

## POTENCIAL FITOTÓXICO DE *Pterodon polygalaeflorus* BENTH (LEGUMINOSAE) SOBRE *Acanthospermum australe* (LOEFL.) O. KUNTZE E *Senna occidentalis* (L.) LINK<sup>1</sup>

VALDENIR JOSÉ BELINELO<sup>2\*</sup>, SIDNEY AUGUSTO VIEIRA FILHO<sup>3</sup>, MARCELO SUZART DE ALMEIDA<sup>2</sup>, DALTON LUIZ FERREIRA-ALVES<sup>4</sup>, DORILA PILÓ-VELOSO<sup>4</sup>

**RESUMO** - O objetivo dessa pesquisa foi sintetizar e caracterizar a atividade alelopática de derivados do ácido 6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -di-hidroxivouacapan-17 $\beta$ -óico, isolado de sementes de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae). A caracterização dos compostos envolveu espectrometria no infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono (RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C) incluindo experimentos em duas dimensões (COSY <sup>1</sup>H <sup>1</sup>H, HMQC e HMBC). Os efeitos alelopáticos foram avaliados através de bioensaios de germinação de sementes e crescimento radicular, em condições controladas de temperatura (25 °C) e fotoperíodo (12 h claro/12h escuro), durante 72 horas. Concentrações de 1,0, 100,0 e 1000,0 mg.L<sup>-1</sup> foram testadas. *Senna occidentalis* (fedegoso) e *Acanthospermum australe* (carrapichinho) foram utilizadas como espécies daninhas alvo. Foi observado que o efeito alelopático dos compostos aumentou em função do aumento da concentração, mostrando assim uma relação dose dependente. A tendência geral observada nos resultados foi de aumento da intensidade dos efeitos alelopáticos inibitórios em função do aumento da concentração. A N-Etil-6 $\alpha$ -acetoxi-7 $\beta$ -hidroxivouacapan-17 $\beta$ -amida e N,N-Dietil-6 $\alpha$ -acetoxi-7 $\beta$ -hidroxivouacapan-17 $\beta$ -amida foram os derivados que apresentaram maior efeito inibidor da germinação e do crescimento radicular do fedegoso e do carrapichinho. Portanto, esses compostos representam grande potencial aleloquímico contra essas ervas daninha.

**Palavras-chave:** Alelopatia. Inibição do crescimento. Planta daninha.

## PHYTOTOXIC POTENTIAL OF *Pterodon polygalaeflorus* BENTH (LEGUMINOSAE) ON *Acanthospermum australe* (LOEFL.) O. KUNTZE AND *Senna occidentalis* (L.) LINK

**ABSTRACT** - The objectives of this research were synthesize and characterize the allelopathic activity of 6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -di-hydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oic acid derivatives, isolated from seeds of *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae). The compound characterization processes involve in infrared spectrometry (IR) and hydrogen and carbon nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR) including experiments in double dimensions (COSY <sup>1</sup>H <sup>1</sup>H, HMQC and HMBC). Allelopathic effects were evaluated by bioassays, carried out at controlled 25 °C temperature and photoperiod (12h light/12h dark), during 72 hours. Sample concentrations of 1,0, 100,0 and 1000,0 mg.L<sup>-1</sup> were tested. *Senna occidentalis* (fedegoso) and *Acanthospermum australe* (carrapichinho) were used as the target weed plants. Was observed that the allelopathic effect of the compounds increased as a function of the enhancement of concentration, thus showing a relation dose dependence. The N-ethyl-6 $\alpha$ -acethoxy-7 $\beta$ -hydroxyvouacapan-17 $\beta$ -amide and N,N-diethyl-6 $\alpha$ -acethoxy-7 $\beta$ -hydroxyvouacapan-17 $\beta$ -amide were the derivatives that present the biggest inhibitory effect on seed germination and root growth of fedegoso and carrapichinho. Therefore, these compounds represent the most allelochemical potential against these weeds.

**Keywords:** Allelopaty. Growth inhibition. Weeds.

\* Autor para correspondência.

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 11/03/2008; aceito em 28/08/2009.

<sup>2</sup>DCSBA/CEUNES, Universidade Federal do Espírito Santo, Rodovia BR 101 Norte, Km 60, Litorâneo, 29932-540, São Mateus-ES; belinelo@pq.cnpq.br

<sup>3</sup>DEFAR/EF, Universidade Federal de Ouro Preto, rua Costa Sena, 171, Centro, 35400-000, Ouro Preto-MG

<sup>4</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Pampulha, av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901, Belo Horizonte-MG

## INTRODUÇÃO

As plantas daninhas têm sido controladas pelo uso de herbicidas sintéticos ou naturais ou por meio de manejo integrado de pragas e doenças. A interferência dessas plantas nas culturas de interesse comercial se dá devido à competição por água, dióxido de carbono, nutrientes, luz e também por efeito alelopático, provocando a redução qualitativa e quantitativa na produção (FERREIRA et al., 2007; BELINELO et al., 2008).

A espécie *Senna occidentalis* (L.) Link (Caesalpiniaceae), conhecida como café-negro, fedegoso ou mata-pasto, é um subarbusto, de folhas compostas pinadas com 4 a 6 pares de folíolos de ápice agudo, de 3-7 cm de comprimento; possui flores amarelas com nervuras cor de laranja, dispostas em panículas e fruto do tipo vagem, contendo muitas sementes pardo-escuras. É nativa da América tropical com incidência em quase todo território brasileiro (LORENZI, 2000).

A espécie *Acanthospermum australe* (Loefl) O. Kuntze (Asteraceae) é nativa da América Tropical. Trata-se de planta herbácea anual, conhecida como picão-da-prata, carrapicho-rasteiro, carrapichinho ou mata-pasto. Apresenta folhas simples, inteiras ou de margens irregularmente serradas, cartáceas, de 1,5-3,5 cm de comprimento. Possui capítulos terminais e axilares, com poucas flores de cor amarela. Produz fruto do tipo aquênio provido de projeções rígidas. Esta planta é dispersa pelo país, crescendo em solos agrícolas, principalmente os originados de pastagens, campos e cerrados e de textura mais arenosa (LORENZI, 2000).

O principal problema do controle das plantas daninhas com uso de herbicida sintético é o desenvolvimento de espécies resistentes aos mesmos, o que acarreta demanda por novos compostos químicos, que apresentem mecanismos bioquímicos de ação diferentes dos herbicidas atualmente em uso (HEAP, 1997; JASIENIUK, 1996; MORENO et al., 2006).

Os produtos naturais constituem fontes de novas substâncias químicas que mostram diferentes tipos de atividades biológicas, e têm servido de modelo para o desenvolvimento de novos agroquímicos (DUKE; LYDON, 1987; COPPING, 1996; VENZON et al., 2005).

Em 1996, a Sociedade Internacional de Alelopatia, definiu Alelopatia como "A ciência que estuda qualquer processo envolvendo essencialmente, os metabólitos secundários produzidos pelas plantas, algas, bactérias, e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos, incluindo efeitos positivos e negativos" (MÜLLER et al., 2007).

Segundo Medeiros (1990), as principais vias de liberação de substâncias metabólicas potencialmente envolvidas na alelopatia, são: decomposição de folhas e outras partes da planta; exsudação de

metabólitos pelas raízes; lixiviação e volatilização; podendo atuar em diversos processos do organismo vegetal, afetando funções como a absorção de nutrientes, a regulação do crescimento, a fotossíntese, a respiração, a permeabilidade da membrana, a síntese protéica ou a atividade enzimática.

Objetivando o desenvolvimento de novos herbicidas a partir de produtos naturais, verificou-se que os furanoditerpenos vouacapano-6a,7b,14b-triol e vouacapano-6a,7b,14b,19-tetraol, isolados de *Pterodon polygalaeflorus* Benth, juntamente com o ácido 6a,7b-di-hidroxiouacapan-17b-óico (ADV) (1) apresentam atividade fitotóxica sobre sorgo e pepino (DEMUNER et al., 1996, 1998). De acordo com a literatura, o composto 1 (ADV) e seus derivados também apresentam atividade antiinflamatória e analgésica (MALTHA et al., 1997; NUNAN et al., 1982; RUBINGER et al., 1991; BELINELO et al., 2005).

Dando continuidade à pesquisa de novos derivados com potencial atividade herbicida, neste trabalho é apresentada a síntese de amidas derivadas do ADV (1), assim como os resultados dos testes realizados para avaliar o efeito sobre a germinação e crescimento radicular de *Senna occidentalis* (L.) Link (Caesalpiniaceae) e de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze (Asteraceae).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Processos Gerais

As temperaturas de fusão dos compostos sintetizados foram determinados em aparelho METTLER FP82HT e não foram corrigidos. As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando placas de sílica-gel (MERCK Kieselgel 60, com 0,25 mm) ou placas preparadas com sílica-gel 60 G. Para todas as análises cromatográficas em coluna foi utilizada sílica-gel 60 (70-230 Mesh-ASTM, Merck) como fase estacionária. Nas reações foram utilizados solventes de grau P.A. devidamente purificados e adequadamente armazenados, segundo Perrin e Armarego (1996). As análises elementares foram efetuadas no aparelho PERKIN ELMER 2400. Os espectros no infravermelho foram obtidos nos espectrômetros MATTSON FTIR 3000 e SHIMADZU IR 40 por meio de pastilhas em KBr ou emulsão em nujol. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (400 e 200 MHz) e carbono 13 (100 e 50 MHz) foram obtidos, respectivamente, nos espectrômetros BRUKER AVANCE DRX 400 e DPX 200. Os solventes utilizados foram CDCl<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>O ou piridina-d<sub>5</sub>, e o tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão interno de referência ( $d_H = d_C = 0$ ).

Reações de síntese

Compostos 2 e 5

A partir do ácido 6a,7b-di-hidroxiouacapan-17b-óico (ADV) (1) foram obtidos

os derivados N-etil-6a,7b-di-hidroxivouacapan-17b-amida (2) e 6a-acetoxivouacapan-7b,17b-lactona (5) usando os métodos descritos por Maltha et al., (1997) e Rubinger et al., (1991), respectivamente.

#### Amida 3

Em um balão com 25 mL de THF, sob agitação magnética, foram adicionados 500 mg (1,33 mmol) da amida 2, seguido da adição de 500 mg (20,8 mmol) de hidreto de sódio. Após 20 minutos de agitação em temperatura ambiente, foi adicionado 0,8 mL (12,8 mmol) de iodeto de metila. A reação foi monitorada por CCD, e após 42 h a mistura reacional foi vertida em um béquer com gelo picado. Após degelo, a mistura foi filtrada e o sólido lavado com água gelada e recristalizado com mistura de etanol e água na proporção de 1:1. A N-etil-N-metil-6a,7b-dimetoxivouacapan-17b-amida (3) foi obtida como um pó branco.

#### Amida 4

Este composto foi obtido por meio da reação de Mannich da amida 3 com sal pré-formado cloreto de N,N-dietilmetilenoimínio (HEANEY et al., 1988). Em um balão com 10 mL de THF e 0,20 mmol do sal de imínio pré-formado, sob temperatura ambiente, agitação magnética e atmosfera de nitrogênio é adicionado 0,20 mmol (83,52 mg) da amida 3. Então, a mistura reacional é agitada sob refluxo e monitorada por CCD durante 1,5 hora, quando toda substância de partida sofreu reação. A mistura é vertida em um béquer contendo 25 mL de água gelada. Adiciona-se NH<sub>4</sub>OH até pH = 8 para precipitar o produto desejado. Após filtração, o precipitado é submetido à cromatografia de coluna com sílica gel (0,063-0,200 mm, Merck). Efetua-se a eluição com mistura de éter dietílico:diclorometano 3:2. Por este processo foi isolado sólido branco e identificado como N-etil-N-metil-16-(N,N-dietilaminometil)-6a,7b-dimetoxivouacapan-17b-amida (4).

#### Amidas 6 e 7

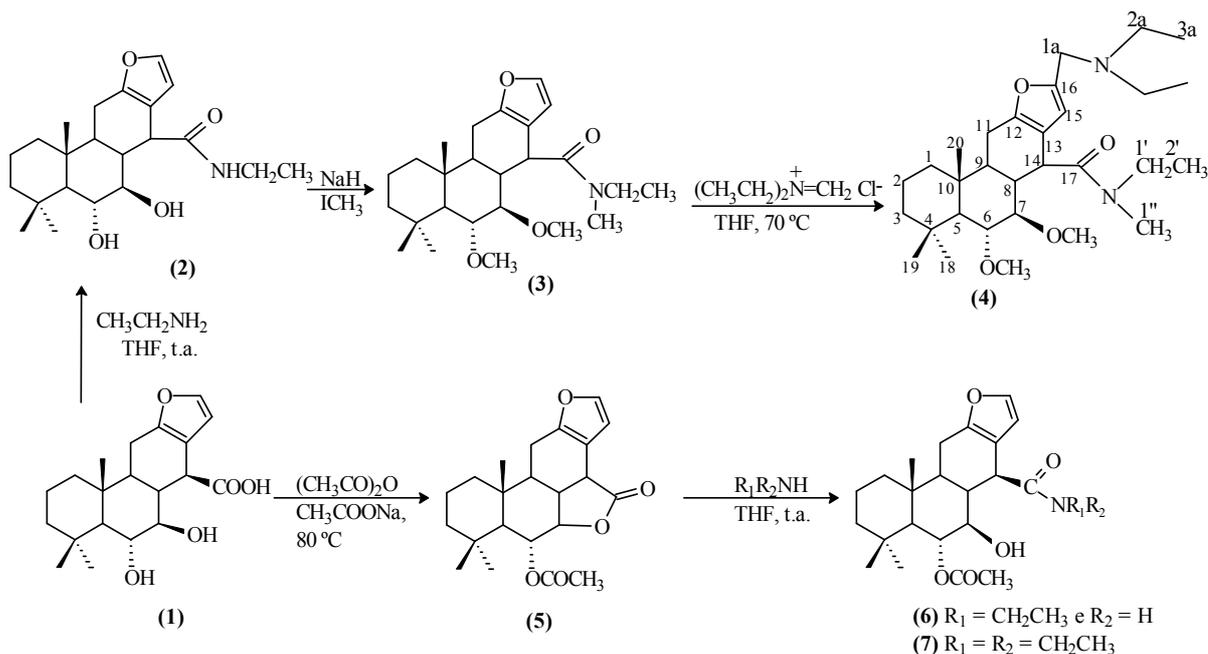
Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados THF (25 mL), a lactona 5 (186,0 mg; 0,5 mmol) e a amina apropriada (5,0 mmol). O sistema foi mantido sob agitação magnética em temperatura ambiente, durante 1,5 hora quando adicionada etilamina e 12 horas para dietilamina. Foi realizado monitoramento por cromatografia em camada delgada (CCD) da mistura reacional até completo consumo do material de partida. A mistura foi então vertida sobre água (25 mL) e deixada em repouso para volatilização do THF e conseqüente precipitação do produto desejado. Após filtração, o precipitado obtido foi secado e purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se como eluente éter dietílico e diclorometano (2:3). Por este processo foram sintetizadas N-etil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (6) e N,N-dietil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (7).

### Ensaios biológicos para avaliação da atividade alelopática

Os ensaios biológicos foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Einhellig et al. (1983), com sementes de fedegoso - *Senna occidentalis* (L.) Link (Caesalpiniaceae) e de carrapichinho - *Acanthospermum australe* (Loefl) O. Kuntze (Asteraceae). Foram preparadas soluções dos compostos 2 a 7 em diclorometano, nas concentrações de 1,0, 100,0 e 1000,0 mg.L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram conduzidos em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, nas quais foram colocadas duas folhas de papel de filtro. Cada placa, após receber 2 mL da solução do composto a ser estudado, foi deixada em temperatura ambiente até evaporação total do solvente. Em seguida, adicionaram-se 2 mL de água e 10 sementes da planta teste, previamente esterilizadas por imersão durante 10 minutos em solução a 20% de hipoclorito de sódio. As placas foram incubadas a 25 °C, sob luz fluorescente (8 x 40 W), por um período de três dias, quando os comprimentos das raízes foram, então, medidos. As porcentagens de inibição foram calculadas com base nos dados obtidos nos experimentos de controle, realizados sem os derivados de 1 e mantidas as outras condições descritas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados foram analisados utilizando-se o teste de Scott-Knott (1974), a 5% de probabilidade.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de estudar a relação estrutural versus atividade biológica de derivados de 1, foram sintetizados os derivados 2 a 7 (Figura 1). A síntese das amidas 6 e 7 ocorre envolvendo ataque nucleofílico da amina (R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>NH) ao carbono carbonílico da lactona 5 (SOLOMONS; FRYHLE, 2005, 2006).



**Figura 1** - Rota sintética usada na obtenção dos derivados 2 a 7 de ácido 6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -di-hidroxiouacapan-17 $\beta$ -óico (1).

As substâncias sintetizadas de 2, 3, 4, 6 e 7 apresentam, nos espectros no infravermelho (IV), a banda de estiramento C=O (carbonila) na região de 1620-1660  $\text{cm}^{-1}$  correspondente a uma amida, já os compostos 6 e 7, além desta, apresenta outra banda referente a carbonila de éster na região de 1720-1750  $\text{cm}^{-1}$ , o que as distinguem da lactona 5 que também apresenta duas bandas de estiramento C=O, porém uma devida ao éster em 1730  $\text{cm}^{-1}$  e outra devida à lactona de cinco membros em 1810  $\text{cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). O desaparecimento desta última nos espectros das amidas 6 e 7 foi importante para confirmar a regioseletividade do ataque da amina à carbonila do anel de cinco membros, mais reativa devido à tensão do ciclo.

Dos espectros de RMN, é interessante ressaltar que o mapa de contornos HMQC possibilitou verificar uma proteção relativa do H-14 da substância 7 quando comparado a H-7, inversamente do verificado para a amida 6. Por exemplo, para a substância (6) tem-se um duplo duplo duplo (ddd) em  $d_{\text{H}}$  3,36-3,45 atribuído ao H-7 e um duplo largo (dl) devido a H-14 entre  $d_{\text{H}}$  3,18-3,23. Para o composto 7, o sinal de H-7 foi observado como multiplete (m) entre  $d_{\text{H}}$  3,26-3,50 e o duplo largo (dl) entre  $d_{\text{H}}$  3,50-3,59 foi associado ao H-14. Isto indica uma modificação de conformação do grupo amido, dependente do grupo N-alkil substituinte. Pela análise dos modelos de Dreiding (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000) foi possível estabelecer a conformação onde a carbonila do grupo amido fica paralela ao hidrogênio axial H-14. Neste caso, este hidrogênio estaria mais blindado, devido às correntes anisotrópicas da carbonila (BREITMAIER, 1988, 1993; SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). Assim, esta seria a

conformação predominante em 7 (Figura 1). Nos espectros dos compostos 3 e 4 os sinais referentes ao H-11-ax estão bem resolvidos e foram observados como duplo duplo duplo (ddd) em  $d_{\text{H}}$  2,36 e 2,40 ( $^2J_{\text{gem}}$  16,1-16,2 Hz,  $^3J_{11\text{ax},9}$  11,1-11,0 Hz e  $^5J_{11\text{ax},14}$  2,3-2,4 Hz), sendo este último devido ao acoplamento homoalílico.

Na ressonância magnética nuclear de carbono, as atribuições foram realizadas usando as técnicas de rotina de  $^{13}\text{C}$  e o DEPT 135 combinados com as técnicas bidimensionais HMQC e HMBC. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 4 mostrou um sinal em  $d_{\text{C}}$  150,7 que foi atribuído ao C-16, pois ele está mais desblindado quando comparado com o C-16 hidrogenado dos compostos 2, 3, 4, 6 e 7 ( $d_{\text{C}}$  141,1-141,6). Ainda por meio do mapa de contorno HMBC, foi possível correlacionar os sinais de C-12 com os sinais de H-9 e H-14, confirmando portanto que ocorreu a substituição do H-16 do composto 3 mostrando o sucesso da reação de Mannich com sais de imínio pré-formados. Os dados físico-químicos (CCD,  $T_{\text{f}}$  e análise de C,H,N) e espectrais (IV, RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , incluindo DEPT 135, HMBC, HMQC e COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) foram usados para determinar os rendimentos das reações de síntese dos compostos 2 a 7.

#### Dados Físico-químicos

*N*-Etil-6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -di-hidroxiouacapan-17 $\beta$ -amida (2). Rendimento de 95%,  $T_{\text{f}}$  = 219,6-221,5 °C (219,8-221,3 °C, MALTHA et al., 1997).

*N*-Etil-*N*-metil-6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -dimetoxiouacapan-17 $\beta$ -amida (3). Rendimento de 93%,  $T_{\text{f}}$  = 190-191 °C, IV (nujol,

$\bar{\nu}_{\max}$  : 2980, 2920, 2840, 1643, 1509, 1299, 1227, 1135, 1095, 1050, 1017, 960, 940, 931, 722. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $d_{\text{H}}$ : 0,96 (dt, 1H,  $J_{1\text{ax},1\text{eq}}=J_{1\text{ax},2\text{ax}}=13,5$  Hz,  $J_{1\text{ax},2\text{eq}}=3,6$  Hz, H-1ax), 0,99 (s, 3H, H-20), 1,03 (s, 3H, H-19), 1,09 (d, 1H,  $J_{5,6}=11,2$  Hz, H-5), 1,12 (s, 3H, H-18), 1,20 (t, 3H,  $J_{2',1'}=7,1$  Hz, H-2'), 1,20 (dt, 1H,  $J_{3\text{ax},3\text{eq}}=J_{3\text{ax},2\text{ax}}=13,5$  Hz,  $J_{3\text{ax},2\text{eq}}=3,6$  Hz, H-3ax), 1,37 (td, 1H,  $J_{3\text{eq},3\text{ax}}=13,5$  Hz,  $J_{3\text{eq},2\text{eq}}=J_{3\text{eq},2\text{ax}}=3,6$  Hz, H-3eq), 1,40-1,48 (m, 2H, H-9 e H-2eq), 1,55 (tq, 1H,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}}=J_{2\text{ax},1\text{ax}}=J_{2\text{ax},3\text{ax}}=13,5$  Hz,  $J_{2\text{ax},1\text{eq}}=J_{2\text{ax},3\text{eq}}=3,6$  Hz, H-2ax), 1,66 (ddt, 1H,  $J_{1\text{eq},1\text{ax}}=13,5$  Hz,  $J_{1\text{eq},2\text{ax}}=J_{1\text{eq},2\text{eq}}=3,6$  Hz,  $J_{1\text{eq},3\text{eq}}=1,8$  Hz, H-1eq), 2,40 (ddd, 1H,  $J_{11\text{ax},11\text{eq}}=16,2$  Hz,  $J_{11\text{ax},9}=11,0$  Hz,  $J_{11\text{ax},14}=2,4$  Hz, H-11ax), 2,62 (dd, 1H,  $J_{11\text{eq},11\text{ax}}=16,2$  Hz,  $J_{11\text{eq},9}=5,2$  Hz, H-11eq), 2,66-2,75 (m, 1H, H-8), 2,96 (dd, 1H,  $J_{7,8}=10,1$  Hz,  $J_{7,6}=9,6$  Hz, H-7), 2,99-3,12 (m, 1H, H-14), 3,27 (s, 3H, H-1'), 3,45-3,55 (m, 2H, H-1'), 3,54 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}-7$ ), 3,56 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}-6$ ), 3,55-3,75 (m, 1H, H-6), 6,03 (d, 1H,  $J_{15,16}=1,4$  Hz, H-15), 7,20 (d, 1H,  $J_{16,15}=1,4$  Hz, H-16). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $d_{\text{C}}$ : 12,17 (C-2'), 15,38 (C-20), 18,40 (C-2), 21,96 (C-11), 22,90 (C-19), 32,88 (C-14), 33,44 (C-4), 35,18 (C-1''), 36,28 (C-18), 38,29 (C-10), 39,66 (C-1), 40,36 (C-8), 42,87 (C-1'), 44,05 (C-3), 48,38 (C-9), 56,94 (C-5), 59,46 ( $\text{CH}_3\text{O}-6$ ), 60,44 ( $\text{CH}_3\text{O}-7$ ), 84,54 (C-6), 93,86 (C-7), 107,81 (C-15), 113,88 (C-13), 141,17 (C-16), 151,32 (C-12), 173,40 (C-17). Análise elementar: encontrado (%): C: 71,86, H: 9,43, N: 3,41,  $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}_4$ , teórico (%): C: 71,94, H: 9,35, N: 3,36.

*N-Etil-N-metil-16-(N,N-dietilaminometil)-6a,7b-dimetoxivouacapan-17b-amida* (4): Rendimento de

98,2%,  $T_f = 119-121$  °C, IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\max}$  : 2960, 2920, 2850, 1660, 1560, 1470, 1410, 1380, 1340, 1300, 1280, 1240, 1200, 1150, 1135, 1100, 1030, 980, 950, 850, 830, 800, 770, 750, 740, 700. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $d_{\text{H}}$ : 0,98 (dt, 1H,  $J_{1\text{ax},1\text{eq}}=J_{1\text{ax},2\text{ax}}=13,6$  Hz,  $J_{1\text{ax},2\text{eq}}=3,2$  Hz, H-1ax), 0,97 (s, 3H, H-20), 1,02 (s, 3H, H-19), 1,05 (t, 6H,  $J_{3\text{a},2\text{a}}=7,1$  Hz, H-3a), 1,08 (d, 1H,  $J_{5,6}=10,4$  Hz, H-5), 1,11 (s, 3H, H-18), 1,18 (t, 3H,  $J_{2',1'}=7,1$  Hz, H-2'), 1,23 (dt, 1H,  $J_{3\text{ax},3\text{eq}}=J_{3\text{ax},2\text{ax}}=13,6$  Hz,  $J_{3\text{ax},2\text{eq}}=3,2$  Hz, H-3ax), 1,30-1,48 (m, 3H, H-3eq, H-9 e H-2eq), 1,55 (tq, 1H,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}}=J_{2\text{ax},1\text{ax}}=J_{2\text{ax},3\text{ax}}=13,6$  Hz,  $J_{2\text{ax},1\text{eq}}=J_{2\text{ax},3\text{eq}}=3,2$  Hz, H-2ax), 1,65 (dl, 1H,  $J_{1\text{eq},1\text{ax}}=13,6$  Hz, H-1eq), 2,36 (ddd, 1H,  $J_{11\text{ax},11\text{eq}}=16,1$  Hz,  $J_{11\text{ax},9}=11,1$  Hz,  $J_{11\text{ax},14}=2,3$  Hz, H-11ax), 2,52 (q, 4H,  $J_{2\text{a},3\text{a}}=7,1$  Hz, H-2a), 2,61 (dd, 1H,  $J_{11\text{eq},11\text{ax}}=16,1$  Hz,  $J_{11\text{eq},9}=5,2$  Hz, H-11eq), 2,63-2,74 (m, 1H, H-8), 2,96 (dd, 1H,  $J_{7,8}=10,1$  Hz,  $J_{7,6}=9,2$  Hz, H-7), 2,99-3,10 (m, 1H, H-14), 3,27 (s, 3H, H-1''), 3,42-3,61 (m, 6H, H-6, H-1', H-1a e H-14), 3,53 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}-7$ ), 3,56 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}-6$ ), 5,82 (s, 1H, H-15). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz)  $d_{\text{C}}$ : 11,57 (C-3a), 12,15 (C-2'), 15,36 (C-20), 18,41 (C-2), 22,06 (C-11), 22,89 (C-19), 32,85 (C-14),

33,43 (C-4), 35,22 (C-1''), 36,29 (C-18), 38,28 (C-10), 39,61 (C-1), 40,29 (C-8), 42,85 (C-1'), 44,06 (C-3), 46,58 (C-2a), 48,34 (C-9), 49,32 (C-1a), 56,97 (C-5), 59,46 ( $\text{CH}_3\text{O}-6$ ), 60,47 ( $\text{CH}_3\text{O}-7$ ), 84,58 (C-6), 93,94 (C-7), 106,58 (C-15), 114,23 (C-13), 150,74 (C-16), 151,13 (C-12), 173,43 (C-17). Análise elementar: encontrado (%): C: 72,00, H: 10,08, N: 5,65,  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_4$ , teórico (%): 71,67, H: 10,02, N: 5,57.

*6a-Acetoxivouacapan-7b,17b-lactona* (5). Rendimento de 92%,  $T_f = 222,0-225,0$  °C (226,1-227,9 °C, RUBINGER et al., 1991).

*N-Etil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida* (6). Rendimento de 88%,  $T_f = 112-113$  °C, IV (KBr,

$\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\max}$  : 3300, 2920, 2850, 1750, 1660, 1550, 1520, 1300, 1270, 1220, 1250, 1140, 1080, 1050, 1030, 970, 910, 850. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $d_{\text{H}}$ : 0,93 (s,  $\text{CH}_3-20$ ), 1,02 (s,  $\text{CH}_3-19$ ), 1,08 (s,  $\text{CH}_3-18$ ), 1,16 (t,  $J_{2',1'} = 7,2$  Hz, H-2'), 0,90-1,80 (m, H-1, 2, 3, 5 and 9), 2,10 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,22-2,33 (ddd,  $J_{8,14} = 8,6$  Hz,  $J_{8,7} = 10,0$  Hz,  $J_{8,9} = 12,0$  Hz, H-8), 2,33-2,44 (ddd,  $J_{\text{gem}} = 16,1$  Hz,  $J_{11\text{a},9} = 11,5$  Hz,  $J_{11\text{a},14} = 2,3$  Hz, H-11a), 2,62-2,72 (dd,  $J_{\text{gem}} = 16,1$  Hz,  $J_{11\text{e},9} = 5,2$  Hz, H-11eq), 3,13-3,18 (d,  $J_{\text{OH},7} = 7,6$  Hz, -OH), 3,18-3,23 (dl,  $J_{14,8} = 8,6$  Hz, H-14), 3,25-3,34 (lq,  $J_{1',2'} = 7,2$  Hz, H-1'), 3,36-3,45 (ddd,  $J_{7,\text{OH}} = 7,6$  Hz,  $J_{7,6} = 9,2$  Hz,  $J_{7,8} = 10,0$  Hz, H-7), 5,20-5,30 (dd,  $J_{6,7} = 9,2$  Hz,  $J_{6,5} = 11,7$  Hz, H-6), 5,70 (dd,  $J_{\text{NH},1'} = 5,41$  Hz,  $J_{\text{NH},1'} = 5,38$  Hz, -NH), 6,15 (d,  $J_{15,16} = 1,8$  Hz, H-15), 7,25 (d,  $J_{16,15} = 1,8$  Hz, H-16). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $d_{\text{C}}$ : 14,66 ( $\text{CH}_3-2'$ ), 15,43 ( $\text{CH}_3-20$ ), 18,31 ( $\text{CH}_2-2$ ), 22,07 ( $\text{CH}_2-11$ ), 21,87 ( $\text{CH}_3-2''$ ), 22,35 ( $\text{CH}_3-19$ ), 33,08 (C-4), 34,80 ( $\text{CH}_2-1'$ ), 36,06 ( $\text{CH}_3-18$ ), 38,56 (C-10), 39,37 ( $\text{CH}_2-1$ ), 43,05 (CH-8), 43,42 ( $\text{CH}_2-3$ ), 48,52 (CH-14), 48,80 (CH-9), 54,84 (CH-5), 75,33 (CH-6), 80,86 (CH-7), 108,60 (CH-15), 113,84 (C-13), 141,55 (CH-16), 151,38 (C-12), 171,33 (C-1''), 175,42 (C-17). Análise elementar: encontrado (%): C: 68,37; H: 8,32; N: 3,39.  $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_5$ , teórico (%): C: 69,06, H: 8,39, N: 3,36.

*N,N-Dietil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida* (7). Rendimento de 85%,  $T_f = 231-233$  °C, IV

(nujol,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\max}$  : 3320, 2920, 2860, 1730, 1620, 1510, 1250, 1180, 1130, 1080, 1060, 1020, 980, 960, 920, 900, 850, 730.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $d_{\text{H}}$ : 0,94 (s,  $\text{CH}_3-20$ ), 1,02 (s,  $\text{CH}_3-19$ ), 1,08 (s,  $\text{CH}_3-18$ ), 1,08-1,18 (t,  $J_{4',3'} = 7,0$  Hz, H-2'), 1,23-1,34 (t,  $J_{2',3'} = 7,0$  Hz, H-4'), 0,80-1,80 (m, H-1, H-2, H-3, H-5, H-9 e -OH), 2,10 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,35-2,75 (m, H-8, H-11), 3,05-3,25 (m, H-3'), 3,26-3,50 (m, H-7), 3,50-3,59 (dl,  $J_{14,8} = 8,3$  Hz, H-14), 3,52-3,78 (m, H-1'), 5,15-5,33 (dd,  $J_{6,7} = 9,3$  Hz,  $J_{6,5} = 11,5$  Hz, H-6), 6,03 (d,  $J_{15,16} = 1,8$  Hz, H-15), 7,22 (d,  $J_{16,15} = 1,8$  Hz, H-16). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50MHz)  $d_{\text{C}}$ : 12,84 ( $\text{CH}_3-$

2'), 14,55 (CH<sub>3</sub>-4'), 15,45 (CH<sub>3</sub>-20), 18,35 (CH<sub>2</sub>-2), 21,99 (CH<sub>3</sub>-2''), 22,07 (CH<sub>2</sub>-11), 22,48 (CH<sub>3</sub>-19), 33,12 (C-4), 36,24 (CH<sub>3</sub>-18), 38,82 (C-10), 39,39 (CH<sub>2</sub>-1), 41,00 (CH<sub>2</sub>-3'), 42,06 (CH-8), 42,45 (CH<sub>2</sub>-1'), 42,72 (CH.14), 43,49 (CH<sub>2</sub>-3), 48,22 (CH-9), 55,21 (CH-5), 75,60 (CH-6), 81,49 (CH-7), 107,92 (CH-15), 114,25 (C-13), 141,39 (CH-16), 150,88 (C-12), 171,29 (C-1''), 174,54 (C-17). Análise elementar: encontrado (%): C: 69,37, H: 8,83, N: 3,23, C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>5</sub>, teórico (%): C: 70,11, H: 8,76, N: 3,15.

#### sintetizados de ácido 6a,7b-di-hidroxivouacapan-17b-óico

O desenvolvimento radicular das sementes das espécies daninhas fedegoso - *Senna occidentalis* (L.) Link (Caesalpiniaceae) e de carrapichinho - *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze (Asteraceae) variou em função, tanto da concentração como da substância (Tabela 1).

#### Avaliação da atividade alelopática dos derivados

**Tabela 1.** Efeitos alelopáticos dos derivados 2 a 7 sobre a germinação de sementes de plantas daninhas. Dados expressos em percentual do desenvolvimento radicular em relação ao tratamento-testemunha (água destilada), após 72 horas de incubação.

Substância	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	Crescimento radicular (%)	
		<i>Senna occidentalis</i>	<i>Acanthospermum australe</i>
2	1,0	107 a	99 c
	100,0	101 b	95 d
	1000,0	96 c	93 d
3	1,0	99 c	114 a
	100,0	98 c	108 b
	1000,0	95 d	102 b
4	1,0	95 d	96 c
	100,0	90 d	90 d
	1000,0	88 e	84 e
5	1,0	98 c	95 d
	100,0	94 d	90 d
	1000,0	92 d	87 e
6	1,0	85 e	88 e
	100,0	76 g	76 g
	1000,0	71 g	73 g
7	1,0	89 e	98 c
	100,0	80 f	83 f
	1000,0	75 g	77 g

Médias dentro de cada coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

No conceito de alelopatia estão embutidos dois tipos de efeitos, que são os inibitórios e os estimulatórios (SOUZA FILHO; DUARTE, 2007). Os efeitos estimulatórios podem estar relacionados à concentração, manifestando-se em condições de baixa concentração (RICE, 1984). No presente trabalho, este fato foi observado para os derivados 2 e 3 na concentração de 1 mg.L<sup>-1</sup>, conforme mostra a Tabela 1.

Na concentração de 1000,0 mg.L<sup>-1</sup> todas as

substâncias apresentaram efeito inibitório variando de 4,0 a 29,0% na germinação e crescimento radicular de fedegoso, sendo as amidas 6 e 7 as de maiores inibições, respectivamente 29,0 e 25,0 %, indicando ser esta concentração um marco de segurança de atividade quando se deseja ação herbicida. Na mesma concentração, para o carrapichinho, a substância 3, com as hidroxilas metiladas, não foi observado potencial aleloquímico, provavelmente porque a presença de grupo hidroxila seja essencial para forma-

ção de ligação de hidrogênio no sítio ativo de ação dessa molécula. Já as amidas 6 e 7 apresentaram efeito inibitório acentuado, respectivamente de 27,0 e 23,0%, o que pode confirmar que no sítio ativo do receptor essas moléculas interagem por meio de ligações de hidrogênio.

Comparando os efeitos alelopáticos das substâncias para ambas as plantas daninhas observa-se que as amidas 6 e 7 foram as que mais intensamente inibiram a germinação e o crescimento radicular do fedegoso e do carrapichinho. Em comparação com os dados da literatura (DEMUNER et al., 1996 e 1998; DUKE et al., 1987, BARBOSA, 2004, BORGES et al., 2007), estes resultados são indicativos de atividade fitotóxica dos derivados de ADV (1) para uso como herbicida. Portanto, é possível considerar esses derivados como protótipos adequados para sofrerem modificações estruturais, que permitam obtenção de novas moléculas com atividade fitotóxica de maior eficácia e potência.

## CONCLUSÕES

Todos os derivados do ácido 6a,7b-di-hidroxyvouacapan-17b-óico são obtidos com alto rendimento (85 a 98%) e suas estruturas químicas são confirmadas por métodos espectrométricos (IV e RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ ). Das substâncias estudadas, a 6 e a 7 apresentam maiores potenciais aleloquímicos sobre as espécies daninhas fedegoso - *Senna occidentalis* (L.) Link (Caesalpinaceae) e de carrapichinho - *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze (Asteraceae).

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, L.C.A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV, 2004. 215p.

BELINELO, V.J. et al. Síntese de Amida Acetilada do Ácido 6a,7b-Di-hidroxyvouacapan-17b-óico Isolado dos Frutos de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae). **Revista Científica FAMINAS**, v.1, p.35-45, 2005.

BELINELO, V.J. et al. Alelopatia de *Arctium minus* Bernh (Asteraceae) na germinação e crescimento radicular de sorgo e pepino. **Revista Caatinga**, v.21,

n.4, p.12-16, 2008.

BORGES, F.C. et al. Potencial alelopático de duas neolignanais isoladas de folhas de *Virola surinamensis* (Myristicaceae). **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.51-59, 2007.

BREITMAIER, E.; BAUER, G.  **$^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy – a working manual with exercises**. London: Harwood Academic Publishers, 1988. 356p.

BREITMAIER, E. **Structure elucidation by NMR in organic chemistry – a practical guide**. Chichester: John Wiley e Sons Ltd., 1993. 265p.

COPPING, L.G. **Crop protection agents from nature: natural products and analogues**, Cambridge - U.K.: SCI, 1996. 501p.

DEMUNER, A.J. et al. Structure and plant growth regulatory activity of new diterpenes from *Pterodon Polygalaeflorus*, **J. Nat. Prod.**, n.59, p.770-772, 1996.

DEMUNER, A.J. et al. Synthesis and plant growth regulatory activity of 6a,7b-di-hydroxyvouacapan-17b-óico acid derivatives. **Aust. J. Chem.**, n.51, p.61-66, 1998.

DUKE, S.O.; LYDON, J. Herbicides from natural compounds. **Weed Technology**, v.1, p.122-128, 1987.

EINHELLIG, F.A.; SCHAN, M.K.; RASMUNSEM, J.A. Synergistic effects of four cinnamic acid compounds again sorghum. **Plant Growth Regulators**, p.251-257, 1983.

FERREIRA M.C.; SOUZA J.R.P.; FARIA T.J. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. **Ciência e Agrotecnologia**. v.31, n.4, p.1054-1060, 2007.

HEANEY, H.; PAPAGEORGIOU, G.; WILKINS, R.F. **Tetrahedron Lett.** v.29, p.2377-2380, 1988.

HEAP, T.M. The occurrence of herbicide resistant weeds worldwide. **Pestic. Sci.**, v.51, p.235-243, 1997.

JASIENIUK, M.; BRÛLÉ-BABEL, A.L.; MORRISON, I.N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed Science**, v.44, p.176-193, 1996.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3. ed. Nova Odessa : Instituto Plantarum, 2000. 640p.

MALTHA, C.R.A. et al. Synthesis of 6a,7b-dihydroxyvouacapan-17b-oic acid derivatives. Part III: synthesis and <sup>1</sup>H, and <sup>13</sup>C of amide derivatives. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.8, n.1, p.203-207, 1997.

MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia – importância e suas aplicações. **Horti Sul**. v.1, p.27-32, 1990.

MORENO, F.; PLAZA, G.A.; MAGNITSKIY, S.V. Effect of the seed coats on germination of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.) seeds. **Agronomía Colombiana**. v.24, p.290-295, 2006.

MÜLLER C. et al. Potencial Fitotóxico de Algumas Espécies Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**. v.5, n.2, p.45-47, 2007

NUNAN, E.A. et al. Furane diterpenes with anti-inflammatory and “pro-inflammatory activities”. **Braz. J. Med. Exp. Sc.**, v.15, n.6, p.450-451, 1982.

PERRIN, D.D.; AMAREGO, W.L. **Purification of laboratory chemicals**. 4. ed., Londres: Butterworth-Heinemann Ltd., 1996. 529p.

RICE, E.L. **Allelopathy**. NewYork: Academic Press, 1984. 422p.

RUBINGER, M.M.M.; PILÓ-VELOSO, D.; STEFANI, G.M. Synthesis of 6a,7b-dihydroxyvouacapan-17b-oic acid derivatives. Part I: hydroxamic acid and amide derivatives. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.2, n.3, p.124-128, 1991.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, n.30, p.507-512, 1974.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 480p.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Química orgânica**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, v.1, 2005. 766p.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Química orgânica**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, v.2, 2006. 542p.

SOUZA FILHO, A.P.S.; DUARTE, M.L.R. Atividade alelopática do filtrado de cultura produzido por *Fusarium solani*. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.227-230, 2007.

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. (Ed.) **Controle alternativo de pragas e doenças**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2005, 359p.