

JORGE LUIZ PEREIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO EFEITO SOBRE O TRANSPORTE DE
ELÉTRONS DA FOTOSSÍNTESE DE DERIVADOS DE ISOBENZOFURAN-
1(3H)-ONAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2012**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P436s
2012

Pereira, Jorge Luiz, 1985-

Síntese e avaliação do efeito sobre o transporte de elétrons da fotossíntese de derivados de isobenzofuran-1(3*H*)-onas / Jorge Luiz Pereira. – Viçosa, MG, 2012.
xv, 192f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Róbson Ricardo Teixeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Síntese orgânica. 2. Alquilação. 3. Fitotoxinas.
4. Produtos naturais. 5. Lactonas. 6. Fotossíntese.
7. Ervas daninhas. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22. ed. 547

JORGE LUIZ PEREIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO EFEITO SOBRE O TRANSPORTE DE
ELÉTRONS DA FOTOSSÍNTESE DE DERIVADOS DE ISOBENZOFURAN-
1(3H)-ONAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para a obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de Julho de 2012.

Alberto Oliveros-Bastidas

Antonio Jacinto Demuner
(Coorientador)

Alessandra Regina Pepe Ambrozin
(Coorientadora)

Róbson Ricardo Teixeira
(Orientador)

À Deus.

À minha mãe Arlete.

Ao meu pai Sebastião.

Aos meus irmãos.

Ao meu tio Odiel.

Ao meu orientador Róbson.

A todos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

À FAPEMIG, CAPES, FUNARBE e REUNI pelos recursos financeiros.

Ao meu orientador Róbson Ricardo Teixeira por todo seu apoio técnico e pessoal sem o qual em qualquer hipótese teria terminado meu mestrado. Por sua dedicação como excelente professor e orientador, função da qual o mesmo desempenha com plena satisfação.

Ao professor Roberto Andrea Muller, pelo apoio por toda a graduação.

Ao professor Antônio Jacinto Demuner, por seu esforço a favor de nosso Departamento de Química.

Ao meu professor de matemática do cursinho João José, por sua humildade e bom humor que tornavam as aulas muito alegres.

Ao professor Giuseppe Forlani pela realização dos ensaios biológicos e à professora Silvana Guilardi pela colaboração com os experimentos de difração de raios-X.

Ao Técnico do Departamento de Química da UFV José Luís Pereira pela obtenção de espectros de massas de baixa resolução e ao Diego Arantes da UnB pela aquisição dos espectros e massas de alta resolução.

Ao meu pai Sebastião Pereira Lopes por seu esforço e dedicação aos seus sete filhos, por sua dignidade e amor pela família que o levou a completar quarenta e nove anos de casado.

A minha mãe Arlete Lopes Pereira, por sua dedicação como mãe e por sempre desejar o melhor para seus filhos.

Aos meus sobrinhos, Samuel, Mateus, Paula, Gabriel, Maria Isabel, Lício, Liciane, Pedro e Ana Luiza.

Aos meus irmãos, Venicio, Almir, Edmar, Maurélio, Rosane, Odília.

Ao meu primo Rafael Valverde pela satisfação de tê-lo como amigo.

Ao meu tio Paulo Valverde pela amizade por todos esses anos.

Ao meu tio Odriel que já não está mais entre nós, por todas as vezes que tive a satisfação de compartilhar de sua presença.

Ao Diego José, grande amigo desde a infância onde esteve comigo por toda minha caminhada, e tenho o mesmo como exemplo de dignidade e caráter.

Aos meus amigos Wagner Luís Pereira, Ulisses Fernando, Guilherme Max, Gabriel Max, Márcio Oliveira Alves, Fernanda Bottega, Abiney Lemos e Monize Torres pela amizade nesses últimos anos.

Aos colegas de trabalho Juliana Simões por sua simpatia e gentileza que tanto ajudou a tornar nosso ambiente de trabalho mais agradável; Tiago Lage pelo apoio durante o mestrado; Jefferson Guilherme da Silva por ser um exemplo tanto como profissional assim como ser humano; e Nathalia Liberto por seu caráter, seriedade e compromisso com seu trabalho.

À Elaine que coordenou a tutoria pelo tempo que trabalhei, de uma forma exemplar.

Aos meus amigos da república Antônio Augusto, Fernando Fadel, Gabriel Costa e Hélio Gonda, pela amizade e por ajudarem a tornar nossa república um lar;

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E ESQUEMAS.....	vii
TABELA DO CAPÍTULO 3	x
ANEXOS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
 CAPÍTULO 1	 1
A NATUREZA COMO FONTE DE INSPIRAÇÃO PARA A BUSCA DE NOVOS AGENTES QUÍMICOS PARA O CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. O controle químico de plantas daninhas.....	4
1.3. O problema da resistência das plantas daninhas aos herbicidas.....	6
1.4. O uso de produtos naturais como compostos-modelos para o desenvolvimento de novos herbicidas.....	7
1.5. Justificativa do Trabalho.....	17
1.6. Referências Bibliográficas.....	17
 CAPÍTULO 2	 28
SÍNTESE DE ISOBENZOFURAN-1(3 <i>H</i>)-ONAS TENDO COMO ESTRUTURA MODELO A 5-METIL-4-METOXI 6-(3-METILBUT-2-ENILOXI)ISOBENZOFURAN-1(3 <i>H</i>)-ONA.....	28
2.1. INTRODUÇÃO.....	29
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
2.2.1. Generalidades Metodológicas.....	34
2.2.2. Procedimentos Sintéticos.....	36
2.2.2.1. Síntese da 6-metóxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (39).....	36
2.2.2.2. Síntese da 6-hidróxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (41).....	38
2.2.2.3. Síntese da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (42).....	40
2.2.2.4. Síntese da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (43).....	41
2.2.2.5. Síntese da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (44).....	42
2.2.2.6. Síntese da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)-isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (45).....	44
2.2.2.7. Síntese da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (46).....	45

2.2.2.8. Síntese da 5-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (48) e do <i>bis</i> -(4-metoxibenzoato) de metileno (49).....	46
2.2.2.9. Síntese da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (50).....	48
2.2.2.10. Síntese da 5- (3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (51).....	49
2.2.2.11. Síntese da 5-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (52).....	51
2.2.2.12. Síntese da 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (53).....	52
2.2.2.13. Síntese da 5-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran 1(3 <i>H</i>)-ona (54).....	54
2.2.2.14. Síntese da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (55).....	55
2.2.2.15. Síntese da 6-(2-oxo-2-feniletoksi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (56).....	56
2.2.2.16. Síntese da 5-(2-oxo-2-feniletoksi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (57).....	57
2.2.2.17. Síntese do benzoato do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutila (59).....	59
3. Resultados e discussão.....	60
4. CONCLUSÕES.....	130
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	131

CAPÍTULO 3	136
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE O TRANSPORTE DE ELÉTRONS FOTOSSINTÉTICO DAS ISOBENZOFURAN-1(3 <i>H</i>)-ONAS.....	136
3.1. INTRODUÇÃO.....	136
3.2. O local de ocorrência da fotossíntese nas vegetais: os cloroplastos.....	138
3.3. O Esquema Z da Fotossíntese.....	139
3.3.1. Pigmentos envolvidos na fotossíntese.....	142
3.4. A Reação de Hill.....	146
3.5. Avaliação da atividade fitotóxica das isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas.....	147
3.6. Material e Métodos.....	149
3.6.1. Isolamento de cloroplastos.....	149
3.6.2. Avaliação da atividade inibitória sobre o transporte de elétrons da fotossíntese.....	150
3.7. Resultados e Discussão.....	151
3.8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	155
3.9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	155

LISTA DE FIGURAS E ESQUEMAS

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 1

1	População mundial entre 1950 e 2050 de acordo com diferentes projeções.....	2
2	Evolução da produção de grãos no Brasil e área plantada no período de 1975 a 2002.....	3
3	Estruturas de alguns herbicidas.....	6
4	Exemplos de herbicidas comerciais (1, 2, 4, 5, 7) e compostos-modelos (3,6).....	10
5	Espécie vegetal <i>Callestemon citrinus</i> e alguns herbicidas pertencentes à classe das tricetonas.....	13
6	Exemplos de micotoxinas isoladas de várias espécies do gênero <i>Alternaria</i>	15
7	Estrutura 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi) isobenzofuran-1(3H)-ona (25) e seu derivado hidrogenado (26).....	16

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 2

1	Estrutura básica de uma Isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona.....	28
2	Exemplos selecionados de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas.....	30
3	Estruturas das substâncias sintetizadas nesse trabalho.....	33
4	Espectro no infravermelho (ATR) da 6-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (39).....	63
5	Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) da 6-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (39).....	64
6	Espectro de RMN de ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) da 6-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (39).....	65
7	Espectro de massas da 6-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (39).....	66
8	Representação ORTEP-3 da substância (39).....	67
9	Representação MERCURY da interação intermolecular presente no cristal do composto 39	67
10	Espectro no infravermelho (ATR) do <i>bis</i> -(3-metoxibenzoato) de metileno (40).....	69
11	Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do <i>bis</i> -(3-metoxibenzoato) de metileno (40).....	70
12	Espectro de RMN de ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) <i>bis</i> -(3-metoxibenzoato) de metileno (40).....	71
13	Espectro de massas do <i>bis</i> -(3-metoxibenzoato) de metileno (40).....	72
14	Espectro no infravermelho (ATR) da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (41).....	76
15	Espectro de RMN de ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (41).....	77
16	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CD ₃ OD) da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (41).....	78
17	Espectro de massas da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (41).....	79
18	Representação ORTEP da isobenzofuran-1-(3 <i>H</i>)-ona (41).....	80
19	Representação MERCURY das interações presente no cristal do composto 41	81
20	Espectro no IV (ATR) da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (42).....	83
21	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (42).....	84
22	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (42).....	85
23	Espectro de massas da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (42).....	86
24	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (43).....	91
25	Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (44).....	92
26	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (45).....	93
27	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (43).....	95
28	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (44).....	96

29	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (45).....	97
30	Espectro no infravermelho (ATR) da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (46).....	100
31	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (46).....	101
32	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (46).....	102
33	Espectro de massas da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (46).....	103
34	Espectro no infravermelho (ATR) da 5-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (48).....	106
35	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 5-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (48).....	107
36	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 5-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (48).....	108
37	Espectro de massas da 5-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (48).....	109
38	Representação ORTEP-3 da 5-metoxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (48).....	110
39	Representação MERCURY das interações presente no cristal do composto 48	111
40	Espectro no infravermelho (ATR) da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (50).....	113
41	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (50).....	114
42	Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz) da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (50).....	115
43	Espectro de massas da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (50).....	116
44	Representação ORTEP-3 da substância 50	117
45	Representação MERCURY das interações presente no cristal do composto 50	117
46	Espectro no infravermelho (ATR) da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (55).....	120
47	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (55).....	121
48	Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (55).....	122
49	Espectro de massas da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (55).....	123
50	Espectro no infravermelho (ATR) do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutíla (58).....	126
51	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutíla (58).....	127
52	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutíla (58).....	128
53	Espectro de massas do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutíla (58).....	129

LISTA DE ESQUEMAS DO CAPÍTULO 2

1	Análise retróssintética para a preparação de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas EG1	60
2	Sequência de reações utilizadas na preparação de 39-46	61
3	Método alternativo para a síntese de 39 a partir do ácido carboxílico 38	73
4	Proposta mecanística para explicar a formação da isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona 39 a partir do ácido carboxílico 38	74
5	Mecanismo para a formação de 41 a partir de 39	74
6	Processo de fragmentação de 42 resultando na formação do fragmento de <i>m/z</i> 69.....	87
7	Etapas envolvidas na hidrogenação de um alceno catalisada por paládio.....	89
8	Mecanismo para a epoxidação de um alceno.....	90
9	Adição de bromo ao cicloexeno.....	94
10	Abertura de anel de epóxido na preparação de 46 a partir de 44	98
11	Síntese das isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas 52-54	104
12	Síntese da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (55).....	118
13	Síntese das substâncias 56 e 57	124
14	Obtenção do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)-3,3-dimetil-2-oxobutanol (59) a partir da isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona (41).....	125

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 3

1	Estrutura dos cloroplastos.....	138
2	Esquema Z da fotossíntese.....	140
3	Estrutura de alguns pigmentos fotossintetizantes.....	144
4	Esquema ilustrativo da transmissão da energia luminosa dos complexos antena para o centro de reação fotoquímica.....	146
5	Formas oxidada e reduzida do corante 2,6-diclorofenolindolfenol.....	147
6	Estruturas das substâncias avaliadas como potenciais inibidores da fotossíntese.....	148
7	Efeito da variação da concentração da substância 54 sobre o transporte de elétrons na reação de Hill.....	153

TABELA DO CAPÍTULO 3

1	Avaliação <i>in vitro</i> do efeito de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas e diésteres sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de <i>Spinacia oleracea</i> ^a	152
---	--	-----

ANEXOS

1.....	156
2.....	189

LISTA DE ABREVIATURAS

ART	Reflectância Total Atenuada
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG/EM	Cromatografia gasosa/Espectrometria de massas
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
ddd	Duplo dupleto duplo
δ	Deslocamento químico
DMSO	Dimetil sulfóxido
EtOAc	Acetato de etila
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
m	Multiplete
MHz	Megahertz
m/m	Massa/massa
m/v	Massa/volume
P.A.	Para análise
ppm	Partes por milhão
R_f	Fator de retenção
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Triplete
q	Quarteto
t.a.	Temperatura ambiente
T_f	Temperatura de fusão
THF	Tetraidrofurano
v/v	Volume/volume

RESUMO

PEREIRA, Jorge Luiz, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2012. **Síntese e avaliação do efeito sobre o transporte de elétrons da fotossíntese de derivados de isobenzofuran-1(3H)-onas.** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira. Co-Orientadores: Antonio Jacinto Demuner e Alessandra Regina Pepe Ambrozini.

Isobenzofuran-1(3H)-onas (também conhecidas como fitalidas) possuem como característica estrutural a presença de um anel γ -lactônico fundido a um anel aromático. Elas representam uma classe de compostos que tem atraído a atenção de vários grupos de pesquisa em parte devido ao seu espectro de atividades biológicas. Dentre várias isobenzofuran-1(3H)-onas bioativas encontra-se a fitotoxina natural 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona. Esta substância é capaz de inibir *in vitro* o transporte de elétrons da fotossíntese. O presente trabalho teve por meta sintetizar análogos à 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona, visando a avaliação de suas atividades como inibidores da fotossíntese. A rota sintética escolhida para a síntese das fitalidas envolveu reações de *orto* alquilação de ácidos benzóicos catalisadas por paládio, reações de *O*-alquilação e processos de adição à ligação dupla. Os compostos sintetizados foram completamente caracterizados, utilizando-se a espectroscopia no IV, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C (1D), além da espectrometria de massas. Algumas das isobenzofuran-1(3H)-onas sintetizadas tiveram suas estruturas cristalinas investigadas por difração de raios-X. As isobenzofuran-1(3H)-onas sintetizadas, bem como alguns subprodutos e intermediários sintéticos obtidos, foram avaliados *in vitro* no

tocante à habilidade em interferir ou não no transporte de elétrons, dirigido pela luz, da água para o oxidante não-biológico ferricianeto de potássio. Cloroplastos intactos e isolados de folhas de *Spinacia oleracea* foram utilizados neste caso. Os resultados obtidos mostram que, dentre 14 compostos submetidos à avaliação da atividade biológica, 8 substâncias reduziram a taxa de transporte de elétrons, dirigido pela luz, na concentração de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Dentre os compostos mais ativos, duas isobenzofuran-1(3*H*)-onas causaram inibição do transporte de elétrons superior a 40%. A substância 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona, que apresentou os melhores resultados em termos de atividade biológica, apresenta potência inibitória sobre o transporte de elétrons fotossintético similar ao produto natural 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxy)isobenzofuran-1(3*H*)-ona.

ABSTRACT

PEREIRA, Jorge Luiz, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July of 2012.
Synthesis and evaluation of the effects on the photosynthetic electron transport of isobenzofuran-1(3*H*)-one derivatives. Advisor: Róbson Ricardo Teixeira. Committee Members: Antonio Jacinto Demuner e Alessandra Regina Pepe Ambrozin.

Isobenzofuran-1(3*H*)-ones (phthalides), fused-ring aromatic γ -lactones, have attracted the attention of various research groups due to, in part, to their biological activities. Among various bioactive isobenzofuran-1(3*H*)-ones is the natural phytotoxin 4-methoxy-5-methyl-6-(3-methylbut-2-enyloxy)isobenzofuran-1(3*H*)-one. This secondary metabolite is capable of inhibiting *in vitro* the photosynthetic electron transport. The present investigation aimed to synthesize a variety of 4-methoxy-5-methyl-6-(3-methylbut-2-enyloxy)isobenzofuran-1(3*H*)-one analogues and evaluate their potential as photosynthetic inhibitors. In the synthetic routes used to prepare the analogues were utilized the palladium catalyzed *ortho* alkylation of benzoic acids, *O*-alkylation reactions and addition reactions to the double bonds. The structures of synthesized compounds were confirmed based on NMR, IR and MS analyses. The structure of some isobenzofuran-1(3*H*)-ones were also investigated by X-ray analysis. The biological activity of the synthesized isobenzofuran-1(3*H*)-ones, as well as by-products and synthetic intermediates, was evaluated *in vitro* as the ability to interfere with light-driven reduction of ferricyanide by isolated spinach chloroplasts. Among the

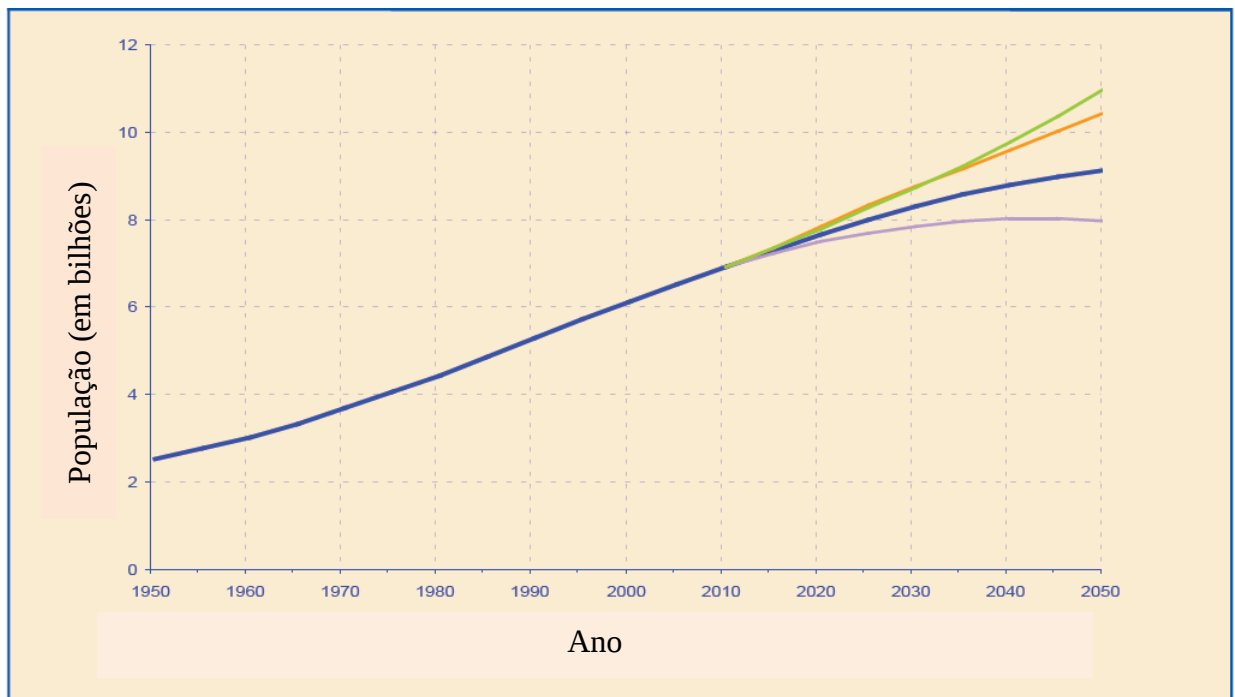
fourteen evaluated compounds, eight was able to significantly reduce the electron flow from water to $K_3[Fe(CN)_6]$. In addition, two compounds were capable of inhibiting the photosynthetic electron transport by 40%. The inhibitory effect presented by one of the compounds namely 5-(2,3-dibromo-3-methylbutoxy)isobenzofuran-1(3*H*)-one was equipotent to the natural phytotoxin 4-methoxy-5-methyl-6-(3-methylbut-2-enyloxy)isobenzofuran-1(3*H*)-one.

CAPÍTULO 1

A NATUREZA COMO FONTE DE INSPIRAÇÃO PARA A BUSCA DE NOVOS AGENTES QUÍMICOS PARA O CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS

1.1. Introdução

A população mundial cresce a cada ano e em 2011 atingiu a marca de 7 bilhões de pessoas. De acordo com um estudo elaborado pela Organização das Nações Unidas (ONU 2009), o número de humanos habitando o planeta aumentará 34% – passando dos 6,8 bilhões em 2009 para 9,1 bilhões em 2050 (Figura 1, p.2). Projeções apontam para o fato de que a produção de alimento terá que dobrar nos próximos quarenta anos e que os países em desenvolvimento precisarão investir anualmente US\$ 83 bilhões em agricultura para alimentar sua população calculada para 2050 (WIEBE, 2009).



Taxa de Fecundidade

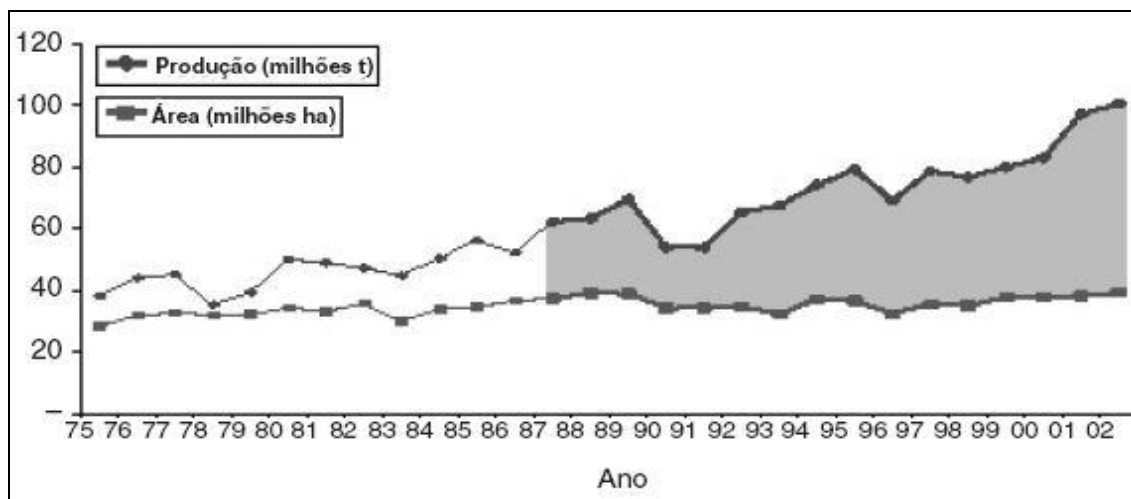


Fonte: Population News Letter 87 (ONU, 2009).

Figura 1 – População mundial entre 1950 e 2050 de acordo com diferentes projeções.

Uma vez que há relativamente poucas fronteiras aráveis, um dos grandes desafios a serem enfrentados decorrentes do aumento populacional é a elevação da produtividade agrícola de modo a suprir a crescente demanda por alimentos.

O Brasil é um país que vem elevando sua produtividade agrícola ano após ano. Conforme apresentado na Figura 2 (p.3), no período compreendido entre 1987 e 2002 (destacado na Figura 2), a produção de grãos no País cresceu 61,5% (100,5 milhões de toneladas na safra 2001/2002). No entanto, a área plantada ampliou-se apenas 5,2%, passando de 37,3 milhões para 39,3 milhões de hectares (VELASCO e CAPANEMA, 2006).



Fonte: VELASCO e CAPANEMA (2006).

Figura 2– Evolução da produção de grãos no Brasil e área plantada no período de 1975 a 2002.

Um novo recorde de produtividade foi alcançado na safra 2010/2011, na qual foram produzidos 161,5 milhões de toneladas. Esse resultado foi 8,2% acima da safra anterior, com aumento de 4,2% na produtividade, garantindo o abastecimento interno e exportando o excedente para mais de 200 países (PLANO AGRÍCOLA E PECUÁRIO, 2011-2012). Tal desempenho coloca o país entre os mais competitivos do mundo, com capacidade de atender ao aumento da demanda por alimentos. Levando-se em conta que o Brasil possui uma área de 338 milhões de hectares de terras agricultáveis e de alta produtividade (dos quais 90 milhões ainda não foram explorados), apresenta um clima diversificado, chuvas regulares, energia solar abundante e quase 13% de toda a água doce disponível no planeta, pode-se afirmar que o país possui vocação para a agricultura. No entanto, os contínuos ganhos de produtividade não podem ser atribuídos meramente à sua aptidão agrícola; deve ser também destacado a crescente incorporação de novas tecnologias pelos produtores tais como utilização de variedades de plantas que fornecem maior produtividade,

aprimoramento das técnicas agrícolas, rápida mecanização e utilização de agroquímicos como meio de controle de pragas e doenças.

1.2. O controle químico de plantas daninhas

Plantas daninhas, insetos, fungos, bactérias e vírus, se não forem mantidos sob controle, provocam perdas significativas na agricultura (VELASCO e CAPANEMA, 2006). Os agroquímicos ou defensivos agrícolas são as armas mais importantes que os produtores possuem na luta contra as diversas pragas agrícolas conhecidas. A utilização dos agroquímicos nas culturas contribui de modo indireto para a saúde humana, uma vez que pela utilização desses compostos químicos a produtividade agrícola pode ser aumentada em até 32% por unidade de área plantada (OERKER e DEHNE, 2004) e com isso a disponibilidade de alimentos para os humanos. Este aumento na produtividade de alimentos irá contribuir para reduzir problemas de má-nutrição, responsáveis por várias doenças humanas. Cabe destacar que os agroquímicos têm contribuído significativamente para a melhoria da agricultura desde a segunda metade do século XIX (STETTER e LIEB, 2000).

As plantas daninhas representam um dos maiores problemas nas culturas agrícolas. De acordo com Deuber (1992), planta daninha pode ser definida como qualquer planta que, isoladamente ou em grupo, causa algum dano ou inconveniência. Elas competem com a cultura por luz, água e nutrientes. Os danos causados por plantas daninhas envolvem diversos aspectos da agricultura e da vida do homem, como a redução da produtividade e do valor da terra, perda da qualidade do produto agrícola, disseminação de pragas e doenças, aumento de custos e maior dificuldade no manejo agrícola, problemas

com o manejo da água, interferência com diversas atividades humanas e danos à vida e à saúde, tanto do homem quanto de animais (DEUBER, 1992).

Aproximadamente 30.000 espécies de plantas daninhas estão distribuídas pelo planeta. A perda líquida da produção de grãos, causada por 1.800 tipos dessas plantas, somam 9,7% da produção agrícola total a cada ano (LI, 2003). Considerando todos esses problemas envolvendo plantas daninhas, seu controle é altamente desejável.

Dentre os métodos descritos na literatura que podem ser empregados para o controle de plantas daninhas (SILVA *et al* 2007a), o uso de agentes químicos, conhecidos como herbicidas, é aquele de menor custo e maior confiabilidade. Do ponto de vista histórico, as primeiras substâncias empregadas no controle de plantas daninhas (primeira geração de agroquímicos) eram inorgânicas em natureza (por exemplo, FeSO_4 , H_2SO_4 , NaClO_4 e CuSO_4), possuíam baixíssima seletividade e elevada toxicidade.

Os primeiros estudos sistemáticos sobre o uso de compostos químicos no controle de plantas daninhas tiveram início no século XX resultando na descoberta dos primeiros herbicidas sintéticos como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético também conhecido como (2,4-D) e o ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético (MCPA), Figura 3, p.6). Esses compostos eram fáceis de serem sintetizados, seletivos e bastante efetivos no controle de plantas daninhas.

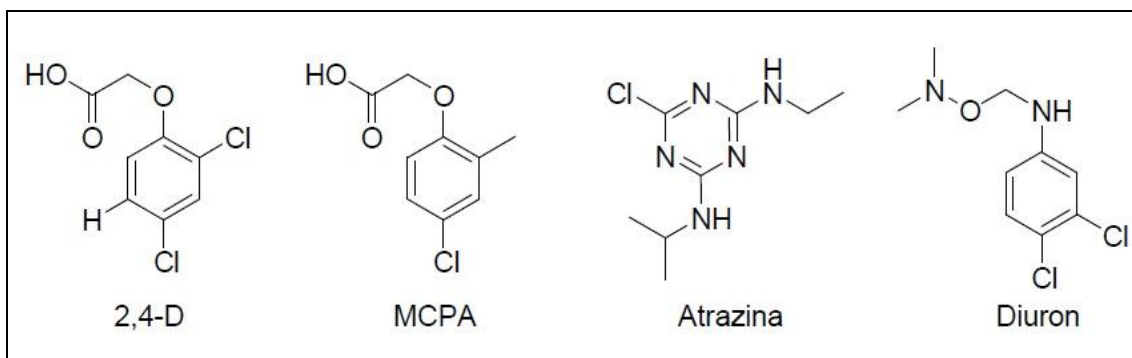


Figura 3 – Estruturas de alguns herbicidas.

Em vista do sucesso deles, vários outros herbicidas sintéticos foram produzidos, como a atrazina e o diuron (Figura 3) culminando no desenvolvimento de novos grupos de herbicidas (COBB, 1992; SILVA *et al*, 2007b; WARE, 2000).

1.3. O problema da resistência das plantas daninhas aos herbicidas

No mercado brasileiro, existem aproximadamente 220 marcas comerciais de herbicidas disponíveis que podem controlar várias plantas daninhas infestantes de culturas de grande e pequeno porte (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). Apesar dos grandes avanços realizados na área de controle químico de plantas daninhas ao longo dos anos, desde a introdução dos primeiros herbicidas orgânicos sintéticos (STETTER e LIEB, 2000), a demanda por novos produtos é elevada uma vez que as plantas daninhas podem desenvolver resistência a certos produtos após um determinado tempo de contato com os mesmos (GRESSEL, 2009). Por um processo de seleção natural, um genótipo resistente, que inicialmente está com baixa frequência numa população, torna-se de ocorrência cada vez mais generalizada, o que faz com que os indivíduos sejam cada vez menos sensíveis aos agroquímicos (SILVA *et al.*, 2007c).

Os primeiros relatos de resistência de plantas daninhas foram descritos na década de 1960. Estima-se que, hoje, existam 388 biótipos resistentes e 202

espécies (122 dicotiledôneas e 86 monocotiledôneas) de plantas daninhas que apresentem resistência a um ou mais herbicidas (DEVINE e SHUKLA, 2000; BECKIE, 2006; SILVA *et al.*, 2007c; HEAP, 2012). Além disso, novos tipos de plantas daninhas frequentemente surgem, e com isso existe a demanda por novos herbicidas para controlar tais plantas.

Outro aspecto importante que merece destaque é que o setor de agroquímicos é fortemente regulado, havendo uma grande preocupação com respeito à saúde humana e ao meio ambiente, por meio de medidas protetoras para evitar a contaminação do solo e da água. A legislação cada vez mais restritiva requer desenvolvimento de produtos mais específicos e com menor espectro de ação. Em vista das questões mencionadas anteriormente ligadas ao uso de herbicidas, torna-se desejável o desenvolvimento de novos compostos que: sejam mais específicos; possam ser usados em doses tão baixas quanto possível, com reduzida ou nenhuma toxicidade de modo a minimizar os riscos de exposição para o homem e para os animais silvestres e domésticos; tenham baixos impactos ambientais e pouca persistência no ambiente (ambientalmente benignos).

1.4. O uso de produtos naturais como compostos-modelos para o desenvolvimento de novos herbicidas

Na busca e desenvolvimento de novos compostos para o controle de plantas daninhas, tem-se usado abordagens que são similares às aquelas empregadas pela indústria farmacêutica (DELANEY *et al.*, 2006; DUKE, 2010; SWANTON *et al.*, 2011). Três diferentes abordagens podem ser utilizadas. A primeira relaciona-se à avaliação sistemática de um grande número de compostos sintéticos. Numa etapa subsequente, as substâncias que apresentam

atividade promissora são submetidas a rigorosos processos de otimização da estrutura visando à obtenção de produtos comerciais. Esta abordagem é aquela que tem sido utilizada pela indústria de agroquímicos com maior sucesso e resultou no desenvolvimento de uma grande variedade de herbicidas, com variados modos de ação (COBB, 1992; WARE, 2000; BÖGER *et al.*, 2002; RÜEGG, *et al.*, 2006).

A segunda estratégia corresponde ao planejamento racional de herbicidas baseado no conhecimento de processos metabólicos-chave para o desenvolvimento das plantas daninhas (LEIN *et al.*, 2004). Embora haja a possibilidade de identificação de enzimas e processos metabólicos importantes que possam ser explorados no desenvolvimento racional de herbicidas, ainda não são conhecidos produtos comerciais obtidos a partir deste tipo de abordagem. A razão para tal fato talvez esteja intimamente relacionada à falta de um conhecimento completo das interações entre os complexos processos metabólicos celulares.

Uma terceira estratégia que pode ser aplicada na busca de novos compostos para o controle químico de plantas daninhas é a utilização de metabólitos secundários produzidos por plantas e outros organismos (GODFREY, 1995; COPPING, 1996; DUKE *et al.*, 2000a; DUKE *et al.*, 2002; MACÍAS *et al.*, 2007; MACÍAS *et al.*, 2008a,b; BARBOSA *et al.* 2008a; DAYAN *et al.*, 2009; DUKE *et al.*, 2010; SCHRADER *et al.*, 2010; HÜTER, 2011, CANTRELL *et al.*, 2012). Estes metabólitos podem ser utilizados diretamente como herbicidas (COOPING e DUKE, 2007) ou ainda como estruturas-modelos que podem ser químicamente modificadas seja por semi-síntese ou síntese para o desenvolvimento de novas classes de herbicidas (BARBOSA *et al.*, 2009a;

BARBOSA *et al.*, 2009b; TEIXEIRA *et al.*, 2008; BARBOSA *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2003). Esse tipo de estratégia pode ser considerada atrativa por várias razões. Muitos produtos naturais biologicamente ativos são parcialmente solúveis na água e como uma consequência do processo de seleção natural, podem apresentar bioatividade em concentrações muito baixas. Além disso, o mecanismo de ação destes metabólitos sobre plantas daninhas é, muitas vezes, diferente dos herbicidas sintéticos. Estudos têm demonstrado que os sítios moleculares de atuação de herbicidas naturais diferem significativamente dos conhecidos sítios moleculares de atuação dos herbicidas sintéticos (DUKE *et al.*, 2000b; DUKE *et al.*, 2005). A investigação desses novos mecanismos de ação de herbicidas naturais sobre as plantas daninhas é importante porque poderia resultar no planejamento racional de novas classes de herbicidas. Além do mais, herbicidas com novos sítios de ação são desejáveis para combater o rápido crescimento de plantas daninhas resistentes a herbicidas. Outra razão que poderia ser apontada em favor do uso de metabólitos secundários na busca por novos herbicidas é a possibilidade de obtenção de compostos que sejam ambientalmente benignos. Este último argumento se soma às constantes preocupações ligadas à preservação do meio ambiente.

A grande diversidade encontrada entre os metabólitos secundários tem sido lentamente explorada para gerar novas classes de herbicidas. Neste caso, moléculas são submetidas a testes biológicos e toxicológicos a fim de serem identificados possíveis compostos-modelos que possam ser transformados em novos herbicidas (PENG *et al.*, 2003).

Similarmente ao que foi descrito para os herbicidas sintéticos, os compostos selecionados também são subsequentemente submetidos a

processos de otimização da estrutura visando o desenvolvimento de produtos comerciais. Exemplos de herbicidas que são comercializados hoje em dia e que foram desenvolvidos a partir de estruturas de metabólitos secundários incluem bialafos (**1**), fosfonotricina (**2**), sulcotriona (**4**), mesotriona (**5**) e cinmetilina (**7**), Figura 4.

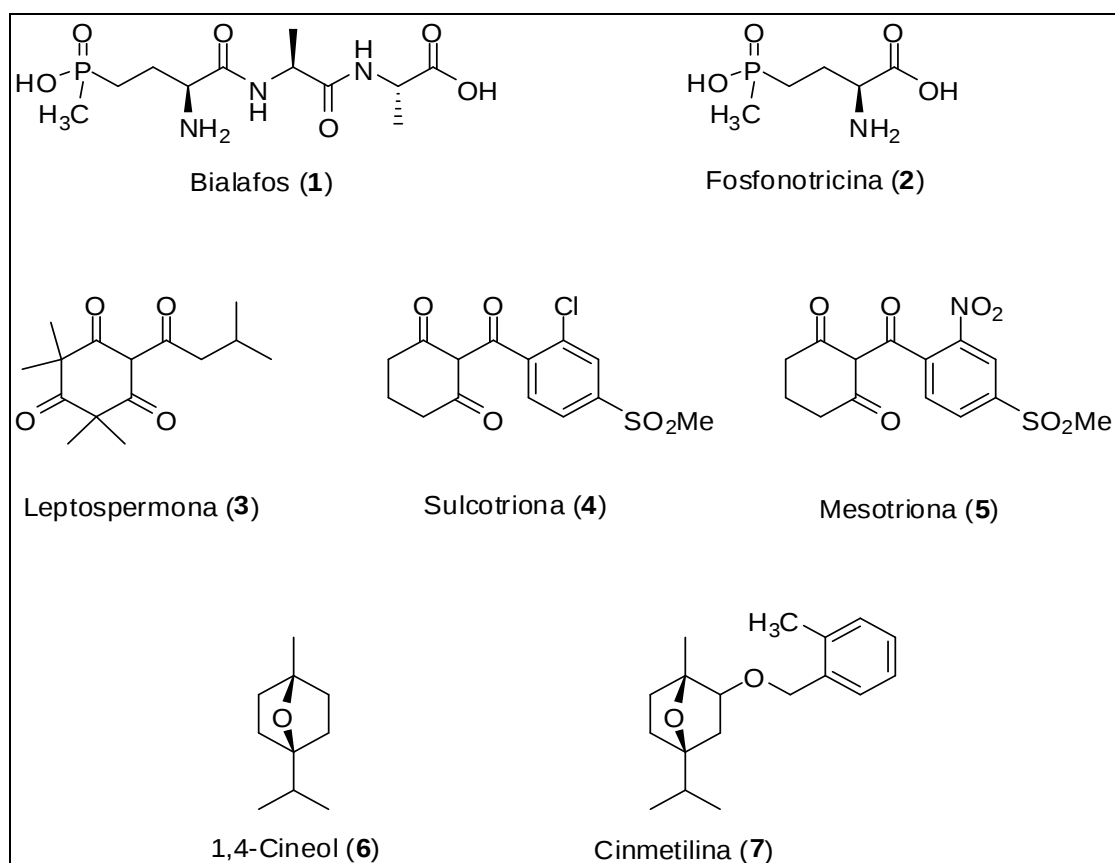


Figura 4 - Exemplos de herbicidas comerciais (**1**, **2**, **4**, **5**, **7**) e compostos-modelos (**3,6**).

Os compostos bialafos (**1**) e fosfonotricina (**2**) correspondem a dois herbicidas comercializados atualmente e que foram desenvolvidos a partir de metabólitos secundários isolados de bactérias (SAXENA e PANDEY, 2001). O herbicida organofosforado bialafos (L-fosfinotricil-L-alanil-L-alanina) foi

originalmente isolado dos actinomicetos *Streptomyces viridochromogenes*, que possuem a capacidade de produzir grandes quantidades de enzimas com potencial aplicação industrial. Na natureza eles desempenham papel importante na formação do húmus, especialmente pela formação de enzimas extracelulares com capacidade de degradar compostos celulolíticos. Bialafos é nos dias de hoje comercializado no Japão com o nome de Herbiace[®], sendo um pró-herbicida que é convertido nas plantas daninhas para o ingrediente ativo fosfonotricina após a remoção dos resíduos de alanina por peptidases. A fosfonotricina é um análogo do glutamato que atua como inibidor irreversível da enzima glutamina sintetase, levando a um acúmulo de amônia e a intoxicação da célula (STALKER, 1991). O sal racêmico de amônio desse composto é conhecido como glifosinato e constitui o princípio ativo de vários produtos comerciais como Liberty[®], Basta[®], Ignite[®], e Challenge[®].

A cinmetilina (7) (Figura 4, p.10) é um herbicida seletivo para o controle de gramíneas em plantações de arroz e é análogo ao monoterpeno natural 1,4-cineol (6), um composto fitotóxico e uma das primeiras substâncias identificadas como agente alelopático (DUKE e OLIVA, 2004). As tricetonas sulcotriona (4) (CHAABANE *et al.*, 2005; BEAUDEGNIES *et al.*, 2009; WU, 2011), e mesotriona (5) (MITCHELL *et al.*, 2001; BEAUDEGNIES *et al.*, 2009) são, respectivamente, os princípios ativos dos herbicidas comerciais mikado[®] e callisto[®]. Essas tricetonas são análogas ao produto natural leptospermona (van KLINK *et al.*, 1999).

O herbicida comercial Callisto[®] é um exemplo que ilustra como algumas descobertas científicas são fruto de observações ocasionais e de curiosidade. Em 1977, um cientista norte-americano observou que poucas plantas daninhas

estavam crescendo em um vaso de uma planta conhecida como callestemon (Figura 5, p.13). A análise de uma amostra do solo deste vaso revelou que a referida espécie vegetal produz uma substância natural herbicida conhecida como leptospermona, que inibe o crescimento de outras plantas (van KLINK *et al.*, 1999). A estrutura da tricetona leptospermona foi, posteriormente, quimicamente modificada, dando origem à substância mesotriona (MITCHELL *et al.*, 2001; BEAUDEGNIES *et al.*, 2009), o componente ativo do herbicida callisto[®], nome este inspirado na espécie vegetal que deu origem ao desenvolvimento deste produto comercial. Este produto exerce controle bastante efetivo sobre grande número de plantas daninhas em plantações de milho (*Zea mays*). A mesotriona (Figura 5, p.13) age sobre plantas daninhas, inibindo a biossíntese de carotenóides, que é um processo metabólico essencial para o crescimento das plantas. Outro exemplo de herbicida pertencente à classe das tricetonas é a substância conhecida como sulcotriona (Figura 5, p.13), que corresponde ao princípio ativo do produto comercial mikado[®] (CHAABANE *et al.*, 2005; BEAUDEGNIES *et al.*, 2009; WU, 2011).

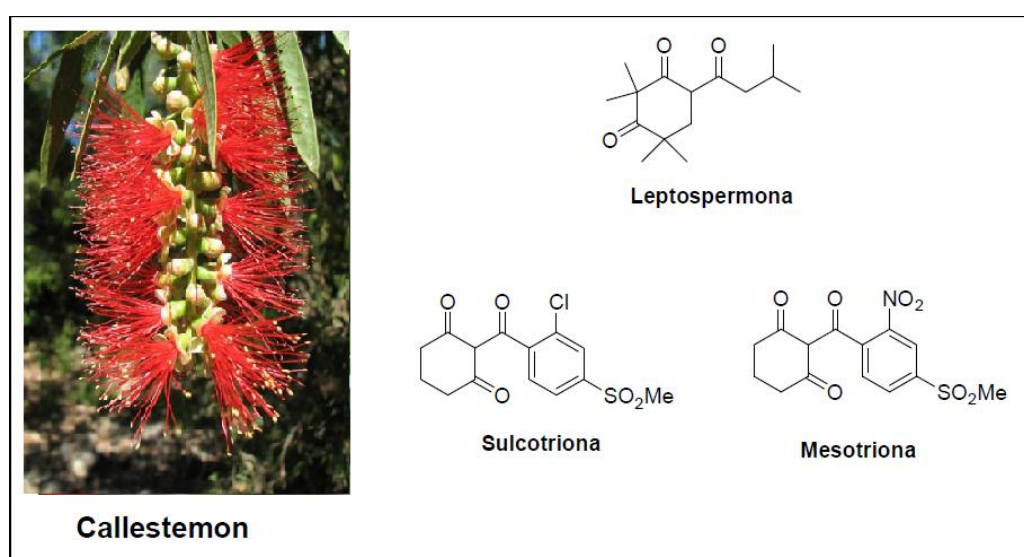


Figura 5 - Espécie vegetal *Callestemon citrinus* e alguns herbicidas pertencentes à classe das tricetonas.

Os fungos e bactérias causam várias doenças que prejudicam seriamente o desenvolvimento de algumas plantas de interesse agrícola e florestal (TRINGALI, 2001; STRANGE, 2003). Um fato bem documentado é que esses microorganismos patogênicos produzem metabólitos secundários que desempenham papel importante durante o processo de infecção. Por exemplo, foi verificado em ensaios biológicos laboratoriais que a aplicação da substância ziniol (substância **8**, Figura 6, p.15) sobre amostras de plantas hospedeiras provoca efeitos fitotóxicos que são idênticos àqueles observados no campo quando estas plantas são infectadas por fungos do gênero *Alternaria*, produtores deste metabólito (COTTY *et al.*, 1983; COTTY e MISHAGI, 1984).

Os metabólitos produzidos por fungos e bactérias vêm sendo intensamente investigados tendo em vista a possibilidade de desenvolvimento de novos agentes químicos de controle de plantas daninhas. Como resultado, uma ampla gama de fitotoxinas tais como pironas, compostos aromáticos e seus derivados, terpenos, aminoácidos, lactonas, compostos bicíclicos e tricíclicos, proteínas, glicoproteínas e polissacarídeos vêm sendo isoladas e caracterizadas (LI *et al.*, 2003; STRANGE, 2007; BERESTETSKIY, 2008; Duke *et al.*, 2010; SCHRADER *et al.*, 2010). Cabe destacar que microorganismos causadores de patologias em plantas têm se mostrado como uma das fontes mais ricas e promissoras de novos compostos com atividade fitotóxica e reguladora do crescimento de plantas.

A espécie fúngica *Nimbya alternantherae*, do gênero *Alternaria*, é um patógeno muito agressivo que causa uma doença severa à *Alternanthera*

philoxeroides (planta herbácea da família *Amaranthaceae*) que se tornou uma invasora muito prejudicial em diversas partes do mundo, inclusive no Brasil (BARRETO e TORRES, 1999). Devido à patogenicidade deste fungo, um interesse muito grande foi despertado no estudo deste gênero (bem como do gênero *Alternaria*) com o intuito de identificar novos compostos com atividade fitotóxica.

Estudos fitoquímicos realizados com diferentes espécies do gênero *Alternaria* levaram ao isolamento de várias micotoxinas entre elas o ziniol (**8**) (STARATT, 1968) e seus derivados **9-12** (GAMBOA-ANGULO *et al.*, 2002); o radicinol (**13**) a radicinina (**14**), e epi-radicinol (**15**) (SOLFRIZZO *et al.*, 2004); a tagetolona (**16**) e a tagetenolona (**17**) (GAMBOA-ANGULO *et al.*, 2001), o alternariol (**18**) (POZZI *et al.*, 2005) e os compostos isoindolínicos zinimidina (**19**), porritoxina (**20**) e **21** (HORIUCHI *et al.*, 2003). Mais recentemente, Evidente e colaboradores (2009) isolaram as fitotoxinas policíclicas (**22**) e (**23**) da espécie *Alternaria sonchi* (Figura 6, p.15).

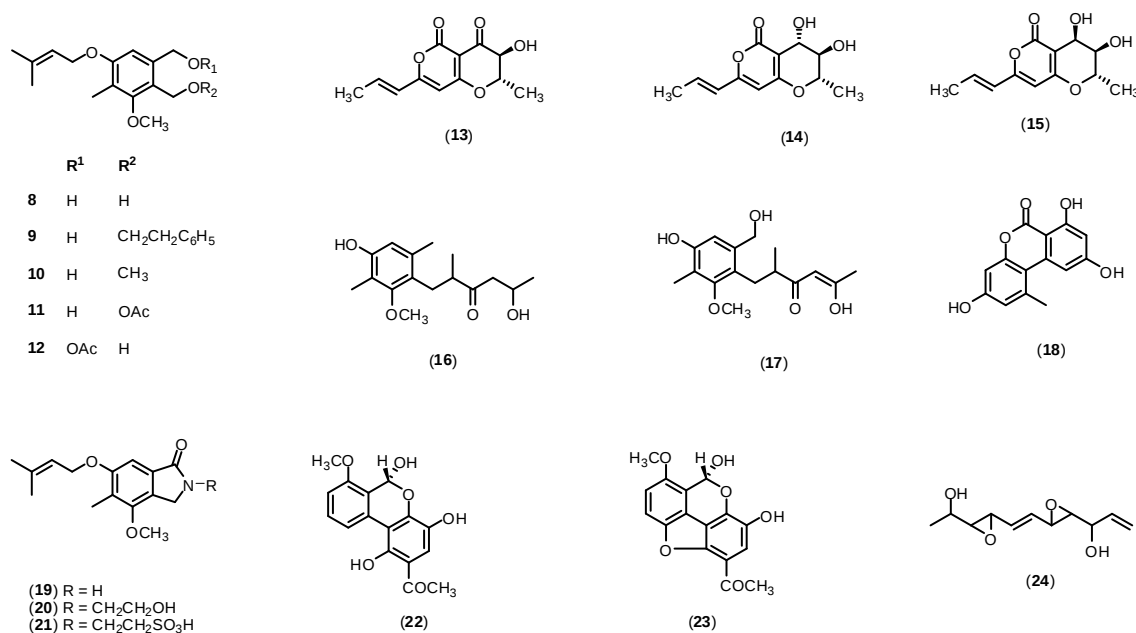


Figura 6 – Exemplos de micotoxinas isoladas de várias espécies do gênero *Alternaria*.

Enquanto vários estudos relativos ao gênero *Alternaria* são descritos na literatura, poucos são conhecidos sobre o gênero *Nymphaea*. Em um desses estudos, o grupo de Matsumoto (1992) isolou do fungo *Nymphaea scirpicola* a depudecina (**24**), (Figura 6). Subsequentemente, o mesmo grupo de pesquisa demonstrou que a depudecina é biossintetizada por uma rota metabólica envolvendo policetídeo (TANAKA *et al.*, 2000).

Uma investigação recente sobre a espécie fúngica *Nymphaea alternantherae* levou ao isolamento da 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**25**), Figura 7, (DEMUNER *et al.*, 2006). Embora esse metabólito já tenha sido identificado em estudos fitoquímicos do gênero *Alternaria* (SUEMITSU *et al.*, 1995; GAMBOA-ANGULO *et al.*, 1997), o estudo de Demuner *et al* 2006, foi o primeiro a descrever o isolamento deste metabólito em uma espécie do gênero *Nymphaea*. Ensaios biológicos conduzidos com a substância **25** revelaram que ela é capaz de inibir *in vitro* o transporte de elétrons do processo fotossintético.

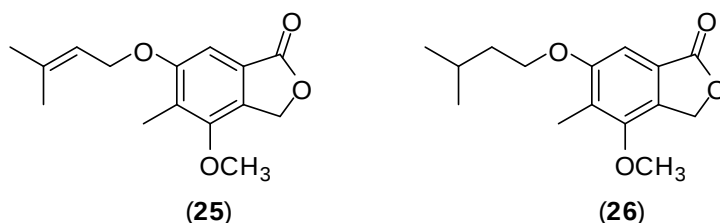


Figura 7 – Estrutura 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**25**) e seu derivado hidrogenado (**26**).

A hidrogenação catalítica de **25**, realizada na presença de Pd/C, resultou na formação de **26** (Figura 7) que também é capaz de inibir o transporte de elétrons fotossintético *in vitro*. É importante salientar que substâncias que inibem o processo fotossintético *in vitro* podem ser consideradas atrativas como candidatos para o desenvolvimento de agentes químicos para o controle de plantas daninhas (NELSON e COX, 2002).

No processo fotossintético as plantas, utilizando uma complexa série de reações químicas, capturam a energia luminosa que é armazenada na forma de ATP e NADPH. A energia acumulada no processo é, posteriormente, utilizada para produção de carboidratos e outras substâncias a partir do gás carbônico e de um doador de hidrogênio, que geralmente é a água. Simultaneamente, ocorre liberação de oxigênio na atmosfera. Um número de herbicidas é capaz de inibir alguma dessas reações exclusivas de plantas fotossintetizantes e possuem como importante vantagem o fato de apresentarem baixa toxicidade para mamíferos uma vez que os sítios moleculares nos quais esses herbicidas atuam são exclusivos das plantas (CASIDA, 2009).

1.5. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

A utilização de metabólitos secundários, seja diretamente ou como compostos-modelos, é uma das estratégias que podem ser usadas na busca por novos agentes químicos de controle de plantas daninhas. Conforme salientado anteriormente, a hidrogenação da cadeia lateral da substância **25** resultou num derivado **26**, Figura 7 (p.16), que também é capaz de inibir o transporte de elétrons da fotossíntese *in vitro*. Essa observação experimental aponta para o fato de que modificações estruturais na cadeia lateral podem resultar em derivados com diferentes perfis de atividade biológica. A literatura não relata

nenhum estudo sistemático envolvendo a síntese de diferentes substâncias análogas à isobenzofuran-1(3*H*)-ona **25** e a avaliação do efeito desses análogos sobre o transporte de elétrons da fotossíntese. Esses fatos foram os motivadores que levaram a essa investigação, na qual se buscou a síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade inibitória sobre o transporte de elétrons de substâncias estruturalmente análogas à isobenzofuranona **25** com vistas ao desenvolvimento de novos herbicidas sintéticos.

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; MALTHA, C. R. A.; TEIXEIRA, R. R.; SOUZA, K. A. P.; BICALHO, K. U. Phytogrowth activity of 3-(3-chlorobenzyl)-5-arylidenefuran-2(5*H*)-ones. *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 64b, p. 245-251, 2009a.
- BARBOSA, L. C. A.; NOGUEIRA, L. B.; MALTHA, C. R. A.; TEIXEIRA, R. R.; SILVA, A. A. Synthesis and phytogrowth properties of oxabicyclic analogues related to helminthosporin. *Molecules*, v. 14, p. 160-173, 2009b.
- BARBOSA, L. C. A.; PEREIRA, U. A.; TEIXEIRA, R. R.; MALTHA, C. R. A.; FERNANDES, S. A.; FORLANI, G. Synthesis and phytotoxic activity of ozonides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 9434-9440, 2008b.
- BARBOSA, L. C. A.; ROCHA, M. E.; TEIXEIRA, R. R.; MALTHA, C. R. A.; FORLANI, G. Synthesis of 3-(4-bromobenzil)-5-(arylmethylene)-5*H*-furan-2-ones and their activity as inhibitors of the photosynthetic electron transport chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 8562-8569, 2007.
- BARBOSA, L. C. A.; TEIXEIRA, R. R.; MONTANARI, R. M. *Phytotoxic Natural Products as Models for the development of crop protection agents*. In:

- EPIFANO, F. (Ed.). *Current Trends in Phytochemistry*. Research Signpost: Kerala, Índia, 2008a. p. 21-59
- BARRETO, R.W.; TORRES, A. N. L. *Nympha alternantherae* and *Cercospora alternantherae*: Two new records of fungal pathogens on *Alternanthera philoxeroides* (alligatorweed) in Brazil. *Australian Pathology*, v. 28, p. 103-107, 1999.
- BEAUDEGNIES, R.; EDMUNDS, A. J. F.; FRASER, T. E. M.; HALL, R. G.; HAWKES, T. R.; MITCHELL, G.; SCHAEZTER, J.; WENDEBORN, S.; WIBLEY, J. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors – A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, vol. 17, p. 4134-4152, 2009.
- BECKIE, H. J. Herbicide-resistant weeds: management tactics and practices. *Weed Technology*, v. 20, p.793-814, 2006.
- BERESTETSKIY, A. O. A review of fungal phytotoxins: from basic studies to practical use. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 44, p. 453-465, 2008.
- BÖGER, P. B.; WAKABAYASHI, K.; HIRAI, K. *Herbicides Classes in Development. Mode of Action, Targets, Genetic Engineering, Chemistry*, Springer-Verlag: Berlin, 2002. 364 p.
- CANTRELL, C. L.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural products as sources for new pesticides. *Journal of Natural Products*, v. 75, p. 1231-1242, 2012.
- CASIDA, J. E. Pest toxicology: The primary mechanisms of pesticide action. *Chemical Research in Toxicology*, v. 22, p. 609-619, 2009.
- CHAABANE, H.; COOPER, J. F.; AZOUZI, L.; COSTE, C. M. Influence of soil properties on the adsorption-desorption of sulcotrione and its hydrolysis

- metabolites on various soils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 53, p. 4091-4095, 2005.
- COBB, A. *Herbicides and plant physiology*. Chapman & Hall: London, 1992. 176 p.
- COPPING, L. G. *Crop protection agents from nature. Natural products and analogues*. The Royal Society of Chemistry: United Kingdom, 1996. 501 p.
- COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, v. 63, p. 524-554, 2007.
- COTTY, P. J.; MISHAGI, I. Zinniol production by *Alternaria* species. *Phytopathology*, v. 74, p. 785-788, 1984.
- COTTY, P. J.; MISHAGI, I.; HINE, R. Production of zinniol by *Alternaria targetica* and its phytotoxic effect on *Tagetes erecta*. *Phytopathology*, v. 73, p. 1326-1328, 1983.
- DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v.17, p. 4022-4034, 2009.
- DELANEY, J.; CLARKE, E.; HUGHES, D.; RICE, M. Modern agrochemical research: a missed opportunity for drug discovery? *Drug Discovery Today*, v.11, p. 839-845, 2006.
- DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; VEIGA, T. A. M.; BARRETO, R. W.; KING-DIAZ, B.; LOTINA-HENNSEN, B. Phytotoxic constituents from *Nimbya alternantherae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 34, p. 790-795, 2006.
- DEUBER, R. *Ciência das plantas daninhas: Fundamentos*. Jaboticabal, SP: FUNEP, 1992. 431p.

- DEVINE, M. D.; SHUKLA, A. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection*, v. 19, p. 881-889, 2000.
- DUKE, S. O. Herbicide and pharmaceutical relationships. *Weed Science*, v. 58, p. 334-339, 2010.
- DUKE, S. O.; CANTRELL, C. L.; MEEPAGALA, K. M.; WEDGE, D. E.; TABANCA, N.; SCHRADER, K. K. Natural toxins for use in pest management. *Toxins*, v. 2, pp. 1943-1962, 2010.
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; KAGAN, I. A.; BAERSON, S. R. New herbicide target sites from natural compounds. In: Clark, J.M., OHKAWA, H. (Eds.). *ACS Symposium Series, 892. New discoveries in Agrochemicals*, 2005. p.151-160.
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHRADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemical from nature for weed management. *Weed Science*, v. 50, p. 138-151, 2002.
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; ROMAGNI, J. G.; RIMANDO, A. M. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Research*, v. 40, p. 99-111, 2000a.
- DUKE, S. O.; ROMAGNI, J. G.; DAYAN, F. E. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action. *Crop Protection*, v. 19, p. 583-589, 2000b.
- DUKE, S.O.; OLIVA, A. *Mode of action of phytotoxic terpenoids*. In: Macías, F.A.; Galindo, J. C. G.; Molinillo, J. M. G.; Cutler, H. G. (Eds.). *Allelopathy – Chemistry and mode of action of allelochemicals*. CRC Press: Boca Raton, 2004. p. 201-216.

- EVIDENTE, A.; PUNZO, B.; ANDOLFI, A.; BERESTETSKIY, A.; MOTTA, A.
Alternethanoxins A and B, polycyclic ethanones produced by *Alternaria sonchi*, potential mycoherbicides for *Sonchus arvensis* biocontrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 6656-6660.
- GAMBOA-ANGULO, M. M.; ALEJOS-GONZÁLEZ, F.; PEÑA-RODRIGUEZ, L.
M. Homozinnol, a new phytotoxic metabolite from *Alternaria solani*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, p. 282-285, 1997.
- GAMBOA-ANGULO, M. M.; ESCALANTE-EROSA, F.; GARCÍA-SOSA, K.;
ALEJOS-GONZÁLEZ, F.; DELGADO-LAMAS, G.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L.
M. Natural zinnol derivatives from *Alternaria tagetica*. Isolation, Synthesis, and Structure-activity correlation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 1053-1058, 2002.
- GAMBOA-ANGULO, M. M.; GARCÍA-SOSA, K.; ALEJOS-GONZÁLES, F.;
ESCALANTE-ROSA, F.; DELGADO-LAMAS, G.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L. M.
Tagetolone and tagetenolone: two phytotoxic polyketides from *Alternaria tagetica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 1228-1232, 2001
- GODFREY, C. R. A. *Agrochemicals from natural products*. Marcel Dekker Inc.: New York, 1995. 418 p.
- GRESSEL, J. Evolving understanding of the evolution of herbicide resistance. *Pest Management Science*, v. 65, p. 1164-1173, 2009.
- HEAP, I. International survey of herbicide resistant weeds. Disponível em <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 01 Jun. 2012.
- HORIUCHI, M.; LHNISHI, K.; IWASE, N.; NAKAJIMA, Y.; TOUNAI, K.;
YAMASHITA, M.; YAMADA, Y. A novel isoindoline, porritoxin sulfonic acid,

- from *Alternaria porri* and the structure-phytotoxicity correlation of its related compounds. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v. 67, p.1580-1583, 2003.
- HÜTER, O. F. Use of natural products in the crop protection industry. *Phytochemistry Review*, v.10, p. 185-194, 2011.
- LEIN, W.; BÖRNKE, F.; REINDL, A.; EHRHARDT, T.; STITT, M.; SONNEWALD, U. Target-based discovery of novel herbicides. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 7, p. 219-225, 2004.
- LI, Y.; SUN, Z.; ZHUANG, X.; XU, L.; CHEN, S.; LI, M. Research progress on microbial herbicides. *Crop protection*, v. 22, p. 247-252, 2003.
- LIMA, L. S.; BARBOSA, L. C. A.; ALVARENGA, E. S.; DEMUNER, A. J.; SILVA, A. A. Synthesis and phytotoxicity evaluation of substituted para-benzoquinones. *Australian Journal of Chemistry*, v. 56, p. 625-630, 2003.
- MACÍAS, F. A.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M.; GALINDO, J. C. G. Allelopathy – a natural alternative for weed control. *Pest Management Science*, v. 63, p. 327-348, 2007.
- MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. L. G.; GARCÍA-DÍAZ, M. D.; GALINDO, J. C. G. Allelopathic agents from aquatic ecosystems: potential biopesticides models. *Phytochemical reviews*, v. 7, p. 155-178, 2008a.
- MACÍAS, F. A.; OLIVEROS-BASTIDAS, A.; MARÍN, D.; CARRERA, C.; CHINCHILLA, N.; MOLINILLO, J. M. G. Plant biocommunicators their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. *Phytochemistry reviews*, v.7, p. 179-194, 2008b.
- MATSUMOTO, M.; MATSUTANI, S.; SUGITA, K.; YOSHIDA, H.; HAYASHI, F.; TERUI, Y.; MATSUMOTO, K.; SHOJI, J.; YOSHIDA, T. Depudecin: a novel

- compound inducing the flat phenotype of NIH3T3 cells doubly transformed by *ras* and *src-oncogene*, produced by *Alternaria brassicicola*. *Journal of Antibiotics*, v. 45, p. 879-885, 1992.
- MITCHELL, G.; BARLETT, D. W.; FRASER, T. E. M.; HAWKES, T. R.; HOLT, D. C.; TOWNSON, J. K.; WICHERT, R. A. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science*, v. 57, p. 120-128, 2001.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.
- OERKE, E. C.; DEHNE, H. W. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, v. 23, p. 275-285, 2004.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Department of Economy and Social Affairs/Population Division. Population News Letter Number 87 – June 2009.
- PENG, J.; SHEN, X.; SAYED, K. A. E.; DUNBAR, D. C.; PERRY, T. L.; WILKINS, S. P.; HAMANN, M. Marine natural products as prototype agrochemical agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 2246-2252, 2003.
- PLANO AGRÍCOLA E PECUÁRIO 2011-2012. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. – Brasília: Mapa/SPA, 2011. 92 p.
- POZZI, C. R.; BRAGHINI, R.; ARCARO, J. R. P.; ZORZETE, P.; ISRAEL, A. L. M.; POZAR, I. O.; DENUCCI, S.; CORRÊA, B. Mycoflora and occurrence of Alternariol and Alternariol Monomethyl ether in brazilian sunflower from sowing to harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 5824-5828, 2005.

- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. *Guia de Herbicidas*. 5.ed. Grafmarke: Londrina, 2005. 591p.
- RÜEGG, W. T.; QUADRANTI, M.; ZOSCHKE, A. Herbicide research and development: challenges and opportunities. *Weed Research*, v. 47, p. 271-275, 2006.
- SAXENA, S.; PANDEY, A. K. Microbial metabolites as eco-friendly agrochemicals for the next millennium. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 55, p. 395-403, 2001.
- SCHRADER, K. K.; ANDOLFI, A.; CANTRELL.; CIMMINO, A.; DUEK, S. O.; OSBRINK, W.; WEDGE, D. E.; EVIDENT, A. A survey of phytotoxic microbial and plant metabolites as potential natural products for pest management. *Chemistry and Biodiversity*, v. 7, p. 2261-2280, 2010.
- SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, J. B. *Métodos de Controle de Plantas Daninhas*. In: SILVA, A. A., SILVA, J. F. (Eds.). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Editora UFV: Viçosa, 2007a. p. 63-81.
- SILVA, A. A.; FERREIRA, A. F.; FERREIRA, L. R. *Herbicidas: Classificação e Mecanismo de Ação*. In: SILVA, A. A., SILVA, J. F. (Eds.). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Editora UFV: Viçosa, 2007b. p. 83-148.
- SILVA, A. A.; VARGAS, L.; FERREIRA, E. A. *Herbicidas: Resistência de plantas*. In: SILVA, A. A., SILVA, J. F. (Eds.). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Editora UFV: Viçosa, 2007c. p. 279-324.
- SHORT, P. L. Growing agrochemical r & d. *Chemical and Engineering News*, v. 83, p.19-22, 2005.
- SOLFRIZZO, M.; VITTI, C.; DE GIROLAMO, A.; VISCONTI, A.; LOGRIECO, A.; FANIZZI, F. P. Radicinols and radicinin phytotoxins produced by

- Alternaria radicina* on carrots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 3655-3660, 2004.
- STALKER, D. M. In: Plant Genetic Engineering, Ed.: Grierson, D. Blackie pp.82-104, 1991.
- STARRAT, A. N. Zinniol: a major metabolite of *Alternaria zinniae*. *Canadian Journal of Chemistry*, v. 46, p.767-770, 1968.
- STETTER, J.; LIEB, F. Innovation in crop protection: Trends in research. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 39, p. 1724-1744, 2000.
- STRANGE, R. N. Introduction to plant pathology. John Wiley & Sons: England, 2003. 364 p.
- STRANGE, R. N. Phytotoxins produced by microbial plant pathogens. *Natural products reports*, v. 24, 127-144, 2007.
- SUEMITSU, R.; OHNISHI, K.; MORIKAWA, Y.; NAGAMOTO, S. Zinnimidine and 5-(3',3'-dimethylallyloxy)-7-methoxy-6-methylphthalide from *Alternaria porri*. *Phytochemistry*, v. 38, p. 495-497, 1995.
- SWANTON, C. J.; MASHHADI, H. R.; SOLOMON, K. R.; AFIFI, M. M.; DUKE, S. O. Similarities between the discovery and regulation of pharmaceuticals and pesticides: in support of a better understanding of the risks and benefits of each. *Pest Management Science*, v. 67, p. 790-797, 2011.
- TANAKA, M.; FUJIMORI, T.; NABETA, K. Biosynthesis of depudecin, a metabolite of *Nimbia scirpicola*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v. 64, p. 244-247, 2000.
- TEIXEIRA, R. R.; BARBOSA, L. C. A.; FORLANI, G.; PILÓ-VELOSO, D.; CARNEIRO, J. W. de M. Synthesis of photosynthesis-inhibiting nostoclide

- analogues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 2321-2329, 2008.
- TRINGALI, C. Phytotoxins from fungi, pathogenic for agrarian, forestall and weddy plants. In: *Bioactive compounds from Natural sources – Isolation, characterization and biological properties*. London, 2001, cap. 12, p. 475-525.
- vanKLINK, J. W.; BROPHY, J. J.; PERRY, N. B.; WEAVERS, R. β -triketones from Myrtaceae: Isoleptospermone from *Leptospermum scoparium* and papuanone from *Corymbia dallachiana*. *Journal of Natural Products*, v. 62, p. 487-489, 1999.
- VELASCO, L. O. M.; CAPANEMA, L. X. L. O Setor de Agroquímicos. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 69-96, 2006.
- VENCIL, W.; GREY, T.; CULPEPPER, S. *Resistance of weeds to herbicides*. In: KORTEKAMP, A. (Ed.). *Herbicides and Environment*. Croatia: In Tech, 2011, p. 585-594.
- WARE, G. W. *The pesticide book*. Fresno: Thomson Publications, 2000. 418p.
- WIEBE, K. (2009). How to feed the world in 2050. OECD Global Forum on Agriculture. Disponível em: <<http://www.oecd.org/dataoecd/43/6/43256458.pdf>>. Acesso em: 01 Junho. 2012.

WU, N. *Herbicide sulcotrione*. In: SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. L. (Eds.). *Herbicides, Theory and Applications*. Croatia: In Tech, 2011, p. 527-544.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE ISOBENZOFURAN-1-(3H)-ONAS TENDO COMO ESTRUTURA

MODELO A 5-METIL-4-METOXI 6-(3-METILBUT-2-ENILOXI)

ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONA

2.1. INTRODUÇÃO

Isobenzofuran-1(3H)-onas (também conhecidas como fitalidas) possuem como característica estrutural a presença de um anel γ -lactônico fundido a um anel aromático (Figura 1). Elas representam uma classe de compostos que tem atraído a atenção de vários grupos de pesquisa em parte devido ao seu espectro de atividades biológicas.

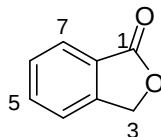
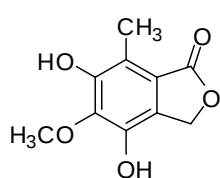


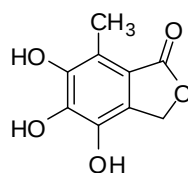
Figura 1 – Estrutura básica de uma isobenzofuran-1(3H)-ona.

Na Figura 2 (p.30) estão representadas estruturas de diferentes isobenzofuran-1(3H)-onas, de origem natural e sintética. No tocante às isobenzofuranonas de origem natural, a grande maioria dessas substâncias têm sido isoladas a partir de diferentes espécies de fungos. Por exemplo, o fracionamento bio-guiado do extrato EtOAc da espécie fúngica *Cephalosporium* sp.AL031 resultou no isolamento das substâncias **27** e **28** que exibiram significativa atividade antioxidante avaliada pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil). Os valores de IC_{50} determinados para essa atividade foram, respectivamente, iguais a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (HUANG *et al.*, 2012).

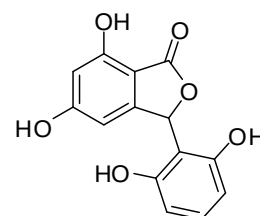
A atividade antioxidante também foi verificada para a isobenzofuran-1(3*H*)-ona **29**, conhecida como isopestacina e isolada a partir do fungo *Pestalotiopsis microspora* (STROBEL *et al.*, 2002). Além disso, demonstrou-se que essa substância apresenta atividade antifúngica sendo capaz de na concentração de 48 $\mu\text{g ml}^{-1}$ e após 48h, inibir completamente o desenvolvimento da espécie patogênica para plantas *Pythium ultimum*. A isopestacina (**29**) também foi avaliada contra as espécies patogênicas de plantas *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* não sendo observado, nesses casos, nenhum efeito inibitório (STROBEL *et al.*, 2002).



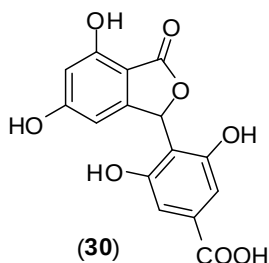
(27)



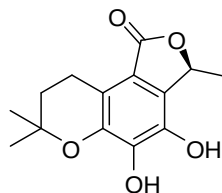
(28)



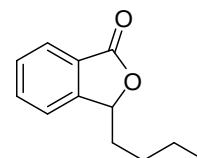
(29)



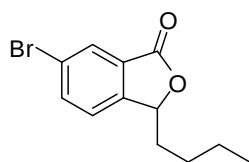
(30)



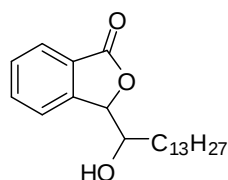
(31)



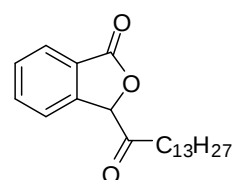
(32)



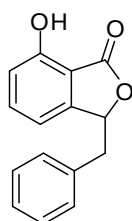
(33)



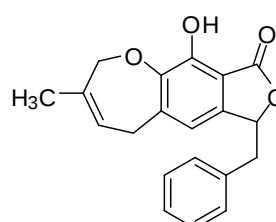
(34)



(35)



(36)



(37)

Figura 2 – Exemplos selecionados de isobenzofuran-1(3*H*)-onas.

Assim como a isopestacina (**29**), o ácido crifonéctrico (**30**) também possui um grupo aromático ligado à posição C-3 do anel lactônico. O estudo químico do extrato bruto EtOAc, obtido do cultivo em MPGA (*Maltose-Peptone-Glucose-Agar*) produzido pelo fungo *Cryphonectria parasitica* (Murr.), resultou no isolamento de vários metabólitos secundários dentre eles o ácido crifonéctrico (**30**). O composto **30** foi isolado como o componente majoritário (>20%) do extrato bruto (ARNONE *et al.* 2002). A atividade fitotóxica do ácido foi avaliada sobre o desenvolvimento de sementeiras de tomate, em diferentes concentrações. Observou-se que a germinação das sementes de tomate (*Solanum lycopersicum*) foi completamente inibida numa concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A substância tricíclica fuscinarina (**31**), Figura 2 p.30, foi isolada do fungo *Oidiodendron griseum* e apresenta atividade anti-HIV (YOGANATHAN *et al.*, 2003).

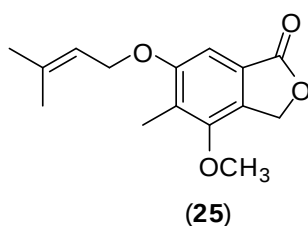
A 3-butilisobenzofuran-1(3*H*)-ona (**32**), Figura 2 p.30, foi isolado, na China, a partir das sementes de *Apium graveolens* e é capaz de inibir a agregação plaquetária (PENG *et al.*, 2004). A agregação de plaquetas esta diretamente relacionada a doenças cardiovasculares e acidentes vasculares (DE ALMEIDA CHAVES *et al.*, 2010). Outras isobenzofuranonas têm sido avaliadas com respeito à atividade antiplaquetária (YANG *et al.*, 2007; MA *et al.*, 2012). No estudo recente de Ma e colaboradores, o derivado halogenado **33** foi avaliado *in vitro* sendo determinado para a atividade antiplaquetária o valor de $\text{IC}_{50} = 84 \mu\text{mol L}^{-1}$. Na concentração de 84 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o composto **32** foi capaz de inibir a agregação plaquetária em aproximadamente 60%, demonstrando-se

desse modo a maior eficiência do derivado halogenado (MA *et al.*, 2012). Cardozo e colaboradores (2005) descreveram atividade anticonvulsiva para o composto **32**.

Empregando-se como material de partida o ácido anarcádico, DOS SANTOS e colaboradores (2010) sintetizaram os derivados **34** e **35**, Figura 2 p.30, que apresentaram significativa atividade antiproliferativa contra linhagens de célula HL-60 (leucemia promielocítica) e moderada atividade contra as linhagens SF295 e MDA-MB435 (cérebro).

Cabe destacar que todos os exemplos de isobenzofuran-1(3*H*)-onas de origem natural descritas anteriormente foram isolados de espécies de fungo. No entanto, a literatura contém exemplos desses metabólitos que foram isolados de plantas, como as substâncias **36** e **37**, Figura 2 p. 30 isoladas de rizomas de *Typha capensis* (SHODE *et al.*, 2002).

Dentre diversas isobenzofuran-1(3*H*)-onas bioativas, encontra-se a 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**25**) (estrutura repetida a seguir), capaz de inibir o transporte de elétrons fotossintético *in vitro* e que motivou o desenvolvimento do presente trabalho.



Descreve-se nesse capítulo a síntese e a caracterização de isobenzofuran-1(3*H*)-onas que foram preparadas tendo como estrutura-modelo a fitotoxina natural **25**. A estrutura básica das isobenzofuran-1(3*H*)-onas (Figura 1, p.28) apresenta diferentes posições que podem ser funcionalizadas. Na

presente investigação, as isobenzofuran-1(3*H*)-onas sintetizadas apresentam funcionalização nas posições 5 e 6 do anel aromático, conforme mostrado na Figura 3 (p.33). Esta figura contém ainda outras substâncias sintetizadas e que também foram objeto de investigação desse trabalho. Os números associados às estruturas são aqueles que identificaram as substâncias ao longo do capítulo.

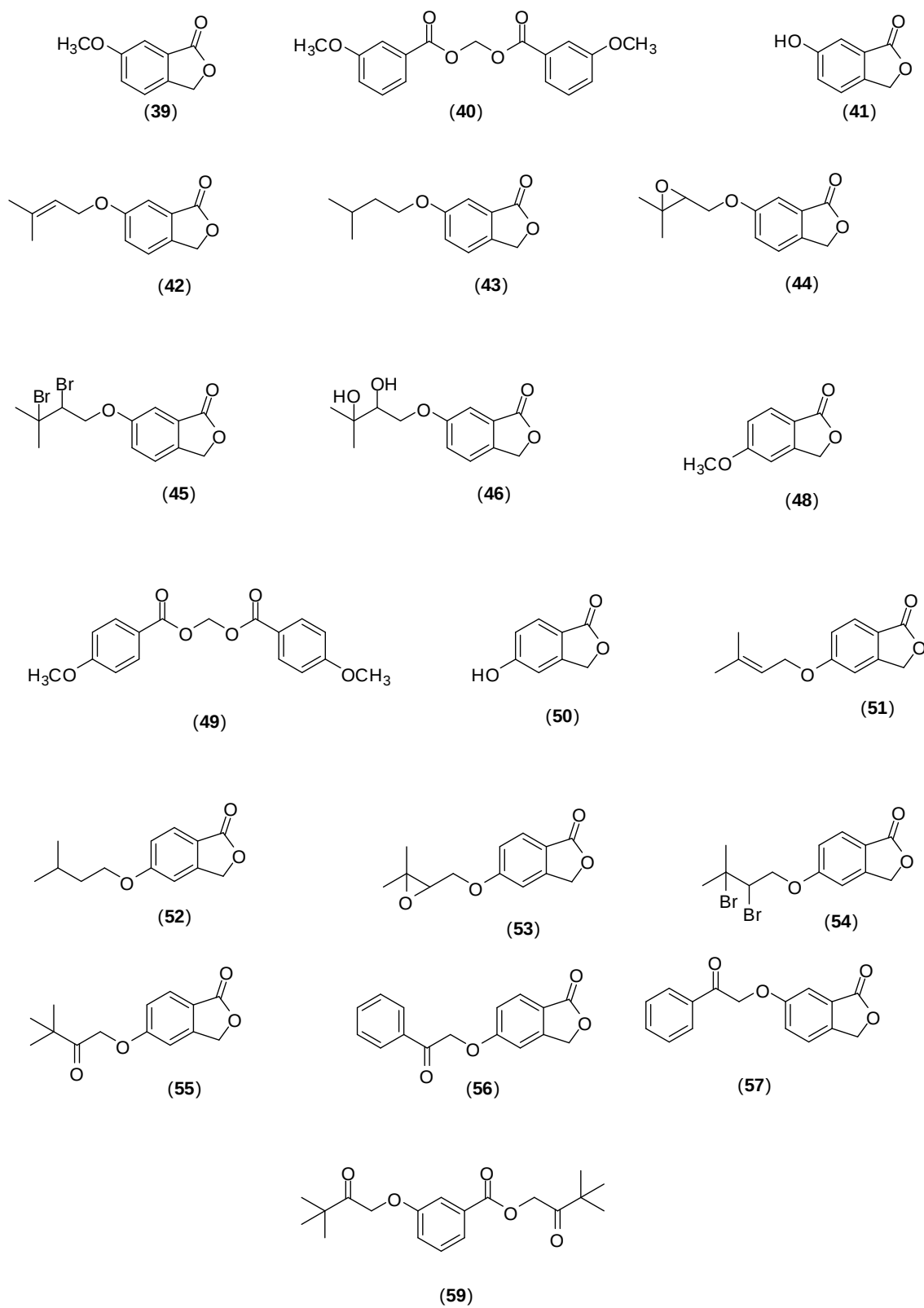


Figura 3 – Estruturas das substâncias sintetizadas nesse trabalho.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1. Generalidades Metodológicas

Na síntese dos compostos foram utilizados reagentes de grau P.A.

A secagem do diclorometano foi feita adicionando-se hidreto de cálcio ao solvente. A mistura foi aquecida até a temperatura de ebulição da substância e mantida sob-refluxo por 5 horas. Após este período, o solvente foi recolhido em um frasco âmbar contendo peneira molecular 4Å e armazenado sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN E AMAREGO, 1998).

A secagem da acetona foi realizada adicionando-se carbonato de potássio anidro ao solvente. A mistura foi aquecida até a temperatura de ebulição da substância e mantida sob refluxo por 6 horas. Após este período, o solvente foi recolhido em um frasco âmbar contendo peneira molecular 4Å e armazenado sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN E ARMAREGO. 1998).

Os ácidos carboxílicos 3-metoxibenzóico e 4-metoxibenzóico, a solução de BBr_3 1,0 mol L^{-1} em diclorometano, dibromometano, acetato de paládio, 1-bromo-3-metilbut-2-eno, ácido *meta*-cloroperbenzóico (MCPBA), 1-bromopinacolona e acetofenona foram adquiridos da Sigma Aldrich e utilizados sem qualquer purificação prévia.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas empregando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (espessura de 250 μm). As separações cromatográficas em coluna foram feitas utilizando-se sílica-gel (70-230 mesh), como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados sem prévia purificação.

As placas de CCD após eluição foram observadas em uma câmara contendo luz ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 , 5 mL de NaOH 5% m/v, 300 mL de água), solução alcoólica de ácido fosfomolibdico (12g de $2\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 20\text{MoO}_3 \cdot 48\text{H}_2\text{O}$ /250 mL de etanol) ou iodo.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 e não foram corrigidas.

Os espectros no infravermelho (IV) foram adquiridos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660-IR com acessório GladiATR.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 MHz) foram obtidos em espectrômetros VARIAN MERCURY 300 (Departamento de Química – UFV). Para a aquisição dos espectros, foram utilizados os solventes deuterados clorofórmio (CDCl_3) e metanol (CD_3OD). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

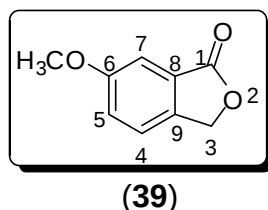
Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A de baixa resolução e empregando-se a técnica de inserção direta, sendo os compostos submetidos a ionização por impacto de elétrons.

Para os compostos **43**, **45** e **54**, as análises foram realizadas em um espectrômetro micrOTOF – QII Brucker, sendo os compostos analisados por espectrometria de massas de alta resolução/ionização por *eletrospray* (ESI-MS). Os espectros foram adquiridos em modo positivo, portanto os valores

observados estão na forma de $[M+H]^+$. As amostras foram preparadas dissolvendo-se os compostos em acetonitrila contendo 1% de ácido fórmico.

2.2.2. Procedimentos Sintéticos

2.2.2.1. Síntese da 6-metoxiisobenzofuran-1(3*H*)-ona (**39**)



METODOLOGIA 1

A um tubo de 40 mL de capacidade, contendo uma barra de agitação magnética, foram adicionados $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (156,8 mg; 0,70 mmol), K_2HPO_4 (3654 mg; 21,0 mmol), ácido 3-metoxibenzóico (**38**) (1064 mg; 7,00 mmol) e dibromometano (28 mL). O tubo foi selado e a mistura resultante foi mantida sob agitação a 140 °C por 36 h. Após este período, verificou-se via análise por CCD que o material de partida havia sido completamente consumido. A mistura reagente foi filtrada através de celite[®] e lavada com acetona. O filtrado obtido foi concentrado sob pressão reduzida e o material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção da substância **39** com 59% de rendimento (680 mg; 4,14 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,74$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f: 116,9-118,4 °C ($T_{f \text{ literatura}}$: 119-120 °C; NUMATA, 1968).

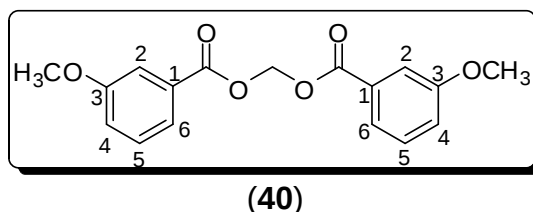
IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3001, 2925, 2837, 1733, 1600, 1585, 1488, 1454, 1432, 1267, 1206, 1028, 973, 869, 750, 680, 545 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,87 (s, 3H; $-\text{OCH}_3$); 5,26 (s, 2H; H-3); 7,38-7,22 (m, 3H; H-4, H-5 e H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 56,0 ($-\text{OCH}_3$); 69,7 (C-3); 107,7 (C-7); 123,1 e 123,3 (C-4 e C-5); 127,3 (C-8); 139,1 (C-9); 160,8 (C-6); 171,4 (C-1).

EM, m/z (%): 165 ($[\text{M}+1]^+$, 6); 164 ($[\text{M}]^+$, 51); 163 (9); 136 (9); 135 (100); 108 (3); 107 (33); 92 (13); 77 (38); 63 (19); 51 (16).

No processo de purificação da substância (**39**), sintetizada de acordo com o procedimento descrito anteriormente, isolou-se ainda o diéster *bis*-(3-metoxibenzoato) de metileno (**40**), com 9% de rendimento (102 mg; 0,32 mmol).



Característica: Óleo amarelado.

CCD: R_f = 0,70 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 2994, 2966, 2941, 2837, 1731, 1601, 1586, 1488, 1453, 1432, 1268, 1204, 1026, 975, 867, 747, 678 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,84 (s, 6H; $2\times-\text{OCH}_3$); 6,24 (s, 2H; $-\text{OCH}_2\text{O}-$); 7,13 (ddd, 2H, $J = 8,1$; $J = 2,7$; $J = 0,9$ Hz, H-4); 7,35 (dd, 2H, $J = 8,1$; 7,8 Hz; H-5); 7,55 (dd, 2H, $J = 2,7$; 0,9 Hz; H-2), 7,69 (ddd, 2H, $J = 7,8$; $J = 2,4$; $J = 0,9$ Hz; H-6).

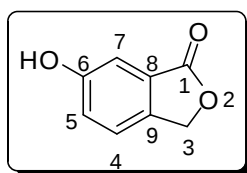
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 55,7 ($-\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 80,3 ($-\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{O}-$); 114,5 (C-2); 120,6 (C-4); 122,7 (C-6); 129,8 (C-5); 130,40 (C-1); 159,8 (C-3); 165,4 ($-\underline{\text{C}}\text{O}-$).

EM, m/z (%): 316 ($[\text{M}]^+$, 34); 286 (2); 211 (2); 152 (4); 135 (100); 107 (31); 92 (24); 77 (34); 64 (17); 50 (6).

METODOLOGIA 2

A um balão de fundo redondo de 200 mL, contendo uma barra de agitação magnética, foram adicionados o ácido 3-metoxibenzóico (**38**) (5,00 g; 32,9 mmol) juntamente com 3,45 mL de solução aquosa de formaldeído (37% m/v), 5,35 mL de HCl concentrado e 12,0 mL de ácido acético. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 90 °C por 14 horas. Após o término da reação, o volume da mistura foi reduzido em evaporador rotativo e em seguida foi adicionada solução saturada de bicarbonato de potássio até pH aproximadamente 7. A fase aquosa resultante foi extraída com acetato de etila (3x25 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v). A substância (**39**) foi obtida como um sólido branco com 71% de rendimento (3,80 gramas; 23,1mmol).

2.2.2.2. Síntese da 6-hidróxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**41**)



(**41**)

A um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética e sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se a 6-metoxiisobenzofuran-1(3*H*)-ona (**39**) (100 mg; 0,61 mmol) e 5 mL de diclorometano anidro. A mistura resultante foi mantida sob agitação e resfriada em banho de gelo por 10 minutos. Em seguida, foi adicionado 1,8 mL de solução 1,0 mol L⁻¹ de BBr₃ em diclorometano (1,8 mmol) gota a gota. Após a adição, permitiu-se que a temperatura da mistura reagente se igualasse à temperatura ambiente, sendo a agitação mantida por 4 horas. Posteriormente, foram adicionados à mistura reagente 5 mL de água destilada e observou-se a formação de um precipitado branco. A mistura resultante foi transferida para um funil de separação e a fase aquosa extraída com acetato de etila (3x25 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v). A substância (**41**) foi obtida com 92% de rendimento (84 mg; 0,56 mmol).

Característica: sólido amarelado.

CCD: R_f = 0,25 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f = 198,6-201,3 °C (**T_f literatura:** 198-200 °C; NUMATA, 1968).

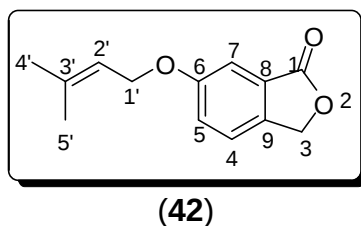
IV (ART) $\bar{\nu}$ max: 3252 (banda larga), 2959, 2922, 2851, 1726, 1623, 1599, 1491, 1447, 1366, 1312, 1052, 990, 771, 542 cm⁻¹.

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ : 5,25 (s, 2H; H-3); 7,15-7,18 (m, 2H; H-5 e H-4); 7,39 (d, 1H, J = 9,0 Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ : 70,1 (C-3); 109,7 (C-7); 122,8 (C-5); 123,3 (C-4); 126,6 (C-8); 138,3 (C-9); 158,6 (C-6); 172,5 (C-1).

EM, m/z (%): 151 ($[\text{M}+1]^+$, 4); 150 ($[\text{M}]^+$, 43); 121 (100); 93 (47); 77 (8); 65 (59); 51 (21); 31 (71).

2.2.2.3. Síntese da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**42**)



A um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, conectado a um condensador de Liebig e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a substância **41** (100 mg; 0,67 mmol), K_2CO_3 (370 mg; 2,74 mmol) anidro e 5 mL de acetona anidra. A mistura resultante foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 2 h. Decorrido este período, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e procedeu-se à adição de 1-bromo-3-metilbut-2-eno (0,300 mL; 2,01 mmol) gota a gota. Após esta adição, a mistura foi mantida sob refluxo por 16 horas quando se observou por meio da análise por CCD o término da reação. Adicionou-se à mistura 6 mL de água e a fase aquosa resultante foi extraída com diclorometano (3x25 mL). Os extratos obtidos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v), sendo a substância **42** obtida com 76% de rendimento (111 mg; 0,51 mmol).

Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,37$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

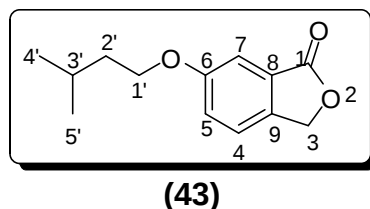
IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3068, 3025, 2970, 2916, 2870, 1750, 1623, 1492, 1449, 1362, 1324, 1276, 1246, 1046, 1002, 921, 770, 695, 545 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,75 e 1,80 (2 simpletos largos, cada um integrado para 3 átomos de hidrogênio; H-5' e H-4'); 4,55 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-1'); 5,26 (s, 2H; H-3); 5,45-5,51 (m, 1H; H-2'); 7,22-7,40 (m, 3H; H-4, H-5 e H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 18,5 (C-5'); 26,1 (C-4'); 65,6 (C-1'); 69,8 (C-3); 108,4 (C-7); 119,0 (C-2'); 123,1 (C-5); 124,0 (C-4); 127,1 (C-8); 139,0 (C-9); 139,4 (C-3'); 160,0 (C-6); 171,6 (C-1).

EM, m/z (%): 218 ($[M]^+$, < 1); 151 (23); 150 (16); 121 (25); 69 (86); 41 (100).

2.2.2.4. Síntese da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**43**)



A um balão bitubulado, sob atmosfera de hidrogênio, foram adicionados o composto **42** (50,0 mg; 0,229 mmol), tetraidrofurano (5,00 mL) e Pd/C (12,0 mg). A mistura reagente foi agitada à temperatura ambiente (sob atmosfera de hidrogênio) por 18 horas. Após esse período, a análise da mistura por CCD mostrou que o material de partida havia sido completamente consumido. A mistura reagente foi, então, filtrada através de uma camada de celite[®] e lavada com acetona. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o material

resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente uma mistura de hexano-acetato de etila (2:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção de **43** com 72% de rendimento (36,5 mg; 0,166 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,33$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

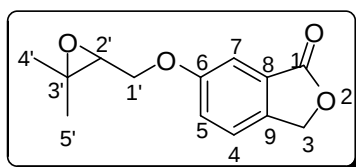
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2956, 2872, 1768, 1626, 1495, 1461, 1361, 1324, 1282, 1248, 1045, 1005, 772 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0,97 (d, 6H, $J = 6,3$ Hz; H-4' e H-5'); 1,71 (q, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-2''); 1,76-1,90 (m, 1H; H-3'); 4,04 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-1'); 5,25 (s, 2H; H-3); 7,21-7,40 (m, 3H; H-4, H-5 e H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,8 (C-4', C-5'); 25,3 (C-3'); 37,9 (C-2'); 67,3 (C-1'); 69,8 (C-3); 108,3 (C-7); 123,1 (C-5); 123,8 (C-4); 127,2 (C-8); 138,8 (C-9); 160,3 (C-6); 171,8 (C-1).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO: Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_3$: 221,1178; encontrado: 221,1175.

2.2.2.5. Síntese da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**44**)



(44)

Em um balão bitubulado equipado com uma barra de agitação magnética foram adicionados a isobenzofuran-1(3*H*)-ona **42** (100 mg; 0,459 mmol) e 2 mL de diclorometano anidro. A mistura resultante foi resfriada em banho de gelo e em seguida ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) (124 mg; 0,720 mmol) dissolvido em 2 mL de diclorometano anidro foi adicionado gota a gota, sendo a mistura posteriormente agitada por 6 horas a 0 °C. O excesso de *m*-CPBA foi consumido pela adição à mistura reagente de solução 10% (m/v) de sulfito de sódio. A fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂, (3x15 ml). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando como eluente hexano:acetato de etila (2:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção de **44** com 63% de rendimento (68,0 mg; 0,290 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,29 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f: 109,2 – 110,8 °C.

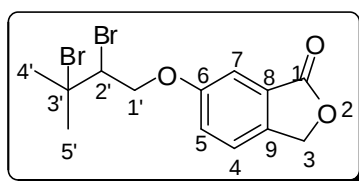
IV (ATR) $\bar{\nu}$ max: 2923, 2851, 1752, 1606, 1574, 1490, 1451, 1358, 1332, 1260, 1096, 1045, 1002, 845, 772, 752, 687 cm⁻¹.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,36 e 1,39 (2 simpletos, cada um integrado para 3H; H-4'e H-5'); 3,16 (dd, 1H, *J* = 6,3; *J* = 3,9 Hz; H-2'); 4,04 (dd, 1H, *J* = 10,8, *J* = 6,3 Hz; H-1'a); 4,25 (dd, 1H, *J* = 10,8; *J* = 3,9 Hz; H-1'b); 5,26 (s, 2H; H-3); 7,25-7,45 (m, 3H; H-4, H-5 e H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 19,3 (C-5'); 24,9 (C-5'); 58,4 (C-3'); 61,2 (C-2'); 67,0 (C-1'); 69,8 (C-3); 108,5 (C-7); 123,3 (C-5); 123,7 (C-4); 127,3 (C-8); 139,5 (C-9); 159,7 (C-6); 171,4 (C-1).

EM, m/z (%): 234 ($[\text{M}^+]$, 4); 163 (72); 150 (19); 135 (13); 120 (6); 93 (12); 89 (12); 71 (36); 53 (19); 41 (100).

2.2.2.6. Síntese da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**45**)



(**45**)

Um balão bitubulado contendo uma barra de agitação magnética e sob atmosfera de nitrogênio foi carregado com a substância **42** (50,0 mg; 0,230 mmol) e 2 mL de CCl_4 . À esta mistura adicionou-se, gota a gota, bromo dissolvido em CCl_4 até que uma coloração vermelha permanente fosse observada. O consumo total da substância **42** foi verificado por CCD. O excesso de bromo foi removido purgando-se a mistura com nitrogênio, sendo a mistura restante concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção de **45** com 45% de rendimento (39,0 mg; 0,103 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,32 (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

T_f = 101,8-103,1 °C.

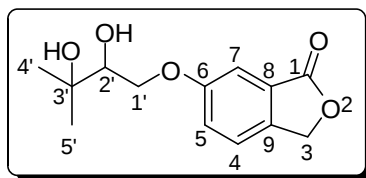
IV (ATR) $\bar{\nu}$ max: 3063, 2974, 2934, 1750, 1622, 1492, 1450, 1364, 1324, 1295, 1093, 1046, 996, 916, 830, 772, 535.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,90 e 2,04 (dois simpletos, cada um integrado para 3H; H-4'e H-5'); 4,41 (dd, 1H, $J = 8,1$; $J = 10,5$ Hz; H-1'a); 4,55 (dd, 1H, $J = 8,1$; $J = 2,4$ Hz; H-2'); 4,91 (dd, 1H, $J = 10,5$; $J = 2,4$ Hz; H-1'b); 5,28 (s, 2H; H-3), 7,28-7,45 (m, 3H; H-4, H-5 e H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 29,7 e 35,4 (C-4'e C-5'); 61,2 (C-2'); 64,8 (C-3'); 69,8 (C-3); 72,5 (C-1'); 109,9 (C-7); 123,4 (C-5); 124,0 (C-4); 127,4 (C-8); 139,8 (C-9); 159,2 (C-6); 171,3 (C-1).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO: Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{Br}_2\text{O}_3$: 376,9382; 378,9363; 380,9344; Encontrado: 376,9396; 378,9378; 380,9366.

2.2.2.7 – Síntese da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**46**)



(**46**)

Um balão de 25 mL equipado com uma barra de agitação magnética foi carregado com 50 mg do epóxido **44** (0,210 mmol), 5,00 mL de solução aquosa de H_2SO_4 (1% m/v) e 3 mL de THF. A mistura resultante foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 8 horas. Após este período, adicionou-se 3 mL de solução aquosa de carbonato de potássio e extraiu-se a fase aquosa com acetato de etila (3x15 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna

de sílica-gel, utilizando como eluente hexano-acetato de etila-metanol (1:3:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção do composto **46** em 90% de rendimento (48,2 mg; 0,191mmol).

Característica: óleo amarelado.

CCD: $R_f = 0,36$ (hexano-acetato de etila-metanol 1:3:1 v/v).

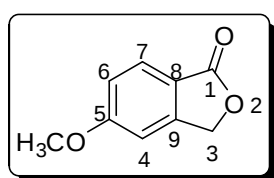
IV (ATR) $\bar{\nu}$ max: 3445, 2926, 1749, 1625, 1494, 1459, 1363, 1326, 1249, 1000, 1053, 923, 774.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,28 e 1,33 (dois simpletos, cada um integrado para 3H; H-4'e H-5'); 3,86 (dd, 1H, $J = 9,6$; $J = 7,5$ Hz; H-1'b); 4,05 (dd, 1H, $J = 7,5$; $J = 3,0$ Hz; H-2'); 4,19 (dd, 1H, $J = 9,6$; $J = 3,0$ Hz; H-1'a); 5,27 (s, 2H, H-3); 7,23-744 (m, 3H; H-4, H-5 e H-7).

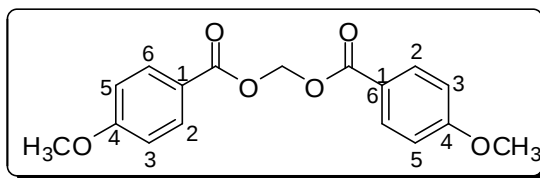
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 25,1 e 26,8 (C-4'e C-5'); 69,8 (C-2); 70,0 (C-1'); 71,8 (C-3'); 76,0 (C-2'); 108,8 (C-7); 123,3 (C-5); 123,6 (C-4); 127,3 (C-8); 139,5 (C-9); 159,7 (C-6); 171,4 (C-1).

EM, m/z (%): 252 ($[\text{M}^+]$, < 1); 234 (< 1); 163 (4); 150 (37); 135 (3); 121 (21); 119 (2); 92 (4); 65 (9); 59 (100); 43 (58).

2.2.2.8. Síntese da 5-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**48**) e do bis-(4-metoxibenzoato) de metileno (**49**)



(48)



(49)

Um tubo de vidro de 40 mL, contendo uma barra de agitação magnética, foi carregado com $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (67,3 mg; 0,300 mmol), KHCO_3 (750 mg; 7,73

mmol), ácido 4-metoxibenzóico (**47**) (456 mg; 3,00 mmol) e dibromometano (12,0 mL). O tubo foi selado e a mistura resultante foi mantida sob agitação a 140 °C por 18 h. Após este período, verificou-se via análise por CCD que o material de partida ácido 4-metoxibenzóico (**47**) havia sido completamente consumido. A mistura reagente foi, então, filtrada através de uma camada de celite® e lavada com acetona. O filtrado obtido foi concentrado sob pressão reduzida e o material resultante (um sólido de coloração marrom-escuro) foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção da 5-metoxiisobenzofuranona (**48**) como um sólido amarelo com 33% de rendimento (164 mg; 1,00 mmol).

Característica: sólido amarelado.

CCD: $R_f = 0,32$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f : 113,4-114,7°C. (T_f literatura: 116-118 °C; LAROCK e FELLOWS, 1982).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3032, 2922, 2852, 2357, 1736, 1601, 1489, 1452, 1361, 1333, 1261, 1146, 1036, 986, 773 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,89 (s, 3H; $-\text{OCH}_3$); 5,25 (s, 2H; H-3); 6,91 (d, 1H, $J = 0,6$ Hz; H-4); 7,02 (dd, 1H, $J = 8,4$; $J = 0,6$ Hz; H-6); 7,80 (d, 1 H, $J = 8,4$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 56,1 ($\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 69,3 (C-3); 106, 2 (C-4); 116,7 (C-6); 118,2 (C-8); 127,4 (C-7); 149,6 (C-9); 164,9 (C-5); 171,1 (C-1).

EM, m/z (%): 164 ($[\text{M}]^+$, 72); 135 (100); 119 (3); 107 (27); 77 (32); 63 (32); 51 (18); 44 (21).

O processo de purificação do derivado (**48**) resultou ainda no isolamento do *bis*-(4-metoxibenzoato) de metileno (**49**) com 59% de rendimento (278 mg; 0,88 mmol). Os dados espectroscópicos que confirmaram a estrutura deste composto estão descritos a seguir.

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,42$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f: 106,5-107,7°C (**T_f literatura:** 112-113 °C; HOLMBERG e HANSEN, 1975).

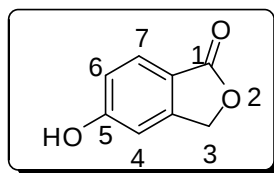
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3030, 2916, 2841, 2829, 1751, 1610, 1455, 1356, 1261, 1088, 991, 855.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,84 (s, 6H; -OCH₃); 6,18 (s, 2H; -OCH₂O-); 6,90 (d, 4H, $J = 9,0$ Hz; H-3/H-5); 8,03 (d, 4H, $J = 9,0$ Hz; H-2/H-6).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 55,7 (-OCH₃); 79,9 (-OCH₂O-); 114,0 (C-3/C-4); 121,5 (C-1); 132,4 (C-2/C-6); 164,1 (C-4); 165,3 (-CO).

EM, m/z (%): 316 ([M]⁺, 17); 135 (100); 107 (8); 92 (17); 77 (23); 64 (11); 63 (10).

2.2.2.9. Síntese da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**50**)



(**50**)

A um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética e sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se a 5-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**48**) (100 mg; 0,61 mmol) e 5 mL de diclorometano anidro. A mistura resultante foi resfriada em banho de gelo por 10 minutos. Em seguida, foi

adicionado 5,75 mL de solução 1,0 mol L⁻¹ de BBr₃ em diclorometano (5,75 mmol) gota a gota. Após 3 horas de agitação em banho de gelo, verificou-se o término da reação via análise por CCD. Foram adicionados à mistura reagente 5 mL de água destilada e observou-se a formação de um precipitado branco. A mistura resultante foi transferida para um funil de separação e a fase aquosa extraída com acetato de etila (3x25 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v). A substância (**50**) foi obtida com um sólido amarelo palha com 83% de rendimento (76,0 mg; 0,50mmol).

Característica: sólido cristalino amarelo palha.

CCD: R_f = 0,35 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f: 226,8-227,3 °C (**T_f literatura:** 223-224 °C; LAROCK e FELLOWS, 1982).

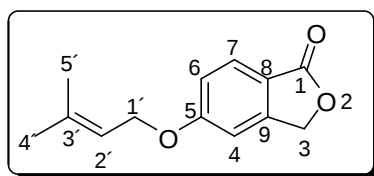
IV (ATR) $\bar{\nu}$ max: 3261, 2925, 2855, 1714, 1597, 1432, 1340, 1275, 1057, 1007, 937 cm⁻¹.

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ : 5,25 (s, 2H; H-3); 6,90-6,95 (m, 2H; H-6 e H-4); 7,67 (d, 1H, J = 9 Hz; H-7).

RMN de ¹³C (75 MHz, CD₃OD) δ : 71,3 (C-3); 110,9 (C-6); 123,9 (C-4); 124,4 (C-7); 127,7 (C-9); 139,5 (C-8); 159,8 (C-5); 173,7 (C-1).

EM, m/z (%): 150 ([M]⁺, 100); 121 (100); 93(35); 74 (10); 65 (54); 51 (15); 44(25).

2.2.2.10. Síntese da 5- (3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**51**)



(51)

Um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, conectado a um condensador de Liebig e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a substância **50** (100 mg; 0,670 mmol), K_2CO_3 (370 mg; 2,74 mmol) anidro e 5 mL de acetona anidra. A mistura resultante foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 2 h. Decorrido este período, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente por dez minutos e procedeu-se à adição de 1-bromo-3-metilbut-2-eno (0,300 mL; 2,01 mmol) gota a gota. Após esta adição, a mistura foi mantida sob refluxo por 16 horas quando se observou por meio da análise por CCD o término da reação. Adicionou-se à mistura 6 mL de água e a fase aquosa resultante foi extraída com diclorometano (3x20 mL). Os extratos obtidos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v), sendo a substância **51** obtida com 79% de rendimento (114 mg; 0,52 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,28$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

T_f = 69,5 – 70,7 °C.

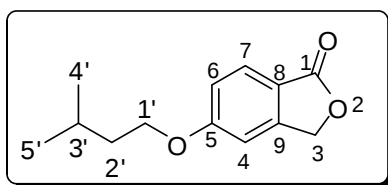
IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$: 3077, 2983, 2917, 2870, 1748, 1681, 1604, 1488, 1447, 1357, 1330, 1260, 1155, 1096, 1038, 984, 843 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,75 (d, 3H, $J = 0,9$ Hz; H-5'); 1,81 (d, 3H, $J = 0,9$ Hz; H-4'); 4,59 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz; H-1'); 5,45-5,51 (m, 1H; H-2'); 5,24 (s, 2H; H-3); 6,91 (d, 1H; $J = 2,1$ Hz; H-4); 7,03 (dd, 1H, $J = 8,4$; $J = 2,1$ Hz; H-6); 7,79 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 18,5 (C-4'); 26,1 (C-3'); 65,7 (C-1'); 69,4 (C-3); 106,9 (C-4); 117,3 (C-6); 118,0 (C-8); 118,7 (C-2'); 127,4 (C-7); 139,7 (C-3); 149,6 (C-9); 164,2 (C-5); 171,2 (C-1).

EM, m/z (%): 151 (25); 121 (16); 92 (6); 70 (10); 69 (100); 53(18); 41(96).

2.2.2.11. Síntese da 5-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**52**)



(**52**)

A um balão bitubulado, sob atmosfera de hidrogênio, foram adicionados o composto **51** (50,0 mg; 0,229 mmol), tetraidrofurano (5,00 mL) e Pd/C (12,0 mg). A mistura reagente foi agitada à temperatura ambiente (sob atmosfera de hidrogênio) por 18 horas. Após esse período, a análise da mistura por cromatografia em camada delgada mostrou que o material de partida **51** havia sido completamente consumido. A mistura reagente foi, então, filtrada através de uma camada de celite e lavada com acetona. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente uma mistura de hexano-acetato de etila (5:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção de **51** com 76% de rendimento (38,0 mg; 0,173 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,30$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

T_f = 58,7 – 59,4 °C.

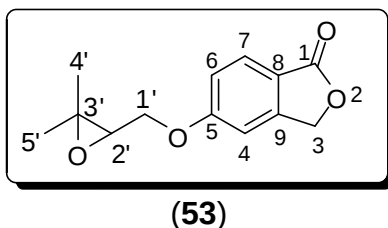
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3076, 2957, 2938, 2873, 1750, 1605, 1491, 1356, 1333, 1266, 1157, 1096, 1041, 1001, 979, 772 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0,82 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz; H-4'e H-5'); 1,70 (q, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-2'); 1,77-1,90 (m, 1H; H-3'); 7,78 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz; H-7); 4,01 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-1'); 5,23 (s, 2H; H-3); 6,89 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz; H-4); 7,01 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz, $J = 2,1$ Hz; H-6); 7,78 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,8 (C-4'/C-5'); 25,2 (C-3'); 37,9 (C-2'); 67,3 (C-1'); 69,4 (C-3); 106,6 (C-4); 117,1 (C-6); 117,9 (C-8); 127,4 (C-7); 149,6 (C-9); 164,5 (C-5); 171, 2 (C-1).

EM, m/z (%): 220 ($[\text{M}]^+$, 12); 151 (19); 121 (21); 92 (8); 71 (25); 55 (21); 43 (100); 41 (45).

2.2.2.12. Síntese da 5-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**53**)



Um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, foram adicionados o alceno **51** (100 mg, 0,458 mmol) e 2 mL de cloreto de metileno. A mistura foi resfriada em banho de gelo e em seguida ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) (124,0 mg; 0,72 mmol), dissolvido em 2 mL de cloreto de metileno, foi adicionado gota a gota e a reação foi mantida sob

agitação por 6 horas a 0 °C. O excesso de *m*-CPBA foi removido com a adição de solução 10% (m/v) de sulfito de sódio. A fase aquosa resultante foi extraída com CH₂Cl₂, (3x15 ml). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando como eluente hexano:acetato de etila (2:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção de **53** com 69% de rendimento (74 mg; 0,32 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,42 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f = 78,5 – 80,6 °C.

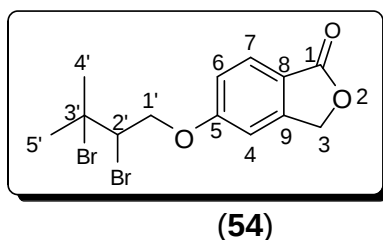
IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2995, 2972, 2932, 1745, 1631, 1493, 1455, 1333, 1326, 1277, 1208, 1174, 1050, 1013, 989, 919, 867, 545 cm⁻¹.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,37 e 1,40 (dois simpletos cada um integrado para 3H; H-4'e H-5'); 3,15 (dd, 1H, *J* = 6,3 Hz; *J* = 4,2 Hz; H-2'); 4,10 (dd, 1H, *J* = 11,1; *J* = 6,3 Hz; H-1'a); 4,29 (dd, 1H, *J* = 11,1; *J* = 4,2 Hz; H-1'b), 5,25 (s, 2H; H-3); 6,98 (sl, 1H; H-4); 7,07 (dd, 1H, *J* = 8,4 Hz; *J* = 2,4 Hz; H-6); 7,82 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz; H-7).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 19,3 (C-5'); 24,8 (C-4'); 58,6 (C-3'); 61,2 (C-2'); 68,1 (C-3); 69,4 (C-1'); 107,0 (C-4); 117,3 (C-6); 118,7 (C-8); 127,5 (C-7); 149,6 (C-9); 163,8 (C-5); 171,0 (C-1).

EM, *m/z* (%): 234 ([M]⁺, 2); 164 (9); 149 (1); 135 (5); 119 (1); 103 (2); 91 (1); 71 (27); 51 (3); 43 (100).

2.2.2.13. Síntese da 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**54**)



A um balão bitubulado contendo uma barra de agitação magnética e sob atmosfera de nitrogênio foi carregado com a substância **51** (48,0 mg; 0,220 mmol) e 3,0 mL de CCl₄. A esta mistura adicionou-se, gota a gota, bromo dissolvido em CCl₄ até que uma coloração vermelha permanente fosse observada. O consumo total da substância **51** foi verificado por CCD. O excesso de bromo foi removido purgando-se a mistura com nitrogênio, sendo a mistura restante concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v). O procedimento descrito resultou na obtenção de **54** com 72% de rendimento (59,5 mg; 0,158 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,36 (hexano-acetato 5:1 v/v).

T_f = 88,5 – 89,6 °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2977; 2933; 2876; 1748; 1606; 1488; 1451; 1355; 1331; 1257; 1156; 1096; 1001; 845; 771; 735 cm⁻¹.

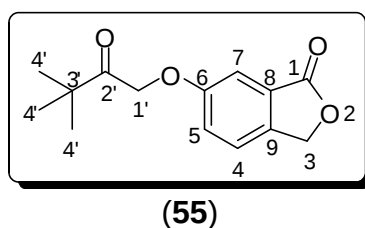
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,90 e 2,04 (dois simpletos cada um integrado para 3H; H-4' e H-5'); 4,44 (dd, 1H, *J* = 10,5 Hz; *J* = 8,1; H-1'a), 4,54 (dd, 1H, *J* = 8,1; *J* = 2,4 Hz; H-2'), 4,92 (dd, 1H, *J* = 10,5; *J* = 2,4 Hz; H-

1'b), 5,26 (s, 2H); 6,99 (sl, 1H; H-4); 7,09 (dd, 1H, $J = 9,0$; $J = 3,0$ Hz; H-6); 7,84 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 29,8 e 35,4 (C-4' e C-5'); 60,8 (C-2'); 65,0 (C-3'); 69,4 (C-3); 72,4 (C-1'); 107,3 (C-4); 117,3 (C-6); 119,0 (C-8); 127,7 (C-7); 149,6 (C-9); 163,2 (C-5); 170,9 (C-1).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO: Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{Br}_2\text{O}_3$: 376,9382; 378,9363; 380,9344; encontrado: 376,9367; 378,9354; 380,9330.

2.2.2.14. Síntese da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**55**)



A um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, conectado a um condensador de Liebig e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a substância **41** (100 mg; 0,67 mmol), K_2CO_3 (370 mg; 2,74 mmol) anidro e 5 mL de acetona anidra. A mistura resultante foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 2 h. Decorrido este período, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e procedeu-se à adição de 1-bromo-3,3-dimetilbutan-2-ona (358,0 mg; 2,01 mmol), dissolvido em 2 mL de acetona anidra, gota a gota. Após esta adição, a mistura foi mantida sob refluxo por 18 horas quando se observou por meio da análise por CCD o término da reação. Adicionou-se à mistura 6 mL de água. A fase aquosa resultante foi extraída com diclorometano (3x25 mL). Os extratos obtidos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi

seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v), sendo a substância **55** obtida com 86% de rendimento (141,9 mg; 0,572 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,48$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

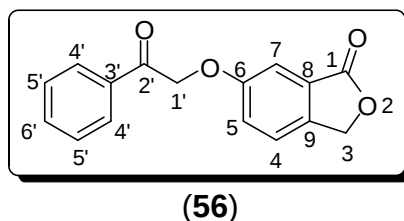
$T_f = 112,2 - 114,5^\circ \text{C}$.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2965, 2971, 2870, 1736, 1624, 1598, 1495, 1395, 1359, 1291, 1255, 1161, 1095, 1038, 991, 865, 770, 689 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,26 (s, 9H; H-4'); 4,99 (s, 2H; H-1'); 5,23 (s, 2H; H-3); 6,85 (sl, 1H; H-4); 6,98 (dd, $J = 8,4$; $J = 2,1$ Hz; H-6); 7,81 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 26,5 (C-4'); 43,5 (C-3'); 69,0 (C-3); 69,3 (C-1'); 107,4 (C-4); 116,8 (C-6); 119,0 (C-8); 127,6 (C-7); 149,4 (C-9); 163,3 (C-5); 170,9 (C-1); 208,7 (C-2).

2.2.2.15. Síntese da 6-(2-oxo-2-feniletoksi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**56**)



Um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, conectado a um condensador de Liebig e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a substância **41** (100 mg; 0,67 mmol), K_2CO_3 (370 mg; 2,74 mmol) anidro e 5 mL de acetona anidra. A mistura resultante foi mantida sob refluxo e

agitação magnética por 2 h. Decorrido este período, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e procedeu-se à adição da α -bromo acetofenona (398 mg; 2,01 mmol), dissolvida em 2 mL de acetona anidra, gota a gota. Após esta adição, a mistura foi mantida sob refluxo por 18 horas quando se observou por meio da análise por CCD o término da reação. Adicionou-se à mistura 6 mL de água e a fase aquosa resultante foi extraída com diclorometano (3x25 mL). Os extratos obtidos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v), sendo a substância **56** obtida com 73% de rendimento (130,2 mg; 0,485 mmol).

Característica: sólido branco.

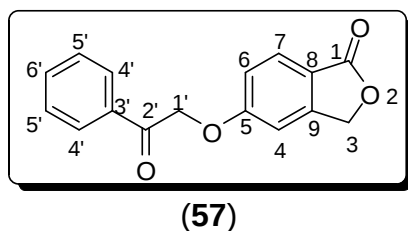
CCD: $R_f = 0,38$ (hexano-acetato de etila 3:1 v/v).

$T_f = 146,2 - 148,6^\circ \text{C}$.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3065, 2919, 2851, 1752, 1700, 1632, 1596, 1493, 1449, 1436, 1363, 1290, 1228, 1046, 993 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 5,24 (s, 2H; H-2'); 5,41 (s, 2H, H-3); (m, 8,17-8,30, 8H; Hidrogênios aromáticos).

2.2.2.16. Síntese da 5-(2-oxo-2-feniletoksi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**57**)



A um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, conectado a um condensador de Liebig e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a substância **50** (100 mg; 0,67 mmol), K₂CO₃ (370 mg; 2,74 mmol) anidro e 5 mL de acetona anidra. A mistura resultante foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 2 h. Decorrido este período, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e procedeu-se à adição da α -bromo acetofenona (398 mg; 2,01 mmol), dissolvido em 2 mL de acetona anidra, gota a gota. Após esta adição, a mistura foi mantida sob refluxo por 18 horas quando se observou por meio da análise por CCD o término da reação. Adicionou-se à mistura 6 mL de água. A fase aquosa resultante foi extraída com diclorometano (3x15 mL). Os extratos obtidos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v), sendo a substância **57** obtida em 82% de rendimento (146,60 mg; 0,547 mmol).

Característica: sólido amarelo palha.

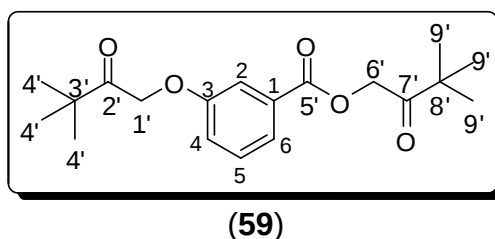
CCD: R_f = 0,29 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

T_f = 189,5 – 191,2 °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3065, 2918, 2850, 1752, 1700, 1632, 1596, 1493, 1449, 1363, 1228, 1046, 994 cm⁻¹.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 5,24 (s, 2H; H-2'); 5,43 (s, 2H; H-3); 8,00-6,93 (8,00, d, 2H, J = 7,2 Hz; 7,84, d, 1H, J = 8,4 Hz; 7,66, t, 1H, J = 7,2 Hz; 7,54, t, 2H, J = 7,8 Hz; 7,08, dd, 1H, J = 8,4, J = 2,1 Hz; 6,93, sl, 1H; Hidrogênios aromáticos).

2.2.2.17. Síntese do benzoato de 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutíla (**59**).



A um balão bitubulado, equipado com uma barra de agitação magnética, conectado a um condensador de Liebig e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a substância **41** (100 mg; 0,67 mmol), K_2CO_3 (370 mg; 2,74 mmol) anidro e 5 mL de acetona anidra. A mistura resultante foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 2 h. Decorrido este período, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e procedeu-se à adição de 1-bromo-3,3-dimetilbutan-2-ona (358,0 mg; 2,01 mmol), dissolvido em 2 mL de acetona anidra, gota a gota. Após esta adição, a mistura foi mantida sob refluxo por 18 horas quando se observou por meio da análise por CCD o término da reação. Adicionou-se à mistura 6 mL de água. A fase aquosa resultante foi extraída com diclorometano (3x25 mL). Os extratos obtidos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v), sendo a substância **59** obtida com 59% de rendimento (131,0 mg; 0,392 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,39$ (hexano-acetato de etila 3:1 v/v).

T_f = 189,2 – 191,3 °C.

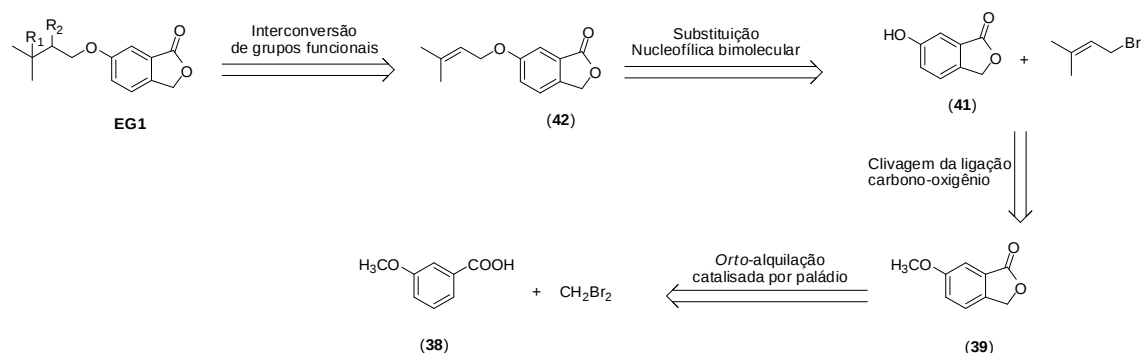
IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3066, 2907, 1753, 1701, 1597, 1493, 1450, 1436, 1363, 1291, 1229, 1079, 1046, 979, 753, 681, 535 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,23 e 1,25 (dois simpletos, 18H; H-4'e H-5'); 5,10 (s, 2H; H-6'); 5,21 (s, 2H; H-1'); 7,18 (ddd, 2H, $J = 8,4$; $J = 2,7$; $J = 0,9$ Hz; H-4); 7,40 (dd, 2H, $J = 8,4$; 7,8 Hz; H-5); 7,51 (dd, 2H, $J = 2,7$; 1,2 Hz; H-2), 7,65 (ddd, 2H, $J = 7,8$; $J = 2,4$; $J = 1,2$ Hz; H-6).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 25,4 e 25,3 (C-4' e C-9'); 42,7 e 42,9 (C-3'e C-8'); 65,4 e 68,8 (C-1' e C-6'); 114,9 (C-1); 120,2 (C-6); 122,4 (C-4); 129,5 (C-5); 131,0 (C-1); 158, 4 (C-3); 165,9 (C-5'); 208,6 e 211,0 (C-2' e C-7').

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Esquema 1 (p.60) mostra a análise retrossintética (COREY *et al.*, 1995) para a preparação de isobenzofuran-1(3*H*)-onas, funcionalizadas na posição 6 do anel aromático e apresentando a estrutura geral **EG1**.

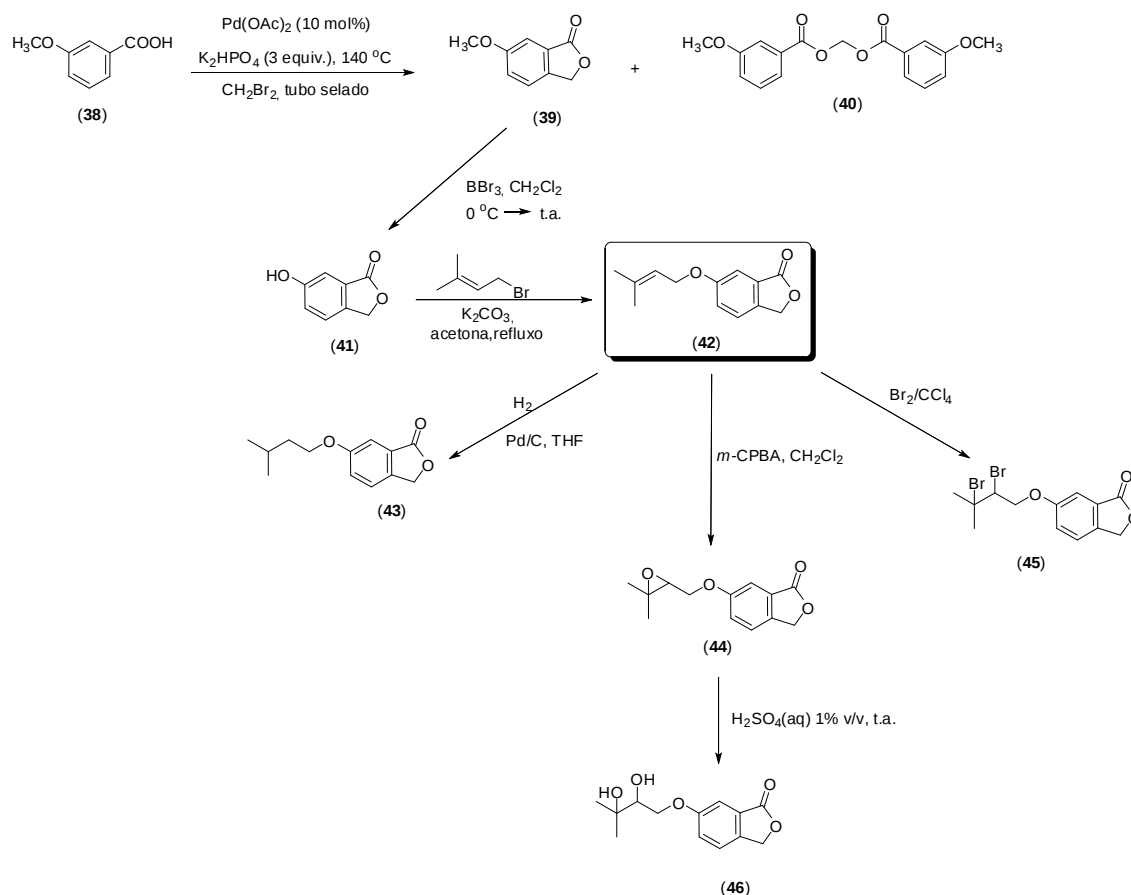


Esquema 1 – Análise retrossintética para a preparação de isobenzofuran-1(3*H*)-onas **EG1**.

De acordo com a retrossíntese, a preparação dos derivados **EG1** seria alcançada via funcionalização da ligação dupla da cadeia lateral de **42**. O processo de alquilação de **41** com 1-bromo-3-metilbut-2-eno resultaria na formação de **42**. A preparação de **41** seria realizada via desmetilação do

derivado metoxilado **39** que, por sua vez, seria sintetizado empregando-se uma reação de *orto*-alquilação do ácido 3-metoxibenzóico (**38**).

Com base na análise retrossintética mostrada anteriormente, as substâncias **39** a **46** foram preparadas segundo a sequência de reações mostrada no Esquema 2.



Esquema 2 – Sequência de reações utilizadas na preparação de **39-46**.

Assim, a reação de *orto*-alquilação, catalisada por $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, entre o ácido 3-metoxibenzóico (**38**) e o dibromometano (CH_2Br_2), na presença da base K_2HPO_4 (ZHANG *et al.*, 2009), resultou na obtenção da isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**39**) como um sólido branco com 59% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel.

No processo de caracterização de **39**, observou-se no espectro no infravermelho uma forte absorção em 1733 cm^{-1} (Figura 4, p.63) atribuída a presença do grupo carbonila na estrutura desta substância. A banda intensa em 1267 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação C-O. As bandas em 1600 e 1585 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos das ligações C=C de anel aromático. No espectro de RMN de ^1H (Figura 5, p.64), o multipeto observado em δ_{H} 7,38-7,22 e integrado para três átomos de hidrogênio, corresponde aos hidrogênios aromáticos de **39**. O sinal em δ_{H} 3,87 foi inequivocamente atribuído aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila ($-\text{OCH}_3$). O sinal para os hidrogênios benzílicos de **39** (H-3) foi observado como um simpleto em δ_{H} 5,26.

O sinal do grupo carbonila de **39** foi observado no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 6, p.65) em δ_{C} 171,4. O sinal em δ_{C} 160,8 corresponde ao átomo de carbono do anel aromático ligado diretamente ao grupo metoxila (C-6). Os outros sinais para os carbonos aromáticos foram observados em δ_{C} 139,1 (C-9); 127,3 (C-8); 123,3 e 123,1 (C-4 e C-5) e 107,7 (C-7). O sinal em δ_{C} 69,7 foi atribuído ao carbono benzílico (C-3) enquanto o sinal em δ_{C} em 56,0 corresponde ao carbono do grupo metoxila ($-\text{OCH}_3$) (FRESENIUS *et al.*, 1989).

O pico observado no espectro de massas de **39** em m/z 164 (Figura 7, p.66) é compatível com a fórmula molecular desta substância ($\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$).

A estrutura da isobenzofuran-1(3*H*)-ona **39** também foi investigada por difração de raios-X e a Figura 8 (p.67) contém a representação ORTEP de **39**.

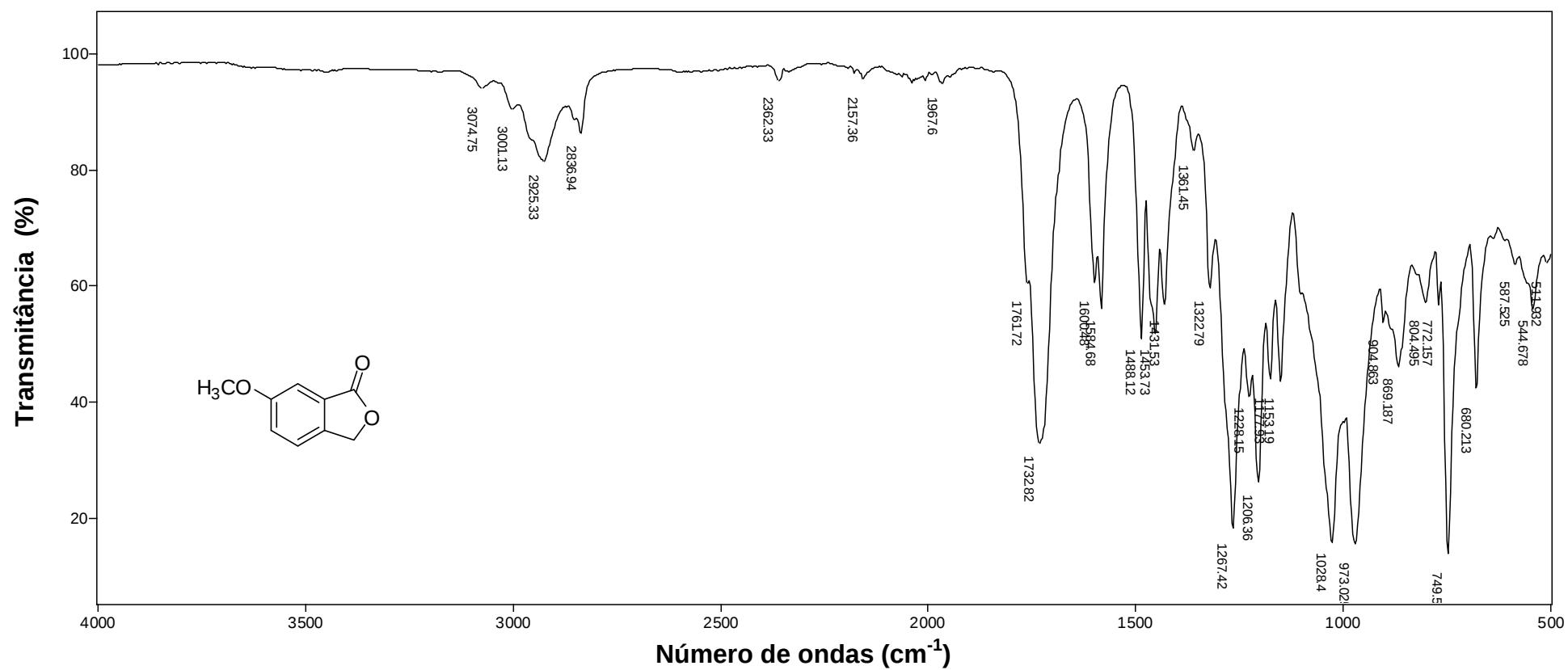


Figura 4 - Espectro no infravermelho (ATR) da 6-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (39).

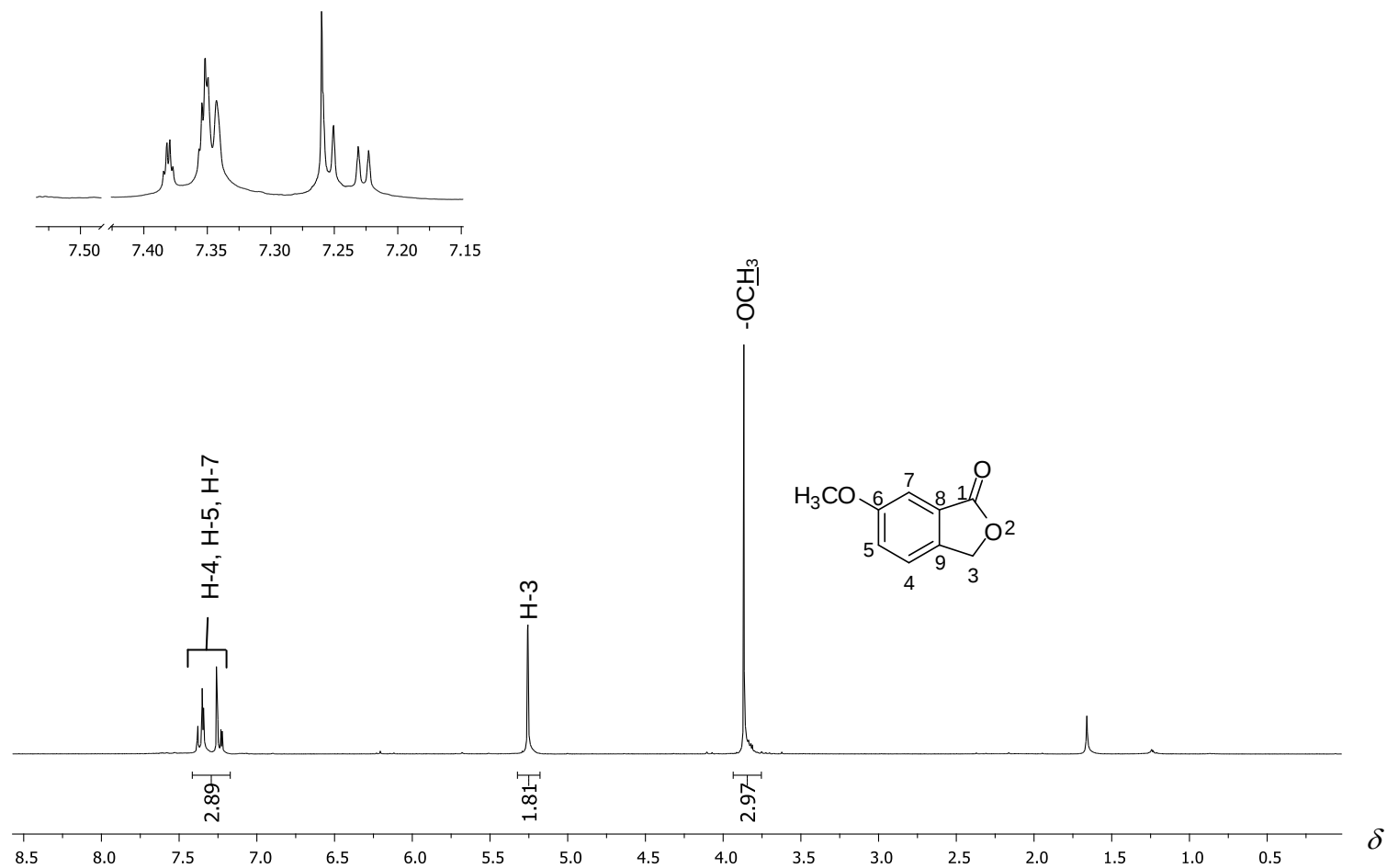


Figura 5 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 6-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**39**).

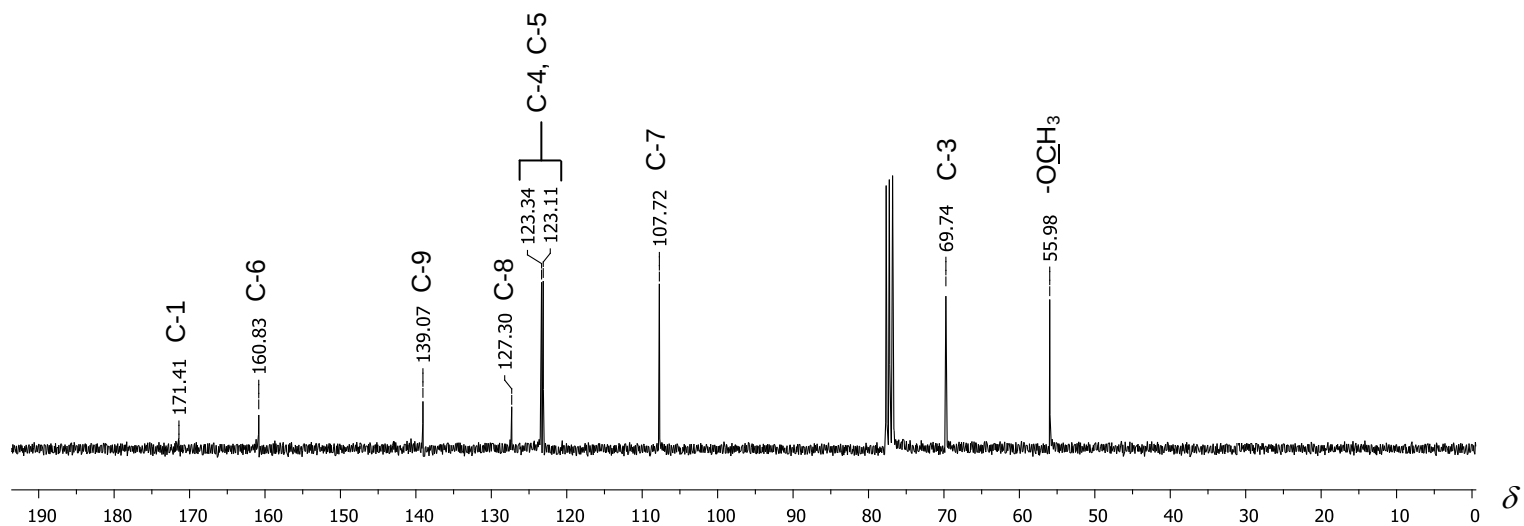
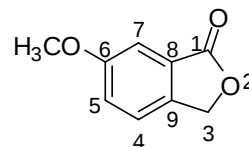
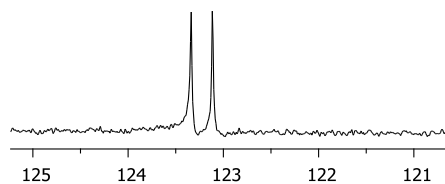


Figura 6 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 6-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (39).

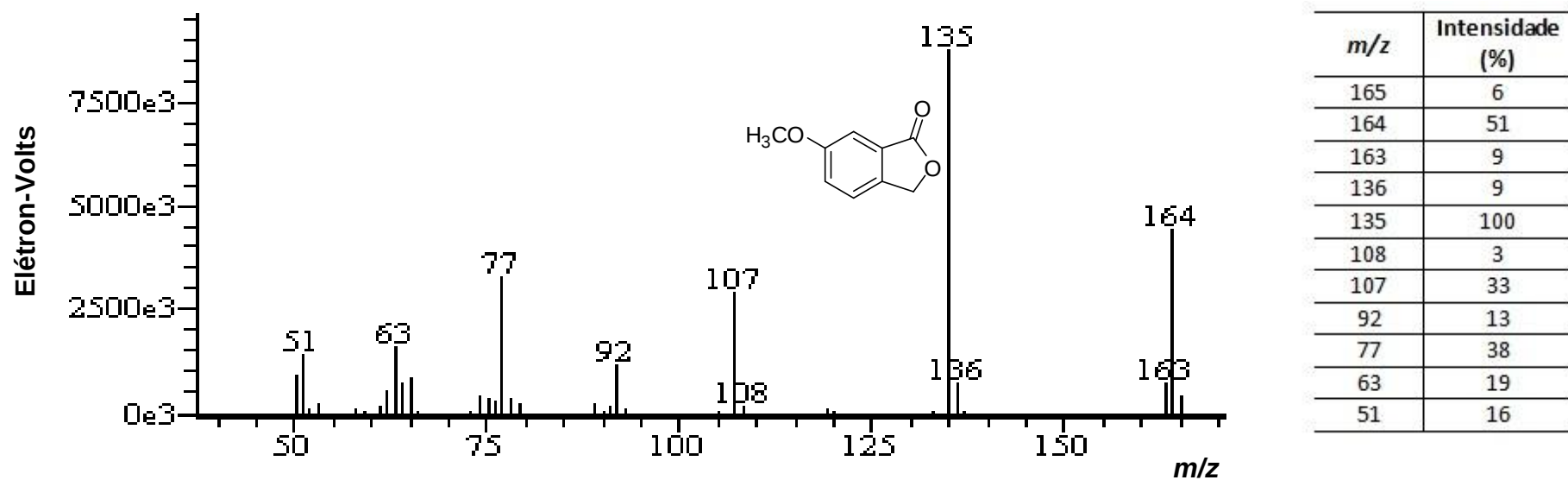


Figura 7 - Espectro de massas da 6-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**39**).

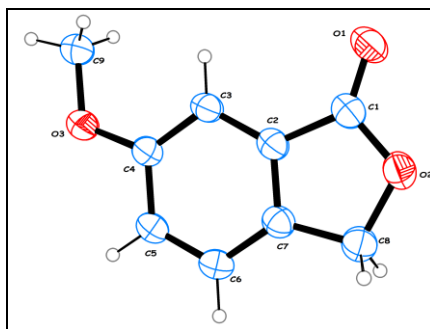


Figura 8 – Representação ORTEP-3 da substância **39**.

A substância **39** é planar e empacota no sistema monoclinico grupo espacial $P2_1/c$. A interação intermolecular $C9-H9\cdots O1$, entre duas moléculas relacionadas por um centro de inversão, leva à formação de dímeros que são mantidos por forças de van Der Waals (Figura 9).

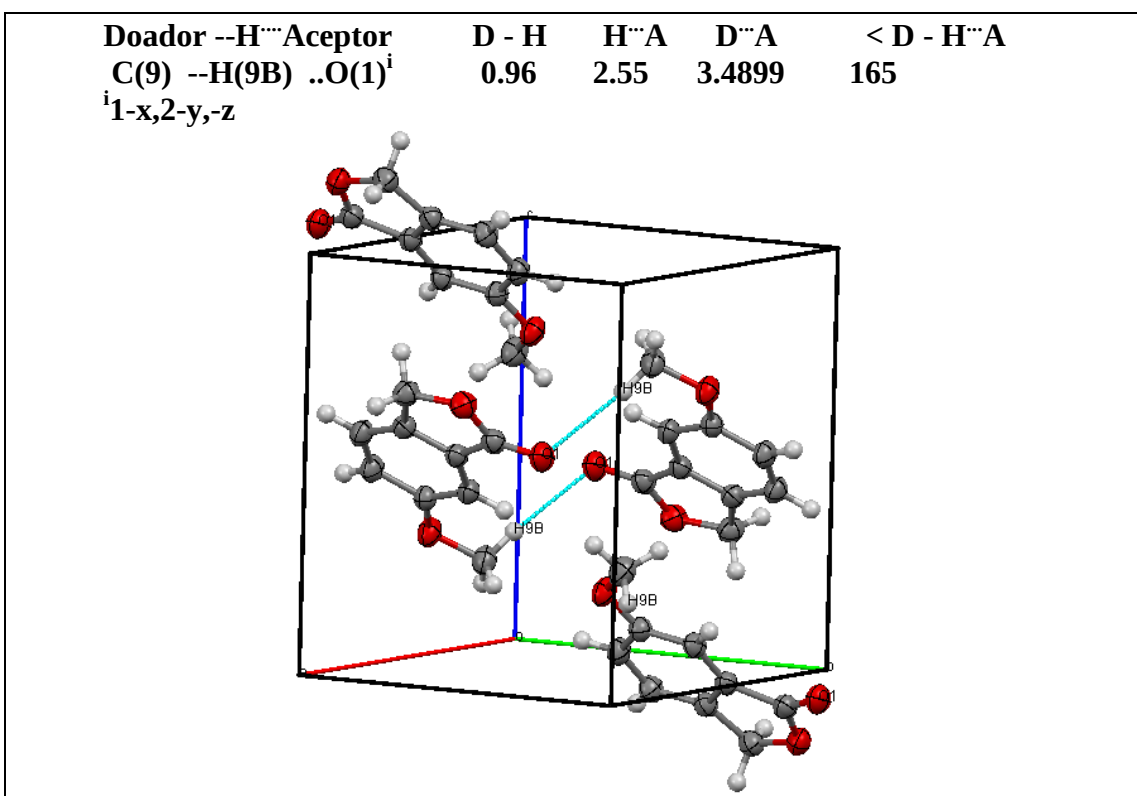


Figura 9 - Representação MERCURY da interação intermolecular presente no cristal do composto **39**.

Durante o processo de purificação de **39**, preparado segundo a reação de *orto* alquilação catalisada por acetato de paládio, foi isolado o *bis*-(3-

metoxibenzoato) de metileno (**40**), Esquema 2 (p.61). Considerando as condições da reação utilizadas para a síntese da substância **39**, o diéster **40** resulta do processo de substituição nucleofílica bimolecular entre dibromometano (CH_2Br_2) e o ácido 3-metoxibenzóico (**38**). O referido diéster foi obtido como um óleo amarelado com 9% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel. Os espectros no infravermelho, de RMN de ^1H e de ^{13}C e de massas, que foram utilizados para a caracterização estrutural de **40** estão apresentados nas Figuras 10, 11, 12 e 13 (p.69 a 72).

No espectro no infravermelho de **40** (Figura 10, p.69) foi observada uma banda intensa em 1731 cm^{-1} correspondente ao grupo carbonila. A banda em 1268 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação C-O. As bandas em 1601 cm^{-1} , 1586 cm^{-1} , 1488 cm^{-1} , 1465 cm^{-1} , 1453 cm^{-1} foram associadas aos estiramentos das ligações C=C do anel aromático.

No espectro de RMN de ^1H do diéster **40** (Figura 11, p.70), o sinal correspondente aos hidrogênios dos grupos metoxila foram observados como um simpleto em δ_{H} 3,84. Já o simpleto em δ_{H} 6,23, integrado para dois átomos de hidrogênio, foi atribuído aos átomos de hidrogênio do grupo metileno. Os sinais em 7,13 (ddd, 2H, $J = 8,1$; $J = 2,7$; $J = 0,9\text{ Hz}$; H-4); 7,35 (dd, 2H, $J = 8,1$; $J = 7,8\text{ Hz}$; H-5); 7,55 (dd, 2H, $J = 2,7$; $J = 0,9\text{ Hz}$; H-2), 7,69 (ddd, 2H, $J = 7,8$; $J = 2,7$; $J = 0,9\text{ Hz}$; H-6), correspondem a um padrão que é característico de anéis aromáticos 1,3-dissubstituídos.

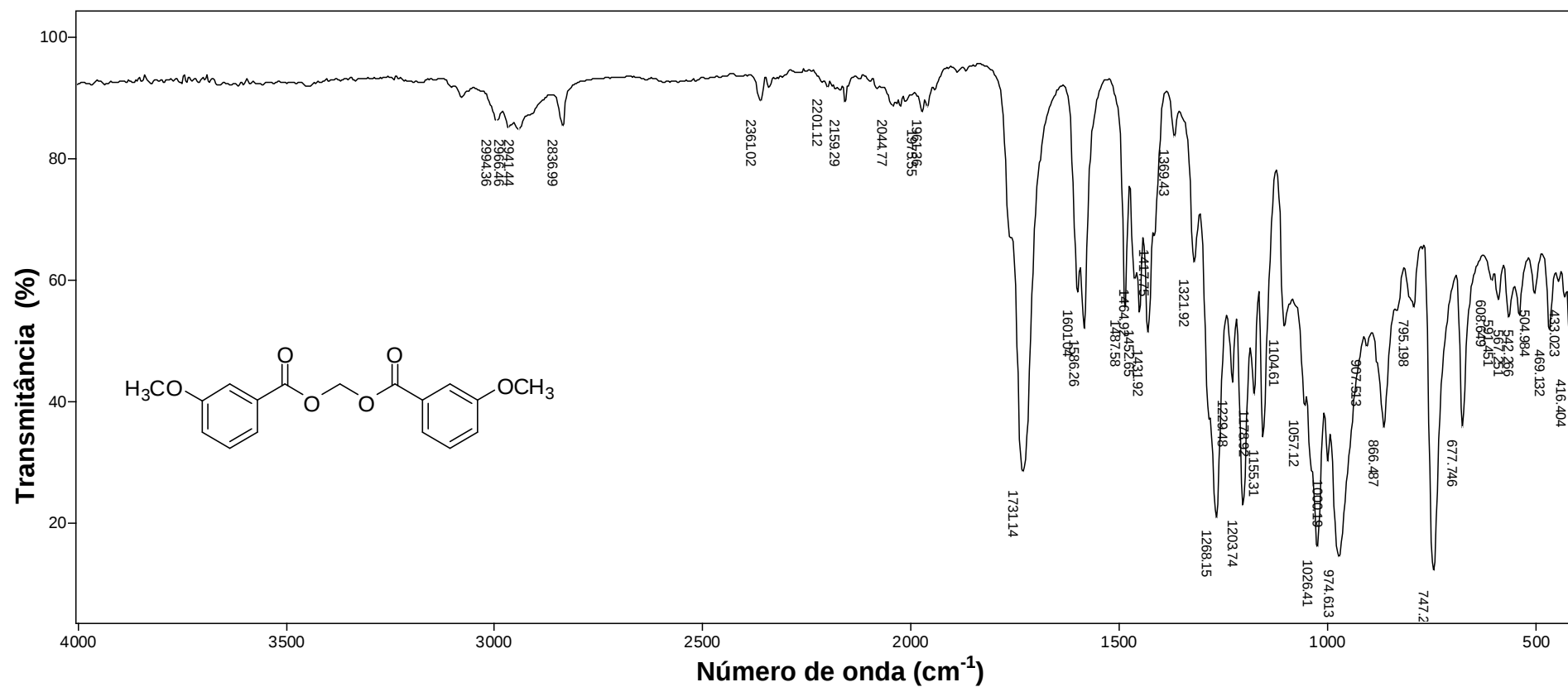


Figura 10 – Espectro no infravermelho (ATR) do *bis*-(3-metoxibenzoato) de metileno (**40**).

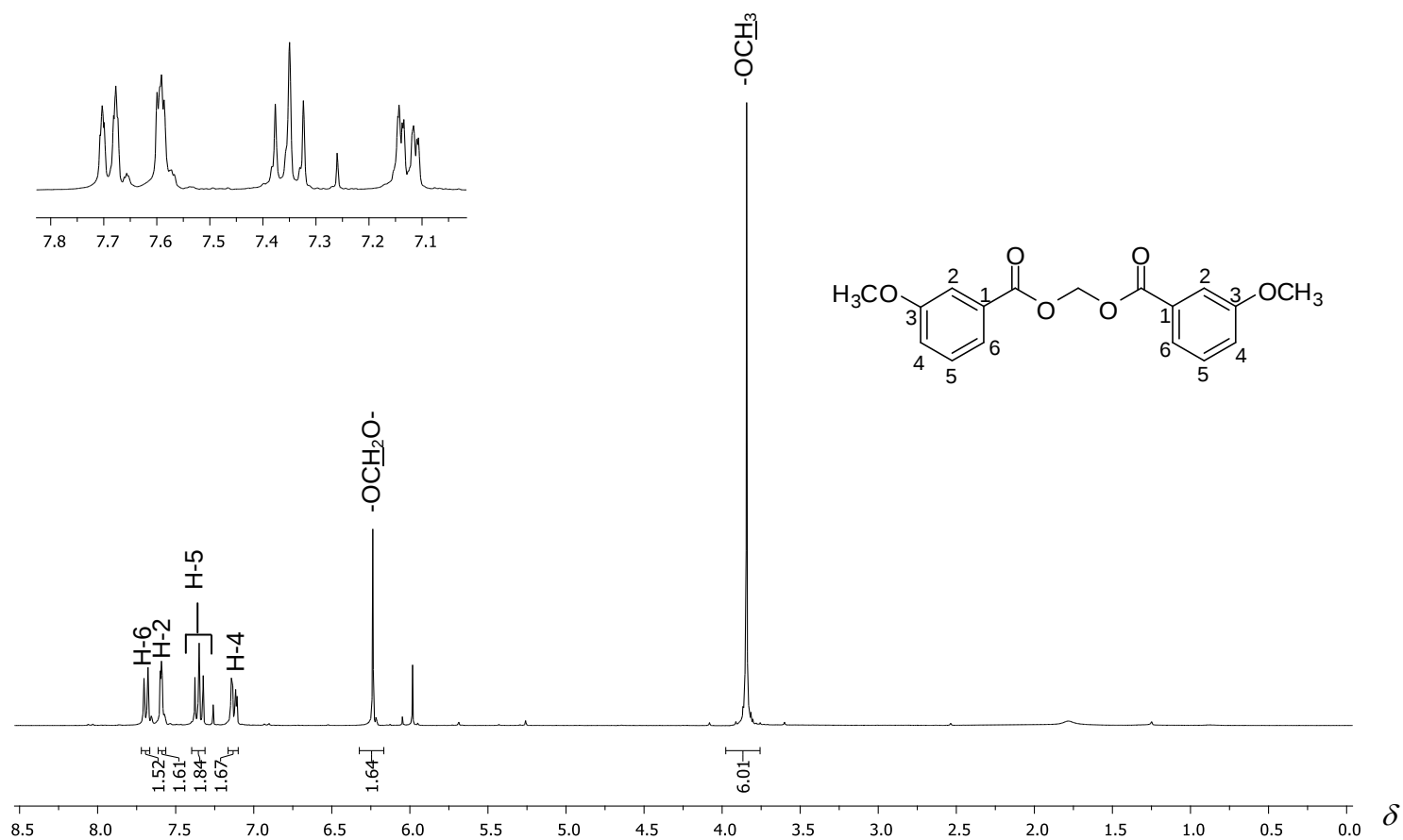


Figura 11 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do *bis*-(3-metoxibenzoato) de metileno (**40**).

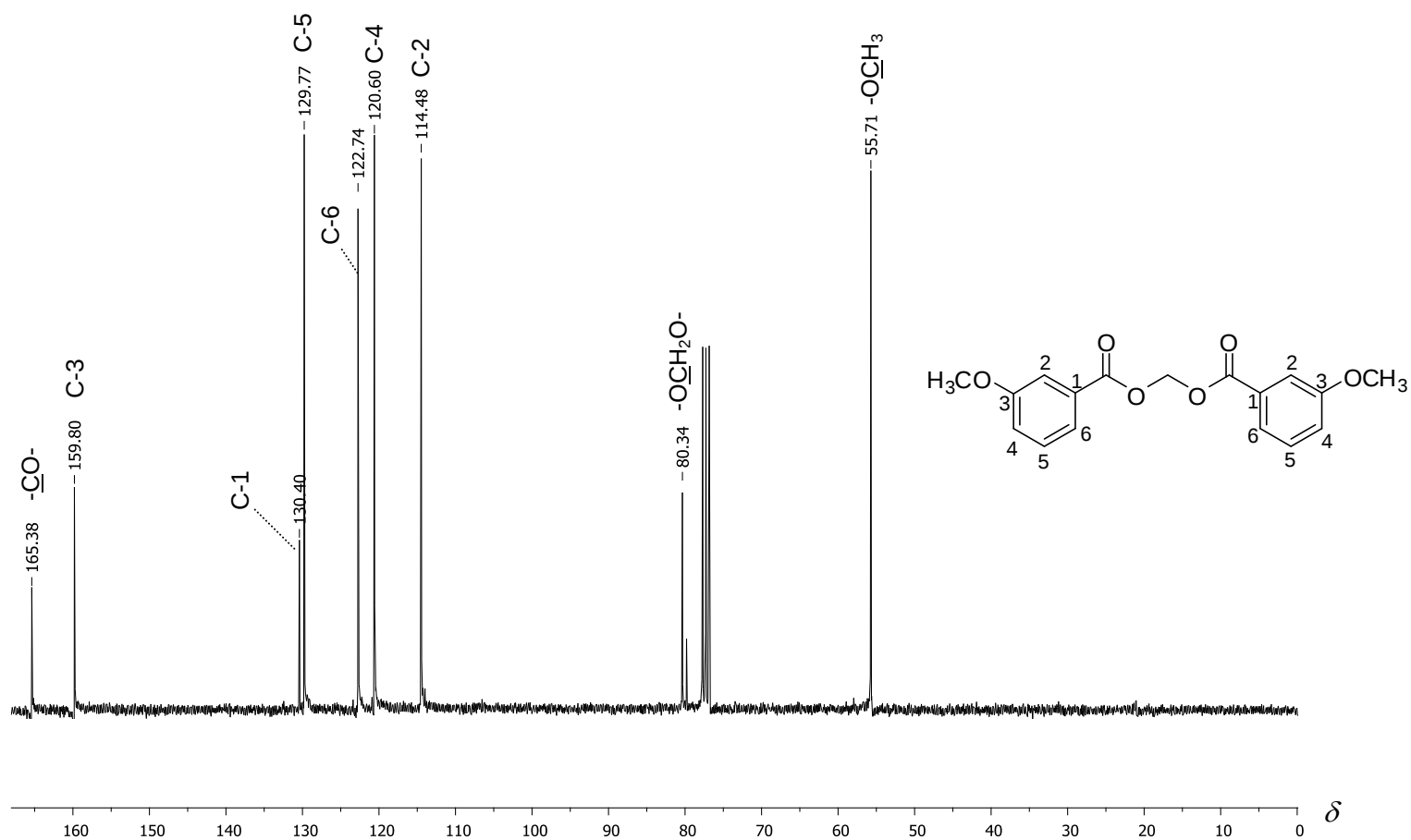


Figura 12 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do *bis*-(3-metoxibenzoato) de metileno (**40**).

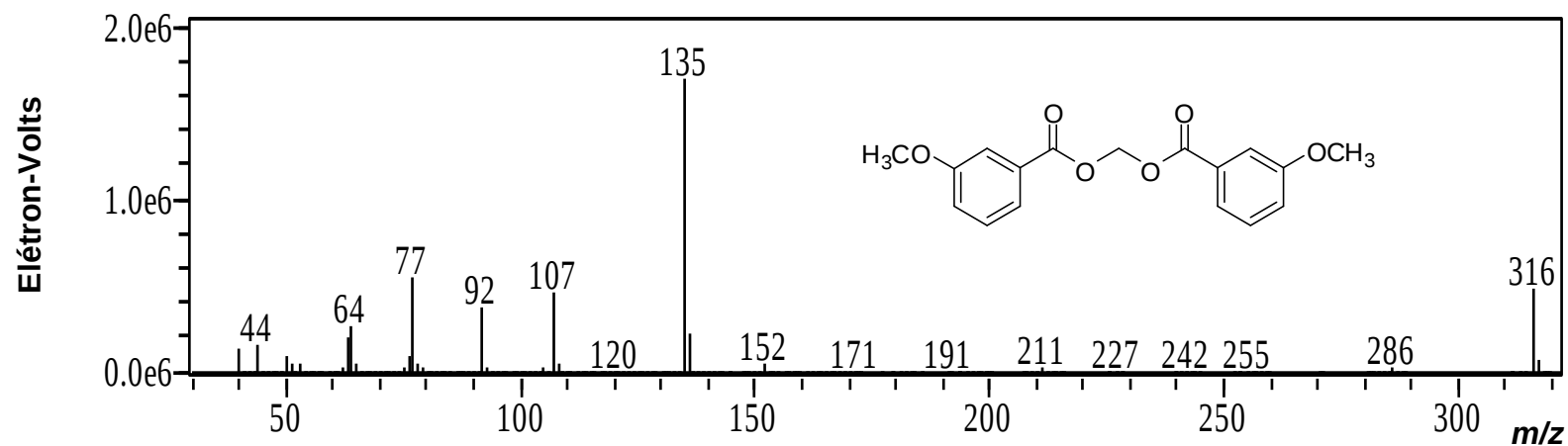
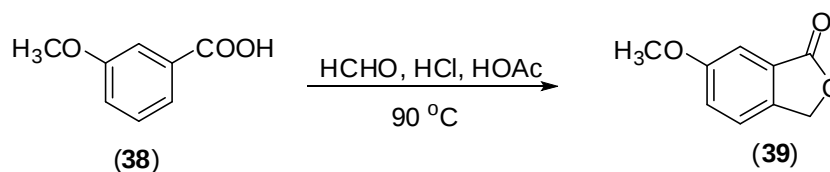


Figura 13 – Espectro de massas do *bis*-(3-metoxibenzoato) de metileno (**40**).

No espectro de RMN de ^{13}C da substância **40** (Figura 12, p.71), o sinal para os grupos carbonila foi observado em δ_{C} 165,4, enquanto que o sinal para o carbono metilênico foi observado em δ_{C} 80,3. O sinal para os grupos metoxila foi observado em δ_{C} 55,7. As atribuições para os carbonos aromáticos foram como se segue: 159,8 (C-3); 130,4 (C-1); 129,8 (C-5); 122,7 (C-6); 120,6 (C-4); 114,5 (C-2).

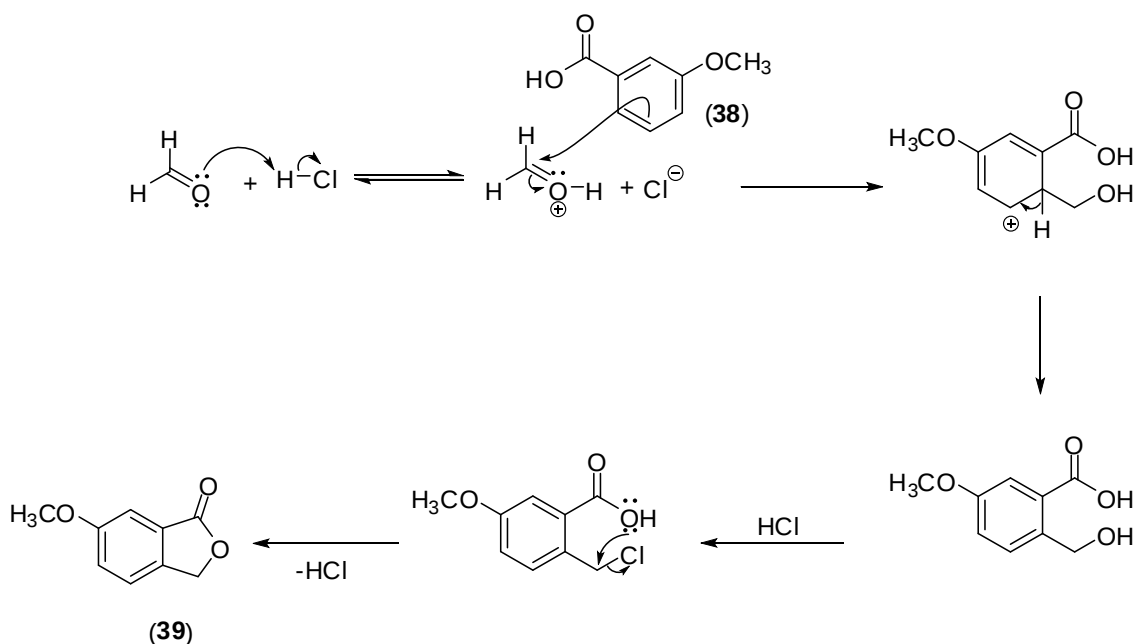
O pico observado no espectro de massas de **40** (Figura 13, p.72) em m/z 316 é compatível com a fórmula molecular desta substância ($\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_6$).

Um método alternativo, que forneceu melhores rendimentos (NAPOLETANO *et al.*, 2001), foi utilizado para a síntese da substância **39** (Esquema 3). Nesse caso, o tratamento do ácido **38** com solução aquosa de formaldeído 37% (m/m) e HCl concentrado resultou na obtenção de **39** em 71% de rendimento.



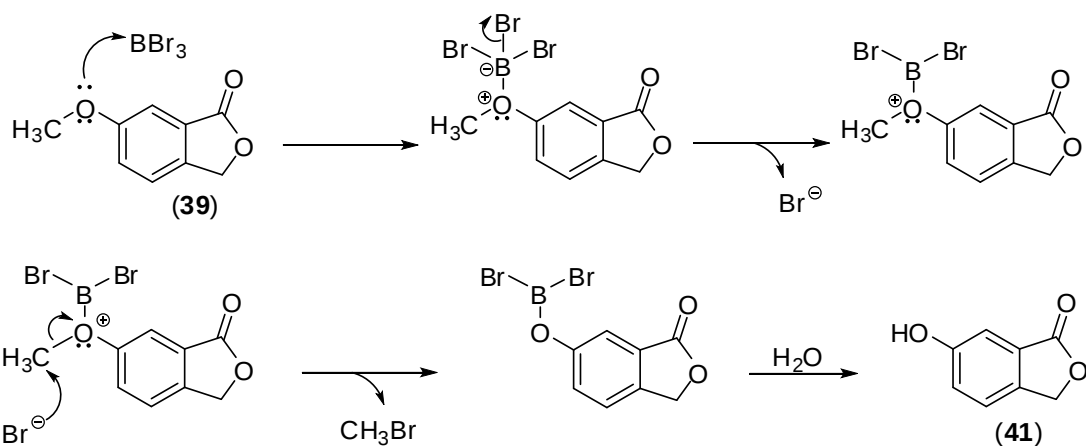
Esquema 3 – Método alternativo para a síntese de **39** a partir do ácido carboxílico **38**.

A formação de **39** a partir de **38** pode ser racionalizada considerando-se o processo de clorometilação do ácido carboxílico (CLAYDEN *et al.*, 2001a) seguido da reação intramolecular entre o grupo carboxila e o grupo clorometila, conforme mostrado no Esquema 4 (p.74).



Esquema 4 – Proposta mecanística para explicar a formação da isobenzofuran-1(3H)-ona **39** a partir do ácido carboxílico **38**.

O tratamento de **(39)** com BBr_3 resultou na formação do derivado hidroxilado **(41)** (JÜTTEN *et al.*, 2007). É importante destacar que o tribrometo de boro (BBr_3) é um dos reagentes mais efetivos para promover a clivagem de éteres. A conversão da fitalida **39** em **41** pode ser racionalizada de acordo com o mecanismo descrito no Esquema 5 (CLAYDEN *et al.*, 2001b).



Esquema 5 - Mecanismo para a formação de **41** a partir de **39**.

A análise do espectro no infravermelho de (**41**) mostrou a presença de uma banda larga em 3252 cm^{-1} correspondente ao estiramento do grupo hidroxila (Figura 14, p.76). Ainda com respeito ao espectro no IV, observou-se uma forte banda de estiramento do grupo carbonila (C=O) em 1726.

No espectro de RMN de ^1H os sinais para os átomos de hidrogênio aromáticos foram observados como um duplete, integrado para um átomo de hidrogênio em $\delta_{\text{H}} 7,39$ ($J = 9,0\text{ Hz}$; H-4) e um multiplete em $\delta_{\text{H}} 7,18\text{-}7,15$ integrado para dois átomos de hidrogênio (H-5 e H-7). O simpleto em $\delta_{\text{H}} 5,25$, integrado para dois átomos de hidrogênio, foi atribuído aos hidrogênios benzílicos (Figura 15, p.77).

A presença do grupo carbonila na estrutura da fitalida **41** também foi confirmada pela presença do sinal em $\delta_{\text{C}} 172,5$ no espectro de RMN de ^{13}C . O sinal em $\delta_{\text{C}} 70,1$ corresponde ao carbono benzílico. O sinal em $\delta_{\text{C}} 158,6$ está relacionado ao carbono aromático diretamente ligado ao grupo hidroxila (C-6). Os outros sinais observados no espectro foram atribuídos aos carbonos aromáticos restantes (Figura 16, p.78).

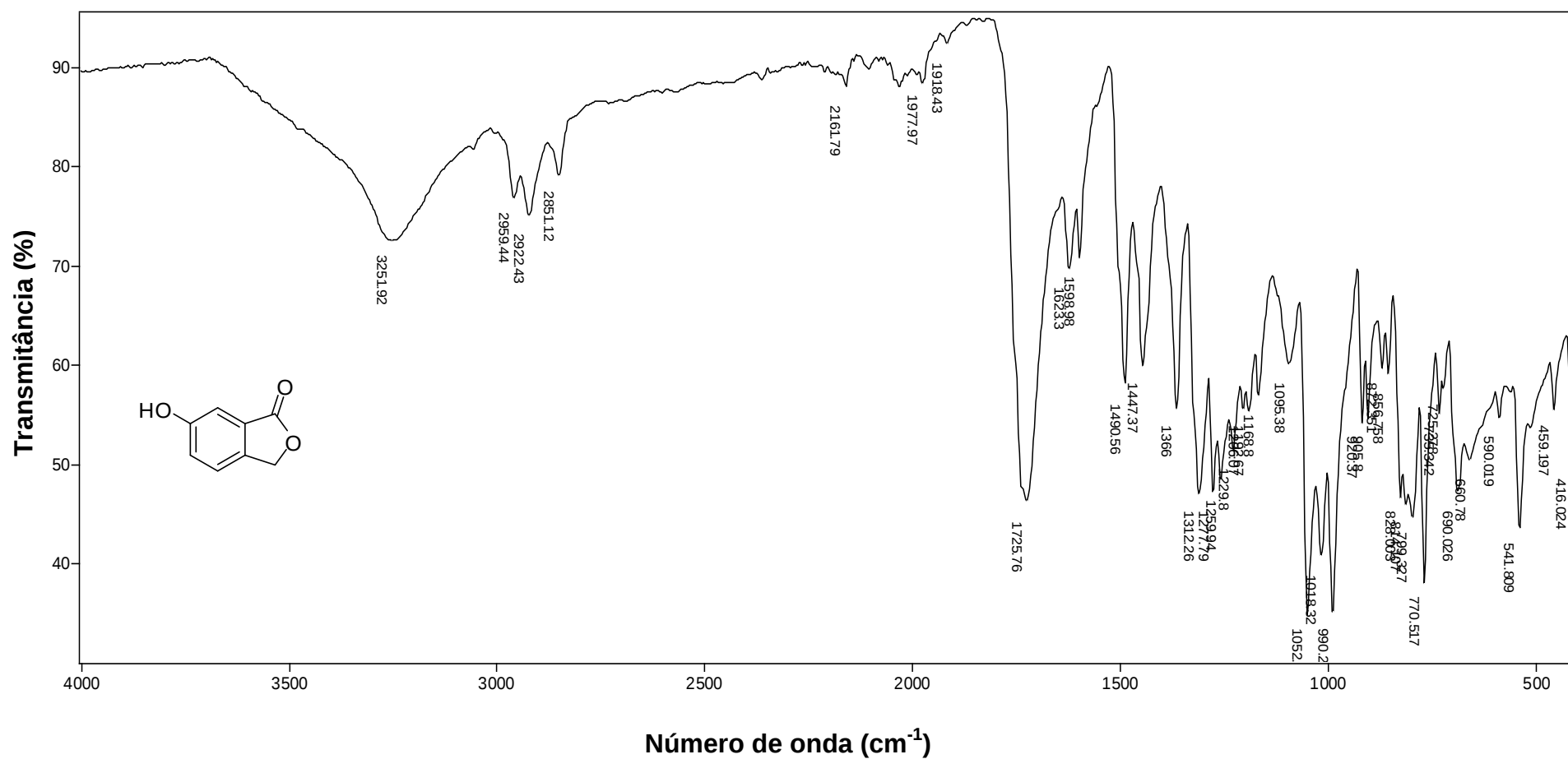


Figura 14 – Espectro no infravermelho (ATR) da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**41**).

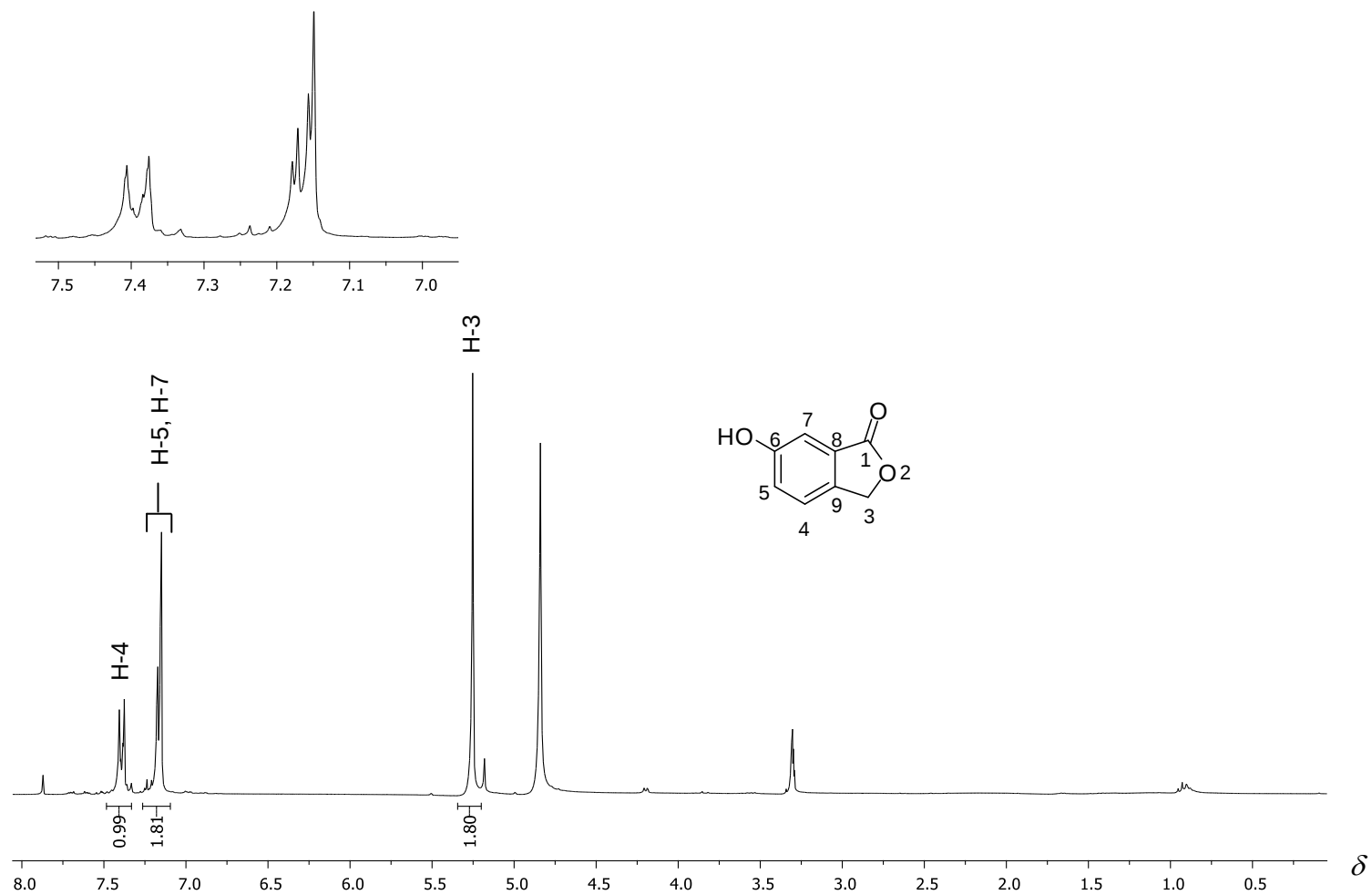


Figura 15 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**41**).

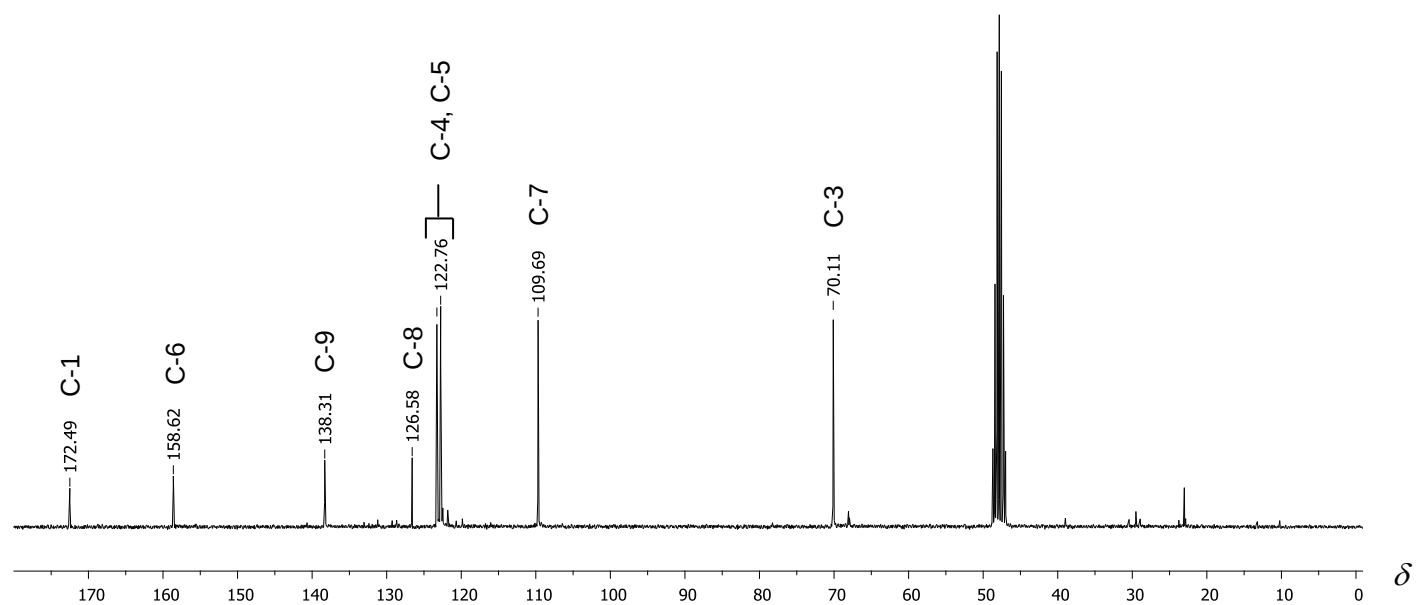
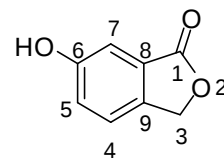
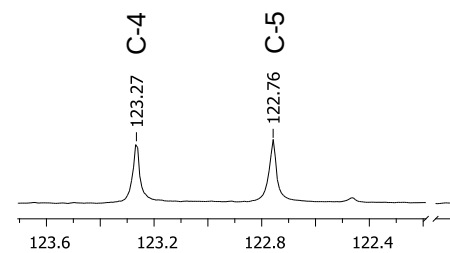


Figura 16 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**41**).

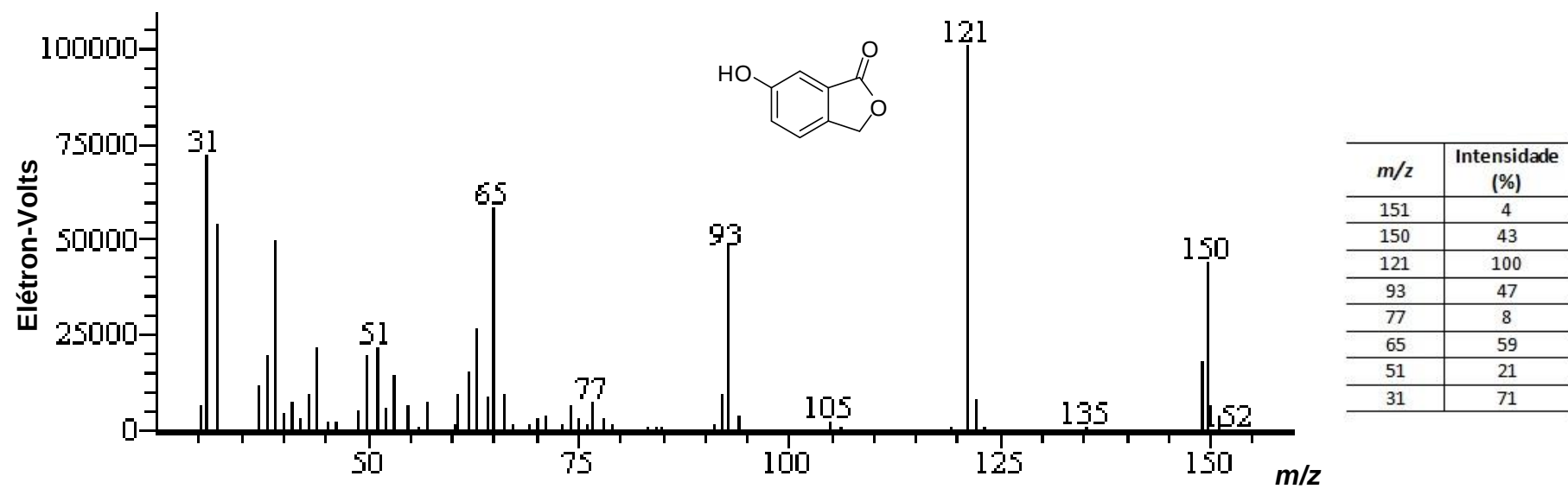


Figura 17 – Espectro de massas da 6-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**41**).

No espectro de massas de **41** (Figura 17, p.79), o pico do íon molecular foi observado em m/z 150 e confirma a fórmula molecular ($C_8H_6O_3$) da substância sintetizada. O composto **41** foi obtido como um sólido amarelo palha com 93% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel.

A estrutura da isobenzofuran-1(3*H*)-ona **41** foi ainda investigada por difração de raios-X e a Figura 18 contém sua representação ORTEP.

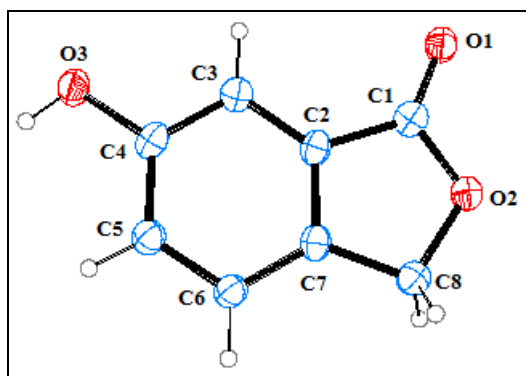


Figura 18 – Representação ORTEP da isobenzofuran-1-(3*H*)-ona (**41**).

O composto **41** possui estrutura planar e empacota no sistema monoclinico P_c . As interações intermoleculares $O3-H\cdots O1$ e $C5-H5\cdots O2$ formam redes bidimensionais nas direções $[110]$ e $[1 -1 0]$. Entre tais redes, há interações $C8-H8B \cdots O3$ (Figura 19, p.81). Entre duas redes paralelas há interações π - π ao longo do eixo cristalográfico b , envolvendo os anéis.

Doador --- H...Aceptor	D-H	H...A	D...A	<(DHA)
O(3) --H ..O(1) ⁱ	0.88	1.98	2.6994	138
C(5) --H(5) ..O(2) ⁱ	0.95	2.53	3.4486	164
C(8) --H(8B) ..O(3)	0.99	2.52	3.4254	152

ⁱ 1+x,1+y,z; ⁱⁱ -1+x,2-y,-1/2+z

Figura 19 - Representação MERCURY das interações presentes no cristal do composto **41**.

Tendo assegurado a preparação de **41**, procedeu-se à síntese da fitalida **42**, (Esquema 2, p.61) que foi obtida via reação de substituição nucleofílica entre **41** e o 1-bromo-3-metilbut-2-eno. O composto **42** foi obtido como um óleo amarelo com 76% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel.

A ausência de uma banda larga devida ao estiramento do grupo hidroxila (OH) no espectro no IV foi a primeira evidência que indicou a formação **42** a partir de **41** (Figura 20, p.83). A banda intensa observada em 1750 forneceu evidência para presença do grupo carbonila na estrutura de **42**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 21, p.84), os sinais de ressonância para os grupos metila (CH_3) foram observados como dois simpletos largos em δ_{H} 1,75 e δ_{H} 1,80. Os sinais para os hidrogênios aromáticos foram observados como um multipeto em δ_{H} 7,22-7,40. O sinal em δ_{H} 5,26, integrado para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios benzílicos do anel lactônico do núcleo isobenzofuranona. Salienta-se que este valor é similar aos deslocamentos químicos encontrados para os mesmos hidrogênios benzílicos dos compostos **39** e **41**. Observa-se também a presença de um multipeto em δ_{H} 5,52-5,45, integrado para um átomo de hidrogênio, que foi atribuído ao átomo H-2'. Finalmente, o dupeto em δ_{H} 4,58 ($J = 6,6 \text{ Hz}$) foi atribuído aos hidrogênios metilênicos ($-\text{CH}_2-$) da porção alifática da fitalida **42**. Cabe destacar que as atribuições dos sinais dos átomos de hidrogênio da porção alifática de **42** estão em acordo com dados descritos na literatura para a porção alifática da fitotoxina natural **25** (p.32) (DEMUNER *et al.*, 2006).

De maneira similar, os sinais para os átomos de carbono da porção alifática de **42** no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 22, p.85) foram atribuídos com base no trabalho de DEMUNER e colaboradores (2006). O sinal em δ_{C} 171,6 foi relacionado ao grupo carbonila, enquanto que os sinais em δ_{C} 65,6 e δ_{C} 69,8 foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos alílico (C-1') e benzílico (C-3).

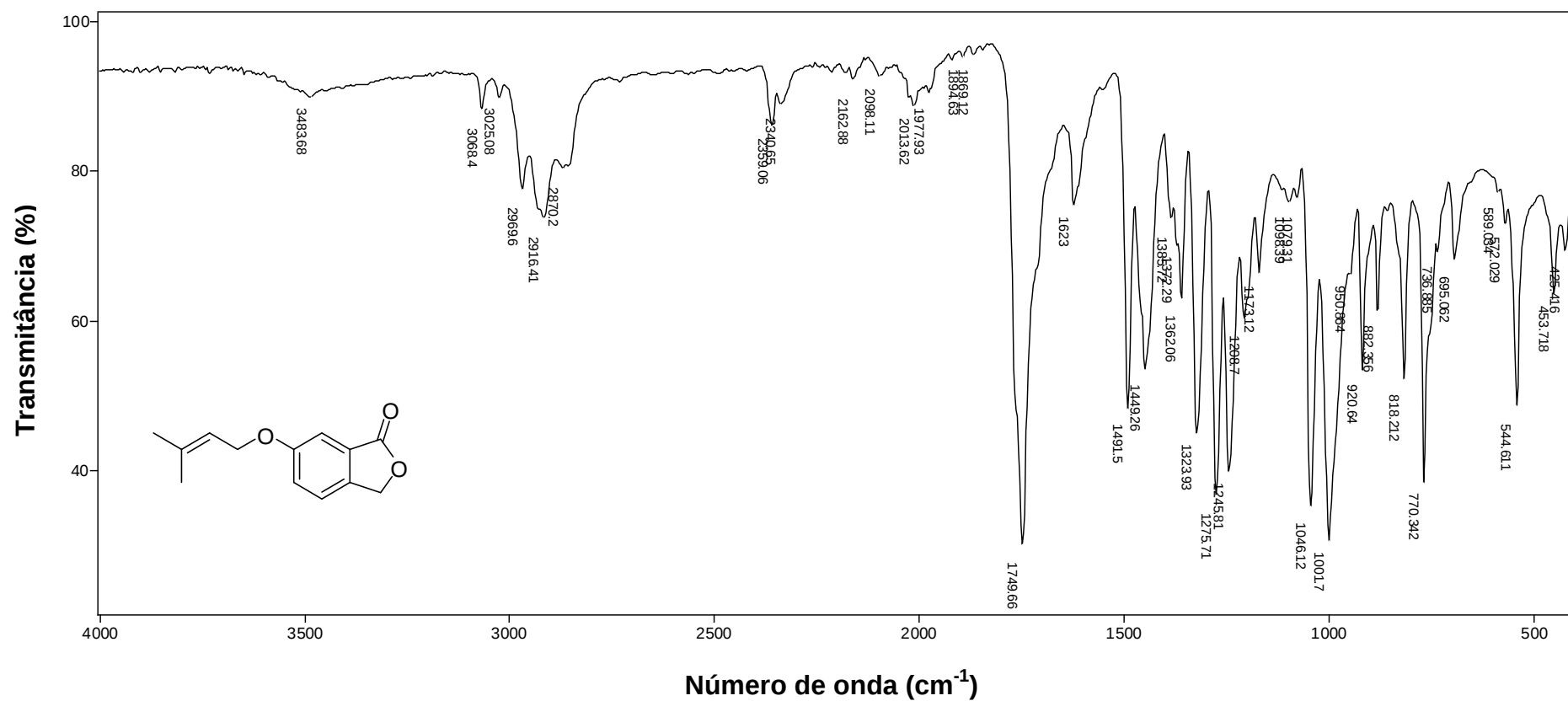


Figura 20 – Espectro no IV (ATR) da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (42).

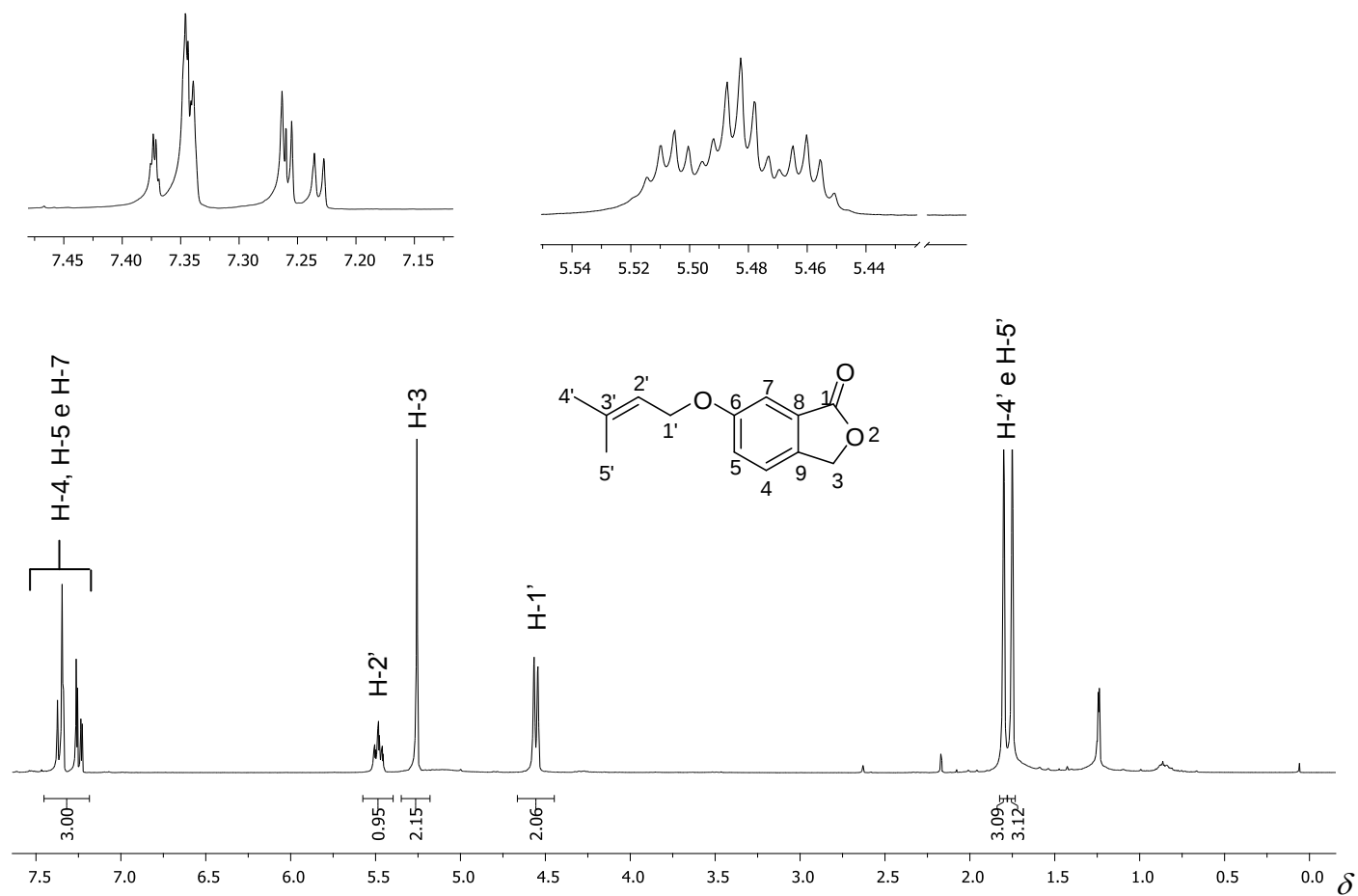


Figura 21 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 6-(3-metilbut-2-eniloxy)isobenzofuran-1(3H)-ona (**42**).

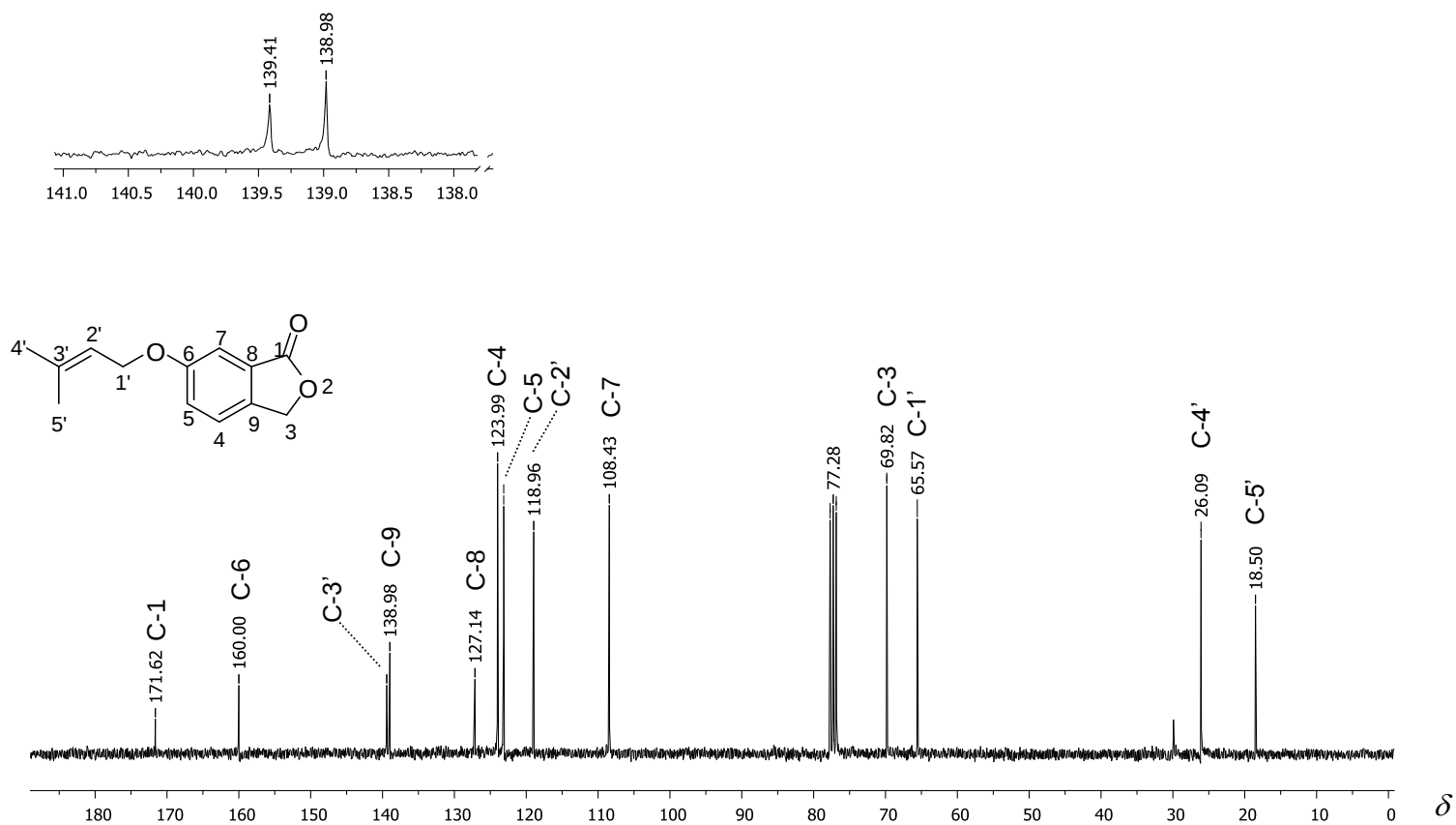


Figura 22 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (42).

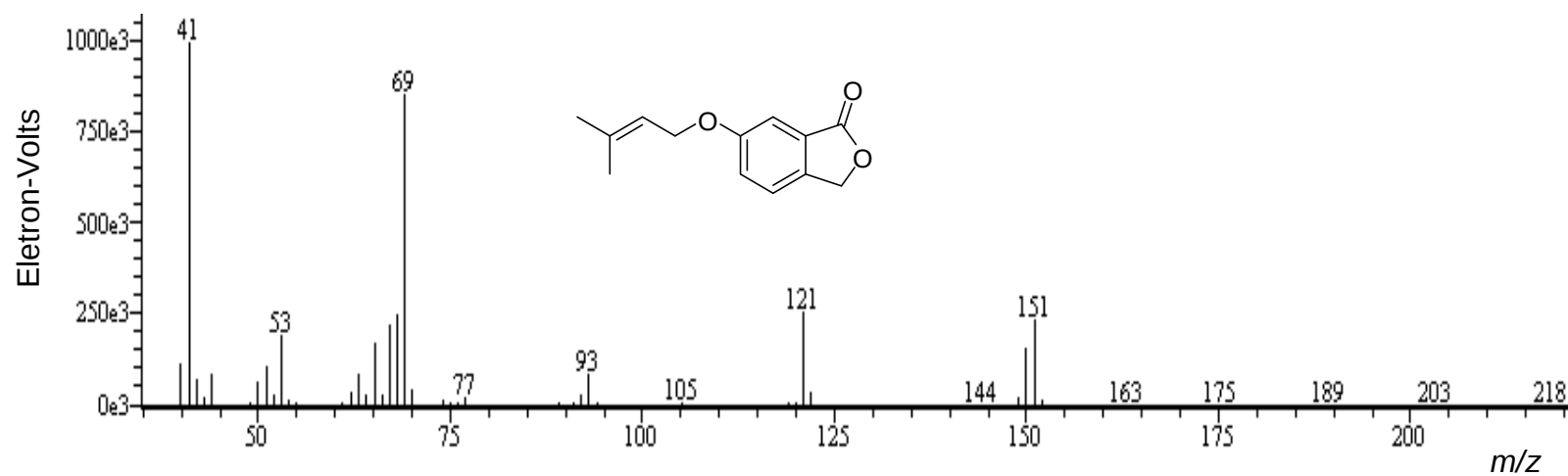
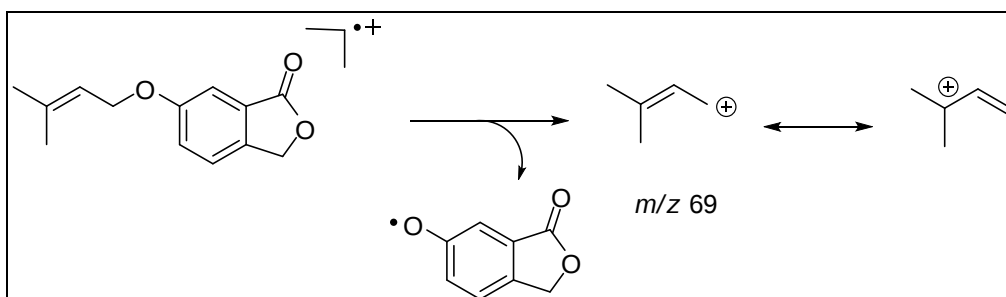


Figura 23 – Espectro de massas da 6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**42**).

No espectro de massas de **42** (Figura 23, p.86) o pico em m/z 218, de intensidade inferior a 1%, corresponde ao pico do íon molecular e confirma a fórmula molecular da substância ($C_{13}H_{14}O_3$). O pico em m/z 69 foi atribuído à fragmentação mostrada no Esquema 6. O pico em m/z 41 corresponde ao cátion $C_3H_5^+$, tipicamente observado em processos de fragmentação molecular de alcenos na espectrometria de massas. Este pico deve envolver rearranjos (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).



Esquema 6 – Processo de fragmentação de **42** resultando na formação do fragmento de m/z 69.

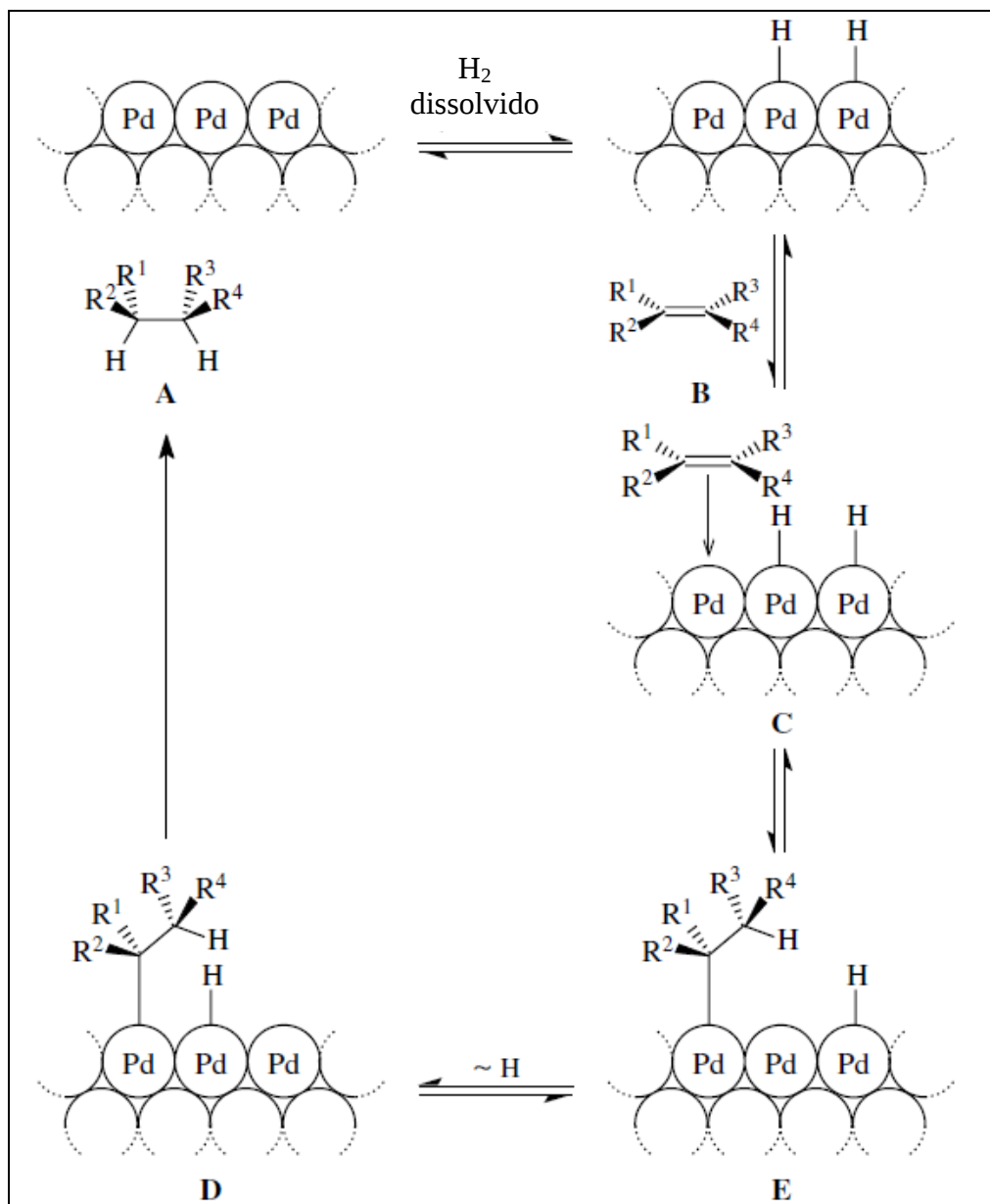
Conforme mostrado no Esquema 2 (p.61), a substância **42** correspondeu ao intermediário chave para a obtenção dos derivados **43-46**. Esses derivados foram preparados via reações de adição à dupla ligação do grupo 3-metilbut-2-eniloxi (grupo prenila). Assim, a hidrogenação catalisada por paládio, a epoxidação com *m*-CPBA e a bromação resultaram, respectivamente, nos derivados **43** (72% de rendimento), **44** (63% de rendimento) e **45** (44% de rendimento).

Conforme descrito anteriormente, observou-se no espectro de 1H -RMN da fitalida **42** um multiplete em δ_H 5,45-5,51 que foi atribuído ao átomo de hidrogênio H-2' da ligação dupla do grupo 3-metilbut-2-eniloxi (Figura 21, p.84). Considerando que a formação dos compostos **43**, **44** e **45** resulta de processos

de adição à dupla ligação do grupo alcóxila, não se observa a presença do referido multipeto nos espectros de ^1H -RMN dos compostos **43-45** (Figuras 24-26, p. 91-93).

No espectro de RMN de ^1H do derivado **43** (Figura 24, p.91), a presença dos sinais em δ_{H} 0,97 (d, 6H, $J = 6,3$ Hz; H-4' e H-5'); 1,71 (q, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-2''), 1,76-1,90 (m, 1H; H-3'); 4,04 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz; H-1') está em completo acordo com o que seria esperado para o produto da hidrogenação de **42** catalisada por paládio. O multipeto em δ_{H} 7,40-7,21 foi atribuído aos hidrogênios aromáticos (H-4, H-5 e H-7) enquanto que o simpleto em δ_{H} 5,25 foi associado ao H-3.

Conforme é bem documentado na literatura, a primeira etapa do processo do processo de hidrogenação de um alceno catalisado por paládio envolve a ligação do átomo de hidrogênio, que se encontra dissolvido na fase líquida na reação, à superfície do catalisador metálico; o mesmo ocorre para o alceno (indicado por **B** no Esquema 7 (p.89). No tocante ao alceno, essa ligação (interação entre a ligação π do alceno e a superfície do metal) é reversível. Eventualmente, o alceno está próximo a uma ligação H-metal, conforme mostrado em **C** (Esquema 7). Ocorre então um processo de hidropaladação do alceno, resultando no produto representado por **E**. A migração de um outro átomo de hidrogênio para um átomo de paládio vizinho àquele envolvido no processo de hidropaladação, leva à formação do intermediário **D**. Ocorre liberação do alceno a partir de **D** e o processo de adição ocorre de maneira *sin* (BRUCKNER, 2002).

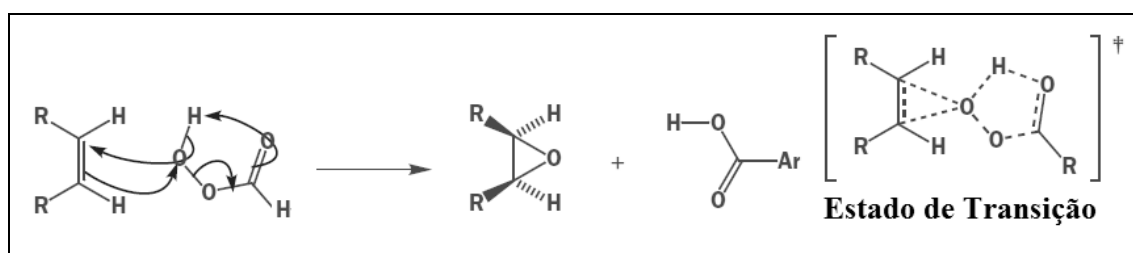


Esquema 7 - Etapas envolvidas na hidrogenação de um alceno catalisada por paládio.

No espectro de RMN de 1H do composto **44**, Figura 25 (p.92), observa-se um par de duplos dupletos, cada um integrado para um átomo de hidrogênio, em δ_H 4,04 ($J = 10,8$; $J = 6,3$ Hz; H-1'a) e em δ_H 4,25 ($J = 10,8$; $J = 3,9$ Hz; H-1'b) correspondentes aos hidrogênios diastereotópicos. Outro duplo duplete observado em δ_H 3,16 ($J = 6,3$; $J = 3,9$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio

H-2'. Atribuições similares foram descritas por Maes e colaboradores (2006) para o grupo 3,3-(dimetioxiran-2-il)metoxila. Os simpletos observados em δ_H 1,36 e δ_H 1,39 correspondem aos átomos de hidrogênio dos grupos metila (MAES *et al.*, 2006). O simpleto em δ_H 5,26 foi atribuído ao hidrogênio H-3 e os hidrogênios aromáticos foram observados como um multipeto em δ_H 7,25-7,35.

A epoxidação de um alceno com *m*-CPBA é o método em escala laboratorial mais empregado para a síntese de um epóxido. Do ponto de vista mecanístico, a reação ocorre via ataque do oxigênio eletrofílico do perácido sobre a ligação dupla do alceno e ocorre de maneira concertada conforme mostrado no Esquema 8 (CLAYDEN *et al.*, 2001c).



Fonte: Clayden *et al.*, 2001c.

Esquema 8 – Mecanismo para a epoxidação de um alceno.

Similarmente ao que foi descrito para a substância **44**, observou-se no espectro de RMN de 1H do composto **45** (Figura 26, p.93) um par de duplos dupletos, cada um deles integrado para um átomo de hidrogênio, em δ_H 4,41 ($J = 8,1$; $J = 10,5$ Hz) e em δ_H 4,91 ($J = 10,5$; $J = 2,4$ Hz) que foram atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos. O sinal em δ_H 4,55 (dd, 1H, $J = 8,1$; $J = 2,4$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-2'. Os grupos metila diastereotópicos foram observados como simpletos δ_H 1,90 e δ_H 2,04. O átomo de hidrogênio H-3 foi observado como um simpleto em δ_H 5,28 enquanto que os hidrogênios H-4, H-5 e H-7 foram observados como um multipeto em δ_H 7,28-7,45.

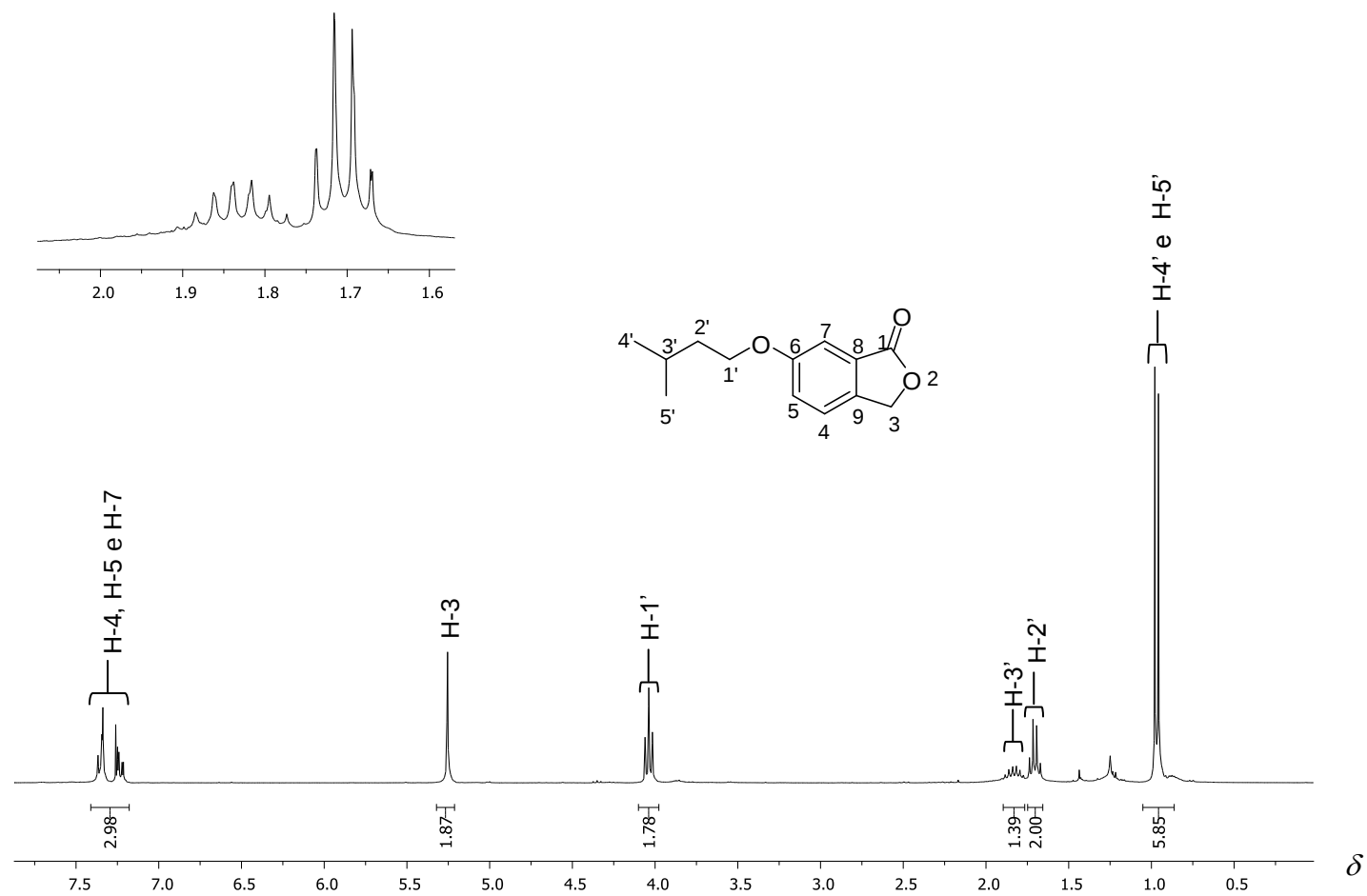


Figura 24 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (43).

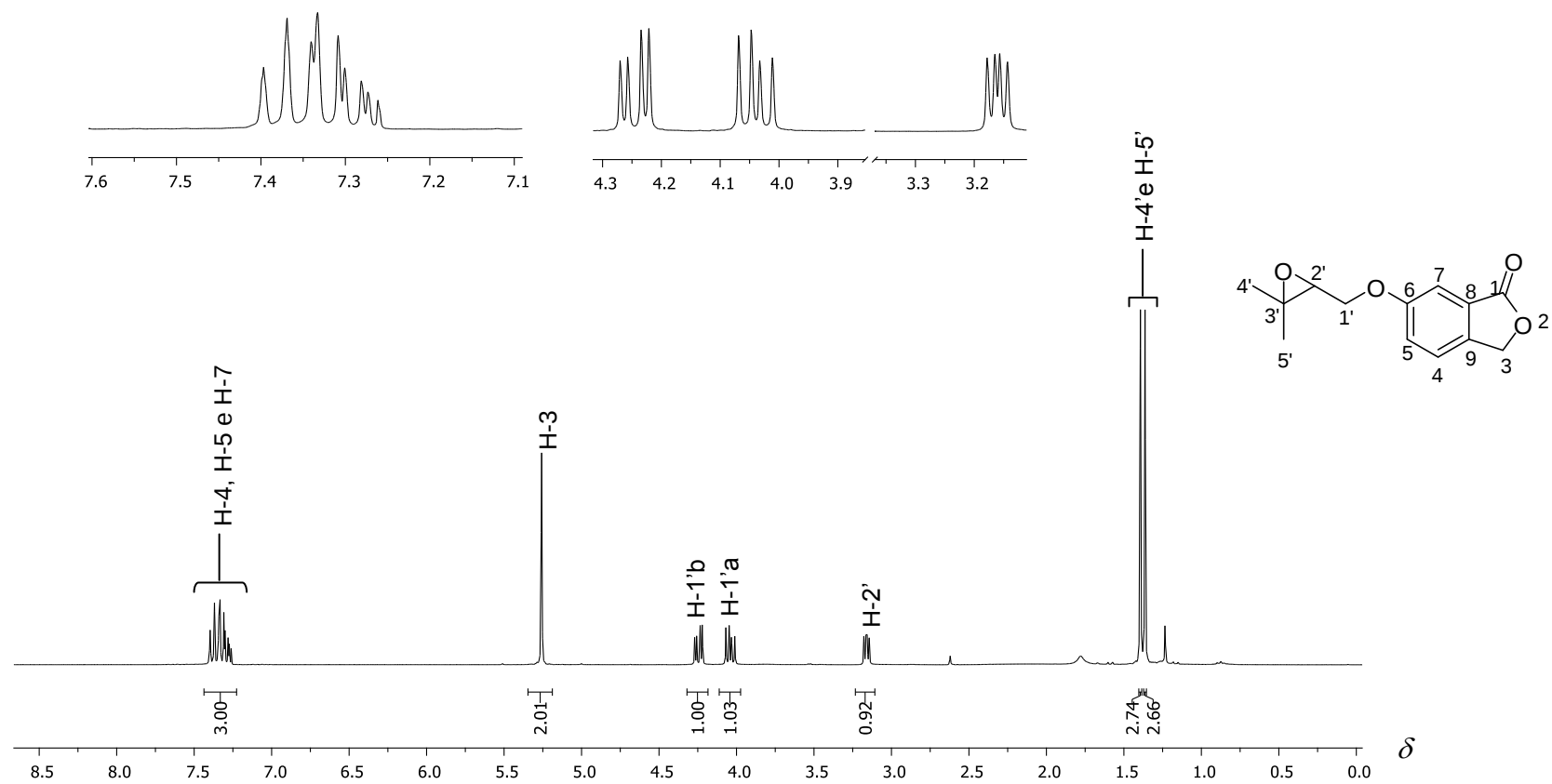


Figura 25 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**44**).

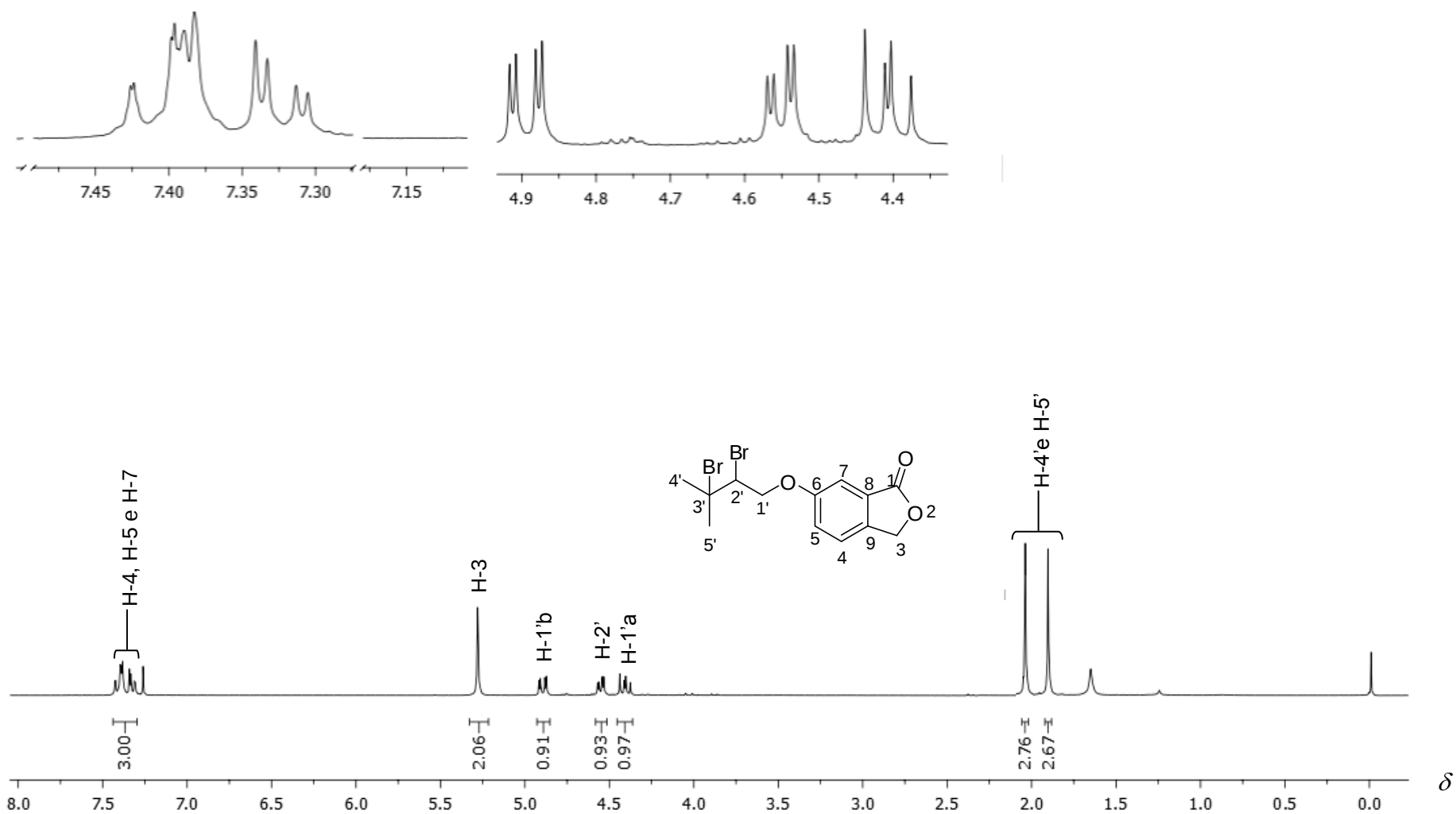
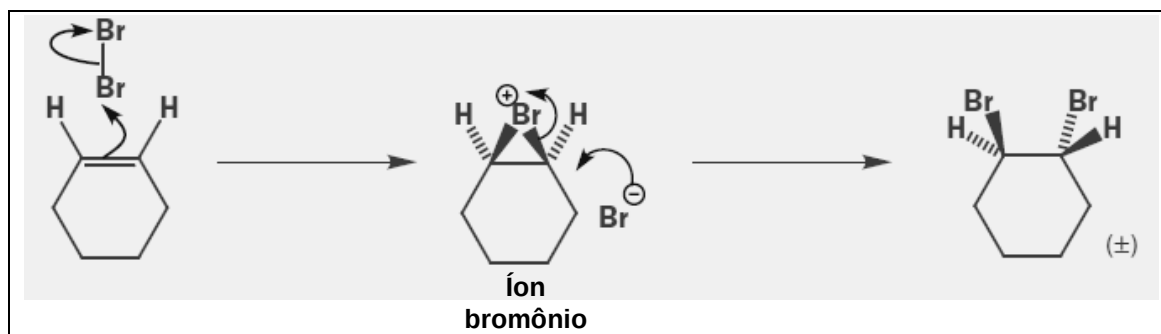


Figura 26 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**45**).

A adição de Br₂ à ligação dupla de um alceno corresponde a um processo *anti* com o envolvimento de um íon bromônio como intermediário (CLAYDEN *et al.*, 2001d). No Esquema 8 ilustra-se a adição de Br₂ ao cicloexeno.



Fonte: Clayden *et al.*, 2001d.

Esquema 9 – Adição de bromo ao cicloexeno.

Os espectros de RMN de ¹³C das substâncias **43-45** (Figuras 27 a 29, p.95 a 97) exibiram número de sinais compatíveis com as fórmulas estruturais dessas isobenzofuran-1(3*H*)-onas. Conforme esperado, não foram observadas grandes variações nos deslocamentos químicos dos átomos de carbono C-1 (grupo carbonila), C-3 (carbono benzílico) e dos carbonos aromáticos. Dados da literatura (MAES *et al.*, 2006; DEMUNER *et al.*, 2006; FRESENIUS *et al.*, 1989) auxiliaram nas atribuições dos carbonos dos grupos alcóxila dos derivados **43-45**.

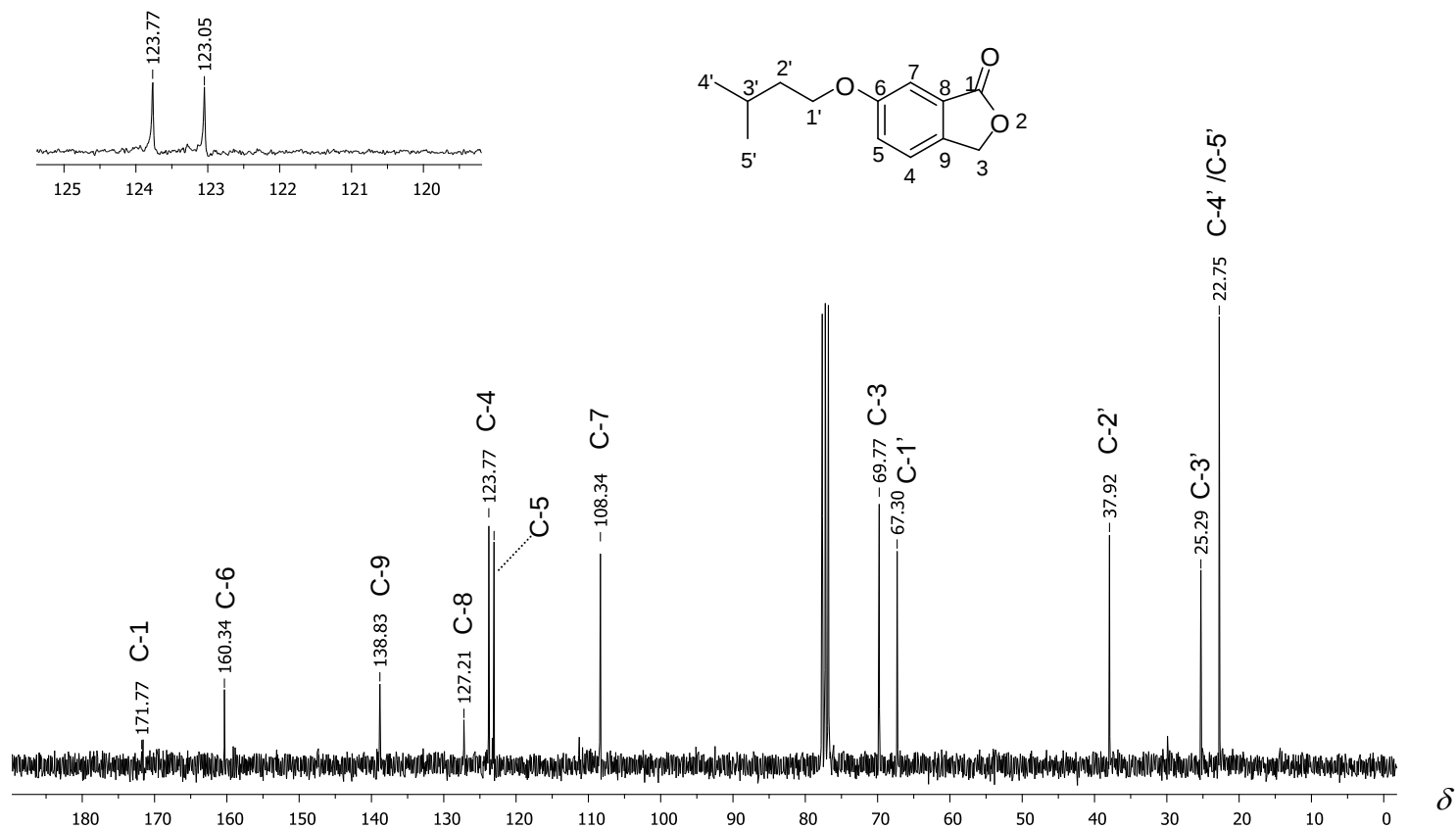


Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (43).

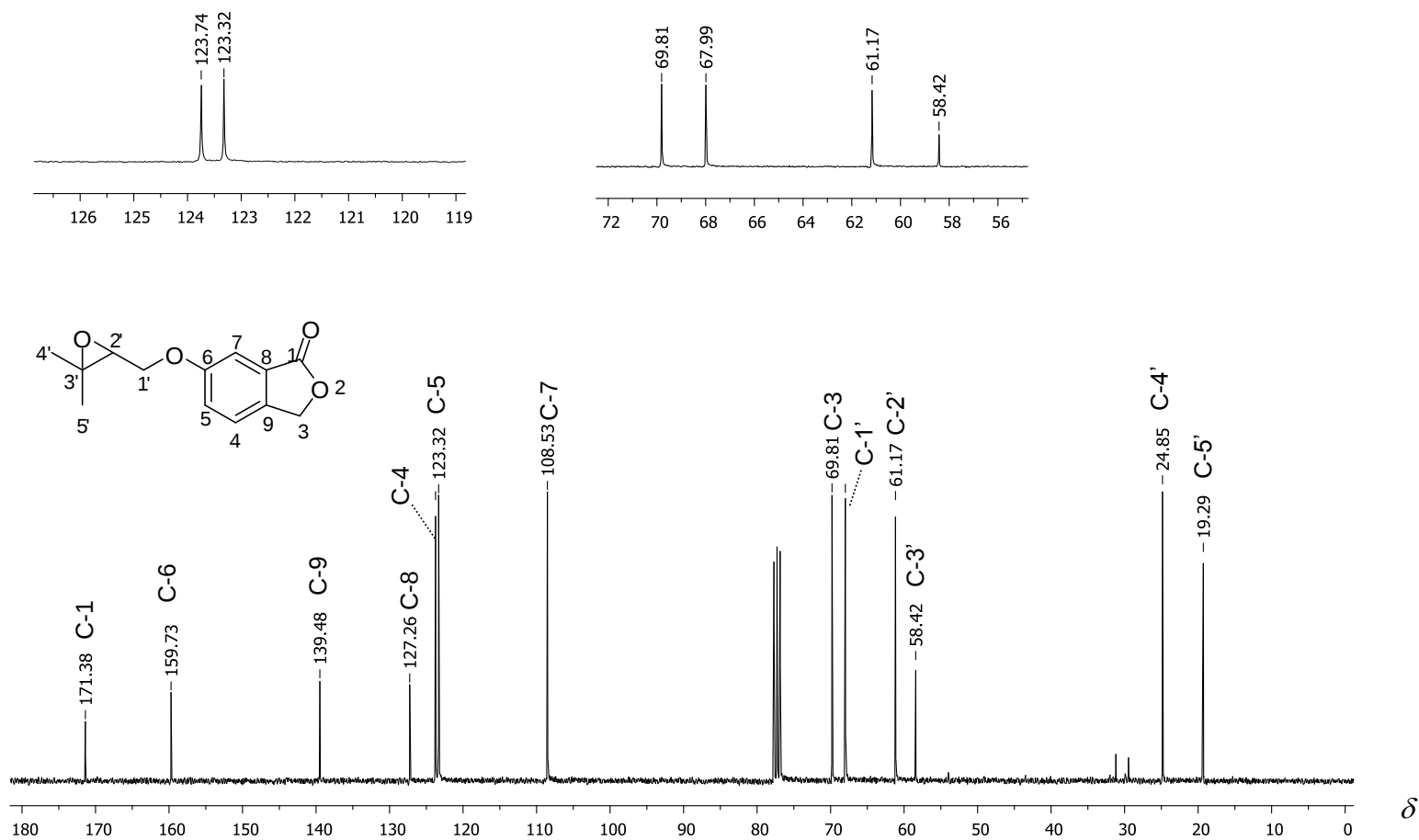


Figura 28 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**44**).

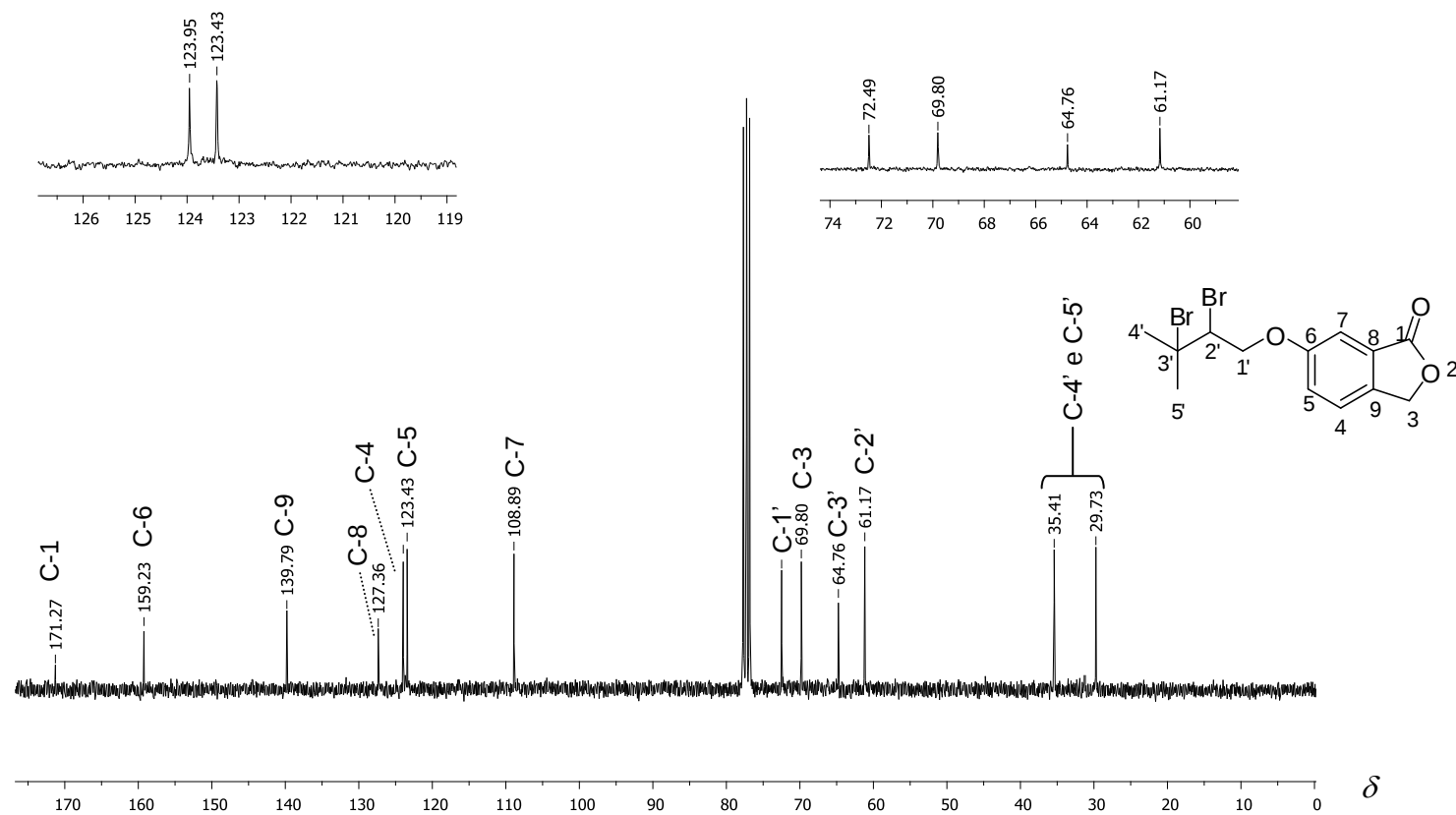
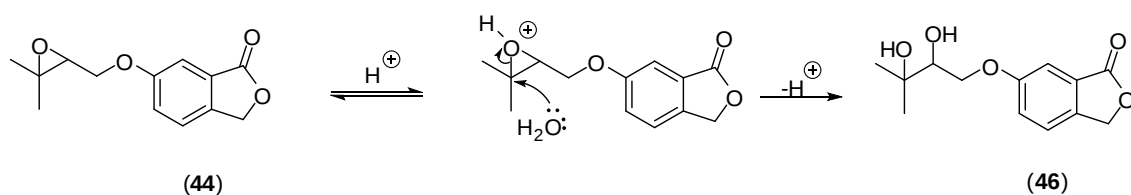


Figura 29 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**45**).

As substâncias **43-45** também foram analisadas via espectroscopia no infravermelho e os espectros obtidos são apresentados nas Figuras 1 a 3 do Anexo 1. As fórmulas moleculares dos compostos **43** a **45** foram confirmadas por espectrometria de massas. Os compostos **43** e **45** foram investigados por espectrometria de massas de alta resolução-eletrospray (ESI-MS), sendo o pico do íon molecular observado como $[M+H]^+$ (Figuras 4 e 6, Anexo I). Para o composto **44**, que foi analisado por espectrometria de massas de baixa resolução/ionização por impacto eletrônico, o pico em m/z 234 (Figura 5 do Anexo I) é compatível com a massa molecular desta substância ($C_{13}H_{14}O_4$).

A fitalida **46** foi sintetizada via abertura do anel de epóxido de **44**, promovida por ácido (Esquema 10).



Esquema 10 – Abertura de anel de epóxido na preparação de **46** a partir de **44**.

A presença da banda larga em 3445 cm^{-1} no espectro no infravermelho de **46** (Figura 30, p.100), confirmou a presença dos grupos hidroxila em sua estrutura. A banda intensa em 1749 cm^{-1} foi associada ao grupo carbonila.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 31, p.101), os sinais para os hidrogênios diastereotópicos foram observados em δ_{H} 3,86 (dd, 1H, $J = 9,6$, $J = 7,5$ Hz; H-1'b) e em δ_{H} 4,19 (dd, 1H, $J = 9,6$; $J = 3,0$ Hz; H-1'a). Já o duplo duplete em δ_{H} 4,05, integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 7,5$; $J = 3,0$ Hz), foi atribuído ao hidrogênio H-2'. Os hidrogênios aromáticos foram observados como um multiplete em δ_{H} 7,34. Os sinais para os grupos metilas

foram observados como dois simpletos em δ_H 1,28 e 1,33. O hidrogênio benzílico foi observado em δ_H 5,27.

No espectro de ^{13}C -RMN (Figura 32, p.102) destaca-se o conjunto de quatro sinais em δ_C 69,8 (C-3); 70,0 (C-1'); 71,8 (C-3'); 76,0 (C-2'), todos relacionados a carbonos contendo simples ligações com átomos de oxigênio.

O pico observado em m/z 252 no espectro de massas (Figura 33, p.103) confirma a massa molecular do diol **46** ($\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$).

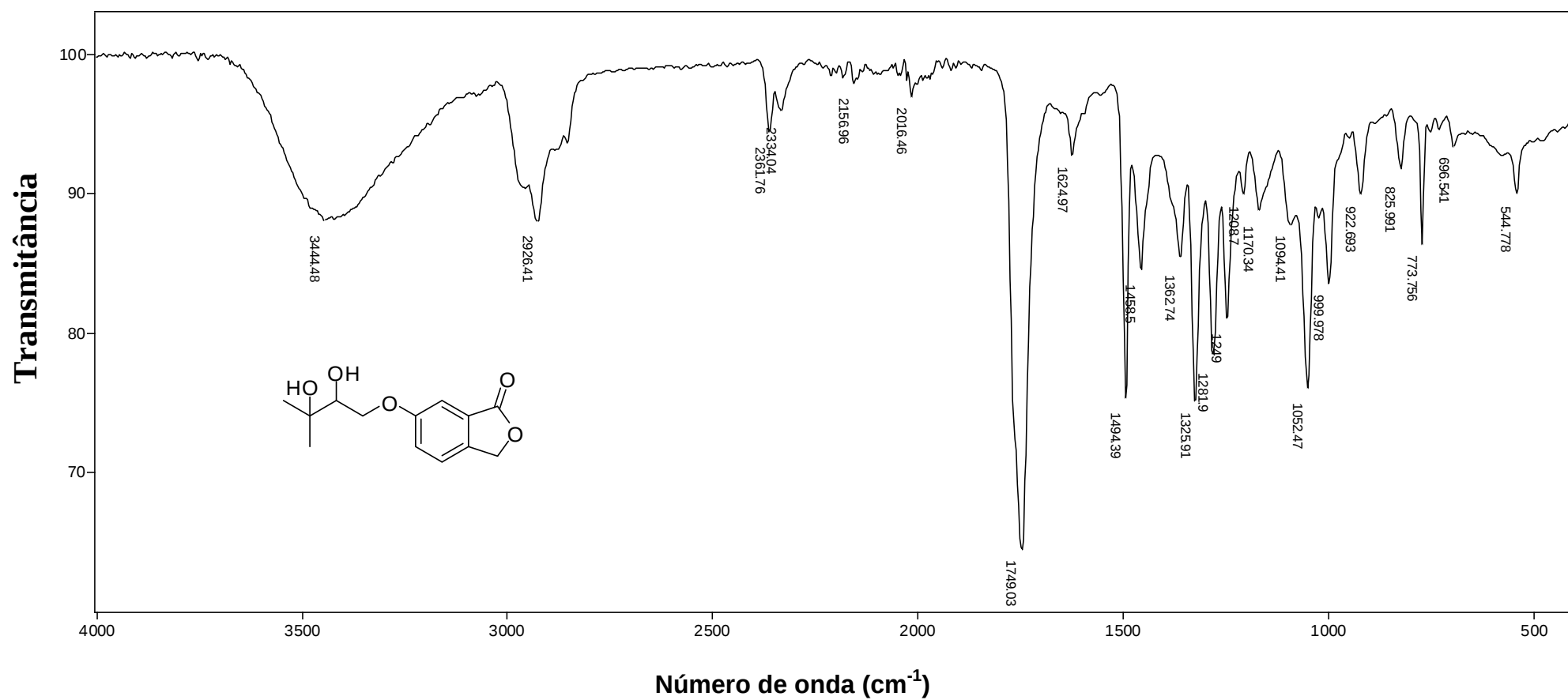


Figura 30 – Espectro no infravermelho (ATR) da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-one (46).

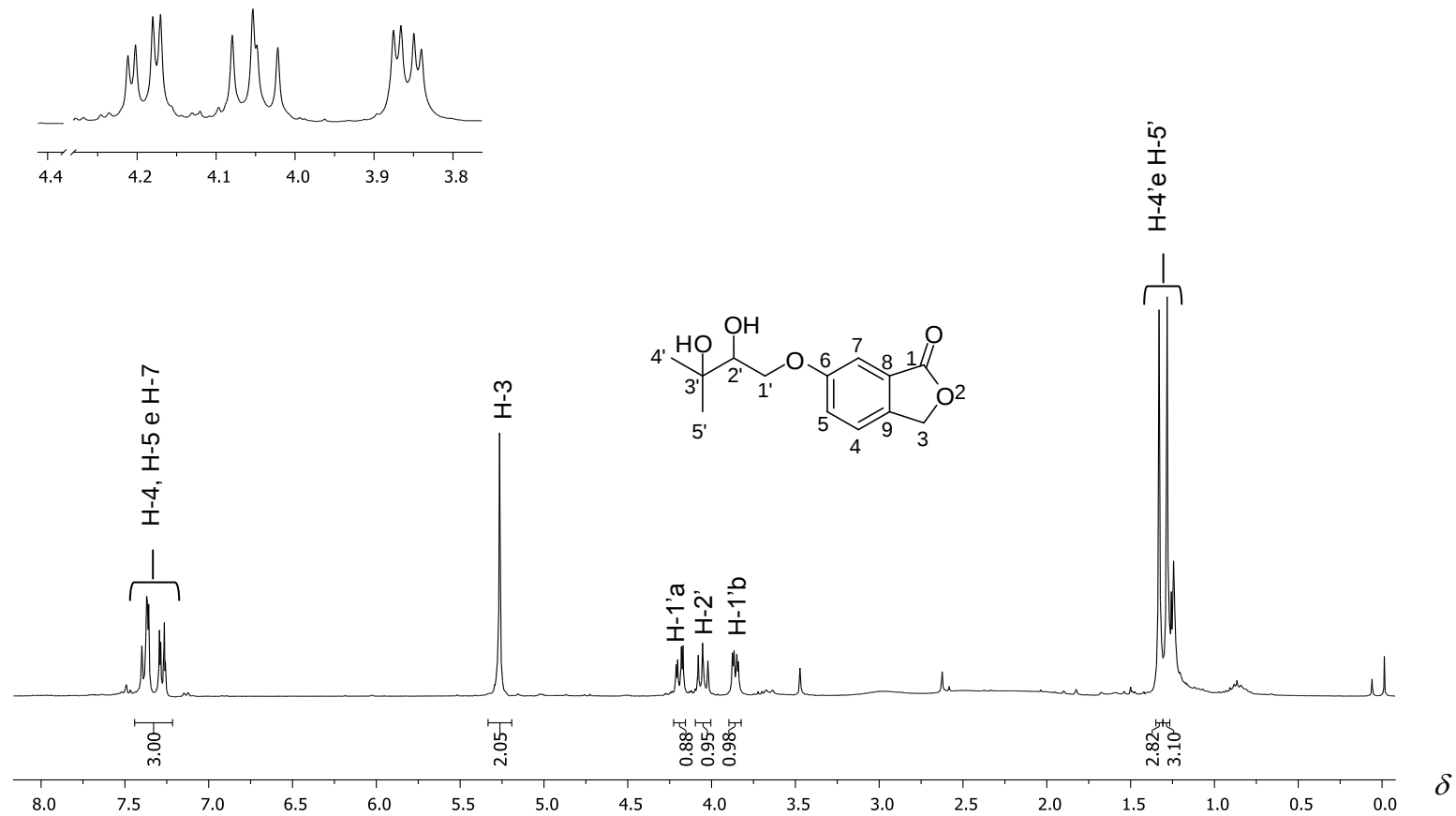


Figura 31 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**46**).

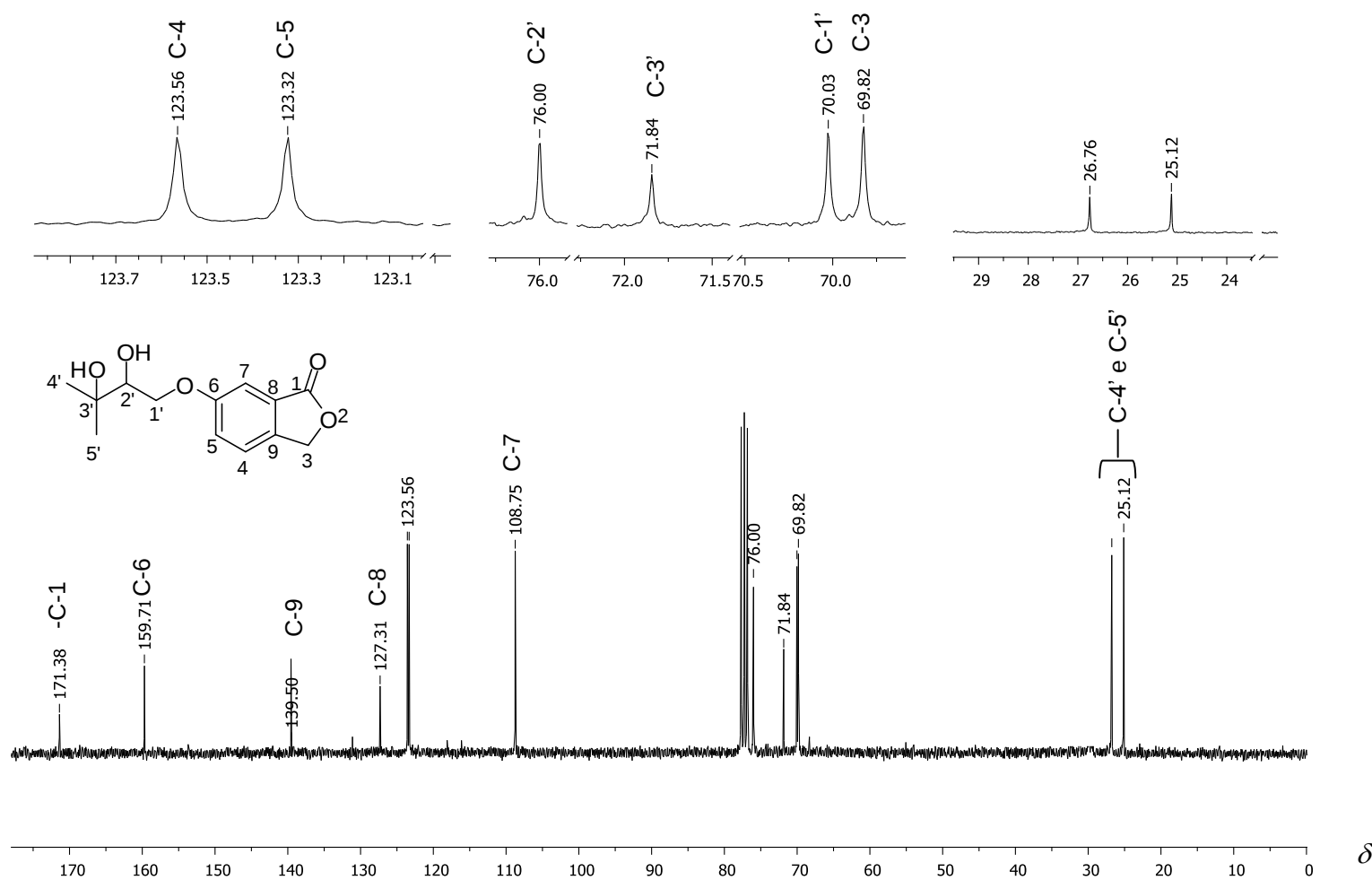


Figura 32 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**46**).

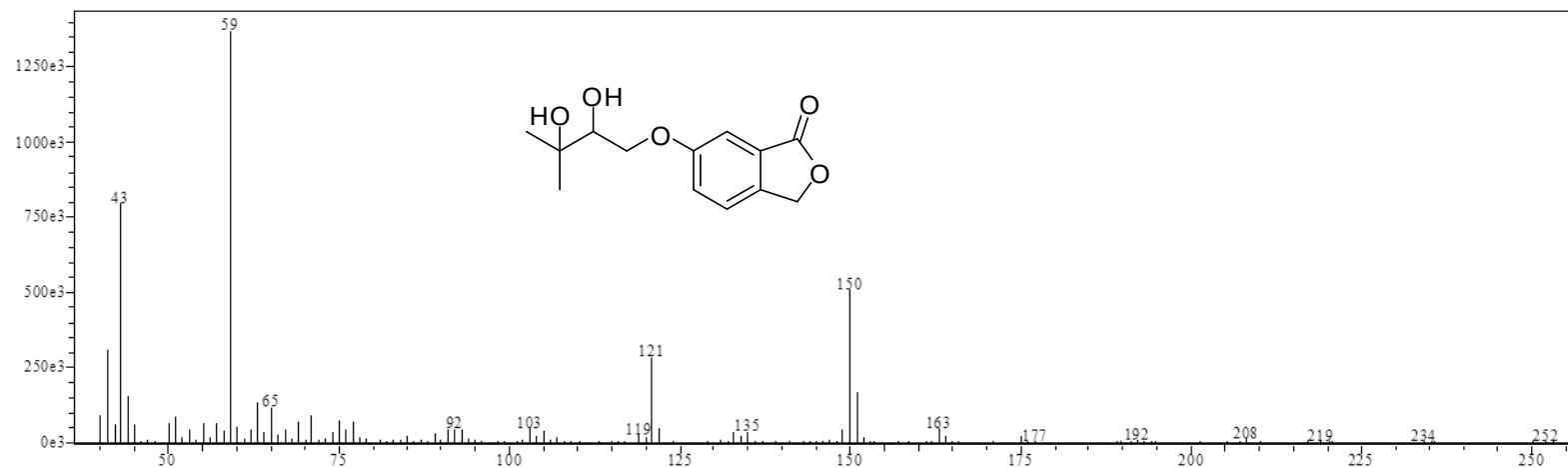
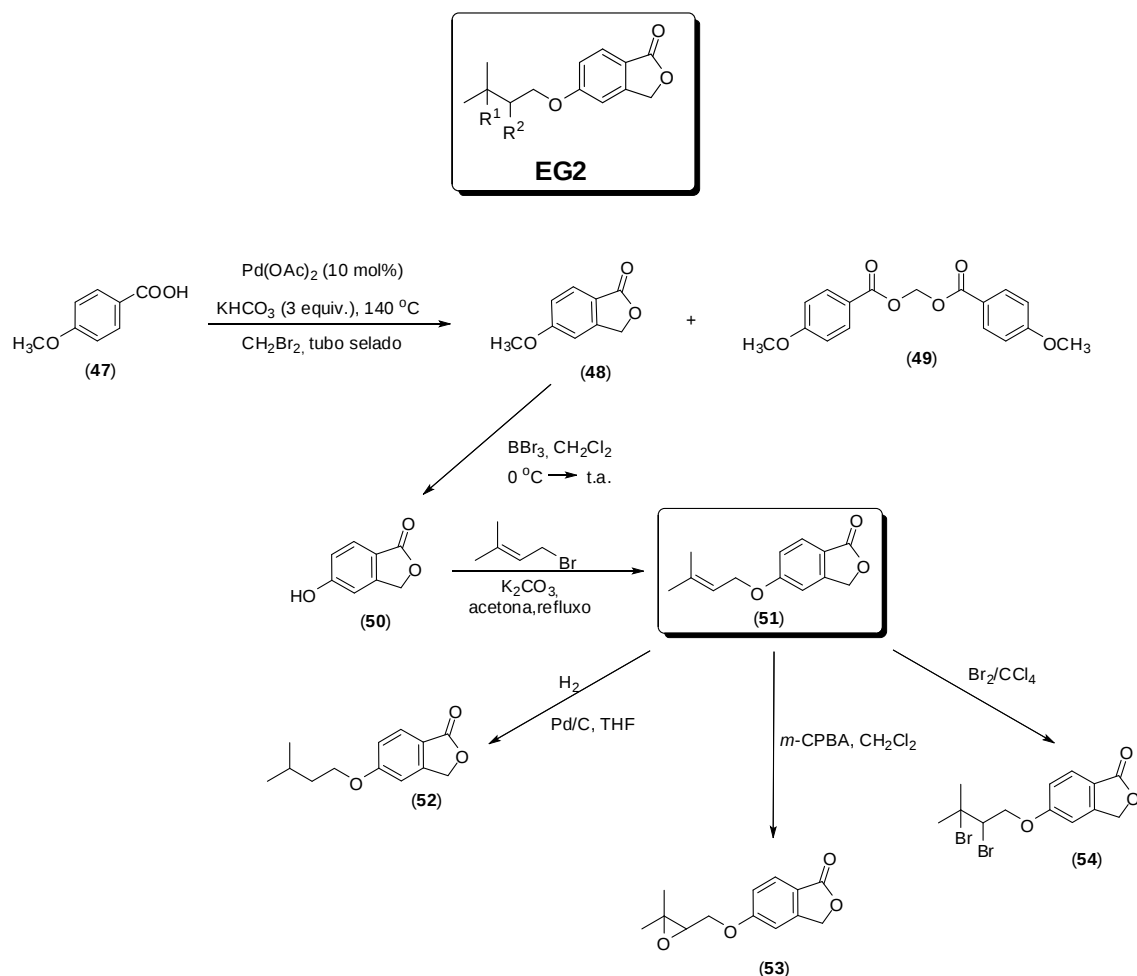


Figura 33 – Espectro de massas da 6-(2,3-diidroxi-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**46**).

<i>m/z</i>	Intensidade (%)
252	< 1
234	< 1
163	4
150	37
135	3
121	21
119	2
92	4
65	9
59	100
43	58

No Esquema 11 está representada a rota sintética que foi empregada para a síntese de compostos apresentando a fórmula geral **EG2**. Essas substâncias **52-54** foram preparadas com o intuito de se avaliar o efeito da mudança de posição dos grupos alcoxila (neste caso, na posição 5 do anel aromático) no tocante à inibição do transporte de elétrons da fotossíntese.



Esquema 11 – Síntese das isobenzofuran-1(3H)-onas **48-54**.

Similarmente ao que foi descrito para a síntese das substâncias de estrutura geral **EG1** (Esquema 2, p.61), a primeira etapa da síntese envolveu a reação de *orto*-alquilação, catalisada por Pd(OAc)₂, entre o ácido 4-metoxibenzoico (**47**) e o dibromometano (CH₂Br₂), resultando na obtenção da isobenzofuran-1(3H)-ona **48** (ZHANG *et al.*, 2009) como um sólido amarelado com 33% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel.

A forte absorção observada em 1736 cm^{-1} no espectro no IV do composto **48** (Figura 34, p.106) indicou a presença do grupo carbonila. Já a banda intensa em 1261 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação C-O de ésteres. As bandas em 1601 e 1489 foram atribuídas ao estiramento C=C de anel aromático.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 35, p.107) foram observados três sinais em δ_{H} 7,80 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$), δ_{H} 7,02 (dd, $J = 8,4\text{ Hz}$; $0,6\text{ Hz}$) e 6,91 (d, 1H , $J = 0,6\text{ Hz}$) correspondentes aos hidrogênios do sistema aromático de **48**. O sinal em δ_{H} 3,89 foi inequivocamente atribuído aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila ($-\text{OCH}_3$). O sinal para os hidrogênios benzílicos de **48** ($-\text{OCH}_2-$) foi observado como um simpleto em δ_{H} 5,25.

O sinal do grupo carbonila de **48** foi observado no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 36, p.108) em δ_{C} 171,1. O sinal em δ_{C} 164,9 corresponde ao átomo de carbono do anel aromático ligado diretamente ao grupo metoxila. Os outros sinais para os carbonos aromáticos foram observados em δ_{C} 149,6; 127,4; 118,2; 116,7 e 106,2. O sinal em δ_{C} 69,3 foi atribuído ao carbono benzílico ($-\text{OCH}_2-$) enquanto o sinal em δ_{C} em 56,1 corresponde ao carbono do grupo metoxila ($-\text{OCH}_3$).

A massa molecular da substância **48** ($\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$) foi confirmada pela presença do pico molecular em m/z 164 no espectro de massas (Figura 37, p.109).

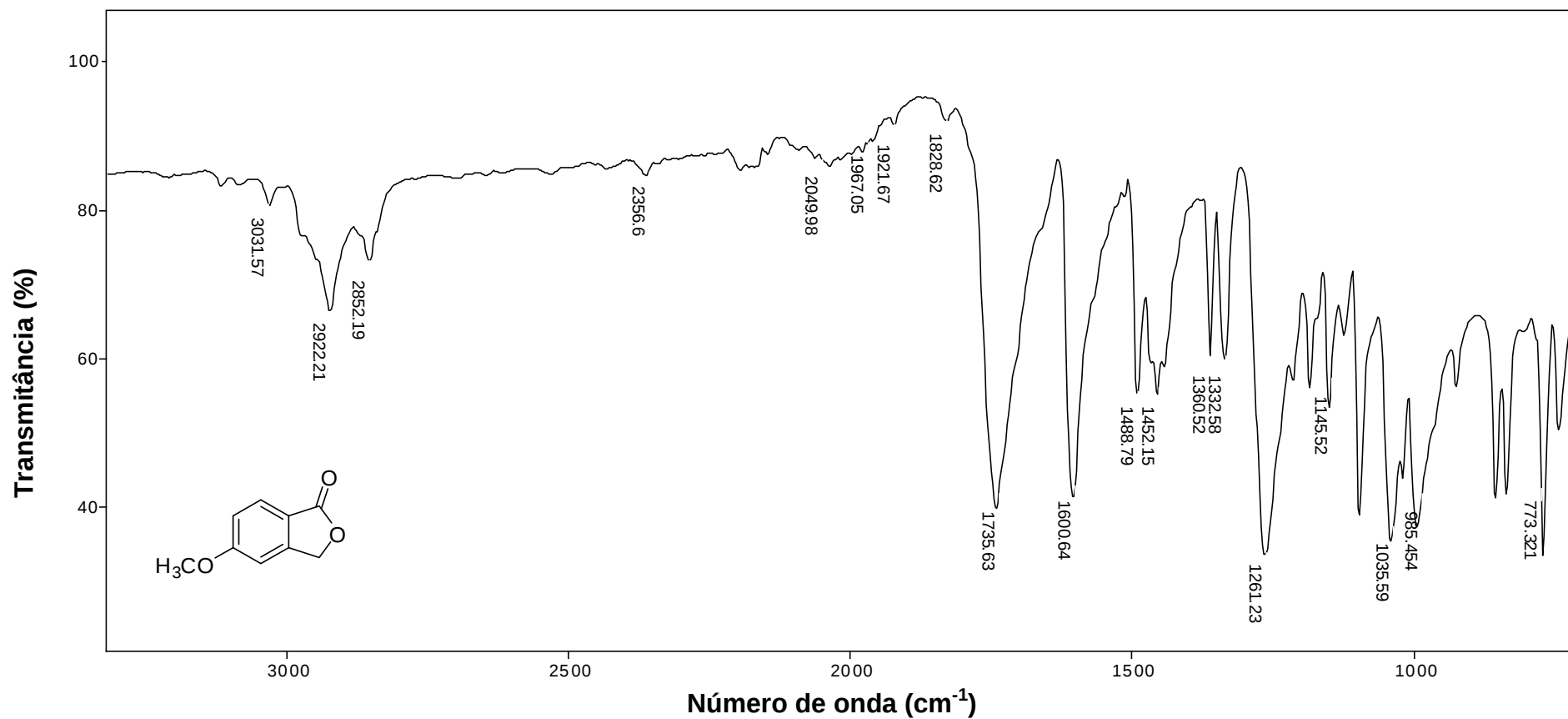


Figura 34 – Espectro no infravermelho (ATR) da 5-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (48).

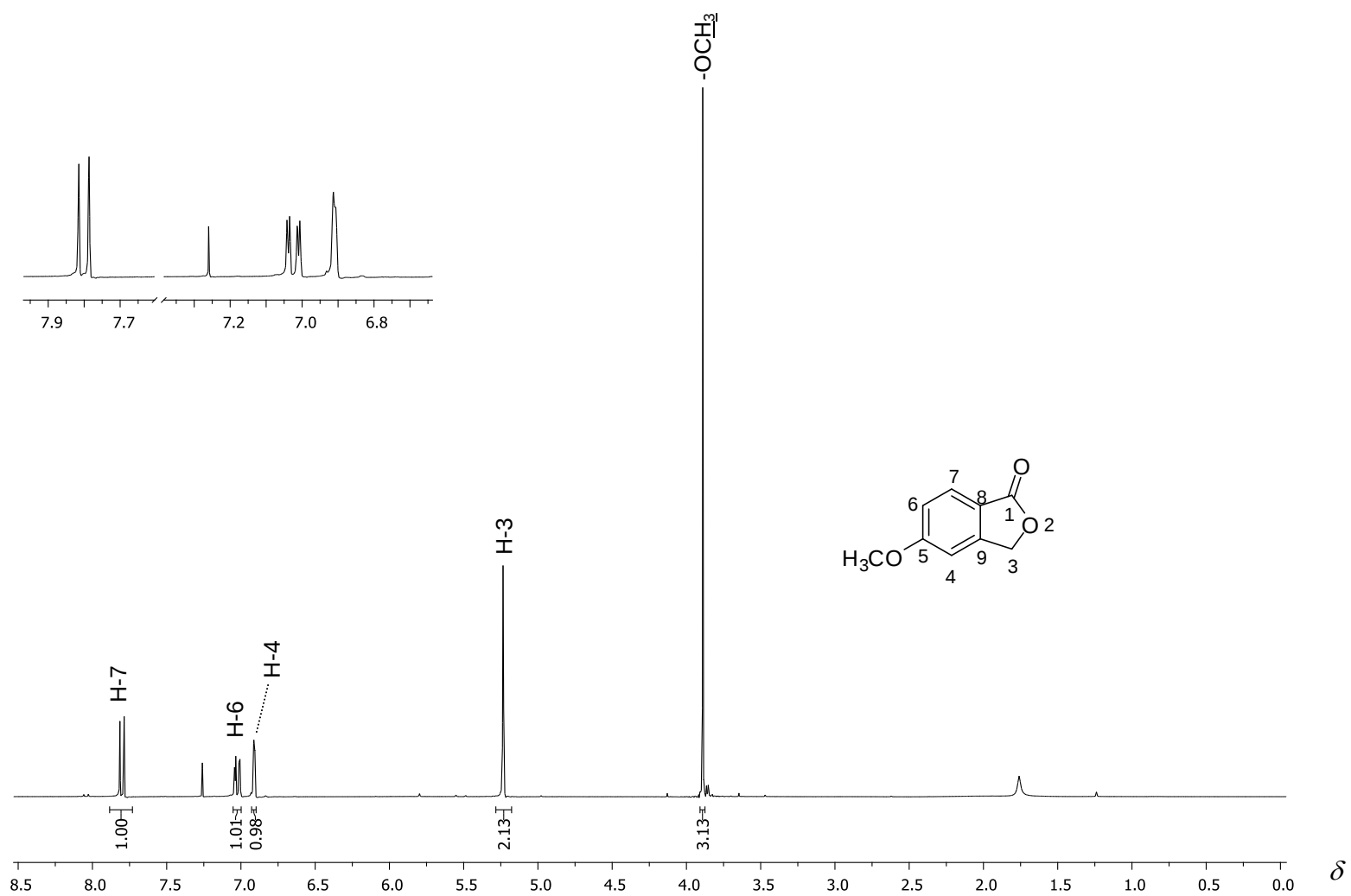


Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 5-metoxiisobenzofuran-1-(3H) ona (**48**).

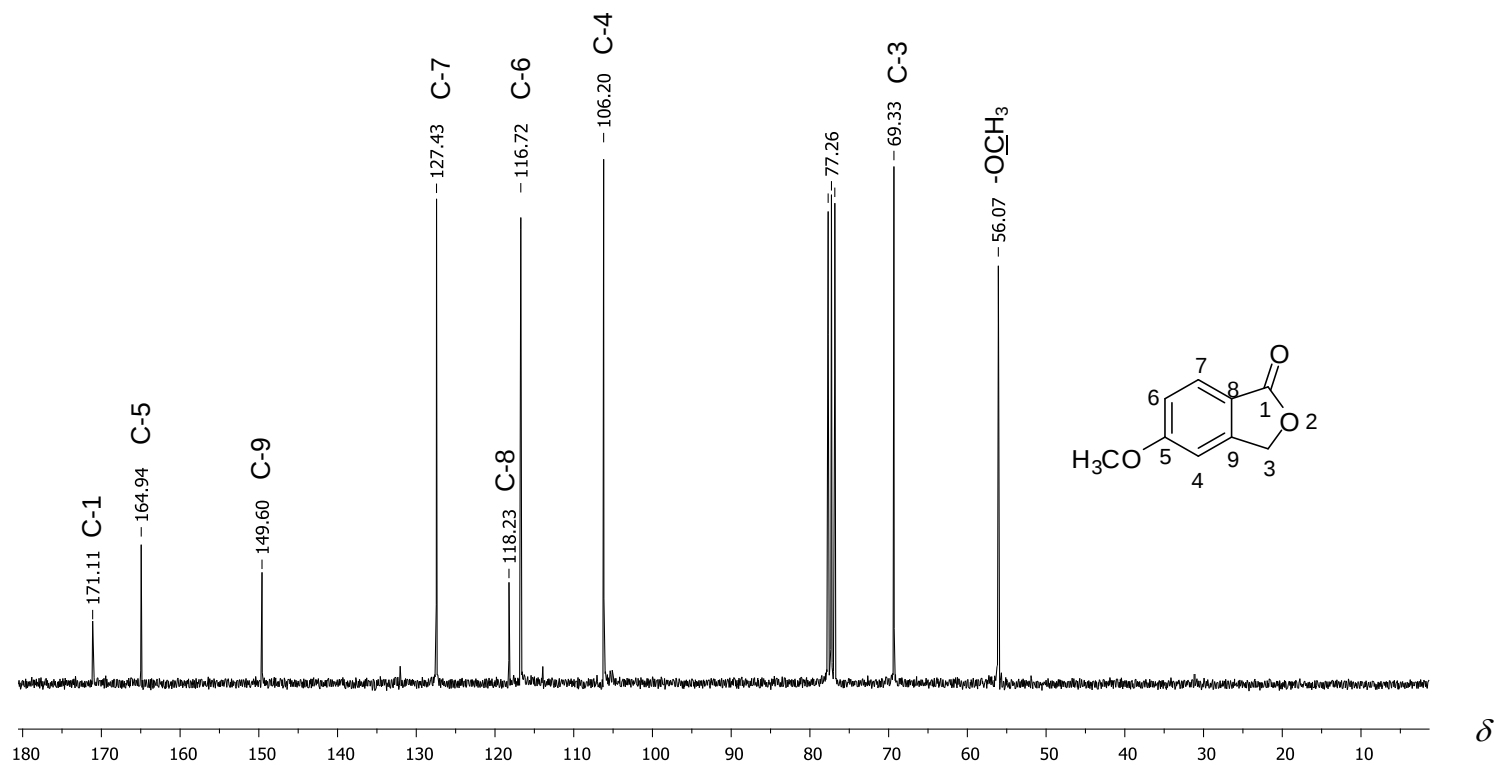


Figura 36 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 5-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**48**).

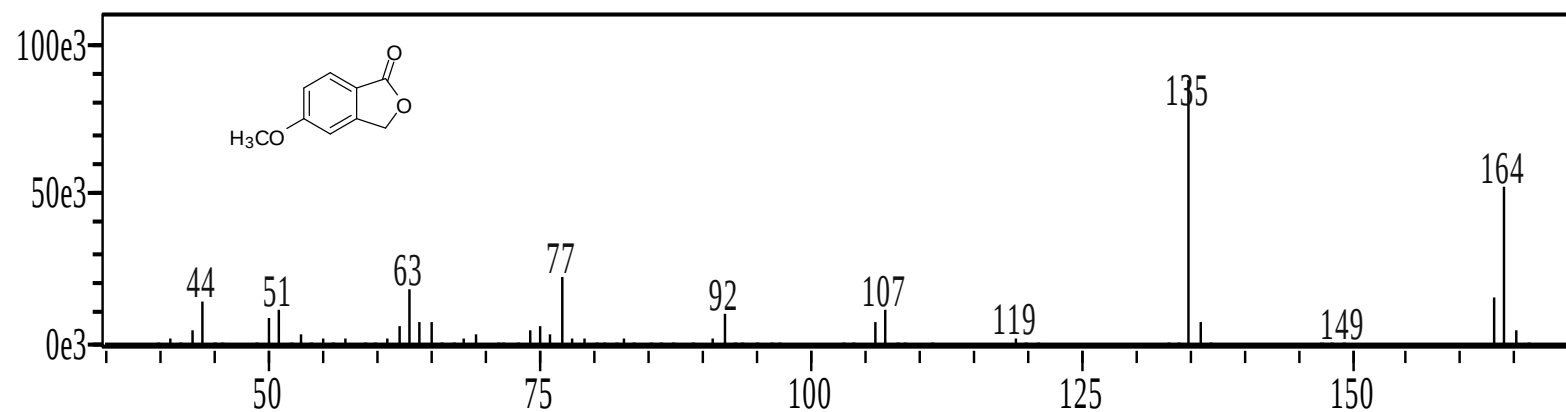


Figura 37 – Espectro de massas da 5-metoxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**48**).

<i>m/z</i>	Intensidade (%)
164	72
135	100
119	3
107	27
77	32
63	32
51	18
44	21

Na Figura 38 encontra-se mostrado o ORTEP da isobenzofuran-1(3*H*)-ona **48**, que foi analisada por difração de raios-X.

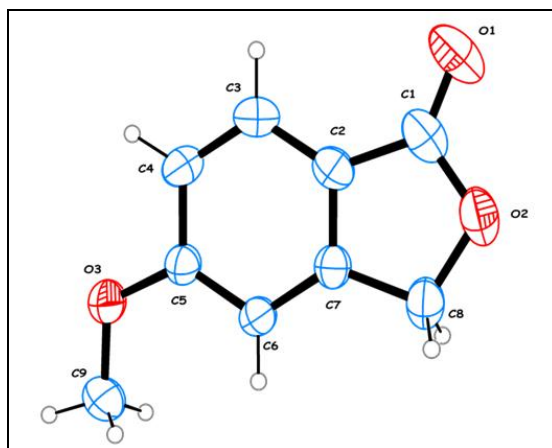


Figura 38 – Representação ORTEP-3 da 5-metoxiisobenzofuran-1(3*H*)-ona (**48**).

No empacotamento cristalino do composto **48** (Figura 39, p.111) a interação intermolecular C6–H6 $\cdots$ O2 forma uma rede bidimensional na direção [101] e a interação C8–H8 $\cdots$ O1 liga as camadas ao longo do eixo cristalográfico *c*. Este comportamento é observado no composto correlato com dois substituintes metoxilas (WANG *et al.*, 2008).

O processo de purificação da substância **48** resultou ainda no isolamento do *bis*-(4-metoxibenzoato) de metileno (**49**) com 59% de rendimento (Esquema 11, p.104). Os dados espectroscópicos que confirmaram a estrutura deste composto estão descritos na seção 2.2.2.8 (p.46) e espectros no infravermelho, de RMN de ^1H e de ^{13}C , e de massas são apresentados nas Figuras 7 a 10 do Anexo I.

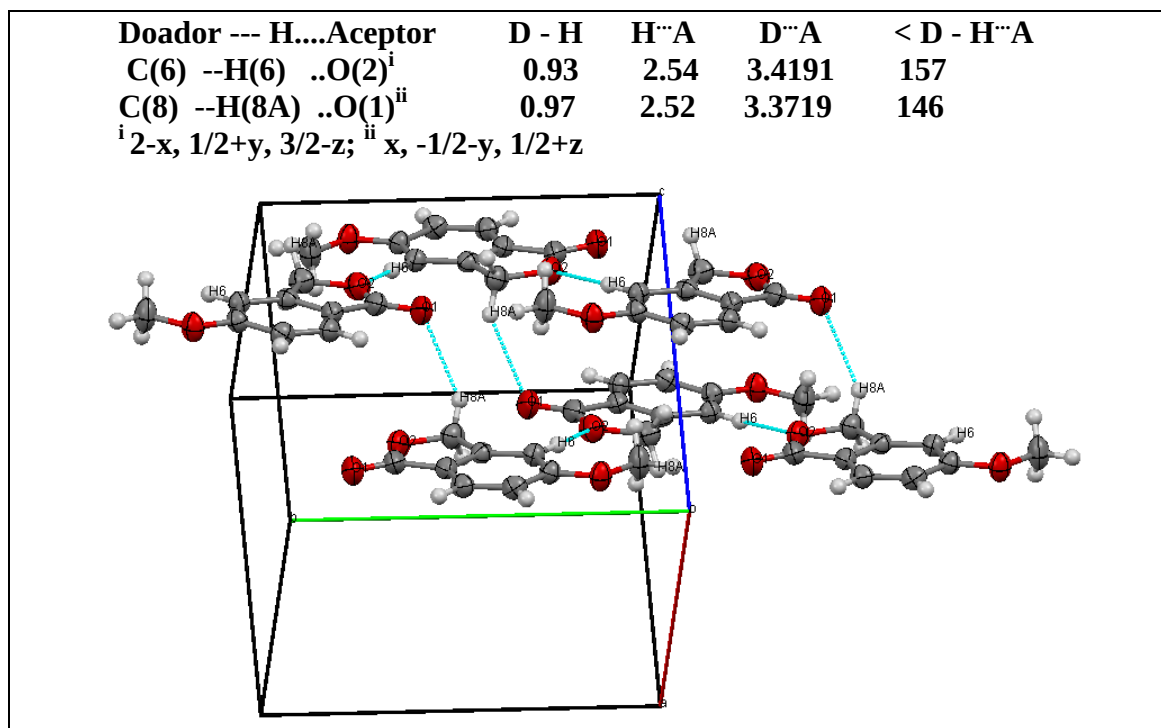


Figura 39. Representação MERCURY das interações presentes no cristal do composto **48**.

Uma vez sintetizada, a isobenzofuran-1(3*H*)-ona **48** foi tratada com tribrometo de boro (BBr₃) para fornecer o derivado hidroxilado **50** em 83% de rendimento como um sólido amarelado, após purificação em coluna de sílica gel.

A análise do espectro no IV de **50** (Figura 40, p.113) mostrou a presença de uma banda larga em 3261 cm⁻¹ correspondente ao estiramento do grupo hidroxila (OH) bem como uma forte banda de estiramento do grupo carbonila (C=O) em 1714 cm⁻¹.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 41, p.114) os sinais para os átomos de hidrogênio aromáticos foram observados como um duplete, integrado para um átomo de hidrogênio em δ_H 7,67 (*J* = 9,0 Hz) e um multiplete em δ_H 6,90-6,95

integrado para dois átomos de hidrogênio. O simpleto em δ_H 5,25, integrado para dois átomos de hidrogênio, foi atribuído aos hidrogênios benzílicos.

A presença do grupo carbonila na estrutura da isobenzofuran-1(3*H*)-ona **50** também foi confirmada pela presença do sinal em δ_C 173,7 no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 42, p.115). O sinal em δ_C 71,3 corresponde ao carbono benzílico de **50**. O sinal em δ_C 159,8 está relacionado ao carbono aromático diretamente ligado ao grupo hidroxila (C-5). Os outros sinais observados no espectro foram atribuídos aos carbonos aromáticos restantes.

No espectro de massas (Figura 43, p.116) o pico do íon molecular foi observado em m/z 150 e confirma a fórmula molecular ($C_8H_6O_3$) da substância sintetizada.

A Figura 44 (p.117) contém a representação ORTEP-3 da substância **50**. No empacotamento cristalino do composto **50**, interações intermoleculares O3- $H^{\cdots}O1$ formam redes bidimensionais na direção [101] (Figura 45, p.118). Entre duas redes, relacionadas por centro de inversão, há interações π - π envolvendo os anéis de 6 membros [$d=3,897\text{\AA}$].

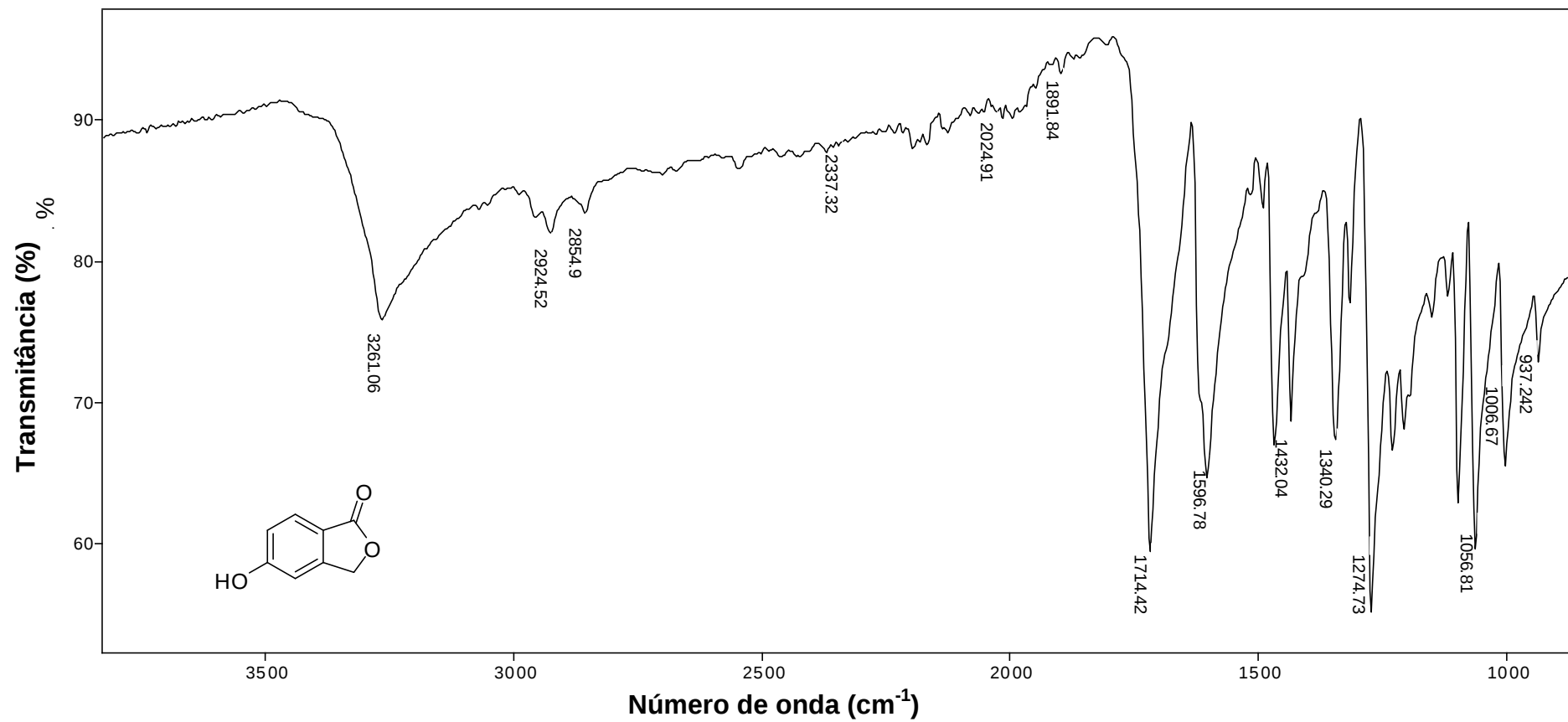


Figura 40 - Espectro no Infravermelho (ATR) da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (50).

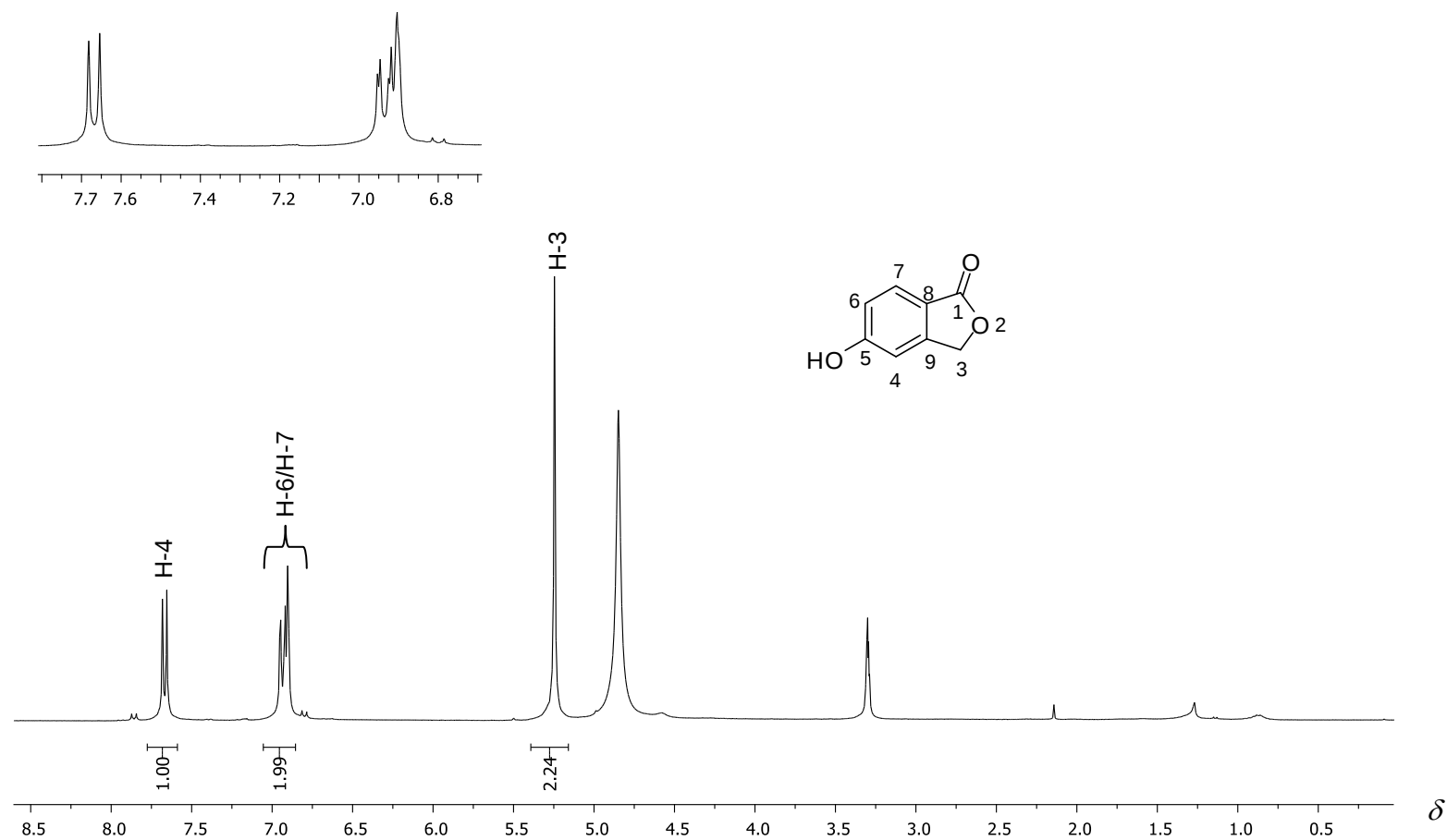


Figura 41 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**50**).

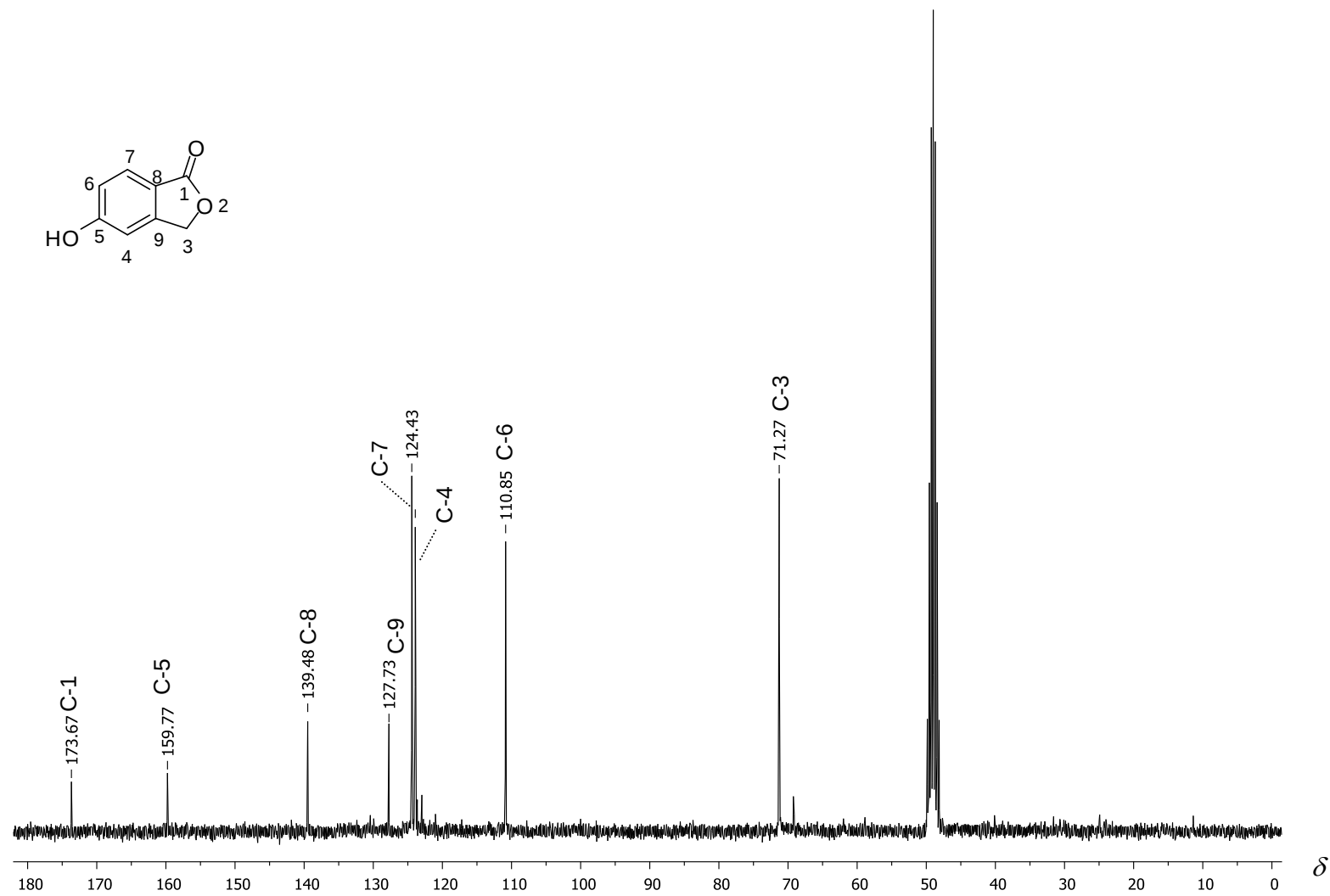


Figura 42 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (50).

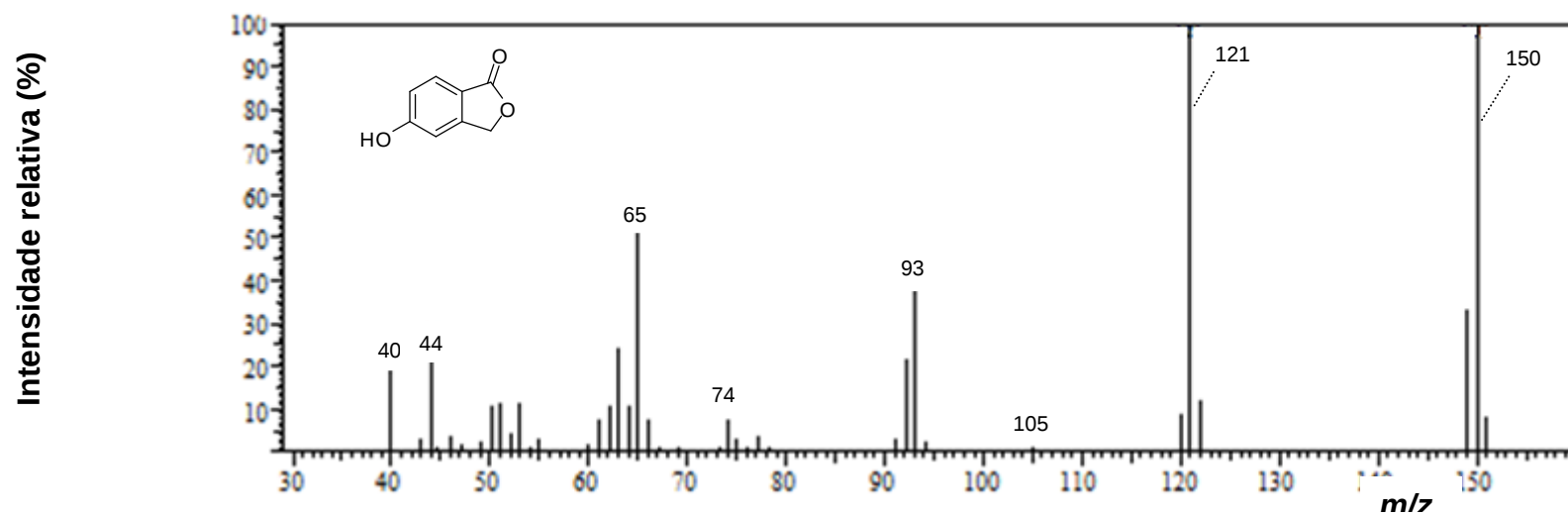


Figura 43 - Espectro de massas da 5-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (**50**).

m/z	Intensidade (%)
150	100
121	100
93	35
74	10
65	54
51	15
44	25

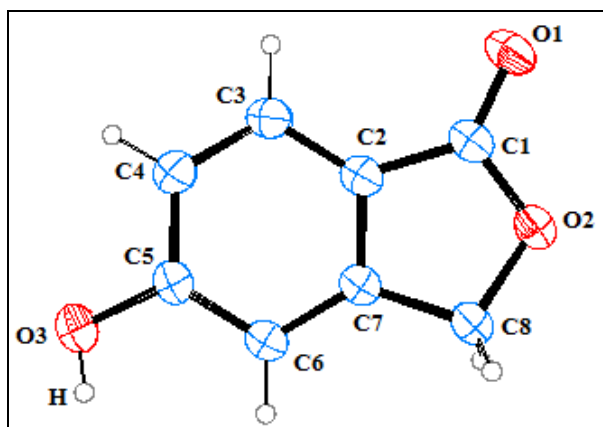


Figura 44 – Representação ORTEP-3 da substância **50**.

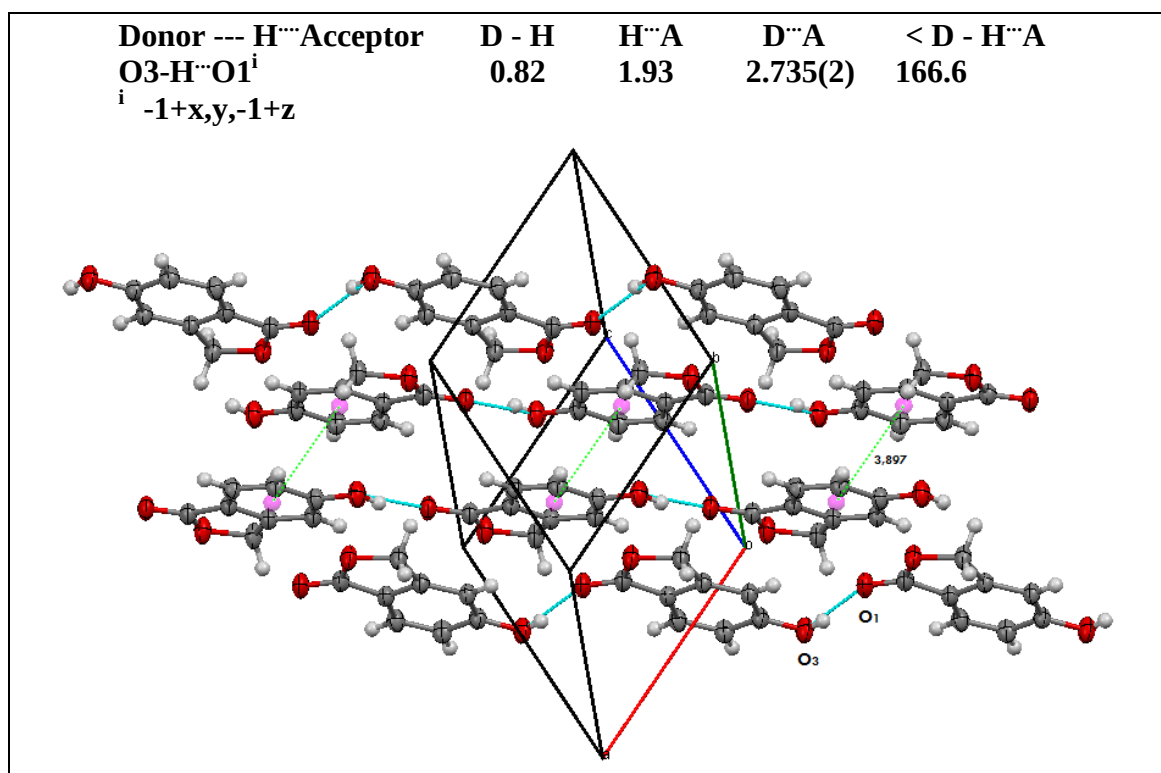
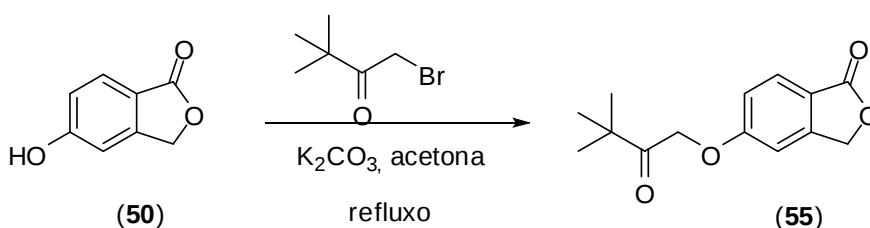


Figura 45 - Representação MERCURY das interações presente no cristal do composto **50**.

Numa etapa subsequente, a isobenzofuran-1(3*H*)-ona **50** foi submetida à reação de *O*-alquilação, realizada com 1-bromo-3-metilbut-2-eno e carbonato de potássio anidro (Esquema 11, p.104), para fornecer o alceno **51**. Esse, por

sua vez, foi convertido nos derivados **52-54** via reações de adição à dupla ligação do grupo alcóxila. Uma discussão detalhada da caracterização estrutural dos compostos **52-54** não será apresentada uma vez que os compostos são muito similares aos compostos **43-45** (Esquema 2, p.61). A descrição dos dados espectroscópicos dos compostos **51** a **54** pode ser encontrada nas seções 2.2.2.10 a 2.2.2.13 (p.49 a 54) e seus espectros nas Figuras 11 a 26 do Anexo 1.

As isobenzofuran-1(3*H*)-onas descritas até este ponto e análogas à 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**25**) (p.32) foram sintetizadas via funcionalização da ligação dupla do grupo 3-metilbut-2-eniloxila. Porém, outras isobenzofuran-1(3*H*)-onas foram sintetizadas lançando-se mão de reações de *O*-alquilação. Assim, o tratamento da substância **50** com a α -halo cetona 1-bromo-3,3-dimetilbutan-2-ona (Esquema 12) resultou na obtenção do composto **55** com 82% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel.



Esquema 12 – Síntese da 5-(3,3-dimetill-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**55**).

O espectro no IV de **55** (Figura 46, p.120) exibiu uma banda intensa em 1736 cm^{-1} , mas contendo um ombro que possivelmente se refere ao estiramento do outro grupo carbonila presente na estrutura de **55**.

Os hidrogênios aromáticos da substância **55** foram observados no espectro de ^1H -RMN (Figura 47, p.121) como um duplete em δ_{H} 7,81 ($J = 8,4$

Hz; H-7), um duplo duplete em δ_{H} 6,98 ($J = 8,4$; $J = 2,1$ Hz; H-6) e um simpleto largo em δ_{H} 6,85 (H-4). Os simpletos observados em δ_{H} 5,23 e 4,99 foram atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios benzílico e H-1'. Finalmente, os hidrogênios do grupo *t*-butila foram observados com um simpleto em δ_{H} 1,26.

No tocante ao espectro de ^{13}C -RMN (Figura 48, p.122) de **55**, foram observados dois sinais em δ_{C} 208,7 e 170,9 atribuídos, respectivamente, aos carbonos C-2' e C-1. O sinal intenso em δ_{C} 26,53 foi inequivocamente atribuído aos carbonos C-4' do grupo *t*-butila e o carbono C-3' apresentou deslocamento químico em δ_{C} 43,5. Os dois sinais apresentando deslocamentos químicos muito similares em δ_{C} 69,0 e δ_{C} 69,3 foram relacionados, respectivamente, aos carbonos benzílico (C-3) e metilênico (C-1'). O restante dos sinais observados no espectro de ^{13}C -RMN foram atribuídos aos carbonos do anel aromático.

No espectro de massas (Figura 49, p.123) o pico em m/z 248 confirma a fórmula molecular do composto **55** ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4$).

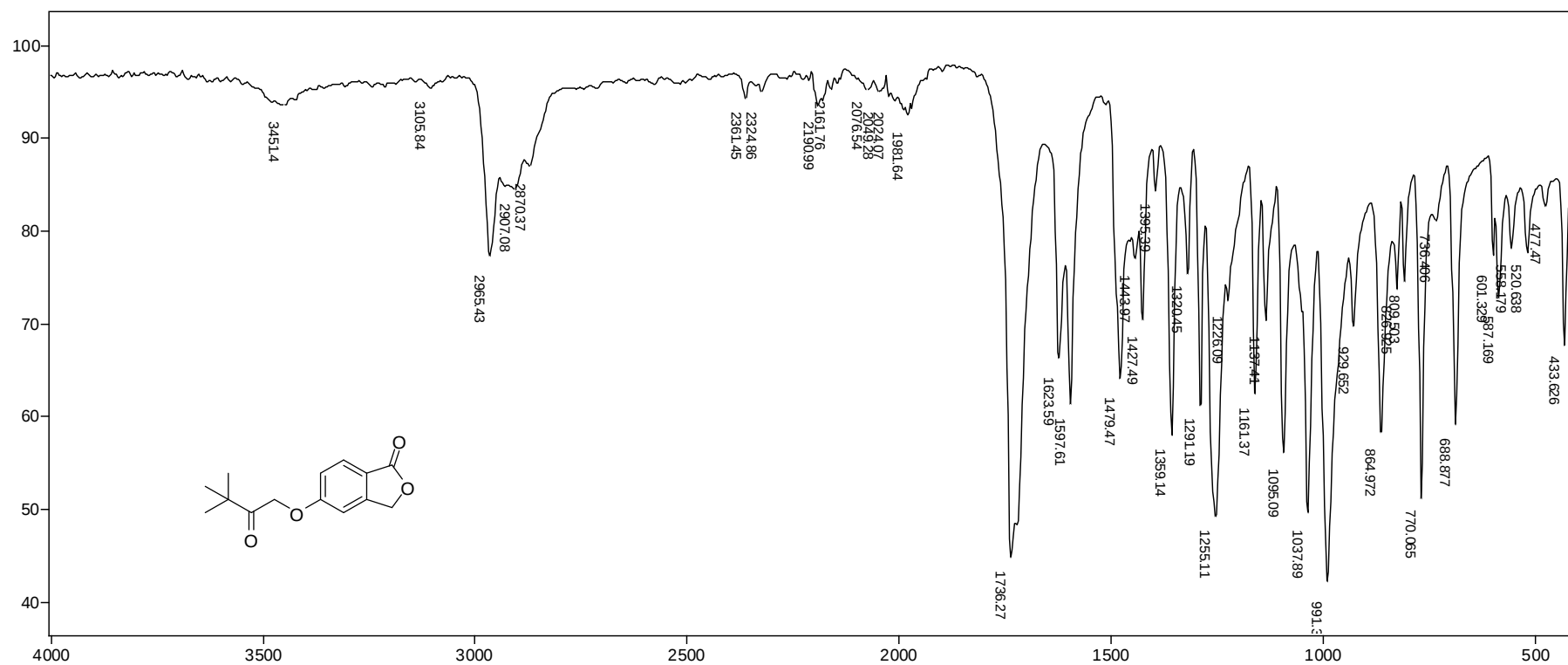


Figura 46 – Espectro no infravermelho (ATR) da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**55**).

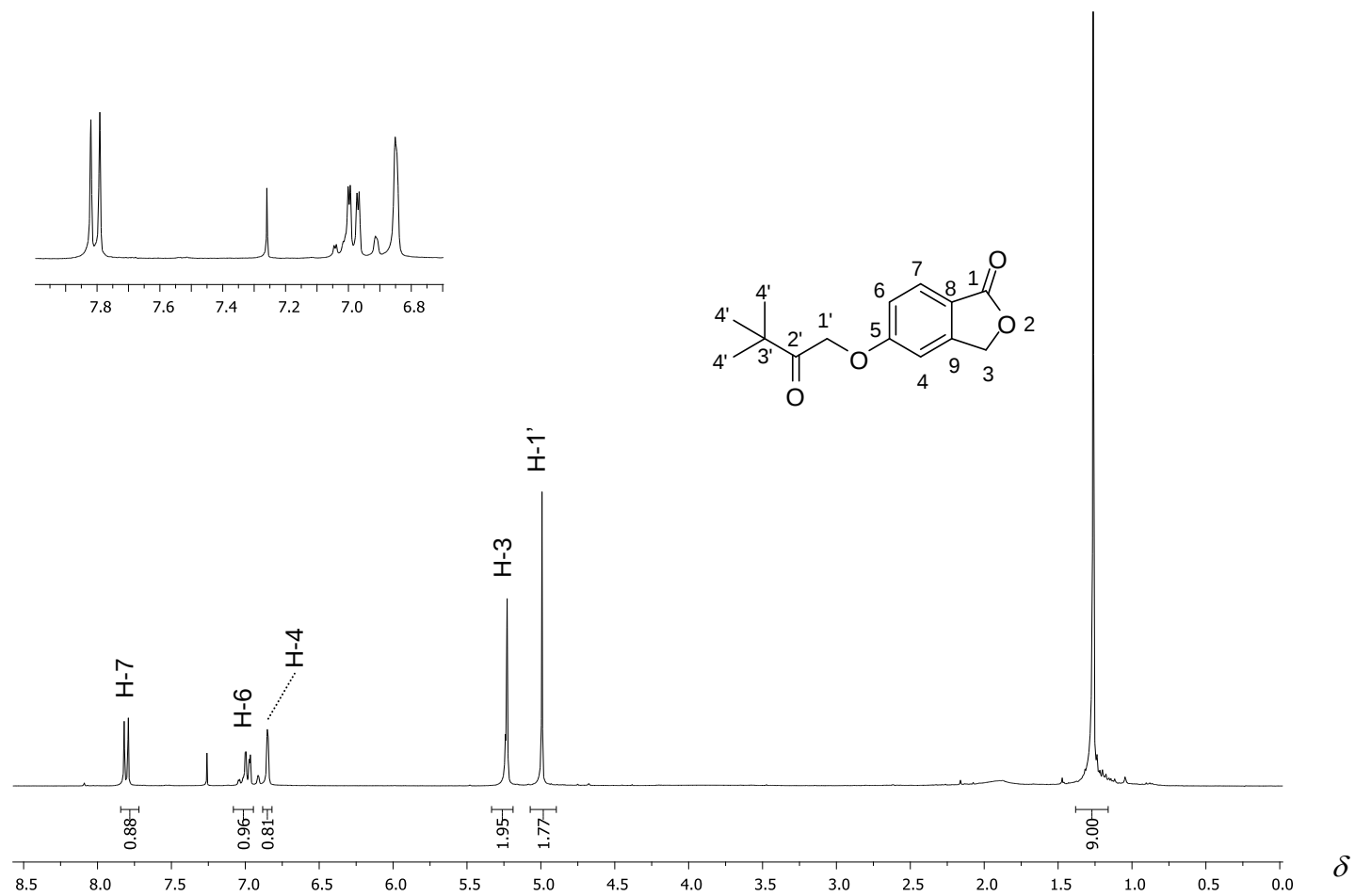


Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**55**).

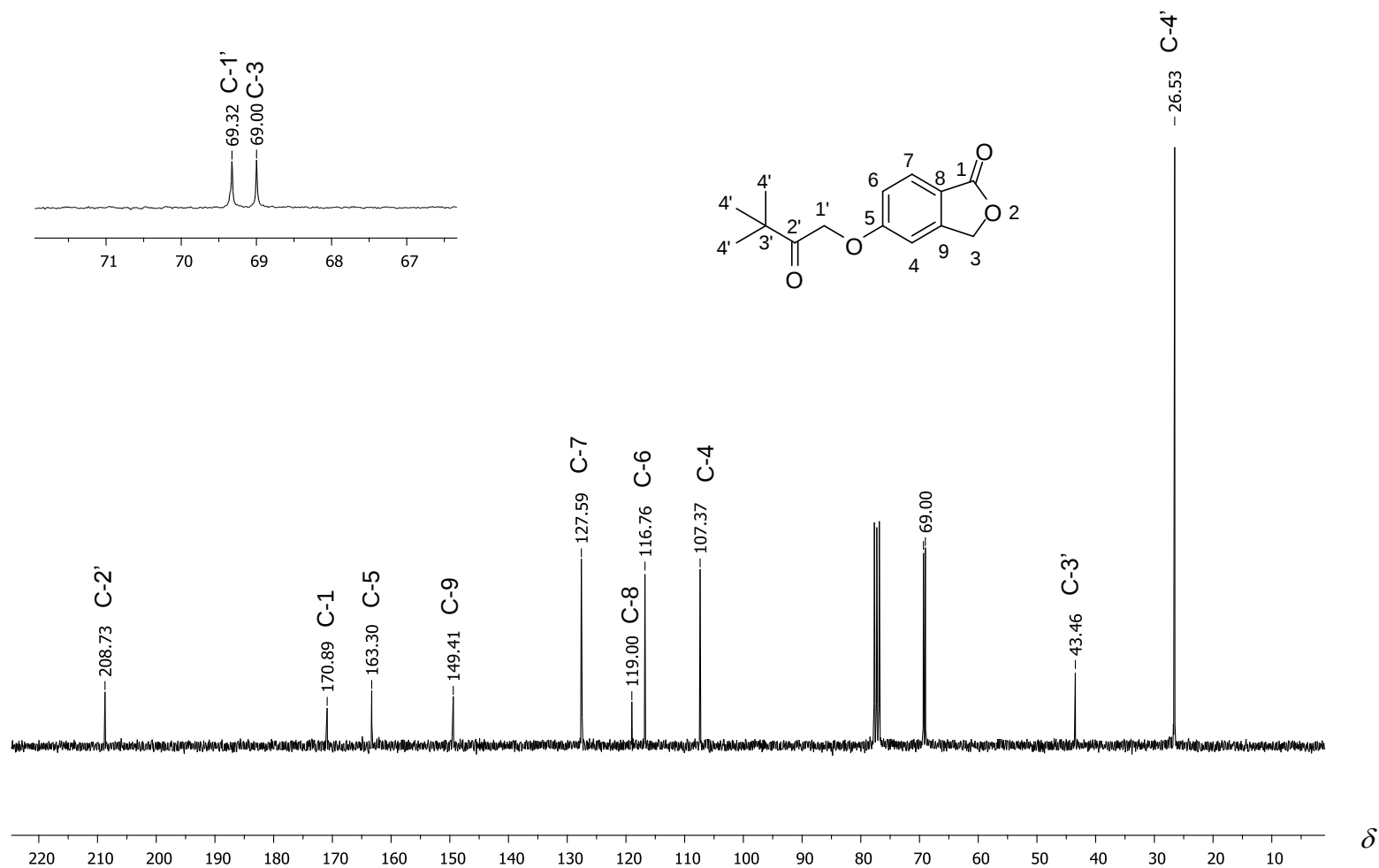


Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**55**).

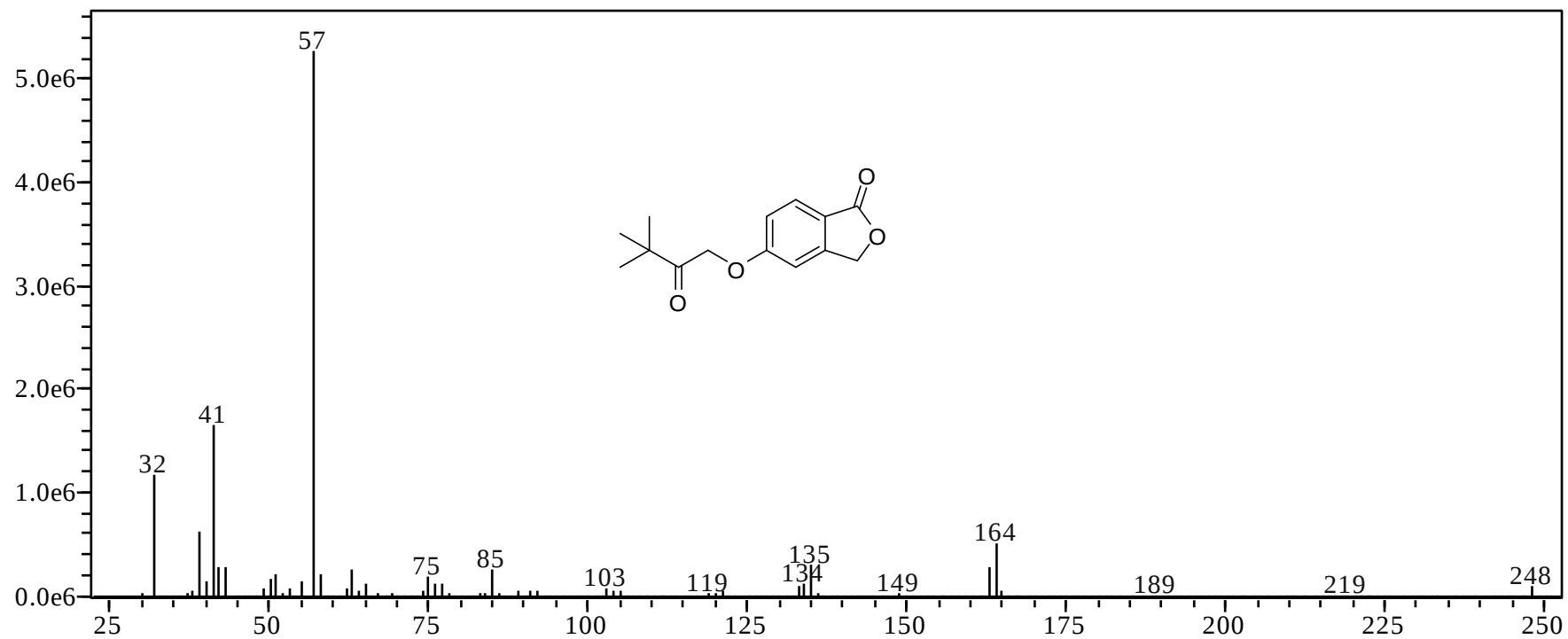
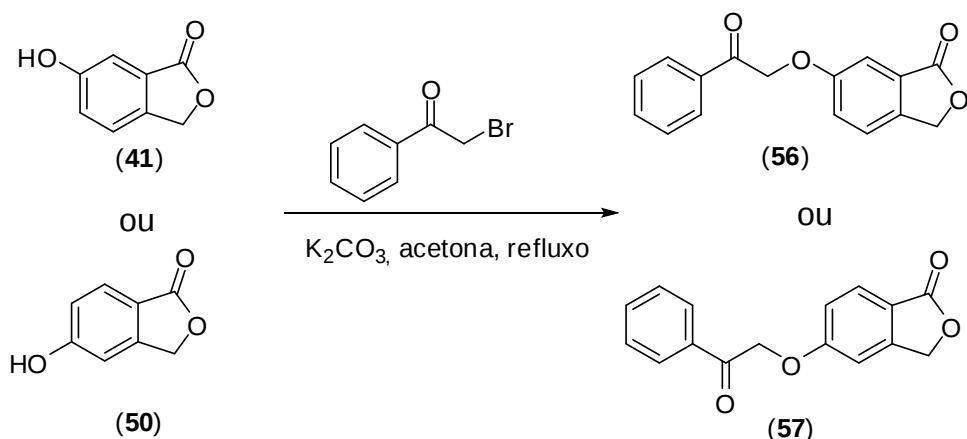


Figura 49 – Espectro de massas da 5-(3,3-dimetil-2-oxobutoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**55**).

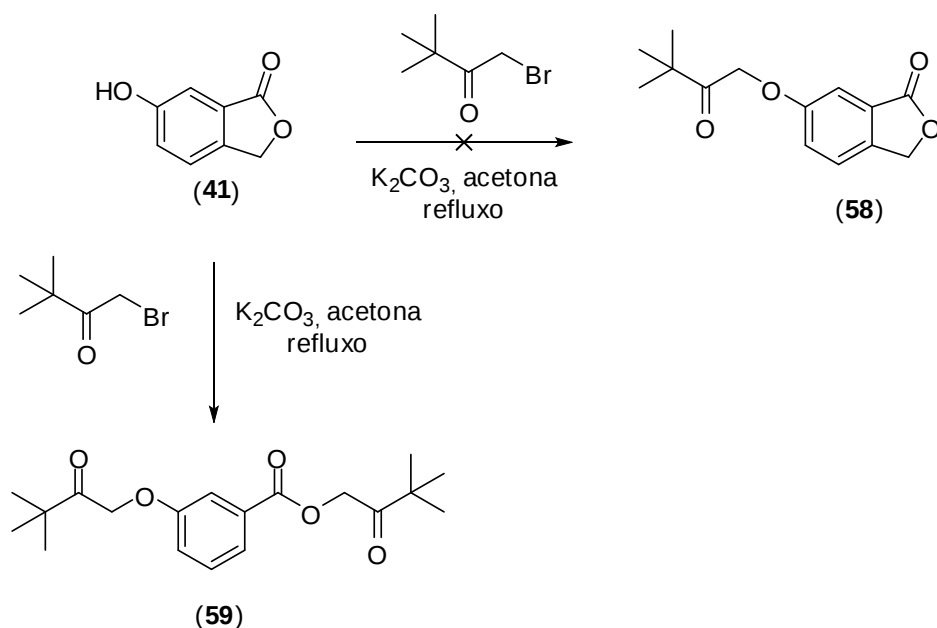
Pela utilização da α -bromo acetofenona como agente de alquilação, foram preparadas as isobenzofuran-1(3*H*)-onas **56** (73% de rendimento) e **57** (82% de rendimento) a partir, respectivamente, das fitalidas **41** e **50**, conforme mostrado no Esquema 13.



Esquema 13 – Síntese das substâncias **56** e **57**.

A α -bromo acetofenona foi preparada conforme metodologia previamente descrita na literatura (CUSATI, 2008). A descrição dos procedimentos experimentais para a síntese de **56** e **57** bem como a descrição de seus dados espectroscópicos estão apresentando nas seções 2.2.2.15 e 2.2.2.16 (p. 56 e 57) Já os espectros que foram utilizados para caracterização estrutural dessas isobenzofuran-1(3*H*)-onas estão apresentados nas Figuras 27 a 32 do Anexo I.

Um fato inesperado ocorreu durante a reação entre a substância **41** e a 1-bromo-3,3-dimetilbutan-2-ona (Esquema 14, p.125). Esperava-se que fosse obtido o produto **58**. No entanto, a substância **59**, resultante da alquilação do grupo hidroxila e da abertura do anel lactônico, foi obtida com 59% de rendimento.



Esquema 14 – Obtenção do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutila (**59**) a partir da isobenzofuran-1(3H)-ona (**41**).

Os dados espectroscópicos estão em completo acordo com a estrutura do composto **59**. Assim, no espectro no infravermelho (Figura 50, p.126) foram observadas duas bandas em 1701 e 1754 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos, respectivamente, dos grupos carbonila da função éster e da função cetona.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 51, p.127) foram observados quatro sinais na região de hidrogênios aromáticos, δ_{H} 7,18 (ddd, 2H, $J = 8,4$; $J = 2,7$; $J = 0,9$ Hz; H-4); δ_{H} 7,40 (dd, 2H, $J = 8,4$; 7,8 Hz; H-5); δ_{H} 7,51 (dd, 2H, $J = 2,7$; 1,2 Hz; H-2); δ_{H} 7,65 (ddd, 2H, $J = 7,8$, $J = 2,4$, $J = 1,2$ Hz; H-6), típicos para um anel aromático 1,3-dissubstituído. Os dois simpletos observados em δ_{H} 1,23 e 1,25 e integrados para 18 átomos de hidrogênio estão em acordo com a presença de dois grupos *t*-butila na estrutura de **59**. Os simpletos em 5,10 e 5,21 foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos H-1' e H-6'.

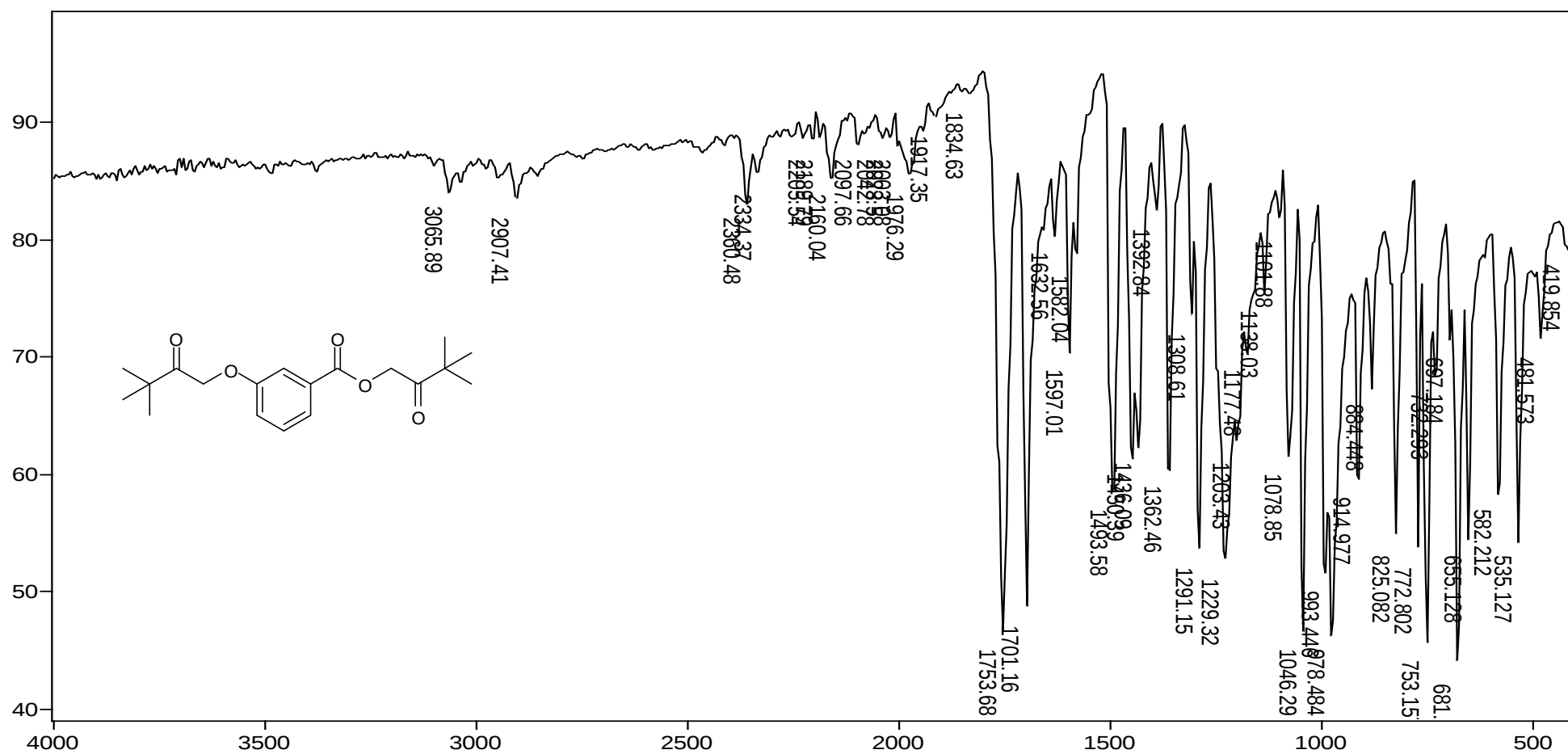


Figura 50 – Espectro no infravermelho (ATR) do do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutila (**58**).

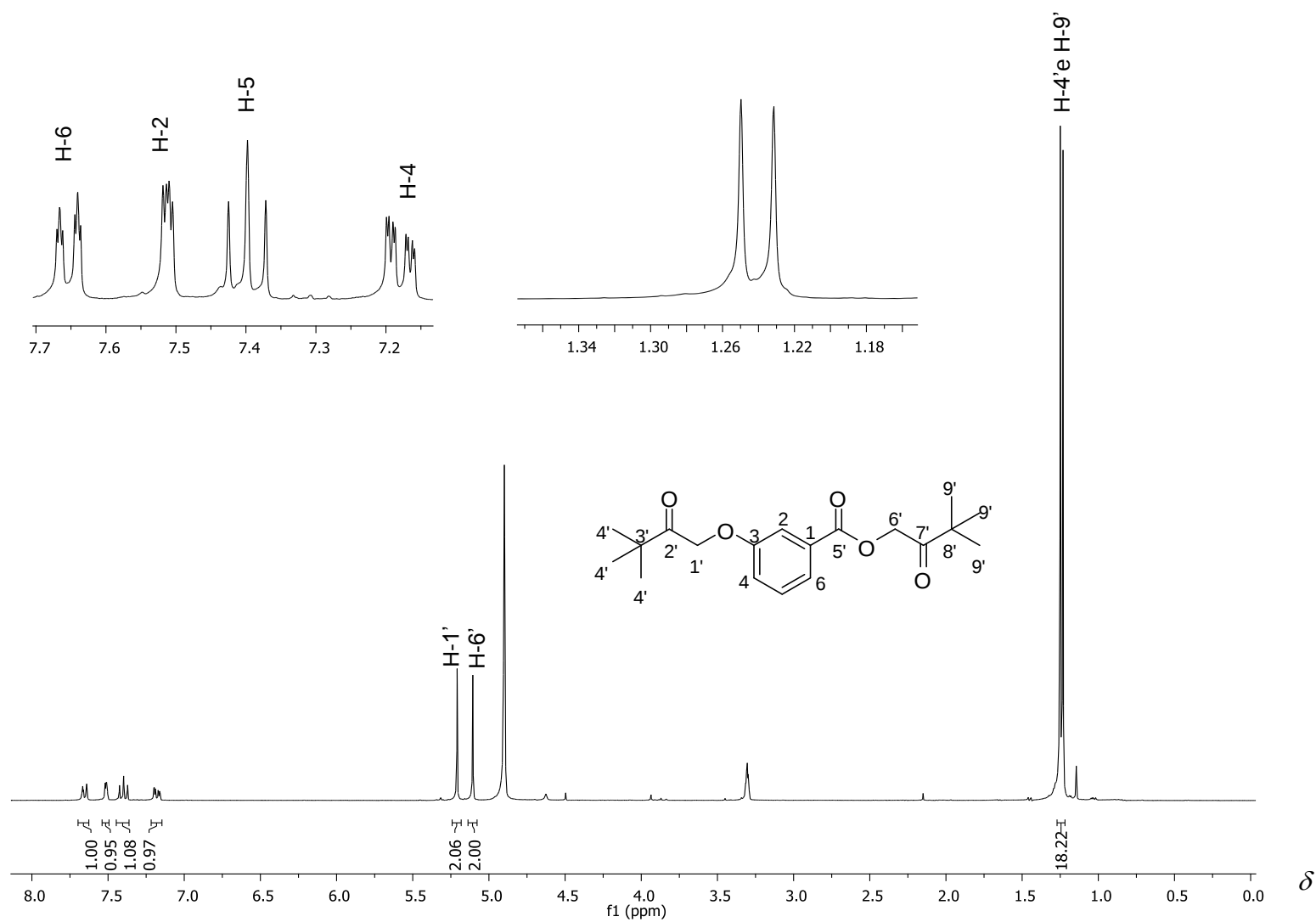


Figura 51 – Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutila (**58**).

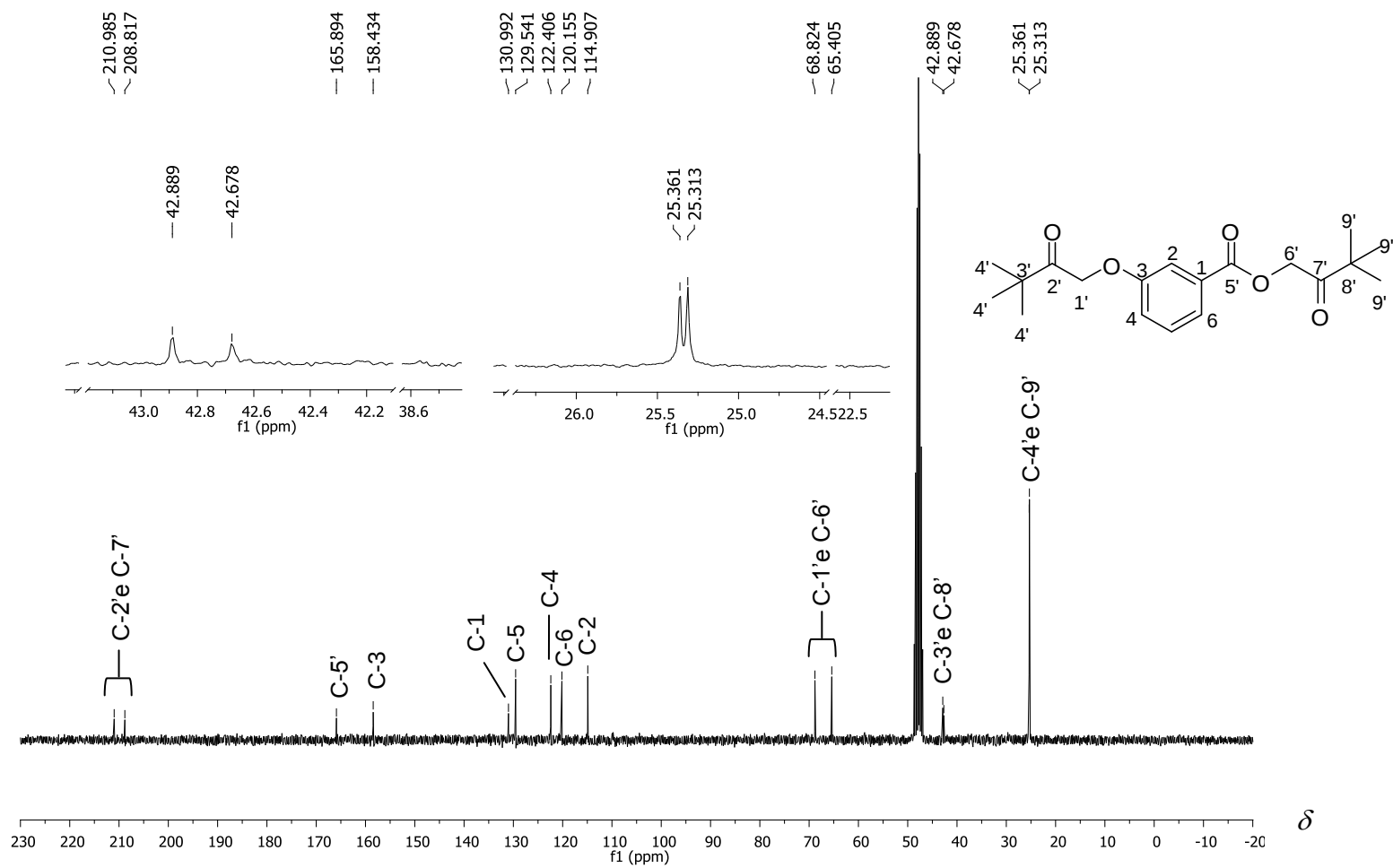
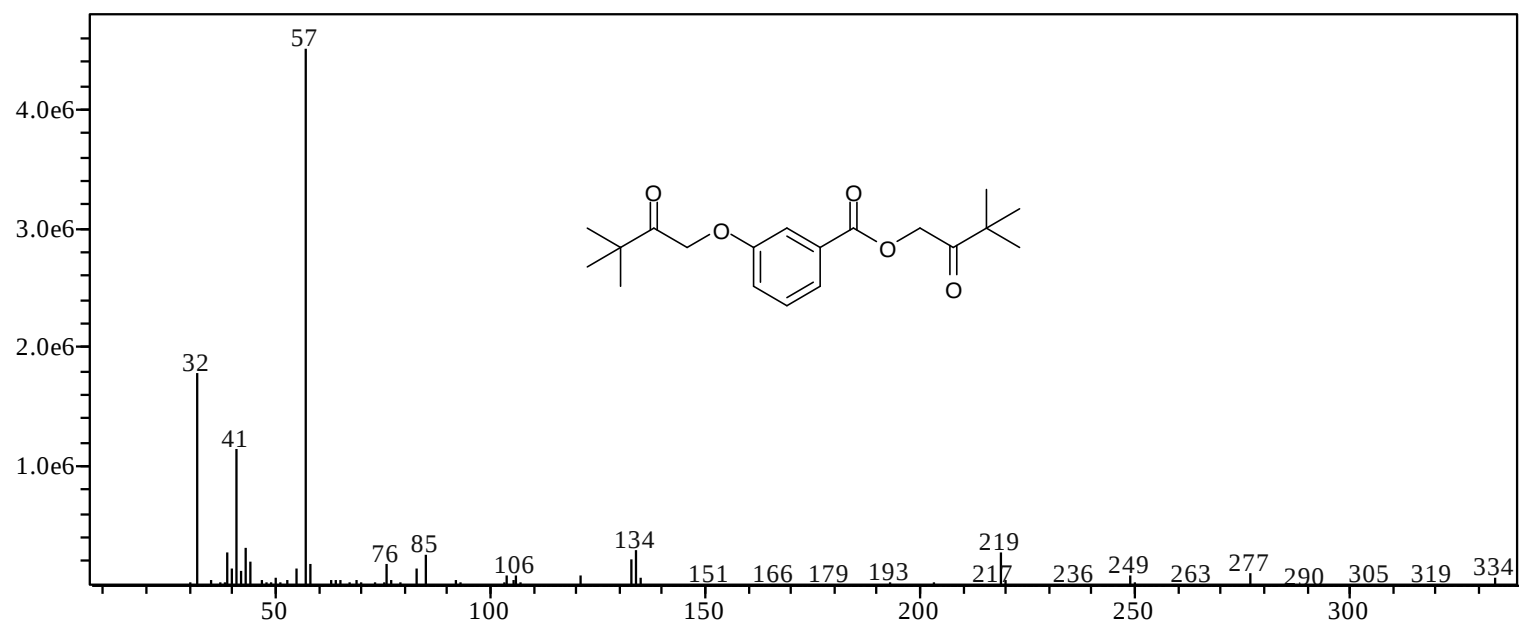


Figura 52 – Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz, CD_3OD) do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutila (**58**).



<i>m/z</i>	Intensidade (%)
334	1
277	4
249	3
219	9
134	7
85	7
57	100
41	25

Figura 53 – Espectro de massas do 3-(3,3-dimetil-2-oxobutoxil)-3,3-dimetil-2-oxobutila (**58**).

No espectro de ^{13}C -RMN (Figura 52, p.128) os sinais em δ_{C} 211,0 e 208,9 foram atribuídos aos carbonos dos grupos carbonila δ_{C} C-2'e C-7'. Já o sinal para o carbono carbonílico C-5' foi observado em 165,9. O conjunto de sinais em δ_{C} 131,0; 129,5; 122,4; 120,2 e 114,9 foram associados aos carbonos aromáticos. Dois sinais apresentando deslocamentos químicos muito similares em δ_{C} 68,8 e 65,4 foram relacionados aos carbonos metilênicos C-1' e C-6'. Os carbonos dos grupos *t*-butila foram observados em δ_{C} 42,9; 42,7; 25,4 e 25,3.

No espectro de massas (Figura 53, p.129), o pico em m/z 334 suporta a fórmula molecular de **59** ($\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_5$).

4. CONCLUSÕES

Descreveram-se neste capítulo as etapas envolvidas na preparação de uma série de isobenzofuran-1(3*H*)-onas, todas inéditas, inspiradas na estrutura da fitotoxina **25** (p.33). Para alcançar a síntese dessas substâncias foram utilizadas metodologias bem estabelecidas na literatura tais como reações de *orto*-alquilação de ácidos benzóicos catalisada por paládio, reações de *O*-alquilação e adições à ligação dupla. Alguns subprodutos foram isolados com o propósito de se investigar seu efeito *in vitro* sobre o transporte de elétrons na reação de Hill (vide Capítulo III). Pode-se afirmar que, de um modo geral, os compostos sintetizados foram obtidos com bons rendimentos.

Todas as substâncias descritas neste capítulo foram completamente caracterizadas via espectroscopia no IV e de RMN, bem como espectrometria de massas. Além disso, quando foi possível a obtenção de monocristais, algumas isobenzofuran-1(3*H*)-onas foram investigadas por difração de raios-X.

Embora todas apresentem estrutura planar, diferenças marcantes quanto ao empacotamento cristalino dessas substâncias foram verificadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNONE, A.; ASSANTE, G.; NASINI, G.; STRADA, S.; VERCESI, A.

Cryphonectric acid and other minor metabolites from a hypovirulent strain of *Cryphonectria parasítica*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 48-50, 2002.

BRUCKNER, R. *Advanced Organic Chemistry – Reaction Mechanisms*.

Chapter 14, p. 600, 2002.

CARDOZO, J. A.; BRAZ-FILHO, R.; RINCÓN-VELANDI, J.; GUERRERO-

PABÓN, M. F. *Revista Col. Cienc. Quím. Farm* , v. 34, p. 69-76, 2005.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic*

Chemistry. Oxford University Press: United Kingdom, 2001a, Chapter 22, p. 575.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic*

Chemistry. Oxford University Press: United Kingdom, 2001b, Chapter 17, p. 434.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic*

Chemistry. Oxford University Press: United Kingdom, 2001c, Chapter 20, p. 507.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic*

Chemistry. Oxford University Press: United Kingdom, 2001d, Chapter 20, p. 515.

COREY, E. J.; CHELG, X.-M. *The logical of chemical synthesis*. John Wiley &

Sons: New york, 1995. 436p.

- CUSATI, R. Síntese e Fitotoxicidade de Ozonídeos Substituídos Derivados de 8-oxabicyclo [3.2.1]Oct-6-en-3-onas. DISSERTAÇÃO, Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- DE ALMEIDA CHAVES, D. S.; COSTA, S. S.; DE ALMEIDA, A. P.; FRATTANI, F.; ASSAFIM, M.; ZINGALI, R. B. Metabólitos secundários de origem vegetal: uma fonte potencial de fármacos antitrombóticos. *Química Nova*, v. 33, p. 172-180, 2010.
- DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; VEIGA, T. A. M.; BARRETO, R. W.; KING-DIAZ, B.; LOTINA-HENNSEN, B. Phytotoxic constituents from *Nimbya alternantherae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 34, p. 790-795, 2006.
- FRESENIUS, W., HUBER, J. F. K.; PUNGOR, E.; RECHNITZ, G. A.; SIMON, W.; WEST, TH. S.; Eds. Tabelas of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds – ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, IR, MS, UV/VIS, Springer-Verlag, 1989.
- HOLMEBERG, K.; HANSEN, B. Methylene diesters of carboxylic acid from dichloromethane. *Tetrahedron Letters*, v. 27, p. 2303-2306, 1975.
- HUANG, X.-Z.; ZHU, Y.; GUAN, X.-L.; TIAN, K.; GUO, J.-M.; WANG, H.-B.; FU, G.-M. A novel antioxidant isobenzofuranone derivative from fungus *Cephalosrium* sp.AL031. *Molecules*, v. 17, p. 4219-4224, 2012.
- JÜTTEN, P.; SCHUMANN, W.; HÄRTL, A.; DAHSE, H.-M.; GRÄFE, U. Thiosemicarbazones of formyl benzoic acids as novel potent inhibitors of estrone sulfatase. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 50, p. 3661-3666, 2007.

- LAROCK, R. C.; FELLOWS, C. A. Synthesis of aromatic carbonyl compounds via thallation-carbonylation of arenes. *Journal of the American Chemical Society*, v. 104, p. 1900-1907, 1982.
- LOGRADO, L. P. L.; SANTOS, C. O.; ROMEIRO, L. A. S.; COSTA, A. M.; FERREIRA, J. R. O.; CAVALCANTI, B. C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; DOS SANTOS, M. L. Synthesis and cytotoxicity screening of substituted isobenzofuranones designed from anacardic acids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 3480-3489, 2010.
- MA, F.; GAO, Y.; QIAO, H.; HU, X.; CHANG, J. Antiplatelet activity of 3-butyl6-bromo-1(3H)-isobenzofuranone on rat platelet aggregation. *Journal of Thromb Thrombolysis*, v. 33, p. 64-73, 2012.
- MAES, D.; SYNGEL, K. V.; DEBENEDETTI, S.; De KIMPE, N. Synthesis of purpurasol, a highly oxygenated coumarin from *Pterocaulon purpurascens*. *Tetrahedron*, v. 62, p. 4426-4429, 2006.
- NAPOLETANO, M.; NORCINI, G.; PELLACINI, F.; MARCHINI, F.; MORAZZONI, G.; FERLENGA, P.; PRADELLA, L. Phthalazine PDE4 Inhibitors. Part 2: The synthesis and biological evaluation of 6-methoxy-1,4-disubstituted derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 11, p. 33-37, 2001.
- NUMATA, A.; ONO, K.; IRIE, H.; UEO, S. Synthesis of pyrolysis products of bisdehydrodihydroenmein. I. Synthesis of 6-hydroxy-7-methylphthalide and 2-(hydroxymethyl)-6,6-dimethyl-5-oxo-1-cyclohexenecarboxylic acid lactone. *Yakugaku Zasshi*, v. 88, p. 1151-1162, 1968.

- PENG, Y.; ZENG, X. K.; FENG, Y. P.; WANG, X. L. Antiplatelet and antithrombotic activity of L-3-n-butylphthalide in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v. 43, p. 876-881, 2004.
- PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, Oxford: Pergamon Press, 1998.
- SHODE, F. O.; MAHOMED, A. S.; ROGERS, C. B. Typhphthalide and typharin, two phenolic compounds from *Typha capensis*. *Phytochemistry*, v. 61, p. 955-957, 2002.
- SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1994.
- STROBEL, G.; FORD, E.; WORAPONG, J.; HARPER, J.K.; ARIF, A. M.; GRANT, D. M.; FUNG, P. C. W.; CHAU, R. M. W. Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiosis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry*, v. 60, p. 170-183, 2002.
- WANG, Z.-L.; WEI, L.-H.; LI, M.-X.; WANG, J.-P. Synthesis, crystal structure and theoretical investigation of two infinite supramolecular compounds. *Journal of Molecular Structure*, v. 879, p. 150-155, 2008.
- YANG, H.; HU, G.-Y.; CHEN, J.; WANG, Y.; WANG, Z.-H. Synthesis, resolution, and antiplatelet activity of 3-substituted 1(3H)-isobenzofuranone. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 17, p. 5210-5213, 2007.
- YOGANATHAN, K.; ROSSANT, C.; NG, S.; HUANG, Y.; BUTLER, M. S.; BUSS, A. D. 10-methoxydihydrofusicin, fuscinarin, and fusicin, novel antagonists of the human CCR5 receptor from *Oidiodendron griseum*. *Journal of Natural Products*, v. 66, p. 1116-1117, 2003.

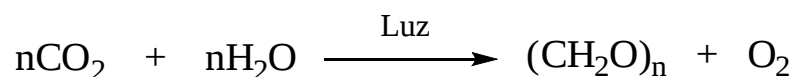
ZHANG, Y.-H.; SHI, B.-F.; YU, J.-Q. Palladium(II)-catalyzed *ortho* alkylation of benzoic acids with alkyl halides. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 48, p. 6097-6100, 2009.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE O TRANSPORTE DE ELÉTRONS FOTOSSINTÉTICO DAS ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS

3.1. INTRODUÇÃO

O termo fotossíntese significa literalmente construção ou síntese pela luz. Neste importante processo, as plantas e outros organismos fotossintetizantes utilizam uma complexa série de reações químicas de transferência de elétrons para capturar a energia luminosa e armazená-la na forma de ATP e NADPH. A energia acumulada no processo é, subsequentemente, utilizada para produção de carboidratos e outras substâncias a partir do gás carbônico e de um doador de hidrogênio, que geralmente é a água. Simultaneamente, ocorre liberação de oxigênio na atmosfera que é utilizado pelos seres heterotróficos, e pelas próprias plantas, para a degradação de produtos ricos em energia durante a respiração, o que resulta na produção de CO₂ e água. Este CO₂ formado retorna à atmosfera e pode ser novamente utilizado no processo fotossintético. Considerando a água como doador de elétrons, a equação geral para fotossíntese, na qual é aproveitada a energia solar, pode ser escrita como mostrada a seguir:



Assim, a luz solar é a fonte de energia propulsora que permite a continuidade deste ciclo CO₂ e oxigênio na atmosfera. Todas as formas de vida no planeta Terra requerem energia para o crescimento e manutenção. As algas, as plantas superiores e certas bactérias captam essa energia diretamente da radiação solar e a utilizam para a síntese de alimentos

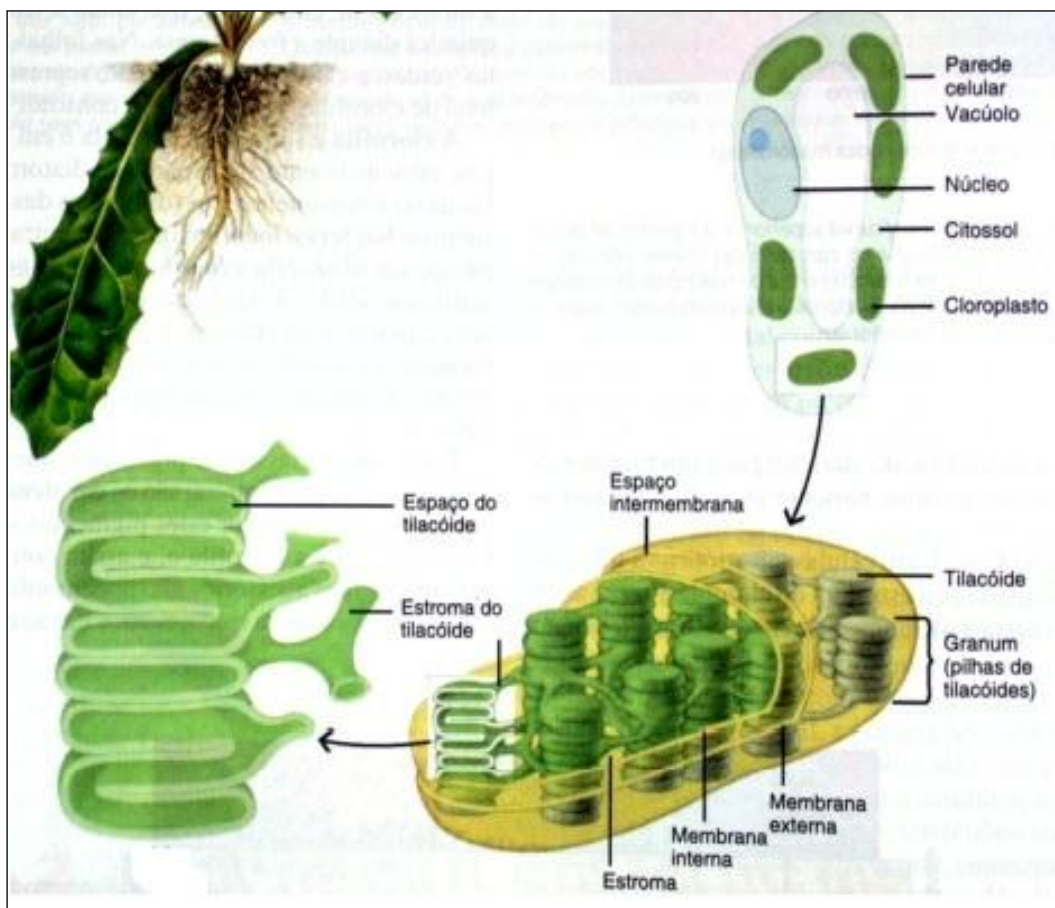
essenciais. Os animais não podem usar a luz solar diretamente como fonte de energia. Eles obtêm energia alimentando-se de vegetais ou de outros animais que ingerem plantas. Portanto a fotossíntese é essencial para a manutenção de todas as formas de vida no planeta (HALL, 1980).

As plantas verdes e cianobactérias utilizam a água como doadora de átomos de hidrogênio para redução do dióxido de carbono com concomitante formação de carboidratos [representados na equação anterior pela fórmula geral $(CH_2O)_n$] e liberação de oxigênio. No entanto, as bactérias empregam outros doadores de hidrogênio (NELSON e COX, 2002). Por exemplo, as bactérias sulfurosas verdes (*Chlorobacteriaceae*), crescem utilizando sulfeto de hidrogênio e, em certos casos, tiosulfato como doador de elétrons.

Apresenta-se neste capítulo uma breve discussão do processo fotossintético com ênfase para a ocorrência desse processo em plantas superiores. Serão ainda descritos os resultados dos ensaios biológicos realizados com diferentes isobenzofuran-1(3*H*)-onas (e alguns subprodutos isolados durante suas sínteses, vide Capítulo 2) para avaliar seu potencial como inibidores do transporte de elétrons da fotossíntese.

3.2. O local de ocorrência da fotossíntese nos vegetais: os cloroplastos

Nas plantas fotossintetizantes, os eventos envolvidos na fotossíntese ocorrem em organelas celulares denominadas cloroplastos (Figura 1).



Fonte: <http://www.infoescola.com/biologia/fotossintese/>

Figura 1 – Estrutura dos cloroplastos.

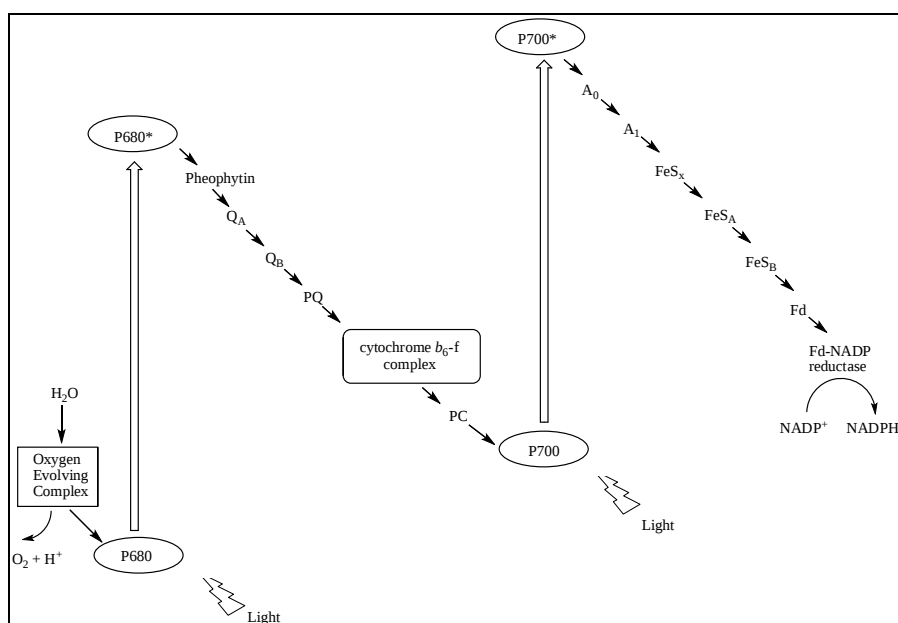
Essas organelas apresentam uma membrana externa e uma interna, que circundam o estroma. No estroma são encontradas muitas vesículas achatadas, envolvidas por membranas e que são denominadas de tilacóides. Estes se encontram altamente associados e usualmente empilhados (Figura 1, p. 138). Cada pilha individual é denominada de granum (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Nas membranas dos tilacóides são encontrados todos os pigmentos fotossintetizantes e todas as enzimas necessárias para as reações que dependem da luz. Essas reações, conjuntamente, são denominadas de etapa fotoquímica da fotossíntese. Deve ser também destacado que a maior parte das enzimas requeridas no processo de fixação do CO_2 para produção de carboidratos é encontrada no estroma. As reações químicas envolvidas nesse

processo constituem a chamada etapa bioquímica da fotossíntese, que, embora possa ocorrer na ausência de luz, depende do poder redutor produzido na etapa fotoquímica (HALL, 1980).

3.3. O Esquema Z da Fotossíntese

Na Figura 2 (p.140) está representado o chamado *Esquema Z da fotossíntese*, que corresponde à sequência de reações empregadas pelos vegetais fotossintetizantes para converter a energia luminosa em energia química.



Fonte: TEIXEIRA *et al.*, 2012.

Figura 2 – Esquema Z da fotossíntese.

Nesse processo, os fotossistemas I (P700) e II (P680) são ligados por uma cadeia transportadora de elétrons. Os fotossistemas operam física e quimicamente separados, cada um contendo seus próprios pigmentos antena e centros de reação fotoquímica. Os pigmentos antena e os centros de reação

fotoquímica são responsáveis pela captura da energia química que será utilizada para excitação de elétrons.

A sequência de eventos que ocorrem pode ser resumidamente descrita como se segue (NELSON e COX, 2002; TAIZ e ZEIGER, 2006).

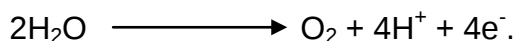
No centro de reação fotoquímica do fotossistema I (P700), uma molécula de clorofila ligada a uma proteína específica é excitada pela luz capturada pelos pigmentos dos complexos antena. Esse processo de excitação resulta na transferência de um elétron da molécula de clorofila para um primeiro aceptor de uma cadeia transportadora de elétrons. Acredita-se que este primeiro aceptor seja uma clorofila (A₀) e o aceptor seguinte, uma molécula de quinona (A₁), Figura 2, p.140. Em seguida, este elétron é transferido para uma série de proteínas sulfurosas ligadas à membrana dos tilacóides. O elétron, então, é transferido para uma ferridoxina (Fd). Numa etapa subsequente, uma flavo-proteína chamada ferridoxina-NADP oxirredutase (FNR) reduz o NADP⁺ a NADPH. É importante destacar que o NADPH assim produzido será utilizado no processo de fixação do CO₂, que ocorre no estroma e produz carboidratos.

Como consequência do processo de transferência de elétrons do centro de reação do fotossistema I para o aceptor de elétrons A₀, há uma deficiência eletrônica no fotossistema I, a qual é preenchida via elétrons que chegam do fotossistema II por intermédio de outra cadeia transportadora de elétrons.

Assim, a clorofila do centro de reação do fotossistema II também absorve energia oriunda dos pigmentos antena e transfere um elétron para o primeiro aceptor da cadeia de transporte de elétrons que conecta os dois fotossistemas. Esse primeiro aceptor corresponde a uma molécula de feofetina

(este primeiro acceptor foi representado por *Pheophytin* na Figura 2, p.140). Este acceptor, por sua vez, transfere o elétron para os receptores Q_A e Q_B que são plastoquinonas. O complexo citocromo b_6f recebe o elétron da substância Q_B e o transfere para a plastocianina, uma proteína solúvel que, então reduz o fotossistema I oxidado.

A vacância eletrônica do fotossistema II é preenchida pelos elétrons provenientes da oxidação da água, promovida pelo complexo liberador de oxigênio (*Oxygen Evolving Complex* na Figura 2, p.140) com concomitante produção de O_2 segundo a equação (p.142):



Embora exista grande quantidade de informação sobre o processo de oxidação da água, não se conhece exatamente o mecanismo pelo qual ele ocorre. Sabe-se, porém, que o manganês é um cofator importante no processo de oxidação da água (RUTHERFORD e FALLER, 2001; McEVOY e BRUDVIG, 2006).

3.3.1. Pigmentos envolvidos na fotossíntese

Na discussão apresentada na seção anterior, foi mencionado que no processo da fotossíntese estão envolvidos pigmentos que são responsáveis pela captação da luz. Conforme descrito anteriormente, nas plantas verdes esses pigmentos estão distribuídos nas membranas dos tilacóides.

Um desses pigmentos é a clorofila *a* (Figura 3, p.144) que está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese oxigênica. As bactérias fotossintetizantes são desprovidas de clorofila *a* e possuem em seu lugar a bacterioclorofila como pigmento fotossintético. A clorofila *a* é o pigmento utilizado para realizar a etapa fotoquímica (o primeiro estágio do processo

fotossintético), enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios. Os principais pigmentos acessórios também incluem outros tipos de clorofilas: clorofila *b* (Figura 3, p.144), presente em vegetais superiores, algas verdes e algumas bactérias; clorofila *c*, em feofitas e diatomáceas; e clorofila *d*, em algas vermelhas.

Outros tipos de pigmentos também atuam no processo de absorção da luz durante o processo fotossintético. Nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos das plantas superiores verdes são encontrados, por exemplo, carotenóides, sendo o β -caroteno e a luteína (Figura 3, p.144) os mais importantes. Estes pigmentos são comumente denominados de pigmentos acessórios ou secundários (NELSON e COX, 2002). Outros exemplos de pigmentos acessórios são as substâncias ficocianobilina e ficoeritrobilina (Figura 3, p.144).

Com respeito às clorofilas *a* e *b* e aos carotenóides, cabe salientar que esses compostos possuem uma cadeia apolar (LEHNINGER, 1991). Essa porção hidrofóbica desempenha papel importante, ancorando e orientando as moléculas dessas substâncias na bicamada lipídica da membrana dos tilacóides. Essa orientação é de importância fundamental no processo fotossintético.

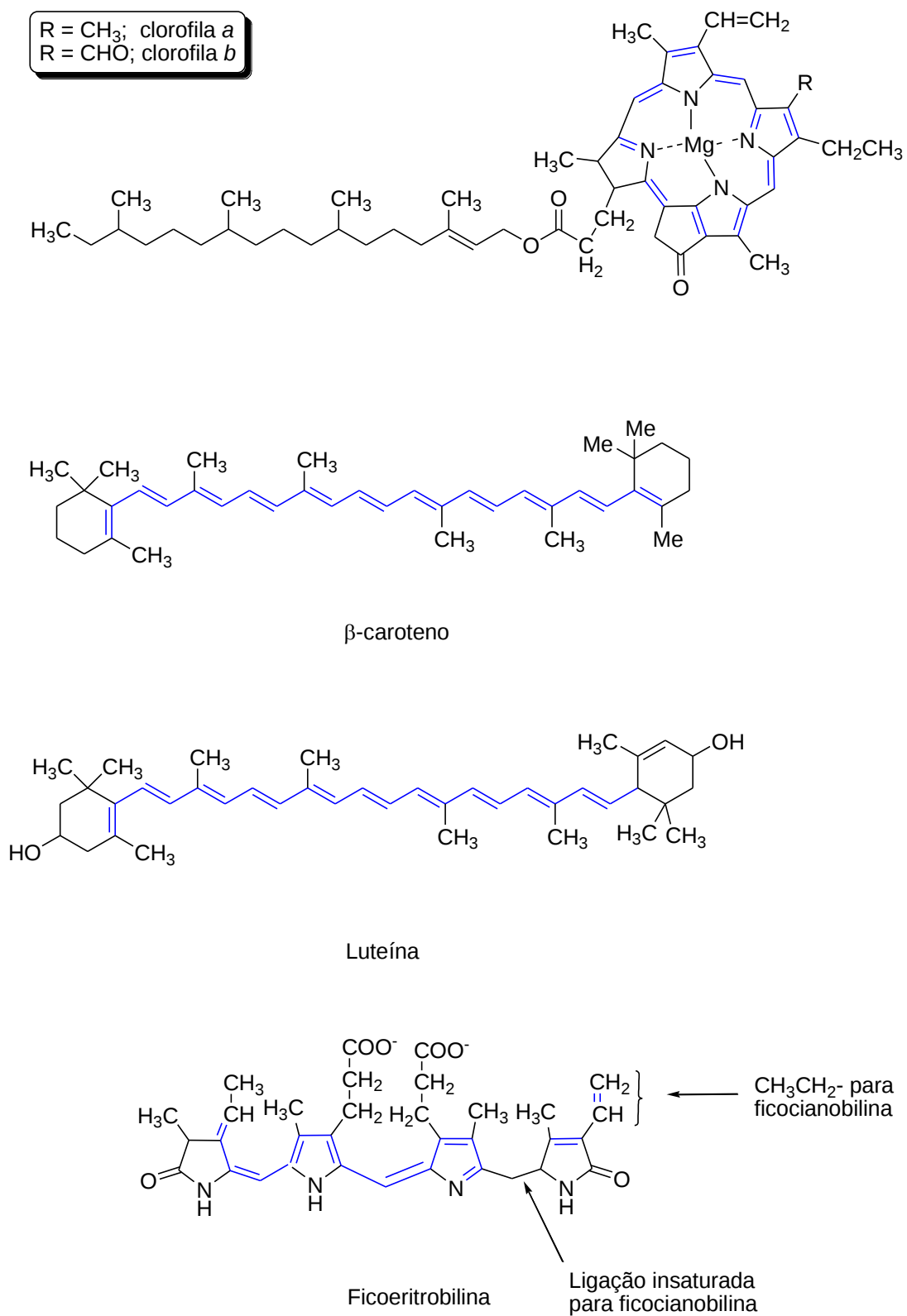
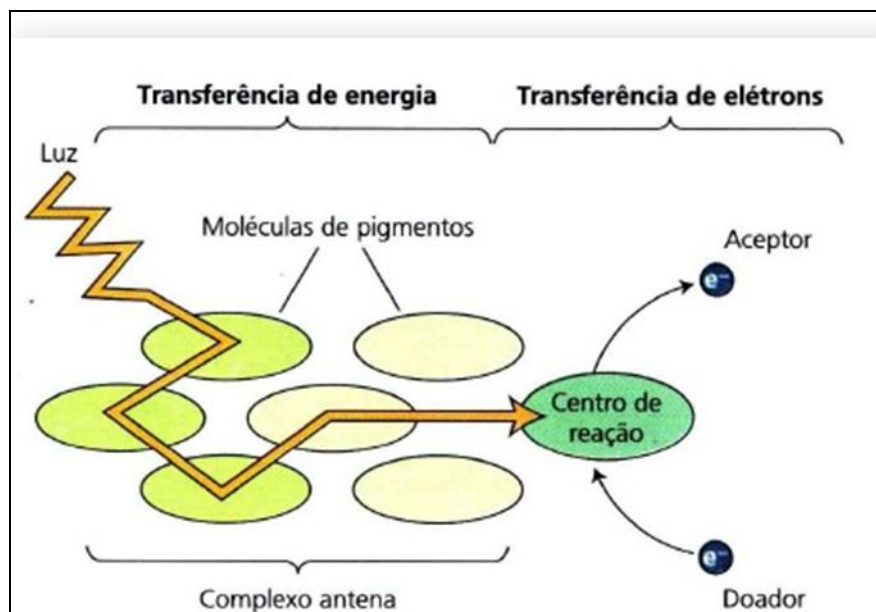


Figura 3 – Estrutura de alguns pigmentos fotossintetizantes.

Nas membranas tilacóides, os pigmentos fotossintetizantes encontram-se organizados em complexos fotoquímicos denominados de fotossistemas I e II. Estes fotossistemas operam em série para realizar a absorção e o armazenamento de energia na fotossíntese. O fotossistema I é maximamente excitado pela luz em comprimentos de ondas maiores e apresenta alta proporção entre moléculas de clorofilas *a* e *b*. Já o fotossistema II é maximamente excitado pela luz abaixo de 680 nm e contém maior proporção de clorofila *b* (LEHNINGER, 1991).

Embora todas as moléculas dos pigmentos fotossintetizantes, nos complexos fotoquímicos, possam absorver energia, há apenas uma molécula que pode de fato converter a energia luminosa em energia química. Esta molécula altamente especializada corresponde a uma molécula de clorofila combinada com uma proteína específica e é denominada de centro de reação fotoquímica. As outras moléculas dos pigmentos nos complexos fotoquímicos estão organizadas em complexos denominados de complexos antena (TAIZ e ZEIGER, 2006). Nesse caso, as moléculas dos pigmentos absorvem a energia luminosa e esta é rapidamente transmitida ao centro de reação fotoquímica (Figura 4, p.145).

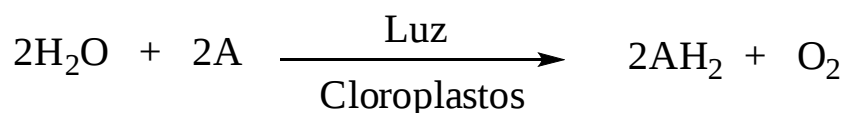


Fonte: TAIZ e ZEIGER (2006).

Figura 4 – Esquema ilustrativo da transmissão da energia luminosa dos complexos antena para o centro de reação fotoquímica.

3.4 A Reação de Hill

Em 1937, Robert Hill, na Universidade de Cambridge, demonstrou que quando preparações contendo cloroplastos, isolados por centrifugação diferencial, eram iluminadas na presença de água e de um aceptor artificial de elétron (aceptor não biológico), ocorria a liberação de oxigênio (NELSON e COX, 2002), conforme mostrado pela equação seguinte



onde A é um receptor não natural de elétrons.

O processo sumariado pela equação anterior é conhecido como reação de Hill e vários aceptores podem ser utilizados tais como íons férricos, benzoquinona e corantes como o 2,6-diclorofenolindofenol (DCFIF). A utilização desse corante como aceptor artificial de elétrons possui a importante

vantagem de permitir uma medida espectrofotométrica da taxa da reação uma vez que as formas oxidada e reduzida do 2,6-diclorofenolindofenol possuem diferentes colorações (Figura 5).

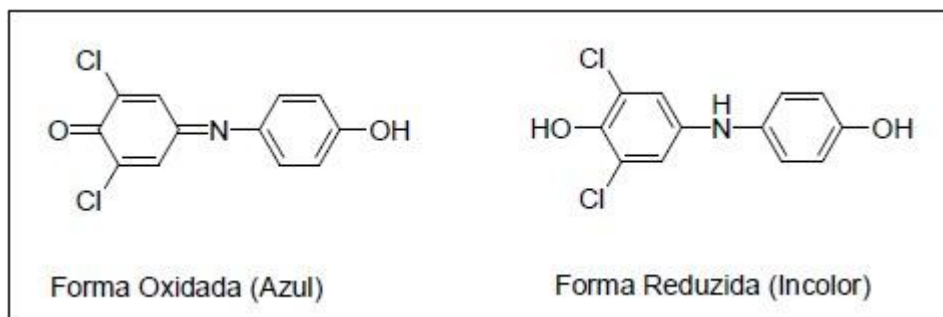


Figura 5 – Formas oxidada e reduzida do corante 2,6-diclorofenolindolfenol.

A importância da reação de Hill está relacionada ao fato de que este pesquisador demonstrou como a absorção de luz induz uma alteração química que resulta na conversão da energia luminosa em energia química. Além disso, Hill também observou em seus experimentos que não havia produção de CO_2 . Essa observação demonstra o fato de que na fotossíntese a liberação de oxigênio pode ser separada da redução do CO_2 .

3.5. Avaliação da atividade fitotóxica das isobenzofuran-1(3H)-onas

A reação de Hill tem sido utilizada para avaliar a habilidade que substâncias possuem de interferir ou não na fotossíntese. Isso porque substâncias que inibem a reação de Hill geralmente provocam inibição do processo de fotossíntese em plantas e podem ser consideradas como estruturas-modelo para o desenvolvimento de novos herbicidas (HANSCH e LEO, 1995).

Como previamente mencionado, a 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**25**) e seu derivado hidrogenado (**26**) (Capítulo

1, p.16) são capazes de inibir *in vitro* o transporte de elétrons da fotossíntese. Considerando esse fato, avaliou-se a potencialidade das substâncias **42-45** e **51-54**, estruturalmente análogas ao composto **25**, de atuarem como inibidores do transporte de elétrons na reação de Hill. Os intermediários sintéticos **39-41** e **48-50** também foram avaliados (Figura 6).

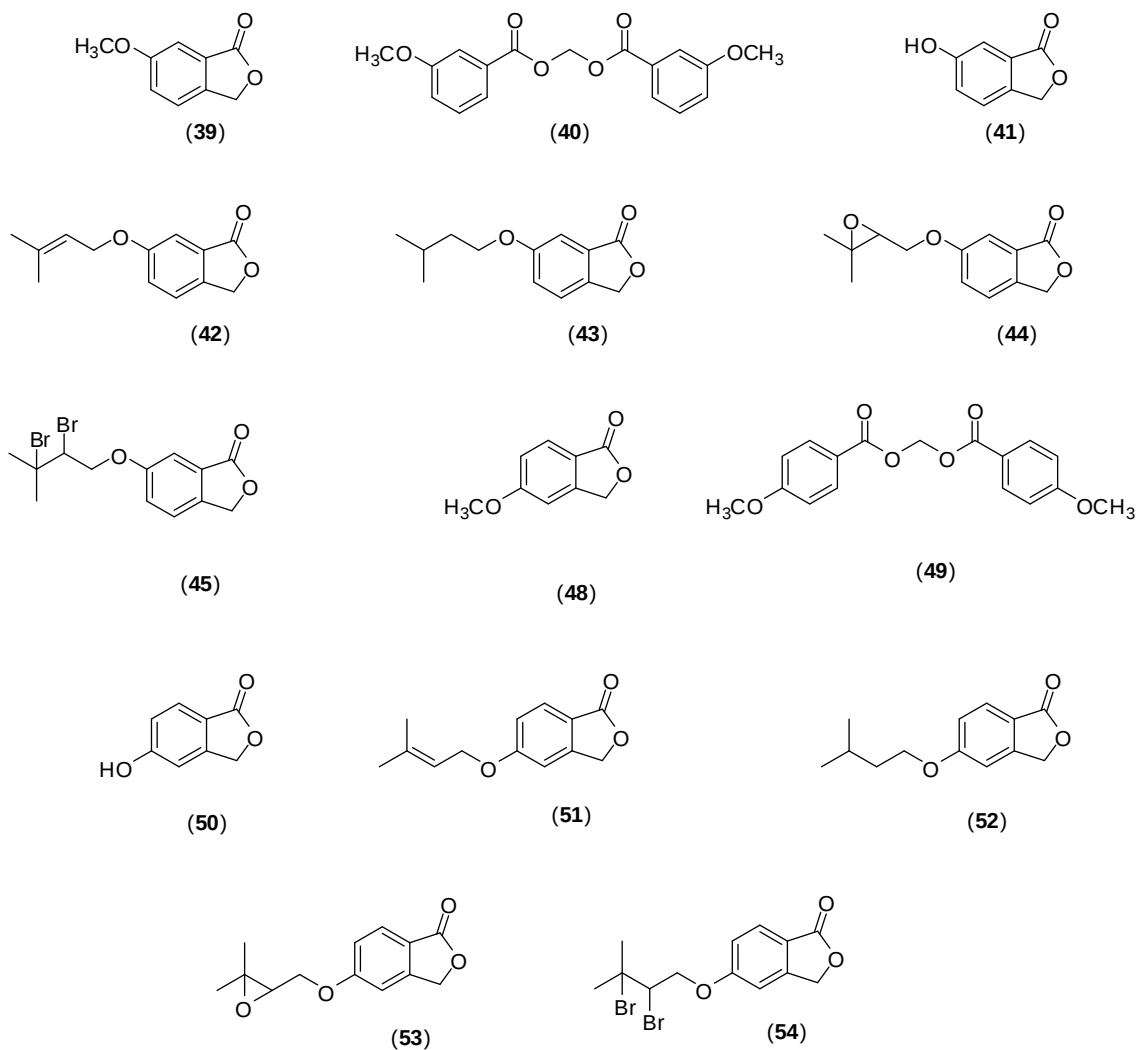


Figura 6 – Estruturas das substâncias avaliadas como potenciais inibidores da fotossíntese.

3.6. Material e Métodos

As substâncias **39-45** e **48-54** (Figura 6, p.148), sintetizadas conforme discutido na Seção 2.2.2 (Capítulo 2, p.36), foram submetidas a testes

biológicos para avaliação de suas atividades como potenciais inibidores *in vitro* da fotossíntese, conforme metodologia descrita a seguir.

3.6.1. Isolamento de cloroplastos

Cloroplastos fotossinteticamente ativos foram extraídos de folhas de espinafre (*Spinacea oleracea* L.), obtidas em supermercados ou feiras livres. Para o processo de extração, folhas livres da nervura central e das extremidades basal e apical foram misturadas com uma solução-tampão 20 mmol L⁻¹ de *N*-tris(hidroximetil)metilglicina (tricina)-NaOH (pH = 8,0; 5 mL de solução/g de material vegetal), previamente resfriada em banho de gelo e contendo 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂ e 0,4 mol L⁻¹ de sacarose. Esse material foi homogeneizado em um liquidificador doméstico por 30 segundos, empregando-se velocidade máxima. O material macerado foi filtrado através de gaze cirúrgica, e o filtrado, centrifugado a 4 °C (1 minuto, 500 g). O sobrenadante foi submetido a nova centrifugação (10 minutos, 1.500 g). Os cloroplastos, contidos no precipitado, foram então ressuspensos em uma solução não-tamponada de sacarose. A suspensão foi imediatamente diluída (proporção de 1:1) com uma solução tamponada de sacarose. A nova suspensão assim obtida foi mantida em banho de gelo e abrigada da luz, sendo utilizada logo após sua preparação. Para determinação do teor de clorofila, alíquotas dessa suspensão foram pipetadas e convenientemente diluídas com acetona 80% (v/v). Após diluição, medidas de absorbância foram feitas nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm. O conteúdo de clorofila foi calculado com base na fórmula de Arnon (HALL, 1980):

$$\text{Clorofila } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})$$

3.6.2. Avaliação da atividade inibitória sobre o transporte de elétrons da fotossíntese

Alíquotas da suspensão de cloroplastos com 20 μg de clorofila foram incubadas a 24 °C em cubetas de 1 mL contendo solução tamponada de tricina-NaOH (pH = 8,0), 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂, 0,2 mol L⁻¹ de sacarose e 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]. A avaliação foi efetuada expondo-se a cubeta a uma luz saturante (800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A taxa de redução do ferricianeto foi medida a 420 nm a cada 30 segundos durante 10 minutos e contra um branco. Atividade foi calculada sobre a porção linear da curva, a partir de coeficiente de extinção molar de 1.000 M⁻¹ cm⁻¹. Nas condições adotadas, o valor para controles não-tratados foi 59,3 $\pm$ 2,0 mmol de ferricianeto reduzido s⁻¹ (mg de clorofila)⁻¹ em 36 preparações independentes de suspensões de cloroplastos.

As substâncias **39-45** e **48-54** foram dissolvidas em DMSO, de modo a obter soluções cujos valores de concentração foram de 50, 100 e 200 mmol L⁻¹. Em seguida, essas soluções foram convenientemente diluídas com água. A avaliação do efeito desses compostos, nas concentrações mencionadas, sobre a reação de Hill, foi conduzida via adição desses compostos às suspensões de cloroplastos preparadas como descrito no item 3.6.1. (p. 149). Para cada valor de concentração utilizado, os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos como porcentagem dos controles não-tratados. A substância **54** foi avaliada numa faixa mais ampla de concentrações do que as previamente mencionadas.

3.7 – Resultados e Discussão

As substâncias apresentadas na Figura 6 (p.148) foram avaliadas no tocante à sua habilidade em interferir ou não no transporte de elétrons, dirigido pela luz, da água para o oxidante não-biológico ferricianeto de potássio (reação de Hill). Na avaliação da atividade biológica foram utilizadas concentrações de 50, 100 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O herbicida comercial diuron foi utilizado como controle positivo. Os resultados são apresentados na Tabela 1 (p.152).

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que, dentre dos 14 compostos submetidos à avaliação da atividade biológica, 8 substâncias (**40**, **42**, **43**, **45**, **48**, **51**, **52** e **54**) reduziram a taxa de transporte de elétrons, dirigido pela luz, na concentração de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Dentre os compostos mais ativos, as isobenzofuran-1(3*H*)-onas **43** e **54** causaram inibição superior a 40%. Quando se considera a concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, apenas 4 compostos (**40**, **43**, **45** e **54**) foram as que apresentaram maiores efeitos inibitórios sobre o transporte de elétrons.

Tabela 1 – Taxa da inibição do transporte de elétrons verificada através da avaliação *in vitro* do efeito de isobenzofuran-1(3*H*)-onas e diésteres sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*^a

Composto	50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	200 $\mu\text{mol L}^{-1}$
39	3,7% $\pm$ 1.3	2,5% $\pm$ 1.0	2,5% $\pm$ 0.5
40	27,6% $\pm$ 0.9	33,8% $\pm$ 3.9	43,0% $\pm$ 1.1
41	-1,7% $\pm$ 2.9	0,9% $\pm$ 0.8	3,5% $\pm$ 1.5
42	9,7% $\pm$ 2.1	17,2% $\pm$ 4.4	25,0% $\pm$ 4.4
43	13,1% $\pm$ 3.2	26,1% $\pm$ 2.2	41,7% $\pm$ 3.1
44	1,1% $\pm$ 1.7	3,0% $\pm$ 0.1	10,0% $\pm$ 1.8
45	11,4% $\pm$ 3.0	17,6% $\pm$ 1.1	26,0% $\pm$ 1.1
48	7,2% $\pm$ 5.3	10,9% $\pm$ 0.9	29,2% $\pm$ 3.2
49	-13,5% $\pm$ 2.9	-0,9% $\pm$ 2.5	0,0 % $\pm$ 4.9
50	19,8% $\pm$ 2.8	-26,5% $\pm$ 4.7	-43,2% $\pm$ 11.6
51	-0,6% $\pm$ 3.2	12,4% $\pm$ 3.6	17,0% $\pm$ 3.3
52	5,5% $\pm$ 3.3	7,5% $\pm$ 2.5	19,7% $\pm$ 0.4
53	4,1% $\pm$ 7.1	4,9% $\pm$ 7.0	4,2% $\pm$ 8.3
54	53,5% $\pm$ 1.1	61,3% $\pm$ 1.2	65,5% $\pm$ 1.7

^a Atividade determinada conforme metodologia descrita na Seção 3.6 (Material e Métodos, p.149).

Os dados da Tabela 1 mostram que a atividade biológica investigada é sensível à variação do padrão de substituição do grupo alcóxila das isobenzofuran-1(3*H*)-onas. Por exemplo, os dados de atividade para os compostos **43** e **45** na concentração de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ mostram que o derivado dibromado possui menor eficiência em inibir o transporte de elétrons. Além disso, deve ser observado que a posição do grupo alcóxila ligado ao anel aromático também apresenta impacto sobre a atividade biológica. Isso pode ser observado, por exemplo, comparando-se as atividades das substâncias **45**

e **54**; o composto **54** apresenta maior eficiência em todas as concentrações avaliadas.

A substância **54** foi aquela que apresentou maior eficiência com respeito ao efeito inibidor sobre o transporte de elétrons na reação de Hill e sua atividade foi investigada numa faixa mais ampla de concentrações (Figura 7). Com base nesses dados, foi possível determinar o valor de IC_{50} para a atividade biológica investigada como sendo $70 \pm 17 \mu\text{mol L}^{-1}$. Para efeito de comparação, os herbicidas comerciais e inibidores da fotossíntese que foram utilizados como controle nos experimentos de avaliação da atividade biológica, apresentaram valores de IC_{50} variando de 0,1 a $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$.

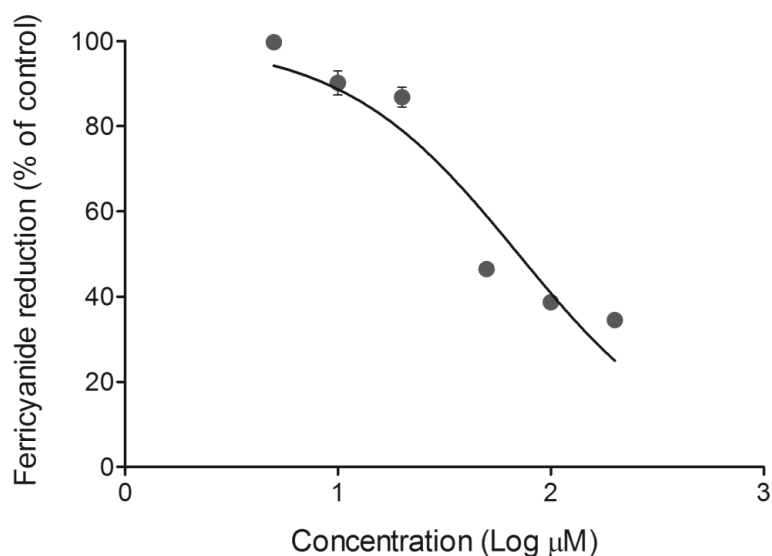


Figura 7 – Efeito da variação da concentração da substância **54** sobre o transporte de elétrons na reação de Hill.

No entanto, no trabalho publicado por DEMUNER e colaboradores (2006) a fitotoxina 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**25**) (Capítulo 1, p.16), atuando como inibidor da reação de Hill, apresentou valor de IC_{50} $66 \mu\text{mol L}^{-1}$. Deste modo, embora o composto **54** apresente apenas

atividade inibitória moderada sobre a reação de Hill, pode-se afirmar que o mesmo apresenta potência similar ao produto natural **25** que serviu como fonte de inspiração para o desenvolvimento deste trabalho de investigação.

3.8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

No presente trabalho demonstrou-se que diversas isobenzofuran-1(3*H*)-onas são capazes de inibir *in vitro*, mesmo de que maneira moderada, o transporte de elétrons da fotossíntese. Concluiu-se que o padrão de substituição dos grupos alcóxila ligados ao núcleo básico isobenzofuran-1(3*H*)-ona é um fator que deve ser considerado quando se leva em conta o grupo de isobenzofuran-1(3*H*)-onas avaliadas. Além disso, a posição do grupo alcóxila ligado ao anel aromático do núcleo isobenzofuran-1(3*H*)-ona desempenha papel importante no tocante à atividade biológica avaliada. Alguns subprodutos e intermediários de síntese foram também capazes de inibir de maneira modesta o transporte de elétrons fotossintético.

Quando se compara as fitoalexinas sintéticas investigadas neste trabalho, observa-se que as mesmas possuem uma simplificação estrutural em relação à estrutura modelo 5-metil-4-metoxi-6-(3-metilbut-2-eniloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**25**). No entanto, foi possível sintetizar um derivado (substância **54**) que apresenta atividade inibitória do transporte de elétrons da fotossíntese comparável à mesma atividade descrita na literatura para a fitotoxina **25**. Assim, é bastante plausível projetar que novas modificações estruturais podem ser realizadas de modo a se obter compostos com maior eficácia no que diz respeito à atividade biológica. Nesse contexto e considerando os resultados dos ensaios de avaliação da atividade inibitória do transporte de elétrons *in*

vitro, pode-se afirmar que novos derivados mais ativos poderão ser preparados variando-se ambos o padrão de substituição do anel aromático e dos grupos alcóxila do núcleo isobenzofuranona.

3.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HALL, D. O. *Fotossíntese*. São Paulo: EPU, 1980. 89 p.

HANSCH, C.; LEO, A. *Exploring QSAR- Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*. Washington, DC: ACS Professional Reference Book, 1995. 557 p.

LEHNINGER, A. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1991. 725 p.

McEVOY, J. P.; BRUDVIG, G.W. Water-splitting chemistry of photosystem II. *Chemical reviews*, v. 106, p. 4455-4483, 2006.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

RUTHERFORD, W.; FALLER, P. The heart of photosynthesis in glorious 3D. *Trends in Biochemical Sciences*, v. 26, p. 341-344, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

TEIXEIRA, R. R.; PEREIRA, J. L.; PEREIRA, W. L. *Photosynthetic Inhibitors*. In: NAJAFPOUR, M. M., (Ed). *Applied Photosynthesis*. Intech: Croácia, 2012, p. 1-22.

ANEXO I

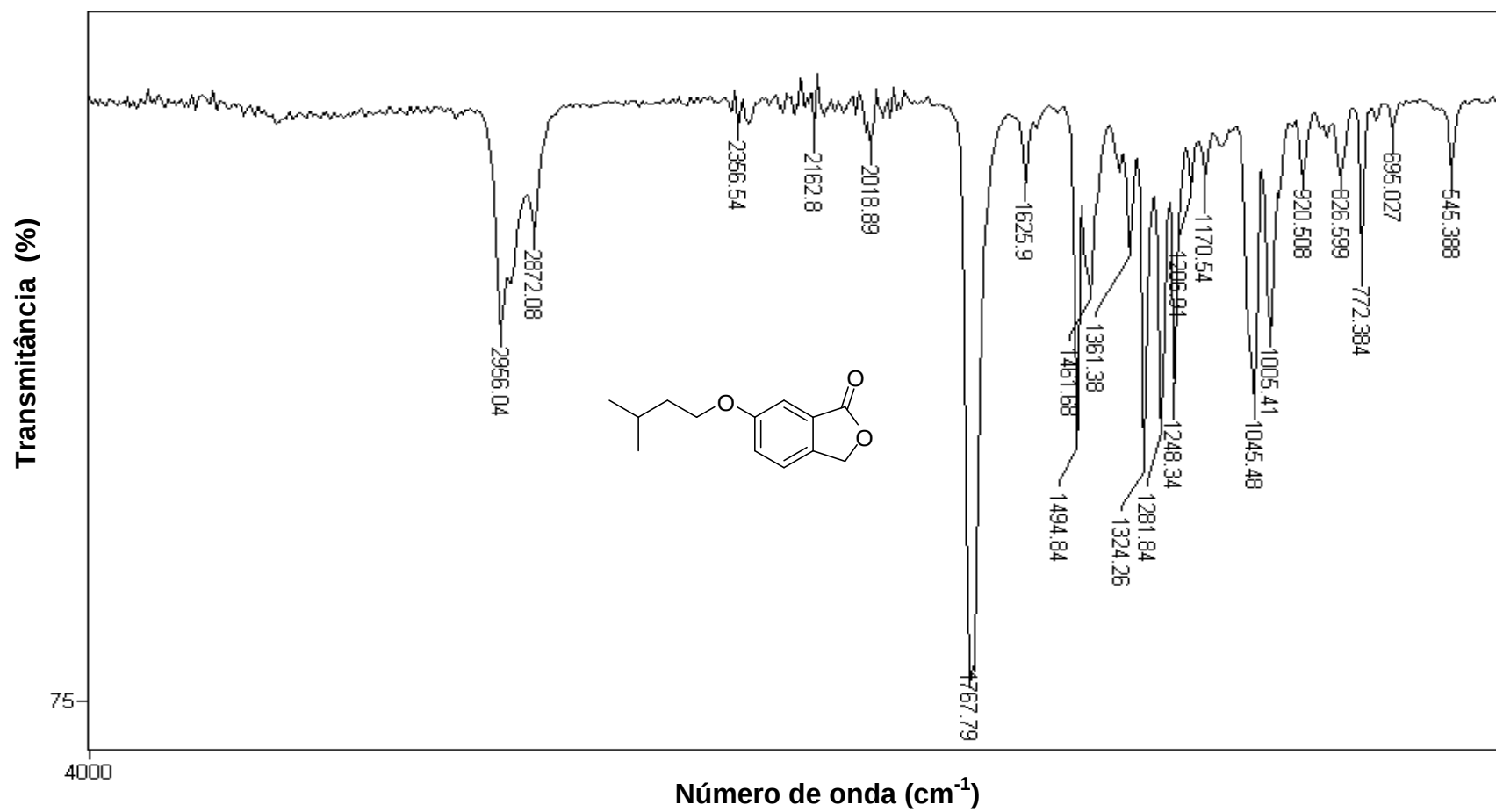


Figura 1 – Espectro no infravermelho (ATR) da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (43).

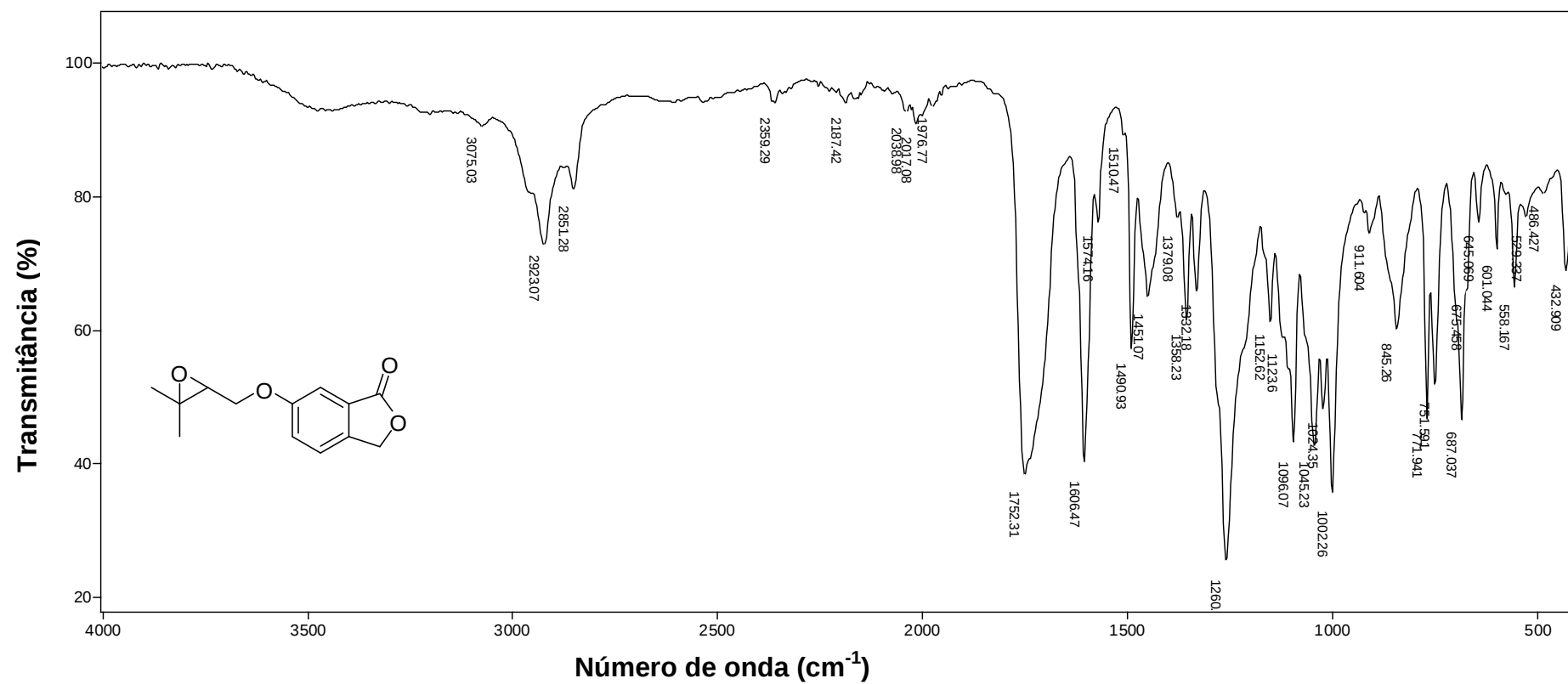


Figura 2 – Espectro no infravermelho (ATR) da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**44**).

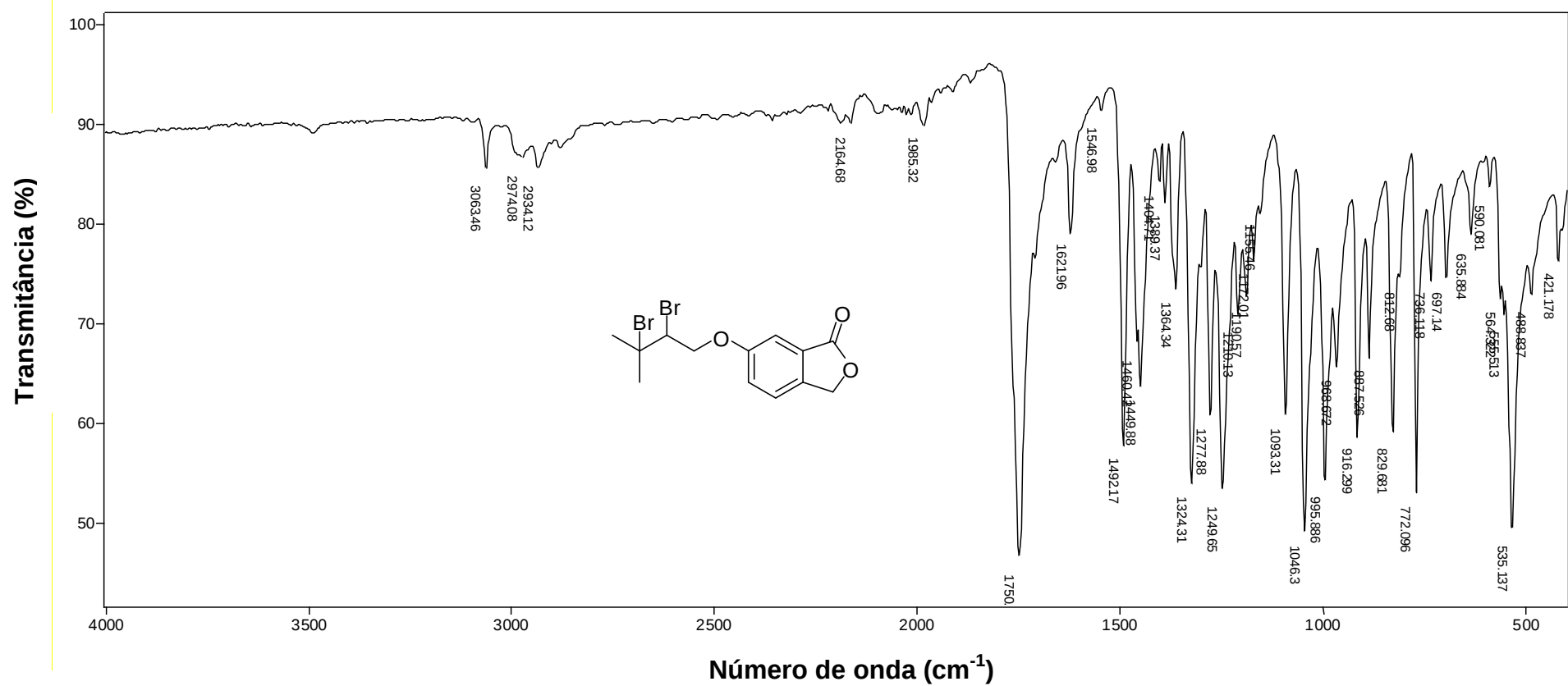


Figura 3 – Espectro no infravermelho da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (45).

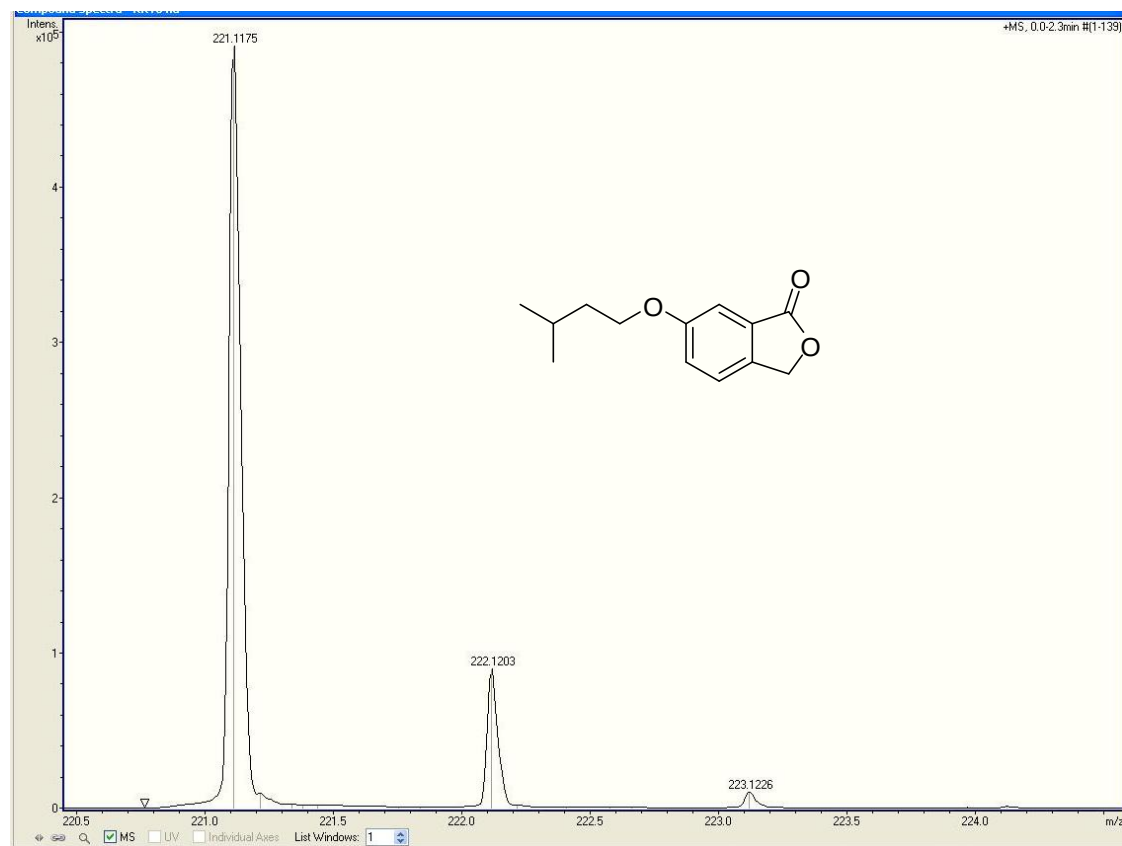


Figura 4 – Espectro de ESI-MS da 6-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**43**).

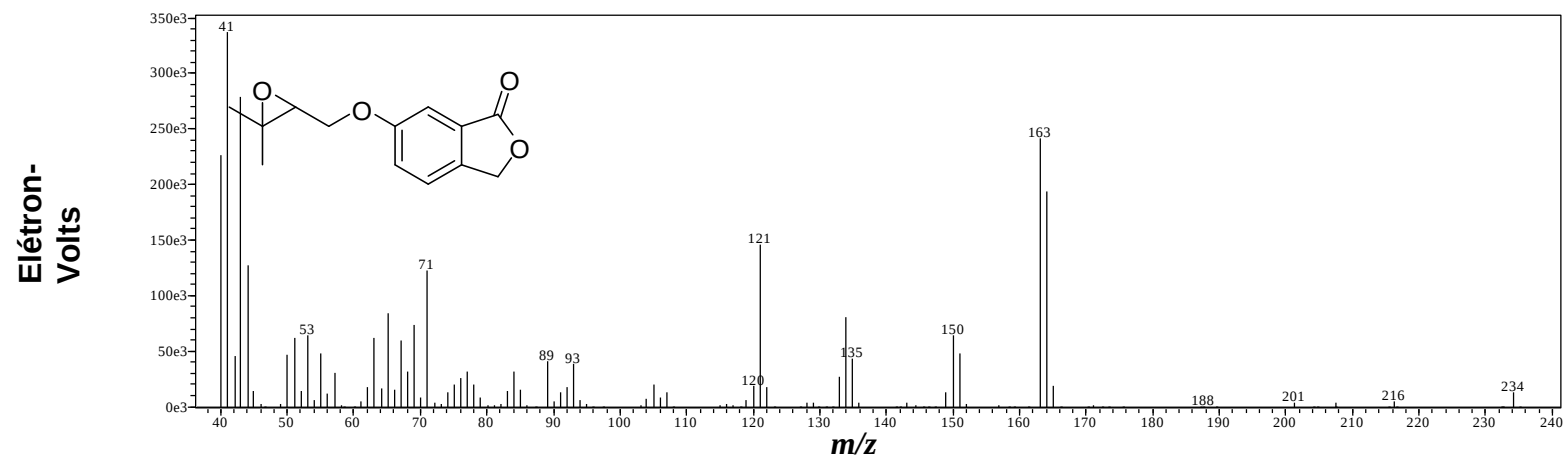


Figura 5 – Espectro de massas da 6-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**44**).

<i>m/z</i>	Intensidade (%)
234	4
163	72
150	19
135	13
120	6
93	12
89	12
71	36
53	18
41	100

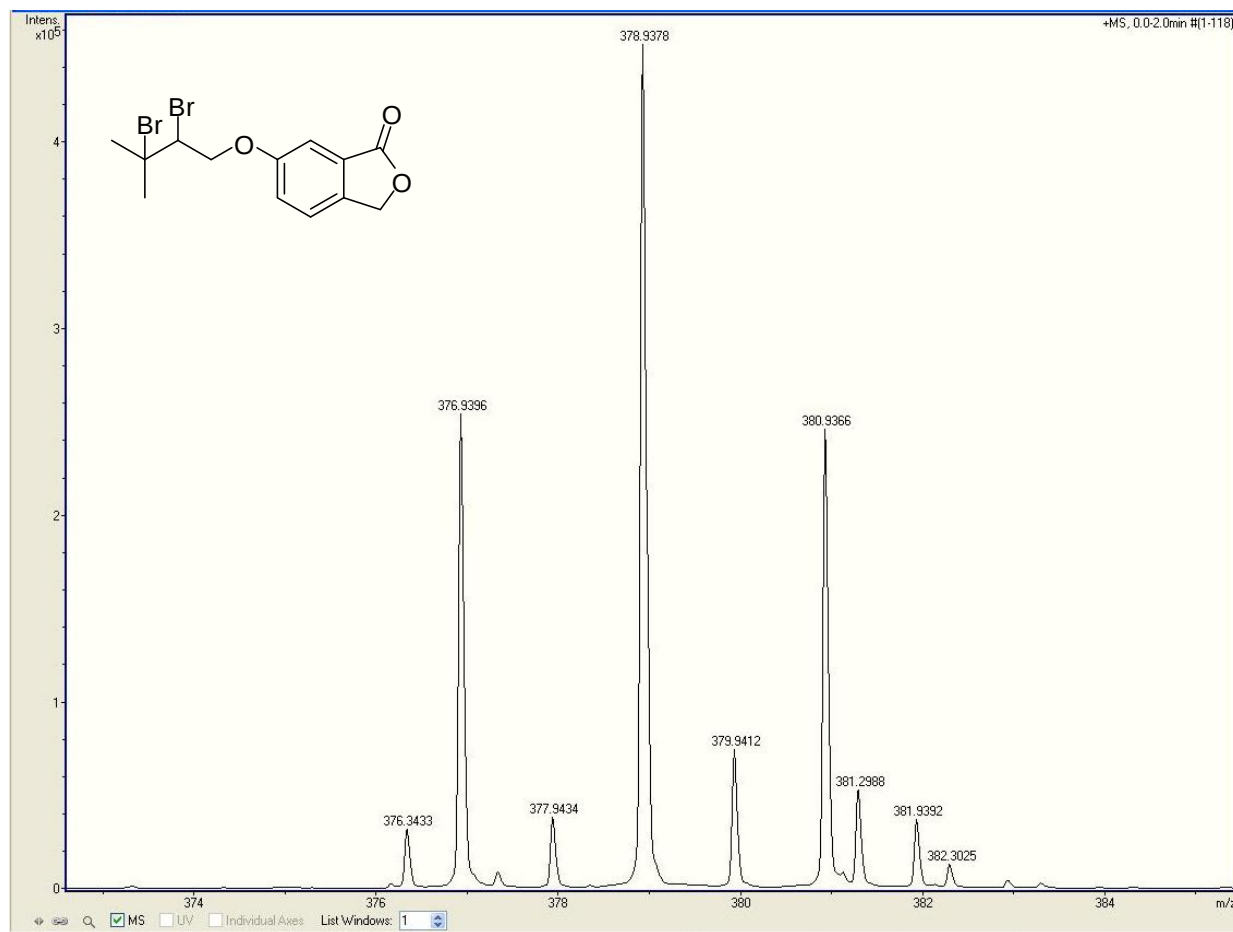


Figura 6 – Espectro de ESI-MS da 6-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**45**).

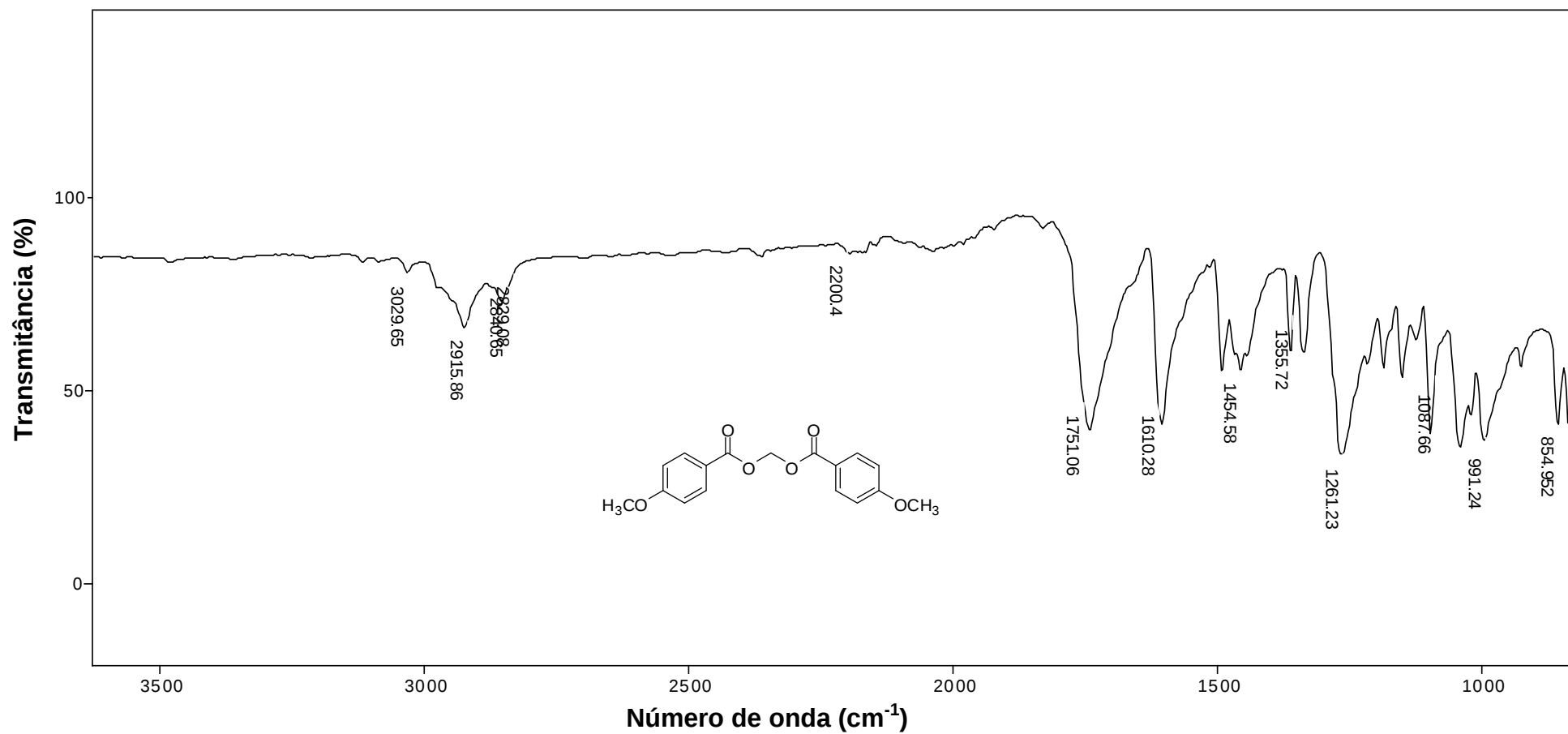


Figura 7 – Espectro no infravermelho (ATR) do *bis*-metileno (4-metoxibenzoato) (**49**).

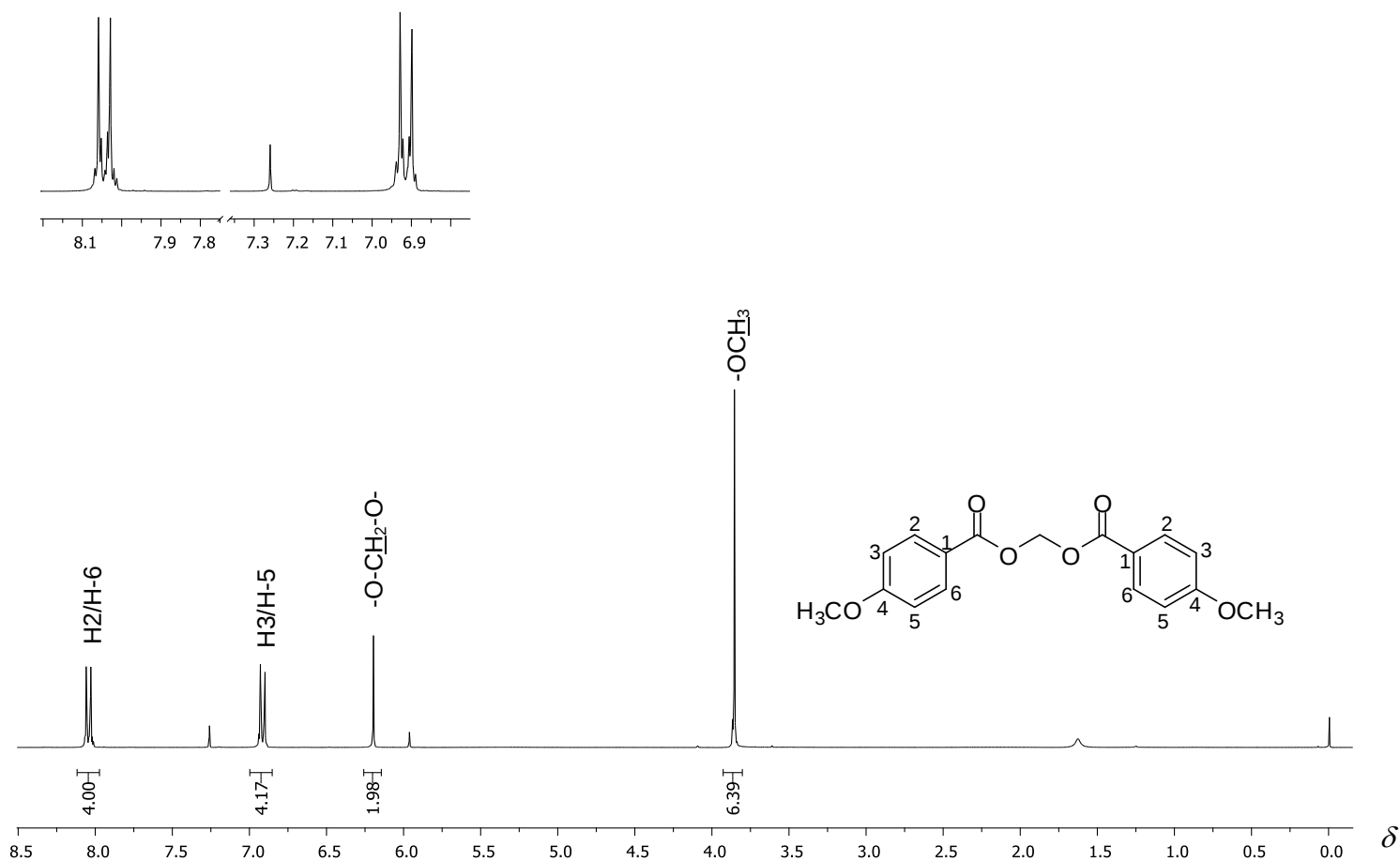


Figura 8 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do *bis*-(4-metoxibenzoato) de metileno (**49**).

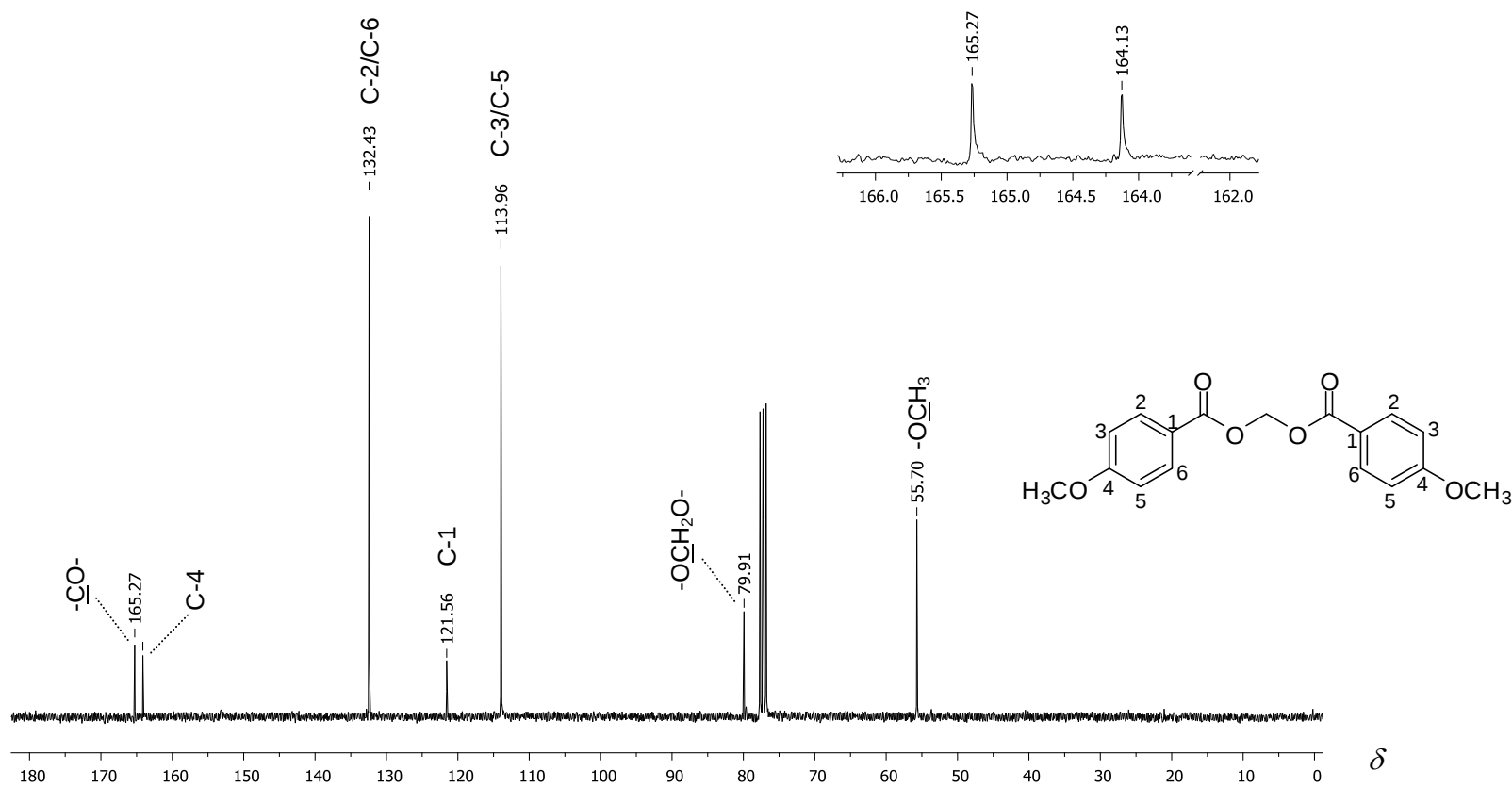


Figura 9 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do *bis* (4-metoxibenzoato) de metileno (49).

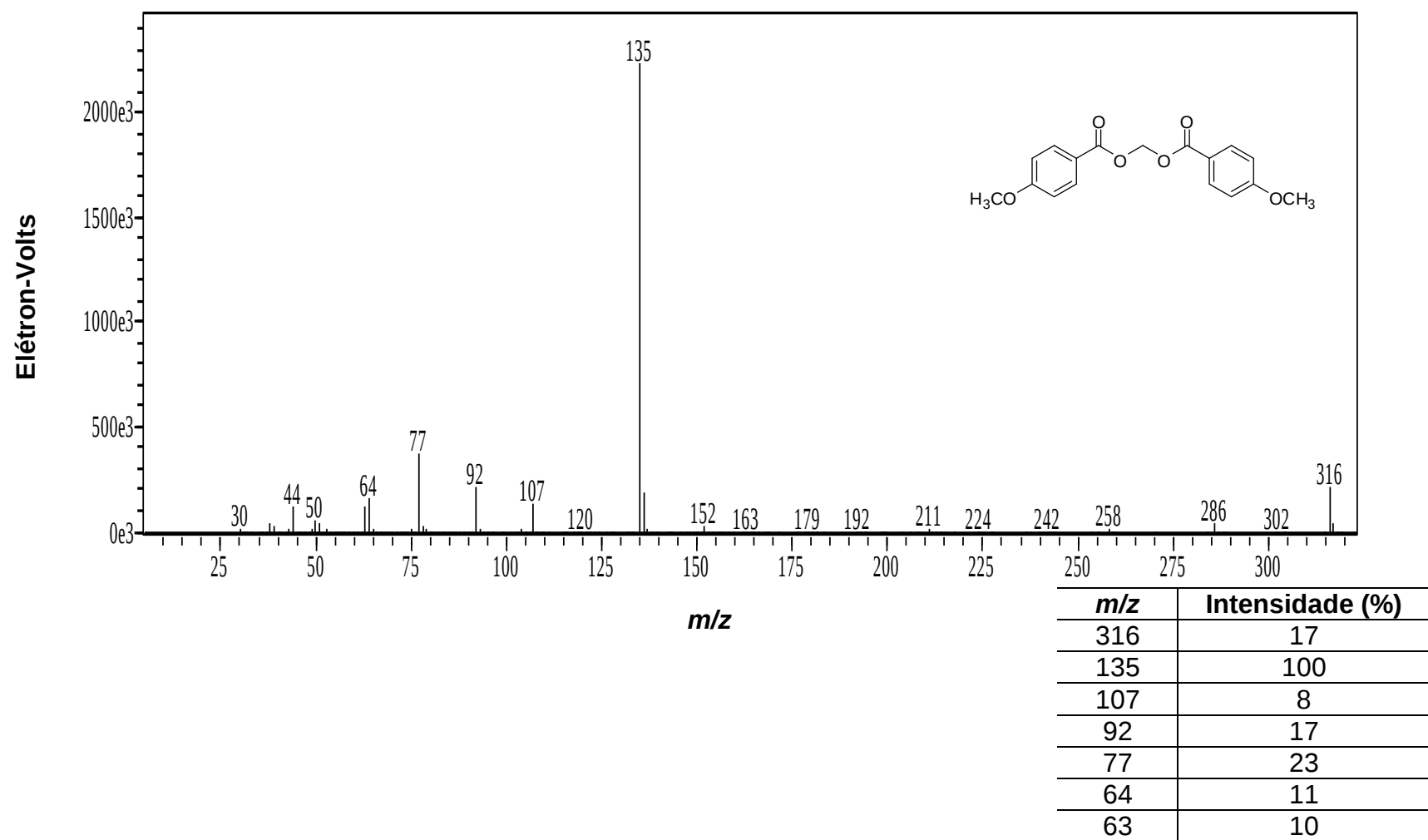


Figura 10 – Espectro de massas do *bis* (4-metoxibenzoato) de metileno (**49**).

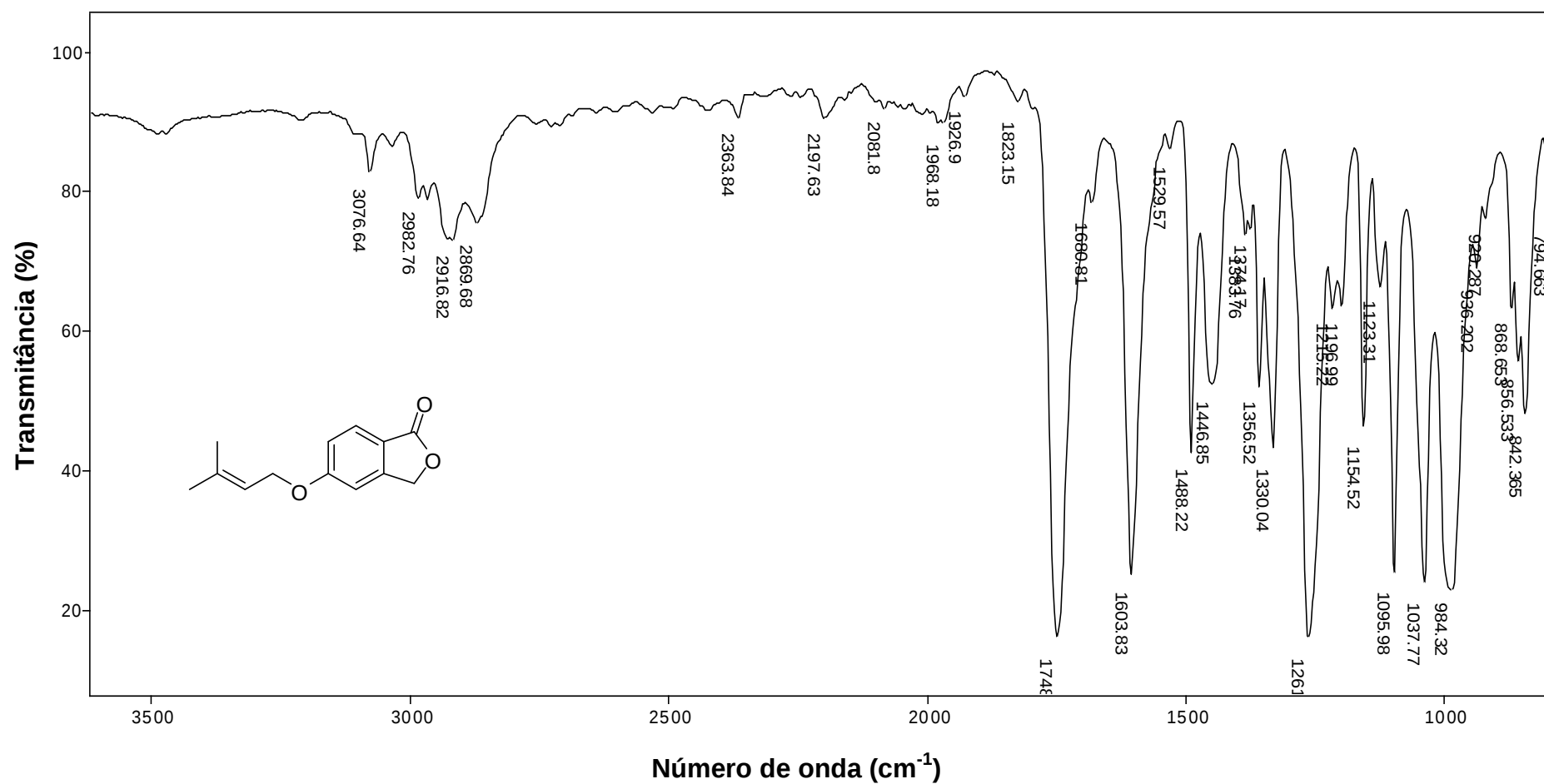


Figura 11 - Espectro no infravermelho (ATR) da 5-(3-metilbut-2-eniloxi) isobenzofuran-1(3H)-ona (**51**).

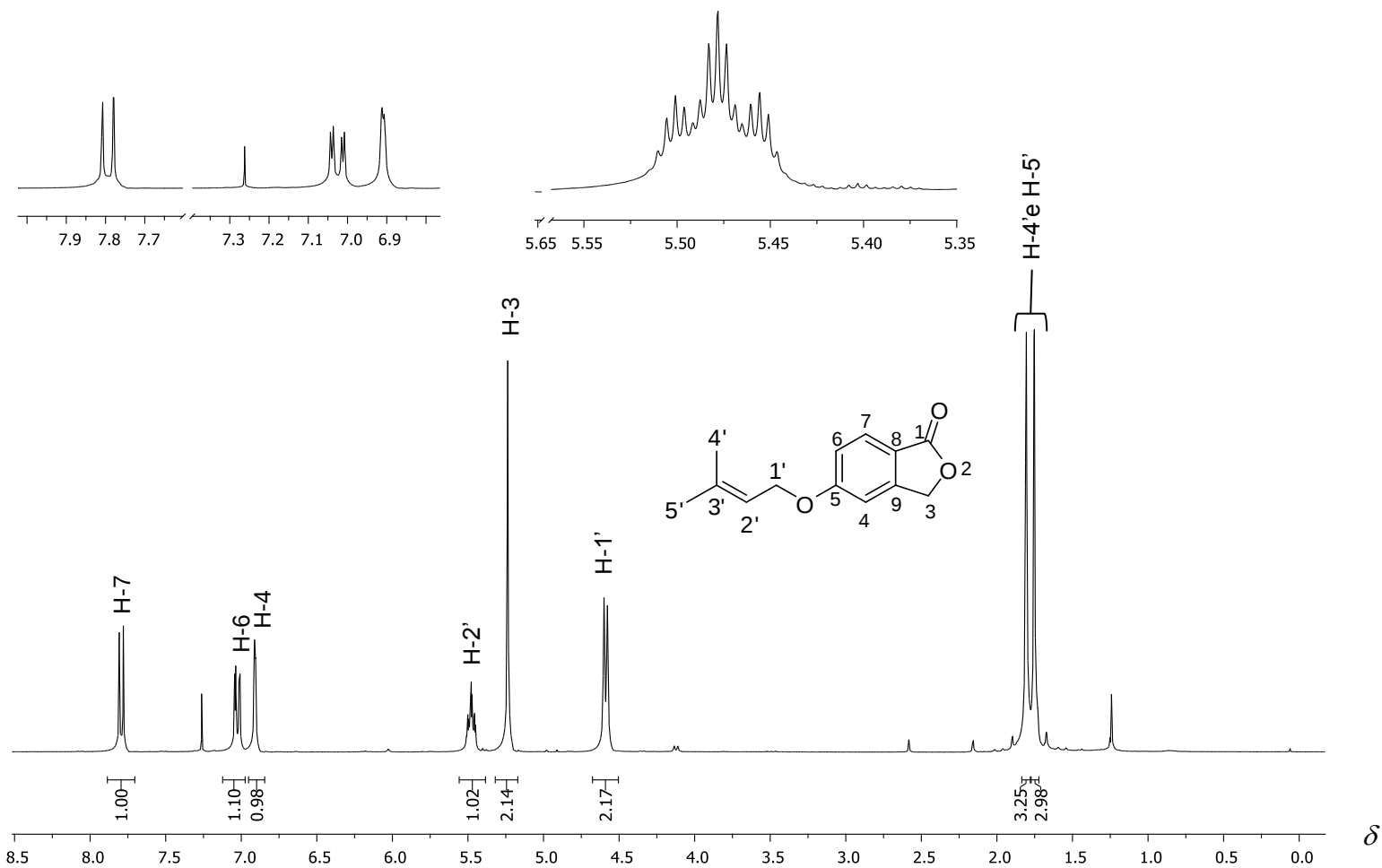


Figura 12 – Espectro de ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) da 5-(3-metilbut-2-eniloxi) isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**51**).

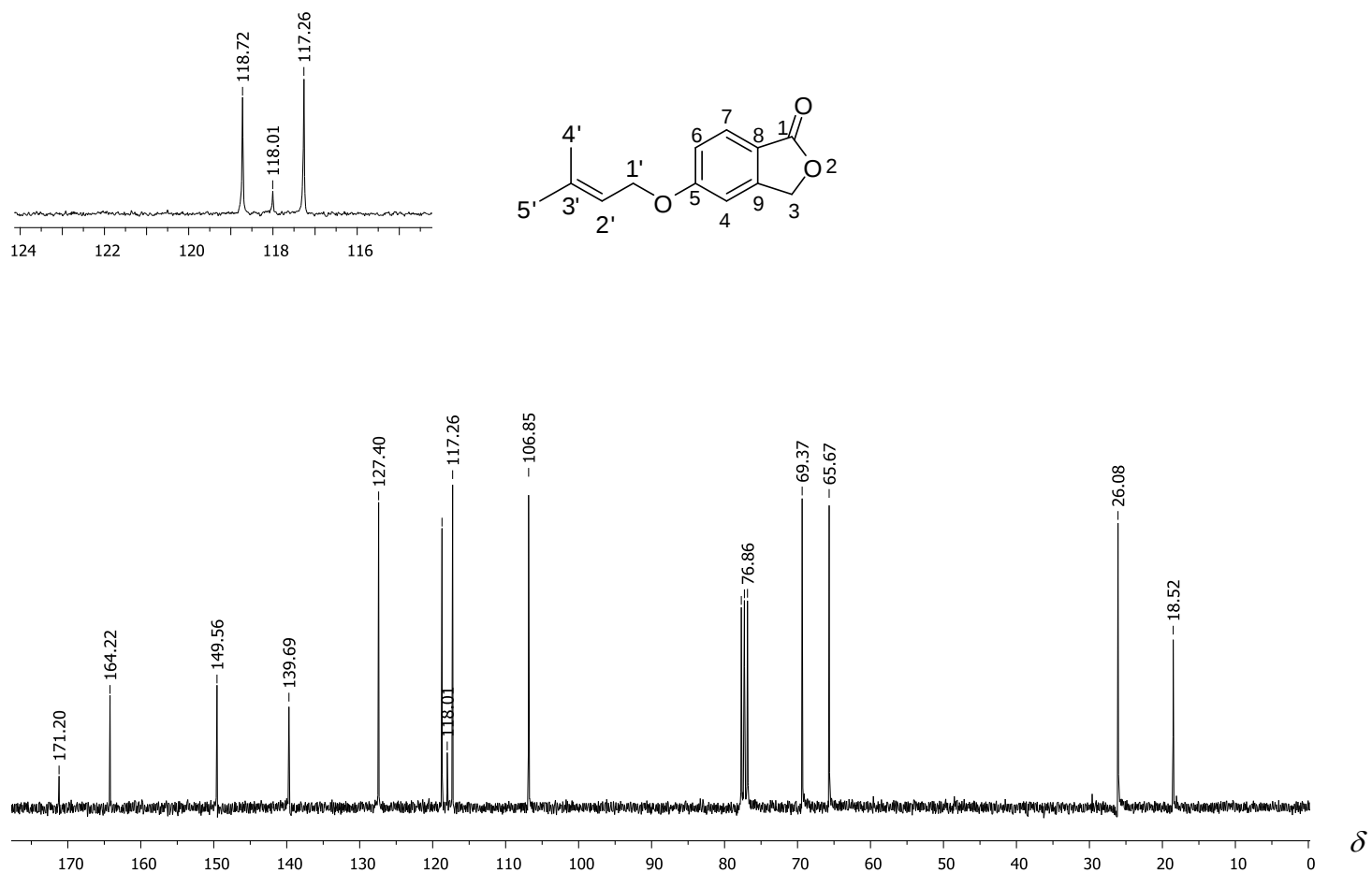


Figura 13 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 5-(3-metil-but-2-eniloxi) isobenzofuran-1(3H)-ona (**51**).

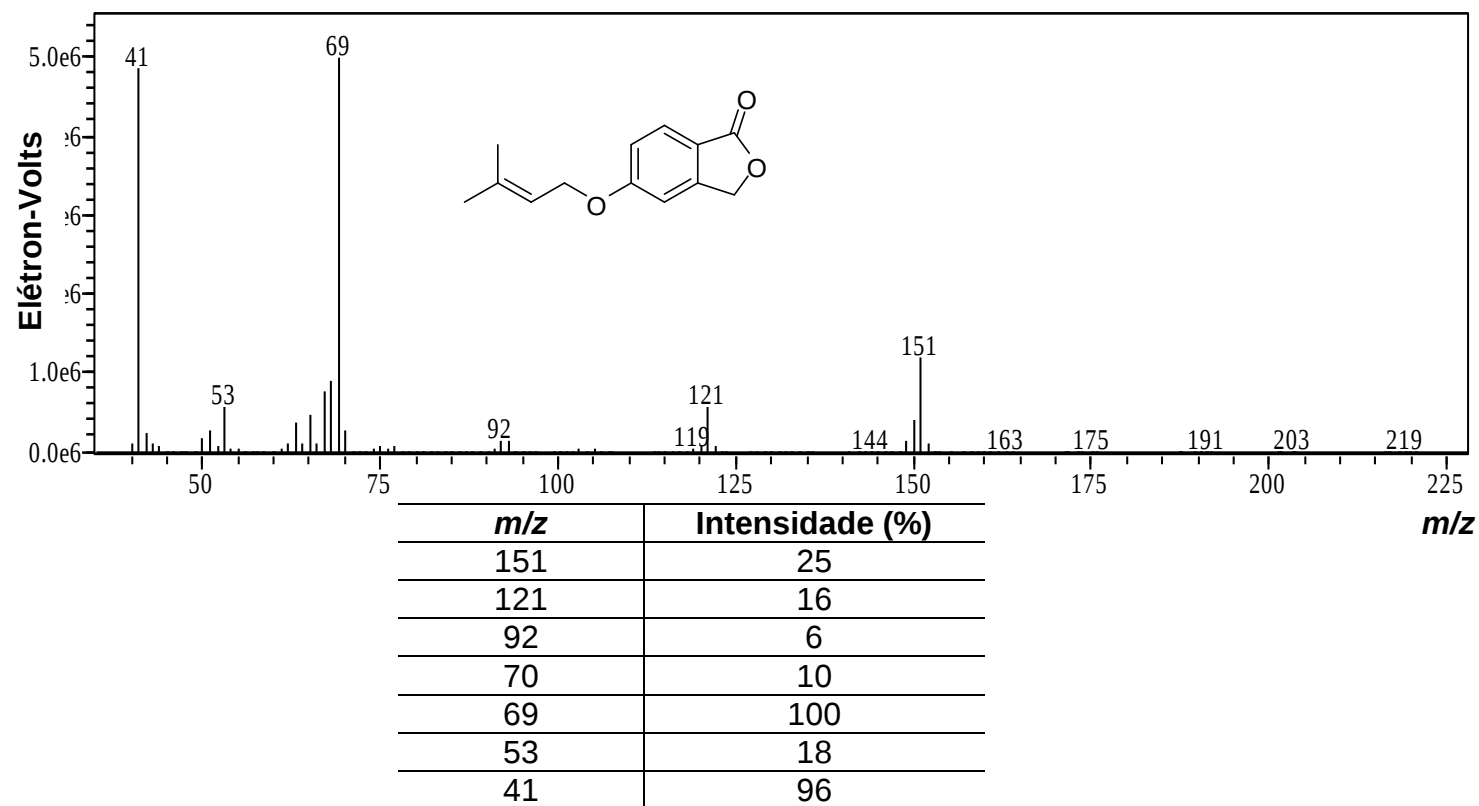


Figura 14 – Espectro de massas da 5-(3-metil-but-2-eniloxi) isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**51**).

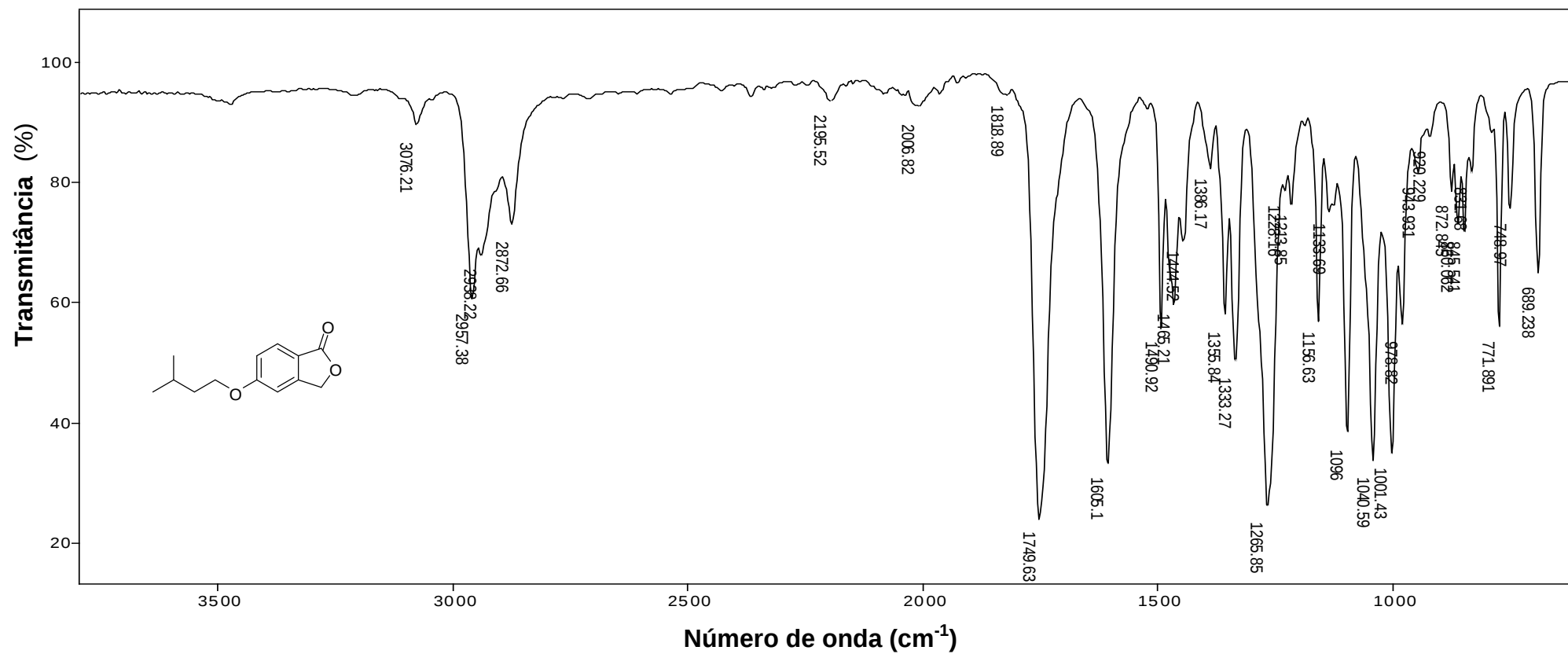


Figura 15 – Espectro no infravermelho (ATR) da 5-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (52).

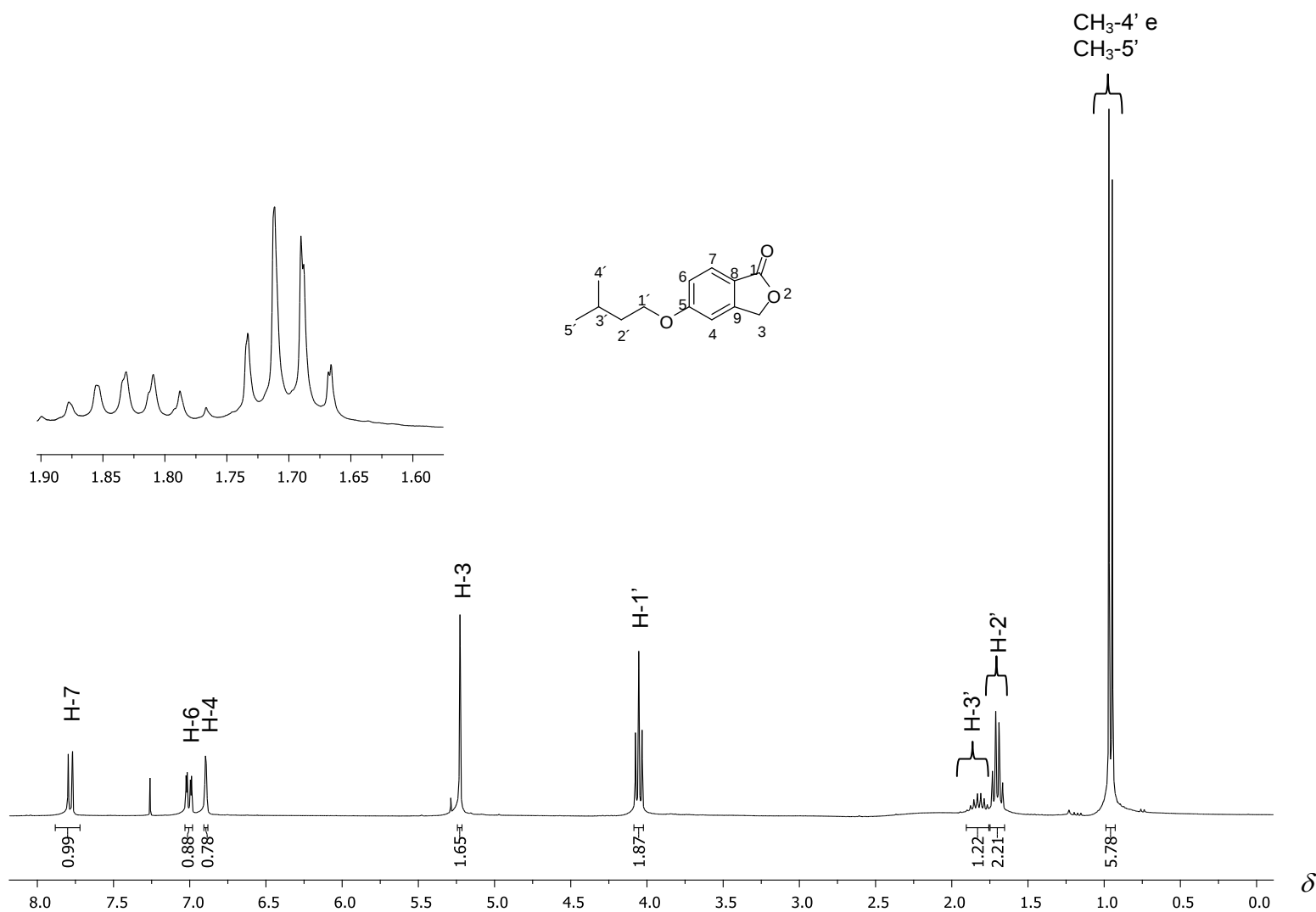


Figura 16 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 5-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (52).

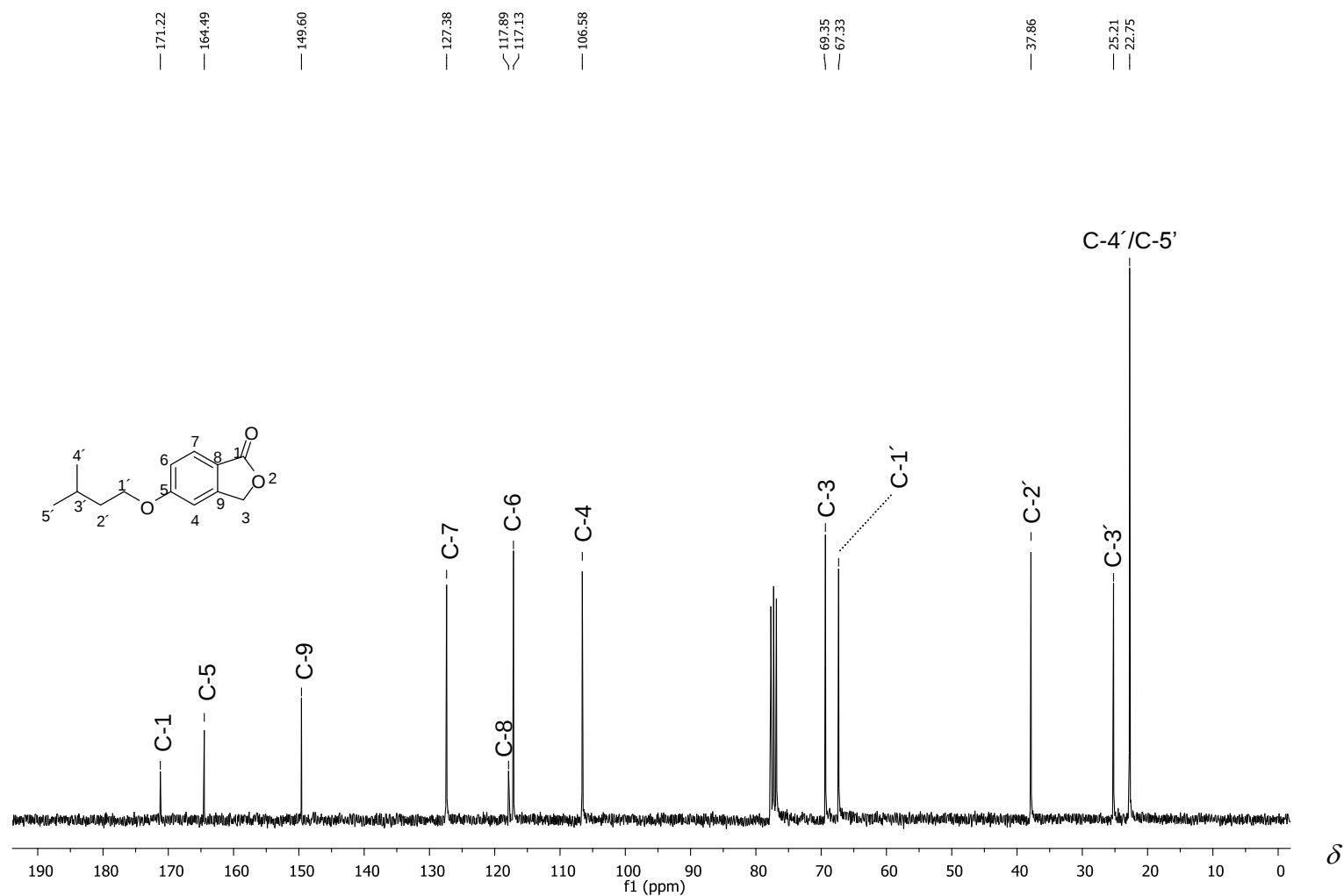


Figura 17 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 5-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (52).

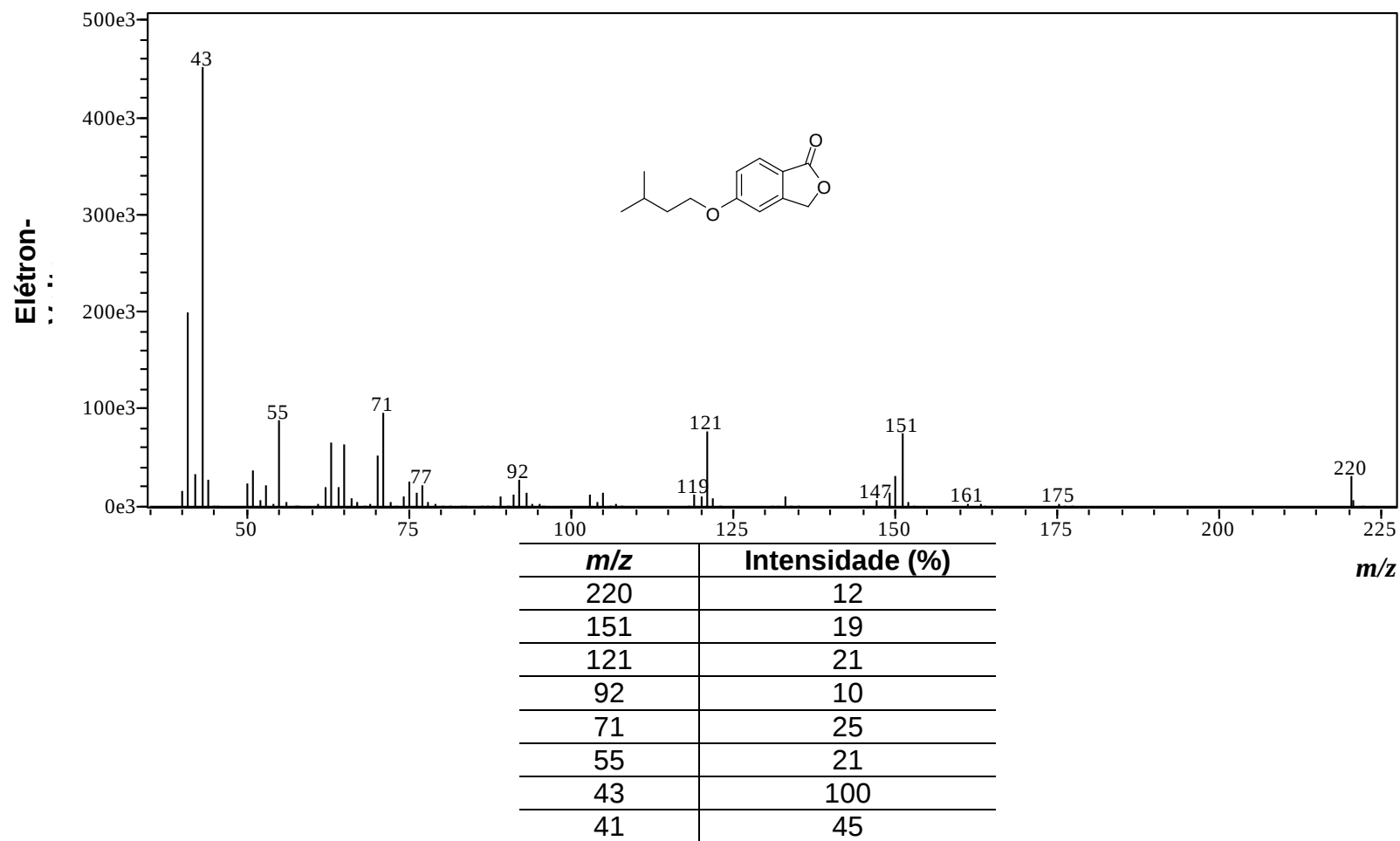


Figura 18 – Espectro de massas da 5-(isopentiloxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**52**).

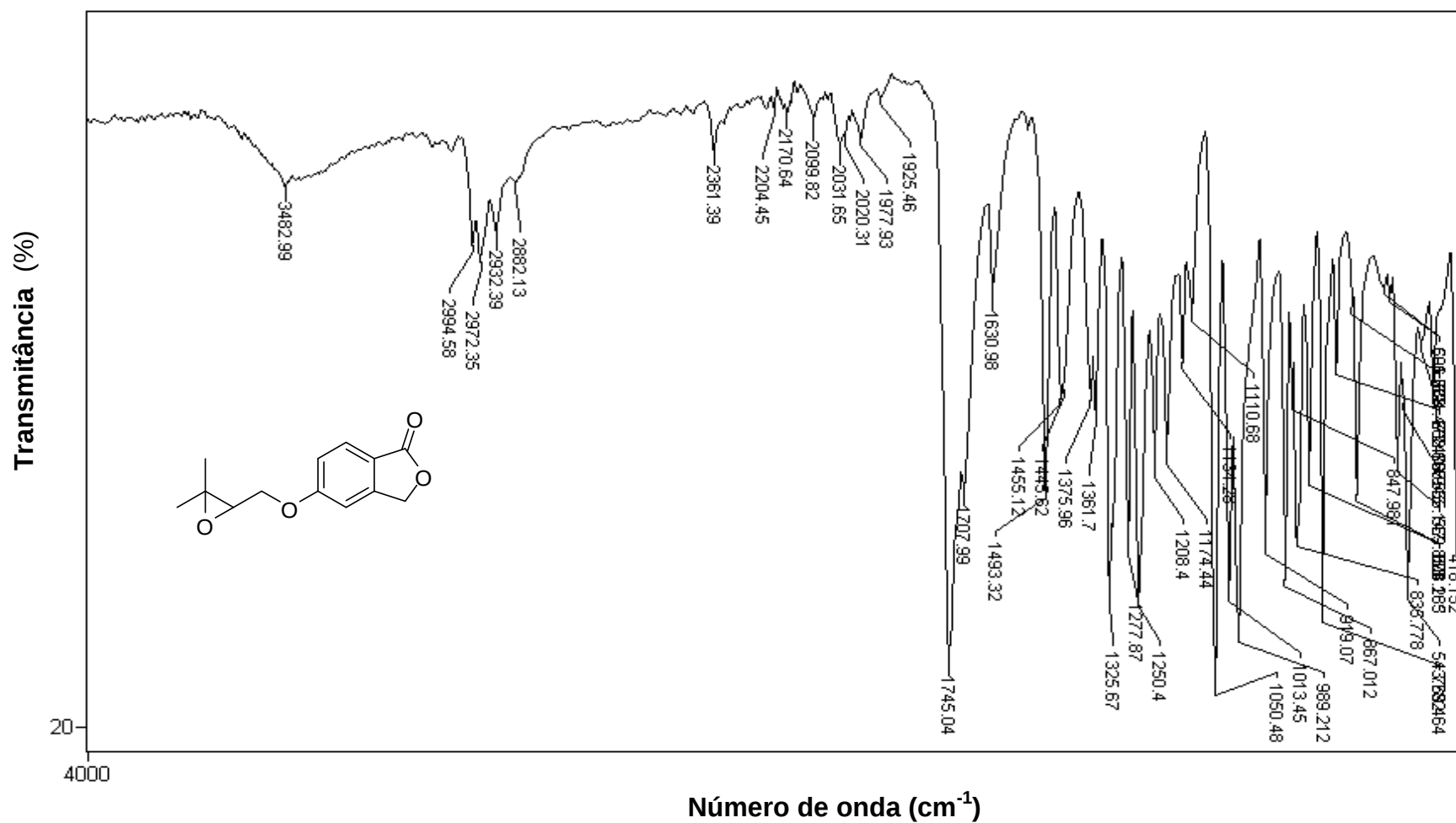


Figura 19 – Espectro no infravermelho (ATR) da 5-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**53**).

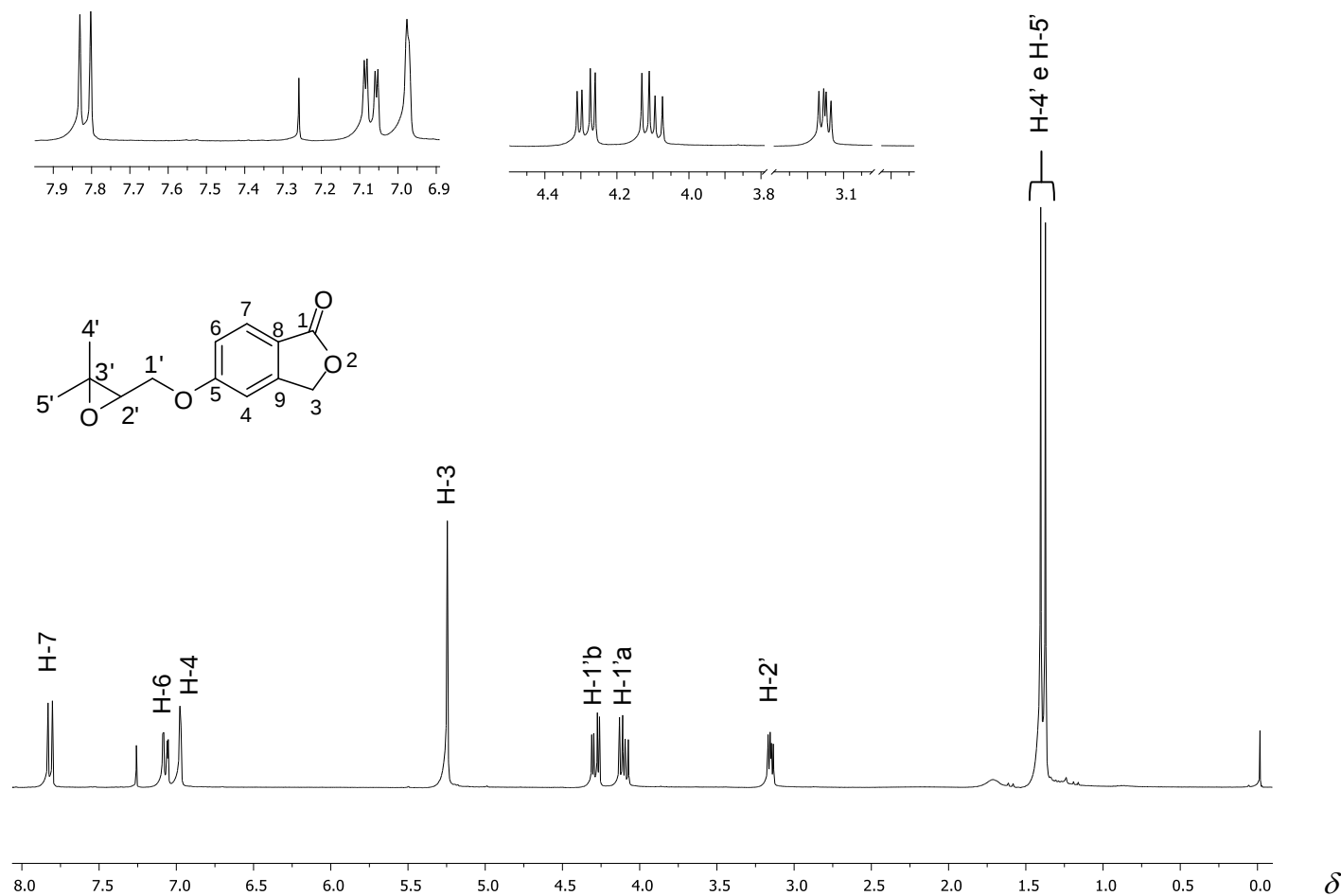


Figura 20 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 5-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**53**).

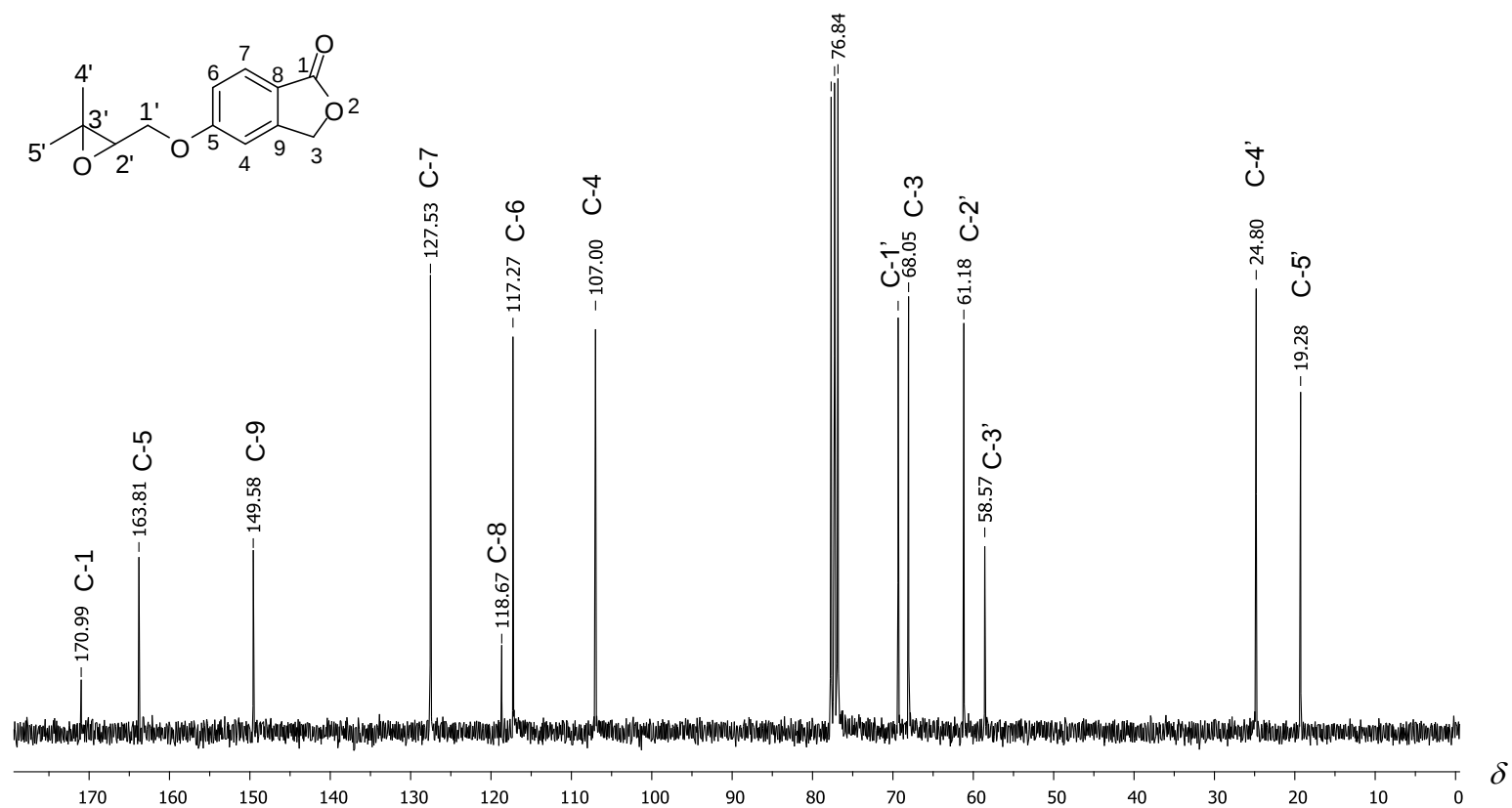


Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 5-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**53**).

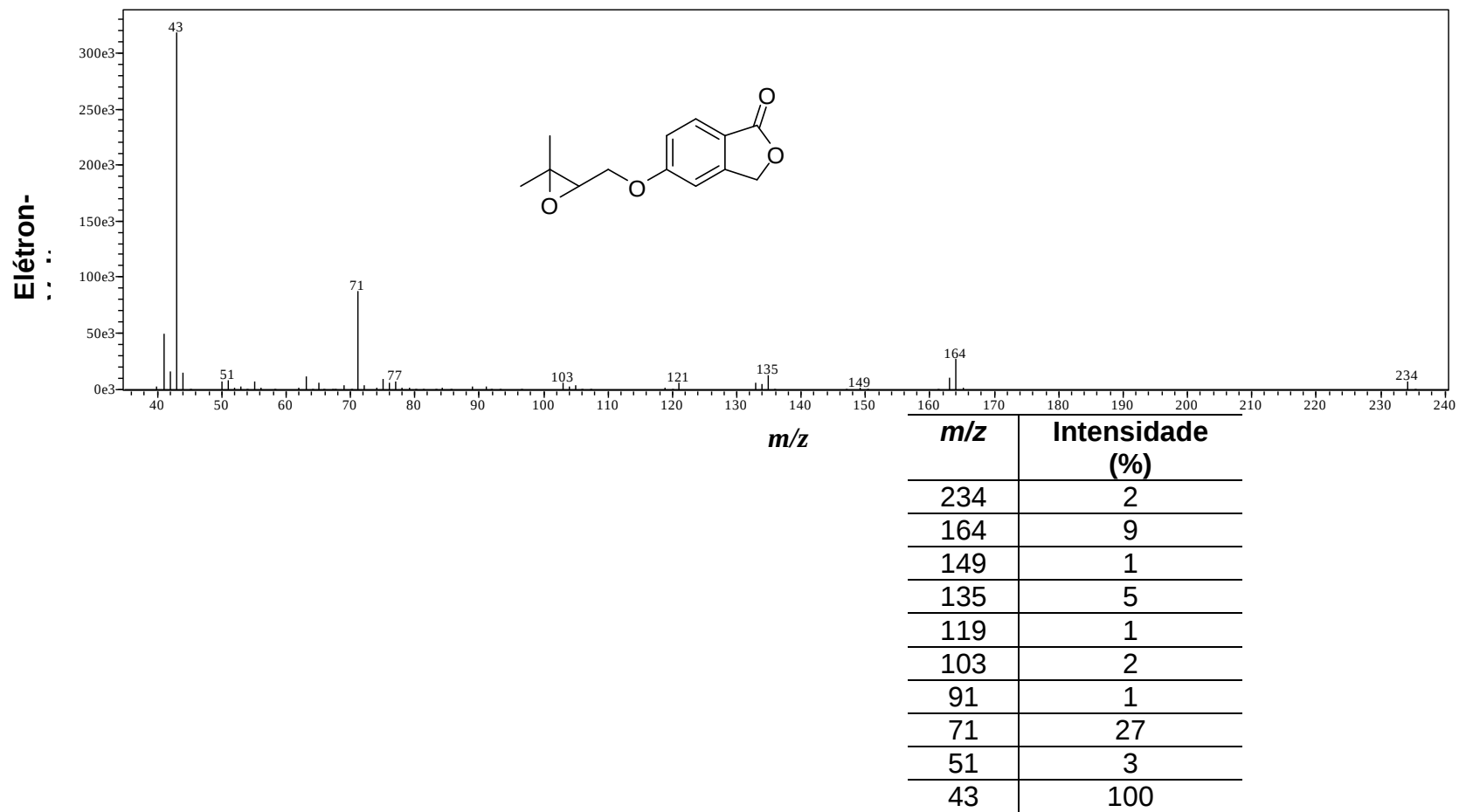


Figura 22 – Espectro de massas da 5-((3,3-dimetiloxiran-2-il)metoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**53**).

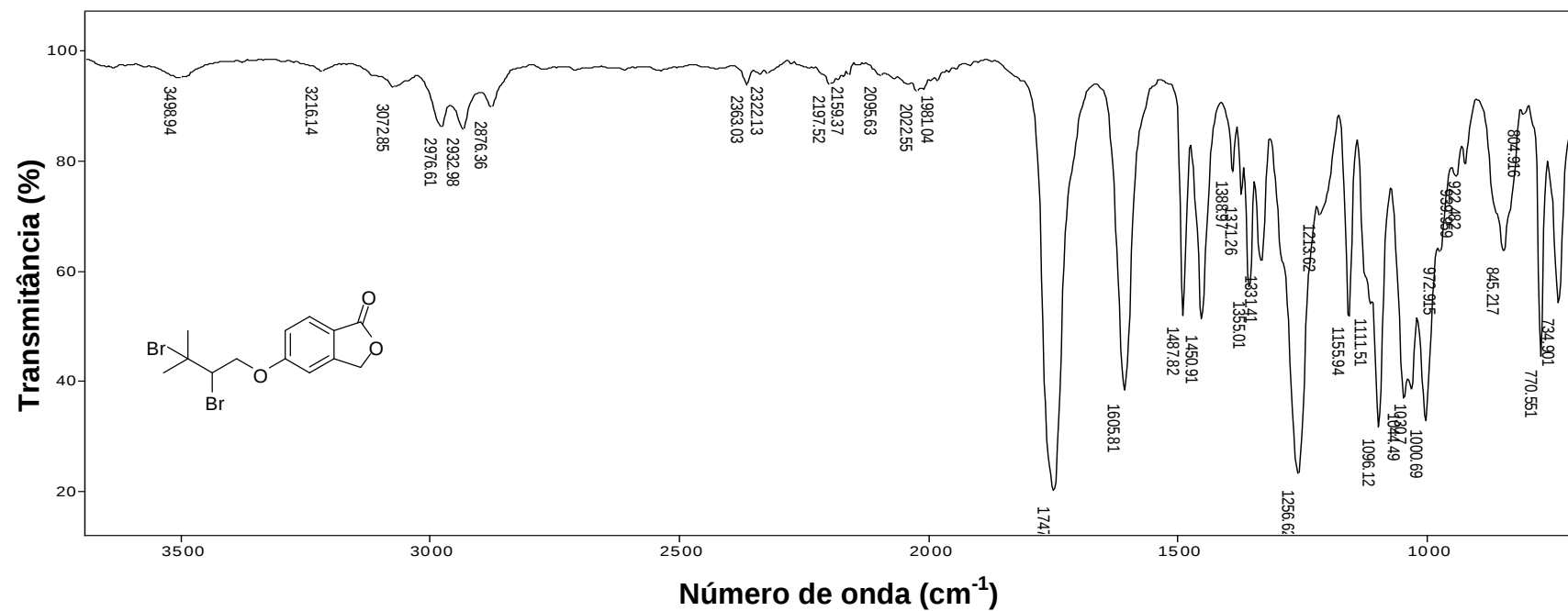


Figura 23 – Espectro no infravermelho (ATR) da 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**54**).

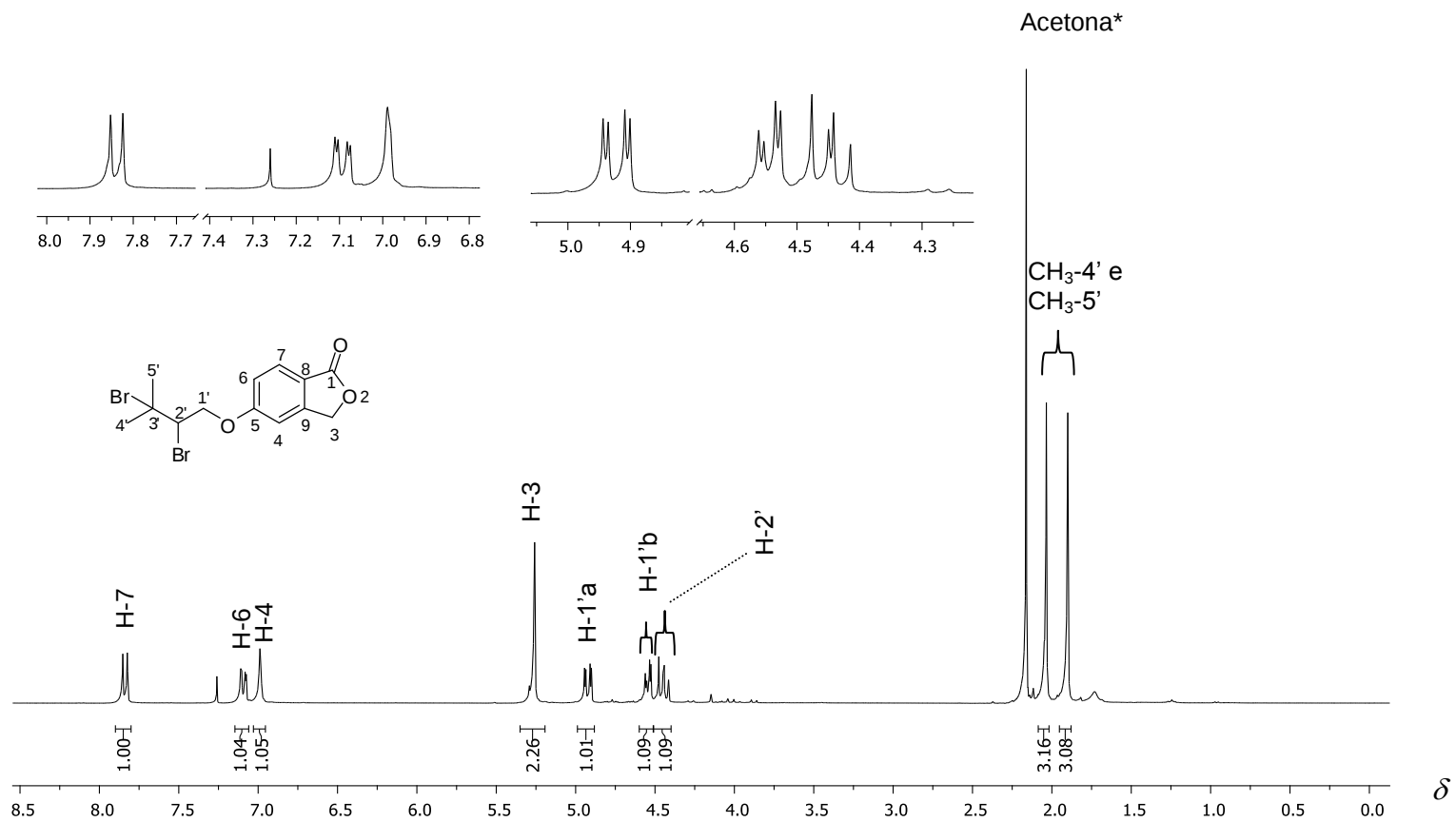


Figura 24 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**55**).

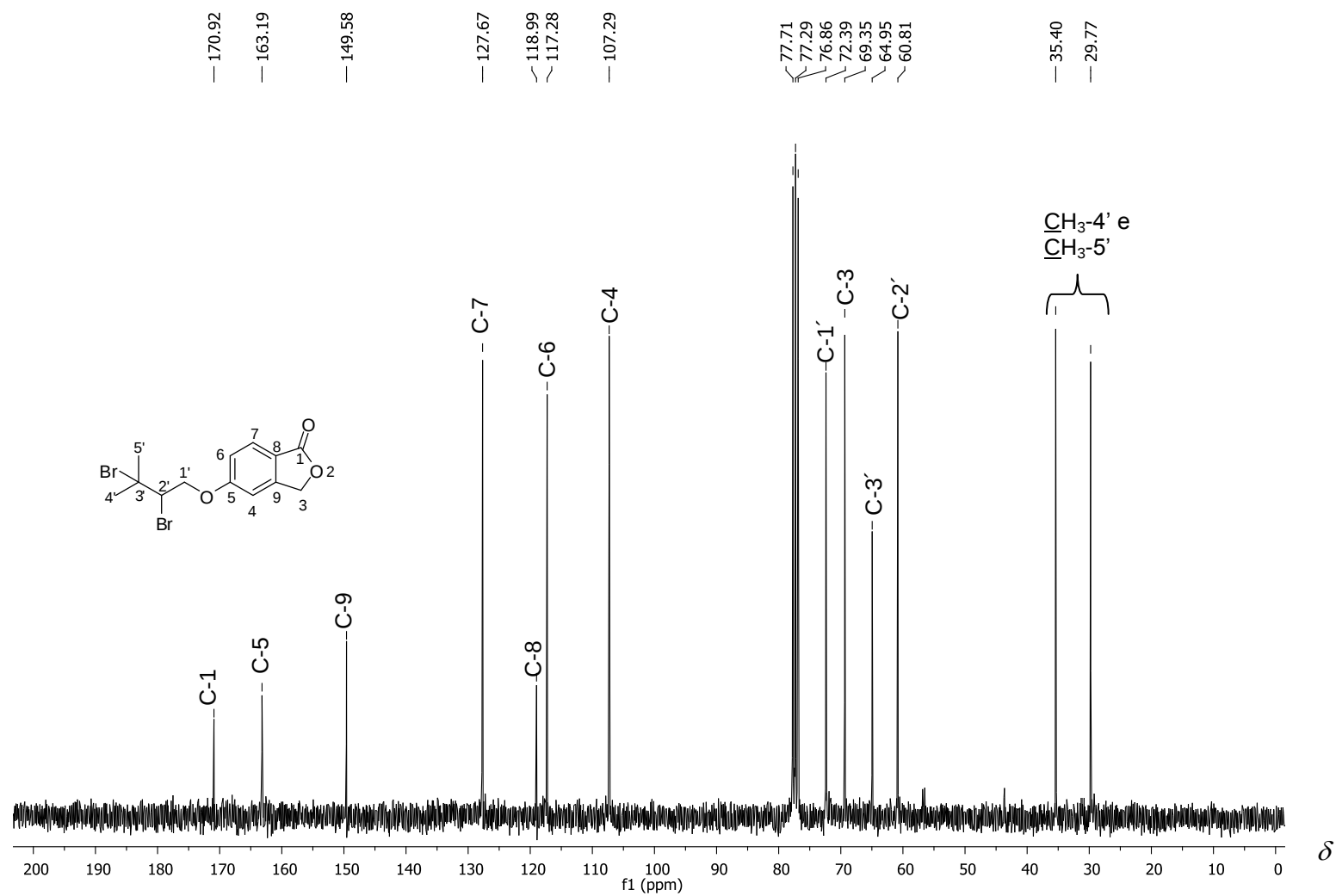


Figura 25 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**55**).

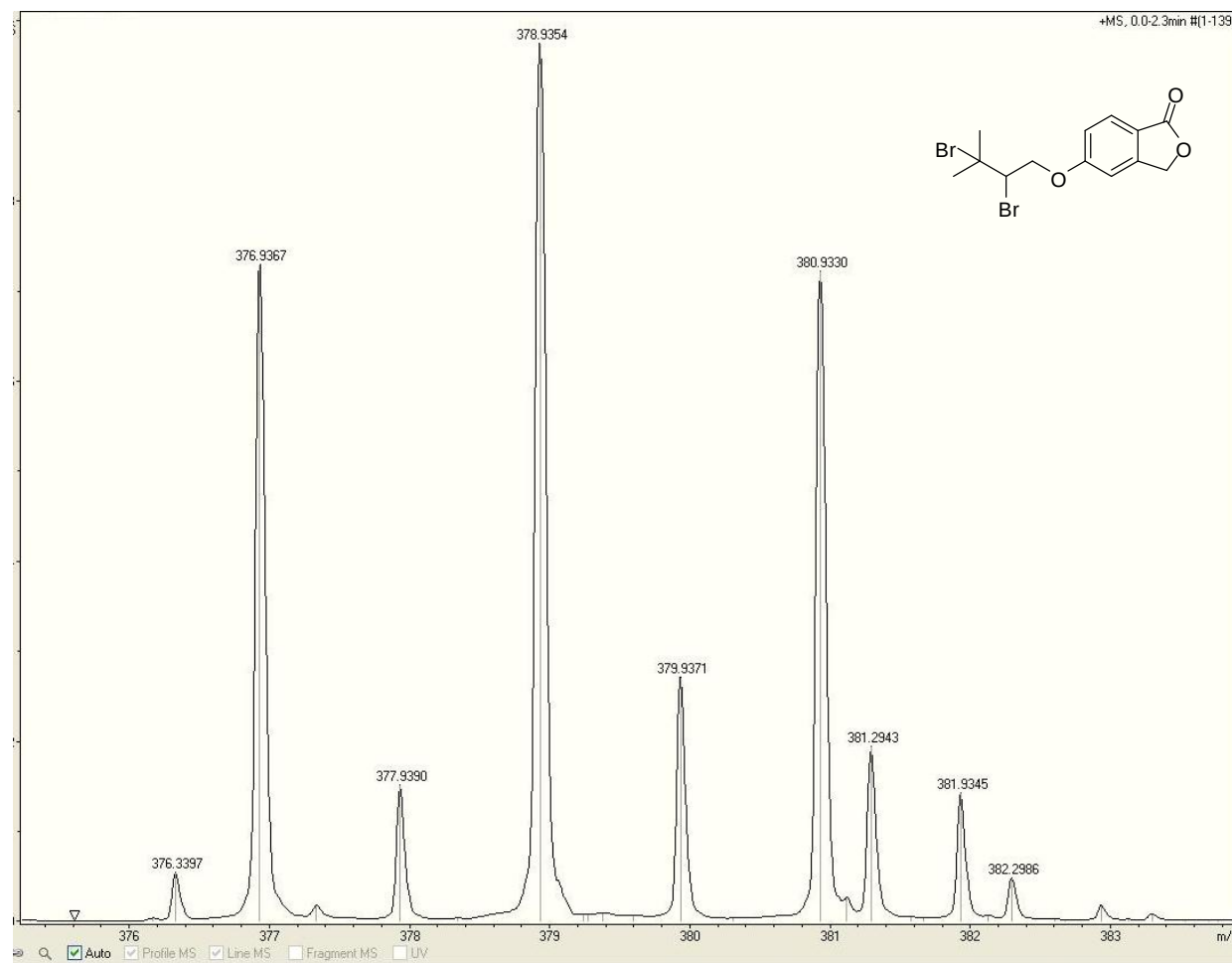


Figura 26 – Espectro de ESI-MS da 5-(2,3-dibromo-3-metilbutoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (55).

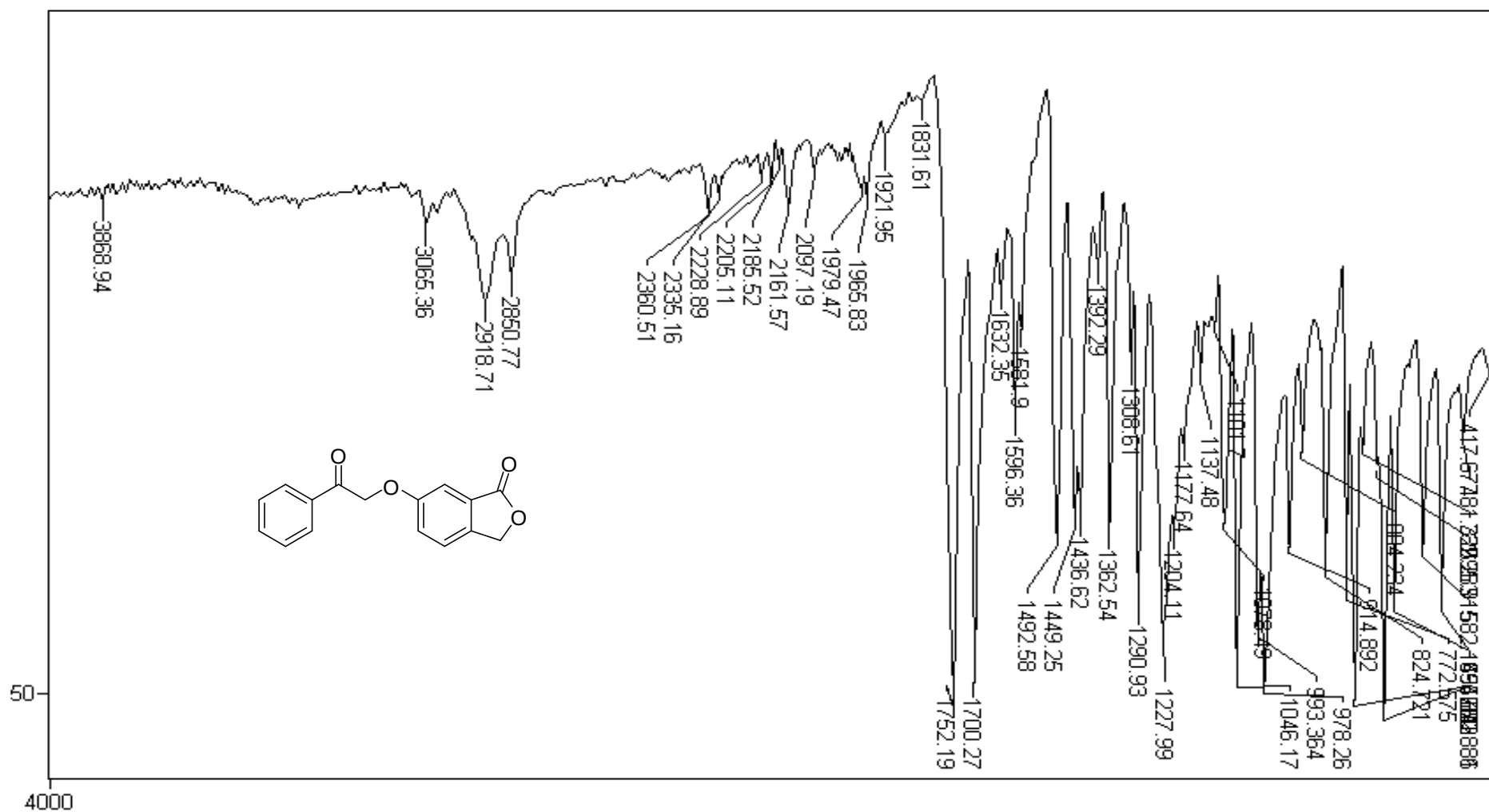


Figura 27 – Espectro no infravermelho (ATR) da 6-(2-oxo-2-pheniletoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**56**).

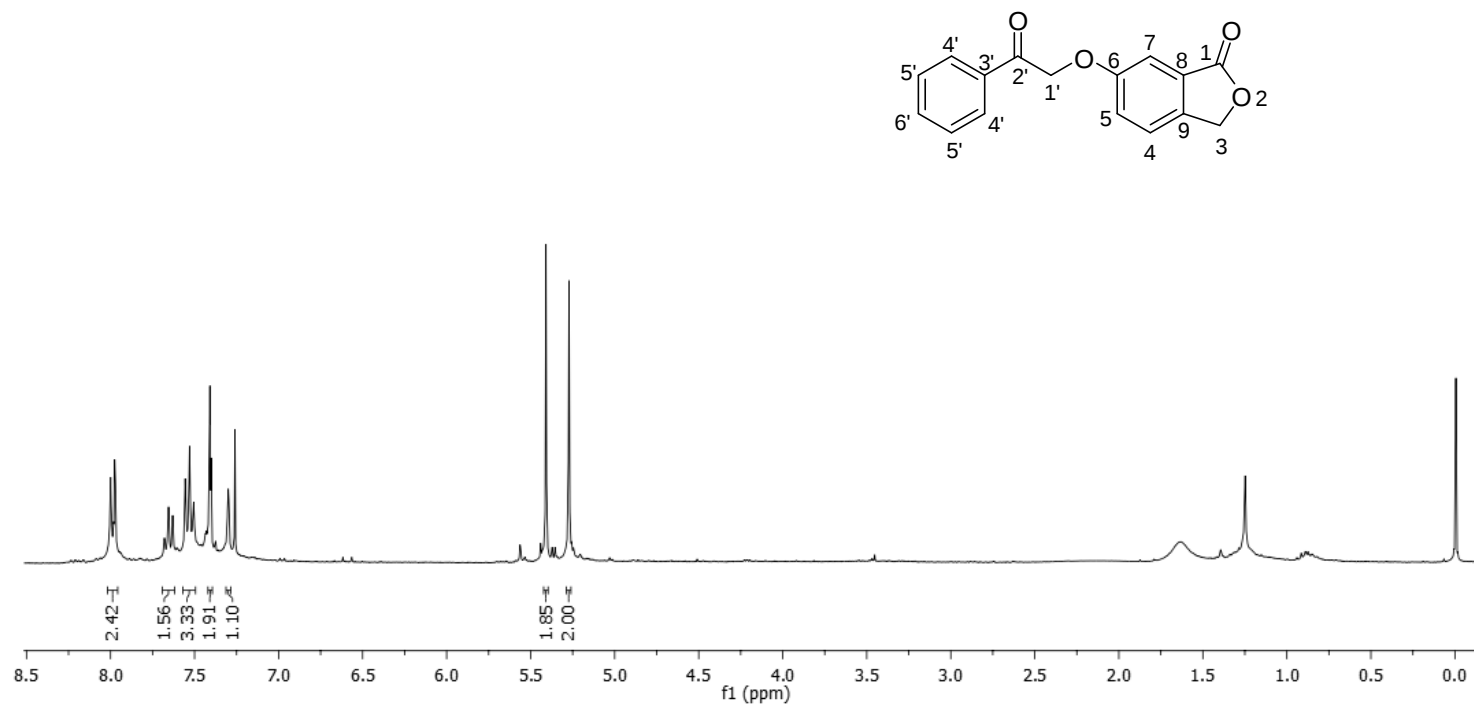
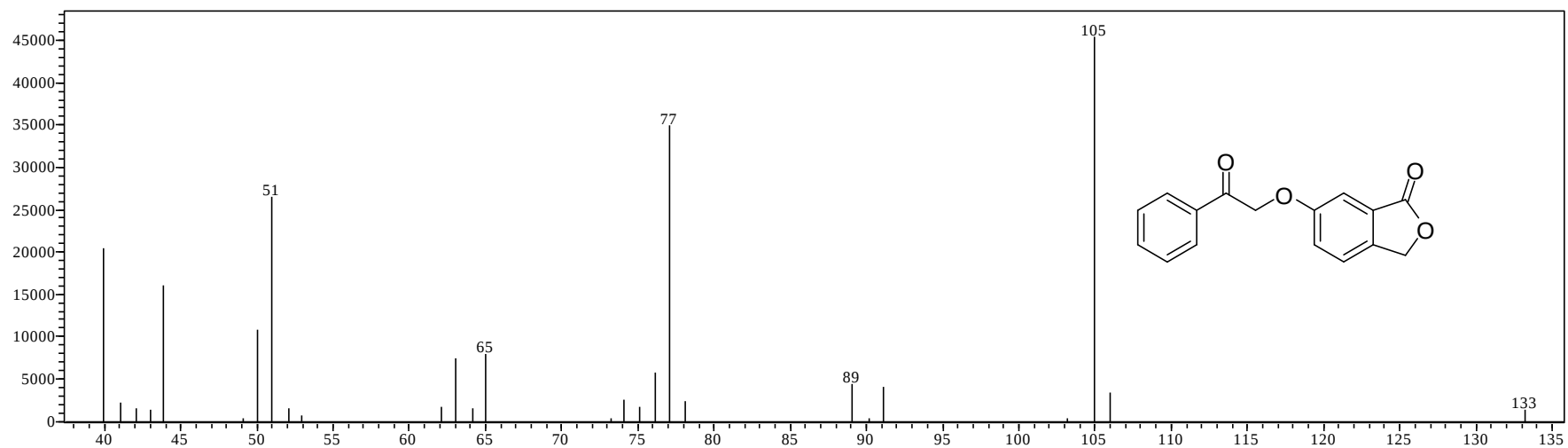


Figura 28 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 6-(2-oxo-2-feniletoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**56**).



<i>m/z</i>	Intensidade (%)
133	3
105	100
77	77
65	18
51	55
44	36

Figura 29 – Espectro de massas da 6-(2-oxo-2-feniletoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**56**).

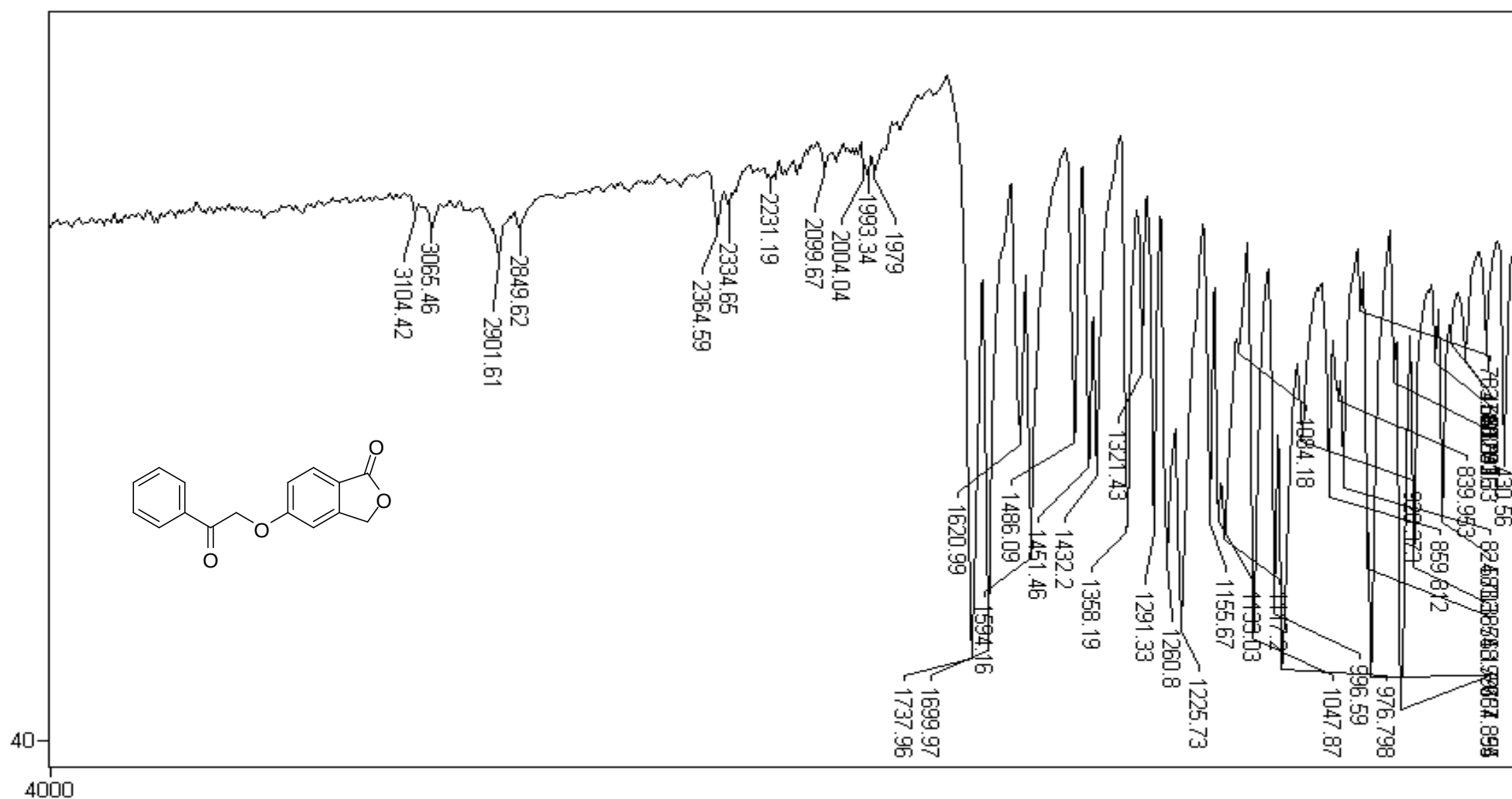


Figura 30 – Espectro no infravermelho (ATR) da 5-(2-oxo-2-feniletoksi)isobenzofuran-1(3H)-ona (57).

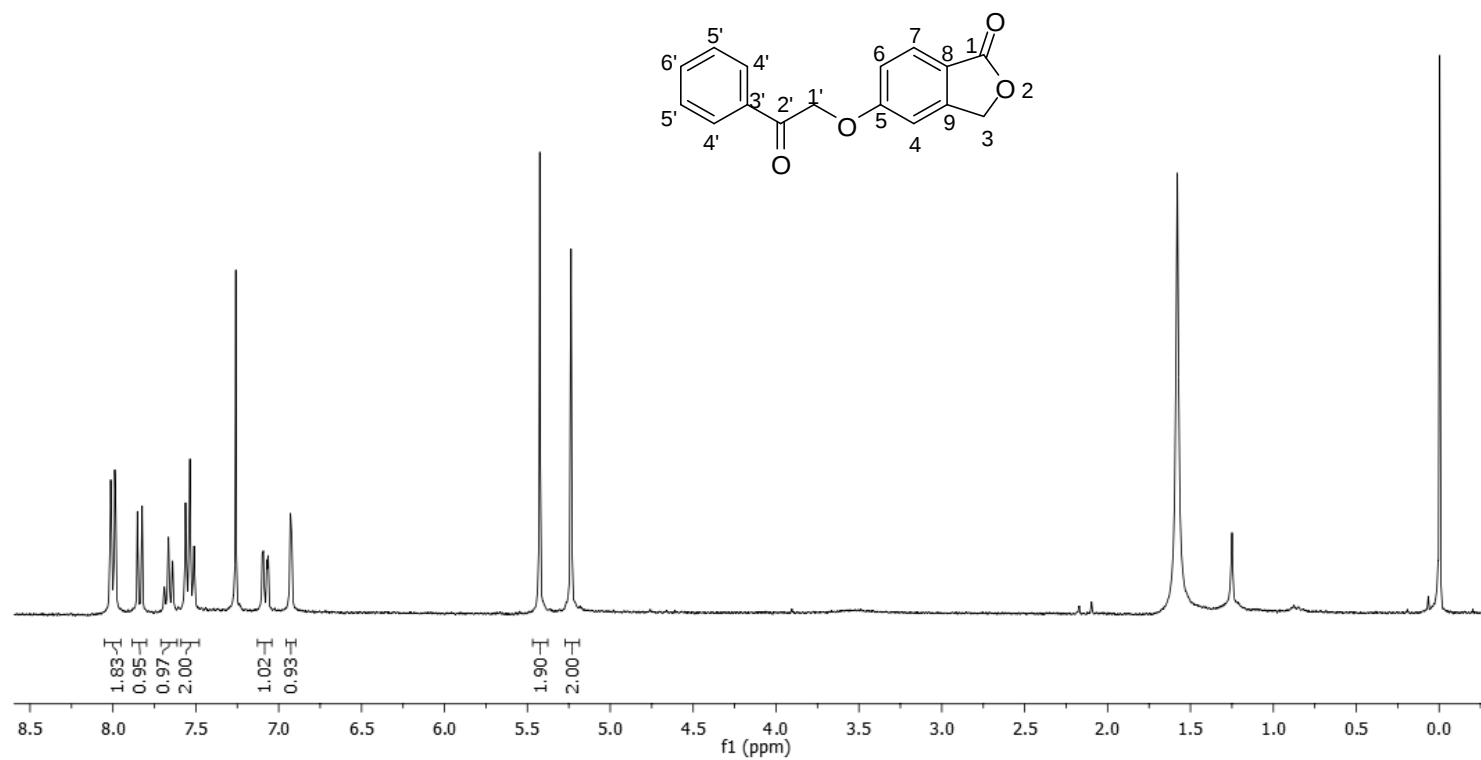
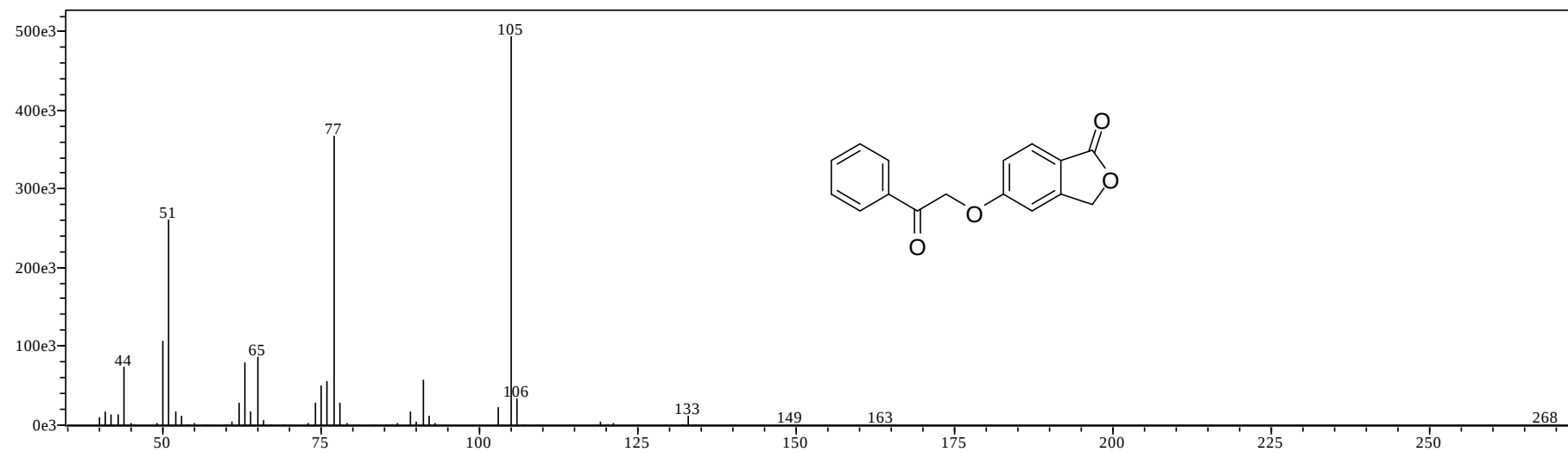


Figura 31 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 5-(2-oxo-2-feniletoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**57**).



<i>m/z</i>	Intensidade (%)
268	< 1
105	100
77	74
65	18
51	53
44	15

Figura 32 – Espectro de massas da 5-(2-oxo-2-pheniletoxi)isobenzofuran-1(3H)-ona (**57**).

ANEXO II

DETERMINAÇÃO DAS ESTRUTURAS POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A medida das intensidades dos feixes de raios X difratados, das amostras monocristalinas, foi realizada nos difratômetros Enraf-Nonius Kappa-CCD usando radiação Mo $K\alpha$, monocromatizada por cristal de grafite, a temperatura ambiente (compostos A1, A2 e A3) e Bruker APEX II usando radiação Cu $K\alpha$, monocromatizada por cristal de grafite, a 100 K (composto A5), no Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo. As estruturas foram resolvidas utilizando Métodos Diretos com o programa SHELXS-97 (Sheldrick, 2008). Os modelos foram refinados pelo método dos Mínimos Quadrados, usando matriz completa, através do programa SHELXL-97 (Sheldrick, 2008). Os átomos de hidrogênio foram estereoquimicamente posicionados e refinados com um modelo rígido e os demais átomos foram refinados anisotropicamente.

A resolução e caracterização das estruturas foram efetuadas em um microcomputador Pentium II 400MHz com 128 Mb de memória RAM, no Laboratório de Cristalografia e Química Computacional do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

	39	48	50	41
Fórmula Molecular	C ₉ H ₈ O ₃	C ₉ H ₈ O ₃	C ₈ H ₆ O ₃	C ₈ H ₆ O ₃
Massa Molar (g/mol)	164,15	164,15	150,13	150,13
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c	P2 ₁ /n	Pc
Parâmetros da cela unitária	a = 9,2922(19)Å b = 8,4982(12)Å c = 9,786(2)Å β=90,5471(15)°	a = 9,1819(9) Å b=10,4285(18)Å c = 9,2965(9)Å β = 99,962(8)°	a = 7,6506(15)Å b= 12,349(4)Å c = 7,8409(11)Å β = 117,453(10)°	a= 7,066(6) Å b= 3,880(3) Å c= 12,445(11) Å β = 105,85(5) °
Volume (Å ³)	772,8(2)	781,26(18)	657,4(3)	328,2(5)
Tipo de radiação (λ)	MoKα (0,71073) T ambiente	MoKα (0,71073) T ambiente	MoKα (0,71073) T ambiente	CuKα (1,54178) Baixa Temp.
Z	4	4	4	2
μ (mm ⁻¹)	0,107	0,105	0,12	1,00
Densidade (g/cm ³)	1,411	1,396	1,517	1,519
Intervalo de θ (°)	2,19 < θ < 27,48	3,19 < θ < 26,39	2,928 < θ < 27,472	6,51 < θ < 63,14
Reflexões coletadas	3304	1685	2030	1111
Reflexões únicas/ R(int)	1741 /0,0363	1587 /0,0351	1461/0,0338	754/0,0346
Reflexões observadas [I>2σ(I)]	1285	1101	984	738
Parâmetros refinados	109	109	100	100

R [$I > 2\sigma(I)$] / R_w	0,0504 / 0,1387	0,0494/ 0,1280	0.0533/0,1179	0,0451/ 0,1160
R (todos dados) / R_w	0,0694/ 0,1659	0,0726/ 0,1469	0.0807/0,1634	0,0457 /0,1199

FARRUGIA, L. J. *Journal of Applied Crystallography*, v. 30, p. 565, 1997.

MACRAE, C. F.; EDGINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; SHIELDS, G. P.;

TAYLOR R.; TOWLER, M.; STREEK, van de J. *Journal of Applied Crystallography*,
v.39, p. 453, 2006.

SHELDRICK, G. M. *Acta crystallographica*, A64, 112, 2008.

Bruker APEXII. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA (2004).

Enraf-Nonius, Nonius BV, Delft, The Netherlands (1997-2000).