

SYNTEZA ORAZ AKTYWNOŚĆ ANTYFIDANTNA LAKTONÓW

SYNTHESIS AND ANTIFEEDANT ACTIVITY OF LACTONES

Marcelina Mazur

*Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
e-mail: marcelina.mazur@upwr.edu.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. α -Metylenolaktony
2. Fosfonianowe pochodne laktonów
3. Arylowe pochodne laktonów
4. Alkilowe pochodne laktonów
5. Laktony z układem *p*-mentanu
 - 5.1. Laktonowe pochodne piperytolu
 - 5.2. Laktonowe pochodne pulegonu

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Dr inż. Marcelina Mazur Od 2011 roku pracownik naukowo-dydaktyczny w Katedrze Chemii Żywności i Biokatalizy. Doświadczenie naukowe zdobywała między innymi podczas staży zagranicznych na Uniwersytecie w Zagrzebiu oraz na Uniwersytecie w Poitiers. Zainteresowania naukowe Autorki znajdują się na pograniczu chemii i biotechnologii. W pracy naukowej skupia się na biokatalizie i jej zastosowaniu do otrzymywania związków biologicznie aktywnych. Swoją uwagę kieruje w szczególności na związki chlorowcoorganiczne oraz zawierające w swojej strukturze pierścień laktonowy.



<https://orcid.org/0000-0002-6192-5248>

ABSTRACT

Antifeedants, or food deterrents, are substances that, by acting on the sense of taste of insects, entirely or partially inhibit their feeding and can be used to reduce the population of harmful species. Antifeedants have the advantage of low toxicity and high selectivity towards selected groups of pests, providing an alternative to the classically used insecticides, which usually have a broad spectrum of action and greater toxicity, even towards vertebrates. Among their numerous activities, lactones can exhibit antifeedant properties. However, the use of natural lactones as antifeedants is limited due to their low isolation yields from natural sources and complex chemical synthesis. Therefore accessible synthetic compounds are of great interest. This work presents the synthesis pathways and the deterrent activities of the lactones obtained in convenient transformations, often from natural terpene precursors.

Keywords: lactones, antifeedants, food deterrents, insect pests

Słowa kluczowe: laktony, antyfidanty, deterenty pokarmowe, szkodniki owadzie

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

DBU	– 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DI	– relatywny współczynnik deterentności
NCS	– <i>N</i> -chloroimid kwasu bursztynowego
<i>m</i> -CPBA	– kwas <i>m</i> -chloroperoksybenzoesowy
T	– sumaryczny współczynnik deterentności
THF	– tetrahydrofuran

WPROWADZENIE

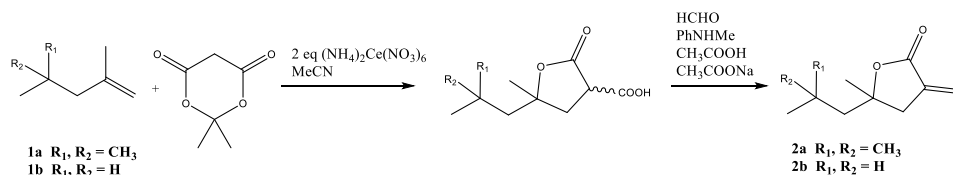
Laktony to wewnątrzcząsteczkowe estry hydroksykwasów. Z uwagi na wielkość pierścienia laktonowego oraz możliwości jego połączenia z różnorodnymi podstawnikami alkilowymi lub aryłowymi, stanowią one niezwykle zróżnicowaną grupę związków. Dzięki tej różnorodności laktony wykazują szereg interesujących właściwości biologicznych np. właściwości przeciwbakteryjne [1], przeciwnowotworowe [2], przeciwzapalne [3], przeciwwirusowe [4] lub przeciwmalaryczne [5]. Mogą być otrzymywane ze źródeł naturalnych, jak kumaryna o zapachu siana lub wyizolowany z kocimiętki nepetalakton. Z uwagi na możliwości ich wykorzystania ze względu m.in. na atrakcyjne właściwości zapachowe, otrzymywane są również na skalę przemysłową, zarówno na drodze syntezy chemicznej jak i metodami biotechnologicznymi. Przykładem jest δ -dekalakton, który charakteryzuje się olejowo-brzoskwińowym aromatem wyczuwalnym już przy stężeniu 5 mg/dm³ [6].

Spśród licznych aktywności, związki z ugrupowaniem laktonowym mogą wykazywać właściwości antyfidantne. Antyfidanty, czyli deterenty pokarmowe, to substancje, które oddziałując na narządy smaku owadów, całkowicie lub częściowo hamują ich żerowanie i mogą służyć do ograniczania populacji ich szkodliwych gatunków [7]. Zaletą antyfidantów jest ich niska toksyczność oraz selektywność względem wybranej grupy szkodników, co stanowi alternatywę względem klasycznie stosowanych insektycydów, które zwykle cechują się szerokim spektrum działania i większą toksycznością nawet w stosunku do kręgowców [8].

Jednym z najbardziej znanych naturalnych antyfidantów jest azadirachtyna [9]. Natomiast liczne laktony seskwiterpenowe, izolowane ze źródeł naturalnych, również wykazują ten rodzaj aktywności [10]. Jako przykład może posłużyć między innymi helenalina - aktywny składnik arniki górskiej od wieków stosowanej w medycynie ludowej, znana ze swojego silnego działania przeciwzapalnego. Alantolakton i izoalantolakton są również znane z uwagi na swoją aktywność przeciwnowotworową, przeciwzapalną i przeciwutleniającą. Każdy z wymienionych powyżej laktonów jest aktywnym antyfidantem względem szkodników magazynów zbożowych takich jak skórek zbożowy i trojszyk ulec [11]. Zastosowanie naturalnych laktonów jako antyfidantów jest jednak ograniczone z uwagi na ich niewielką wydajność izolowania ze źródeł naturalnych oraz skomplikowaną syntezę chemiczną. W związku z tym dużym zainteresowaniem cieszą się związki syntetyczne, które łatwo otrzymać na drodze syntezy chemicznej często stosując naturalne prekursorzy terpenowe.

1. α -METYLENOLAKTONY

Laktony zawierające w swojej strukturze ugrupowanie α -metylenowe znane są powszechnie ze swoich właściwości cytotoksycznych, przeciwbakteryjnych, przeciwpasożytniczych i przeciwnowotworowych [12]. Seskwiterpenowe laktony z ugrupowaniem α -metylenowym, to związki powszechnie izolowane z roślin, głównie z rodziny *Compositae* i stosowane w medycynie ludowej, zwłaszcza do leczenia stanów zapalnych [13]. Również właściwości antyfidantne tych połączeń budzą zainteresowanie. α -Metylenolaktony można otrzymać m.in. w dwuetapowej syntezie chemicznej z alkenów lub cykloalkenów, zgodnie ze schematem przedstawionym poniżej (Rys. 1). W pierwszym kroku następuje wprowadzenie grupy karboksylowej w reakcji z kwasem Meldruma, a uzyskane α -karboksylaktony poddaje się metylenacji połączonej z dekarboksylacją.



Rysunek 1. Synteza α -metylenolaktonów

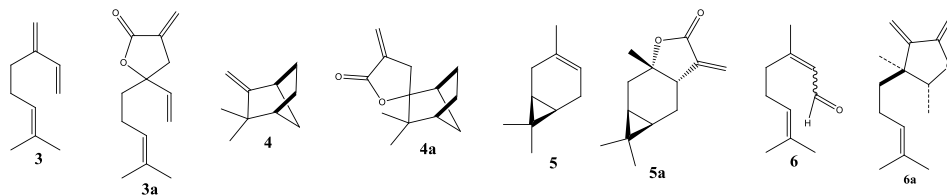
Figure 1. Synthesis of α -methylene lactones

Szereg otrzymanych na tym szlaku syntezy α -metylenolaktonów poddano testom biologicznym w celu określenia ich aktywności antyfidantnej. Związki testowane były względem takich szkodników jak stonka ziemniaczana (*Leptinotarsa decemlineata* Say) oraz pleśniakowiec lśniący (*Alphitobius diaperinus* Panzer). Miarą aktywności deterentnej w badaniach prowadzonych z udziałem tych szkodników jest sumaryczny współczynnik deterentności (T) będący sumą względnego współczynnika deterentności (wyznaczonego w testach z wyborem) oraz bezwzględnego współczynnika deterentności (wyznaczonego w teście bez wyboru). Kiedy wartość sumarycznego współczynnika deterentności mieści się w granicach 200-150 substancja wykazuje bardzo silną aktywność deterentną, w przedziale 150-100 dobrą aktywność deterentną, 100-50 średnią aktywność deterentną, 50-0 słabą, natomiast poniżej zera uważana jest za atraktant [14].

L. decemlineata jest jednym z najbardziej powszechnych szkodników owadziach ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) w Europie i Ameryce Północnej. Chemiczne zwalczanie tego owada stało się trudne ze względu na szybki rozwój odporności populacji chrząszczy na większość insektycydów. Spośród szeregu laktonów z podstawnikiem α -metylenowym najwyższą aktywność zarówno względem larw

(T=160) jak i osobników dorosłych stonki ziemniaczanej (T=136) wykazywał lakton **2a**. Natomiast jego prekursor – 2,4,4-trimetylo-pent-1-en (**1a**) wykazywał właściwości atraktanta pokarmowego. W szeregu przeprowadzonych testów biologicznych można zauważyć, że wprowadzenie funkcji laktonowej zwiększało aktywność deterentną względem tego gatunku szkodnika [15].

Podobne zależności można było zaobserwować w testach prowadzonych na pleśniakowcu lśniącym (*A. diaperinus*). Szkodnik ten zamieszkujący ściółkę w kurnikach oraz fermach drobiu, jest potencjalnym rezerwuarem wielu patogenów ptaków w tym bakterii *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, wirusów wywołujących białaczkę u drobiu, chorobę Mareka, chorobę Gumboro, chorobę Newcastle oraz ptasią grypę [16]. Testowane laktony w większości przypadków wykazywały wyższą aktywność deterentną niż ich prekursorzy. Przykładem mogą być laktony **3a** i **4a** otrzymane z myrcenu (**3**) i kamfenu (**4**), dla których sumaryczny współczynnik deterentności względem osobników dorosłych szkodnika wynosił odpowiednio T=109 i 103. Jednak spośród wszystkich testowanych związków, najwyższą aktywność deterentną charakteryzował się 2,4,4-trimetylo-pent-1-en (**1a**), dla którego sumaryczny współczynnik deterentności wynosił T= 161 [17].



Rysunek 2. α -Metylenolaktony otrzymane z myrcenu, kamfenu, karenu i citralu

Figure 2. α -Methylene lactones derived from myrcene, camphene, carene and citral

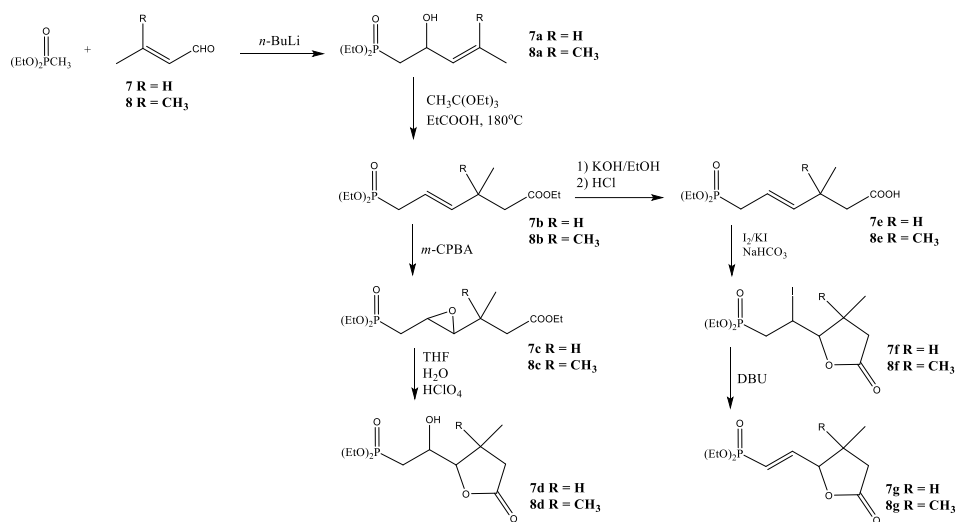
Z goła odmienne wnioski wyciągnięto z badań prowadzonych dla analogicznych par związków w testach aktywności deterentnej względem mszycy grochowej *Acyrtosiphon pisum* (Harris) oraz mszycy brzoskwiowo-ziemniaczanej *Myzus persicae* (Sulzer). Mszyca grochowa i mszyca brzoskwiowo-ziemniaczana to dwa gatunki mszyc, które mogą powodować poważne szkody w różnego typu uprawach roślin użytkowych. *M. persicae* jest uważany za najbardziej polifagiczny gatunek mszycy z żywicielami wtórnymi w ponad 40 różnych rodzinach roślin. Jest także najważniejszym wektorem owadzi ponad 100 wirusów roślinnych. *A. pisum*, choć raczej oligofagiczny (ograniczony głównie do roślin strączkowych), jest gatunkiem szkodnika, który może przenosić ponad 30 chorób wirusowych [18,19]. Dla testowanych par alkenów i cyklicznych terpenów oraz ich pochodnych laktonowych w większości przypadków nie zaobserwowano znacznych różnic w aktywności.

α -Metylenolaktony **2b** i **5a** otrzymane z 2-metylopent-1-enu (**1b**) i (\pm)-3-karenu (**5**) wykazywały aktywność antyfidantną wobec *M. persicae*, podczas gdy związki wyjściowe nie były aktywne. Natomiast (\pm)-kamfen (**4**), który był silnym deterentem względem mszycy brzoskwińowo-ziemniaczanej, stracił aktywność wraz z wprowadzeniem pierścienia laktonowego (**4a**) [19]. Laktonowe pochodne citralu (**6**) także wykazywały aktywność deterentną względem mszycy brzoskwińowo-ziemniaczanej. Citral odznaczał się najszerszym działaniem modyfikującym zachowanie mszyc i działał jako repelent oraz antyfidant przed i po spożyciu. Relatywny współczynnik deterentności (DI) oznaczony w teście z wyborem dla swobodnie przemieszczających się mszyc był najwyższy dla citralu i α -metylenolaktonu **6a** i osiągał odpowiednio 0,7 i 0,8 po 24 godzinach od uzyskania przez mszycę dostępu do liści. Wartości tak oznaczonego współczynnika wahają się od 1 (idealny deterent) do -1 (idealny atraktant) [20].

2. FOSFONIANOWE POCHODNE LAKTONÓW

Grupa fosfonianowa występuje w wielu naturalnych i syntetycznych związkach biologicznie czynnych. Niektóre fosfoniany pochodzenia naturalnego, jak fosmidomycyna, wykazują działanie przeciwbakteryjne [21]. Przykładami syntetycznych biologicznie aktywnych fosfonianów jest alafosfalina o działaniu przeciwbakteryjnym lub herbicyd *N*-fosfonometyloglicyna [22]. Natomiast niektóre pochodne fosfonianowe laktonów wykazują właściwości antyfidantne. Jako przykład mogą posłużyć laktony, które udało się otrzymać w kilkustopniowej syntezie chemicznej rozpoczynającej się od reakcji metylofosfonianu dietylolitu odpowiednio z aldehydem krotonowym (**7**) lub 3-metylo-2-buten-1-alem (**8**).

Produkty tych reakcji, którymi były pochodne alkoholi allilowych **7a** i **8a**, zostały poddane następnie przegrupowaniu Claisena w modyfikacji ortoocetanowej. Otrzymane nienasycone estry **7b**, **8b** utleniono kwasem *m*-chloroperoksybenzoesowym w celu otrzymania epoksyestrów **7c** i **8c**. Te natomiast stanowiły substraty w reakcji laktonizacji prowadzonej w środowisku kwaśnym, w wyniku której otrzymano fosfonohydroksylaktony **7d** i **8d** [23]. Otrzymane na tym samym szlaku przekształceń estry stanowiły również substraty do otrzymywania jodolaktonów **7f** i **8f** oraz ich nienasyconych pochodnych **7g** i **8g**. W tym wypadku estry poddawane były zasadowej hydrolizie, a produkty hydrolizy, którymi były nienasycone kwasy karboksylowe **7e**, **8e**, jodolaktonizowano i poddawano dehydrohalogenacji z udziałem 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-enu (DBU) (Rys. 3) [24].



Rysunek 3. Synteza fosfonolaktonów
Figure 3. Synthesis of phosphonolactones

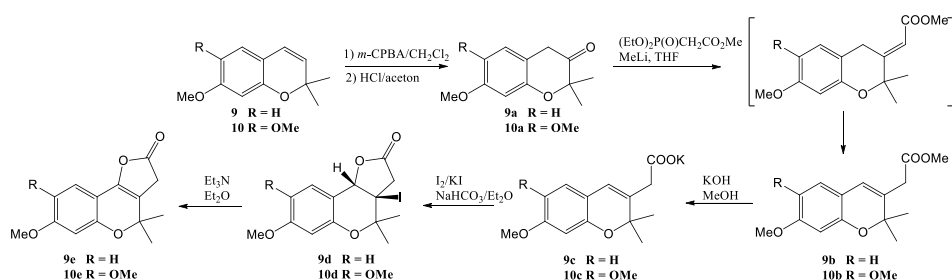
Wszystkie otrzymane pochodne fosfonianowe laktonów zostały poddane badaniom aktywności antyfidantnej względem szkodników magazynów zbożowych takich jak: chrząszcze wołka zbożowego (*Sitophilus granarius* L.), larwy skórka zbożowego (*Trogoderma granarium* Ev.) oraz chrząszcze i larwy trojszyka ulca (*Tribolium confusum* Duv.). Najbardziej aktywne okazały się jodolaktony zawierające resztę kwasu fosfonowego **7f**, **8f**. Dla wszystkich testowanych szkodników sumaryczny współczynnik deterentności tych związków przekroczył wartość 100 [24], a w przypadku pochodnej **7f** dla larw skórka zbożowego wyniósł 155. Laktony nienasycone **7g**, **8g** i hydroksylaktony **7d**, **8d** wykazywały większą selektywność względem larw trojszyka ulca oraz larw skórka zbożowego [23].

3. ARYLOWE POCHODNE LAKTONÓW

Prekoceny, metoksyłowe pochodne 2,2-dimetylochromenu, wyizolowane z roślin z rodzaju *Ageratinae*, znane są ze swojej aktywności do indukowania przedwczesnej metamorfozy u niedojrzałych pluskwiaków [25]. Dowiedziono, że prekoceny wykazują również działanie antyfidantne. Obecność prekocenu II w diecie *Rhodnius prolixus* ogranicza jego żerowanie, co związane jest ze zmniejszeniem ilości krwi pobieranej przez tego owada [26]. Mimo, iż prekoceny wykazują właściwości antyjuwenilne i antyfidantne, charakteryzują się również właściwościami hepatotoksycznymi i nefrotoksycznymi w stosunku do kręgowców [27]. W związku z tym chemiczne mo-

dyfikacje ich struktury prowadzone były w celu otrzymania pochodnych o potencjalnie mniejszej toksyczności.

Transformację prekocenów **9** i **10** w odpowiednie 3-chromanony **9a** i **10a** przeprowadzono zgodnie ze zmodyfikowaną metodą Jenningsa [28] (hydrolizę i przegrupowanie 3,4-diolu przeprowadzono jednoetapowo przy użyciu kwasu chlorowodorowego w acetonie). Otrzymane w ten sposób chromanony **9a** i **10a** poddano reakcji Hornera-Wadswortha-Emmons. Bezpośrednie produkty olefinowania chromanonów, estry z egzocyklicznym wiązaniem podwójnym, izomeryzowały w środowisku reakcji do bardziej trwałych β,γ -nienasyconych estrów **9b** i **10b**. Kolejnym etapem była ich zasadowa hydroliza oraz jodolaktonizacja. Nienasycone laktony **9e** i **10e** otrzymano w reakcji odpowiednich jodolaktonów **9d** i **10d** z trietyloaminą w eterze dietylowym w temperaturze pokojowej (Rys. 4).



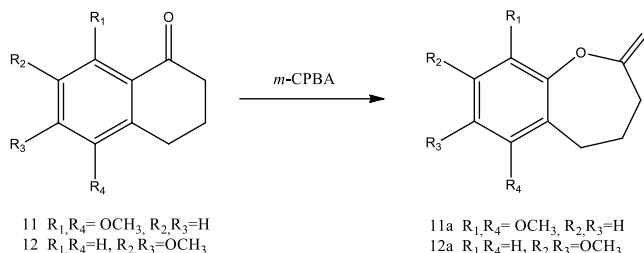
Rysunek 4. Synteza laktonowych pochodnych prekocenów

Figure 4. Synthesis of lactone derivatives of precocenes

Prekoceny, zwłaszcza prekocen II (**10**), wykazywały bardzo silne działanie antyfidantne na wszystkie testowane szkodniki magazynów zbożowych (chrząszcze i larwy *T. confusum*, chrząszcze *S. granarius*, larwy *T. granarium*). Wprowadzenie ugrupowania laktonowego spowodowało spadek aktywności antyfidantnej wobec tych gatunków. Oba prekoceny były umiarkowanie aktywne wobec stonki ziemniaczanej (*L. decemlineata*). Najlepszymi antyfidantami dla tego gatunku były jodolaktony. Wprowadzenie jodu do cząsteczki miało pozytywny wpływ na zwiększenie aktywności antyfidantnej testowanych laktonów względem stonki ziemniaczanej w porównaniu do nienasyconych analogów [29].

Porównując właściwości antyfidantne aromatycznych ϵ -laktonów, otrzymanych w reakcji utlenienia Baeyera-Villigera (Rys. 5) z metoksy- i dimetoksy pochodnych tetralonu, również w większości przypadków można zauważyć, że wykazywały one wyższą aktywność od karbonylowych prekursorów. Najbardziej aktywny spośród puli testowanych związków okazał się 6,9-dimetoksybenzoksepan-2-on (**11a**) względem larw trojszyka ulca (*T. confusum*) z całkowitym współczynnikiem deterentności na poziomie T=146 oraz 7,8-dimetoksybenzoksepan-2-on (**12a**), dla którego sumaryczny współczynnik deterentności wynosił T=142. Wszystkie testowane w tym badaniu zwią-

zki wykazywały dość słabą aktywność względem larw skórka zbożowego (*T. granarium*) [30]. W przypadku badań aktywności deterentnej względem mszycy brzoskwińniowo-ziemniaczanej *M. persicae*, to właśnie 7,8-dimetoksybenzoksepan-2-on (**12a**) charakteryzował się najwyższą aktywnością [31].

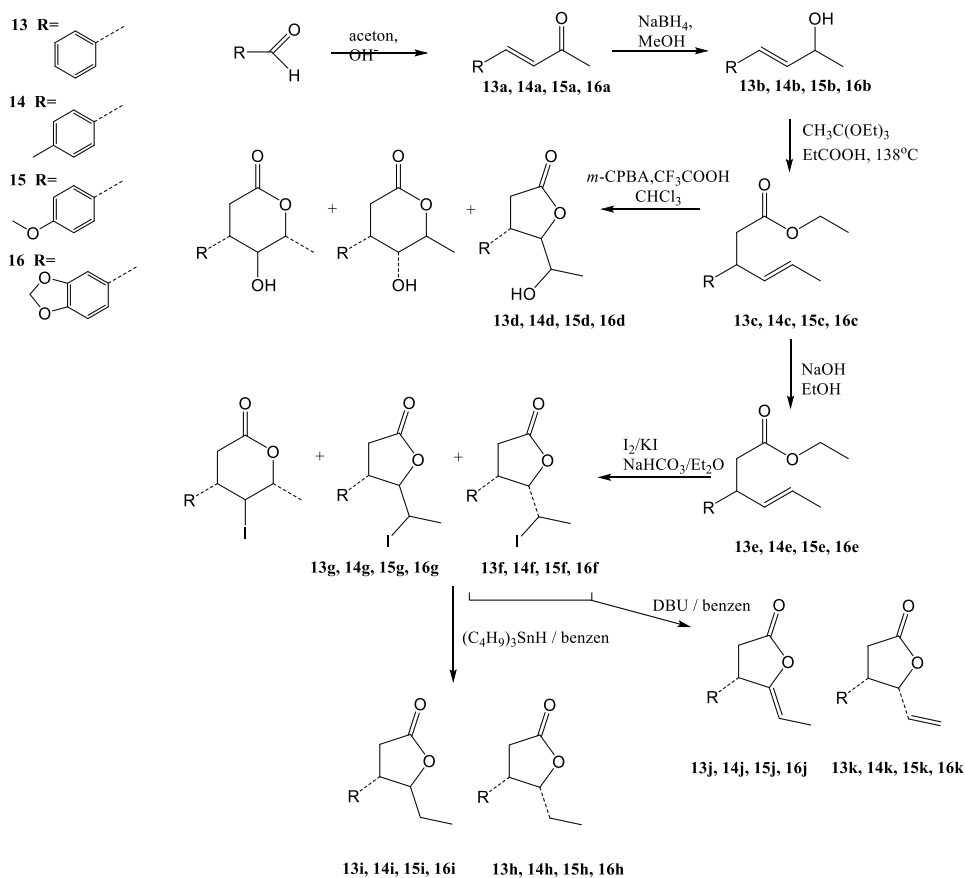


Rysunek 5. Reakcja utlenienia Baeyera-Villigera pochodnych tetralonu do ϵ -laktonów
Figure 5. Baeyer-Villiger oxidation reactions of tetralone derivatives to ϵ -lactones

Liczne β -arylo- γ -laktony zawierające, dodatkowo w swojej strukturze, grupy hydroksylowe, atomy chlorowca oraz wiązania olefinowe stanowiły grupę związków testowych, wśród których udało się znaleźć substancje o wysokiej aktywności antyfidantnej, porównywalnej nawet z azadirachtyną. Bezpośrednimi substratami w syntezie laktonów były γ, δ -nienasycone estry **13c-16c**, zawierające podstawnik fenylowy **13c**, *p*-metylofenylowy **14c**, *p*-metoksyfenylowy **15c** oraz benzo[1,3]dioksolowy **16c**. Otrzymano je na szlaku przekształceń wychodząc z odpowiednich aldehydów aromatycznych **13-16**, które w pierwszym etapie poddano kondensacji Claisena-Schmidta z acetonem w środowisku zasadowym. Produkty tej reakcji **13a-16a** następnie selektywnie zredukowano z udziałem NaBH_4 , w wyniku czego otrzymano odpowiednie alkohole allilowe **13b-16b**. Kolejnym etapem było przegrupowanie Johnsona-Claisena z zastosowaniem ortoocetanu etylu i katalitycznej ilości kwasu propionowego. Otrzymane γ, δ -nienasycone estry poddano laktonizacji przy użyciu kwasu *m*-chloroperoksybenzoesowego oraz katalitycznej ilości kwasu trifluoroctowego. W toku reakcji następowała epoksydacja podwójnego wiązania, a powstałe epoksyestry były natychmiast przekształcane w mieszaninę hydroksylaktonów. Alternatywnie estry hydrolizowano w środowisku zasadowym, do γ, δ -nienasyconych kwasów karboksylowych **13e-16e**, które w dalszej kolejności poddawano jodolaktonizacji oraz dehydrohalogenacji z udziałem DBU lub reakcji z wodorkiem tributylowy, w wyniku której otrzymano γ -etylo pochodne **13i-16i**, **13h-16h** (Rys. 6).

Spośród testowanych hydroksylaktonów najwyższą aktywnością, względem szkodników magazynów zbożowych, charakteryzował się laktone z podstawnikiem *p*-metylofenylowym **14d**. Całkowity współczynnik deterentności wynosił w tym wypadku $T=132$ względem larw trojszyska ulca (*T. confusum*), $T=124$ względem larw skórka zbożowego (*T. granarium*) i $T=104$ względem chrząszczy wołka zbożowego

(*S. granarius*) [32]. Lakton z podstawnikiem fenylowym **13i** wykazywał wysoką aktywność (T=162) względem larw trojszyka ulca, natomiast lakton z podstawnikiem *p*-metylofenylowym **14i** wykazywał wysoką aktywność (T=167) względem larw skórka zbożowego [33]. Spośród laktonów z podstawnikiem *p*-metoksyfenylowym największą aktywność antyfidantną wobec wszystkich testowanych szkodników, porównywalną z azadirachtyną, zaobserwowano dla laktonu z podstawnikiem winylowym **15k**, który okazał się bardzo silnym deterentem żerowania osobników dorosłych i larw trojszyka ulca (*T. confusum*, T = 171 i 184) oraz skórka zbożowego (*T. granarium*, T = 172). W testach prowadzonych z udziałem wołka zbożowego (*S. granarius*), zaobserwowano silną aktywność tego związku (T=143) [34].

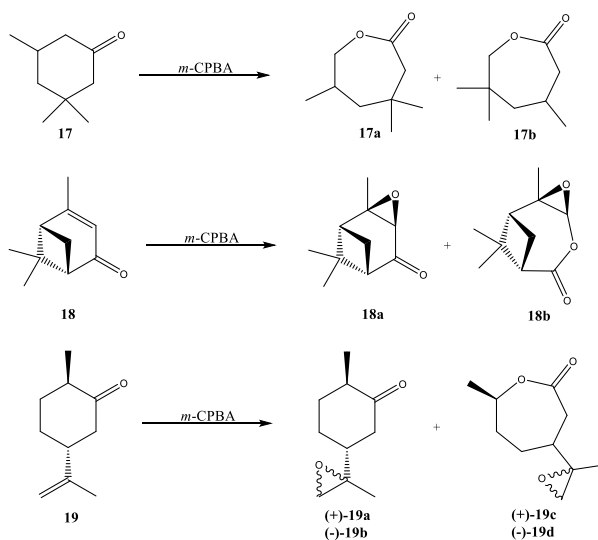


Rysunek 6. Synteza laktonów z podstawnikiem aromatycznym
Figure 6. Synthesis of lactones with aromatic substituent

4. ALKILOWE POCHODNE LAKTONÓW

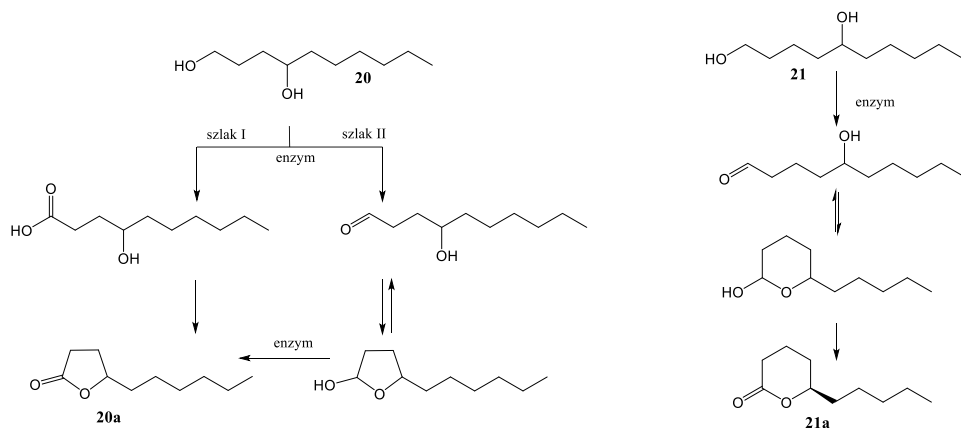
Alkilopodstawione ϵ -laktony można otrzymać jako produkty reakcji utlenienia typu Baeyera-Villigera odpowiednich metylopodstawionych cykloheksanonów (Rys. 7).

Dodatkowo obecność w cząsteczce substratu wiązania C=C powoduje, że produkty syntezy, obok pierścienia laktonowego, mogą również zawierać funkcję epoksydową. Co ciekawe, występowanie pierścienia oksiranowego zwiększało aktywność deterentną niektórych pochodnych ϵ -laktonów względem szkodników magazynów zbożowych. Spośród licznych testowanych metylopodstawionych ϵ -laktonów najwyższą aktywnością (T=109) charakteryzował się 4,4,6-trimetylooksepan-2-on (**17a**), względem chrząszczy trojszyka ulca. Jednak zdecydowanie wyższe aktywności deterentne uzyskano testując epoksydowe pochodne werbenonu **18b** (chrząszcze wołka zbożowego T=164) i dihydrokarwonu **19c** i **19d** (trojszyk ulec larwy **19c** T=117, a **19d** T=145) [35]. W przypadku badania aktywności antyfidantnej podobnej grupy związków względem mszycy brzoskwińowo-ziemniaczanej najwyższą aktywnością charakteryzowały się epoksydylaktony otrzymane z dihydrokarwonu [36].

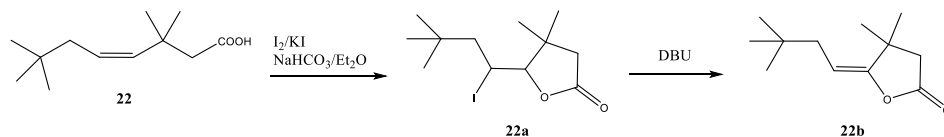


Rysunek 7. Reakcje utlenienia Baeyera-Villigera cyklicznych ketonów do ϵ -laktonów
Figure 7. Baeyer-Villiger oxidation reactions of cyclic ketones to ϵ -lactones

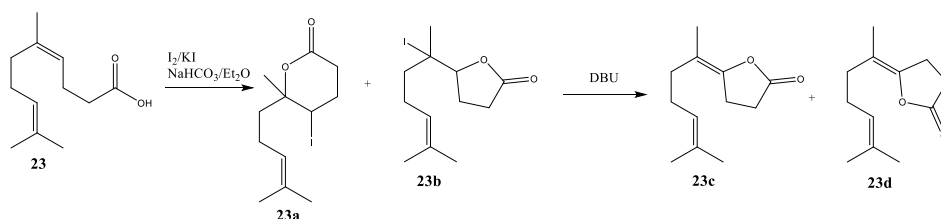
Wzbogacone enancjomerycznie γ - i δ -dekalaktony **20a** i **21a** otrzymano z odpowiednich racemicznych dioli **20** i **21**, jako produkty enzymatycznego utleniania katalizowanego przez różne dehydrogenazy alkoholowe w tym dehydrogenazę alkoholową (HLADH) wyizolowaną z wątroby końskiej, jak i rekombinowaną w *E. coli* (Rys. 8). Działanie deterentne dekalaktonów **20a** i **21a** przeciwko mszycy brzoskwińowo-ziemniaczanej *M. persicae* zależało od wielkości pierścienia laktonowego i czystości enancjomerycznej związków. Dekalakton **21a** zawierający sześcioczłonowy pierścień okazał się nieaktywny wobec *M. persicae*, podczas gdy lewoskrętny izomer dekalaktonu **20a** z pięcioczłonowym pierścieniem wykazywał właściwości deterentne [37].

Rysunek 8. Enzymatyczna synteza γ - i δ -dekalaktonuFigure 8. Enzymatic synthesis of γ - and δ -decalactone

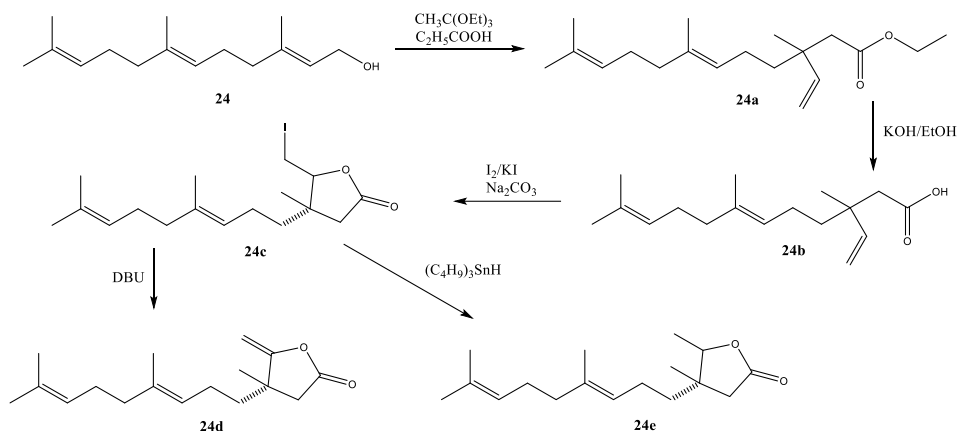
Alkilpodstawione laktony zawierające egzocykliczne wiązanie C=C otrzymano również w sekwencji reakcji wychodząc z odpowiednich γ,δ -nienasyconych kwasów, które poddano jodolaktonizacji i dehydrohalogenacji z udziałem DBU (Rys. 9 i 10). Ich aktywność wyznaczono m.in. dla stonki ziemniaczanej (*L. decemlineata*) oraz mszycy brzoskwińniowo-ziemniaczanej (*M. persicae*). Najdłużej efekty deterentne względem mszyc wywoływał nienasycony lakton **22b**. W tym wypadku zmniejszenie liczby owadów zasiedlających liście obserwowano od rozpoczęcia do końca trwania eksperymentu, to jest do 24 godzin po zastosowaniu laktonu **22b** [38].

Rysunek 9. Synteza γ -laktonu **22b**Figure 9. Synthesis of γ -lactone **22b**

Laktony **23c** i **23d** były skuteczniejszymi deterrentami względem chrząszczy niż larw stonki ziemniaczanej. Szczególnie dobre właściwości antyfidantne wobec chrząszczy stwierdzono w przypadku laktonu **23c** o konfiguracji *E* wiązania podwójnego. W teście z wyborem całkowicie hamował on żerowanie, a w teście bez wyboru chrząszcze zjadały o 60% mniej pokarmu, w porównaniu z kontrolą. Był on również dobrym deterrentem względem larw tego szkodnika, ale działanie to było widoczne tylko w teście z wyborem. W sytuacji braku wyboru potraktowany badanym związkiem pokarm był akceptowany przez larwy, a poziom żerowania tylko nieznacznie różnił się od kontroli [39].

Rysunek 10. Synteza γ -laktonów **23c** i **22d**Figure 10. Synthesis of γ -lactones **23c** and **22d**

Wychodząc od farnezolu (**24**), seskwiterpenowego alkoholu allilowego, w podobnej sekwencji reakcji otrzymano szereg związków, których aktywność antyfidantną określono względem szkodników magazynów zbożowych, stonki ziemniaczanej oraz mszyce brzoskwińowo-ziemniaczanej. Szlak przekształceń obejmował w tym wypadku przegrupowanie Johnsona-Claisena, zasadową hydrolizę otrzymanych estrów, jodolaktonizację nienasyconych kwasów karboksylowych, a następnie przekształcenie laktonowych pochodnych z udziałem DBU i wodoru tributylocyny (Rys. 11). Spośród uzyskanych związków z ugrupowaniem laktonowym, najwyższą aktywność wykazywał lakton **24e** względem larw i chrząszczy trojszyka ulca, sumaryczny współczynnik deterentności osiągnął wartości odpowiednio $T=152$ i 144 . Dobrymi deterentami względem tego szkodnika okazały się także lakton **24d** ($T=142$ i 114) oraz jodolakton **24c** ($T=138$ i 112). Jednak podkreślić należy, że związek wyjściowy – farnezol, miał zdecydowanie szerszy wachlarz aktywności i wykazywał właściwości antyfidantne względem: larw trojszyka ulca ($T=185$), chrząszczy wołka zbożowego ($T=149$), larw skórka zbożowego ($T=128$) oraz chrząszczy pleśniakowca lśniącego ($T=121$) [40]. Podobnie w badaniach deterentności względem stonki ziemniaczanej najbardziej aktywny okazał się farnezol. Natomiast dobre właściwości deterentne względem larw tego szkodnika wykazywał także γ -metylenolakton **24d** [41]. Farnezol okazał się też najbardziej aktywnym deterentem względem mszyce brzoskwińowo-ziemniaczanej. Stosowanie tego terpenoidu powodowało unikanie potraktowanych nim roślin przez mszyce. Laktonowe pochodne farnezolu **24d** i **24e** były aktywnymi deterentami (wartości relatywnego współczynnika deterentności wynosiły odpowiednio $DI: 0,4$ i $0,3$), jednak ich niekorzystny wpływ na zasiedlanie roślin przez mszyce był widoczny dopiero po 24h trwania eksperymentu. Testowany jodolakton **24c** nie wykazywał aktywności deterentnej w przeprowadzonych eksperymentach [42].



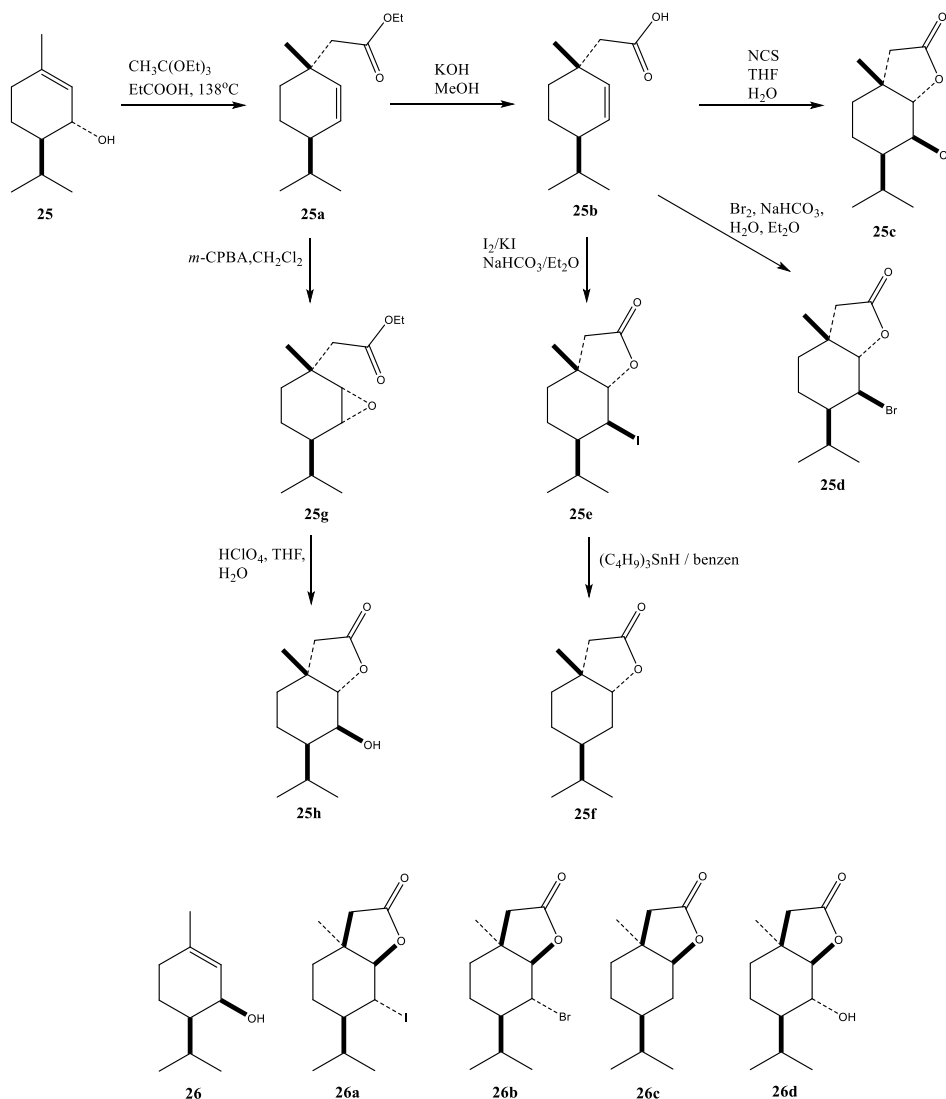
Rysunek 11. Synteza laktonowych pochodnych farnesolu

Figure 11. Synthesis of lactone derivatives of farnesol

5. LAKTONY Z UKŁADEM *p*-MENTANU

5.1. LAKTONOWE POCHODNE PIPERYTOLU

Liczne związki z ugrupowaniem laktonowym otrzymano w wyniku syntezy chemicznej, która rozpoczynała się od terpenowych prekursorów z układem *p*-mentanu. Jako przykład mogą tu posłużyć laktony, które otrzymano w trzy i czteroetapowej syntezie z racemicznych *trans*- (**25**) oraz *cis*-piperytolu (**26**), jak i enancjomerów poszczególnych alkoholi (Rys. 12) [43]. Synteza obejmowała przegrupowanie Johnsona-Claisena oraz zasadową hydrolizę estrów. Nienasycone kwasy były substratem w trzech różnych reakcjach halolaktonizacji. Pierwsza prowadzona była w środowisku zasadowym z zastosowaniem roztworu jodu w jodku potasu, a jej produktami były odpowiednie jodolaktony **25e** i **26a**. W wyniku laktonizacji γ,δ -nienasyconych kwasów karboksylowych z użyciem bromu jako czynnika elektrofilowego otrzymano odpowiednie bromolaktony **25d** i **26b**. Aby otrzymać chlorolaktony, przeprowadzono reakcję γ,δ -nienasyconych estrów z *N*-chloroimidem kwasu bursztynowego (NCS). W reakcji estrów otrzymanych z *cis*-piperytonu z NCS powstała mieszanina produktów, których niestety nie udało się rozdzielić i w konsekwencji określić ich struktury. W reakcji *trans*- γ,δ -nienasyconego estru z NCS, otrzymano odpowiadający mu chlorolakton **25c**. W reakcji jodolaktonów z wodorkiem tributylocyny otrzymano nasycone laktony **25f** i **26c** [44]. Utlenianie γ,δ -nienasyconych estrów kwasem *m*-chloroperoksybenzoesowym pozwoliło na otrzymanie epoksyestrów i następnie, w reakcji laktonizacji prowadzonej w środowisku kwaśnym, odpowiednich hydroksylaktonów **25h** i **26d** [45].



Rysunek 12. Synteza laktonowych pochodnych z *trans*-piperytolu oraz ich odpowiedniki otrzymane z *cis*-piperytolu

Figure 12. Synthesis of lactone derivatives of *trans*-piperitol and their analogues derived from *cis*-piperitol

Wszystkie laktonowe pochodne wykazywały aktywność deterentną względem mszycy brzoskwiwniowo-ziemniaczanej. Jodo-, bromo- i chlorolaktony wpływały negatywnie na żerowanie wstępne oraz właściwe i osiadanie *M. persicae*. Aktywność deterentna poszczególnych związków różniła się w zależności od rodzaju atomu chloro-

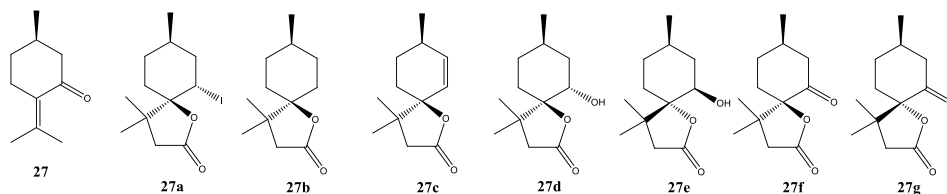
wca obecnego w cząsteczce oraz od struktury przestrzennej laktonu.

W odniesieniu do epidemiologicznego znaczenia mszyc jako wektorów wirusów, bromolaktony, zwłaszcza (+)-**25d** i (+)-**26b**, byłyby najbardziej obiecującymi substancjami deterentnymi, które potencjalnie mogą zapobiegać przenoszeniu wirusów roślinnych [43]. Laktony (+)-**25f** i (±)-**25f** wykazały szeroki zakres i długość działania deterentnego wobec *M. persicae*: związki te działały natychmiast po zastosowaniu i powodowały zaprzestanie żerowania wstępnego testowanych owadów [44]. Wszystkie hydroksylaktony wpływały negatywnie na osiadanie *M. persicae*. Lakton (–)-**26d** był spośród nich najsilniejszym deterentem żerowania wstępnego oraz właściwego dla tych szkodników [45].

Laktonowe pochodne piperytoli testowano również względem pleśniakowca lśniącego *A. diaperinus*. Praktycznie wszystkie laktonowe pochodne były znacznie silniejszymi antyfidantami dla osobników dorosłych niż dla larw, co jest zjawiskiem dość powszechnym. Spowodowane jest to tym, że osobniki dorosłe posiadają większą liczbę chemoreceptorów w części głębowej i wybierają określone rośliny, na których żerują i składają jaja. Najbardziej aktywnymi związkami były hydroksylaktony (–)-**25h** i (±)-**25h**. Sumaryczny współczynnik deterentności wynosił w tym wypadku odpowiednio $T=172$ i 180 , co stanowi wartość porównywalną do azadirachtyny. W obecności tych laktonów, pokarm spożywany przez osobniki dorosłe tego owada w teście bez wyboru, stanowił jedynie około 3% pokarmu spożywanego w kontroli. Z pochodnych laktonowych zawierających atom chlorowca na uwagę zasługuje wysoka aktywność joodolaktonu (±)-**25a** zarówno względem larw ($T=164$) jak i osobników dorosłych ($T=159$) pleśniakowca lśniącego [46]. Testowane laktony wykazywały jednak słabe właściwości deterentne względem stonki ziemniaczanej *L. decemlineata* [45].

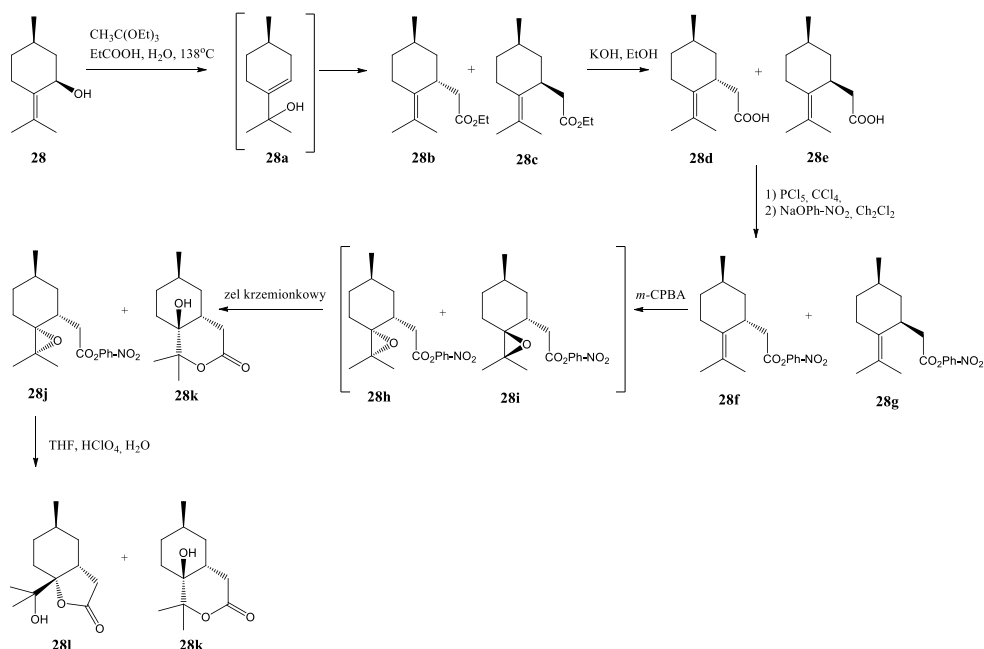
5.2. LAKTONOWE POCHODNE PULEGONU

Szereg laktonowych pochodnych otrzymano również stosując jako substrat w syntezie pulegon (**27**). Laktonowe pochodne otrzymano na dwóch szlakach przekształceń jednym klasycznym, rozpoczynającym się redukcją grupy karbonylowej ketonu z udziałem NaBH_4 i dalej prowadzonym w sposób analogiczny do przedstawionego wyżej dla piperytolu. Produktami tych reakcji były odpowiednie jodo- (**27a**), hydroksy- (**27d**, **27e**) nienasycone (**27c**) i nasycone laktony (**27b**). Hydroksylaktony otrzymane na tym szlaku utleniało również, stosując dichromian pirydyny w dichlorometanie, do odpowiednich ketonowych pochodnych **27f**, **27g** (Rys.13) [47,48].



Rysunek 13. Laktony otrzymane z pulegonu
Figure 13. Lactones derived from pulegone

Drugi szlak przekształceń rozpoczynał się od reakcji przegrupowania allilowego połączonego z przegrupowaniem Claisena enancjomerów *cis*-pulegolu (**28**). W obecności katalitycznych ilości wody otrzymano mieszaniny γ,δ -nienasyconych estrów etylowych **28b** i **28c**. Taki przebieg reakcji był spowodowany przegrupowaniem *cis*-pulegolu do bardziej stabilnych alkoholi trzeciorzędowych, które ulegały przegrupowaniu Claisena. Mieszaninę estrów następnie zhydrolizowano oraz przeprowadzono w *p*-nitrofenylowe pochodne **28f** i **28g**, które rozdzielono metodami chromatograficznymi. Następnie prowadzono reakcję epoksydacji z *m*-CPBA, a otrzymane epoksyestry **28h**, **28i** rozdzielono i poddano reakcji laktonizacji w środowisku kwaśnym, jako produkty otrzymując γ - i δ -hydroksylaktyny **28k** i **28l** (Rys. 14) [49].



Rysunek 14. Przykładowy schemat syntezy laktonowych pochodnych *cis*-pulepolu
Figure 14. Example for the synthesis of *cis*-pulepol lactone derivatives

Otrzymane w powyższych szlakach syntezy związki poddane zostały testom aktywności antyfidantnej względem szkodników magazynów zbożowych (*S. granarius*, *T. granarium*, *T. confusum*). Większość syntetycznych połączeń wykazywała średnią aktywność deterrentną w porównaniu z wzorcami, którymi były azadirachtyna czy bakkenolid. Spośród badanych związków najbardziej aktywne były spirolaktony z grupami hydroksylowymi (+)-27d i (-)-27d lub ketonowymi (+)-27g i (-)-27g, które wykazywały silną oraz bardzo silną aktywność deterrentną względem osobników dorosłych oraz larw trojszyka ulca. Dla hydroksylaktonu (+)-27g sumaryczny współczynnik deterrentności wynosił $T=172$ względem larw oraz $T=162$ względem osobników dorosłych tego szkodnika. Ketolaktony wykazywały również silną aktywność deterrentną względem larw skórka zbożowego. Sumaryczny współczynnik deterrentności wynosił odpowiednio $T=143$ dla (+)-27g oraz $T=135$ dla (-)-27g. Aktywność biologiczna względem testowanych szkodników w sposób istotny zależała zatem od konfiguracji centrów chiralności związków. Porównanie aktywności antyfidantnej par enancjomerów wykazało, że w większości przypadków laktony syntetyzowane z (*R*)-(+)-pulegonu były bardziej aktywnymi antyfidantami niż te otrzymane z (*S*)-(-)-pulegonu [50].

δ -Hydroksy- γ -spirolaktony (+)-27d i (-)-27d wykazywały również znaczną aktywność wobec osobników dorosłych pleśniakowca lśniącego (*A. diaperinus*), ale zastąpienie grupy hydroksylowej grupą ketonową znacznie zmniejszyło działanie deterrentne δ -keto- γ -spirolaktonów (+)-27f i (-)-27f. Bicykliczne γ -hydroksy- δ -laktony ze skondensowanymi pierścieniami (+)-28k i (-)-28k oraz δ -hydroksy- γ -lakton (+)-28l były bardzo silnymi antyfidantami zarówno dla larw jak i osobników dorosłych pleśniakowca lśniącego [51].

UWAGI KOŃCOWE

Szkodniki owadzie są głównym źródłem strat w uprawach, powodują zarówno obniżenie plonów, jak i spadek ich jakości. Dodatkowo mogą również powodować poważne straty w trakcie przechowywania produktów spożywczych. Do ograniczania ich populacji powszechnie stosowane są chemiczne środki ochrony roślin – pestycydy. Jednak nadmierne stosowanie pestycydów tj. większe niż jest to konieczne do osiągnięcia wzrostu wydajności, może mieć szkodliwy wpływ na środowisko przez zmniejszenie różnorodności biologicznej, jak i toksyczny wpływ na organizmy żywe. Pestycydy, w czasie ich aplikacji, mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia rolników. Zastosowanie pestycydów prowadzi również do zanieczyszczenia gleb i zasobów wodnych oraz stwarza niebezpieczeństwo związane z utylizacją ich pustych opakowań. Ważnym aspektem jest również pojawianie się odporności u szkodników owadzych [52]. Liczne zagrożenia, które związane są z zastosowaniem pestycydów, a jednocześnie konieczność ochrony plonów sprawiają, że proponowanych i rozwija-

nych jest coraz więcej rozwiązań alternatywnych. Zastosowanie związków laktonowych o aktywności deterentów pokarmowych, które często otrzymywane są z naturalnych prekursorów i wykazują selektywną i bardzo wysoką aktywność, może być jedną z możliwych perspektyw na drodze do rozwiązania tych problemów.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Mazur, D. Masłowiec, *Antibiotics*, 2022, **11**, 1327.
- [2] C. Bailly, *Nat. Products Bioprospect.*, 2020, **10**, 367.
- [3] A. Paço *et al.*, *Molecules*, 2022, **27**, 1142.
- [4] B. Ivanescu, A. Miron, A. Corciova, *J. Anal. Methods Chem.*, 2015, **2015**, 247685.
- [5] K. Libiszewska, *Biotechnol. Food Sci.*, 2011, **75**, 45.
- [6] J. Krzyczkowska, E. Białecka-Florjańczyk, I. Stolarzewicz, *Zywność. Nauk. Technol. Jakość*, 2009, **16**, 5.
- [7] J. Nawrot, J. Harmatha, *Phytochem. Rev.*, 2012, **11**, 543.
- [8] E. Paruch, J. Nawrot, C. Wawrzeczyk, *Pest Manag. Sci.*, 2001, **57**, 776.
- [9] J. Kowalska, *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 2007, **52**, 78.
- [10] J.R. Ahern, K.D. Whitney, *Chemoecology*, 2013, **24**, 35.
- [11] T. Olejniczak *et al.*, *Biotechnologia*, 2000, **3**, 106.
- [12] L. Moujir *et al.*, *Appl. Sci.*, 2020, **10**, 3001.
- [13] J. M. A. Martínez *et al.*, *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 2012, **37**, 43.
- [14] M. Mazur *et al.*, *Pest Manag. Sci.*, 2014, **70**, 286.
- [15] C.W. M. Szczepanik, A. Szumny, *Polish J. Environ. Stud.*, 2009, **18**, 1107.
- [16] T. Mituniewicz, S. Dzik, 2020, **76**, 145.
- [17] M. Szczepanik *et al.*, *Pestycydy*, 2005, **4**, 25.
- [18] M. Verbeek *et al.*, *Ann. Appl. Biol.*, 2010, **156**, 39.
- [19] K. Dancewicz *et al.*, *Pol. J. Natur. Sc.*, 2006, **20**, 23.
- [20] K. Dancewicz *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, **21**, 8029.
- [21] M.E. Falagas *et al.*, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2016, **29**, 321.
- [22] P. Kafarski, *RSC Adv.*, 2020, **10**, 25898.
- [23] B. Gawdzik *et al.*, *Chem. Agric.*, 2004, **5**, 119.
- [24] B. Gawdzik *et al.*, *Chem. Agric.*, 2005, **6**, 162.
- [25] W.S. Bowers *et al.*, *Science (80-)*, 1957, **193**, 542.
- [26] P. De Azambuja, E.S. Garcia, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1991, **86**, 113.
- [27] M.T. Stephen Hsia, S. Grossman, K.R. Schrankel, *Chem. Biol. Interact.*, 1981, **37**, 265.
- [28] R.C. Jennings, Anthony P. Ottridge, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1984, 1733.
- [29] M. Szczepanik *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 5905.
- [30] D. Masłowiec *et al.*, *Przem. Chem.*, 2012, **91**, 883.
- [31] K. Dancewicz *et al.*, *Postępy w Ochr. Roślin*, 2009, **49**, 1175.
- [32] A. Skrobiszewski *et al.*, *Przem. Chem.*, 2014, **93**, 1637.
- [33] A. Skrobiszewski *et al.*, *J. Chem. Sci.*, 2015, **127**, 687.
- [34] M. Mazur *et al.*, *Pest Manag. Sci.*, 2016, **72**, 489.
- [35] R. B. *et al.*, *Przem. Chem.*, 2009, **88**, 557.
- [36] K. Dancewicz *et al.*, *J. Plant Prot. Res.*, 2011, **51**, 23.
- [37] F. Boratyński *et al.*, *PLoS One*, 2016, **11**, 1.
- [38] K. Dancewicz *et al.*, *Postępy w Ochr. Roślin*, 2006, **46**, 305.
- [39] B. Gabrys *et al.*, *Polish J. Environ. Stud.*, 2006, **15**, 549.
- [40] A. Gliszczyńska *et al.*, *Przem. Chem.*, 2011, **90**, 759.
- [41] M. Szczepanik, A. Gliszczyńska, C. Wawrzeczyk, *Postępy w Ochr. Roślin*, 2011, **51**, 1.
- [42] K. Dancewicz *et al.*, *Pestycydy*, 2010, **1–4**, 51.
- [43] A. Grudniewska *et al.*, *RSC Adv.*, 2011, **1**, 498.
- [44] A. Grudniewska *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 3364.
- [45] A. Grudniewska *et al.*, *PLoS One*, 2015, **10**, e0131028.
- [46] M. Szczepanik *et al.*, *Pest Manag Sci*, 2013, **70**, 953.

- [47] I. Dams *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 1630.
- [48] I. Dams *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, 2004, 2662.
- [49] I. Dams *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **15**, 2087.
- [50] J. Nawrot, I. Dams, C. Wawrzeńczyk, *J. Stored Prod. Res.*, 2009, **45**, 221.
- [51] M. Szczepanik, I. Dams, C. Wawrzeńczyk, *Entomol. Exp. Appl.*, 2008, **128**, 337.
- [52] N. Ghimire, R.T. Woodward, *Ecol. Econ.*, 2013, **89**, 73.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 marca 2023 r.