciaram a presença dos hidrogênios metílicos de dois grupos acetato. O duplete em δ 1,98 (d, CH_3 , $J=1,50$ Hz) indica a presença da metila CH_3 -13 acoplada com H-6, e,

ainda em comparação ao espectro do material de partida, observou-se a ausência do sinal do acetato em δ 2,16. O sinal devido ao H-2 β apareceu em δ 2,95 (ddd, $J_{2\beta,2\alpha}=17,00$ Hz, $J_{2\beta,3\beta}=12,80$ Hz, $J_{2\beta,3\alpha}=4,80$ Hz), e H-2 α apresentou um multipletto em δ 2,28. Para H-3 β foi observado um ddd em δ 2,60 (ddd, $J_{3\beta,3\alpha}=17,20$, $J_{3\beta,2\beta}=12,80$, $J_{3\beta,2\alpha}=4,60$) e para H-3 α uma banda larga entre δ 1,61-1,64, superposta com o simpleto do CH₃-15.

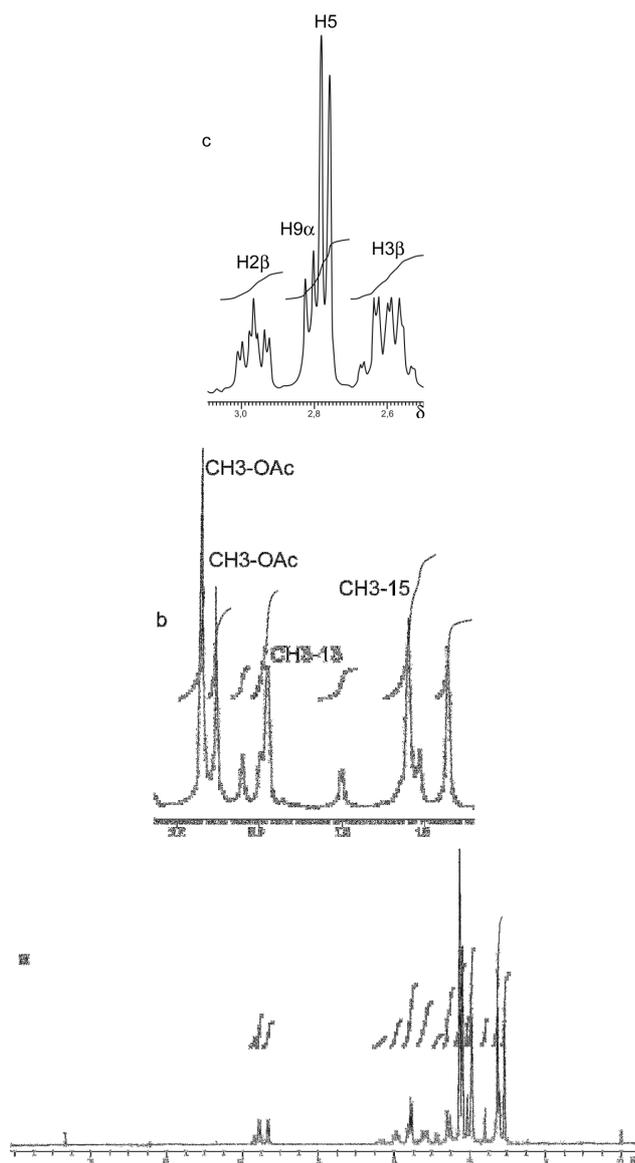


Figura 3 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **2** (a) e expansões (b e c), em -13°C.

O espectro de RMN de ¹³C obtido à temperatura ambiente (Figura 4), não apresentou

os sinais bem resolvidos. Desse modo, como feito para o RMN de ¹H, foi obtido o espectro em -13 °C para atribuição dos sinais.

No espectro de RMN de ¹³C a -13 °C (Figura 5) os sinais em δ 157,36 e em δ 126,32 foram atribuídos aos carbonos da ligação dupla do anel lactônico C-7 e C-11, respectivamente, evidenciando que não ocorreu hidrogenação deste anel. A ausência do sinal em δ 22,25 referente ao CH₃ de um dos acetatos no composto de partida e o aparecimento de um sinal de CH₃ em δ 9,61 confirmam a desacetilação do composto promovida pela hidrogenólise.

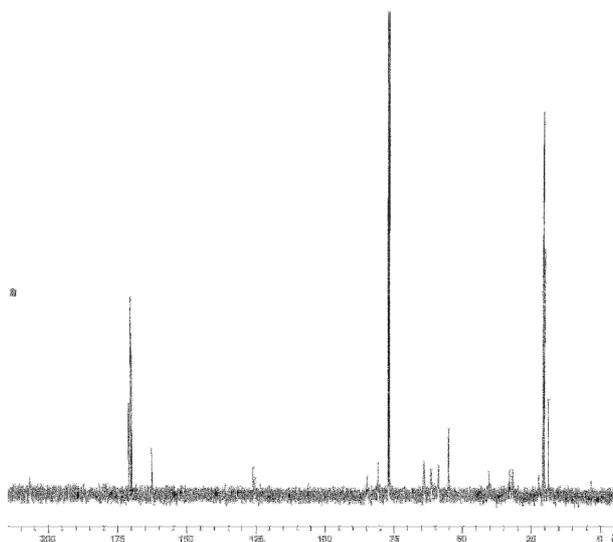


Figura 4. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) a 27 °C para o composto **2** em CDCl₃.

Pode-se observar também a presença de um sinal em δ 206,90 referente a carbonila da cetona. Foi verificada ainda a ausência de um carbono carbonílico de éster na região próxima de δ 170, evidenciando assim a saída de um dos acetato da molécula. Os sinais em δ 21,90 e 20,46 foram atribuídos a C-15 e C-14, respectivamente. Os sinais das metilas dos acetatos apareceram em δ 22,18 e 20,95. Os sinais referentes às carbonilas dos dois grupos acetato foram observados no espectro em δ 173,27 e δ 170,06. Os outros sinais atribuídos estão citados na página 30.

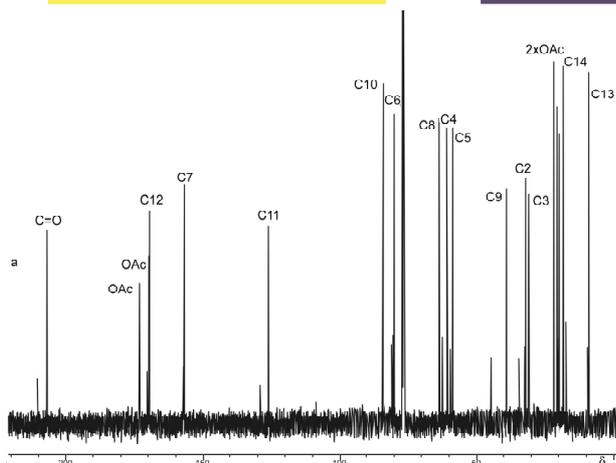


Figura 5. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) a 27°C para o composto **2** em CDCl_3 .

Os espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C do composto **3**, foram obtidos inicialmente em CDCl_3 à temperatura ambiente. Nesta temperatura, todos os espectros mostraram um grande número de sinais, indicando que nessas condições tem-se uma mistura de conformeros. Pôde-se observar que para o composto **3**, na temperatura de 27°C , a existência de dois conformeros predominates, com aproximadamente 50% de abundância para cada, como calculado pelas integrais dos sinais de RMN de ^1H . Esse fato é interessante, uma vez que, nem para o composto **1** e nem para o composto **2** isso foi observado nessa temperatura. Em função da existência de dois conformeros, em maior quantidade, em equilíbrio por causa da flexibilidade da molécula, decidiu-se então abaixar a temperatura à -13°C , para tentar obter um conformero mais abundante e com melhor resolução, para facilitar a interpretação dos espectros. Na temperatura de -13°C , a resolução do espectro melhorou, mas diferentemente do composto **1** e do composto **2**, não foi observado um conformero mais abundante e sim a mesma mistura dos dois conformeros, com 50% de abundância para cada, como calculado pelas integrais dos sinais de RMN de ^1H (Figura 6). Com essa mistura, não foi possível atribuir todos os sinais para os hidrogênios.

Na atribuição dos sinais, para diferenciar os dois conformeros, utilizou-se H' para diferenciar os hidrogênios e de A' para diferenciar os carbonos.

O sinal duplete em $\delta 3,40$ ($J_{5,6}=7,90$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio do H-5. O duplete duplo observado em $\delta 4,31$ ($J_{6,5}=7,90$ Hz; $J_{6,7}=6,40$ Hz) foi atribuído ao H-6, que esta acoplado com os hidrogênios H-5 e H-7, confirmado pelo mapa de contornos COSY. O sinal em $\delta 4,38$ duplete duplo

($J_{6,5}=7,90$ Hz; $J_{6,7}=6,40$ Hz) foi atribuído ao H-6'. O hidrogênio H-8 apresentou sinal de ressonância com deslocamento químico em $\delta 5,60$ (t, $J_{8,9a}=J_{8,9b}=8,60$ Hz) e o hidrogênio H-8' revelou sinal de ressonância em $\delta 5,39$ como duplete duplo (dd, $J_{8,7}=4,20$ Hz, $J_{8,9}=9,00$ Hz). Os dupletos em $\delta 1,22$ e $1,38$ ($J_{13,11}=7,24$ e $J_{13',11'}=7,48$ Hz) foram atribuídos respectivamente aos hidrogênios CH_3 -13 e CH_3 -13' acoplados com o respectivo H-11 e H-11'. Os sinais em $\delta 1,48$ e $\delta 1,54$ foram atribuídos aos hidrogênios das metilas CH_3 -14 e CH_3 -14'. Os sinais em $\delta 1,62$ e $\delta 1,75$ foram atribuídos aos hidrogênios das metilas CH_3 -15 e CH_3 -15'. Os sinais relativos aos hidrogênios das metilas dos acetatos aparecem no espectro como simples, em $\delta 2,01$, $2,02$, $2,08$ e $2,12$. Os deslocamentos químicos e as constantes de acoplamento apresentadas por H-11 e H-13 de **3**, quando comparados aos valores da literatura (GUIMARÃES, 1998), sugerem a configuração β para o grupo metila em C-11.

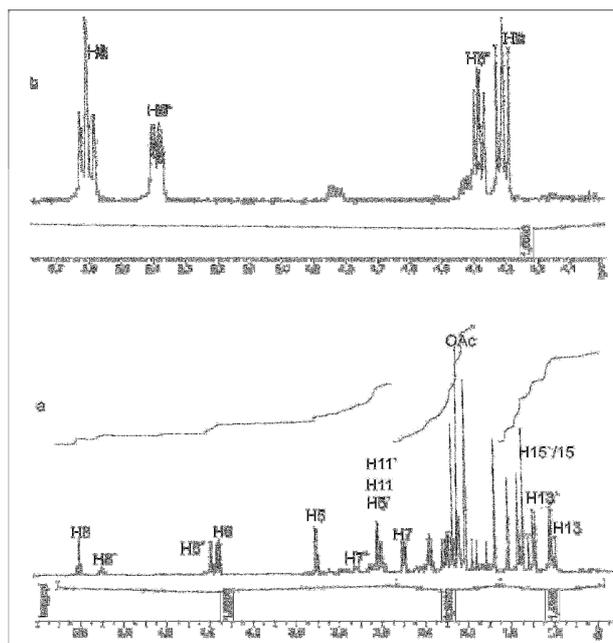


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **3**, (a) e expansão (b), em -13°C .

Do mesmo modo que para o espectro de RMN de ^1H , o espectro de ^{13}C mostrou a presença de dois conformeros, tanto em 27°C quanto em -13°C . O espectro de RMN de ^{13}C em CDCl_3 em -13°C , (Figura 7) apresentou sinal em $\delta 209,14$ referente à carbonila C-1(A) e em $\delta 203,70$ para C1(A'). As carbonilas dos grupos acetatos apresentaram sinais em $\delta 177,54$ (A), $176,54$ (A') e em $\delta 170,40$ (A), $170,36$ (A'). O carbono da carbonila do anel da lactona apresentou um sinal

em δ 169,53 (A) e 169,36 (A'). O sinal em δ 162,87, referente ao carbono olefínico C-7 do composto 1, foi observado em 40,04 (C-7, A) e 38,69 (C-7, A'). Os sinais em δ 18,16 (A) e 17,80 (A') foram atribuídos a C-15, enquanto que os sinais em δ 16,64 (A) e 15,27 (A') foram atribuídos a C-14. As metilas C-13 mostraram sinais em δ 11,91 (A) e 9,64 (A'). Os demais sinais foram atribuídos por comparação aos do composto 1. Analisando esses dados juntamente com os dados de análise elemental pode-se concluir que o composto formado foi o composto 3.

Conclusão

Combinando os dados obtidos, com a variação de temperatura, com os de experimentos DEPT 135, NOESY e HMQC, foi possível atribuir inequivocamente todos os sinais de hidrogênios e carbonos para os compostos 2 e 3.

Referências

-Alarcon, M.C.B.V.; Lopes, J.L.C. and Herz, W. Glaucolide B, a molluscicidal sesquiterpene lactone, and other constituents of *Vernonia eremophila*. **Planta Med.**, v. 56, p. 271-273, 1990.

- Alvarenga, E. S.; Barbosa, L. C. A.; Saliba, W. A.; Arantes, F. F.P.; Demuner, A. J. Síntese e avaliação da atividade fitotóxica de derivados da α -Santonina. **Química Nova**, 2009, 32, 401.

- Costa, A. V.; Barbosa, L. C. A.; Lopes, J. L. C.; Veloso, D. P., Complete ^1H and ^{13}C NMR signal Assignments of Glaucolide B, **Magnetic Resonance in Chemistry**, 2000, 38, 675.

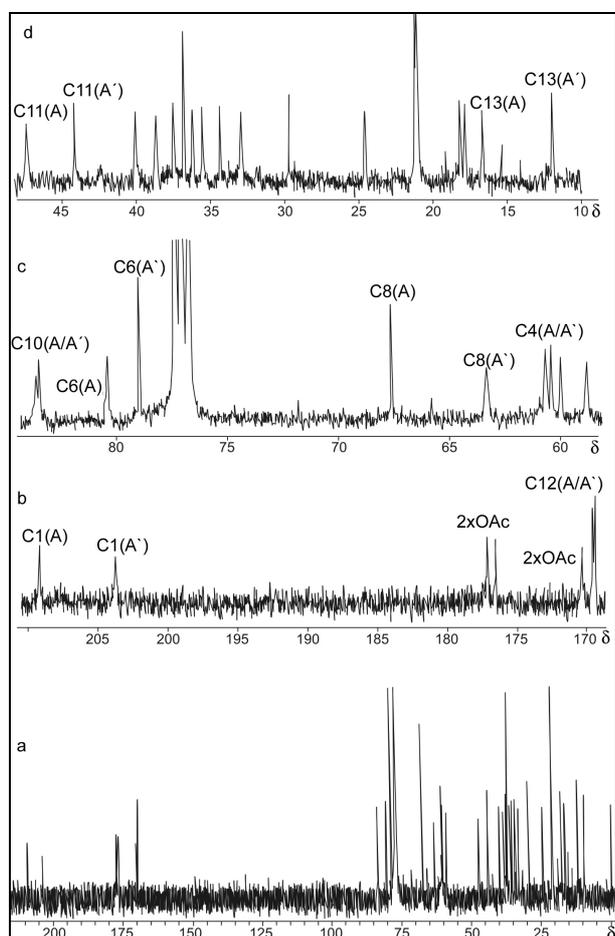


Figura 7 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 3, (a) e expansões (b a d), em -13°C .