

**RAPHAEL CAMPOS CUSATI**

**SÍNTESE E FITOTOXICIDADE DE 1,2,4,5-TETRAOXANOS E ANÁLISE  
ESTRUTURAL DE 1,2,4-TRIOXOLANOS**

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

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C984s  
2015 Cusati, Raphael Campos, 1983-  
Síntese e fitotoxicidade de 1,2,4,5-tetraoxanos e análise  
estrutural de 1,2,4-trioxolanos / Raphael Campos Cusati. –  
Viçosa, MG, 2015.  
xxiii, 234f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Célia Regina Álvares Maltha.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.161-174.

1. Herbicida. 2. Tetraoxanos (DeCS). 3. Toxicologia.  
4. Ervas daninhas - Controle.. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em  
Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 632.954

**RAPHAEL CAMPOS CUSATI**

**SÍNTESE E FITOTOXICIDADE DE 1,2,4,5-TETRAOXANOS E ANÁLISE  
ESTRUTURAL DE 1,2,4-TRIOXOLANOS**

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

APROVADA : 05 de janeiro de 2015.

\_\_\_\_\_  
Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa  
(Co-orientador)

\_\_\_\_\_  
Prof. Antônio Jacinto Demuner  
(Co-orientador)

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Vanderlúcia Fonseca de Paula

\_\_\_\_\_  
Prof. Paulo Henrique Fidêncio

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Célia Regina Álvares Matha  
(Orientadora)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me ajudar a superar mais este obstáculo na minha vida.

Aos meus pais José e Nelci, aos meus irmãos Iracema, Maria José, José e Marciana, aos meus sobrinhos Cecília, Marco Túlio e Arthur, por todo amor, carinho, compreensão, apoio e dedicação.

À Camilla pelo amor e carinho, pelo incentivo nas horas difíceis e pela paciência.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

À professora Célia Regina Álvares Maltha pela orientação e amizade.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa pela co-orientação e imensa ajuda na realização do trabalho.

Ao Professor Alberto Oliveros-Bastidas pela imensa ajuda nos ensaios biológicos e discussões do trabalho.

Aos professores Antônio Jacinto Demuner e Antônio Alberto da Silva, pela co-orientação e atenção no desenvolvimento deste trabalho.

Ao técnico do Laboratório de Fitotecnia, Luis Henrique Lopes de Freitas pela imensa ajuda nos ensaios biológicos.

Ao técnico do Infravermelho, Márcio e a técnica do RMN Cristiane Cerceau pela realização dos espectros de RMN.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

RAPHAEL CAMPOS CUSATI, filho de José da Paixão Cusati e Nelci Reis Campos Cusati, nasceu em Ubá, Minas Gerais, em 28 de Janeiro de 1983.

Em 2002, ingressou no curso de Licenciatura e Bacharelado em Química da Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se Bacharel em Março de 2007.

Durante esse período, foi bolsista de Iniciação Científica por dois anos do programa de bolsas da Fapemig, onde desenvolveu pesquisas na área de Produtos Naturais.

Em Março de 2007, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

Em Dezembro de 2008, submeteu-se à defesa de dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Em Janeiro de 2009, reingressou no curso de Licenciatura em Química pela Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se Licenciado em Química em Julho de 2009.

Em Agosto de 2009, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

Em Janeiro de 2015, submeteu-se à defesa de tese para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

# SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xix
RESUMO.....	xx
ABSTRACT.....	xxii
CAPÍTULO 1 - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE 1,2,4,5-TETRAOXANOS.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Revisão de Literatura.....	6
1.2.1. Estudos sintéticos envolvendo a artemisinina e seus derivados.....	6
1.2.2. Tetraoxanos e a ligação peróxido.....	8
1.3. Justificativa.....	12
1.4. Material e Métodos.....	13
1.4.1. Técnicas experimentais.....	13
1.4.1.1. Cromatografia em camada delgada.....	13
1.4.1.2. Separações cromatográficas em coluna.....	13
1.4.1.3. Temperatura de fusão.....	13
1.4.1.4. Infravermelho.....	13
1.4.1.5. Ressonância magnética nuclear.....	13
1.4.1.6. Espectrometria de massas.....	14
1.4.1.7. Espectrometria de Alta Resolução (HRMS).....	14
1.4.2. Reagentes, solventes e soluções.....	15
1.4.2.1. Solventes.....	15
1.4.2.2. Reagentes.....	15

	<b>Página</b>
1.4.2.3. Soluções.....	14
1.5. Procedimentos Sintéticos.....	16
1.5.1. Procedimento geral para a síntese dos dihidroperóxidos <b>13-16, 18-23</b> .....	16
1.5.2. Procedimento geral para a síntese dos dihidroperóxidos <b>17, 24-25</b> .....	19
1.5.3. Procedimento geral para a síntese dos tetraoxanos <b>26-45</b> .....	21
1.6. Resultados e Discussão.....	46
1.6.1. Otimização da metodologia de preparo dos dihidroperóxidos e tetraoxanos.....	46
1.6.2. Síntese dos dihidroperóxidos <b>13-16, 18-23</b> .....	48
1.6.3. Síntese dos dihidroperóxidos <b>17, 24-25</b> .....	51
1.6.4. Síntese dos tetraoxanos <b>26-45</b> .....	53
1.7. Conclusões.....	79
 CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DE 1,2,4,5-TETRAOXANOS.....	 80
2.1. Introdução.....	80
2.2. Material e Métodos.....	80
2.2.1. Preparo das soluções utilizadas nos ensaios biológicos.....	81
2.2.2. Pré-teste para verificar o efeito da formulação sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ) e sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	82
2.2.3. Pré-teste para verificar o efeito de herbicidas comerciais sobre o crescimento de plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ) e de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	82

	Página
2.2.4. Avaliação da atividade herbicida dos compostos <b>26-45</b> sobre a germinação, crescimento radicular e da parte aérea em plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ).....	83
2.2.5. Avaliação da atividade herbicida dos compostos <b>26-45</b> sobre a germinação, crescimento radicular e da parte aérea em plântulas de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	84
2.2.6. Análise estatística da atividade herbicida dos compostos 26-45 sobre a germinação, o crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ) e sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	84
2.2.7. Avaliação da atividade herbicida dos compostos <b>32-36, 38 e 39</b> sobre a biomassa de raiz e caule em plantas daninhas.....	85
2.3. Resultados e Discussão.....	86
2.3.1. Pré-teste para verificar o efeito da formulação sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ) e de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	86
2.3.2. Pré-teste para verificar o efeito de herbicidas comerciais sobre o crescimento de plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ) e de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	88
2.3.3. Avaliação da atividade dos compostos <b>26-45</b> sobre a germinação, o crescimento radicular e parte aérea de plântulas de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> ) e de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	89
2.3.4. Avaliação da atividade herbicida dos compostos <b>32-36, 38 e 39</b> sobre a biomassa de raiz e caule em plantas daninhas.....	99
2.4. Conclusões.....	114
CAPÍTULO 3 - ESTUDO TEÓRICO DE NOVOS 1,2,4,5-TETRAOXANOS....	115
3.1. Introdução.....	115

	<b>Página</b>
3.1.1. Estudo das Relações Quantitativas Estrutura-Atividade de Compostos Bioativos: QSAR.....	115
3.1.1.1. Modelagem Molecular.....	117
3.1.1.2. <i>Software</i> CODESSA e Estudos de QSAR/QSPR.....	118
3.1.2. Estudo de propriedades teóricas para obter novos herbicidas.....	120
3.2. Material e Métodos.....	122
3.2.1. Cálculo do valor de EC <sub>50</sub> .....	122
3.2.2. Cálculos semi-empíricos e estudo de QSAR.....	122
3.2.3. Cálculo das propriedades teóricas para herbicidas.....	123
3.3. Resultados e Discussão.....	124
3.3.1. Cálculo do valor de EC <sub>50</sub> .....	124
3.3.2. Estudos de QSAR.....	127
3.3.3. Estudo das propriedades teóricas para herbicidas.....	130
3.4. Conclusões.....	134
CAPÍTULO 4 - ANÁLISE CRISTALOGRÁFICA DE OZONÍDEOS (1,2,4-TRIOXOLANOS).....	135
4.1. Introdução.....	135
4.2. Material e Métodos.....	136
4.2.1. Síntese.....	136
4.2.2. Análise cristalográfica por difração de raios X de monocristal.....	137
4.2.3. Cálculos computacionais.....	138
4.3. Resultados e Discussão.....	139
4.3.1. Síntese do ozonídeos.....	139
4.3.2. Análise da estrutura dos cristais e cálculos computacionais.....	140

4.4. Conclusões.....	157
CONCLUSÕES GERAIS.....	158
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	160
ANEXO I - ESPECTROS.....	174
ANEXO II - TABELAS.....	223
ANEXO III - FIGURAS.....	226
ANEXO IV - PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	233

## LISTA DE FIGURAS

		Página
	Capítulo 1	
1	Gastos com defensivos agrícolas em toneladas entre os anos de 2003 e 2012 no Brasil (Fonte: SINDAG, 2013).....	1
2	Participação das classes de agroquímicos na quantidade vendida de defensivos agrícolas, em produto comercial, no ano de 2012 no Brasil (Fonte: SINDAG, 2013).....	2
3	Exemplos de herbicidas comerciais (A, B, D, E, G) desenvolvidos a partir de produtos naturais (A, C, F).....	5
4	Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (JEFFORD e BOUKOUVALAS, 1988).....	9
5	Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (KIM <i>et al.</i> , 1999).....	10
6	Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (ZMITEK <i>et al.</i> , 2006).....	10
7	Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (OPSENICA <i>et al.</i> , 2008).....	10
8	Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (TERENT'EV <i>et al.</i> , 2009).....	11
9	Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (SASHIDHARA <i>et al.</i> , 2012).....	11
10	Esquema geral da síntese dos hidroperóxidos <b>13-16, 18-23</b> .....	48
11	Mecanismo de obtenção de hidroperóxido catalisada por ácido.....	50
12	Esquema geral da síntese dos hidroperóxidos <b>17, 24-25</b> .....	51
13	Esquema geral da síntese dos tetraoxanos <b>26-45</b> .....	53
14	Esquema com as quatro séries de tetraoxanos sintetizados.....	54
15	Mecanismo geral de formação de 1,2,4,5-tetraoxano.....	57
16	Cromatograma comparativo entre a cicloexanona padrão (preto) e cicloexanona produto da decomposição térmica do tetraoxano (vermelho).....	59

	<b>Página</b>
17	Fragmentação do tetraoxano regenerando o material de partida (ciclohexanona)..... 59
18	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[26]</b> ..... 61
19	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[26]</b> ..... 62
20	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[26]</b> ..... 63
21	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[35]</b> ..... 65
22	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[35]</b> ..... 66
23	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[35]</b> ..... 67
24	Comparação do RMN de $^1\text{H}$ do tetraoxano <b>[35]</b> em três temperaturas..... 69
25	Comparação do RMN de $^{13}\text{C}$ do tetraoxano <b>[35]</b> em três temperaturas..... 70
26	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[38]</b> ..... 72
27	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[38]</b> ..... 73
28	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[38]</b> ..... 74
29	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[43]</b> ..... 76
30	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[43]</b> ..... 77
31	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[43]</b> ..... 78

## Capítulo 2

1	Estrutura química dos herbicidas <i>imazethapyr</i> e <i>glyphosate</i> ..... 89
2	Tetraoxanos utilizados nos testes preliminares de fitotoxicidade.... 90
3	Efeitos dos compostos <b>26-45</b> e herbicidas no crescimento radicular e parte aérea em plântulas de pepino..... 93

	<b>Página</b>
4	Efeito dos compostos <b>26-45</b> e herbicidas no crescimento radicular e parte aérea em plântulas de sorgo..... 94
5	A análise de <i>Cluster</i> para os tetraoxanos e herbicidas em relação ao efeito de inibição de crescimento em plântulas de <i>S. bicolor</i> e <i>C. sativus</i> (efeitos sobre a parte radicular e aérea nas quatro concentrações testadas)..... 96
6	A análise de <i>Cluster</i> para os tetraoxanos e herbicidas em relação ao efeito de inibição de crescimento em plântulas de <i>S. bicolor</i> e <i>C. sativus</i> (efeitos sobre a parte radicular e aérea na menor concentração testada - $0,125 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ )..... 98
7	Efeito do composto <b>[35]</b> na concentração de 1.0 mM sobre o crescimento de plantas de <i>Euphorbia heterophylla</i> após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com <i>glyphosate</i> e c) planta tratada com o tetraoxano <b>[35]</b> ..... 102
8	Efeito dos compostos <b>[36]</b> e <b>[38]</b> na concentração de 1.0 mM sobre o crescimento de plantas de <i>Euphorbia heterophylla</i> após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o tetraoxano <b>[36]</b> e c) planta tratada com o tetraoxano <b>[38]</b> ..... 103
9	Efeito do composto <b>[32]</b> na concentração de 1.0 mM sobre o crescimento de plantas de <i>Bidens pilosa</i> após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o <i>glyphosate</i> e c) planta tratada com o tetraoxano <b>[32]</b> ..... 106
10	Efeito do composto <b>[39]</b> na concentração de 1.0 mM sobre o crescimento de plantas de <i>Sorghum arundinaceum</i> após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o <i>glyphosate</i> e c) planta tratada com o tetraoxano <b>[39]</b> ..... 109
11	Efeito do composto <b>[38]</b> na concentração de 1.0 mM sobre o crescimento de plantas de <i>Sorghum arundinaceum</i> após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o <i>glyphosate</i> e c) planta tratada com o tetraoxano <b>[38]</b> ..... 110
12	Efeito do composto <b>[39]</b> na concentração de 1.0 mM sobre o crescimento de plantas de <i>Brachiaria brizantha</i> após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o <i>glyphosate</i> e c) planta tratada com o tetraoxano <b>[39]</b> ..... 113

### Capítulo 3

1	Estrutura dos tetraoxanos sintetizados..... 125
---	---

	<b>Página</b>
2	Comparação entre os valores experimentais e calculados de log 1/EC <sub>50</sub> baseado em três parâmetros de equação..... 130
Capítulo 4	
1	Estrutura dos ozonídeos analisados por difração de raios-X..... 136
2	Rota sintética adotada no preparo dos ozonídeos (46-50) por PEREIRA, 2008 e dos ozonídeos (51-52) por CUSATI, 2008..... 137
3	Representação ORTEP-3 da estrutura dos ozonídeos (46-50)..... 143
4	Representação ORTEP da estrutura dos ozonídeos [51] e [52].... 144
5	Representação MERCURY mostrando a sobreposição dos enantiômeros equivalentes de a) 46-50, b) [51] e [52], c) [47] e [52]..... 145
6	Representação Mercury do dímero centrossimétrico formado por (a) [46]; (b) [47]; (c) [48]; (d) [49]; (e) [50]; e (f) [51]..... 147
7	Empacotamento parcial do composto [49] mostrando a infinita cadeia paralela à direção [100] estabilizada por ligação de hidrogênio clássica..... 148
8	Empacotamento parcial do composto [47] mostrando uma porção supramolecular estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas..... 148
9	Empacotamento do composto [47] projetadas no plano bc (011)... 149
10	Empacotamento parcial do composto [52] mostrando as infinitas cadeias duplas paralelas à direção [100] estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas..... 150
11	Empacotamento parcial do composto [46] mostrando as infinitas cadeias paralelas à direção [211] estabilizadas por ligações de hidrogênio não clássicas..... 150

12	a) Ligação de hidrogênio não clássica intermolecular onde os átomos de oxigênio O4 e O5 são aceptores na ligação de hidrogênio bifurcada em relação ao doador C7-H7. Algumas distâncias de separação dos aceptores (Å) são mostradas. b) Hexagrama formado por seis moléculas relacionadas pelo eixo $\bar{3}$ ao longo da direção [001], estabilizadas por ligação de hidrogênio envolvendo os átomos C7-H7, O4 e O5. c) Visão do hexagrama ao longo do plano <i>ac</i> .....	151
13	Visão do empacotamento no formato de hexagrama na direção do plano <i>ab</i> destacando a estrutura no formato de favo de mel.....	152
14	Estruturas tridimensionais dos compostos <b>46-52</b> ( $R_1 = \text{COCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_3$ ; $R_2 = \text{H}, (\text{CO})\text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{OH}, \text{CH}_2\text{OCH}_3$ ; $R_3 = \text{H}, \text{CH}_3$ ) mostrando o ângulo diedro ( $\phi$ ) H6-C6-C5-H5.....	156

#### ANEXO I

1	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[27]</b> .....	175
2	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[27]</b> .....	176
3	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[27]</b> .....	177
4	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[28]</b> .....	178
5	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[28]</b> .....	179
6	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[28]</b> .....	180
7	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[29]</b> .....	181
8	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[29]</b> .....	182
9	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[29]</b> .....	183
10	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[30]</b> .....	184
11	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[30]</b> .....	185

	<b>Página</b>
12	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[30]</b> ..... 186
13	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[31]</b> ..... 187
14	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[31]</b> ..... 188
15	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[31]</b> ..... 189
16	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[32]</b> ..... 190
17	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[32]</b> ..... 191
18	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[32]</b> ..... 192
19	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[33]</b> ..... 193
20	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[33]</b> ..... 194
21	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[33]</b> ..... 195
22	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[34]</b> ..... 196
23	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[34]</b> ..... 197
24	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[34]</b> ..... 198
25	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[36]</b> ..... 199
26	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[36]</b> ..... 200
27	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[36]</b> ..... 201
28	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[37]</b> ..... 202
29	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[37]</b> ..... 203
30	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[37]</b> ..... 204
31	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[39]</b> ..... 205
32	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[39]</b> ..... 206
33	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[39]</b> ..... 207
34	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[40]</b> ..... 208
35	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[40]</b> ..... 209

	<b>Página</b>
36	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[40]</b> ..... 210
37	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[41]</b> ..... 211
38	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[41]</b> ..... 212
39	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[41]</b> ..... 213
40	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[42]</b> ..... 214
41	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[42]</b> ..... 215
42	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[42]</b> ..... 216
43	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[44]</b> ..... 217
44	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[44]</b> ..... 218
45	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[44]</b> ..... 219
46	Espectro no infravermelho (IV) do composto <b>[45]</b> ..... 220
47	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[45]</b> ..... 221
48	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>[45]</b> ..... 222

### ANEXO III

1	Empacotamento do composto <b>[47]</b> projetado nos planos <i>bc</i> (a), <i>ac</i> (b), e <i>ab</i> (c), respectivamente..... 227
2	Empacotamento do composto <b>[48]</b> projetado nos planos <i>bc</i> (a), <i>ac</i> (b), e <i>ab</i> (c), respectivamente..... 228
3	Empacotamento do composto <b>[49]</b> projetado nos planos <i>bc</i> (a), <i>ac</i> (b), e <i>ab</i> (c), respectivamente..... 229
4	Empacotamento do composto <b>[50]</b> projetado nos planos <i>bc</i> (a), <i>ac</i> (b), e <i>ab</i> (c), respectivamente..... 230
5	Empacotamento do composto <b>[51]</b> projetado nos planos <i>bc</i> (a), <i>ac</i> (b), e <i>ab</i> (c), respectivamente..... 231
6	Empacotamento do composto <b>[52]</b> projetado nos planos <i>bc</i> (a), <i>ac</i> (b), e <i>ab</i> (c), respectivamente..... 232

## LISTA DE TABELAS

		Página
Capítulo 1		
1	Quantidades dos reagentes para o preparo dos hidroperóxidos <b>13-16, 18-23</b> .....	17
2	Quantidades de reagentes para o preparo dos hidroperóxidos <b>17, 24-25</b> .....	20
3	Quantidades dos reagentes para o preparo dos tetraoxanos <b>26-45</b> .....	22
4	Variáveis modificadas na tentativa de otimização.....	47
5	Dados referentes aos hidroperóxidos <b>13-16, 18-23</b> .....	49
6	Dados referentes aos hidroperóxidos <b>17, 24-25</b> .....	52
7	Dados referentes aos tetraoxanos <b>26-45</b> .....	56
Capítulo 2		
1	Comparação entre formulação e água destilada sobre a germinação de sementes de <i>C. sativus</i> e <i>S. bicolor</i> .....	87
2	Efeito dos compostos sintetizados sobre a germinação das sementes...	91
3	Efeitos dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> no acúmulo de matéria seca (raíz e caule) em plantas de <i>Euphorbia heterophylla</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	100
4	Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> em plantas de <i>Euphorbia heterophylla</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	101
5	Efeitos dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> no acúmulo de matéria seca (raíz e caule) em plantas de <i>Bidens pilosa</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	104
6	Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> em plantas de <i>Bidens pilosa</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	105

	<b>Página</b>	
7	Efeitos dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> no acúmulo de matéria seca (raíz e caule) em plantas de <i>Sorghum arundinaceum</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	107
8	Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> em plantas de <i>Sorghum arundinaceum</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	108
9	Efeitos dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> no acúmulo de matéria seca (raíz e caule) em plantas de <i>Brachiaria brizantha</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	111
10	Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos <b>32, 33, 34, 35, 36, 38, 39</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> em plantas de <i>Brachiaria brizantha</i> após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte.....	112

### Capítulo 3

1	Valores calculados de EC <sub>50</sub> para os tetraoxanos <b>26-45</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> em plântulas de <i>C. sativus</i> (pepino) e <i>S. bicolor</i> (sorgo).....	126
2	Valores de log 1/EC <sub>50</sub> determinados nos ensaios biológicos.....	128
3	Modelo de QSAR proposto para os tetraoxanos sintetizados.....	129
4	Propriedades teóricas calculadas para os compostos sintetizados <b>26-45</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> .....	131

### Capítulo 4

1	Rendimento da etapa de ozonólise a partir da variação dos radicais do anel furânico.....	139
2	Dados cristalográficos dos compostos <b>[46-52]</b> .....	141
3	Comparação entre os valores de comprimento de ligação (Å) oxigênio-oxigênio obtido por cálculos teóricos e análise por difração de raios-X...	153

	<b>Página</b>
4 Comprimento de ligação (Å) dos ozonídeos ( <b>46-52</b> ) obtidos por raios-X e cálculos teóricos.....	154
5 Ângulo de ligação (°) dos ozonídeos ( <b>46-52</b> ) obtidos por raios-X e cálculos teóricos.....	155
6 Comparação entre o valor experimental e teórico do ângulo diedro para os átomos H5-C5-C6-H6 e da constante de acoplamento $J_{5,6}$ .....	157

## ANEXO II

1 Efeito dos tetraoxanos <b>26-45</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> no crescimento de plântulas de <i>C. sativus</i> após 10 dias de semeadura.....	224
2 Efeito dos tetraoxanos <b>26-45</b> , <i>glyphosate</i> e <i>imazethapyr</i> no crescimento de plântulas de <i>S. bicolor</i> após 7 dias de semeadura.....	225

## LISTA DE ABREVIATURAS

AcOET	Acetato de Etila
AlCl <sub>3</sub>	Cloreto de Alumínio
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio Deuterado
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de massas
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitrila
COSY	Correlated Spectroscopy
d	Dupleto
DCM	Diclorometano
dd	Dupleto duplo
HETCOR	Heteronuclear Correlation
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
m	Multipleteo
<i>m/z</i>	Relação massa/carga dos fragmentos dos espectros de massa
n	Quantidade de matéria
q	Quarteto
qd	Quarteto duplo
quint	Quinteto
quint d	Quinteto duplo
R <sub>f</sub>	Fator de retenção
RMN de <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono
RMN de <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
t	Tripleteo
T <sub>f</sub>	Temperatura de fusão
THF	Tetraidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
$\delta$	Deslocamento químico

## RESUMO

CUSATI, Raphael Campos, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2015. **Síntese e fitotoxicidade de 1,2,4,5-tetraoxanos e análise estrutural de 1,2,4-trioxolanos.** Orientadora: Célia Regina Álvares Maltha. Coorientadores: Antonio Jacinto Demuner e Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Os 1,2,4,5-tetraoxanos correspondem a compostos que apresentam em sua estrutura geral anel de 6 membros com 4 oxigênios, sendo sua síntese descrita como fácil, rápida e que utiliza reagentes de baixo custo. Os tetraoxanos têm comprovada ação na área farmacológica, especialmente para o tratamento da malária e apesar da facilidade sintética, não há qualquer registro na literatura sobre a avaliação dessa classe de compostos como herbicidas. Diante da semelhança estrutural dos tetraoxanos com os 1,2,4-trioxolanos (ozonídeos) por apresentarem em sua estrutura a porção peróxido, comprovadamente responsável pela atividade fitotóxica nos ozonídeos, além de ambos serem eficientes no combate à malária. O presente trabalho teve por objetivo sintetizar uma série de novos 1,2,4,5-tetraoxanos, visando a avaliação de sua atividade herbicida. Buscou-se ainda, realizar estudos teóricos de correlação estrutura-atividade (QSAR) visando compreender os fatores estruturais mais importantes para a atividade herbicida e assim prosseguir no processo de otimização da estrutura e produção de compostos mais ativos. Nesse sentido, os tetraoxanos foram preparados inicialmente a partir da conversão de aldeídos aromáticos (e/ou cetonas cíclicas e lineares) em 1,1-dihidroperóxidos na presença de peróxido de hidrogênio em meio ácido com rendimentos variando de 50% a 91%. Os hidroperóxidos então, reagiram com novos compostos carbonílicos em meio ácido para a formação de (20) vinte 1,2,4,5-tetraoxanos com rendimentos entre 10% e 52%. Os compostos sintetizados foram completamente caracterizados, utilizando-se as técnicas de espectroscopia no IV, espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , além de espectrometria de alta resolução. A atividade fitotóxica foi avaliada inicialmente *in vitro* em plantas indicadoras com rápida resposta, sorgo (*Sorghum bicolor*) para a classe das monocotiledôneas e pepino (*Cucumis sativus*) para as dicotiledôneas. Todos os compostos apresentaram alta taxa de inibição do

crescimento radicular e parte aérea em ambas as plântulas, de modo que, procedeu-se análise estatística de agrupamento (análise de *Cluster*) por similaridade no tocante à fitotoxicidade. Sete tetraoxanos apresentaram resultados comparáveis ou superiores aos herbicidas comerciais, *glyphosate* e *imazethapyr*, utilizados como controle neste trabalho. Os compostos mais ativos foram então submetidos a testes *in vivo* com 4 espécies de plantas daninhas: monocotiledôneas *Brachiaria brizantha* (braquiária), *Sorghum arundinaceum* (falso-massambará) e dicotiledôneas *Bidens pilosa* (picão-preto), *Euphorbia heterophylla* (leiteiro). O resultado mais importante foi para o tetraoxano [39], que apresentou valores de inibição do crescimento radicular e da parte aérea estatisticamente superiores aos herbicidas testados, causando inclusive amarelecimento das folhas em plantas de *Brachiaria brizantha*. Além da atividade biológica supracitada, todos os compostos foram submetidos a estudos de QSAR e ainda foram estudadas uma série de propriedades teóricas que se avalia a partir dos dados obtidos se um determinado composto pode se tornar um novo herbicida. Procedeu-se também, devido a semelhança estrutural já citada, análise cristalográfica por difração de raios-x de sete ozonídeos (1,2,4-trioxolanos) preparados anteriormente (trabalho de Mestrado) e cinco deles cristalizam com sistema cristalino monoclinico e grupo espacial  $P2_1/c$ . O composto [46] cristalizou de maneira incomum com grupo espacial centrossimétrico  $R\bar{3}m$ , representando apenas 0,04% do total de moléculas com estrutura conhecida. A estrutura supramolecular deste composto forma infinitas cadeiras no formato hexagonal, resultando em uma estrutura no formato de favo de mel. Utilizou-se ainda, cálculos teóricos, como o método semi-empírico PM6 e cálculos DFT utilizando o funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G(d) para otimizar a geometria das moléculas e calcular parâmetros estruturais como comprimento de ligação e ângulo, assim como ângulo diedro e comparar os resultados com os obtidos a partir da estrutura cristalina refinada. Os resultados mostraram correlação satisfatória entre os valores experimentais e teóricos.

## ABSTRACT

CUSATI, Raphael Campos, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2015. **Synthesis and phytotoxicity of 1,2,4,5-tetraoxanes and structural analysis of 1,2,4-trioxolanes.** Adviser: Célia Regina Álvares Maltha. Co-Advisers: Antonio Jacinto Demuner and Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

The 1,2,4,5-tetraoxanes correspond to compounds having in their general structural 6-membered ring with 4 oxygen atoms, their synthesis being described as easily, quickly and using reagents with low economic value. The tetraoxanes have proven action in the pharmaceutical field, especially for the treatment of malaria and even synthetic ease, there is no report in the literature on the evaluation of this class of compounds as herbicides. Since the structural similarity of tetraoxanes with 1,2,4-trioxolanes (ozonides), having in their structure a portion peroxide responsible for phytotoxic activity in ozonides, and both are effective against malaria, the present study was order to synthesize a series of new 1,2,4,5-tetraoxanes and evaluate its herbicidal activity. Aimed to further conduct theoretical studies of structure-activity (QSAR) seeking to understand the most important structural factors for herbicide activity and thus proceed to the optimization of structure and production more active compounds. Accordingly, the tetraoxanes were initially prepared from the aromatic aldehyde conversion (and/or linear and cyclic ketones) in 1,1-hydroperoxides in the presence of hydrogen peroxide in an acid medium with yields ranging from 50% to 91%. Hydroperoxides then reacted with new carbonyl compounds in an acid medium to form twenty (20) 1,2,4,5-tetraoxanes with yields between 10% and 52%. The synthesized compounds were fully characterized using the techniques of IR spectroscopy,  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy and  $^{13}\text{C}$ , in addition to High-Resolution Mass Spectrometry. The phytotoxic activity was initially assessed *in vitro* with plants of *Sorghum bicolor* for the class of monocotyledonous and *Cucumis sativus* for dicotyledons, where all compounds showed high inhibition rate of root growth and shoot in both the seedlings so that proceeded statistical analysis (*Cluster* analysis) with regard to the similarity phytotoxicity. Seven tetraoxanes showed results comparable or superior to commercial herbicides, glyphosate and *imazethapyr* used as a control in this

study. The most active compounds were then subjected to *in vivo* tests with four weed species: monocots *Brachiaria brizantha*, *Sorghum arundinaceum*, and dicotyledons *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla* and as a result more importantly, tetraoxane [39] presented values of inhibition of root growth and shoot higher than to herbicides, including causing yellowing of leaves in plants of *Brachiaria brizantha*. Besides the biological activity, all compounds were been subjected to QSAR studied. Crystal structure analysis by X-ray was performed in seven ozonídeos due to the aforementioned structural similarity. Five of them crystallize in monoclinic crystal system and space group P21/c. The compound [46] crystallized unusually centrosymmetric space group  $R\bar{3}m$ , representing appended 0.04% of molecules with known structure. The supramolecular structure of this compound seats in endless form hexagonal shape, resulting in a structure in honeycomb form. Theoretical calculations were used, such as the semi-empirical method PM6 and DFT calculations using the B3LYP functional and the basis set 6-31G(d) for optimizing the geometry of the molecules and structural parameters as calculated bond and angle length, as dihedral angle and comparing the results with those obtained from the refined crystal structure. The results show good correlation between the theoretical and experimental values.

## CAPÍTULO 1

### SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE 1,2,4,5-TETRAOXANOS

#### 1.1. Introdução

O aumento da produtividade na agricultura requer, entre outros fatores, o controle de uma variedade de pragas e doenças, destacando-se as plantas daninhas (STETTER e LIEB, 2000). Dentre as várias estratégias utilizadas para o controle de plantas daninhas, o uso de herbicidas tem sido a prática mais difundida.

No ano de 2012 foram comercializados no Brasil aproximadamente 823 mil toneladas de produtos utilizados como defensivos agrícolas, segundo levantamento realizado pelo Sindicato Nacional de Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG, 2013) e como mostra a Figura 1, esse consumo tem aumentado ao longo dos últimos anos.

**Gastos com Defensivos Agrícolas (toneladas)  
2003-2012**

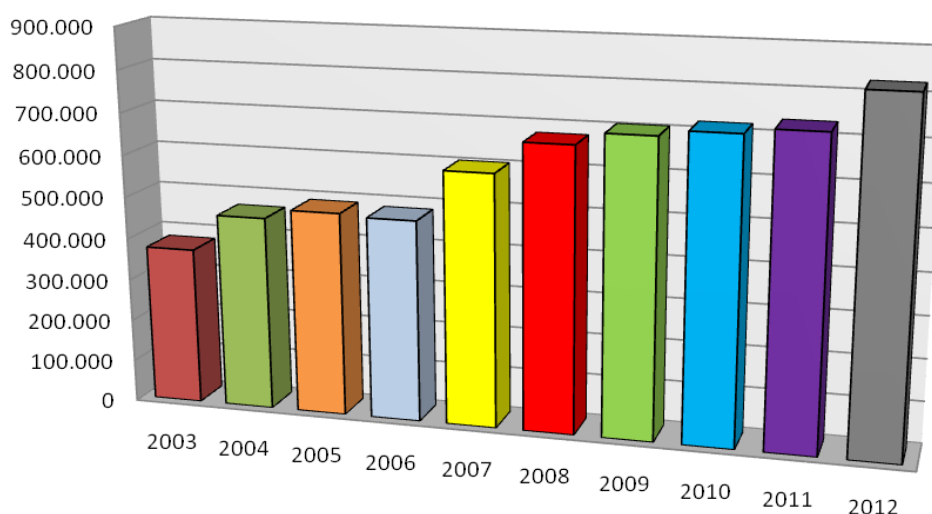


Figura 1. Gastos com defensivos agrícolas em toneladas entre os anos de 2003 e 2012 no Brasil (Fonte: SINDAG, 2013)

A classe de herbicidas é a que tem o maior volume de vendas, em relação ao produto comercial, com aproximadamente 470 toneladas (57%) do total de agroquímicos produzidos no país para o controle de pragas e doenças, conforme mostra a Figura 2, seguido dos inseticidas e fungicidas. Em 2012, foi responsável por 32% do faturamento total, ou seja, gerando uma receita de US\$ 3,13 bilhões de dólares.

### Venda de Defensivos Agrícolas por classe em 2012

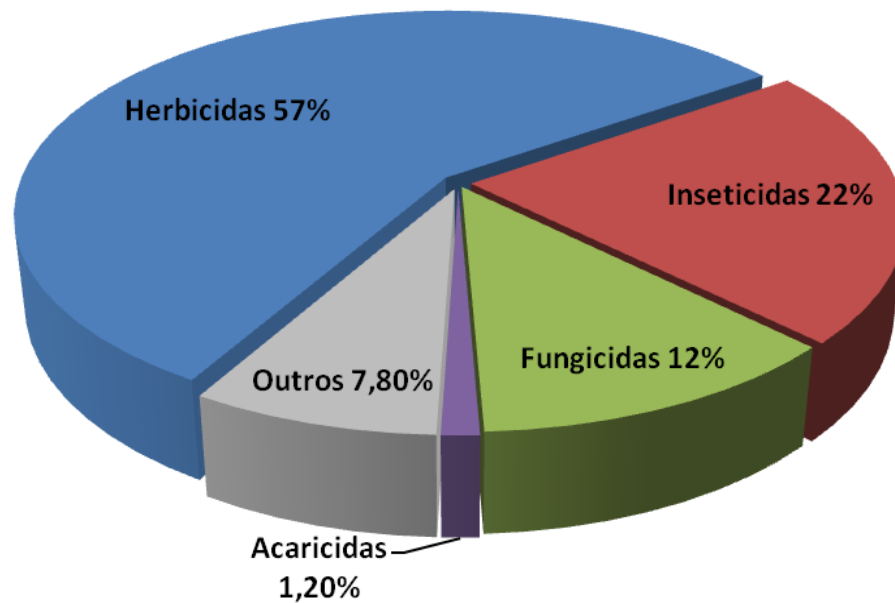


Figura 2. Participação das classes de agroquímicos na quantidade vendida de defensivos agrícolas, em produto comercial, no ano de 2012 no Brasil (Fonte: SINDAG, 2013)

Atualmente, 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 avanços realizados na área de controle químico de plantas daninhas nos últimos sessenta anos, desde a introdução dos primeiros herbicidas orgânicos sintéticos, a demanda por novos produtos é elevada, pois há uma crescente preocupação em preservar o meio ambiente. Esses compostos podem se acumular ao longo da cadeia alimentar, causando efeitos não específicos, e também podem induzir resistência em plantas daninhas após

um tempo de utilização prolongado (LEIN *et al.*, 2004). Os primeiros casos de resistência de plantas daninhas foram descritos na década de 1960. Estima-se que, hoje, existam aproximadamente 400 biótipos de plantas daninhas que apresentam resistência a um ou mais herbicidas (HEAP, 2013; SILVA *et al.*, 2001; DEVINE e SHUKLA, 2000; SILVA *et al.*, 2007).

Além disso, novos tipos de plantas daninhas frequentemente surgem, e com isso existe a demanda por novos herbicidas com características físico-químicas que propiciem funcionalidades diferenciadas e comportamentos ambientais distintos para controlar tais plantas (WANG *et al.*, 2012; CANTRELL *et al.*, 2012). Em vista dos problemas mencionados anteriormente ligados ao uso de herbicidas, torna-se desejável o desenvolvimento de novos compostos que sejam mais ativos, mais específicos e menos agressivos ao meio ambiente.

Na busca e desenvolvimento de novos compostos para o controle de plantas daninhas, tem-se utilizado abordagens que são similares àquelas empregadas pela indústria farmacêutica (SHORT, 2005). 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).

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 e interessante abordagem 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. Estes metabólitos podem ser utilizados diretamente como herbicidas ou ainda como modelos para o desenvolvimento de novas classes de herbicidas (GODFREY, 1995; COPPING, 1996; DUKE *et al.*, 2000a; DUKE *et al.*, 2000b; DUKE *et al.*, 2002). Este 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 (DUKE *et al.*, 2000b, DUKE *et al.*, 2005). A investigação destes novos mecanismos de ação de herbicidas naturais sobre as plantas daninhas é importante porque pode resultar no planejamento racional de novas classes de herbicidas. Assim, herbicidas com novos sítios de ação são desejáveis para combater o rápido crescimento de plantas daninhas resistentes. Outro fator favorável à utilização de metabólitos secundários na busca por novos herbicidas é a possibilidade de obtenção de compostos que apresentem um baixo impacto ambiental. 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-se o desenvolvimento de produtos comerciais. Exemplos de herbicidas que são comercializados hoje em dia e que foram desenvolvidos a partir da estrutura de metabólitos secundários incluem bialafos, fosfonotricina, cinmetilina, sulcotriona e mesotriona (Figura 3).

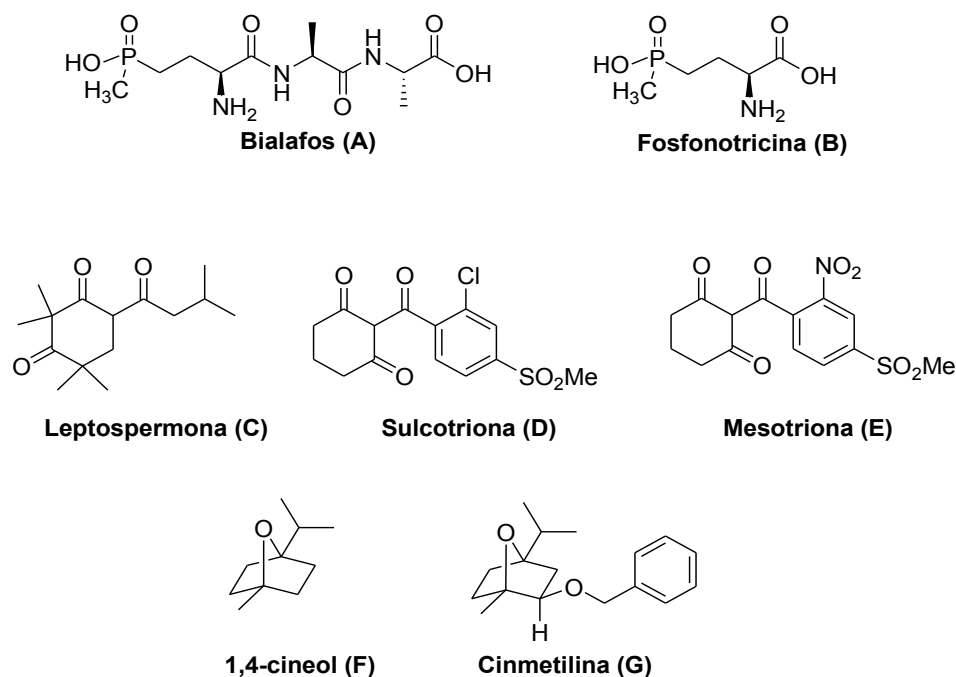


Figura 3. Exemplos de herbicidas comerciais (A, B, D, E, G) desenvolvidos a partir de produtos naturais (A, C, F)

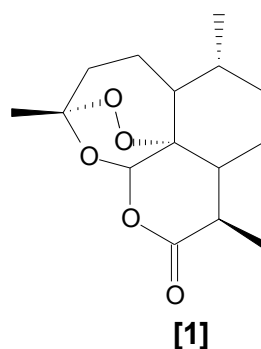
Os compostos bialafos e fosfonotricina correspondem a dois herbicidas comercializados atualmente e que foram desenvolvidos a partir de metabólitos secundários isolados de bactérias (SAXENA e PANDEY, 2001). A Cinmetilina é um herbicida seletivo para o controle de gramíneas em plantações de arroz e é análogo ao monoterpene natural 1,4-cineol, um composto fitotóxico e uma das primeiras substâncias identificadas como agente alelopático (DUKE e OLIVA, 2004). As tricetonas mesotriona (MITCHELL *et al.*, 2001), e sulcotriona (CHAABANE *et al.*, 2005) são, respectivamente, os princípios ativos dos herbicidas comerciais Callisto<sup>®</sup> e Mikado<sup>®</sup>. Essas tricetonas são análogas ao produto natural leptospermona (van KLINK *et al.*, 1999).

Um número relativamente grande destas fitotoxinas é derivado da rota metabólica dos terpenos, e o modo de ação de apenas poucas dessas fitotoxinas é conhecido (DUKE e OLIVA, 2004; SILVA *et al.*, 2007).

## 1.2. Revisão de Literatura

### 1.2.1. Estudos sintéticos envolvendo a artemisinina e seus derivados

Dentre várias substâncias naturais potencialmente fitotóxicas, derivadas da rota dos terpenos, podemos citar a artemisinina **[1]**, uma lactona sesquiterpênica isolada da *Artemisia annua* L., que contém em sua estrutura uma ligação peróxido. *A. annua* trata-se de uma planta aromática muito usada há séculos pela medicina tradicional chinesa no combate à febre e malária (KAPOOR *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2002), e que também apresenta atividade fitotóxica (BAGCHI *et al.*, 1998). Outros compostos estruturalmente semelhantes à artemisinina também exibiram potencial para atividade inibidora do crescimento de plantas (DAYAN *et al.*, 1999).

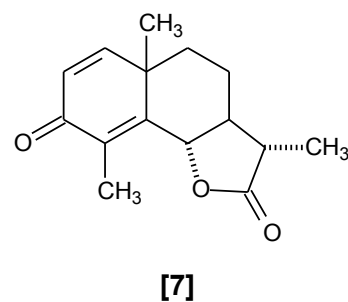
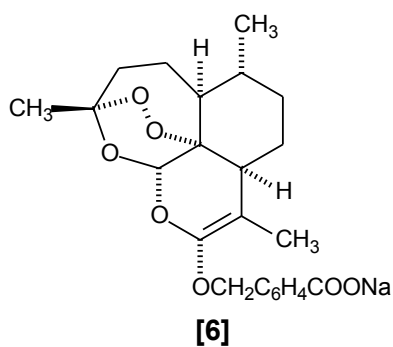
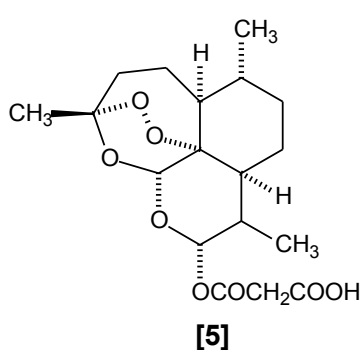
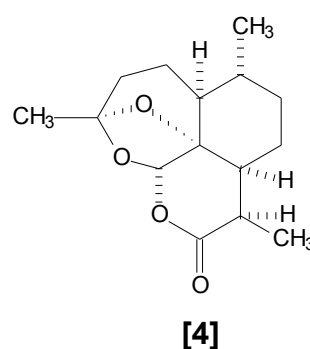
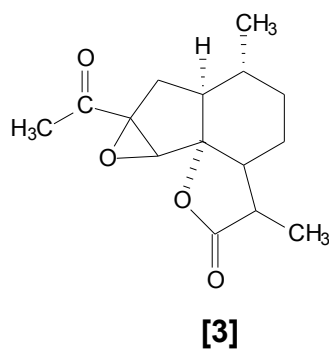
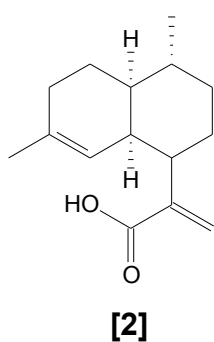


Estudos realizados por DUKE e seus colaboradores (1987) demonstraram que a artemisinina é uma fitotoxina seletiva e que a unidade peróxido é essencial para a sua fitotoxicidade. Também DAYAN *et al.* (1999) estudaram a fitotoxicidade de compostos sesquiterpênicos sintéticos, análogos à artemisinina, e observaram que a maioria desses compostos inibe a germinação de sementes de monocotiledôneas e o crescimento de raízes de dicotiledôneas.

STILES *et al.* (1994) demonstraram que a artemisinina **[1]** e o ácido arteanuico **[2]** são biologicamente ativos em plantas, alterando os teores de clorofila, a taxa de fotossíntese e atividade respiratória, sendo o efeito da

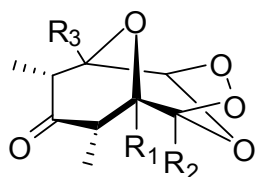
artemisinina maior que o do ácido, em todos os parâmetros testados, sobre a planta aquática *Lemna minor*.

Em outro trabalho, CHEN e LEATHER (1990) realizaram estudo avaliando a atividade da artemisinina [1] e de alguns compostos relacionados similares (ácido artenuico [2], arteanuino B [3], deoxiartemisinina [4], ácido artesúnic [5], artelinato de sódio [6] e  $\alpha$ -santonina [7]), na indução do crescimento da raiz de feijão da espécie *Phaseolus aureus*. A artemisinina [1], ácido artesúnic [5] e artelinato de sódio [6] promoveram inibição do crescimento da raiz do feijão. A deoxiartemisinina [4], com estrutura bastante semelhante à artemisinina, porém não possuindo a ligação peróxido, não apresentou inibição do crescimento radicular em plântulas de feijão. Observa-se então que a presença da ligação peróxido na estrutura desses compostos parece ser determinante para a atividade herbicida (MESHNICK, 2002; DREW *et al.*, 2007).

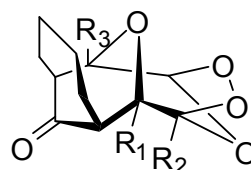


Trabalhos anteriores realizados no grupo de pesquisa LASA (Laboratório de Análises e Síntese de Agroquímicos) mostraram que compostos com a ligação peróxido: ozonídeos (1,2,4-trioxolanos), com estrutura geral [8] e [9], apresentam considerável efeito sobre o crescimento radicular e parte aérea em

uma série de espécies de plantas estudadas, como sorgo (*Sorghum bicolor*), pepino (*Cucumis sativus*), braquiária (*Brachiaria decumbens*) e corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*). Testes realizados em casa de vegetação, no qual avaliou o percentual de perda de massa das plantas tratadas com os ozonídeos sintetizados reforçaram o potencial fitotóxico destes compostos que apresentam ligação peróxido em sua estrutura (BARBOSA *et al.*, 2008, 2009).



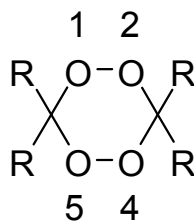
[8]



[9]

### 1.2.2. Tetraoxanos e a ligação peróxido

No sentido de dar continuidade aos estudos envolvendo compostos oxigenados de potencial herbicida e que apresentam uma ligação peróxido, uma nova classe de compostos sintéticos despertou o interesse para investigação. Trata-se de compostos com 4 oxigênios em sua estrutura formando anel de 6 membros, denominados 1,2,4,5-tetraoxanos, com estrutura geral [10].



[10]

Os tetraoxanos tem comprovada ação antimalárica (OPSENICA *et al.*, 2008a; ELLIS *et al.*, 2008; FRANCO *et al.*, 2012). Estudos realizados por ELLIS e colaboradores em 2008 mostraram que o composto [11] apresentou considerável atividade antimalárica com valor de IC<sub>50</sub> na faixa de 25 nM, além



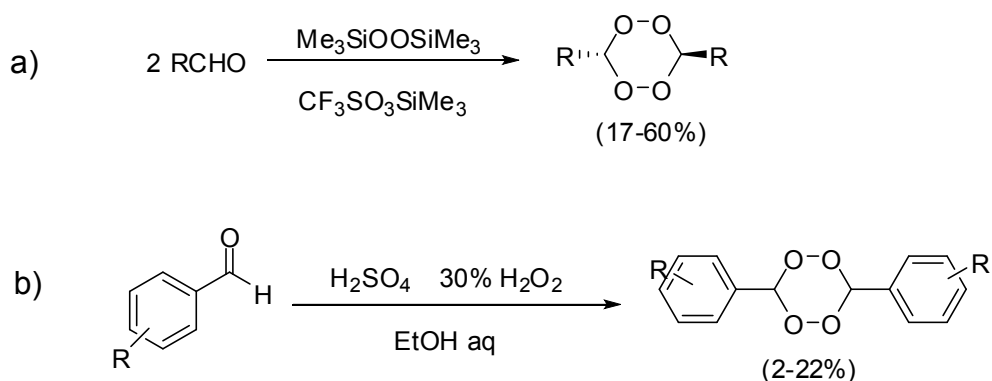


Figura 5. Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (KIM *et al.*, 1999)

ZMITEK e seus colaboradores (2006) utilizam na síntese em uma única etapa de tetraoxanos provenientes de cetonas cíclicas e acíclicas, na presença do peróxido de hidrogênio, os catalisadores ácido fluorbórico ( $\text{HBF}_4$ ) e metiltrióxido de rênio (MTO) com rendimentos variando entre 44 e 88% (Figura 6).

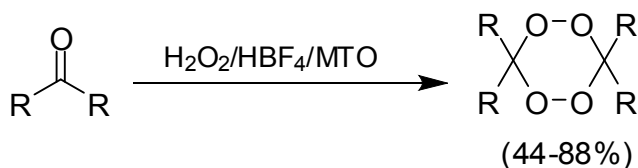


Figura 6. Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (ZMITEK *et al.*, 2006)

OPSENICA e seus colaboradores (2008a), cuja metodologia consiste, na primeira etapa, a produção do hidroperóxido a partir de um composto carbonílico (aldeído ou cetona) e peróxido de hidrogênio catalisado por ácido, neste caso, ácido clorídrico (HCl). Já a segunda etapa consiste em reagir o hidroperóxido preparado anteriormente com o composto carbonílico de interesse em meio ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) para que ocorra o fechamento do anel de 6 membros levando a formação do tetraoxano, conforme mostra a Figura 7.

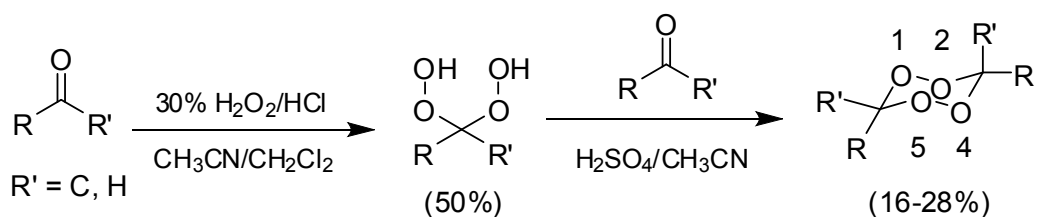


Figura 7. Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (OPSENICA *et al.*, 2008a)

TERENT'EV e seus colaboradores (2009) descrevem a síntese dos tetraoxanos a partir de  $\beta$ -dicetonas na presença de peróxido de hidrogênio em uma única etapa em que utiliza como catalisador ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), ácido perclórico ( $HClO_4$ ), ácido fluorbórico ( $HF_4$ ) e trifluoreto de boro ( $BF_3$ ), obtendo rendimentos que variam entre 44 e 77% (Figura 8).

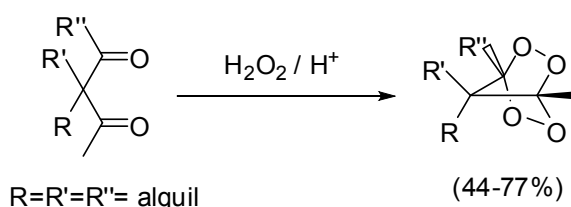


Figura 8. Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (TERENT'EV *et al.*, 2009)

A mesma metodologia em duas etapas utilizada por OPSENICA é empregada por SASHIDHARA *et al.* (2012), na qual o composto carbonílico reage com peróxido de hidrogênio só que o catalisador utilizado é o triflato de bismuto ( $Bi(OTf)_3$ ) para ambas etapas (Figura 9).

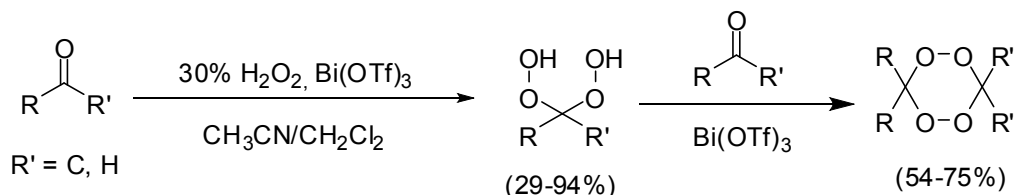


Figura 9. Síntese de 1,2,4,5-tetraoxanos (SASHIDHARA *et al.*, 2012)

Para a produção do hidroperóxido, que é intermediário de extrema importância tanto na medicina, quanto na síntese orgânica (OPSENICA *et al.*, 2008b), há descrito na literatura uma série de metodologias, conforme citado anteriormente, que envolvem uso de ácidos de Arrhenius, de Bronsted e de Lewis que foram utilizados com sucesso no preparo dos hidroperóxidos. O mais comum é o uso de ácido clorídrico ( $HCl$ ), conforme descrito por OPSENICA e seus colaboradores em 2008(a). O cloreto de alumínio ( $AlCl_3$ ) foi utilizado com sucesso por AZARIFAR e KHOSRAVI (2011), o ácido tetrafluorbórico ( $HF_4$ ) descrito por ZMITEK e colaboradores (2006), Iodo (ZMITEK *et al.*, 2007), trifluoreto de boro ( $BF_3$ ) relatado por (TERENT'EV *et al.*, 2004) e trifluoreto de bismuto ( $BiF_3$ ) descrito por SASHIDHARA e colaboradores (2012).

Estudos realizados por OPSENICA e seus colaboradores em 2000, mostraram que os tetraoxanos são estáveis em meio básico (pH 12, NaOH/*i*-PrOH/H<sub>2</sub>O, 25 °C) e a altas temperaturas (a 80 °C). Já em 2006, OPSENICA *et al.*, mostraram que os tetraoxanos são estáveis também em meio ácido (pH 1.6, CH<sub>3</sub>OH/HCl, 37 °C), o que possibilita realizar uma série de modificações estruturais em sua molécula utilizando reagentes clássicos levando a formação de tetraoxanos funcionalizados com a presença de funções álcool, ácido carboxílico, amina, amida, etc.

### 1.3. Justificativa

Levando em consideração os estudos avaliando a atividade fitotóxica da artemisinina [1] (CHEN e LEATHER, 1990; STILES *et al.*, 1994; DAYAN, 1999; MESHNICK, 2002; DUKE *et al.*, 2003; KAPPOR *et al.*, 2007) e também dos estudos com relação aos ozonídeos (BARBOSA *et al.*, 2008 e 2009) que atribuem a fitotoxicidade desta classe de compostos à ligação peróxido, o presente trabalho teve como objetivo sintetizar novos 1,2,4,5-tetraoxanos, avaliar sua atividade fitotóxica na busca por novas moléculas biologicamente ativas e realizar estudos de QSAR de modo a orientar posterior síntese criteriosa dos tetraoxanos afim de obter substâncias mais eficientes do ponto de vista fitotóxico.

Além disso, o presente trabalho teve o objetivo realizar a análise cristalográfica por difração de raios-x de ozonídeos (1,2,4-trioxolanos) preparados anteriormente (CUSATI, 2008).

Essa proposta fundamentou-se em três observações:

- A semelhança estrutural entre os trioxolanos e tetraoxanos, uma vez que ambos possuem a ligação peróxido que confere fitotoxicidade aos trioxolanos e à artemisinina;

- A facilidade do preparo dos tetraoxanos, no qual a literatura relata ser uma síntese rápida, de fácil manuseio e utilizar reagentes de baixo valor econômico;

- Na literatura, não há relatos até o presente momento, que tenha sido avaliada a fitotoxicidade dos tetraoxanos.

## **1.4. Material e Métodos**

### **1.4.1. Técnicas experimentais**

#### **1.4.1.1. Cromatografia em camada delgada**

Para a cromatografia em camada delgada (CCD), foram preparadas placas de sílica (sílica gel 60G – F254 com indicador de fluorescência) com 0,25 mm de espessura, por meio de uma mistura na proporção de 1:2 m/v de sílica gel/água. Em algumas situações foram usadas placas Polygram-UV<sub>254</sub> 0,20 mm Macherey - Nagel (20 x 20 cm). Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta ( $\lambda = 254$  nm) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de  $\text{KMnO}_4$ , 20 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e 5 mL de KOH 5% em 300 mL de água) ou solução de ácido fosfomolibdico (12 g de  $2\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 2\text{MoO}_3 \cdot 48\text{H}_2\text{O}$  em 250 mL de etanol).

#### **1.4.1.2. Separações cromatográficas em coluna**

As separações foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 (70-230 mesh) ou sílica gel 60 (230-400 mesh), como fase estacionária.

#### **1.4.1.3. Temperatura de fusão**

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-301 (Microquímica, Brasil).

#### **1.4.1.4. Infravermelho**

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Varian 660 – IR, acessório PIKE GradiATR (Departamento de Química – UFV). As amostras foram analisadas na forma de filme vítreo, depositado entre placas de iodeto de cézio ou brometo de potássio, sendo utilizado diclorometano para dissolução das amostras.

#### **1.4.1.5. Ressonância magnética nuclear**

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho Varian Mercury 300 MHz. Utilizou-se clorofórmio deuterado como solvente, e os espectros foram referenciados pelo sinal do  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta=7,27$ ). As constantes de acoplamento escalar ( $J$ ) foram expressas em Hertz (Hz).

#### **1.4.1.6. Espectrometria de massas**

Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento Shimadzu GC/MS-QP5050A.

#### **1.4.1.7. Espectrometria de Alta Resolução (High Resolution Mass Spectrometry - HRMS)**

Os espectros de massa exata foram obtidos em um equipamento Shimadzu LC-ESI-IT-TOFMS trabalhando em alta resolução e exatidão (<5 ppm) nas seguintes condições: fonte de ionização por elétron spray (ESI), modo positivo +4,5 KV, fluxo de gás nebulizador igual a  $1,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ , pressão do gás de secagem igual a 100 KPa, temperatura da interface (CDL - *curved desorption line*) igual a 200 °C. O tempo de acumulação de íons no octapolo foi de 10 ms. Os espectros de massas foram adquiridos no modo positivo de ionização, com varredura completa na faixa de  $m/z$  100-1000 com um tempo de varredura de 0,2 s. A resolução foi de pelo menos 10.000 FWHM (*Full Width at Half Maximum* – largura à meia altura) a  $m/z$  500.

As análises de ESI-MS foram realizadas em modo positivo e negativo no espectrômetro de massas Shimadzu LCMS-IT-TOF. As condições experimentais foram: temperatura do bloco: 200°C, temperatura de dessolvatação: 200°C, detector de voltagem: 1,63 kV e voltagem da interface: +4,5KV e -3,5KV sem o uso de ácidos e nem de bases para a ionização. Todos os compostos foram solubilizados em metanol e um volume de 5  $\mu\text{L}$  foi injetado no equipamento. Essas soluções foram injetadas na interface de electrospray com uma vazão de 0,2mL/min de uma mistura de metanol:água (1:1), utilizando a bomba do HPLC. Os espectros de massas foram adquiridos num intervalo de  $m/z$  50-1000.

## **1.4.2. Reagentes, solventes e soluções**

### **1.4.2.1. Solventes**

Os solventes utilizados nas separações cromatográficas em coluna foram previamente destilados em evaporadores rotatórios à pressão reduzida.

### **1.4.2.2. Reagentes**

Os reagentes utilizados nas reações, como as cetonas e os aldeídos, não foram previamente purificados.

### **1.4.2.3. Soluções**

As soluções preparadas seguiram metodologia já descrita na literatura (PERRIN e ARMAREGO, 1994).

## 1.5. Procedimentos Sintéticos

### 1.5.1. Procedimento geral para a síntese dos hidroperóxidos 13-16, 18-23


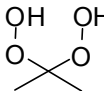
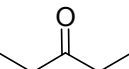
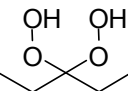
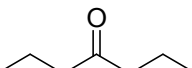
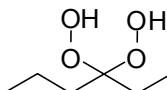
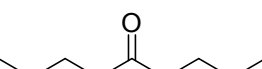
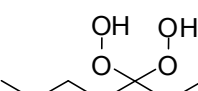

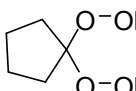

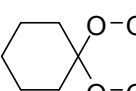
A um balão bitubulado de fundo redondo (50 mL) foi adicionado composto carbonílico e solução de acetonitrila ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) e diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (3:1 v/v) para dissolução do material de partida. Com o auxílio de um funil de adição, foi adicionada gota a gota, a solução de peróxido de hidrogênio 30% e em seguida foram adicionados 6 gotas de solução de HCl concentrado. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e temperatura ambiente por aproximadamente 6 horas.

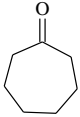
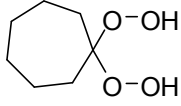
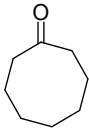
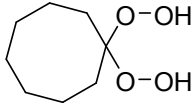
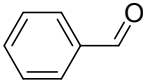
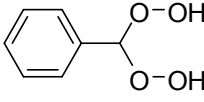
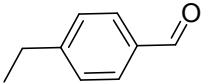
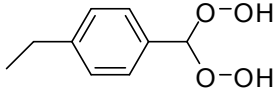
A reação foi interrompida e elaborada com a adição de 25 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) e 25 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . A fase orgânica foi extraída em funil de separação, e a fase aquosa extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de magnésio anidro, e após filtração o solvente foi eliminado em evaporador rotativo sob pressão reduzida à temperatura de 40 °C. O hidroperóxido obtido após evaporação do solvente foi utilizado posteriormente sem purificação prévia (OPSENICA *et al.*, 2008a).

A formação do hidroperóxido correspondente foi monitorada por CCD, sendo que a mancha do produto de interesse aparecia sempre com um  $R_f$  inferior ao material de partida (aldeído ou cetona).

A Tabela 1 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações, bem como o rendimento bruto, uma vez que não houve etapa de purificação.

Tabela 1. Quantidades dos reagentes para o preparo dos hidroperóxidos **13-16**,  
**18-23**

Cetona/ Aldeído	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> CN:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	HCl	Produto
m (g); n (mmol)	(30%) Vol. (mL); n (mmol)	3 : 1 Vol. (mL)	(gotas)	%; m (g) [código]
 <b>1,0; 17,2</b>	<b>17,6;</b> <b>172</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>[13]</b> <b>62; 1,16</b>
 <b>1,0; 11,6</b>	<b>12,0;</b> <b>116</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>[14]</b> <b>82; 1,30</b>
 <b>1,0; 8,75</b>	<b>8,90</b> <b>87,5</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>[15]</b> <b>71; 1,00</b>
 <b>1,0; 7,00</b>	<b>7,20</b> <b>70</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>[16]</b> <b>55; 0,75</b>
 <b>0,5; 5,95</b>	<b>6,10;</b> <b>59,5</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>[18]</b> <b>77; 0,60</b>
 <b>0,5; 5,1</b>	<b>4,90;</b> <b>51,0</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>[19]</b> <b>75; 0,54</b>

				continuação
Cetona/ Aldeído	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> CN:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	HCl	Produto
m (g); n (mmol)	(30%) Vol. (mL); n (mmol)	3 : 1 Vol. (mL)	(gotas)	%; m (g) [código]
 <b>0,5; 4,5</b>	<b>4,50;</b> <b>45,0</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>83; 0,60</b>
 <b>0,5; 3,96</b>	<b>4,00;</b> <b>39,6</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>36; 0,25</b>
 <b>0,5; 4,71</b>	<b>4,80;</b> <b>47,0</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>86; 0,75</b>
 <b>0,5; 3,75</b>	<b>3,80;</b> <b>37,5</b>	<b>15,0</b>	<b>6</b>	 <b>91; 0,63</b>

### 1.5.2. Procedimento geral para a síntese dos dihidroperóxidos 17, 24-25

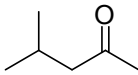
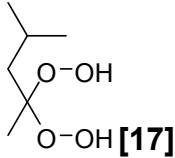
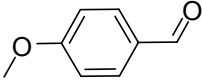
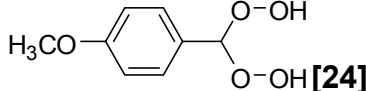
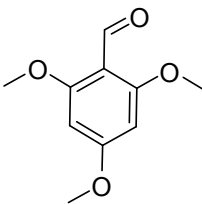
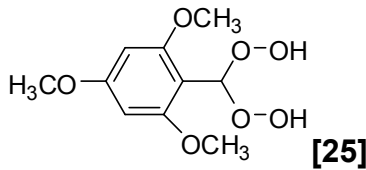
A um balão bitubulado de fundo redondo (50 mL) foi adicionado composto carbonílico, cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) e a acetonitrila ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Com auxílio de um funil de adição, foi adicionada gota a gota solução aquosa de peróxido de hidrogênio 30%. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e temperatura ambiente por aproximadamente 6 horas.

A reação foi interrompida e elaborada com a adição de água destilada (30 mL), sendo a mistura extraída em funil de separação três vezes com 30 mL de acetato de etila ( $\text{AcOEt}$ ). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas duas vezes com 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), seca com sulfato de magnésio anidro, e após filtração o solvente foi evaporado em evaporador rotativo sob pressão reduzida à temperatura de 40 °C. O dihidroperóxido obtido após evaporação do solvente foi utilizado posteriormente sem purificação prévia (AZARIFAR e KHOSRAVI, 2011).

A formação do hidroperóxido correspondente foi monitorada por CCD, sendo que a mancha do produto de interesse aparecia sempre com um  $R_f$  menor que o material de partida (aldeído ou cetona).

A Tabela 2 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações, bem como o rendimento bruto, uma vez que não houve etapa de purificação.

Tabela 2. Quantidades de reagentes para o preparo dos dihidroperóxidos **17**, **24-25**

<b>Cetona/ Aldeído</b>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>CH<sub>3</sub>CN:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	<b>HCl</b>	<b>Produto</b>
<b>m (g);</b>	<b>(30%)</b>	<b>3 : 1</b>		<b>%; m (g)</b>
<b>n (mmol)</b>	<b>Vol. (mL);</b>	<b>Vol. (mL)</b>	<b>(gotas)</b>	<b>[código]</b>
	<b>n (mmol)</b>			
 <b>1,00; 9,98</b>	<b>10,3;</b> <b>99,8</b>	<b>30,0</b>	<b>0,135;</b> <b>1,00</b>	 <b>41; 0,62</b>
 <b>0,5; 3,75</b>	<b>5,2;</b> <b>37,5</b>	<b>30,0</b>	<b>0,150;</b> <b>1,13</b>	 <b>72; 0,50</b>
 <b>0,5; 2,55</b>	<b>3,5;</b> <b>25,5</b>	<b>30,0</b>	<b>0,105;</b> <b>0,77</b>	 <b>50; 0,42</b>

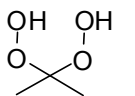
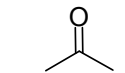
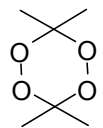
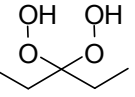
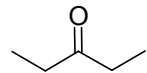
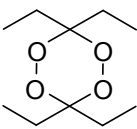
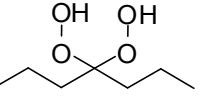
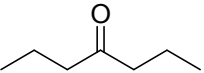
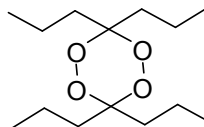
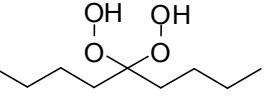
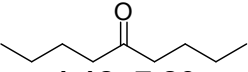
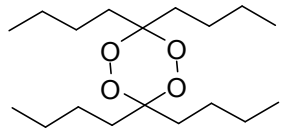
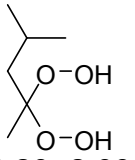
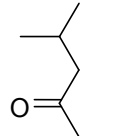
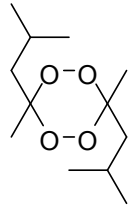
### 1.5.3. Procedimento geral para a síntese dos tetraoxanos 26 – 45

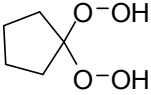
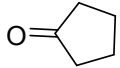
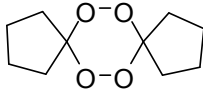
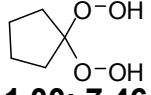
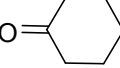
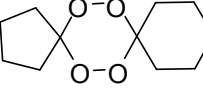
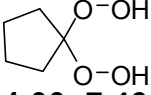
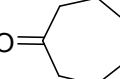
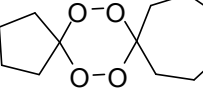
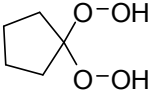
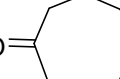
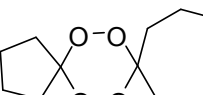
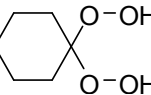
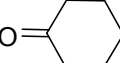
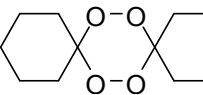
A um balão bitubulado de fundo redondo (50 mL) adicionou-se o dihidroperóxido obtido anteriormente e diclorometano. A mistura foi resfriada em banho de gelo e mantida sob agitação magnética. Em seguida, o composto carbonílico de interesse foi adicionado gota a gota deixando-se a mistura reacional sob agitação magnética e banho de gelo por trinta minutos.

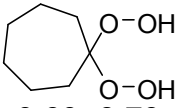
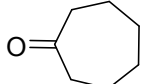
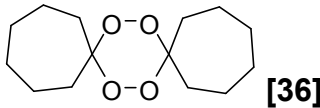
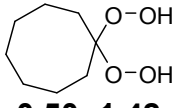
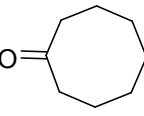
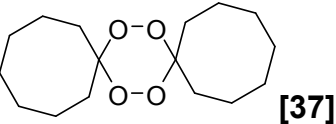
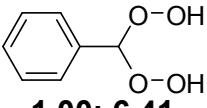
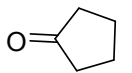
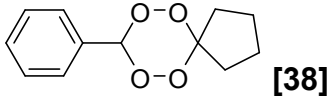
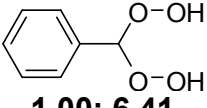
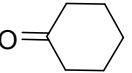
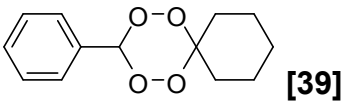
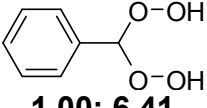
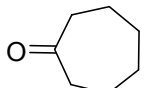
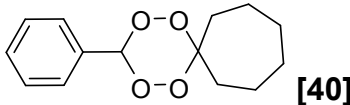
Após esse período foi adicionada gota a gota com auxílio de um funil de adição solução gelada de  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$  (1:10 v/v). A reação foi mantida sob banho de gelo e agitação magnética por mais quatro horas.

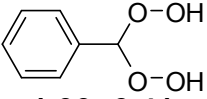
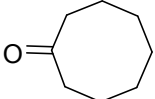
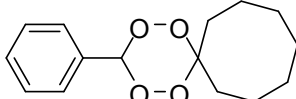
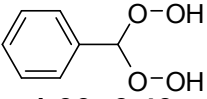
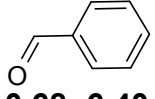
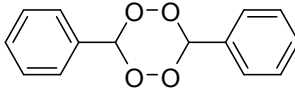
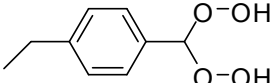
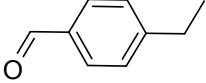
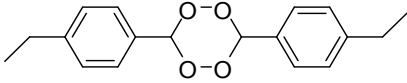
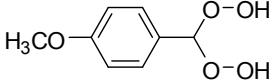
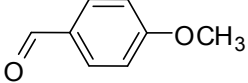
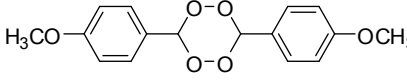
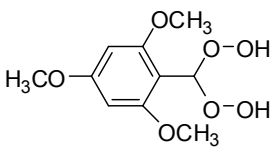
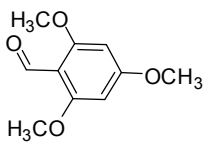
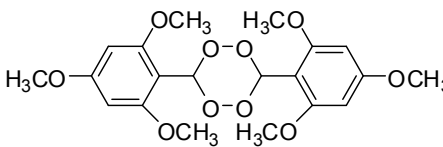
A reação foi interrompida e elaborada com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (25 mL) e  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 mL). A fase orgânica foi extraída em funil de separação e a fase aquosa extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de magnésio anidro, filtradas e o solvente foi eliminado em evaporador rotativo sob pressão reduzida à temperatura de 40 °C. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (OPSENICA *et al.*, 2008a). A Tabela 3 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizados nessas reações e o rendimento dos produtos obtidos após serem purificados em coluna cromatográfica.

Tabela 3. Quantidades dos reagentes para o preparo dos tetraoxanos **26 – 45**

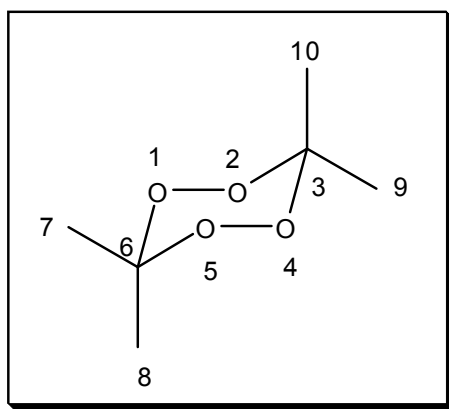
Dihidroperóxido m (g); n (mmol)	Aldeído/Cetona m (g); n (mmol)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :CH <sub>3</sub> CN (1:10)  CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Vol. (mL)	Mistura de solventes usadas para purificação por cromatografia em coluna	Tetraoxano [código]	Rendimento m (mg); %; n (mmol)
 <b>1,16; 10,7</b>	 <b>0,62; 10,7</b>	<b>0,3:3,0 20,0</b>	<b>Hexano/éter dietílico 15:1 (v/v)</b>	 [26]	<b>136; 11,0; 0,92</b>
 <b>1,30; 9,60</b>	 <b>0,82; 9,60</b>	<b>0,3:3,0 20,0</b>	<b>Hexano/éter dietílico 15:1 (v/v)</b>	 [27]	<b>420; 21,0; 2,06</b>
 <b>0,70; 4,27</b>	 <b>0,49; 4,27</b>	<b>0,3:3,0 20,0</b>	<b>Hexano/éter dietílico 18:1 (v/v)</b>	 [28]	<b>233; 21,0; 0,90</b>
 <b>1,50; 7,80</b>	 <b>1,12; 7,80</b>	<b>0,3:3,0 20,0</b>	<b>Hexano/éter dietílico 20:1 (v/v)</b>	 [29]	<b>1150; 52,0; 3,64</b>
 <b>1,20; 8,00</b>	 <b>0,80; 8,00</b>	<b>0,3:3,0 20,0</b>	<b>Hexano/éter dietílico 30:1 (v/v)</b>	 [30]	<b>550; 30,0; 2,37</b>

Dihidroperóxido m (g); n (mmol)	Aldeído/Cetona m (g); n (mmol)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :CH <sub>3</sub> CN (1:10)  CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Vol. (mL)	Mistura de solventes usadas para purificação por cromatografia em coluna	Tetraoxano [código]	Rendimento m (mg); %; n (mmol)
 1,00; 7,50	 0,63; 7,50	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 12:1 (v/v)	 [31]	60; 13,0; 0,29
 1,00; 7,46	 0,73; 7,46	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 20:1 (v/v)	 [32]	77; 10,0; 0,36
 1,00; 7,46	 0,84; 7,46	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 40:1 (v/v)	 [33]	35; 28,0; 0,15
 1,00; 7,46	 0,94; 7,46	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 80:1 (v/v)	 [34]	43; 10,0; 0,18
 0,50; 3,60	 0,36; 3,60	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 14:1 (v/v)	 [35]	320; 41,0; 1,40

Dihidroperóxido m (g); n (mmol)	Aldeído/Cetona m (g); n (mmol)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :CH <sub>3</sub> CN (1:10)  CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Vol. (mL)	Mistura de solventes usadas para purificação por cromatografia em coluna	Tetraoxano [código]	Rendimento m (mg); %; n (mmol)
 0,60; 3,70	 0,42; 3,70	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 15:1 (v/v)	 [36]	320; 34,0; 1,25
 0,50; 1,42	 0,36; 1,42	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 30:1 (v/v)	 [37]	20; 11,0; 0,07
 1,00; 6,41	 0,54; 6,41	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 16:1 (v/v)	 [38]	100; 10,0; 0,45
 1,00; 6,41	 0,63; 6,41	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 12:1 (v/v)	 [39]	248; 18,0; 1,05
 1,00; 6,41	 0,72; 6,41	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 16:1 (v/v)	 [40]	380; 42,0; 1,49

Dihidroperóxido m (g); n (mmol)	Aldeído/Cetona m (g); n (mmol)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :CH <sub>3</sub> CN (1:10)  CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Vol. (mL)	Mistura de solventes usadas para purificação por cromatografia em coluna	Tetraoxano [código]	Rendimento m (mg); %; n (mmol)
 1,00; 6,41	 0,81; 3,71	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 20:1 (v/v)	 [41]	164; 16,0; 0,62
 1,00; 6,40	 0,68; 6,40	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 12:1 (v/v)	 [42]	110; 22,0; 0,45
 1,00; 5,44	 0,73; 5,44	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 30:1 (v/v)	 [43]	73; 24,0; 0,24
 1,00; 5,25	 0,75; 5,25	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 8:1 (v/v)	 [44]	50; 16,0; 0,165
 1,00; 5,10	 0,75; 5,10	0,3:3,0 20,0	Hexano/éter dietílico 3:1 (v/v)	 [45]	250; 26,0; 0,59

- Dados referentes ao composto 3,3,6,6-tetrametil-1,2,4,5-tetraoxano [26]



**Característica:** Líquido incolor

**CCD:**  $R_f = 0,44$  (hexano:éter dietílico, 15:1 v/v).

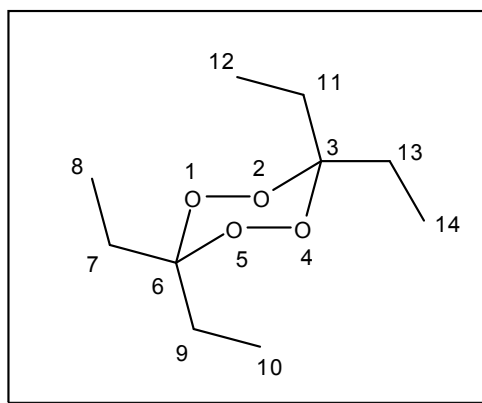
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2921; 2854; 2362; 2163; 1462; 1367; 1268; 1197; 943; 930; 858; 814; 686; 522.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,35 (s, 6H, H-8 e H-10); 1,79 (s, 6H, H-7 e H-9).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  20,76 (C-8 e C-10); 22,63 (C-7 e C-9); 107,78 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 171,0555; Experimental- 170,0583.

- Dados referentes ao composto 3,3,6,6-tetraetil-1,2,4,5-tetraoxano [27]



**Característica:** líquido incolor

**CCD:**  $R_f = 0,61$  (hexano:éter dietílico, 10:1 v/v).

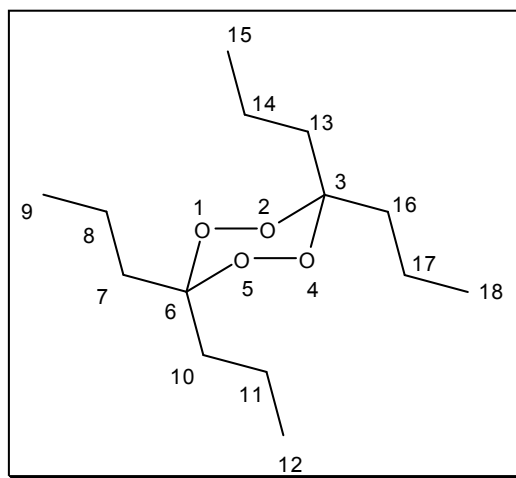
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2980; 2935; 2885; 1461; 1382; 1350; 1301; 1275; 1229; 1156; 1144; 1070; 1044; 957; 926; 805; 764; 670.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 0,94 (t, 12H,  $J_{8,7} = J_{10,9} = J_{12,11} = J_{14,13} = 7,5$ , H-8, H-10, H-12 e H-14); 1,57-1,65 (m, 4H, H-7b, H-9b, H-11b e H-13b); 2,22-2,29 (m, 4H, H-7a, H-9a, H-11a e H-13a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  6,64 (C-10 e C-14); 8,23 (C-8 e C-12); 23,69 (C-9 e C-13); 26,29 (C-7 e C-11); 111,16 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 227,1307; Experimental- 226,1199.

- Dados referentes ao composto 3,3,6,6-tetrapropil-1,2,4,5-tetraoxano [28]



**Característica:** líquido incolor

**CCD:**  $R_f = 0,53$  (hexano:éter dietílico, 20:1 v/v).

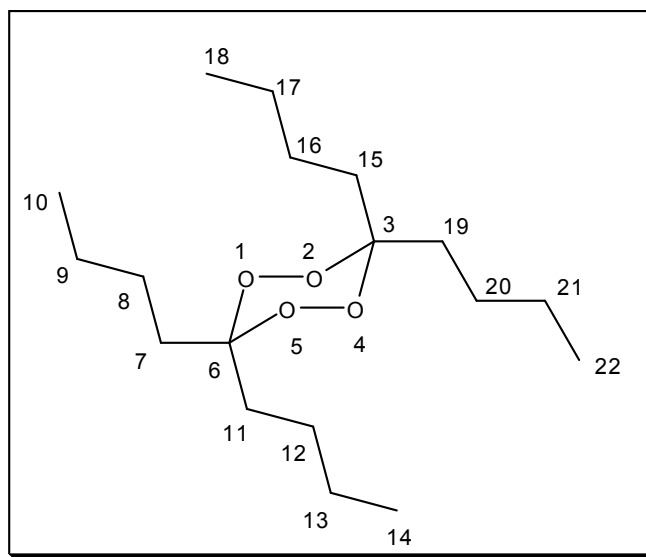
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2962; 2934; 2874; 2152; 1468; 1450; 1422; 1375; 1315; 1299; 1265; 1249; 1206; 1169; 1144; 1075; 1011; 953; 911; 849; 809; 743; 624; 492.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): (sinais relativos ao isômero minoritário são sinalizados pelo sobrescrito '): 0,88-1,17 (m, 18H, H-9, H-9', H-12, H-12', H-15, H-15', H-18 e H-18'); 1,30-1,42 (m, 12H, H-8, H-8', H-11, H-11', H-14, H-14', H-17 e H-17'); 1,52-1,59 (m, 4H, H-7b, H-10b, H-13b, H-16b); 2,05-2,21 (m, 4H, H-7a, H-10a, H-13a e H-16a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )** (isômero majoritário)  $\delta$  14,57 (C-9, C-12, C-15 e C-18); 15,73 (C-11 e C-17); 17,30 (C-8 e C-14); 33,38 (C-10 e C-16); 36,25 (C-7 e C-13); 110,71 (C-3 e C-6). (isômero minoritário)  $\delta$  14,45 (C-11' e C-17'); 14,57 (C-9', C-12', C-15' e C-18'); 23,47 (C-8' e C-14'); 33,43 (C-10' e C-16'); 35,91 (C-7' e C-13'); 109,11 (C-3' e C-6').

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 283,1807; Experimental- 282,1771.

- Dados referentes ao composto 3,3,6,6-tetrabutil-1,2,4,5-tetraoxano [29]



**Característica:** líquido incolor

**CCD:**  $R_f = 0,75$  (hexano:éter dietílico, 20:1 v/v).

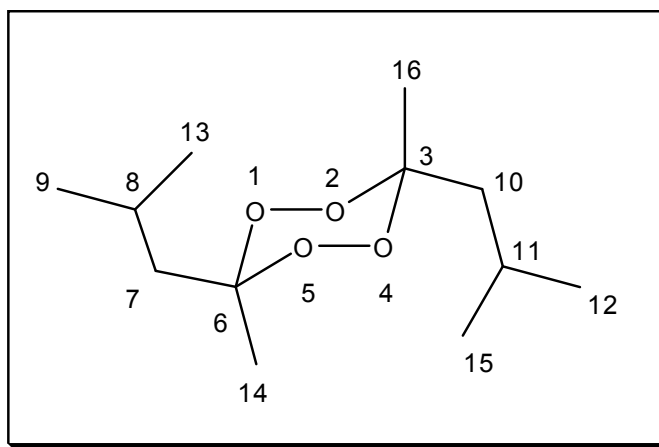
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2952; 2928; 2869; 2160; 2003; 1468; 1455; 1377; 1343; 1260; 1221; 1159; 1135; 1027; 1003; 967; 899; 823; 728; 605; 505.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 0,92 (t, 12H,  $J_{10,9} = J_{14,13} = J_{18,17} = J_{22,21} = 6,9$ , H-10, H-14, H-18 e H-22); 1,19-1,53 (m, 20H, H-7b, H-8, H-9, H-11b, H-12, H-13, H-15b, H-16, H-17, H-19b, H-20 e H-21); 1,74-1,82 (t, 4H,  $J_{7a,8} = J_{11a,12} = J_{15a,16} = J_{19a,20} = 9,9$ , H-7a, H-11a, H-15a e H-19a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  14,27 (C-10, C-14, C-18 e C-22); 23,06 (C-9, C-13, C-17 e C-21); 26,02 (C-8, C-12, C-16 e C-20); 30,01 (C-7, C-11, C-15 e C-19); 111,13 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 339,2433; Experimental- 338,2401.

- Dados referentes ao composto **3,6-diisobutil-3,6-dimetil-1,2,4,5-tetraoxano** [30]



**Característica:** Líquido incolor

**CCD:**  $R_f = 0,80$  (hexano:éter dietílico, 10:1 v/v).

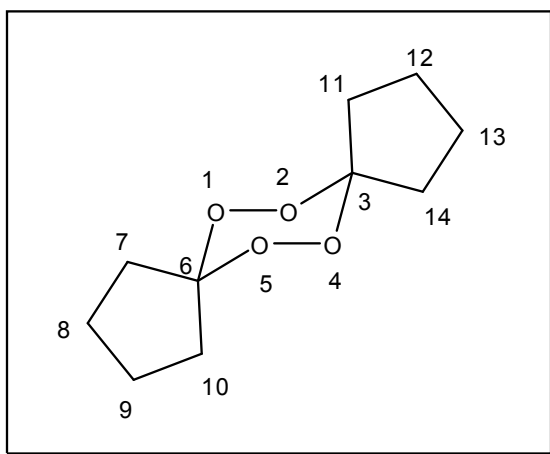
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2957; 2873; 2359; 2170; 1466; 1375; 1239; 1158; 1085; 1048; 921; 718; 535.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 0,90-1,02 (m, 18H, H-9, H-12, H-13, H-14, H-15 e H-16); 1,19-2,20 (m, 8H, H-7, H-8, H-10, H-11).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  19,67 (C-8, C-11, C-14 e C-16); 24,22 (C-9, C-12, C-13 e C-15); 45,51 (C-7 e C-10); 109,67 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 255,1494; Experimental- 254,1507.

- Dados referentes ao composto 3,6-diciclopentil-1,2,4,5-tetraoxano [31]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,69$  (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v).

$T_f = 114,5-114,9$  °C

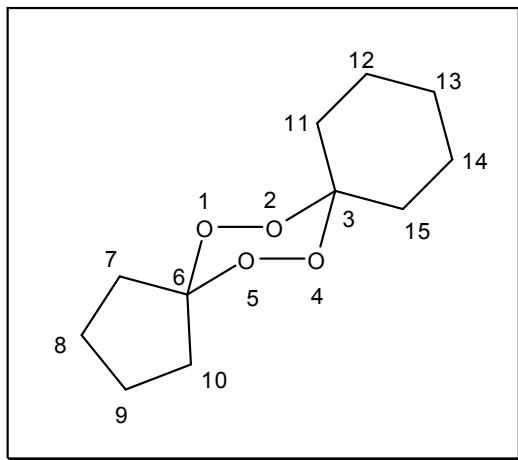
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2997; 2876; 2366; 2029; 1430; 1326; 1311; 1199; 1175; 1069; 1013; 967; 849; 790; 709.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,67-1,79 (m, 12H, H-7b, H-8, H-9, H-10b, H-11b, H-12, H-13 e H-14b); 2,40 (t, 4H,  $J_{7a,8} = J_{10a,9} = J_{11a,12} = J_{14a,13} = 6,9$ , H-7a, H-10a, H-11a e H-14a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  24,14 (C-9 e C-13); 25,34 (C-8 e C-12); 34,59 (C-10 e C-14); 35,52 (C-7 e C-11); 119,98 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )**  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ : Teórico- 200,1049; Experimental- 200,0983.

- Dados referentes ao composto 3-cicloexil-6-ciclopentil-1,2,4,5-tetraoxano [32]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,65$  (hexano:éter dietílico, 10:1 v/v).

$T_f = 122,3-123,5$  °C

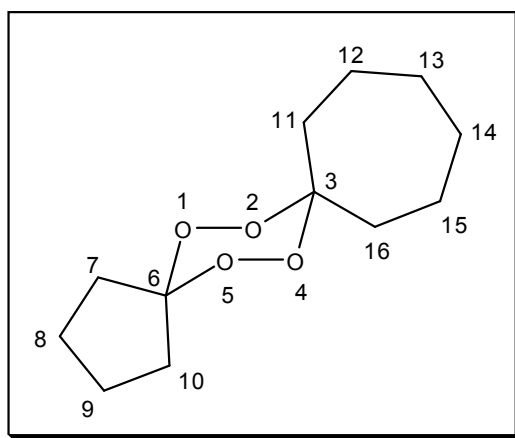
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2937; 2853; 2161; 1979; 1446; 1361; 1340; 1271; 1256; 1162; 1146; 1070; 1030; 945; 921; 851; 821; 778; 676; 559; 505.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,47 (m, 6H, H-12, H-13 e H-14); 1,57-1,59 (m, 8H, H-7b, H-8, H-9, H-10b, H-11b e H-15b); 2,28 (m, 4H, H-7a, H-10a, H-11a e H-15a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  22,11 (C-9); 22,44 (C-8); 25,62 (C-12, C-13 e C-14); 29,79 (C-15); 31,99 (C-11); 34,58 (C-10); 35,55 (C-7); 108,40 (C-3); 119,93 (C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 237,1025; Experimental- 236,1035.

- Dados referentes ao composto 3-cicloeptil-6-ciclopentil-1,2,4,5-tetraoxano [33]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,85$  (hexano:éter dietílico, 5:1 v/v).

$T_f = 130,0-131,2$  °C

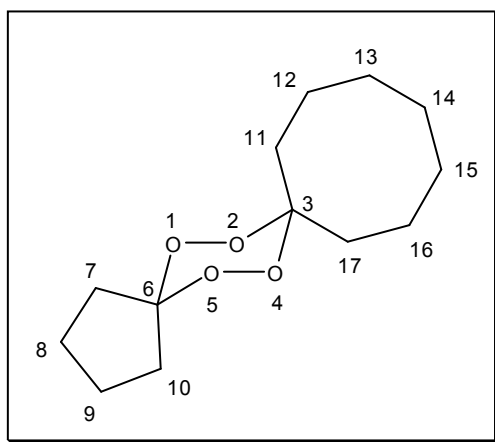
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2930; 2861; 2362; 2032; 1977; 1444; 1361; 1340; 1274; 1202; 1179; 1110; 1073; 1032; 1015; 989; 961; 896; 861; 770; 692; 515; 470.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,57-1,59 (m, 10H, H-11b, H-12, H-13, H-14, H-15 e H-16b); 1,66-1,68 (m, 6H, H-7b, H-8, H-9 e H-10b); 2,41 (m, 4H, H-7a, H-10a, H-11a e H-16a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  22,70 (C-14); 22,85 (C-13); 24,15 (C-9); 25,28 (C-8); 29,81 (C-15); 30,49 (C-12); 31,26 (C-16); 34,55 (C-10); 35,42 (C-7); 36,29 (C-11); 112,72 (C-3); 119,50 (C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 251,1181; Experimental- 250,1162.

- Dados referentes ao composto 3-ciclooctil-6-ciclopentil-1,2,4,5-tetraoxano [34]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,60$  (hexano:éter dietílico, 20:1 v/v).

$T_f = 137,8-138,2$  °C

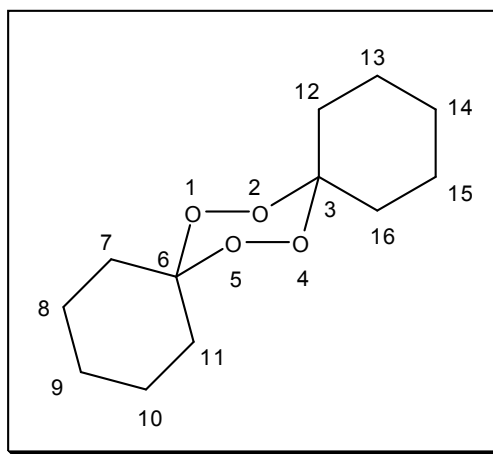
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2960; 2925; 2871; 2359; 2156; 1975; 1470; 1445; 1328; 1244; 1180; 1068; 969; 911; 858; 782; 744; 504; 412.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento (J/Hz), atribuição): 1,54-1,73 (m, 18H, H-7b, H-8, H-9, H-10b, H-11b, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16 e H-17b); 2,37-2,44 (m, 4H, H-7a, H-10a, H-11a e H-17a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  21,43 (C-15); 22,54 (C-13); 24,14 (C-9); 25,24 (C-14); 25,33 (C-8); 26,27 (C-16); 26,91 (C-12); 29,29 (C-17); 33,02 (C-11); 34,58 (C-10); 35,50 (C-7); 112,13 (C-3); 119,51 (C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )**  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_4$ : Teórico- 242,1318; Experimental- 242,1289.

- Dados referentes ao composto 3,6-dicicloexil-1,2,4,5-tetraoxano [35]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,58$  (hexano:éter dietílico, 3:1 v/v).

$T_f = 129,2-130,2$  °C

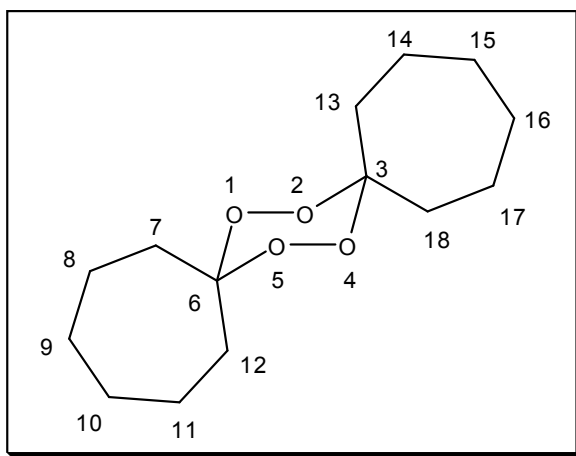
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2935; 2861; 2187; 1448; 1359; 1346; 1270; 1260; 1231; 1160; 1148; 1093; 1065; 1029; 954; 913; 847; 829.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,47 (simpleto alargado, 4H, H-9 e H-14); 1,58 (simpleto alargado, 12H, H-7b, H-8, H-9, H-10, H-11b, H-12b, H-13, H-14, H-15 e H-16b); 2,28 (simpleto alargado, 4H, H-7a, H-11a, H-12a e H-16a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  22,01 (C-9 e C-14); 25,38 (C-8, C-10, C-13 e C-15); 29,66 (C-11 e C-16); 31,75 (C-7 e C-12); 108,15 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{NaO}_4$ :** 251,1181; Experimental- 250,1221.

- Dados referentes ao composto 3,6-dicicloheptil-1,2,4,5-tetraoxano [36]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,46$  (hexano:éter dietílico, 3:1 v/v).

$T_f = 145,5-145,9$  °C

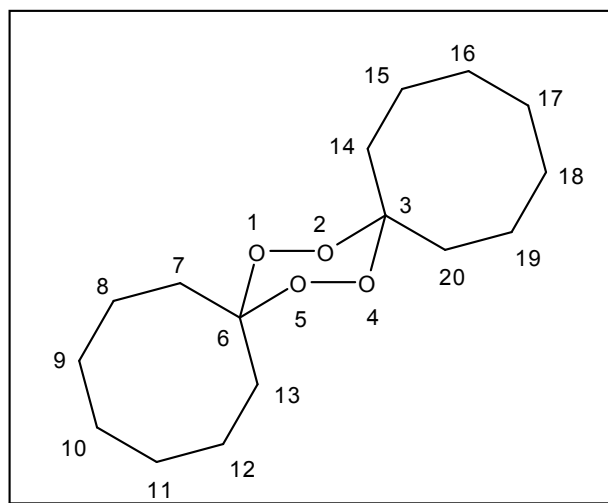
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2984; 2931; 2861; 2360; 1982; 1455; 1443; 1360; 1350; 1229; 1200; 1178; 1090; 1032; 1017; 989; 896; 752.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,56-1,60 (simpleto largo, 16H, H-8, H-9, H-10, H-11, H-14, H-15, H-16 e H-17); 1,65 (simpleto largo, 4H, H-7b, H-12b, H-13b e H-18b); 2,41 (m, 4H, H-7a, H-12a, H-13a e H-18a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  22,65 (C-10 e C-16); 22,83 (C-9 e C-15); 29,82 (C-11 e C-17); 30,50 (C-8 e C-14); 31,27 (C-12 e C-18); 36,26 (C-7 e C-13); 112,72 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 279,1594; Experimental- 278,1627.

- Dados referentes ao composto 3,6-diciclooctil-1,2,4,5-tetraoxano [37]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,58$  (hexano:éter dietílico, 18:1 v/v).

$T_f = 161,3-162,6$  °C

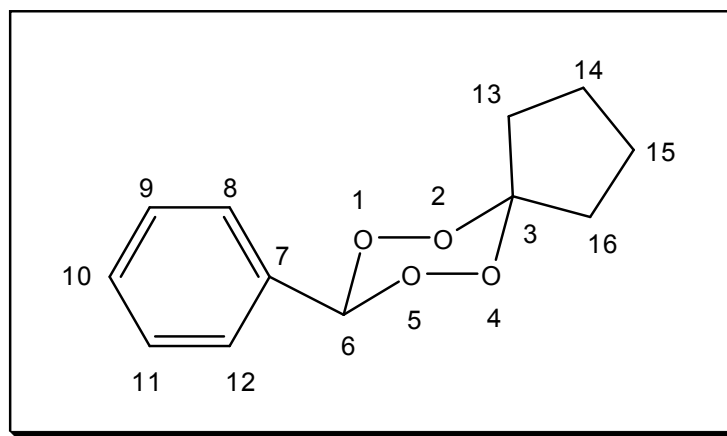
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2912; 2852; 2362; 2335; 1970; 1467; 1453; 1443; 1375; 1292; 1242; 1225; 1162; 1127; 1065; 986; 963; 904; 872; 734; 699.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,42-1,68 (m, 24H, H-7b, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13b, H-14b, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19 e H-20b); 2,42-2,47 (m, 4H, H-7a, H-13a, H-14a e H-20a).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  21,45 (C-11 e C-18); 22,40 (C-9 e C-16); 25,27 (C-10 e C-17); 26,35 (C-12 e C-19); 26,89 (C-8 e C-15); 29,27 (C-13 e C-20); 32,97 (C-7 e C-14); 111,72 (C-3 e C-6).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 307,1907; Experimental- 306,2103.

- Dados referentes ao composto 3-ciclopentil-6-fenil-1,2,4,5-tetraoxano [38]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,62$  (hexano:éter dietílico, 8:1 v/v).

$T_f = 170,0-171,0$  °C

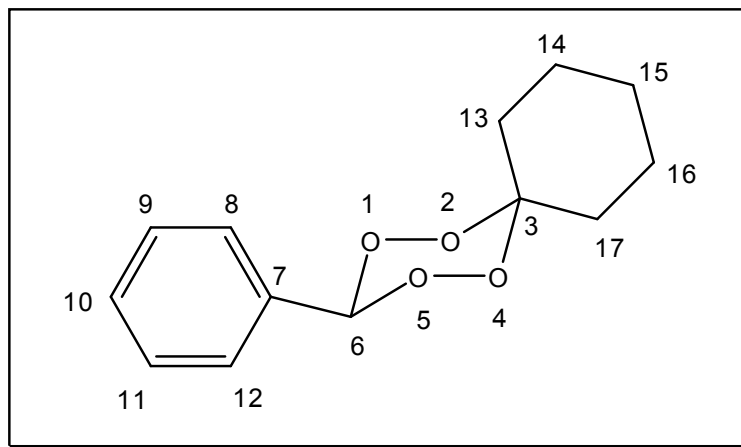
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 3070; 3039; 2963; 2877; 2159; 1980; 1602; 1495; 1455; 1430; 1360; 1329; 1312; 1196; 1118; 1075; 991; 908; 769; 739; 639.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,73-1,91 (m, 6H, H-13b, H-14, H-15 e H-16b); 2,56 (t, 2H,  $J_{13a,14} = J_{16a,15} = 7,2$ , H-13a e H-16a); 6,74 (s, 1H, H-6); 7,37-7,54 (m, 5H, H-8, H-9, H-10, H-11 e H-12).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  24,34 (C-15); 25,50 (C-14); 35,21 (C-16); 35,53 (C-13); 108,10 (C-3); 120,52 (C-6); 127,89 (C-9 e C-11); 128,95 (C-8 e C-12); 131,37 (C-10); 131,58 (C-7).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$ :** Teórico- 222,0892; Experimental- 222,0869

- Dados referentes ao composto 3-cicloexil-6-fenil-1,2,4,5-tetraoxano [39]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,64$  (hexano:éter dietílico, 5:1 v/v).

$T_f = 175,5-176,0$  °C

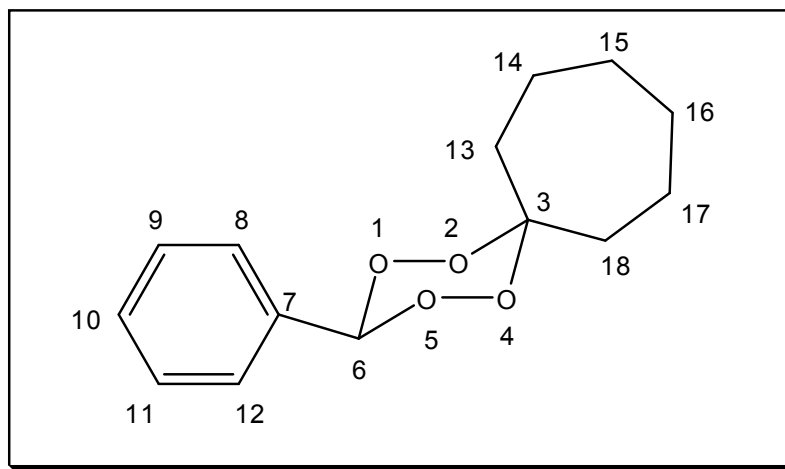
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 3040; 2991; 2948; 2936; 2901; 2858; 2019; 1976; 1602; 1496; 1449; 1358; 1313; 1196; 1089; 1068; 1006; 987; 920; 751; 693; 635; 553.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,48-1,54 (m, 2H, H-15); 1,59-1,73 (m, 6H, H-13b, H-14, H-16 e H-17b); 2,45 (t, 2H,  $J_{13a,14} = J_{17a,16} = 6,0$ , H-13a e H-17a); 6,67 (s, 1H, H-6); 7,37-7,43 (m, 5H, H-8, H-9, H-10, H-11 e H-12).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  22,12 (C-15); 22,48 (C-16); 25,60 (C-14); 30,39 (C-17); 30,07 (C-13); 108,14 (C-3); 108,99 (C-6); 127,81 (C-9 e C-11); 128,94 (C-8 e C-12); 131,31 (C-10); 131,79 (C-7).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4$ :** Teórico- 236,1049; Experimental- 236,1007.

- Dados referentes ao composto 3-cicloeptil-6-fenil-1,2,4,5-tetraoxano [40]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,64$  (hexano:éter dietílico, 5:1 v/v).

$T_f = 182,3-183,0$  °C

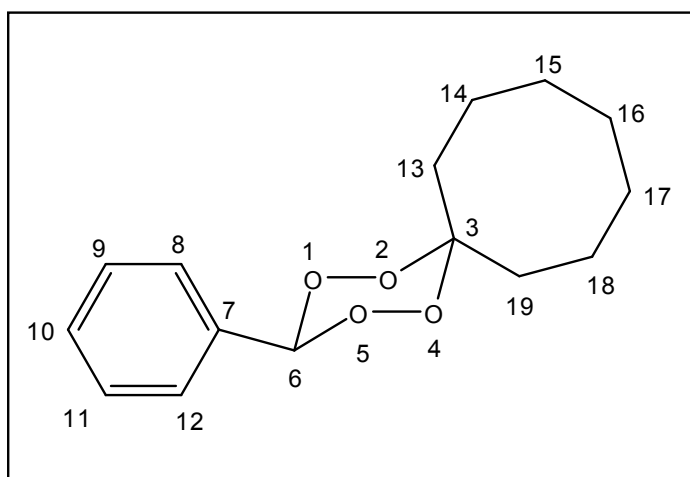
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 3070; 3039; 2930; 2852; 2043; 2016; 1972; 1608; 1494; 1455; 1358; 1310; 1196; 1174; 1111; 1021; 1007; 980; 893; 749; 691; 672; 653.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento (J/Hz), atribuição): 1,57-1,77 (m, 10H, H-13b, H-14, H-15, H-16, H-17 e H-18b); 2,59-2,63 (m, 2H, H-13a e H-18a); 6,64 (s, 1H, H-6); 7,40-7,49 (m, 5H, H-8, H-9, H-10, H-11 e H-12).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  22,73 (C-16); 23,01 (C-15); 29,88 (C-14); 30,54 (C-17); 32,03 (C-18); 36,32 (C-13); 107,77 (C-3); 113,84 (C-6); 127,81 (C-9 e C-11); 128,95 (C-8 e C-12); 131,28 (C-10); 131,75 (C-7).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )**  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ : Teórico- 250,1205; Experimental- 250,1187.

**-Dados referentes ao composto 3-ciclooctil-6-fenil-1,2,4,5-tetraoxano [41]**



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,69$  (hexano:éter dietílico, 5:1 v/v).

$T_f = 190,1-190,8$  °C

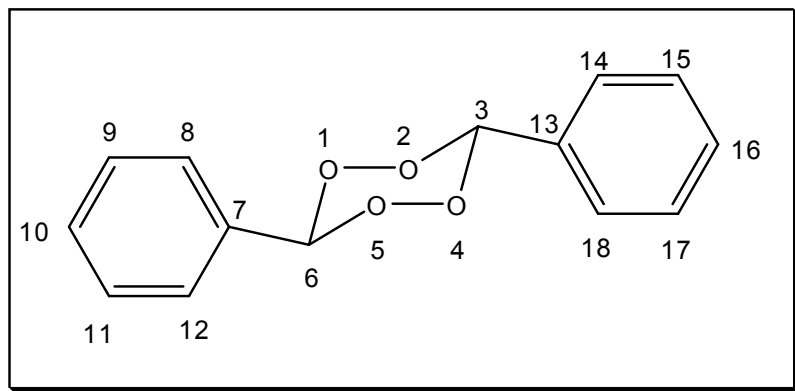
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 3066; 2937; 2862; 2362; 1984; 1602; 1493; 1469; 1454; 1358; 1314; 1266; 1220; 1194; 1179; 1120; 1065; 999; 898; 735; 697; 635.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): (sinais relativos ao isômero minoritário são mostrados entre colchetes e sinalizados pelo sobrescrito ') 1,60-1,80 (m, 12H, H-13b, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18 e H-19b); 2,60-2,64 (m, 2H, H-13a e H-19a); 6,63 (s, 1H, H-6); [6,94 (s, 1H, H-6')]; 7,38-7,54 (m, 5H, H-8, H-9, H-10, H-11 e H-12); [7,38-7,54 (m, 5H, H-8', H-9', H-10', H-11' e H-12')].

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )** (isômero majoritário)  $\delta$  21,64 (C-17); 22,50 (C-15); 25,31 (C-16); 26,94 (C-18); 27,14 (C-14); 29,26 (C-19); 33,09 (C-13); 107,79 (C-6); 112,80 (C-3); 127,79 (C-9 e C-11); 128,94 (C-8 e C-12); 131,26 (C-10); 131,61 (C-7). (isômero minoritário)  $\delta$  108,46 (C-6'); 128,08 (C-9' e C-11'); 129,05 (C-8' e C-12'); 131,07 (C-10'); 131,82 (C-7').

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )**  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ : Teórico- 264,1362; Experimental- 264,1322.

- Dados referentes ao composto 3,6-difenil-1,2,4,5-tetraoxano [42]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,62$  (hexano:éter dietílico, 6:1 v/v).

$T_f = 201,0-202,0$  °C

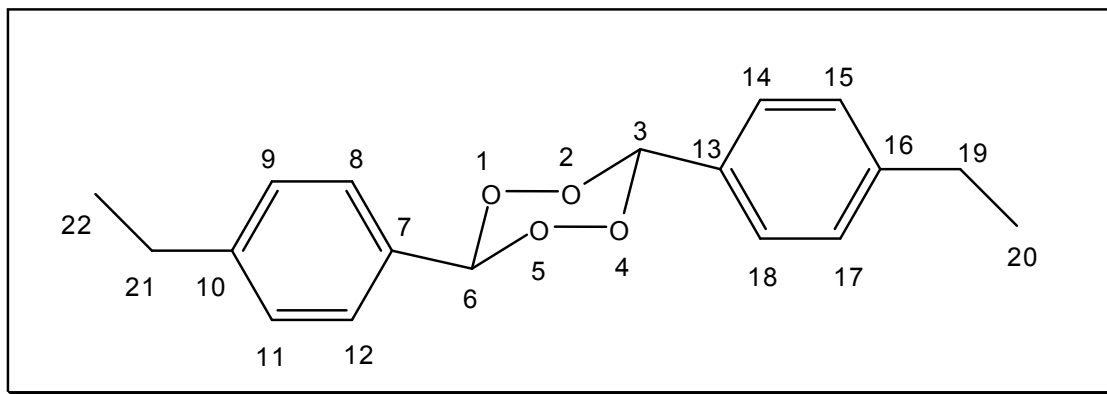
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 3069; 3037; 2941; 2028; 2003; 1994; 1602; 1493; 1453; 1364; 1314; 1195; 1173; 1015; 998; 921; 907; 743; 709; 691; 645; 509.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 6,94 (s, 2H, H-3 e H-6); 7,41-7,54 (m, 10H, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-15, H-16, H-17 e H-18).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  108,46 (C-3 e C-6); 128,08 (C-9, C-11, C-15 e C-17); 129,06 (C-8, C-12, C-14 e C-18); 131,06 (C-10 e C-16); 131,63 (C-7 e C-13).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )**  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4$ : Teórico- 244,0736; Experimental- 244,0623.

- Dados referentes ao composto 3,6-bis(4-etilfenil)-1,2,4,5-tetraoxano [43]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,48$  (hexano:éter dietílico, 18:1 v/v).

$T_f = 230,7-231,2$  °C

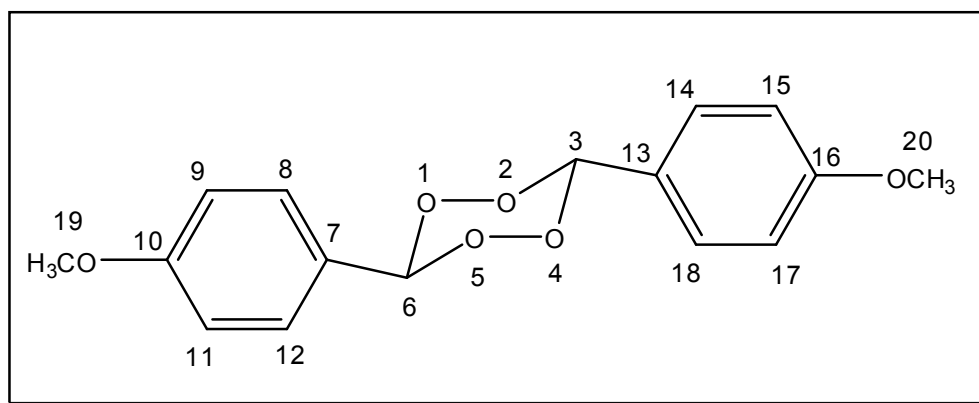
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2970; 2933; 2877; 2363; 2042; 2008; 1610; 1516; 1456; 1420; 1360; 1308; 1198; 1180; 1119; 1018; 1002; 954; 909; 837; 801; 772.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 1,24 (t, 6H,  $J_{20,19} = J_{22,21} = 7,6$ , H-20 e H-22); 2,68 (q, 4H,  $J_{19,20} = J_{21,22} = 7,6$ , H-19 e H-21); 6,89 (s, 2H, H-3 e H-6); 7,27 (d, 4H,  $J_{9,8} = J_{11,12} = J_{15,14} = J_{17,18} = 8,1$ , H-9, H-11, H-15 e H-17); 7,43 (dd, 4H,  $J_{8,12} = J_{12,8} = J_{14,18} = J_{18,14} = 1,5$ ;  $J_{12,11} = J_{8,9} = J_{14,15} = J_{18,17} = 6,6$ , H-8, H-12, H-14 e H-18).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  15,61 (C-20 e C-22); 29,10 (C-19 e C-21); 108,40 (C-3 e C-6); 128,12 (C-9, C-11, C-15 e C-17); 128,48 (C-8, C-12, C-14 e C-18); 128,57 (C-10 e C-16); 148,13 (C-7 e C-13).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M}^+$ )**  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$ : Teórico- 322,1181; Experimental- 322,1164.

- Dados referentes ao 3,6-bis-(4-metoxifenil)-1,2,4,5-tetraoxano [44]



**Característica:** líquido amarelo.

**CCD:**  $R_f = 0,63$  (hexano:éter dietílico, 1:2 v/v).

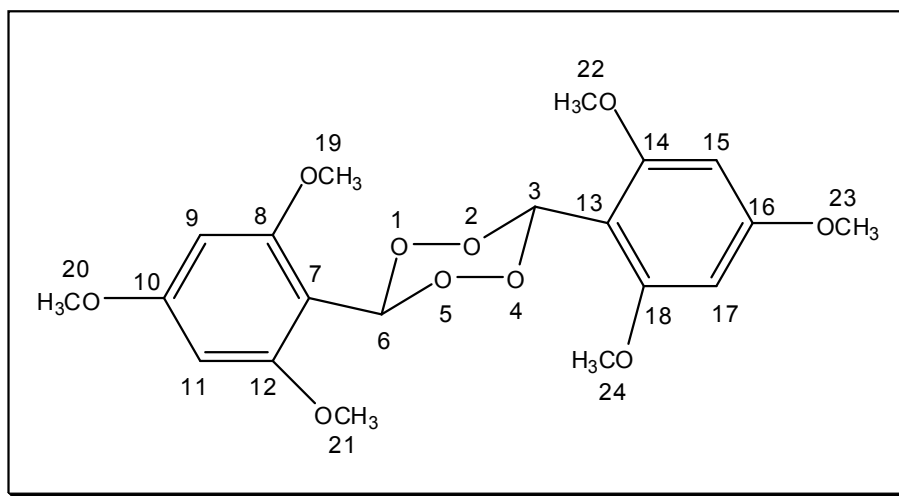
**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 3004; 2946; 2918; 2840; 2165; 2039; 1549; 1501; 1465; 1442; 1298; 1249; 1181; 1097; 1028; 855; 831; 791; 733; 695; 607.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 3,80 (s, 6H, H-19 e H-20); 6,89 (t, 2H,  $J_{8,9} = J_{8,12} = J_{14,15} = J_{14,18} = 2,4$ , H-8 e H-14); 6,92 (t, 2H,  $J_{12,11} = J_{12,8} = J_{18,17} = J_{18,14} = 2,4$ , H-12 e H-18); 7,04 (t, 2H,  $J_{11,12} = J_{11,9} = J_{17,18} = J_{17,15} = 2,4$ , H-11 e H-17); 7,07 (t, 2H,  $J_{9,8} = J_{9,11} = J_{14,15} = J_{14,17} = 2,4$ , H-9 e H-14); 8,28 (s, 2H, H-3 e H-6).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  55,85 (C-19 e C-20); 114,89 (C-8, C-12, C-14 e C-18); 122,21 (C-9, C-11, C-15 e C-17); 143,56 (C-3 e C-6); 157,88 (C-7 e C-13); 160,04 (C-10 e C-16).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{NaO}_4$ :** Teórico- 327,0839; Experimental- 327,0832.

- Dados referentes ao 3,6-bis-(2,4,6-trimetoxifenil)-1,2,4,5-tetraoxano [45]



**Característica:** sólido branco.

**CCD:**  $R_f = 0,64$  (hexano:éter dietílico, 1:5 v/v).

$T_f = 302,0-303,0$  °C

**IV (Csl,  $\text{cm}^{-1}$ )  $\bar{\nu}_{\text{Max}}$ :** 2961; 2940; 2847; 2360; 2160; 2008; 1346; 1700; 1613; 1593; 1505; 1467; 1439; 1421; 1409; 1357; 1233; 1206; 1191; 1101; 1051; 1029; 948; 920; 806; 749; 716; 528.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento ( $J/\text{Hz}$ ), atribuição): 3,80 (s, 6H, H-20 e H-23); 3,81 (s, 12H, H-19, H-21, H-22 e H-24); 6,18 (s, 4H, H-9, H-11, H-15 e H-17); 8,22 (s, 2H, H-3 e H-6).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$**  55,80 (C-20 e C-23); 55,35 (C-19, C-21, C-22 e C-24); 91,65 (C-9, C-11, C-15 e C-17); 93,25 (C-8, C-12, C-14 e C-18); 121,83 (C-3 e C-6); 152,66 (C-7 e C-13); 159,69 (C-10 e C-16).

**HRMS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NaO}_{10}$ :** Teórico- 447,1189; Experimental- 446,1238.

## 1.6. Resultados e Discussão

### 1.6.1. Otimização da metodologia de preparo dos hidroperóxidos e tetraoxanos

A primeira etapa do desenvolvimento deste trabalho consistiu na tentativa de otimização da metodologia descrita por OPSENICA, 2008; na qual a obtenção do hidroperóxido e posteriormente do 1,2,4,5-tetraoxano ocorriam com rendimentos moderados.

A metodologia original consistia em utilizar a cetona (10 mmol) dissolvida em solução de  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3:1) e então, o peróxido de hidrogênio 30% (0,1 mol) era adicionado lentamente. A mistura reacional era deixada sob agitação magnética à temperatura ambiente até o consumo do material de partida. Após elaborar a reação, obteve-se o hidroperóxido com rendimento bruto de 50% (uma vez que o mesmo não era purificado).

A etapa seguinte consistia em reagir o hidroperóxido produzido na proporção (1:1) com a cetona correspondente dissolvidos em diclorometano, sendo posteriormente gotejado uma mistura de  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$  (1:10 v/v) sob agitação magnética a 0 °C. Após elaborar a reação o tetraoxano era obtido com rendimento de 28%. A Tabela 4 apresenta os resultados da literatura.

Na tentativa de otimização da metodologia utilizou-se a ciclohexanona como material de partida e consistiu em variar a concentração do peróxido de hidrogênio (30%, 60% e 75%), proporção estequiométrica entre o composto carbonílico e peróxido (várias proporções), também variou-se a ordem de adição entre ambos, ou seja, foram realizadas reações em que o composto carbonílico foi adicionado lentamente ao invés do peróxido. A etapa de síntese do tetraoxano não foi alterada, seguindo em todas as tentativas a mesma proporção entre hidroperóxido e cetona da literatura (1:1).

Após uma série de reações testadas, obteve-se uma melhora considerável no rendimento do hidroperóxido e um aumento na obtenção do tetraoxano (Tabela 4), porém os resultados não foram satisfatórios, de modo que prosseguimos com a síntese uma vez que havia a necessidade de produzir quantidades suficientes dos compostos que suprissem as necessidades dos testes biológicos.

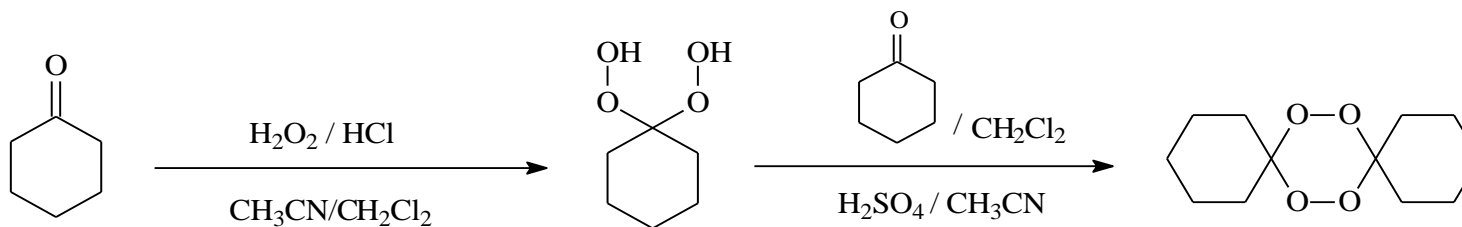


Tabela 4. Variáveis modificadas na tentativa de otimização

Reação	Cetona (mmol)	$\text{H}_2\text{O}_2$ (%)	Proporção Cetona/Peróxido	Rendimento Bruto (%)	Reação	Proporção Hidroperóxido/Cetona	Rendimento (%)
1	5,1	30	1 : 1	56	2	1 : 1	22
3	5,1	30	1 : 3	70	4	1 : 1	39
<b>5</b>	<b>4,8</b>	<b>30</b>	<b>1 : 10</b>	<b>90</b>	<b>6</b>	<b>1 : 1</b>	<b>41</b>
7	5,1	60	1 : 1	49	8	1 : 1	10
9	4,8	60	1 : 10	80	10	1 : 1	28
11	4,8	60	1 : 40	76	12	1 : 1	30
13	4,8	75	1 : 1	72	14	1 : 1	12
15	4,8	75	1 : 10	80	16	1 : 1	30
17	4,8	75	1 : 40	75	18	1 : 1	25
*Cetona adicionada lentamente após adição do peróxido.							
19*	5,1	30	1 : 10	50	20	1 : 1	30
21*	5,1	30	1 : 1	40	22	1 : 1	27
23*	5,1	60	1 : 10	65	24	1 : 1	25
25*	5,1	60	1 : 1	44	26	1 : 1	20
27*	5,1	75	1 : 10	35	28	1 : 1	22
29*	5,1	75	1 : 1	30	30	1 : 1	20
Literatura	10	30%	1 : 10	50%		1 : 1	28%

### 1.6.2. Síntese dos dihidroperóxidos 13-16, 18-23

Após estabelecer as condições para o preparo dos dihidroperóxidos **13-16**, **18-23**, os mesmos foram preparados ao se dissolver o composto carbonílico (aldeído ou cetona) em uma solução de CH<sub>3</sub>CN/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3:1) à temperatura ambiente e sob agitação magnética.

Em seguida o peróxido de hidrogênio 30% foi adicionado lentamente e por último gotas de HCl concentrado, deixando a mistura reacional sob agitação magnética e temperatura ambiente até o término da reação (Figura 10).

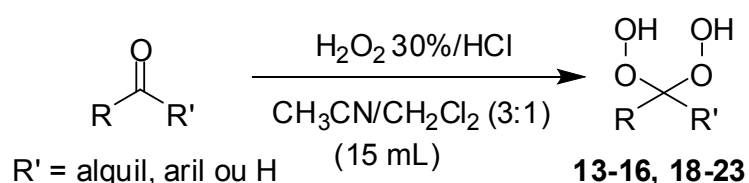
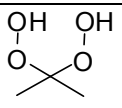
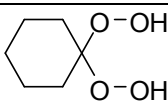
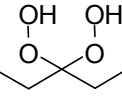
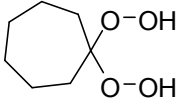
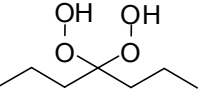
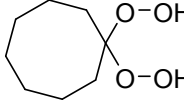
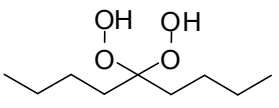
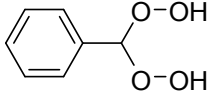
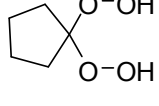
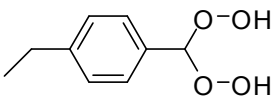


Figura 10. Esquema geral da síntese dos dihidroperóxidos **13-16**, **18-23**

A reação foi acompanhada periodicamente por cromatografia em camada delgada (CCD), na qual pode-se verificar a formação de uma mancha com um fator de retenção (R<sub>f</sub>) menor que o obtido para o material de partida (aldeído ou cetona). Essa mancha atribui-se à formação do dihidroperóxido correspondente, uma vez que o mesmo é mais polar que o material de partida e dessa forma, ele fica mais retido (arraste menor) na fase estacionária da placa cromatográfica que é composta por sílica que também é polar.

A reação foi interrompida após evidenciar o completo desaparecimento da mancha referente ao material de partida e após elaboração (vide item 1.5.1, página 16), obteve-se um óleo amarelo que foi pesado e teve seu rendimento bruto calculado e esses resultados estão mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Dados referentes aos dihidroperóxidos 13-16, 18-23

Dihidroperóxido [código]	Rendimento %; m (g)	Dihidroperóxido [código]	Rendimento %; m (g)
 [13]	62; 1,16	 [19]	90; 0,54
 [14]	82; 1,30	 [20]	83; 0,60
 [15]	71; 1,00	 [21]	36; 0,25
 [16]	55; 0,75	 [22]	86; 0,75
 [18]	77; 0,60	 [23]	91; 0,63

O rendimento foi calculado na forma bruta, pois não houve etapa posterior de purificação. Porém, acompanhando essas reações por CCD, verificou-se que a maior parte do produto se tratava do dihidroperóxido, além de observar que o material de partida (composto carbonílico) foi totalmente consumido nas reações. De maneira geral o rendimento bruto foi satisfatório, sendo obtido os produtos com rendimento acima de 50%.

Esse óleo bruto foi utilizado na etapa seguinte (síntese do tetraoxano) e dessa forma, não foram realizadas análises para caracterizar os mesmos.

O mecanismo dessa reação catalisada por ácido mostra que há o ataque dos elétrons do oxigênio do composto carbonílico ao ácido presente (HCl), capturando um próton, levando a formação de um intermediário que sofre ataque do oxigênio do peróxido de hidrogênio levando a formação de um novo intermediário que perde um próton para o cloreto formando o dihidroperóxido correspondente e restabelecendo o ácido inicial, conforme mostrado na Figura 11.

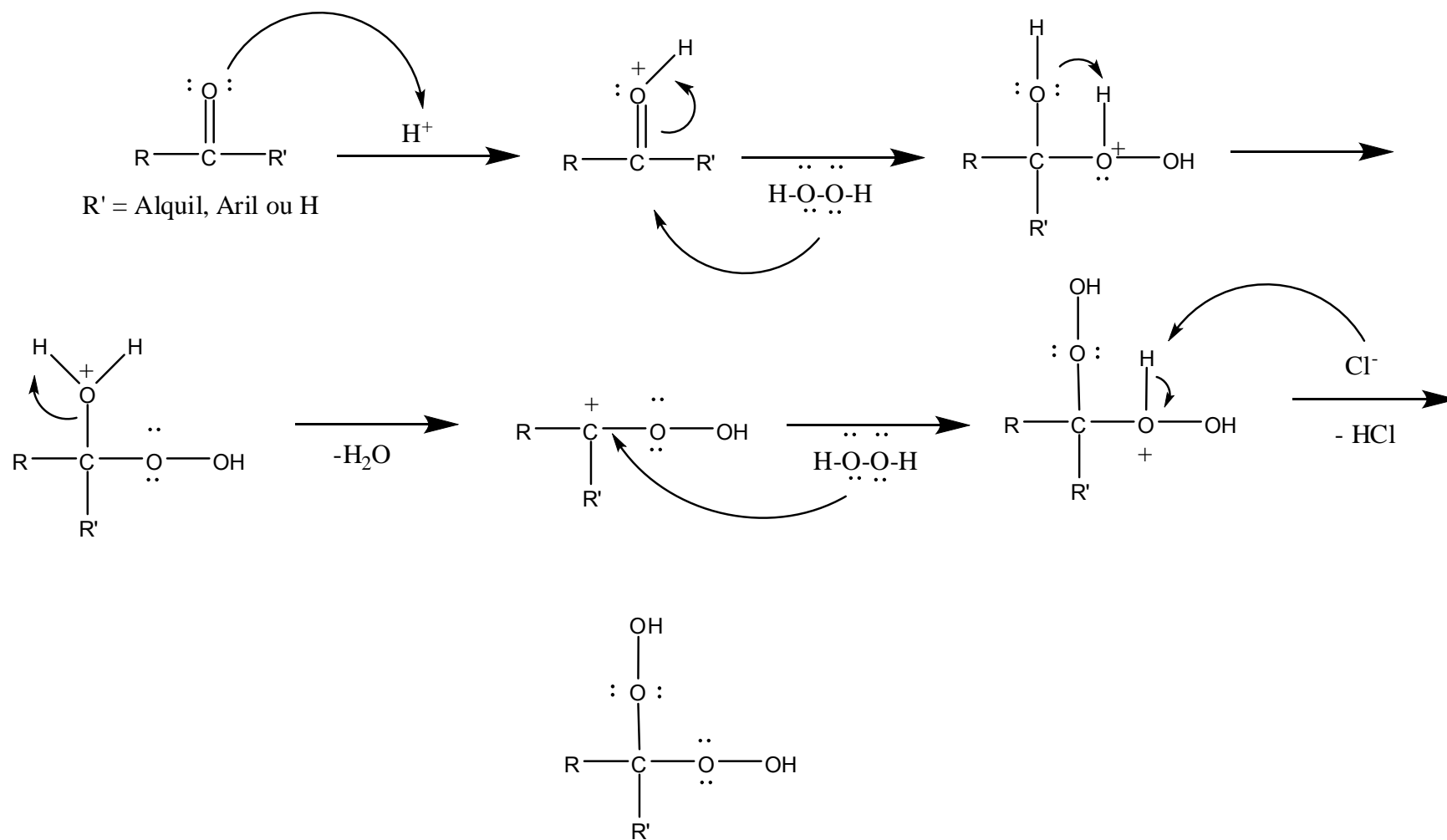


Figura 11. Mecanismo de obtenção de hidroperóxido catalisada por ácido

### 1.6.3. Síntese dos dihidroperóxidos 17, 24-25

A síntese dos dihidroperóxidos **17**, **24-25** só foi possível com a metodologia proposta por AZARIFAR e KHOSRAVI em 2011, na qual eles descrevem o preparo dos mesmos utilizando o cloreto de alumínio –  $\text{AlCl}_3$  (ácido de Lewis) como catalisador da reação. Com a metodologia anteriormente utilizada (item 1.5.2, página 19) não foi possível obter os dihidroperóxidos supracitados.

A reação consistiu em dissolver o composto carbonílico e o  $\text{AlCl}_3$  em acetonitrila e, então, adicionar lentamente o peróxido de hidrogênio à mistura reacional, deixando a mesma sob agitação magnética e à temperatura ambiente até o término da reação (Figura 12).

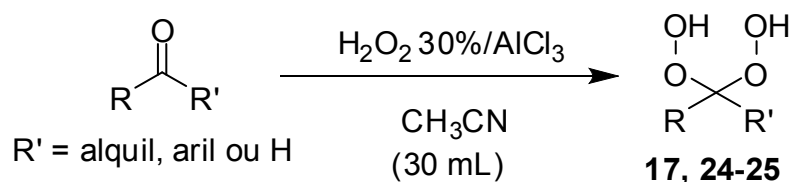
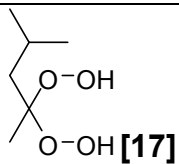
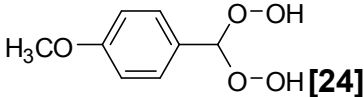
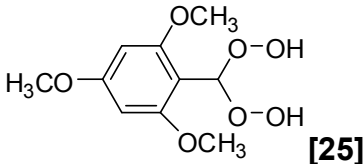


Figura 12. Esquema geral da síntese dos dihidroperóxidos **17**, **24-25**

Novamente a reação foi acompanhada periodicamente por CCD, evidenciando a formação de uma mancha com  $R_f$  menor que o material de partida proporcionalmente ao consumo do mesmo.

Após elaboração da reação obteve-se um óleo de coloração amarelado que teve seu rendimento bruto calculado, pois não houve também etapa posterior de purificação. Os resultados dessas reações estão mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Dados referentes aos dihidroperóxidos **17**, **24-25**

Dihidroperóxido [código]	Rendimento %; m (g)
 [17]	<b>41; 0,62</b>
 [24]	<b>72; 0,50</b>
 [25]	<b>50; 0,42</b>

De forma geral, a tentativa de usar uma outra metodologia para obter compostos diferentes dos já sintetizados (item 1.5.1, página 16) foi válida, porém os rendimentos obtidos foram moderados.

O mecanismo desta reação é semelhante ao anterior, modificando somente o catalisador, que neste caso é o cloreto de alumínio, um ácido de Lewis que sofre o ataque do par de elétrons do oxigênio da carbonila, levando à formação do primeiro intermediário.

#### 1.6.4. Síntese dos tetraoxanos 26-45

Os vinte tetraoxanos produzidos foram preparados utilizando a mesma metodologia proposta por OPSENICA e colaboradores em 2008, na qual o dihidroperóxido é dissolvido em diclorometano e resfriado em banho de gelo sob agitação magnética, sendo o composto carbonílico de interesse adicionado lentamente e a mistura reacional agitada por um período de 30 minutos.

Posteriormente a mistura  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$  foi adicionada lentamente e a reação foi mantida resfriada em banho de gelo e sob agitação magnética por mais quatro horas (Figura 13).

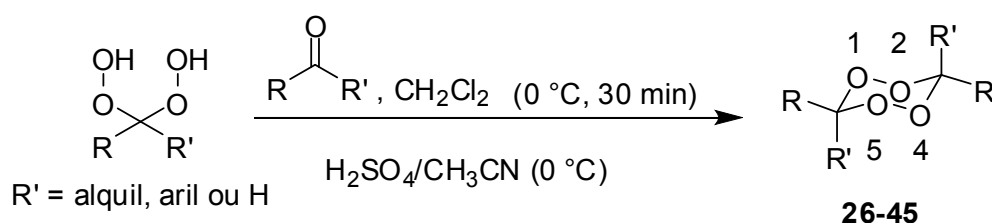


Figura 13. Esquema geral da síntese dos tetraoxanos **26-45**

Neste trabalho foram utilizadas cetonas cíclicas e acíclicas, e ainda, benzaldeído e aldeídos aromáticos substituídos. A escolha de cetonas para a síntese dos tetraoxanos, além da disponibilidade, é baseado em trabalhos anteriores que mostraram que a presença desses tipos de cetonas conferiram resultados satisfatórios de fitotoxicidade aos ozonídeos correspondentes (BARBOSA, 2008 e 2009).

A presença do benzaldeído e dos aldeídos aromáticos substituídos justifica-se pelo objetivo de realizar posteriores modificações estruturais nos tetraoxanos com a introdução de grupos doadores e retiradores de elétrons, a fim de obter uma série de compostos com uma maior variedade estrutural possível, de modo a viabilizar estudos sobre a relação quantitativa entre estrutura química e atividade biológica (QSAR), que será melhor discutida no Capítulo 3.

Assim, reagindo esses compostos carbonílicos entre si foram obtidos quatro séries distintas de tetraoxanos (Figura 14), em que a) representa tetraoxanos (**26-30**) derivados somente de cetonas acíclicas; b) tetraoxanos (**31-37**) derivados exclusivamente de cetonas cíclicas; c) tetraoxanos (**38-41**)

obtidos a partir de cetonas cíclicas e benzaldeído e d) tetraoxanos (**42-45**) obtidos do benzaldeído e aldeídos aromáticos.

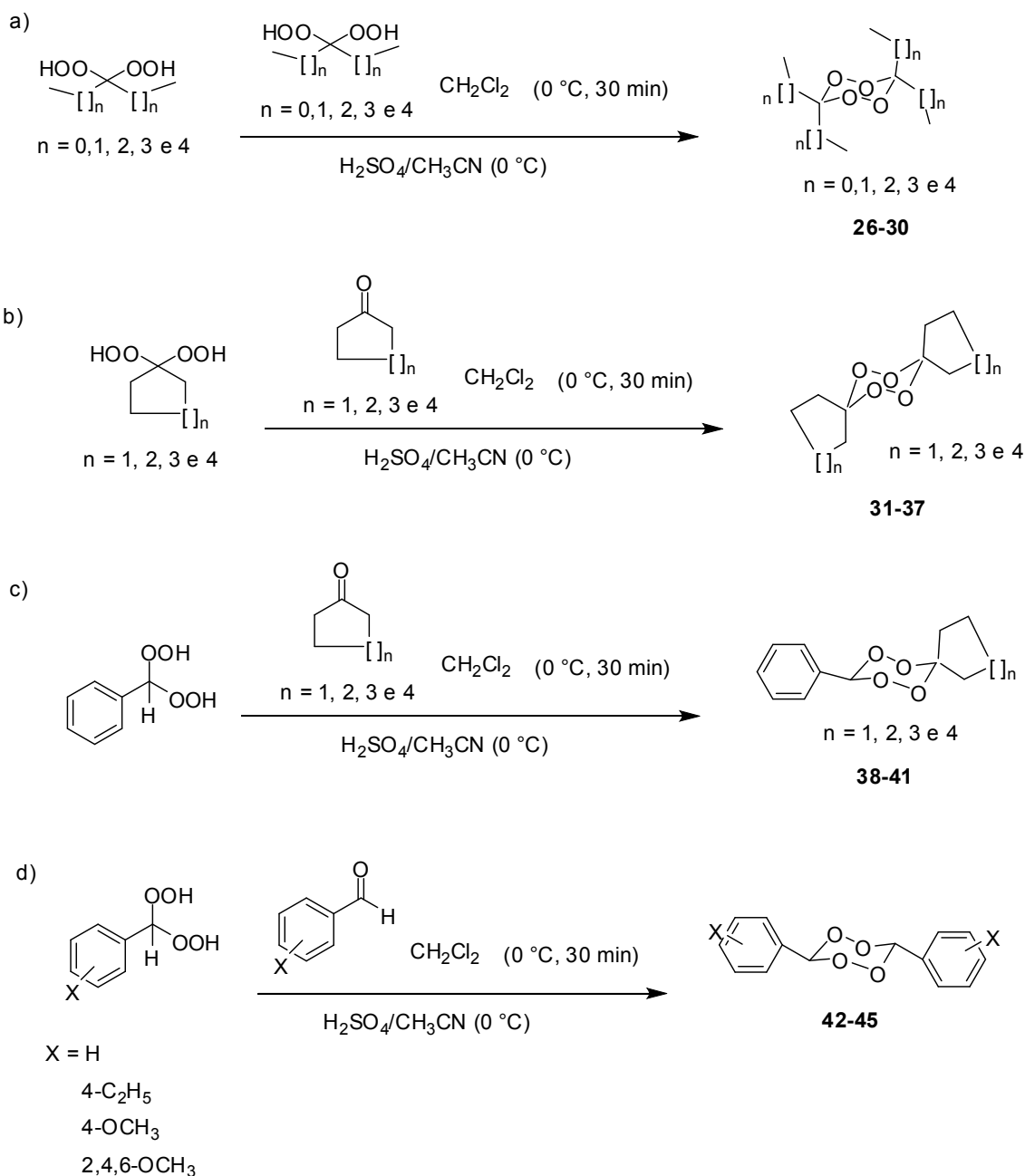


Figura 14. Esquema com as quatro séries de tetraoxanos sintetizados

A reação foi acompanhada periodicamente por cromatografia em camada delgada (CCD), na qual pode-se verificar a formação de uma mancha com um fator de retenção ( $R_f$ ) maior que o obtido para o hidroperóxido. Essa mancha atribui-se a formação do tetraoxano correspondente, uma vez que o mesmo é menos polar que o hidroperóxido e dessa forma, ele fica menos retido

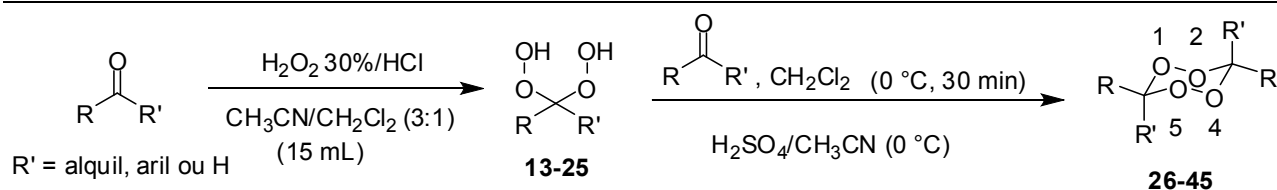
(arraste maior na placa) na fase estacionária da placa cromatográfica que é composta por sílica.

A reação foi interrompida após evidenciar que a mancha referente ao hidroperóxido não diminuía com o passar do tempo, ou seja, o hidroperóxido não era consumido totalmente neste tipo de reação. Algumas tentativas de melhora no consumo do hidroperóxido foram realizadas, como aumentar o tempo de reação, aumentar a quantidade de ácido adicionado (catalisador), diminuir o volume do solvente (DCM), na tentativa de aproximar as moléculas reagentes, uma vez que o volume foi reduzido; porém todos esses esforços não resultaram em uma melhora no rendimento da reação.

Pode-se perceber também a formação de algumas manchas menores, possivelmente subprodutos da reação que não foram isolados e nem caracterizados. JEFFORD e BOUKOUVALAS (1988) atribuem a formação de subprodutos neste tipo de reação à escolha do solvente, temperatura e catalisador. O composto carbonílico (cetona cíclicas e acíclicas) na presença de peróxido de hidrogênio pode levar a formação de ésteres e lactonas respectivamente, através de oxidação via Baeyer-Villiger. JEFFORD e BOUKOUVALAS (1988) atribuem ainda, a existência de outro tipo de subproduto neste tipo de reação que é a formação de peróxidos triméricos.

Após interrompida a reação, a mesma foi elaborada (vide item 1.5.3), obtendo-se na maioria dos casos um sólido esbranquiçado para os tetraoxanos **31-43** e **45**, um óleo incolor para os compostos **26-30** e um óleo amarelo para o tetraoxano **44**. Os compostos foram purificados por cromatografia de sílica gel, utilizando uma mistura de eluentes (Tabela 3, item 1.5.3, páginas 22-25), o rendimento do produto purificado foi calculado e os resultados estão mostrados na Tabela 7.

Tabela 7. Dados referentes aos tetraoxanos **26-45**



Aldeído/Cetona 	Hidroperóxido (Rend. %)	Aldeído/Cetona 	Tetraoxano (Rend. %), Estado Físico
Propanona	<b>13</b> (62)	Propanona	<b>26</b> (11) Líquido
Pentan-3-ona	<b>14</b> (82)	Pentan-3-ona	<b>27</b> (21) Líquido
Heptan-4-ona	<b>15</b> (71)	Heptan-4-ona	<b>28</b> (21) Líquido
Nonan-5-ona	<b>16</b> (55)	Nonan-5-ona	<b>29</b> (52) Líquido
4-metilpentan-2-ona(*)	<b>17</b> (41)	4-metilpentan-2-ona	<b>30</b> (30) Líquido
Ciclopentanona	<b>18</b> (77)	Ciclopentanona	<b>31</b> (13) Sólido
		Cicloexanona	<b>32</b> (10) Sólido
		Cicloheptanona	<b>33</b> (28) Sólido
		Ciclooctanona	<b>34</b> (10) Sólido
Cicloexanona	<b>19</b> (75)	Cicloexanona	<b>35</b> (41) Sólido
Cicloheptanona	<b>20</b> (83)	Cicloheptanona	<b>36</b> (34) Sólido
Ciclooctanona	<b>21</b> (36)	Ciclooctanona	<b>37</b> (11) Sólido
Benzaldeído	<b>22</b> (86)	Ciclopentanona	<b>38</b> (10) Sólido
		Cicloexanona	<b>39</b> (18) Sólido
		Cicloheptanona	<b>40</b> (42) Sólido
		Ciclooctanona	<b>41</b> (16) Sólido
		Benzaldeído	<b>42</b> (22) Sólido
4-etilbenzaldeído	<b>23</b> (91)	4-etilbenzaldeído	<b>43</b> (24) Sólido
4-metóxi-benzaldeído (*)	<b>24</b> (72)	4-metóxi-benzaldeído	<b>44</b> (16) Líquido
2,4,6-trimetóxi-benzaldeído (*)	<b>25</b> (50)	2,4,6-trimetóxi-benzaldeído	<b>45</b> (26) Sólido

(\*) Hidroperóxido obtido usando  $\text{AlCl}_3$  como catalisador.

Os rendimentos obtidos foram moderados (10% a 52%). Esses valores estão em concordância com os valores descritos na literatura (OPSENICA *et al.*, 2008), sem no entanto, haver explicação para o fato do rendimento ser

baixo, necessitando um estudo mais detalhado de como essa reação se processa, bem como tentativas de otimização desta metodologia.

O mecanismo geral de formação do tetroxano desde a utilização do composto carbonílico em meio ácido com peróxido de hidrogênio para formar inicialmente o hidroperóxido até o fechamento do anel de 6 membros com 4 oxigênios nas posições 1, 2, 4 e 5 (tetraoxano) está mostrado na Figura 15.

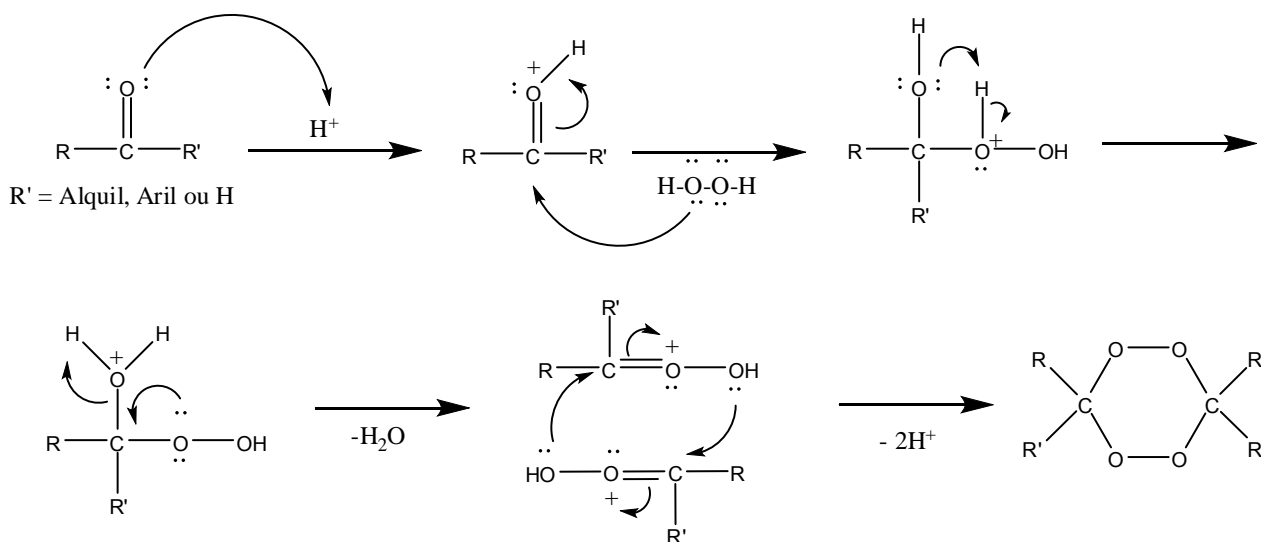


Figura 15. Mecanismo geral de formação de 1,2,4,5-tetraoxano

O mecanismo mostra que inicialmente ocorre o ataque do par de elétrons do oxigênio do composto carbonílico ao ácido presente, capturando um próton, levando a formação de um intermediário que sofre ataque do oxigênio do peróxido de hidrogênio levando a formação de um novo intermediário que perde uma molécula de água. Esse intermediário ao fechar o anel com outra molécula idêntica perde prótons reestabelecendo o ácido inicial e formando o tetraoxano correspondente.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear (RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C). Não foi realizada a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), pois os compostos são instáveis a altas temperaturas, que é necessária para que o composto passe para a forma gasosa e seja arrastado na coluna. Foi realizada também tentativa de inserção direta, que seria injetar o composto sólido direto no aparelho, sem que o mesmo passasse pela coluna, mas o resultado foi idêntico ao anterior, pois ele

se decompõe ao entrar em contato com o detector, conforme descrito na literatura (BERTRAND, FLISZÁR e ROUSSEAU, 1968; LEDAAL, 1969).

Pela análise dos cromatogramas, em ambas as tentativas, observou-se o espectro de massas da cicloexanona, porém o tempo de retenção do material de partida proveniente da decomposição do tetraoxano é maior que o tempo de retenção do material de partida padrão que foi injetado no aparelho a título de comparação.

Para exemplificar essa análise, a Figura 16 mostra o cromatograma da cicloexanona padrão (cor preta) e da cicloexanona obtida após decomposição térmica do tetraoxano sintetizado (cor vermelha). Pode-se perceber a grande diferença no tempo de retenção entre elas, a cicloexanona padrão aparece com tempo de retenção em torno de 14 minutos enquanto que a cicloexanona do tetraoxano aparece com tempo de retenção aproximadamente 40 minutos (Figura 16). Essa análise embora não satisfatória para fins de caracterização foi importante como uma primeira confirmação de forma rápida da obtenção do tetraoxano de interesse.

A fragmentação do tetraoxano formando novamente o material de partida (cicloexanona) pode ser explicada pelo esquema de fragmentação mostrado na Figura 17, na qual as ligações ao redor dos átomos de oxigênio são susceptíveis à quebra ao receber o impacto de 70 eV, formando a cicloexanona ( $\cdot+$ ) que é detectada pelo aparelho com razão massa/carga ( $m/z = 98$ ), além de outra molécula de cicloexanona neutra e gás oxigênio ( $O_2$ ) (BERTRAND, FLISZÁR e ROUSSEAU, 1968; LEDAAL, 1969).

Para completar a confirmação estrutural dos compostos sintetizados foi realizado experimento (HRMS, sigla em inglês) em que se obteve a massa exata dos mesmos.



Figura 16. Cromatograma comparativo entre a ciclohexanona padrão (preto) e ciclohexanona produto da decomposição térmica do tetraoxano (vermelho)

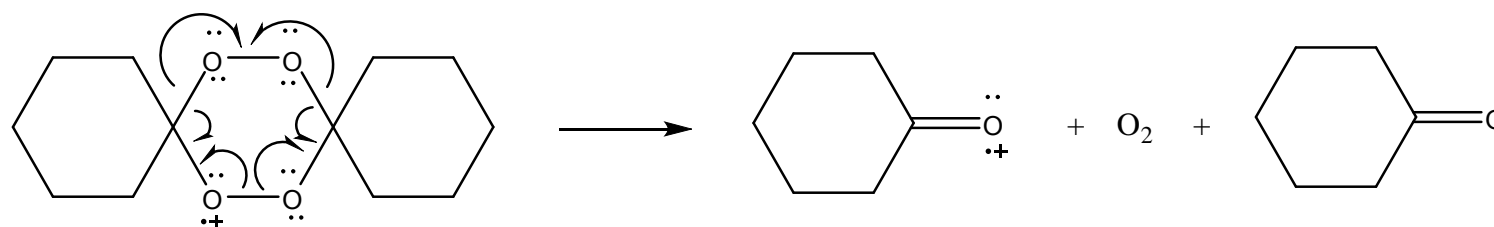


Figura 17. Fragmentação do tetraoxano regenerando o material de partida (ciclohexanona)

A discussão dos resultados de caracterização dos tetraoxanos será baseada na apresentação dos espectros de um composto de cada série sintetizada sendo que os demais espectros encontram-se no anexo I, página 174.

A primeira série de tetraoxanos (**26-30**) são aqueles oriundos apenas de cetonas acíclicas (Figura 14, página 54) e como exemplo o composto **[26]** terá seus espectros discutidos detalhadamente.

A confirmação estrutural do composto **[26]** foi feita inicialmente pela análise do seu espectro no infravermelho (Figura 18), no qual apresentou bandas características de compostos alifáticos saturados com absorção em torno de  $2970-2850\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ . Apresenta ainda, bandas em torno de  $1200\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação C-O-O (BARBOSA, 2007).

Há ainda que ressaltar que bandas referentes a compostos carbonílicos, como estiramento da carbonila (C=O) em torno de  $1700\text{ cm}^{-1}$  e bandas afinadas referente à hidroxila (OH) de hidroperóxidos na região acima de  $3000\text{ cm}^{-1}$  não foram observadas no espectro que vem a sugerir que o produto formado não está contaminado com material de partida.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **[26]** (Figura 19) apresentou dois simpletos, um em  $\delta_{\text{H}}$  1,35 relativo à H-8 e H-10 e o outro em  $\delta_{\text{H}}$  1,79 relativo à H-7 e H-9. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 20) podemos observar que os carbonos C-3 e C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  107,8) estão em uma região de menor blindagem eletrônica do espectro, em relação aos carbonos C-8 e C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  20,8) e C-7 e C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  22,6), respectivamente, devido à proximidade de grupos eletronegativos (oxigênio) (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

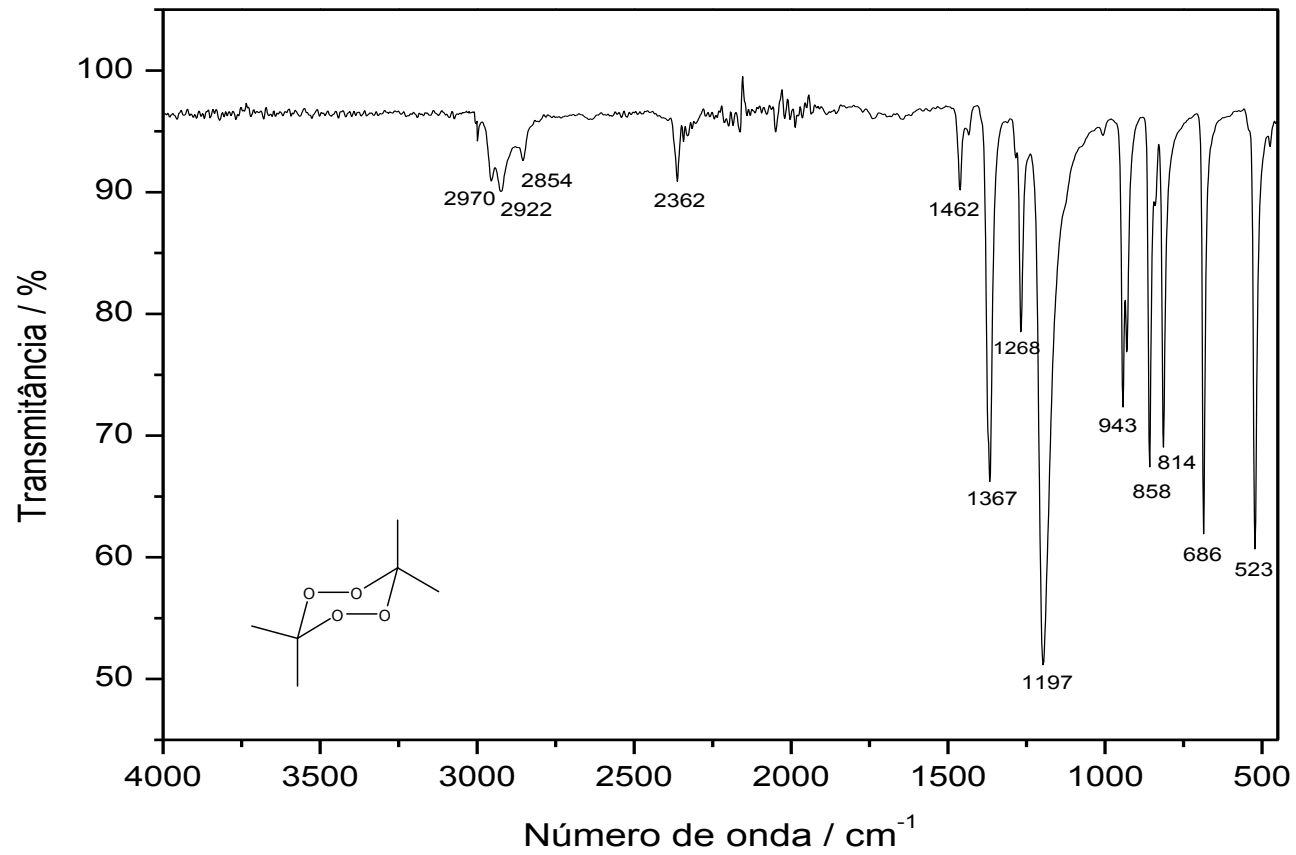


Figura 18. Espectro no infravermelho (IV) do composto [26]

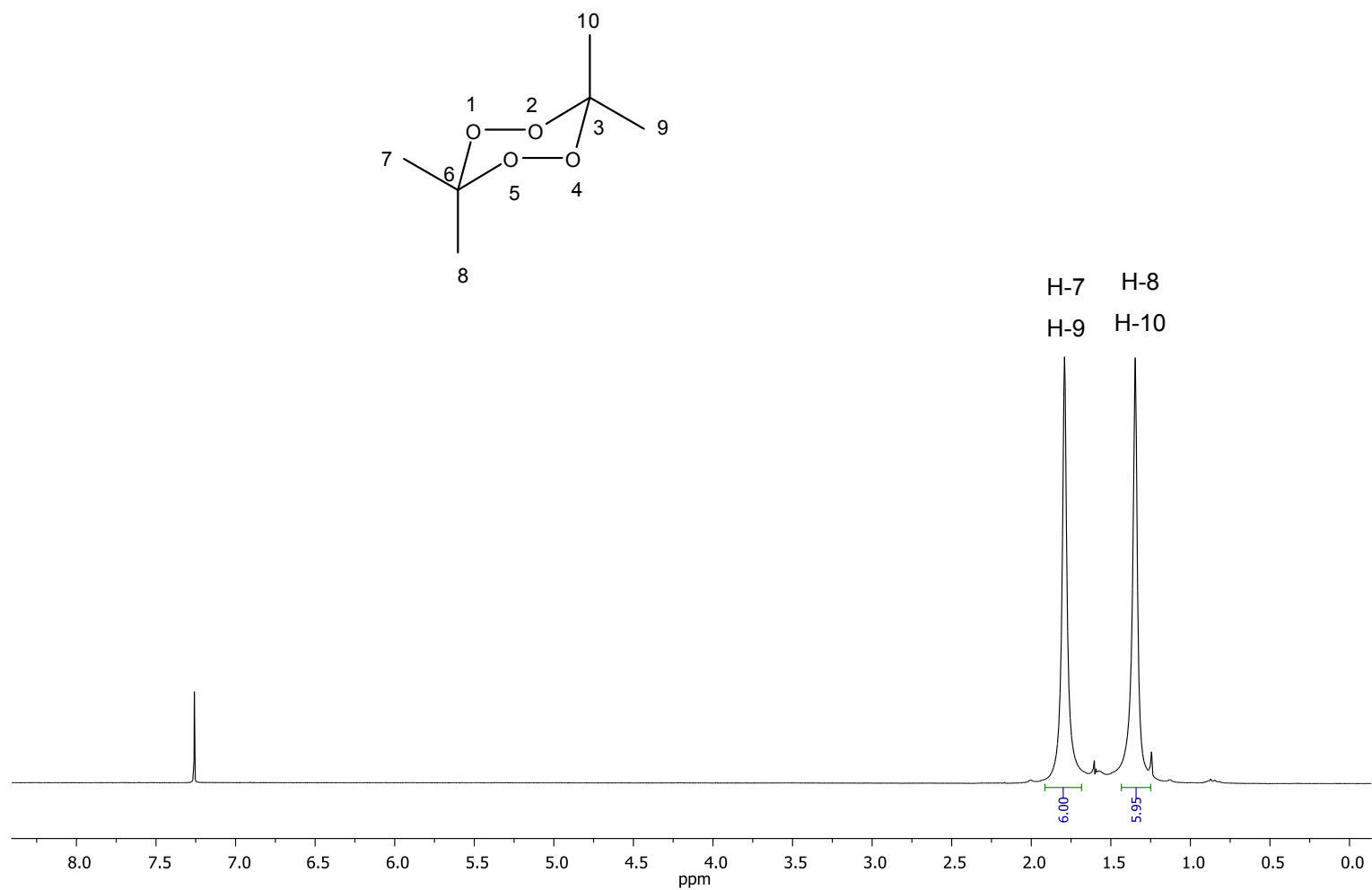


Figura 19. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [26]

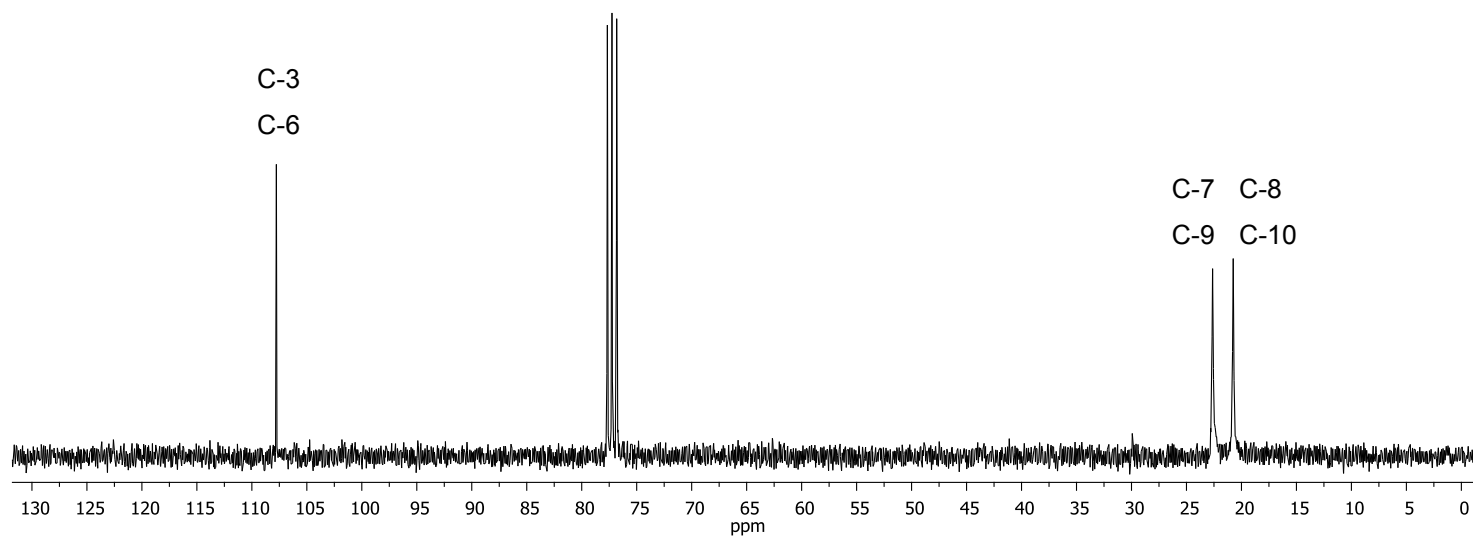
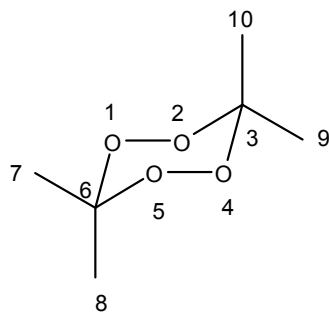


Figura 20. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [26]

A segunda série de tetraoxanos (**31-37**) são aqueles obtidos apenas de cetonas cíclicas (Figura 14, página 54) e a discussão dos espectros será feita em relação ao composto **[35]**.

A confirmação estrutural do composto **[35]** foi feita inicialmente pela análise do seu espectro no infravermelho (Figura 21), no qual apresentou bandas características de compostos saturados com absorção em torno de 2980-2860  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ . Apresenta ainda, bandas em torno de 1200  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação C-O-O (BARBOSA, 2007).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **[35]** (Figura 22) apresentou um simpleto alargado em  $\delta_{\text{H}}$  1,47 relativo aos hidrogênios H-9 e H-14, outro simpleto alargado em  $\delta_{\text{H}}$  1,58 referente aos hidrogênios H-7b, H-8, H-9, H-10, H-11b, H-12b, H-13, H-14, H-15 e H-16b e um multipeto entre  $\delta_{\text{H}}$  2,15-2,35 relativo aos hidrogênios H-7a, H-11a, H-12a e H-16a (PAVIA *et al.*, 2010).

Os hidrogênios com índices “a” se referem aos hidrogênios em posição equatorial que estão em uma região de menor blindagem eletrônica que os de índices “b” referentes aos hidrogênios axiais.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 23) observa-se quatro sinais de carbono em uma região de maior blindagem eletrônica referentes aos carbonos C-9 e C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  22,0), C-8, C-10, C-13 e C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  25,4), C-11 e C-16 ( $\delta_{\text{C}}$  29,7) e C-7 e C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  31,7) e ainda, um sinal de carbono em uma região de menor blindagem eletrônica referentes aos carbonos C-3 e C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  108,1) (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

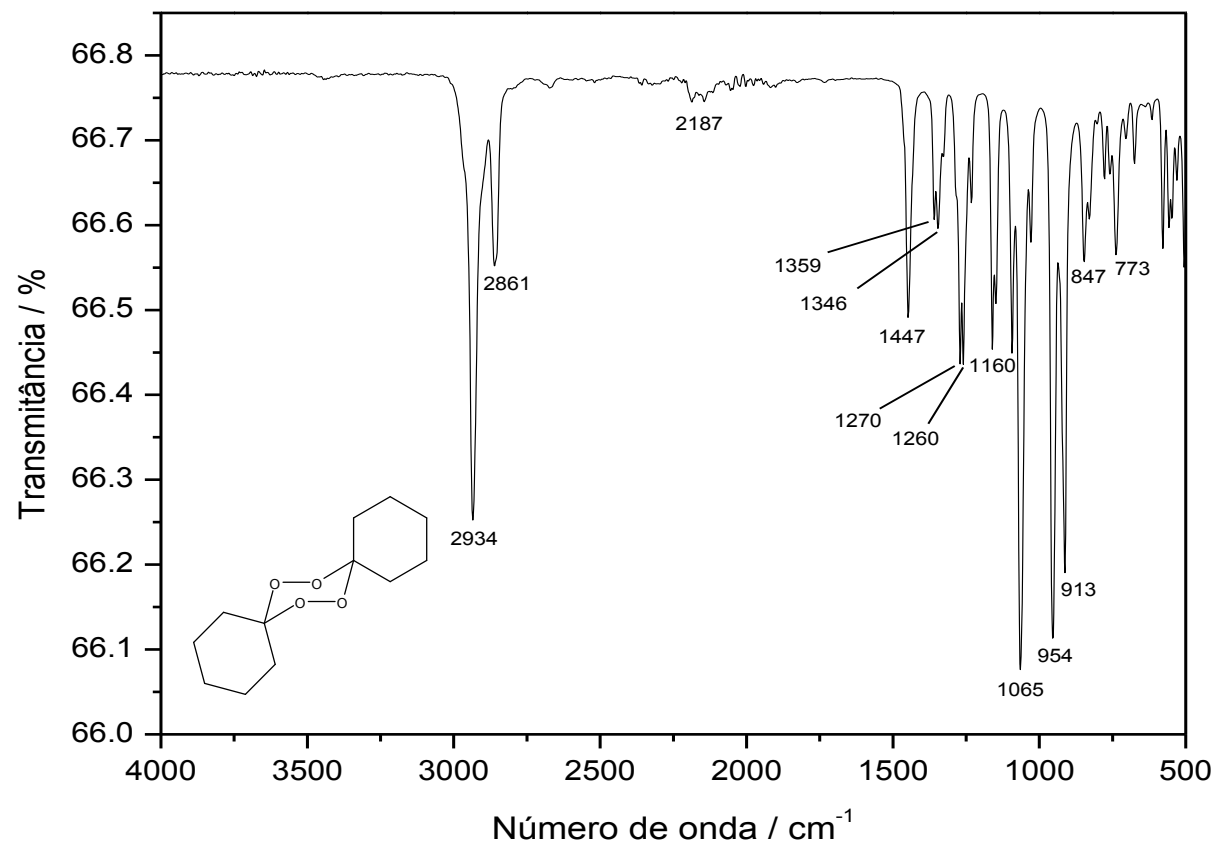


Figura 21. Espectro no infravermelho (IV) do composto [35]

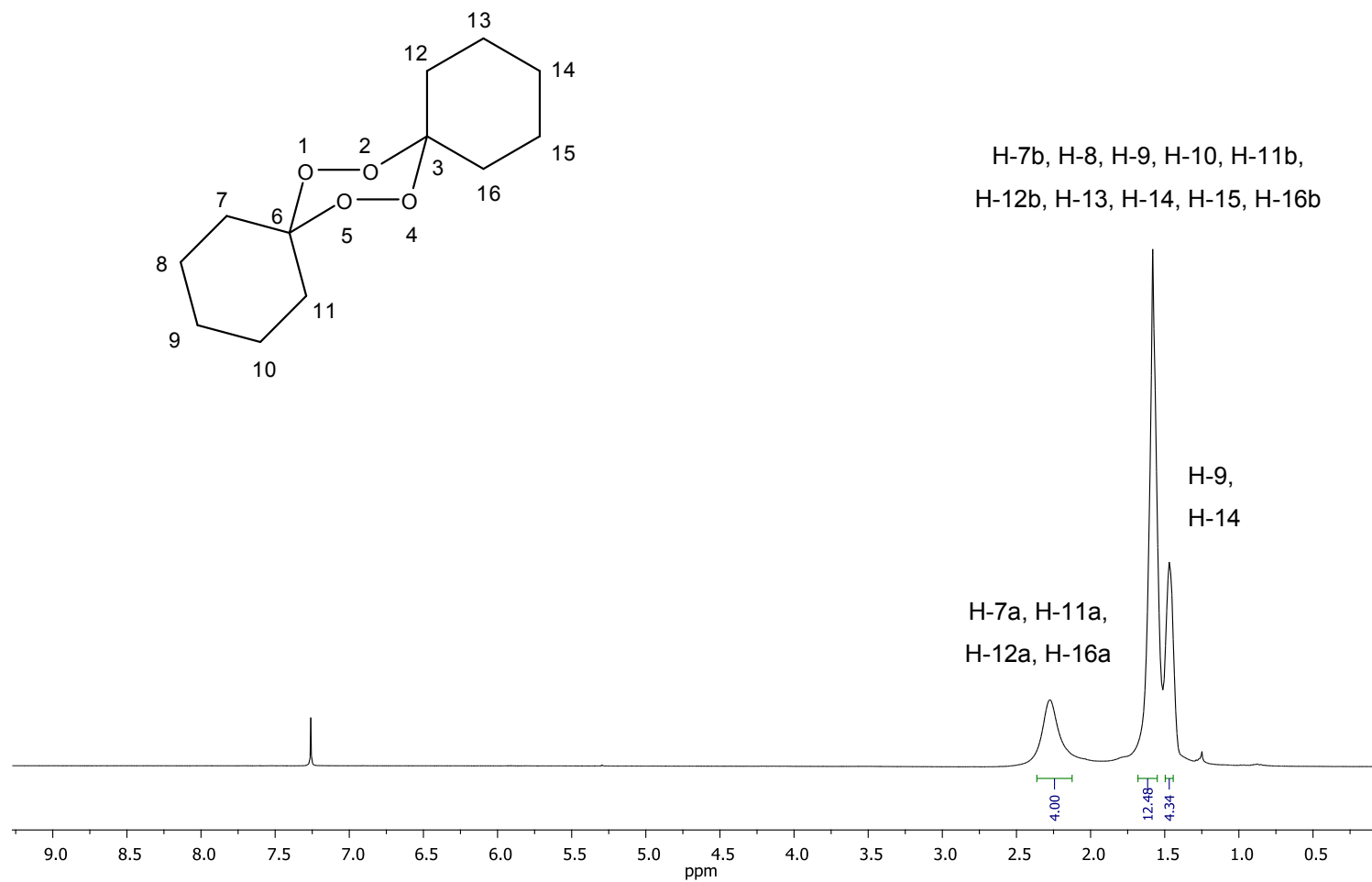


Figura 22. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [35]

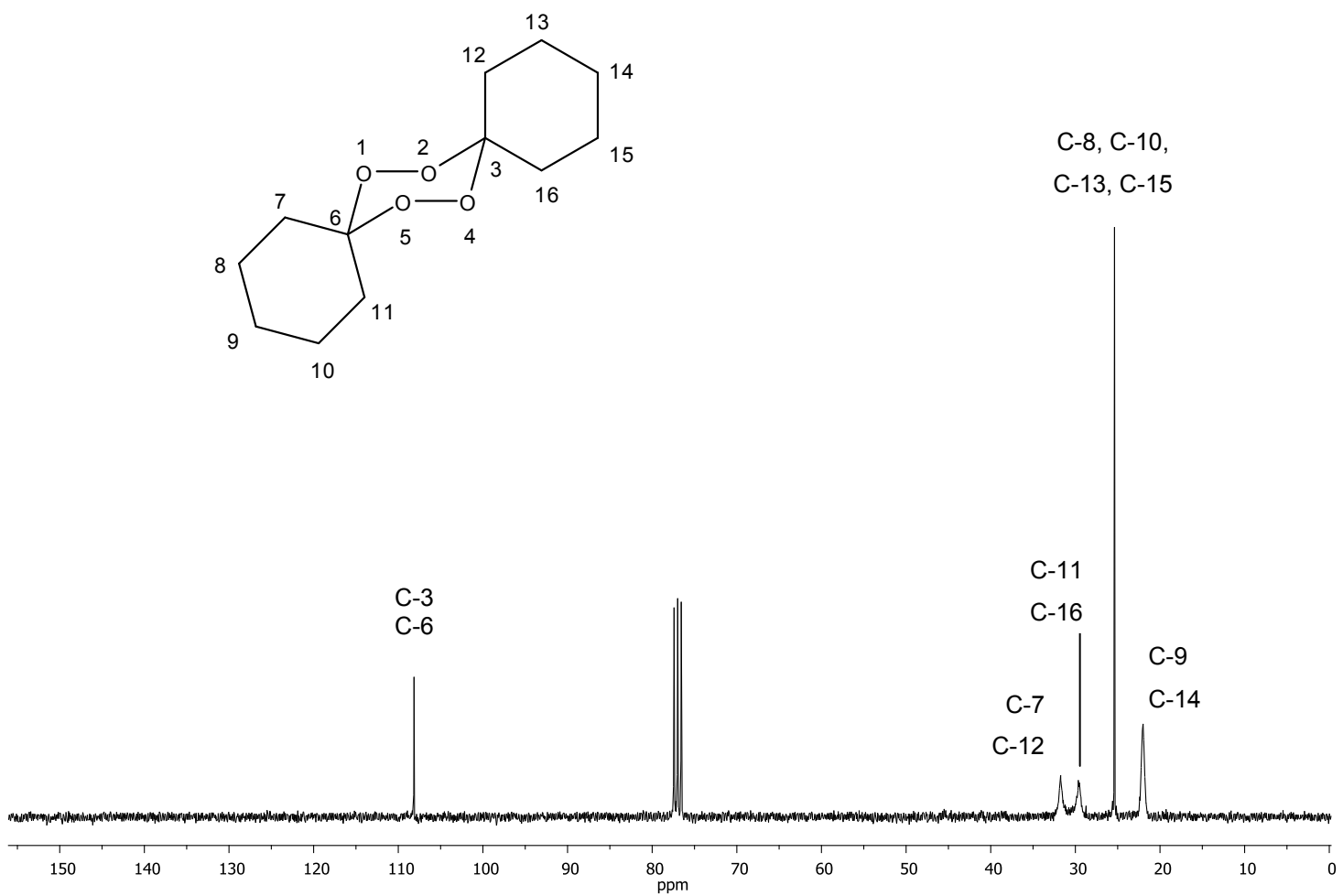


Figura 23. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [35]

Realizou-se neste ponto do trabalho, um estudo de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em três diferentes temperaturas (10 °C, 20°C e 45 °C) no tetraoxano [35], de modo a verificar o que ocorria com este tipo de molécula em baixas e altas temperaturas e assim ajudar a atribuir de maneira correta os sinais tanto de hidrogênio quanto de carbono presentes no composto.

A Figura 24 mostra o esquema comparativo dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  nas três temperaturas e podemos perceber que a medida que aumenta a temperatura, os sinais tendem a se agrupar, uma vez que a molécula tem energia suficiente para movimentar resultando na existência de confôrmeros que apresentam deslocamentos químicos próximos, o que resulta na visualização do sinal alargado.

Já em temperaturas mais baixas (10 °C), a molécula não tem energia suficiente para sobrepor a barreira rotacional, de modo que podemos perceber uma resolução melhor dos sinais, inclusive a existência de um tripleto nesta temperatura em  $\delta_{\text{H}}$  2,28 referentes H-7a, H-11a, H-12a e H-16a do tetraoxano.

A Figura 25 mostra o esquema de sobreposição dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para [35], no qual percebe-se a mesma relação entre temperatura e resolução dos sinais e a nítida separação de todos os 6 sinais de carbono a baixa temperatura.

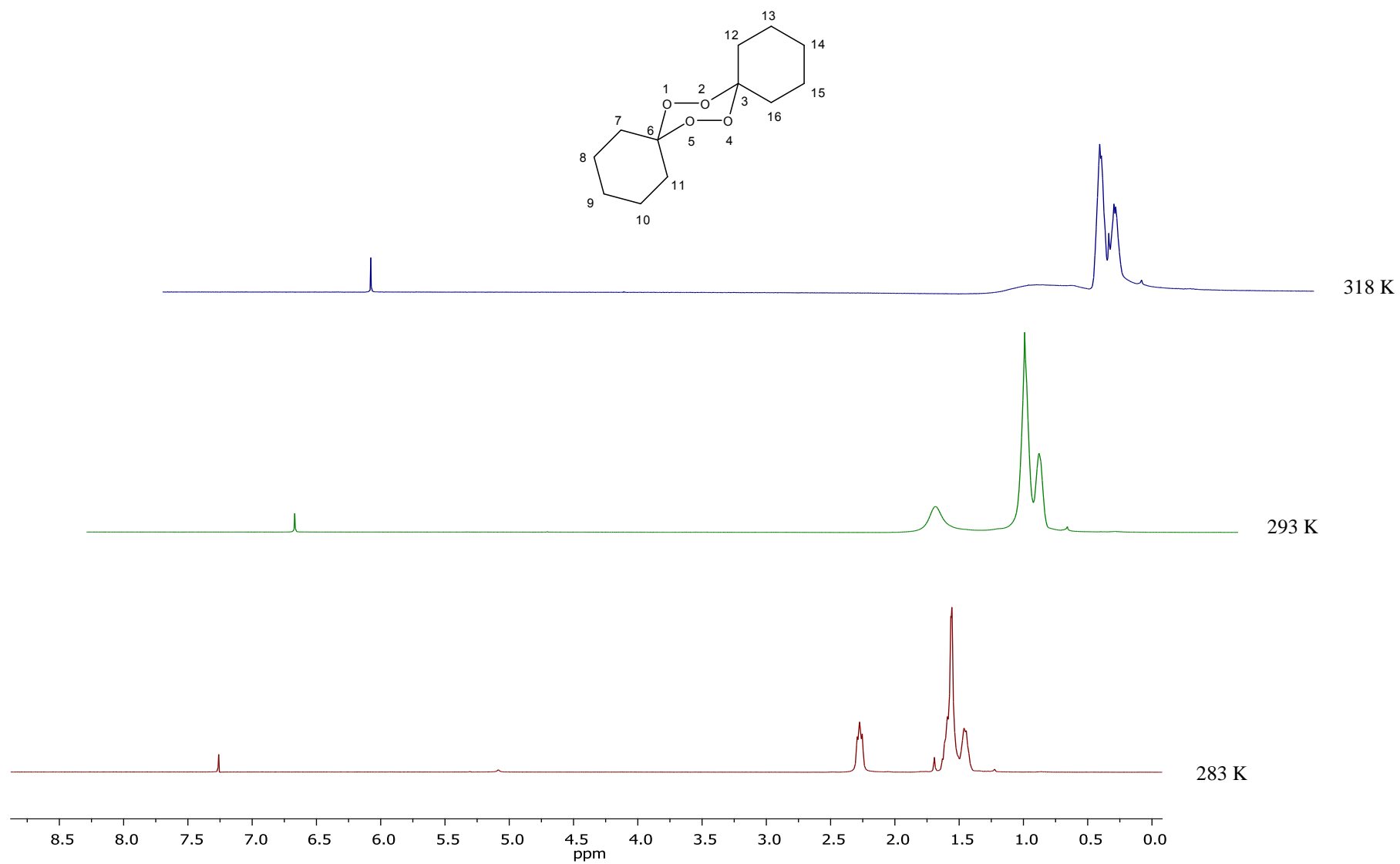


Figura 24. Comparação do RMN de  $^1\text{H}$  do tetraoxano [35] em três temperaturas

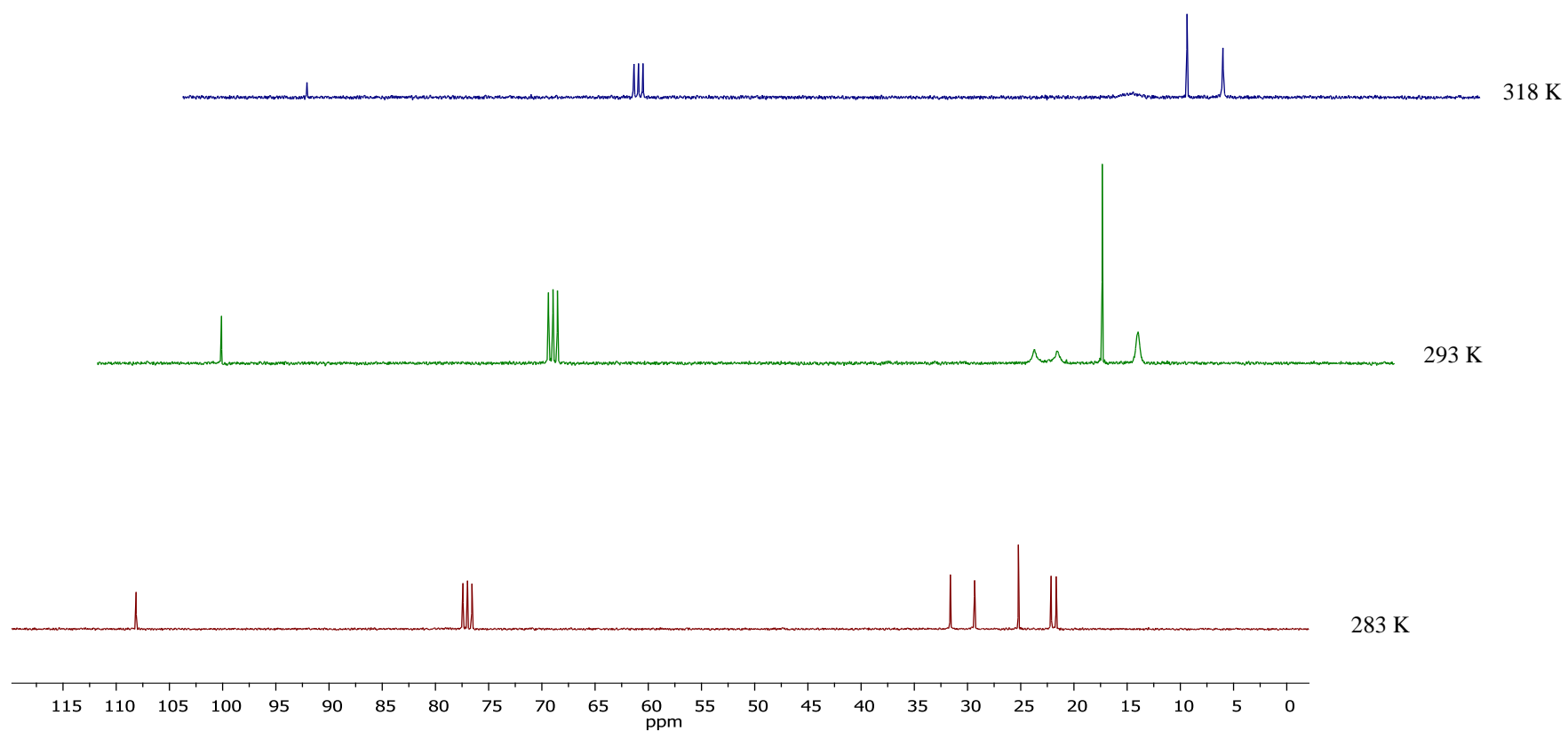
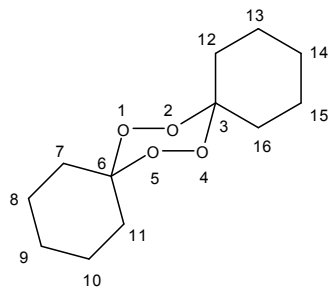


Figura 25. Comparação do RMN de  $^{13}\text{C}$  do tetraoxano [35] em três temperaturas

A terceira série de tetraoxanos (**38-41**) são aqueles oriundos da reação entre cetonas cíclicas e benzaldeído (Figura 14, página 54) e como exemplo o composto **[38]** terá seus espectros discutidos detalhadamente.

O espectro no infravermelho do composto **[38]** (Figura 26) apresentou bandas características de compostos aromáticos com absorção acima de 3000  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ , bandas com absorção em torno de 2900 e 2800  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ . Apresenta ainda, bandas em torno de 1600  $\text{cm}^{-1}$  referente às bandas harmônicas ou de combinação, bandas com absorção em 1493  $\text{cm}^{-1}$  e 1454  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-C}_{\text{sp}^2}$ . Apresenta ainda, bandas em torno de 1200  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação C-O-O (BARBOSA, 2007).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **[38]** (Figura 27) apresentou um multiplete entre  $\delta_{\text{H}}$  1,73-1,91 relativo aos hidrogênios H-13b, H-14, H-15 e H-16b; um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,56 ( $J_{13a,14} = J_{16a,15} = 7,2$  Hz) relativo à H-13a e H-16a, um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,74 relativo ao hidrogênio H-6 e um multiplete entre  $\delta_{\text{H}}$  7,37-7,54 relativo aos hidrogênio H-8, H-9, H-10, H-11 e H-12 (PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 28) observa-se quatro sinais de carbono em uma região de maior blindagem eletrônica referentes aos carbonos alifáticos de ciclopentanona C-15 ( $\delta_{\text{C}}$  24,3), C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  25,5), C-16 ( $\delta_{\text{C}}$  35,2) e C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  35,5). Há ainda, um sinal de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  108,1 (C-3) e  $\delta_{\text{C}}$  120,5 (C-6) e quatro sinais de carbono em uma região de menor blindagem eletrônica referentes aos carbonos aromáticos do benzaldeído C-9 e C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  127,9), C-8 e C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  129,0), C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  131,4) e C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  131,6) (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

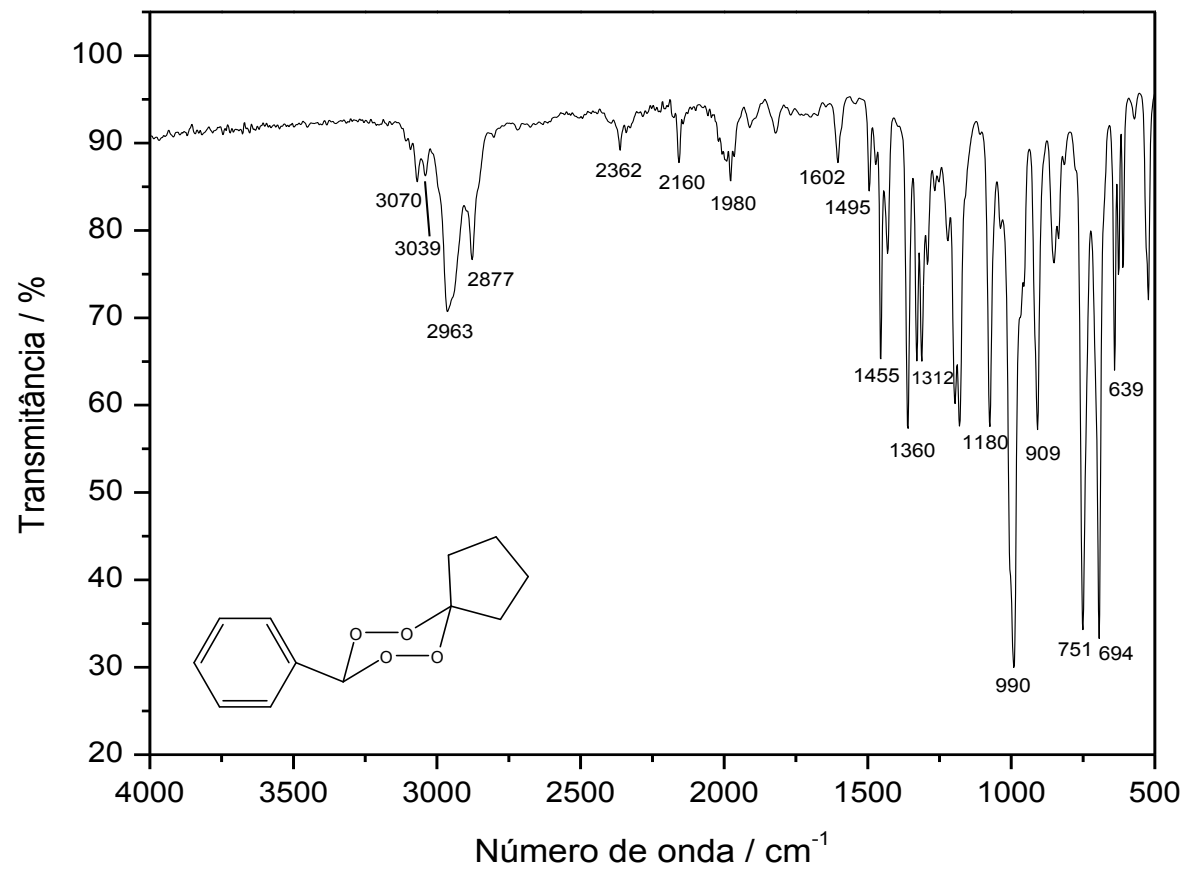


Figura 26. Espectro no infravermelho (IV) do composto [38]

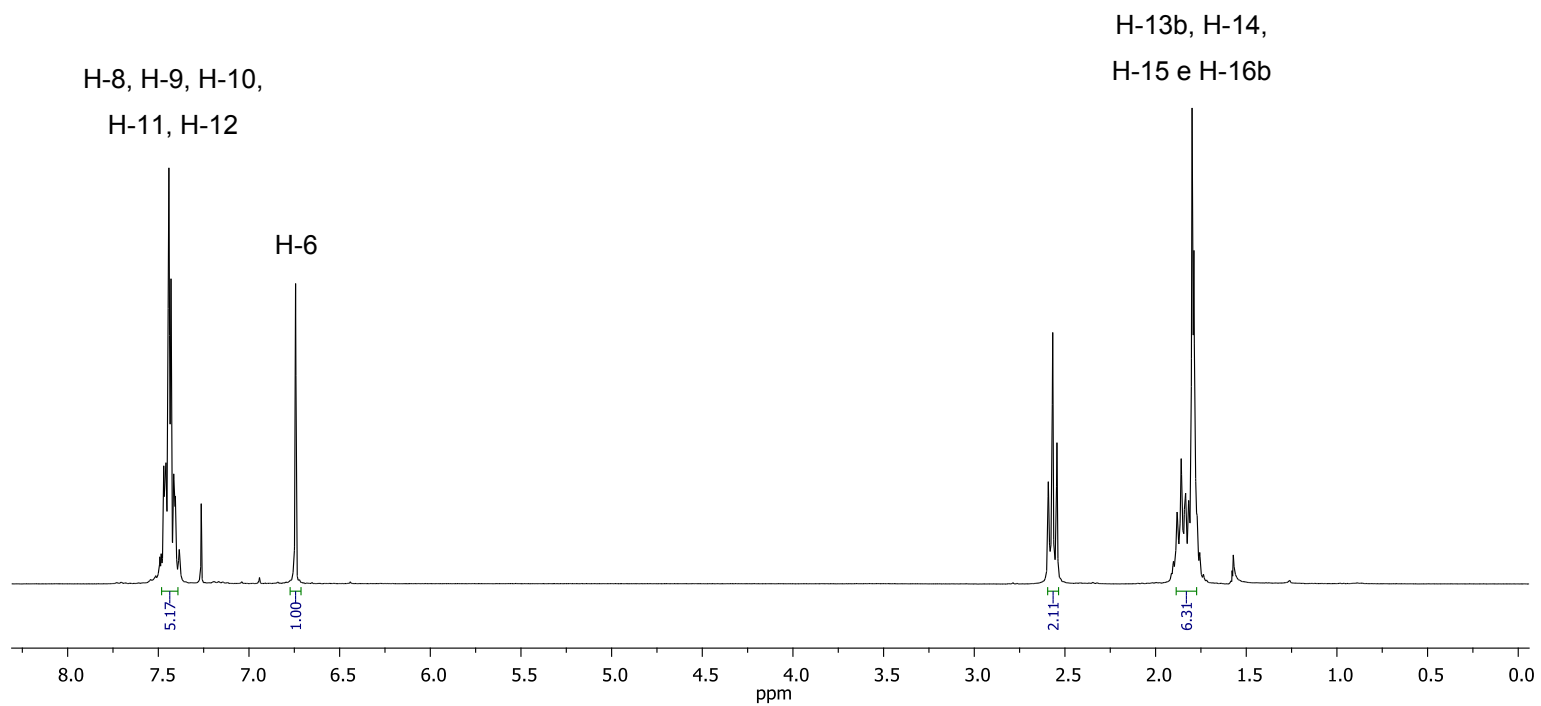
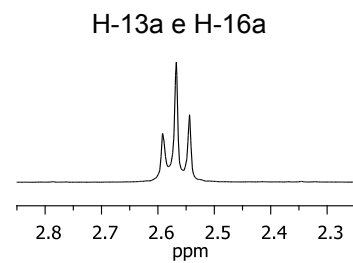
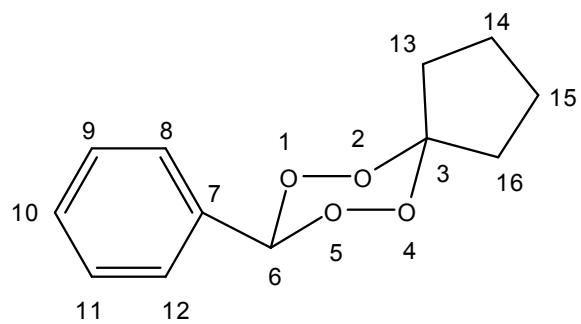


Figura 27. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [38]

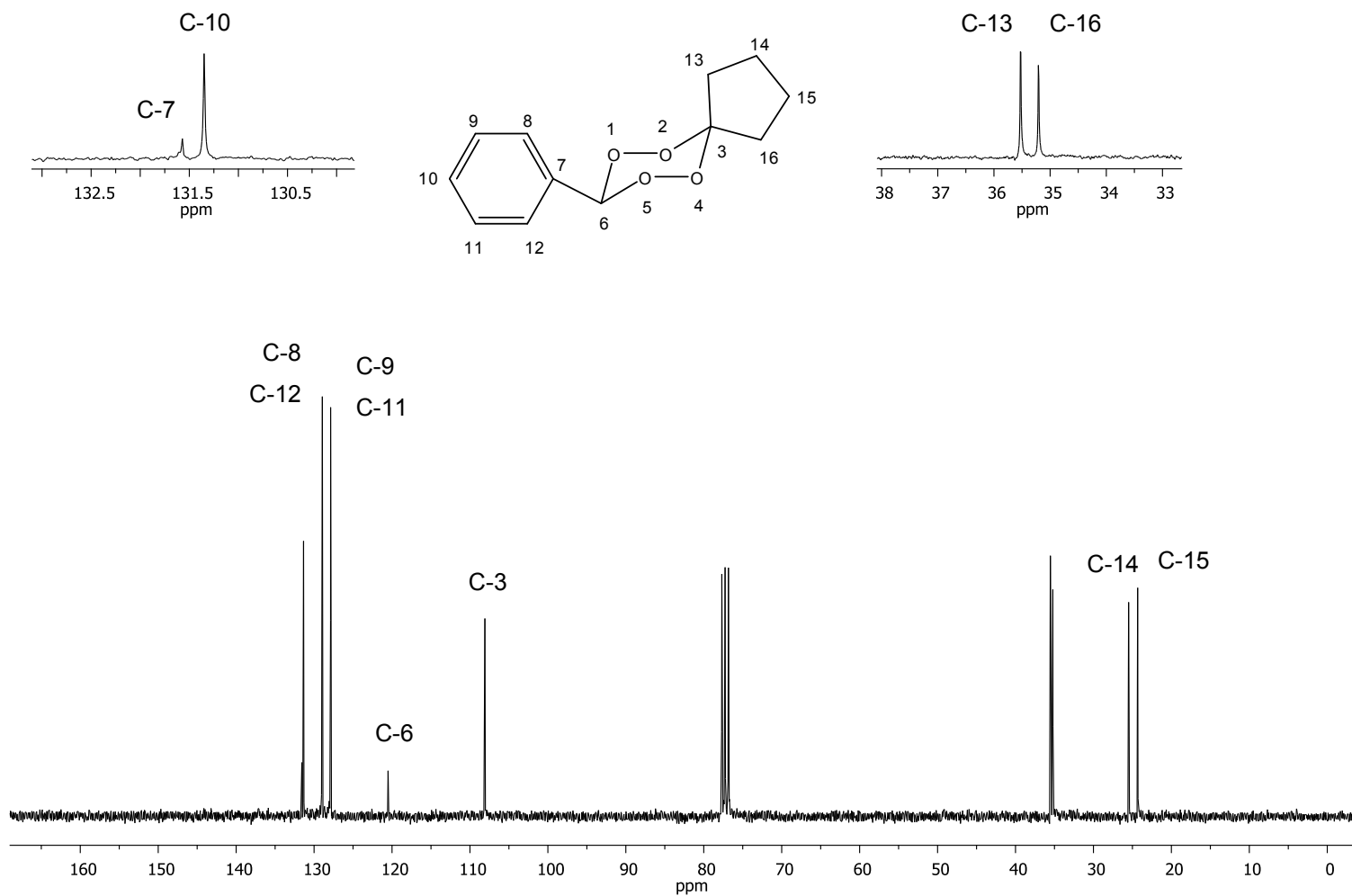


Figura 28. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [38]

A quarta e última série de tetraoxanos (**42-45**) foram obtidos a partir de benzaldeído e aldeídos aromáticos substituídos (Figura 14, página 54) e a discussão dos espectros será realizada em relação ao composto **[43]**.

A confirmação estrutural do composto **[43]** foi feita inicialmente pela análise do seu espectro no infravermelho (Figura 29), no qual apresentou bandas características de compostos aromáticos com absorção acima de 3000  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ , bandas com absorção em torno de 2900 e 2800  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ . Apresenta ainda, bandas em torno de 1600  $\text{cm}^{-1}$  referente as bandas harmônicas ou de combinação, bandas com absorção em 1493  $\text{cm}^{-1}$  e 1454  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-C}_{\text{sp}^2}$  (BARBOSA, 2007).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **[43]** (Figura 30) apresentou um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  1,24 ( $J_{20,19} = J_{22,21} = 7,6$  Hz) relativo à H-20 e H-22, um quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  2,68 ( $J_{19,20} = J_{21,22} = 7,6$  Hz) relativo à H-19 e H-21, um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,89 relativo aos hidrogênios H-3 e H-6, um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,27 ( $J_{9,8} = J_{11,12} = J_{15,14} = J_{17,18} = 8,1$  Hz) relativo à H-9, H-11, H-15 e H-17 e um duplete duplo em  $\delta_{\text{H}}$  7,43 ( $J_{8,12} = J_{12,8} = J_{14,18} = J_{18,14} = 1,5$  Hz,  $J_{12,11} = J_{8,9} = J_{14,15} = J_{18,17} = 6,6$  Hz) referentes aos hidrogênios H-8, H-12, H-14 e H-18 (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

O sinal do clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) em torno de  $\delta_{\text{H}}$  7,25 aparece sobreposto ao sinal dos hidrogênios H-9, H-11, H-15 e H-17.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 31) podemos observar que os sinais dos carbonos C-7 e C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  148,13) estão em uma região de menor blindagem eletrônica do espectro, em relação aos sinais dos carbonos C-20 e C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  15,61) e C-19 e C-21 ( $\delta_{\text{C}}$  29,10), respectivamente, devido à proximidade de grupos eletronegativos (oxigênio) (PAVIA *et al.*, 2010).

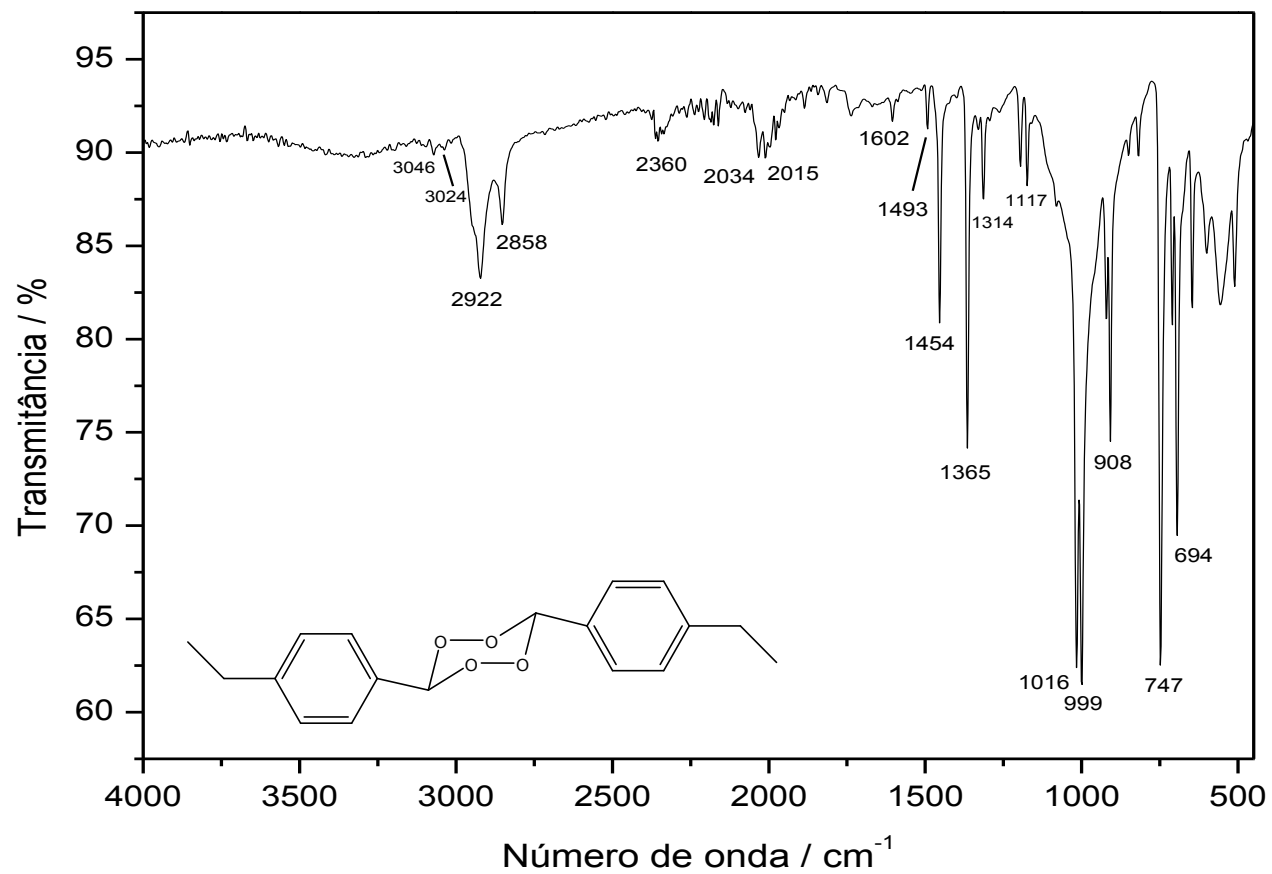


Figura 29. Espectro no infravermelho (IV) do composto [43]

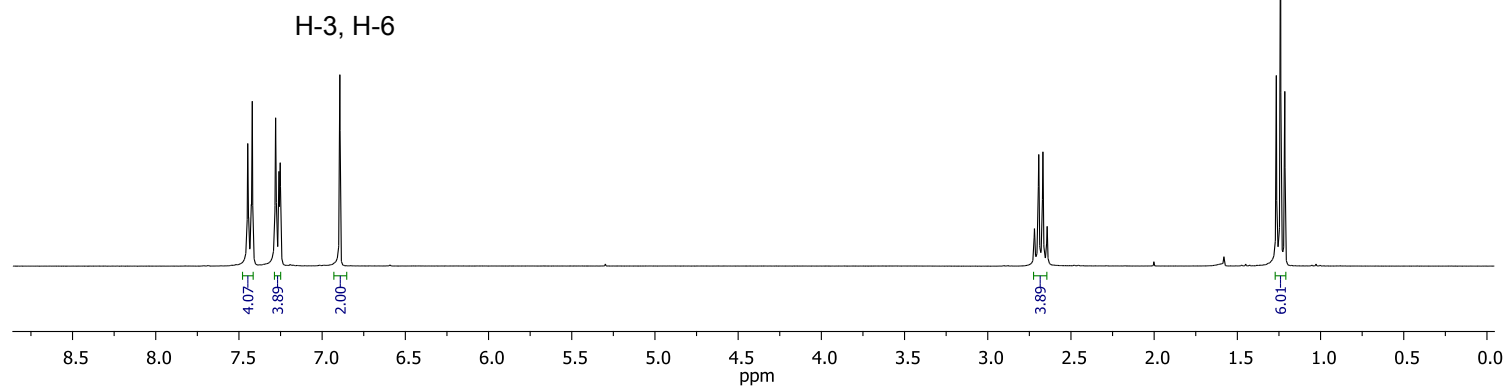
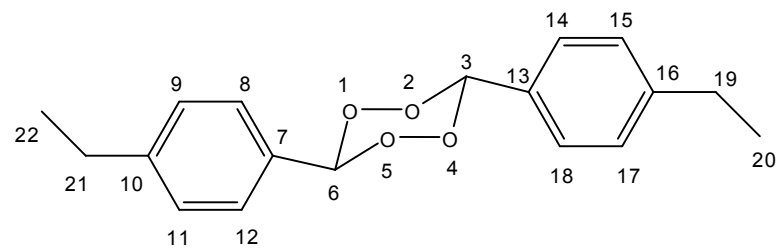
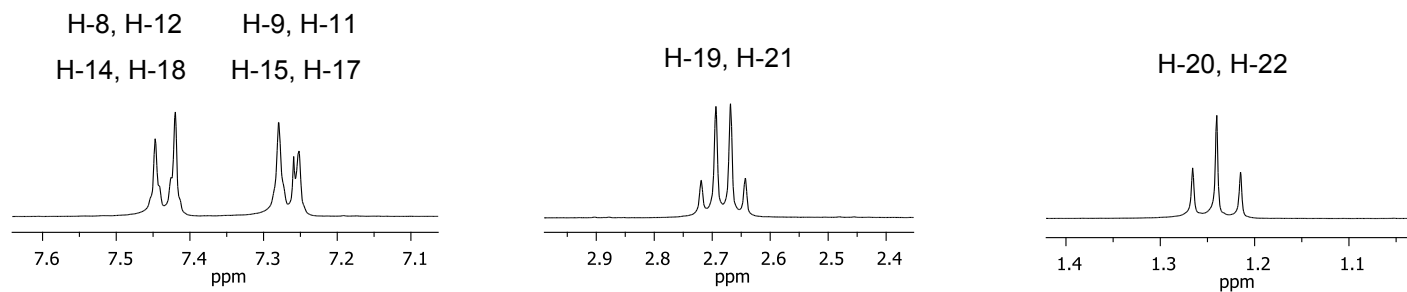


Figura 30. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [43]

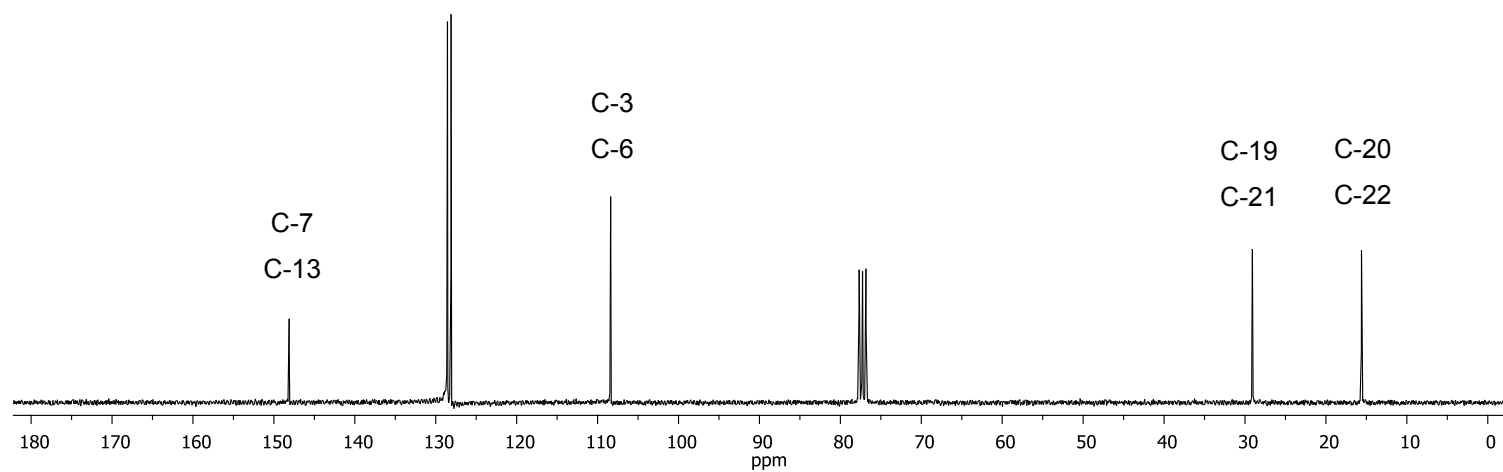
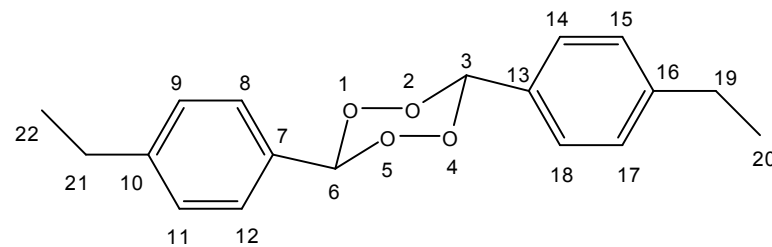
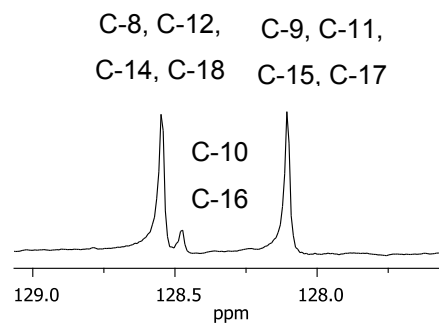


Figura 31. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [43]

## 1.7. Conclusões

Descreveram-se neste capítulo as etapas envolvidas na preparação de vinte 1,2,4,5-tetraoxanos, utilizando-se compostos carbonílicos na presença de peróxido de hidrogênio em meio ácido na primeira etapa e na etapa seguinte o hidroperóxido formado reagiu com outro composto carbonílico em meio ácido formando os vinte compostos de interesse, que foram completamente caracterizadas via espectroscopia no IV e de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

Embora na maioria dos casos tenham sido obtidos baixos rendimentos no preparo dos mesmos, há vantagens a se considerar ao empregar tal metodologia para obter os tetraoxanos, como a agilidade em realizar a síntese, apenas duas etapas rápidas sem a necessidade de tratamento prévio de solventes e reagentes, dessa forma, todas as reações foram realizadas sem a presença de atmosfera inerte, além do uso de reagentes de baixo valor econômico viabilizando sua utilização.

## CAPÍTULO 2

### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DE 1,2,4,5-TETRAOXANOS

#### 2.1. Introdução

Definir planta daninha nem sempre é fácil, devido à evolução e complexidade que atualmente atingiu a ciência das plantas daninhas. Todos os conceitos para definir plantas daninhas baseiam-se na sua indesejabilidade em relação a uma atividade humana, uma vez que acarretam prejuízos, pois competem com outras culturas por água, luz e nutrientes minerais. É estimado que de 20 a 30% do custo de produção de uma lavoura se deva ao controle dessas espécies (SILVA e SILVA, 2007). Mesmo assim, aproximadamente 30.000 espécies de plantas são reconhecidas como plantas daninhas, e cerca de 1.800 dessas são consideradas mais nocivas em razão de suas características e seu comportamento, causando anualmente elevadas perdas na agricultura (SILVA *et al.*, 2001; VYVYAN, 2002).

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).

Considerando os grandes prejuízos que causam e os sérios problemas que trazem à produção agrícola, o controle de plantas daninhas é altamente desejável e necessário e pode ser feito de várias maneiras desde o arranque das plantas com as mãos até o uso de sofisticados equipamentos de microondas, para exterminar as sementes nos solos.

O controle químico de plantas daninhas é um tipo de controle no qual são utilizados produtos químicos (herbicidas) que, em concentrações convenientes, têm a finalidade de inibir o desenvolvimento ou provocar a morte das plantas daninhas (SILVA *et al.*, 2001).

A descoberta desses compostos com atividade biológica definida, consiste no estágio inicial do processo para a pesquisa por novos agroquímicos (WALTER, 2002).

Portanto, nesse Capítulo serão descritos ensaios de fitotoxicidade com os tetraoxanos sintetizados sobre plantas testes e plantas daninhas.

## **2.2. Material e Métodos**

Os experimentos preliminares para avaliação da atividade herbicida dos compostos **26-45** sobre a germinação, crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e de sorgo (*Sorghum bicolor*) foram realizados no Laboratório de herbicidas do Departamento de Fitotecnia da UFV.

### **2.2.1. Preparo das soluções utilizadas nos ensaios biológicos**

Em um balão volumétrico de 50 mL, cada amostra do composto testado foi dissolvida com pentan-3-ona (10 µL) e agitada manualmente por um minuto. A essa solução foi adicionado o surfactante Tween 80 (50 µL) e água destilada (20 mL). A solução resultante foi sonicada em aparelho de ultra-som por dez minutos e o volume completado com água destilada, de modo, que a solução final apresentava concentração igual a  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  (solução estoque). Por meio de diluições sucessivas com água destilada da solução estoque preparou-se soluções nas concentrações de  $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ;  $0,25 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  e  $0,125 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  (MACÍAS *et al.*, 2009).

### **2.2.2. Pré-teste para verificar o efeito da formulação sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)**

A formulação utilizada nos ensaios biológicos cujo preparo está descrito no item 2.2.1. foi testada em comparação à água destilada para determinar se a mesma poderia causar efeito inibitório na germinação de sementes e crescimento das plântulas de sorgo e pepino.

Cada tratamento (formulação e água destilada) foi composto por dez placas de *Petri* (9 cm de diâmetro por 3 cm de altura) com papel de germinação (substrato) em triplicatas ( $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$ ) para cada tipo de semente. A solução a ser testada e a água (5 mL) foram adicionadas às placas e grupos de 20 sementes pré-germinadas (sementes colocadas em câmara de germinação por 24 horas a  $28 \pm 1$  °C) de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*) foram colocadas nas placas. Em seguida, as placas de *Petri* foram seladas com *Parafilm*, recobertas com papel alumínio e acondicionadas em câmara de germinação à temperatura  $25 \pm 1$  °C e ao abrigo da luz por 5 dias (BARBOSA *et al.*, 2009; MACÍAS *et al.*, 2006).

A porcentagem de inibição do crescimento da raiz e caule foi calculada em relação ao controle negativo (água). Os dados foram analisados pelo teste Scott-Knott, ao nível de 1% de probabilidade (REIS, 2006).

### **2.2.3. Pré-teste para verificar o efeito de herbicidas comerciais sobre o crescimento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)**

Quatro herbicidas comerciais (Diuron®, Paraquat®, Glifosato® e Pivot®) foram avaliados nesse teste que consistiu em preparar soluções dos herbicidas em duas concentrações ( $1,0 \times 10^{-3}$  e  $0,125 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>) e 5 mL de cada uma foi adicionada às placas de *Petri* com papel de germinação. Cada tratamento foi realizado em triplicata com grupos de 20 sementes pré-germinadas (sementes colocadas em câmara de germinação por 24 horas a  $28 \pm 1$  °C) de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*). Em seguida, as placas de *Petri*

foram seladas com *Parafilm*, recobertas com papel alumínio e acondicionadas em câmara de germinação à temperatura  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e ao abrigo da luz por 5 dias (BARBOSA *et al.*, 2009; MACÍAS *et al.*, 2006).

A porcentagem de inibição do crescimento da raiz e caule foi calculada em relação ao controle negativo (água). Os dados foram analisados pelo teste Scott-Knott, ao nível de 1% de probabilidade (REIS, 2006).

#### **2.2.4. Avaliação da atividade herbicida dos compostos 26-45 sobre a germinação e o crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de pepino (*Cucumis sativus*)**

O experimento foi conduzido com 24 tratamentos (compostos **26** a **45**, controle negativo, 2 herbicidas comerciais e água), com três repetições em cada uma das quatro concentrações testadas em delineamento inteiramente casualizado. O crescimento radicular e da parte aérea foi avaliado por medição com régua graduada em mm e a germinação pela porcentagem de sementes germinadas.

Cada tratamento foi composto por três placas de *Petri* (9 cm de diâmetro por 3 cm de altura) com papel de germinação (substrato). A solução da substância testada (5 mL) foi adicionada às placas e grupos de 20 sementes pré-germinadas (sementes colocadas em câmara de germinação por 24 horas a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ) de pepino (*Cucumis sativus*) foram colocadas nas placas. Em seguida, as placas de *Petri* foram seladas com *Parafilm*, recobertas com papel alumínio e acondicionadas em câmara de germinação à temperatura  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e ao abrigo da luz (BARBOSA *et al.*, 2009; MACÍAS *et al.*, 2006).

Após 10 dias (240 horas) as placas contendo as sementes de pepino foram retiradas da câmara de germinação e armazenadas em freezer ( $-10^\circ\text{C}$ ) durante 24 horas para evitar qualquer crescimento subsequente durante o processo de medição. Esse procedimento foi adotado para facilitar a manipulação das plantas e também permitir medição mais precisa dos comprimentos das raízes e dos caules.

### **2.2.5. Avaliação da atividade herbicida dos compostos 26-45 sobre a germinação e o crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de sorgo (*Sorghum bicolor*)**

Para avaliar a atividade fitotóxica dos compostos **26-45** sobre o crescimento radicular de sorgo (*Sorghum bicolor*), utilizou-se a mesma metodologia descrita no item anterior.

A única diferença foi no período de acondicionamento das sementes de sorgo, que permaneceram em câmara de germinação por sete dias (168 horas).

### **2.2.6. Análise estatística da atividade herbicida dos compostos 26-45 sobre a germinação e o crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)**

Para avaliar estatisticamente os resultados obtidos nos ensaios preliminares de fitotoxicidade dos tetraoxanos testados levaram em consideração os seguintes critérios:

As sementes foram consideradas germinadas se uma radícula se projetava como pelo menos 1 mm além do corpo semente. A percentagem de germinação das sementes foi calculada de acordo com o número de sementes germinadas em relação ao número total de sementes semeadas.

A porcentagem de inibição do crescimento radicular e da parte aérea foi calculada em relação ao comprimento da radícula e parte aérea do controle.

Uma vez adquiridos os dados, processou-se análise de *Cluster* de modo a agrupar compostos com comportamentos semelhantes de fitotoxicidade e associá-los com a sua estrutura molecular. A análise de *Cluster* foi realizada utilizando o *software* STATISTICA versão 5.0 (1995), tendo como base para análise os parâmetros de inibição do crescimento de raiz e parte aérea proporcionada pela adição da solução dos tetraoxanos em quatro concentrações testadas em comparação ao controle em sementes de sorgo e pepino.

Utilizou-se o método *Complete Linkage* para a fusão dos compostos com similaridade no agrupamento hierárquico. Esse método permite um melhor refinamento na escolha dos compostos com fitotoxicidade similar. E a medição de distância foi feita pelo método da distância euclidiana ao quadrado, dada pela equação:  $d(x,y) = \sum_i (x_i - y_i)^2$ , onde:  $d(x,y)$  é a distância euclidiana ao quadrado (i-dimensional), o símbolo  $i$  representa o número de variáveis, e  $x$ ,  $y$  os valores observados. Esse tipo de medida de distância é usado para dados brutos, não padronizados e tem a vantagem de poder adicionar novos valores sem afetar a distância já existente entre dois objetos, no caso, os compostos sintetizados (MACÍAS *et al.*, 2002).

### **2.2.7. Avaliação da atividade herbicida dos compostos 32-36, 38 e 39 sobre a biomassa de raiz e caule em plantas daninhas**

Os ensaios preliminares, bem como, o tratamento estatístico dos dados apontaram sete tetraoxanos (**32, 33, 34, 35, 36, 38 e 39**) com resultados de inibição do crescimento radicular e parte aérea em plântulas de sorgo e pepino comparáveis estatisticamente aos herbicidas comerciais utilizados.

Desse modo, os sete compostos e os dois herbicidas foram utilizados nos ensaios agora em plantas daninhas realizados em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da UFV. As espécies de plantas daninhas foram escolhidas de acordo com a disponibilidade à época dos testes. Quatro espécies foram utilizadas, sendo monocotiledôneas *Brachiaria brizantha* (braquiária), *Sorghum arundinaceum* (falso-massambará) e dicotiledôneas *Bidens pilosa* (picão-preto), *Euphorbia heterophylla* (leiteiro).

O experimento foi conduzido com 10 tratamentos (compostos **32-36, 38 e 39**, controle negativo, 2 herbicidas comerciais), quatro repetições para cada uma das duas concentrações testadas em delineamento inteiramente casualizado. As soluções foram preparadas de acordo com a mesma metodologia descrita no item 2.2.1 (página 81) e sendo empregadas apenas duas concentrações ( $1,0 \times 10^{-3}$  e  $0,25 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>).

Cada tratamento foi composto por quatro potes de plásticos com capacidade de 50 mL que foram totalmente preenchidos com

aproximadamente 70 g de areia lavada (substrato isento de qualquer tipo de matéria orgânica, obtido pelo tratamento prévio da areia com ácido sulfúrico concentrado). Sementes pré-germinadas de cada planta daninha (4 sementes por pote) foram acondicionadas a aproximadamente 1 cm abaixo do nível superior de areia e em seguida os potes foram saturados com 5 mL da solução a ser testada nas concentrações descritas anteriormente.

As plantas foram cultivadas em estufa durante quarenta dias, sendo regadas com água de torneira várias vezes ao dia para manter a humidade, de acordo com o nível de insolação e evapotranspiração das plantas. A cada dois dias as plantas recebiam doses de nutrientes através da aplicação da solução de Hoagland<sup>®</sup> à meia força.

Decorridos os quarenta dias, as plantas foram colhidas e tiveram a raiz e o caule separados e acondicionados em sacos de papel. Esse material foi mantido em estufa de ventilação forçada a 70 °C até que se obtivesse massa constante (BARBOSA *et al.*, 2009; MACÍAS *et al.*, 2006).

A porcentagem de inibição do crescimento da raiz e caule foi calculada em relação à biomassa do controle negativo. Os dados foram analisados pelo teste Scott-Knott, ao nível de 1% de probabilidade (REIS, 2006).

## **2.3. Resultados e Discussão**

### **2.3.1. Pré-teste para verificar o efeito da formulação sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)**

A primeira etapa dos ensaios biológicos consistiu em realizar pré-teste com o objetivo de verificar se a formulação utilizada (preparo está descrito no item 2.2.1, página 81) estava causando efeito inibitório na germinação de sementes e no crescimento das plântulas e para tal, o teste comparativo entre a formulação preparada e água destilada foi realizado e os resultados mostraram que estatisticamente a formulação não influenciou na germinação das sementes, bem como, no crescimento das plântulas (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação entre formulação e água destilada sobre a germinação de sementes de *C. sativus* e *S. bicolor*

<i>C. sativus</i>												<i>S. bicolor</i>											
Radícula (cm)						Parte aérea (cm)						Radícula (cm)						Parte aérea (cm)					
Água			Formulação			Água			Formulação			Água			Formulação			Água			Formulação		
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
3,3	3,0	3,5	3,5	4,8	5,9	3,0	3,5	2,9	4,2	2,6	3,6	3,0	3,5	3,3	3,0	4,4	4,5	3,5	3,3	3,0	7,5	2,4	3,3
3,9	3,2	3,0	5,2	3,6	4,6	3,2	3,2	3,2	4,9	2,5	4,2	3,2	3,0	3,9	3,0	4,6	4,6	3,2	3,1	3,2	3,0	3,6	3,2
4,3	3,7	3,9	6,6	2,5	3,0	2,8	3,0	3,5	5,6	2,8	1,9	3,7	3,9	4,3	2,4	3,9	3,8	3,0	3,0	2,8	3,0	4,0	3,1
5,0	3,8	4,0	4,1	3,0	4,4	3,5	2,5	2,5	2,9	1,9	1,8	3,8	4,0	5,0	4,6	3,6	4,8	2,5	3,5	3,5	3,2	5,3	3,2
2,5	4,1	3,7	2,3	2,5	3,1	2,8	2,8	2,7	1,8	1,8	3,2	4,1	3,7	2,5	2,5	3,5	4,3	2,8	3,8	2,8	3,0	1,0	2,5
2,0	4,0	3,0	3,3	4,7	2,8	2,7	3,0	3,0	1,3	2,0	2,5	4,0	3,0	2,0	3,0	2,8	3,6	3,0	3,3	2,7	1,3	2,9	2,7
5,2	3,6	3,5	3,4	2,7	4,3	3,0	3,1	2,8	2,4	2,8	4,7	3,6	3,5	5,2	5,5	3,5	3,3	3,1	3,2	3,0	1,8	2,4	4,4
3,7	4,5	4,0	2,4	4,0	2,7	3,2	3,2	2,9	1,9	3,0	3,2	4,5	4,0	3,7	3,5	3,2	4,1	3,2	3,5	3,2	1,0	4,0	3,0
3,8	3,6	3,6	5,6	2,5	2,9	2,9	3,8	3,0	4,1	2,7	2,0	3,6	3,6	3,8	3,0	3,0	2,8	3,8	3,2	2,9	2,5	5,6	3,2
3,0	3,7	3,8	2,3	2,0	2,0	2,9	3,1	2,8	2,9	5,2	2,8	3,7	3,8	3,0	2,9	3,6	3,6	3,1	3,3	2,9	3,0	3,2	3,3
Média*			Média*			Média*			Média*			Média*			Média*			Média*			Média*		
3,7a	3,7a	3,6a	3,9a	3,2a	3,6a	3,0a	3,1a	2,9a	3,2a	2,7a	3,0a	3,7a	3,6a	3,7a	3,3a	3,6a	3,9a	3,1a	3,3a	3,0a	2,9a	3,5a	3,2a
Média repetições			Média repetições			Média repetições			Média repetições			Média repetições			Média repetições			Média repetições			Média repetições		
3,7			3,6			3,0			3,0			3,7			3,6			3,1			3,2		

\* Médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente uma da outra a 1% de probabilidade pelo teste Scott-Knott

### **2.3.2. Pré-teste para verificar o efeito de herbicidas comerciais sobre o crescimento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)**

O segundo pré-teste consistiu em escolher, dentre os herbicidas comerciais disponíveis (Diuron®, Paraquat®, Glifosato® e Pivot®), quais teriam melhores respostas nos ensaios biológicos, ou seja, quais serviriam como comparativo (controle positivo) para os resultados obtidos com os tetraoxanos testados. Para isso, utilizou quatro herbicidas: Diuron® (recomendado tanto em pré quanto em pós-emergência), Paraquat® (recomendado em pré-emergência de culturas, porém em pós-emergência das plantas daninhas), Glifosato® e Pivot®, (ambos recomendados em pós-emergência) e os melhores resultados obtidos foram com os dois últimos herbicidas, sendo ambos utilizados como controle positivo em todos os testes realizados.

O Pivot® - *imazethapyr* (ácido 2-[4,5-dihidro-4-metil-4-(1-metiletil)-5-oxo-1H-imidazol-2-il]-5-etilpiridina carboxílico) faz parte do grupo das imidazolinonas (Figura 1), inibindo a síntese dos chamados aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina e valina), através da inibição da enzima Aceto Lactato Sintase (ALS), que interrompe a síntese protéica e, por sua vez, interfere na síntese do DNA e no crescimento celular. As plantas sensíveis tornam-se cloróticas, definham e morrem, no prazo de 7 a 14 dias após o tratamento (SILVA *et al.*, 2007).

Recomenda-se seu uso em pós-emergência, sendo um herbicida sistêmico, ou seja, translocam pelo floema até a raiz e folhas da planta, controlando com eficiência plantas daninhas como *Euphorbia heterophylla*, *Bidens pilosa*, *Hyptis suaveolens*, *Ipomoea grandifolia*, além de outras (SILVA *et al.*, 2007).

O Glifosato® - *glyphosate* (N-fosfometil glicina) faz parte do grupo dos organofosforados (Figura 1), inibindo a síntese da enzima EPSP sintase (5 enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase). *Glyphosate* inibe a EPSP sintase por competição com o substrato PEP (fosfoenolpiruvato), evitando a transformação do chiquimato em corismato, que leva a formação de três aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina e triptofano. A inibição desta enzima faz com que os níveis dos aminoácidos supracitados diminuam sensivelmente, sendo

estes os precursores da maioria dos compostos aromáticos nas plantas (SILVA *et al.*, 2007).

Recomenda-se seu uso também em pós-emergência, sendo um herbicida sistêmico, para controle de plantas daninhas em áreas não-cultivadas (rodovias, ferrovias, ruas, parque de indústria, etc.).

O uso destes herbicidas como pós-emergente se deve ao fato de ambos serem forte e imediatamente sorvidos pelos coloides do solo.

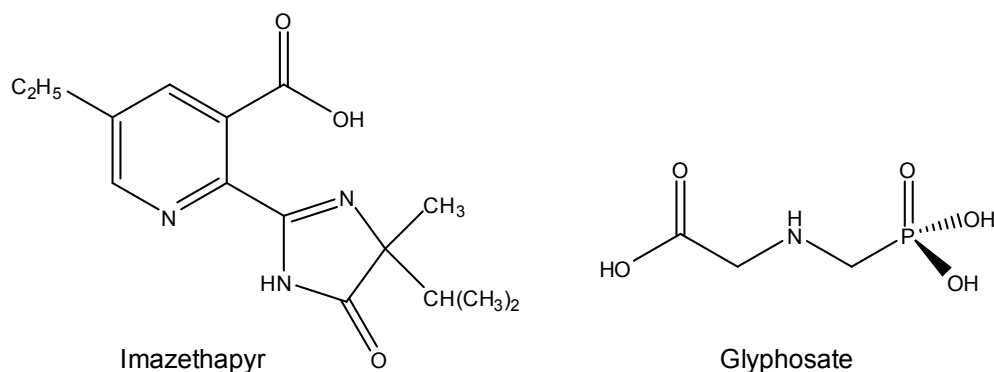


Figura 1. Estrutura química dos herbicidas *imazethapyr* e *glyphosate*

### 2.3.3. Avaliação da atividade dos compostos 26-45 sobre a germinação e o crescimento radicular e parte aérea de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e de sorgo (*Sorghum bicolor*)

Após a constatação que a formulação utilizada no preparo das soluções não apresentava efeito diferente da água destilada e da escolha dos herbicidas; realizou-se então, os testes preliminares de fitotoxicidade com os tetraoxanos sintetizados (**26-45**), mostrados na Figura 2, em plântulas de sorgo e pepino.

A escolha das espécies pepino e sorgo como indicadoras da atividade herbicida dos novos compostos sintetizados se deve ao fato dessas espécies apresentarem alta sensibilidade aos herbicidas tradicionais que possuem atividade sobre plantas dicotiledôneas e monocotiledôneas, respectivamente. Além disso, sementes dessas espécies germinam facilmente e apresentam rápido crescimento inicial permitindo respostas visíveis em curto espaço de tempo (CUSATI, 2008).



O efeito dos compostos bem como dos herbicidas comerciais sobre a germinação das sementes de sorgo e pepino foi avaliado e os resultados (Tabela 2) mostraram que de maneira geral, todas as substâncias testadas não apresentaram efeito inibitório sobre a germinação, com valores de porcentagem acima de 80% de germinação.

Tabela 2. Efeito dos compostos sintetizados sobre a germinação das sementes

Composto	<i>C. sativus</i>				<i>S. bicolor</i>			
	1,0 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	0,5 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	0,25 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	0,125 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	1,0 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	0,5 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	0,25 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>	0,125 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup>
	germ, (%)	germ, (%)	germ, (%)	germ, (%)	germ, (%)	germ, (%)	germ, (%)	germ, (%)
<b>26</b>	92 ± 0,6	90 ± 0,0	92 ± 0,6	93 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>27</b>	88 ± 1,1	83 ± 1,1	82 ± 0,6	85 ± 1,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>28</b>	93 ± 0,6	97 ± 0,6	95 ± 0,0	95 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>29</b>	80 ± 0,0	83 ± 1,1	87 ± 1,1	82 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>30</b>	92 ± 0,6	92 ± 0,6	93 ± 0,6	95 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>31</b>	97 ± 0,6	93 ± 0,6	92 ± 0,6	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>32</b>	92 ± 0,6	92 ± 0,6	95 ± 0,0	93 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>33</b>	90 ± 0,0	93 ± 1,1	93 ± 0,6	90 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>34</b>	88 ± 0,6	88 ± 0,6	88 ± 1,1	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>35</b>	92 ± 0,6	95 ± 0,0	92 ± 0,6	93 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>36</b>	90 ± 0,0	90 ± 0,0	92 ± 0,6	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>37</b>	87 ± 1,5	92 ± 0,6	90 ± 1,0	88 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>38</b>	92 ± 1,1	90 ± 0,0	90 ± 0,0	87 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>39</b>	90 ± 0,0	87 ± 0,6	92 ± 0,6	88 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>40</b>	93 ± 0,6	92 ± 0,6	95 ± 0,0	93 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>41</b>	90 ± 0,0	92 ± 1,6	100 ± 0,0	98 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>42</b>	90 ± 0,0	88 ± 0,6	88 ± 0,6	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>43</b>	85 ± 0,0	88 ± 0,6	90 ± 1,7	88 ± 1,1	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>44</b>	93 ± 0,6	97 ± 0,6	93 ± 0,6	93 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>45</b>	93 ± 0,6	92 ± 0,6	93 ± 0,6	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>Gli<sup>a</sup></b>	93 ± 0,6	95 ± 0,0	92 ± 0,6	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<b>Ima<sup>b</sup></b>	92 ± 0,6	95 ± 0,6	97 ± 0,3	92 ± 0,6	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
Controle			100 ± 0,6				100 ± 0,0	

<sup>a</sup> – Gli = glyphosate, <sup>b</sup> – Ima = imazethapyr. Cada tratamento foi conduzido em triplicatas, e os valores do desvio padrão (±SD) foram expressos como porcentagem de sementes germinadas.

Esses resultados mostram que os valores de inibição do crescimento obtidos, que serão mostrados a seguir, são reais, ou seja, não foram mascarados por sementes não germinadas.

Nos testes preliminares realizados em placas de *Petri* foram avaliados o efeito inibitório dos tetraoxanos **26-45** sobre o crescimento radicular e da parte aérea em plântulas de pepino e sorgo em quatro concentrações diferentes e as Figuras 3 e 4 mostram os resultados obtidos. Este tipo de teste é comumente

empregado como uma triagem geral para a identificação de novas substâncias fitotóxicas (EINHELLING *et al.*, 1983).

*Cucumis sativus*

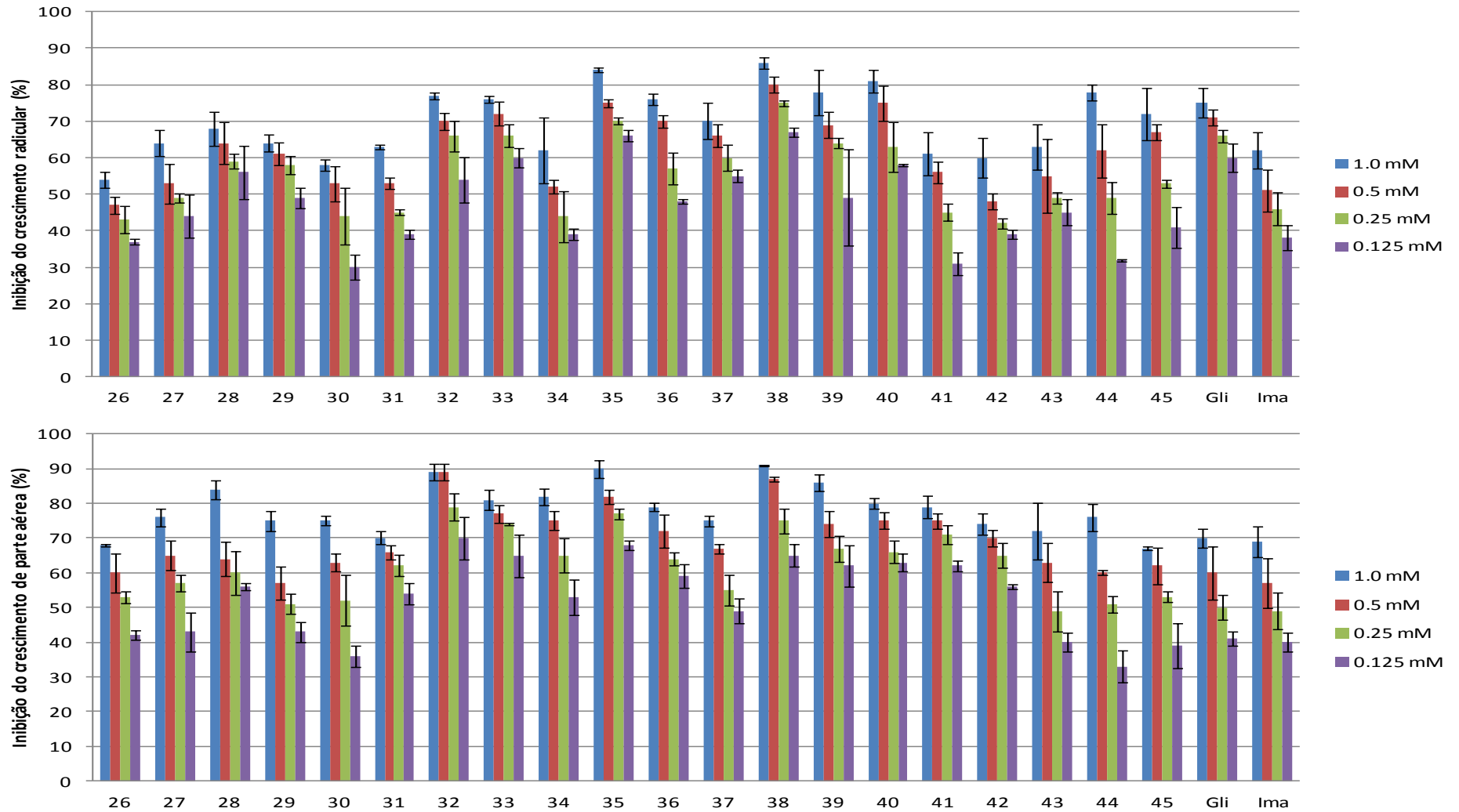


Figura 3. Efeitos dos compostos **26-45** e herbicidas no crescimento radicular e parte aérea em plântulas de pepino

*Sorghum bicolor*

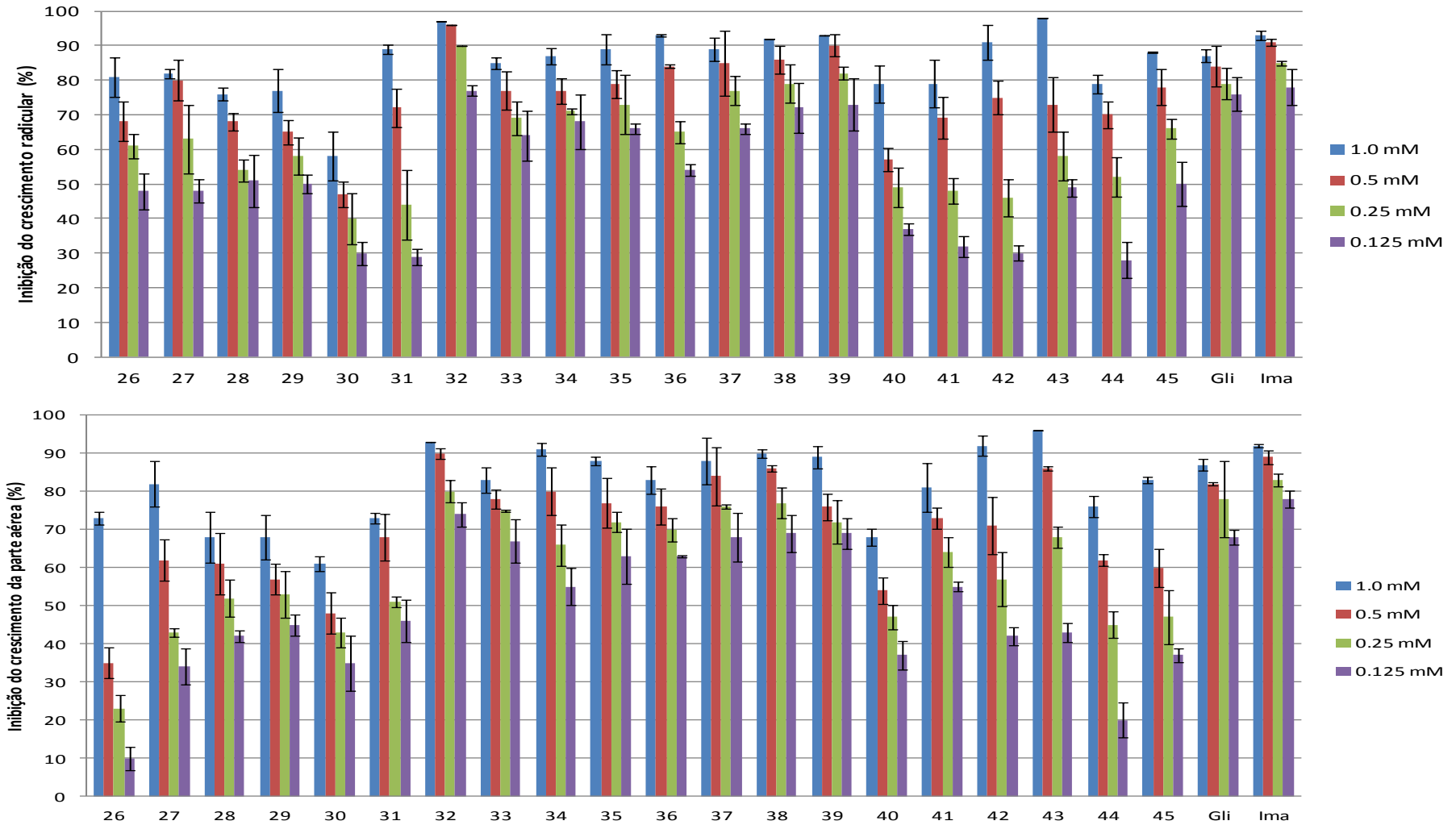


Figura 4. Efeitos dos compostos **26-45** e herbicidas no crescimento radicular e parte aérea em plântulas de sorgo

Analisando os dados presentes nas Figuras 3 e 4 e nas Tabelas 1 e 2 (anexo II, páginas 224 e 225, respectivamente), que apresentam os comprimentos das radículas e da parte aérea das espécies testadas, bem como, o desvio padrão e a porcentagem de inibição do crescimento, podemos destacar de maneira geral que os compostos testados apresentaram resultados satisfatórios no sentido de inibir o crescimento de plântulas tanto de pepino, quanto de sorgo, especialmente à concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , no qual a maioria dos tetraoxanos foram mais ativos que os herbicidas utilizados no ensaio. Outro ponto a ressaltar é que os compostos foram mais ativos em inibir o crescimento de plântulas de sorgo em relação a pepino, sugerindo seletividade no combate as plantas daninhas. É importante também salientar a confiabilidade e consistência dos resultados obtidos, nos quais à medida que a concentração da solução utilizada diminuía, o efeito inibitório diminuía indistintamente.

Devido à grande quantidade de resultados obtidos, uma análise numérica simples é insuficiente para estabelecer uma base precisa de correlação no experimento. Foi realizada uma análise estatística dos dados obtidos, que forneceu o agrupamento dos compostos de acordo com a sua similaridade no tocante à fitotoxicidade. Essa análise permitiu identificar com maior confiabilidade os compostos mais ativos entre si e também com maior atividade em relação aos herbicidas.

Nesse sentido, foi realizada análise de *Cluster*, incluindo como dados de entrada para a análise os resultados da inibição do crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de pepino e sorgo provocadas pela ação dos compostos sintetizados, além do *glyphosate* e *imazethapyr*, nas quatro concentrações anteriormente descritas. O resultado desta análise de *Cluster* está mostrado na forma de gráfico de barras horizontal na Figura 5.

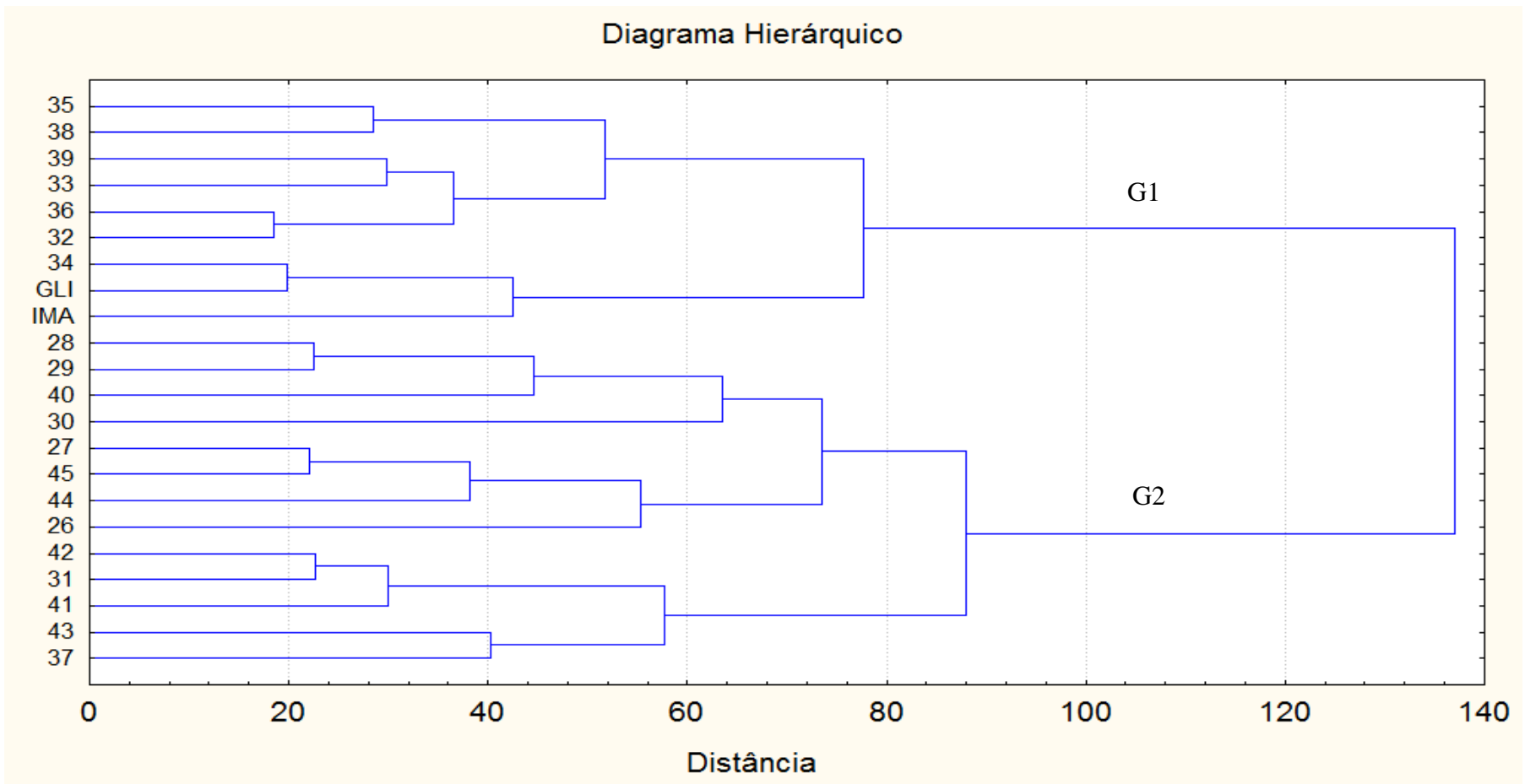


Figura 5. A análise de *Cluster* para os tetraoxanos e herbicidas em relação ao efeito de inibição de crescimento em plântulas de *S. bicolor* e *C. sativus* (efeitos sobre a parte radicular e aérea nas quatro concentrações testadas)

A análise de *Cluster* para este ensaio biológico pode ser dividida em dois grandes grupos principais (G1 e G2), de acordo com a atividade fitotóxica dos compostos. O grupo G1 refere-se aos compostos com elevado efeito fitotóxico e o grupo G2 aos compostos com efeitos moderados. O grupo G1 é formado pelos herbicidas *glyphosate* e *imazethapyr* e sete tetraoxanos (**32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38** e **39**), com efeito inibitório semelhante ou superior aos herbicidas, que foram selecionados para dar prosseguimento aos ensaios biológicos com utilização de plantas daninhas em casa de vegetação.

Uma outra análise de *Cluster* foi realizada, a título de comparação, na qual analisamos apenas o efeito inibitório dos compostos e herbicidas na concentração mais baixa testada ( $0,125 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) novamente em relação a parte aérea e radicular de plântulas de sorgo e pepino e como mostra a Figura 6. Surpreendentemente o tetraoxano **[37]** que na análise anterior (Figura 5) foi ranqueado em último, ou seja, no somatório geral de fatores, este foi o menos efetivo no tocante a fitotoxicidade e agora, empregando apenas a menor concentração, pois se espera utilizar um potencial herbicida em doses cada vez menores, o composto **[37]** aparece junto aos demais tetraoxanos ativos no grupo G1.

Analisando as estruturas destes tetraoxanos (Figura 2, página 90) mais efetivos percebe-se uma relação direta entre a estrutura e atividade dos mesmos. Tetraoxanos cíclicos com 5, 6, 7 e 8 átomos de carbono (oriundos de cetonas cíclicas com os respectivos números de carbono) e com a presença de anel aromático (oriundo do benzaldeído) foram os compostos que apresentaram resultados de fitotoxicidade similares aos herbicidas (G1) nas duas análises de *Cluster* realizadas, sugerindo uma correlação entre a estrutura química destes compostos e a atividade biológica apresentada.

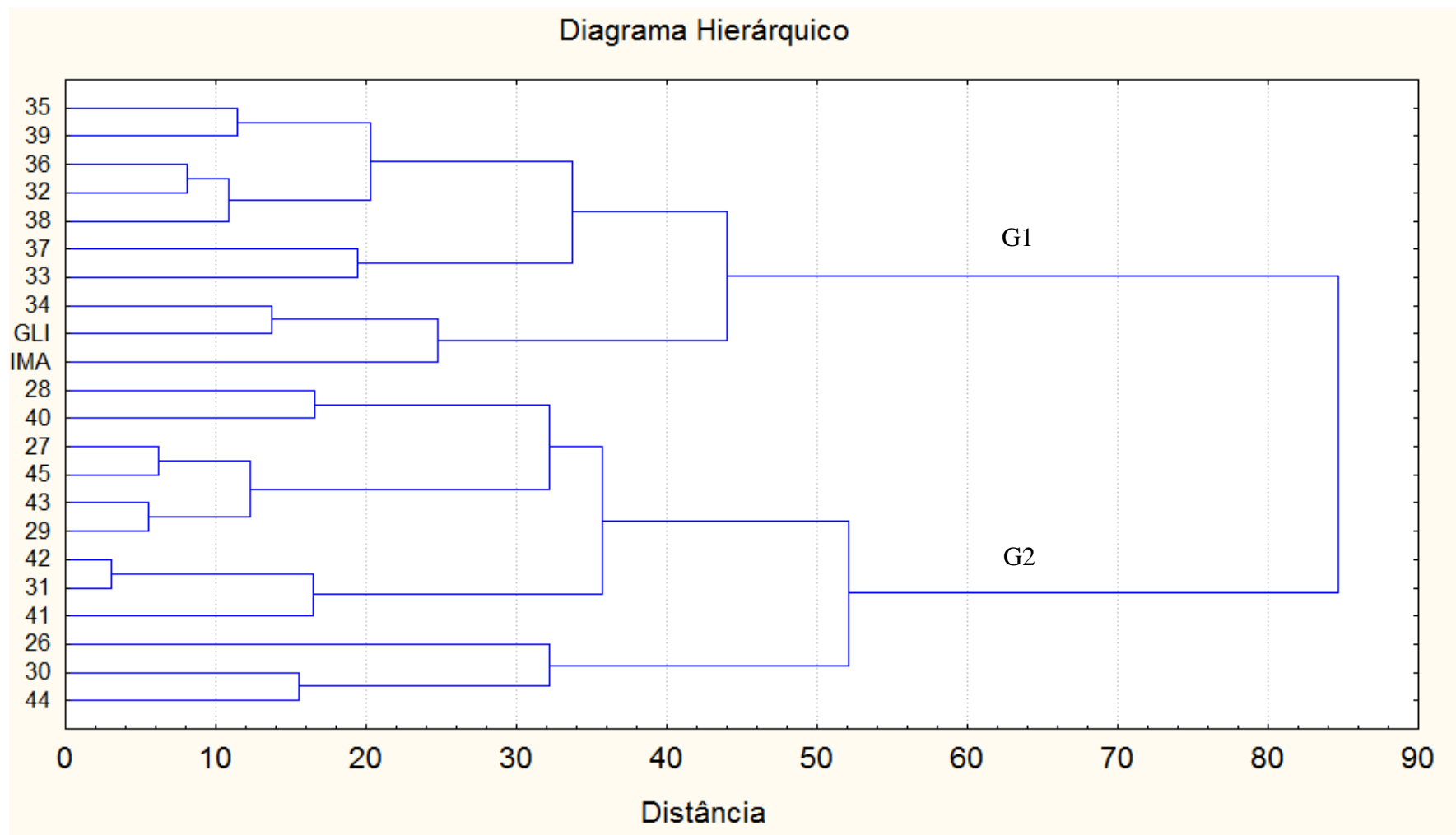


Figura 6. A análise de *Cluster* para os tetraoxanos e herbicidas em relação ao efeito de inibição de crescimento em plântulas de *S. bicolor* e *C. sativus* (efeitos sobre a parte radicular e aérea na menor concentração testada -  $0,125 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ )

#### **2.3.4. Avaliação da atividade herbicida dos compostos 32-36, 38 e 39 sobre a biomassa de raiz e caule em plantas daninhas**

Os sete tetraoxanos selecionados anteriormente tiveram sua atividade fitotóxica avaliada em relação ao desenvolvimento da biomassa de quatro espécies de plantas daninhas: as monocotiledôneas *Brachiaria brizantha* (braquiária), *Sorghum arundinaceum* (falso-massambará) e as dicotiledôneas *Bidens pilosa* (picão-preto), *Euphorbia heterophylla* (leiteiro). Novamente os herbicidas *glyphosate* e *imazethapyr* foram utilizados como controle positivo.

Os testes foram realizados em casa de vegetação e as plantas permaneceram em estufas por 40 dias. As Tabelas 3, 5, 7 e 9 mostram os resultados obtidos para cada espécie separadamente, na qual estão apresentadas as massas (mg) da raiz e caule, bem como a porcentagem de inibição em relação ao controle (solução sem o composto de interesse), além da análise estatística empregada para verificar as diferenças entre cada tratamento em relação ao controle e aos herbicidas.

Realizou-se ainda, avaliações visuais de intoxicação das espécies (notas de fitotoxicidade) após 40 dias de teste, com o uso de uma escala percentual de notas variando entre 0 (zero) e 100 (cem), em que 0 implica ausência de quaisquer injúrias e 100 indica a morte da planta (EWRC, 1964). Essa análise é interessante uma vez que as plantas podem não sofrer diminuição considerável da biomassa, entretanto, podem ocorrer danos perceptíveis importantes nas plantas que devem ser relatados. As Tabelas 4, 6, 8 e 10 mostram os resultados das notas de fitotoxicidade para as espécies de plantas daninhas analisadas.

A Tabela 3 mostra o efeito dos compostos mais ativos e dos herbicidas na biomassa de plantas de *Euphorbia heterophylla* (leiteiro) após 40 dias em casa de vegetação.

Tabela 3. Efeitos dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* no acúmulo de matéria seca (raiz e caule) em plantas de *Euphorbia heterophylla* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Euphorbia heterophylla</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)
<b>32</b>	109,6bB	20,6	54,4aB	32,0	54,8cC	80,1	16,8dC	89,5
<b>33</b>	126,7bB	8,2	50,2aB	37,2	27,4cC	85,1	12,9dC	87,9
<b>34</b>	58,1cB	68,4	47,2bB	55,7	100,9aC	26,9	44,5bC	44,4
<b>35</b>	75,6bB	44,9	19,1bB	76,1	54,8cC	80,1	16,8dC	89,5
<b>36</b>	111,7bB	39,3	41,2bB	61,4	67,5bC	51,1	20,4cC	74,5
<b>38</b>	66,2cB	76,0	36,2bB	77,3	12,2dC	97,8	8,5dC	96,6
<b>39</b>	212,8aB	-54,2	81,7aB	-2,1	139,1aC	2,0	54,8bC	31,4
<b>Gli</b>	43,9cB	68,2	10,6cB	86,7	18,8cC	86,4	5,2dC	93,7
<b>Ima</b>	- <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-
controle	141,0bA	0,0	80,0aA	0,0	141,0aA	0,0	80,0aC	0,0

<sup>a</sup> Médias seguidas de uma mesma letra (coluna – letra minúscula e linhas – letra maiúscula) não diferem estatisticamente uma da outra a 1% de probabilidade pelo teste Scott-Knott. <sup>b</sup> não germinou. CV% (raiz) = 36,98, CV% (caule) = 32,82. Gli = glyphosate e Ima = imazethapyr

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, os compostos **[32]**, **[33]**, **[35]** e **[38]** apresentaram efeito de inibição da biomassa de raiz e caule estatisticamente comparáveis ao herbicida *glyphosate* na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , com valores em torno de 89,5% a 96,6% para raiz e 80,1% a 97,8% para caule. O herbicida *imazethapyr* causou completa inibição das sementes, não havendo inclusive, germinação das mesmas nas duas concentrações testadas.

Na concentração de  $0,25 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  o composto **[38]** inibiu o crescimento de caule e raiz em 76,0% e 77,3%, respectivamente; enquanto que o tetraoxano **[35]** inibiu o crescimento de raiz em 76,1% nessa mesma concentração testada.

A Tabela 4 mostra as notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos mais ativos testados e os herbicidas em plantas de *Euphorbia heterophylla* após 40 dias em casa de vegetação.

Tabela 4. Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* em plantas de *Euphorbia heterophylla* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Euphorbia heterophylla</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>32</b>	0	10	0	0	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>33</b>	0	0	0	0	<b>100</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>60</b>
<b>34</b>	20	10	0	10	60	20	10	0
<b>35</b>	50	60	50	60	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>36</b>	0	0	0	10	20	15	15	10
<b>38</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>39</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Gli</b>	75	70	70	80	100	80	85	90
<b>Ima</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Controle</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

0 implica ausência de quaisquer injúrias e 100 indica a morte da planta. Gli = *glyphosate* e Ima = *imazethapyr*. R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> = repetições

Pela análise da Tabela 4, podemos perceber que **[32]**, **[33]**, **[35]** e **[38]** causaram sérias injúrias nas plantas na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  superiores ao *glyphosate* e similares ao *imazethapyr*. Destaca-se também a morte da planta tratada com o tetraoxano **[38]** na concentração de  $0,25 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em três das quatro repetições.

A Figura 7 mostra o efeito da aplicação em pré-emergência do tetraoxano **[35]** e *glyphosate* em plântulas de *Euphorbia heterophylla* em relação ao controle.



Figura 7. Efeito do composto **[35]** na concentração de 1,0 mM sobre o crescimento de plantas de *Euphorbia heterophylla* após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com *glyphosate* e c) planta tratada com o tetraoxano **[35]**

Percebe-se a completa inibição do crescimento radicular causada pela ação do composto **[35]**. Os tetraoxanos **[36]** e **[38]** causaram efeito similar na planta, incluindo a inibição do crescimento das raízes secundárias, como mostrado na Figura 8. Esses sintomas são característicos de compostos que inibem a formação de micro túbulos durante a divisão celular na fase de prófase, com conseqüente inibição do crescimento radicular e formação de raízes secundárias, enquanto que a ação sobre o desenvolvimento de folhas é menos evidente (CHISTOFFOLETI et al., 2008; OLIVA et al., 2002; ANTHONY e HUSSEY, 1999; VAUGHAN e LEHNEN, 1991).

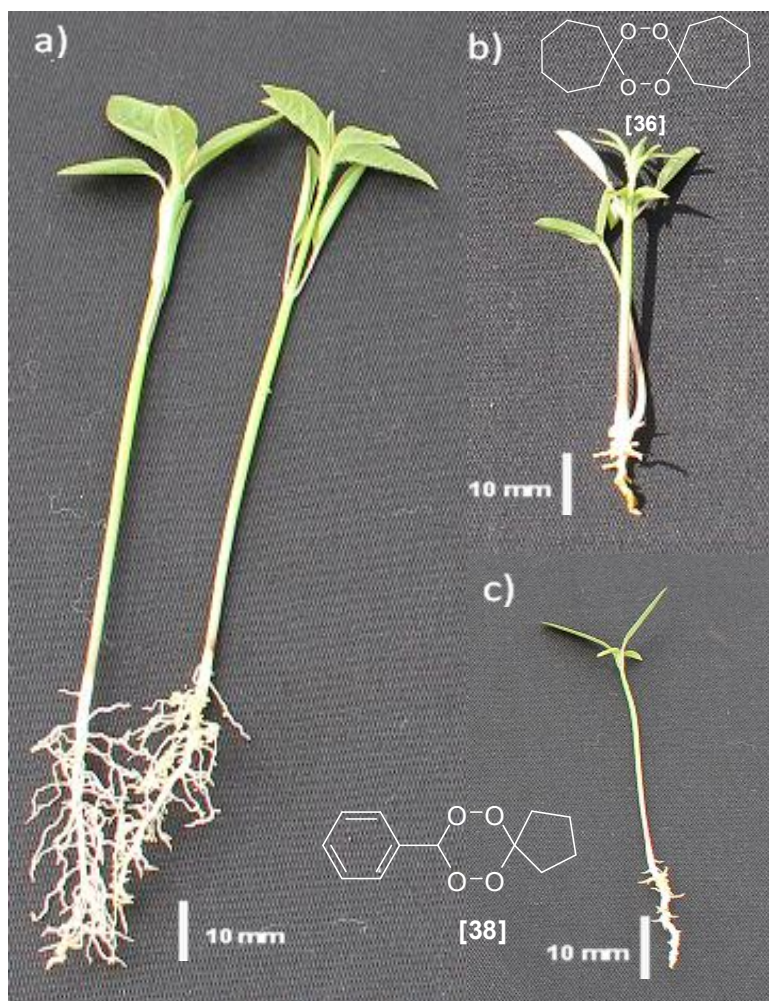


Figura 8. Efeito dos compostos [36] e [38] na concentração de 1,0 mM sobre o crescimento de plantas de *Euphorbia heterophylla* após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o tetraoxano [36] e c) planta tratada com o tetraoxano [38]

A Tabela 5 mostra o efeito dos compostos mais ativos, selecionados nos testes preliminares e dos herbicidas na biomassa de plantas de *Bidens pilosa* (picão-preto) após 40 dias em casa de vegetação.

Tabela 5. Efeitos dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* no acúmulo de matéria seca (raiz e caule) em plantas de *Bidens pilosa* após 40 dias em casa de vegetação cultivados em substrato inerte

<i>Bidens pilosa</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)
<b>32</b>	193,2aB	18,2	75,7cB	64,6	41,0cC	<b>89,2</b>	16,0dC	<b>90,0</b>
<b>33</b>	189,5aB	20,4	215,8aB	-0,8	124,3cC	47,8	232,9bC	-8,8
<b>34</b>	164,9bB	30,7	191,2aB	10,7	102,2cC	52,4	83,2cC	61,1
<b>35</b>	148,8bB	36,9	144,6bB	32,4	158,8bC	32,7	113,2cC	47,1
<b>36</b>	153,8bB	35,4	124,4bB	36,7	150,9bC	36,6	75,1cC	64,9
<b>38</b>	217,9aB	8,4	210,2aB	-1,01	271,4aC	-14,1	290,0aC	-35,5
<b>39</b>	200,1aB	15,9	146,2bB	31,7	252,9aC	-6,3	93,9cC	56,1
<b>Gli</b>	185,2aB	22,2	56,0cB	73,8	13,6dC	<b>94,3</b>	2,6dC	<b>98,2</b>
<b>Ima</b>	- <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-
controle	236,0aA	0,0	208,0aA	0,0	236,0aC	0,0	208,0bC	0,0

<sup>a</sup> Médias seguidas de uma mesma letra (coluna – letra minúscula e linhas – letra maiúscula) não diferem estatisticamente uma da outra a 1% de probabilidade pelo teste Scott-Knott. <sup>b</sup> não germinou. CV% (raiz) = 38,63, CV% (caule) = 34,06. Gli = glyphosate e Ima = imazethapyr

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 5, os compostos não foram tão eficientes, a fim de inibir o crescimento da raiz e caule em plantas de *Bidens pilosa*. O composto **[32]** foi o único que apresentou resultados comparáveis estatisticamente ao *glyphosate* na concentração de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> (89,2% para caule e 90,0% para raiz). A Tabela 6 mostra resultado semelhante no que diz respeito aos sintomas visíveis na planta, no qual somente **[32]** apresentou alguma injúria nas plantas de *B. pilosa*.

Tabela 6. Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* em plantas de *Bidens pilosa* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Bidens pilosa</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>32</b>	0	0	0	0	<b>70</b>	<b>40</b>	<b>100</b>	<b>40</b>
<b>33</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>34</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>35</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>36</b>	0	0	0	0	20	15	15	20
<b>38</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>39</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Gli</b>	0	0	30	30	<b>90</b>	<b>70</b>	<b>85</b>	<b>90</b>
<b>Ima</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Controle</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

0 implica ausência de quaisquer injúrias e 100 indica a morte da planta. Gli = *glyphosate* e Ima = *imazethapyr*. R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> = repetições

A Figura 9 mostra o efeito da aplicação em pré-emergência do tetraoxano [**32**] e *glyphosate* em plantas de *Bidens pilosa* comparado com o controle.

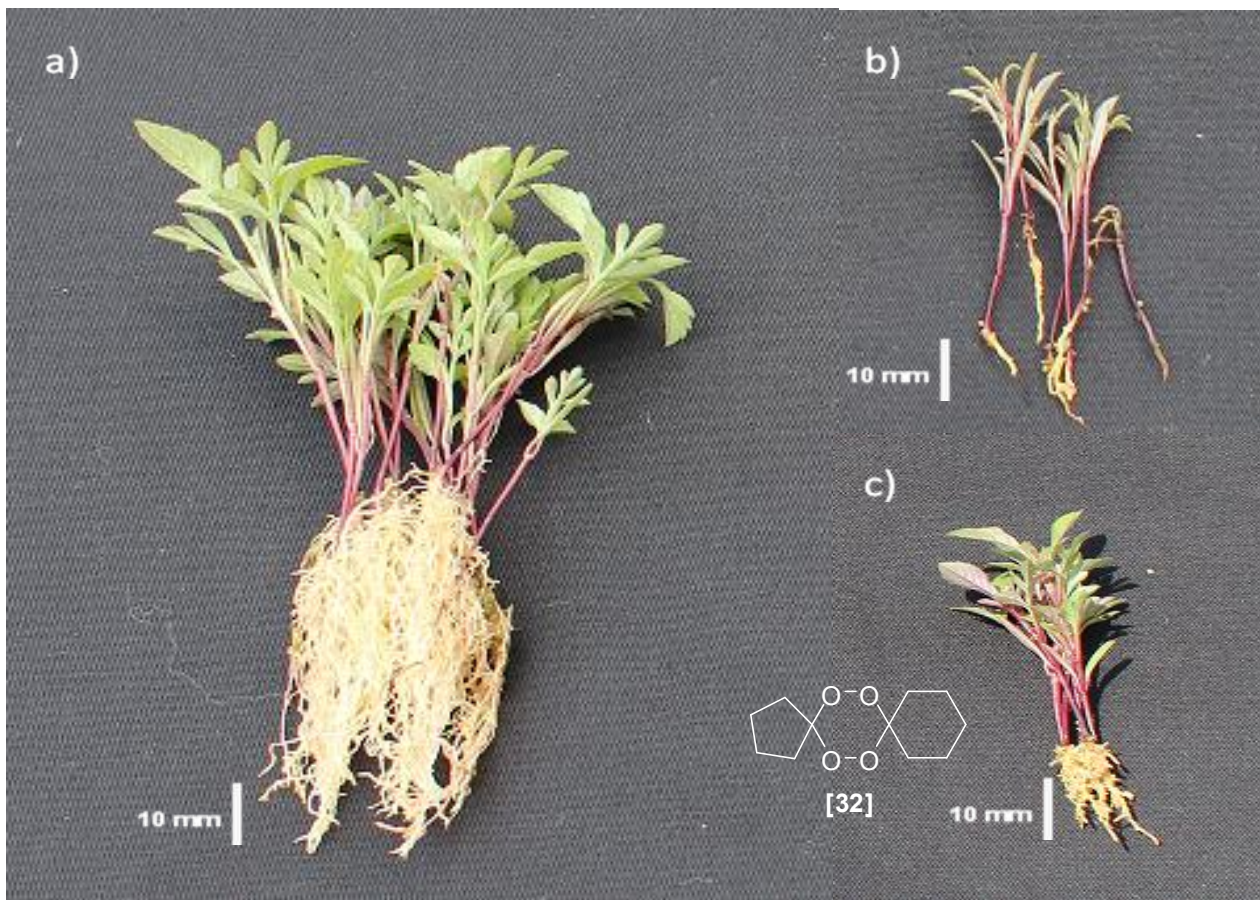


Figura 9. Efeito do composto **[32]** na concentração de 1,0 mM sobre o crescimento de plantas de *Bidens pilosa* após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o *glyphosate* e c) planta tratada com o tetraoxano **[32]**

A Tabela 7 mostra o efeito dos compostos mais ativos, selecionados nos testes preliminares e dos herbicidas na biomassa de plantas de *Sorghum arundinaceum* (falso-massambará) após 40 dias em casa de vegetação.

Tabela 7. Efeitos dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* no acúmulo de matéria seca (raiz e caule) em plantas de *Sorghum arundinaceum* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Sorghum arundinaceum</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)
<b>32</b>	245,1aB	-19,0	655,2bB	-82,0	157,3aC	23,6	235,3bC	34,6
<b>33</b>	160,1bB	22,3	269,2dB	25,2	87,3bC	57,6	178,3cC	50,5
<b>34</b>	142,9bB	30,6	285,5dB	20,7	112,9bC	45,2	120,4cC	66,6
<b>35</b>	158,4bB	23,1	406,8cB	-13,0	156,2aC	19,6	386,4aC	-7,3
<b>36</b>	173,9bB	15,6	380,2dB	-5,6	147,2aC	28,5	281,6bC	21,8
<b>38</b>	229,6aB	-11,5	490,6cB	-36,3	147,4aC	28,5	232,8bC	35,3
<b>39</b>	56,6cB	72,5	108,9eB	79,7	6,95cC	<b>95,5</b>	23,9dC	<b>92,9</b>
<b>Gli</b>	287,1aB	<b>-39,4</b>	760,9aB	<b>-111,4</b>	93,1bC	54,8	147,9cC	52,2
<b>Ima</b>	43,9cB	78,7	10,6eB	97,0	18,8cC	<b>90,9</b>	24,8dC	<b>93,1</b>
controle	201,0bA	0,0	353,0dA	0,0	201,0aA	0,0	353,0bA	0,0

<sup>a</sup> Médias seguidas de uma mesma letra (coluna – letra minúscula e linhas – letra maiúscula) não diferem estatisticamente uma da outra a 1% de probabilidade pelo teste Scott-Knott. CV% (raiz) = 27,78, CV% (caule) = 32,95. Gli = glyphosate e Ima = imazethapyr

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 7, apenas **[39]** mostrou efeito significativo em inibir o crescimento de raiz e caule na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  (92,9% e 95,5%, respectivamente), estatisticamente comparável ao herbicida pós-emergente *imazethapyr* (93,1% e 90,9%, respectivamente).

Entretanto, compostos com atividade inibitória menor, como é o caso dos tetraoxanos **[33]** e **[34]** com inibição de raiz e caule na faixa de 45,2% a 66,6% apresentaram resultados estatisticamente comparáveis ao *glyphosate* (52,2% e 54,8%, respectivamente).

Outro resultado interessante apresentado na Tabela 7 foi com o outro herbicida testado, *glyphosate* (pós-emergente) ao estimular o crescimento radicular na concentração mais baixa testada ( $0,25 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ). Resultados da literatura mostram que o *glyphosate* quando aplicado em doses baixas, tal como no caso acima, podem estimular o crescimento da raiz até seis semanas

após a aplicação (CEDERGREEN, 2008). Esse fenômeno é conhecido como *Hormesis* que é caracterizado por apresentar estímulo de crescimento da planta em baixas doses e inibição da mesma em altas doses (BELZ e CEDERGREEN, 2011; CALABRESE e BLAIN, 2009).

A Tabela 8 mostra os resultados obtidos pela análise visual das injúrias causadas pela aplicação dos tetraoxanos e herbicidas em plantas de *Sorghum arundinaceum* após 40 dias em casa de vegetação.

Tabela 8. Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* em plantas de *Sorghum arundinaceum* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Sorghum arundinaceum</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>32</b>	10	10	10	10	10	10	15	10
<b>33</b>	0	0	10	10	30	30	40	40
<b>34</b>	0	0	0	0	40	15	20	10
<b>35</b>	15	25	25	35	50	60	40	30
<b>36</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>38</b>	0	0	0	0	25	20	10	40
<b>39</b>	<b>60</b>	<b>90</b>	<b>80</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>95</b>	<b>100</b>	<b>95</b>
<b>Gli</b>	10	20	20	30	50	20	60	40
<b>Ima</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Controle</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

0 implica ausência de quaisquer injúrias e 100 indica a morte da planta. Gli = glyphosate e Ima = imazethapyr. R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> = repetições

Destaca-se pela análise da Tabela 8, as injúrias causadas pelo tetraoxano **[39]** em ambas as concentrações testadas, superiores as causadas pelo *glyphosate* e comparáveis ao *imazethapyr*.

A Figura 10 mostra o efeito da aplicação em pré-emergência do tetraoxano **[39]** e *imazethapyr* em plantas de *Sorghum arundinaceum* comparados ao controle.

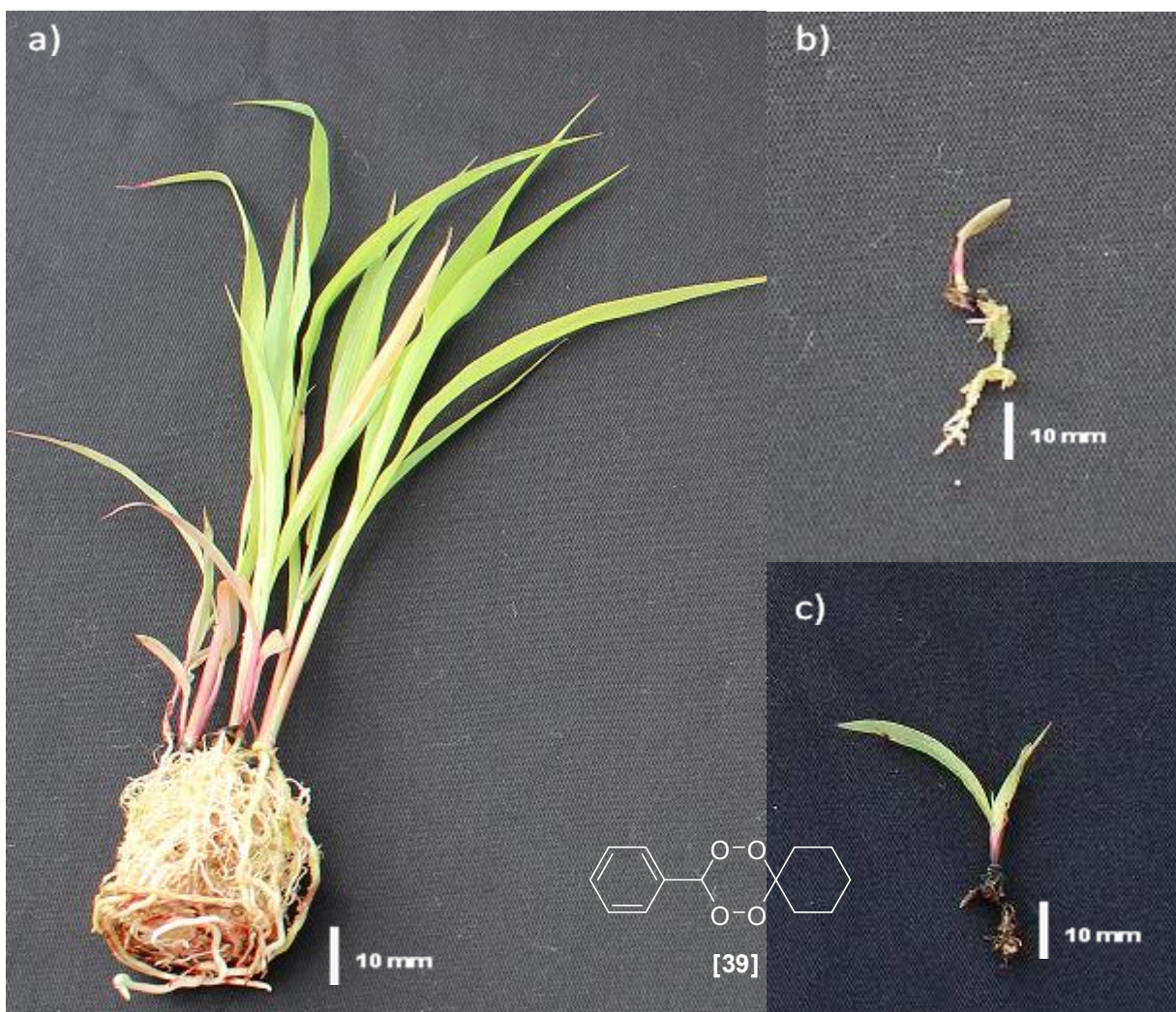


Figura 10. Efeito do composto [39] na concentração de 1,0 mM sobre o crescimento de plantas de *Sorghum arundinaceum* após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o *glyphosate* e c) planta tratada com o tetraoxano [39]

Pela análise da Figura 10 podemos perceber que a inibição do crescimento da raiz e caule causada pelo tetraoxano são comparáveis com o herbicida *imazethapyr*.

Além disso, os compostos [33], [35] e [38] causaram necrose nas raízes das plantas e o composto [38] causou vermelhidão nas folhas, além de inibir o crescimento das raízes secundárias, como mostra a Figura 11. Esses sintomas são característicos de compostos que causam stress em plantas como *S. arundinaceum* (SILVA e SILVA, 2012; CHISTOFFOLETI, *et al.*, 2008).

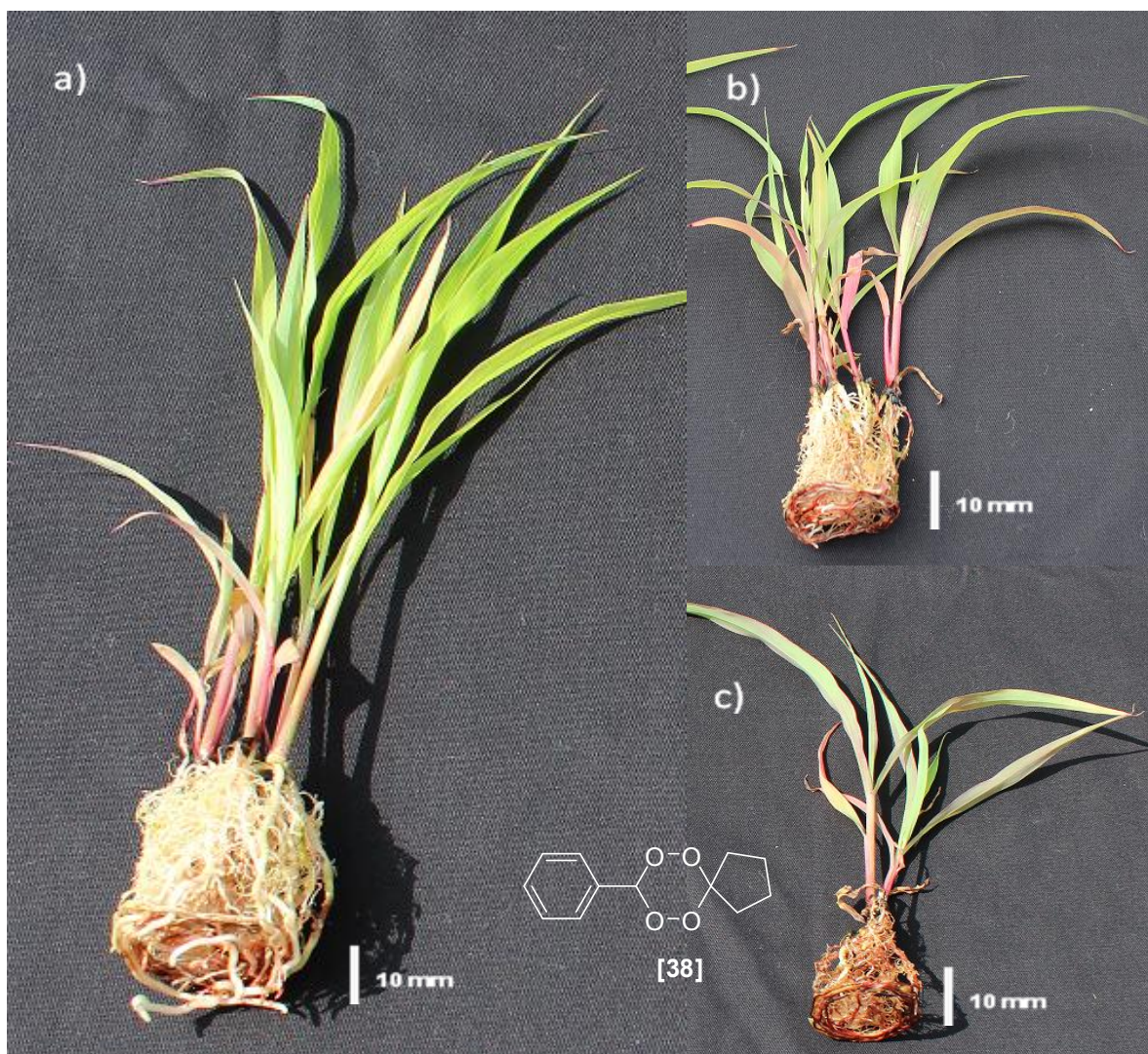


Figura 11. Efeito do composto [38] na concentração de 1,0 mM sobre o crescimento de plantas de *Sorghum arundinaceum* após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o *glyphosate* e c) planta tratada com o tetraoxano [38]

A Tabela 9 mostra o efeito dos compostos mais ativos, selecionados nos testes preliminares e dos herbicidas na biomassa de plantas de *Brachiaria brizantha* (braquiária) após 40 dias em casa de vegetação e a Tabela 10 mostra o resultado dos sintomas visuais que os compostos e os herbicidas causaram nas plantas de *B. brizantha*.

Tabela 9. Efeitos dos compostos **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, *glyphosate* e *imazethapyr* no acúmulo de matéria seca (raiz e caule) em plantas de *Brachiaria brizantha* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Brachiaria brizantha</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Caule (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)	Raiz (mg) <sup>a</sup>	Inibição (%)
<b>32</b>	258,3aB	21,2	437,6aB	41,6	46,9cC	<b>92,8</b>	58,7cC	<b>96,1</b>
<b>33</b>	145,1bB	55,8	394,3aB	47,3	27,8cC	<b>91,5</b>	35,8cC	<b>95,2</b>
<b>34</b>	139,2bB	57,6	308,1aB	58,9	52,9bC	83,9	89,2bC	88,1
<b>35</b>	242,1aB	25,7	464,1aB	38,0	118,3aC	63,7	174,9aC	76,6
<b>36</b>	189,1bB	42,3	385,5aB	48,5	12,0cC	<b>99,1</b>	23,9cC	<b>99,2</b>
<b>38</b>	221,9aB	32,3	424,8aB	44,3	143,1aC	56,4	189,9aC	74,6
<b>39</b>	175,0bB	41,4	347,3aB	53,6	40,9cC	<b>97,5</b>	37,4cC	<b>95,0</b>
<b>Gli</b>	141,9bB	56,7	207,0bB	72,4	13,6cC	<b>96,9</b>	30,3cC	<b>97,0</b>
<b>Ima</b>	- <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-
controle	329,0aA	0,0	749,0aA	0,0	329,0aA	0,0	749,0aA	0,0

<sup>a</sup> Médias seguidas de uma mesma letra (coluna – letra minúscula e linhas – letra maiúscula) não diferem estatisticamente uma da outra a 1% de probabilidade pelo teste Scott-Knott. <sup>b</sup> não germinou. CV% (raiz) = 21,19, CV% (caule) = 38,43. Gli = glyphosate e Ima = imazethapyr

Tabela 10. Notas de fitotoxicidade do efeito dos compostos **32, 33, 34, 35, 36, 38, 39**, *glyphosate* e *imazethapyr* em plantas de *Brachiaria brizantha* após 40 dias em casa de vegetação cultivadas em substrato inerte

<i>Brachiaria brizantha</i>								
Composto	0,25 mM				1,0 mM			
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>32</b>	10	10	10	10	25	25	100	100
<b>33</b>	10	10	15	15	70	80	70	100
<b>34</b>	15	10	30	25	60	60	60	70
<b>35</b>	0	0	0	0	10	15	5	10
<b>36</b>	15	20	15	20	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>38</b>	0	0	0	0	10	10	15	50
<b>39</b>	10	10	20	10	<b>90</b>	<b>90</b>	<b>90</b>	<b>80</b>
<b>Gli</b>	10	5	25	50	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>90</b>	<b>95</b>
<b>Ima</b>	100	100	100	100	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Controle</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

0 implica ausência de quaisquer injúrias e 100 indica a morte da planta, Gli = *glyphosate* e Ima = *imazethapyr*. R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> = repetições

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 9, o herbicida *imazethapyr* causou completa inibição na germinação das sementes de *B. brizantha*, enquanto que o *glyphosate* causou inibição em torno de 97%.

Os compostos **[32]**, **[33]**, **[36]** e **[39]** apresentaram resultados de inibição tanto de caule quanto de raiz estatisticamente comparáveis ao herbicida *glyphosate* na concentração de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>, com valores variando na faixa de 91,5% a 99,1%. Na concentração de  $0,25 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> os compostos **[33]** e **[34]** foram os mais ativos com valores de inibição em torno de 50%.

Os sintomas causados pela aplicação dos compostos foram mais visíveis nas plantas em que aplicou-se os tetraoxanos **[36]** e **[39]**, além dos dois herbicidas (Tabela 10).

A Figura 12 mostra o efeito da aplicação em pré-emergência de tetraoxano **[39]** e *glyphosate* em plantas de *Brachiaria brizantha* comparados com o controle.

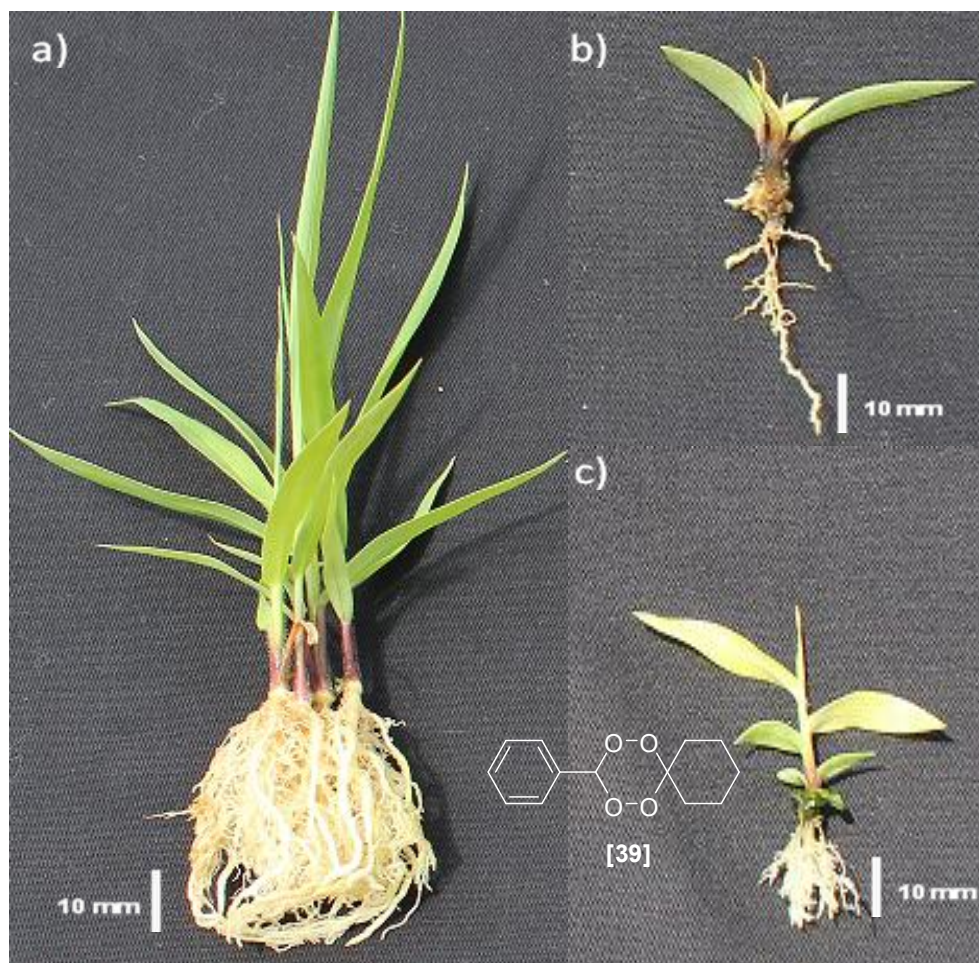


Figura 12. Efeito do composto [39] na concentração de 1,0 mM sobre o crescimento de plantas de *Brachiaria brizantha* após 40 dias em casa de vegetação. a) controle, b) planta tratada com o *glyphosate* e c) planta tratada com o tetraoxano [39]

Podemos perceber pela análise da Figura 12 que a inibição do crescimento de raiz e caule provocada pela ação do tetraoxano [39] são comparáveis ao herbicida *glyphosate*, além disso, percebe-se que a planta na qual foi aplicado [39] apresentou amarelecimento das folhas.

## 2.4. Conclusões

Os vinte 1,2,4,5-tetraoxanos sintetizados foram avaliados com respeito à sua capacidade de inibir o crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de pepino e sorgo. Todos apresentaram resultados satisfatórios no tocante a fitotoxicidade e sete destes foram mais ativos, com resultados estatisticamente comparáveis aos herbicidas comerciais *glyphosate* e *imazethapyr*.

Nesse sentido, os sete tetraoxanos mais ativos, que apresentavam em sua estrutura anel cíclico com 5, 6, 7 e 8 átomos de carbono (oriundos de cetonas cíclicas) e também a presença de anel aromático (oriundo do benzaldeído), sugerindo correlação estrutura-atividade, foram avaliados com respeito à sua capacidade em inibir o crescimento da biomassa de raiz e de caule em plantas daninhas (picão-preto, falso-massambará, braquiária e leiteiro), além da avaliação visual dos sintomas causados pelos compostos nas plantas.

Os resultados obtidos mostraram que de maneira geral, os compostos foram mais ativos em plantas monocotiledôneas, demonstrando seletividade para essa classe de compostos.

Destaca-se nos compostos testados, o tetraoxano [39], que apresentou resultados de inibição do crescimento da biomassa na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , superiores aos herbicidas utilizados no teste, além de apresentar sintomas visíveis nas plantas como amarelecimento das folhas e necrose das raízes.

## CAPÍTULO 3

### ESTUDO TÉORICO DE NOVOS 1,2,4,5-TETRAOXANOS

#### 3.1. Introdução

##### 3.1.1. Estudo das Relações Quantitativas Estrutura-Atividade de Compostos Bioativos: QSAR

As pesquisas na área de QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationships*) têm como principal objetivo a construção de modelos matemáticos que relacionem a estrutura química e a atividade biológica de uma série de compostos análogos. Em geral, esses compostos diferem entre si pela presença de um ou mais grupos substituintes em posições definidas da estrutura química comum da série. A construção dos modelos requer a elaboração de um conjunto ou matriz de dados contendo a medida quantitativa da atividade biológica e os parâmetros físico-químicos e estruturais capazes de descrever as propriedades dos compostos (FERREIRA *et al.*, 2002).

O estudo quantitativo da relação estrutura-atividade (QSAR) estabelece uma relação matemática, sob a forma de uma equação, entre a atividade biológica e os parâmetros físico-químicos mensuráveis que influenciam a atividade biológica de uma classe de compostos (NETO *et al.*, 2006).

Nos últimos 40 anos vêm sendo desenvolvidos estudos de QSAR, sendo descritos na literatura inúmeros trabalhos aplicados na área de agroquímicos, fármacos e estudos de toxicologia (SELASSIE, 2003).

A descrição quantitativa das relações existentes entre a estrutura química de moléculas e a atividade biológica das mesmas, permite determinar as propriedades físico-químicas desejadas na obtenção de moléculas potencialmente mais ativas e planejar a síntese dessas novas substâncias.

O estudo de QSAR iniciou-se há mais de um século atrás, em 1870, quando Crum-Brown e Fraser propuseram que a resposta biológica de uma determinada substância estava em função da sua estrutura química.

Contudo, grandes avanços na área de QSAR ocorreram a partir de um trabalho publicado em 1964 por Hansch e Fujita. Neste estudo, as relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica foram expressas pela Equação 1, que é atualmente conhecida como *Análise de Hansch* (SELASSIE, 2003).

$$\text{Log } 1/C = a \text{ Log } P + \rho\sigma + b \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde:

C = concentração molar que produz determinado efeito biológico;

Log 1/C = a atividade biológica;

Log P = logaritmo do coeficiente de partição;

$\sigma$  = constante de grupo;

a,  $\rho$  e b = são coeficientes determinados pela análise de regressão para o conjunto de dados.

O próprio Hansch, revendo seus estudos, propôs a extensão do modelo linear, Equação 1, para o modelo parabólico, Equação 2, pela introdução do termo quadrático relacionado à hidrofobicidade. A idéia envolvida na concepção deste modelo é que a atividade biológica depende linearmente das propriedades físico-químicas somente dentro de certos limites e, por outro lado, moléculas muito hidrofílicas não são capazes de atravessar barreiras muito hidrofóbicas ou vice-versa. Assim, considerando a farmacocinética (dinâmica da absorção, distribuição e eliminação das drogas), este modelo estaria mais próximo do que ocorre na biofase, expressando mais adequadamente o crescimento da atividade biológica com a hidrofobicidade até um máximo, a partir do qual, com o aumento desta propriedade, a atividade biológica tende a decrescer, descrevendo o perfil parabólico da curva (TAVARES, 2004).

$$\text{Log } 1/C = a (\text{Log}P)^2 + b \text{ Log } P + \rho\sigma + c \quad \text{(Equação 2)}$$

A análise de *Hansch/Fujita* se aplica em estudos de séries de compostos que apresentam estruturas químicas similares, sendo que, em linhas gerais, tais estruturas diferem entre si por variações de grupos substituintes em posições definidas (MASUNARI e TAVARES, 2006) ou ainda, variação do tamanho da cadeia carbônica. Conforme mencionado anteriormente, a resposta biológica está intrinsecamente relacionada às propriedades físico-químicas dos compostos, sendo as mais importantes a distribuição eletrônica, a hidrofobicidade e a estereoquímica das substâncias sob investigação.

### **3.1.1.1. Modelagem Molecular**

A necessidade de representar a estrutura da matéria no nível molecular levou ao desenvolvimento de uma nova área de pesquisa dentro da física e da química, conhecida como modelagem molecular. O reconhecimento desta nova área de pesquisa pelo mundo científico veio com o prêmio Nobel em Química em 1998 concedido a John Pople e Walter Kohn, pelas contribuições no desenvolvimento da química computacional e modelagem molecular (SANTOS, 2001).

A modelagem molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição e visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos. Estas ferramentas podem ser aplicadas, por exemplo, em estratégias de modelagem direta e indireta de novos fármacos e agroquímicos. Na primeira aproximação, faz-se o ajuste da substância bioativa a uma estrutura conhecida do receptor, por exemplo, através de dados de cristalografia de raios-X ou de ressonância magnética nuclear (RMN). Na segunda aproximação, faz-se a análise comparativa das estruturas de moléculas bioativas e de moléculas inativas ao nível de um determinado bioreceptor, utilizando-se o conceito de complementaridade para o desenvolvimento de um modelo topográfico (BARREIRO e RODRIGUES, 1997).

O grande desenvolvimento da modelagem molecular deveu-se, em grande parte, aos avanços dos recursos computacionais em termos de

*hardware* (velocidade de cálculo) e *software* (programas de modelagem molecular) (RODRIGUES, 2001).

A modelagem molecular permite a obtenção de propriedades específicas de uma molécula, como por exemplo, o mapa de potencial eletrostático, o contorno da densidade eletrônica, a energia e os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e do LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) etc. Uma maior energia do HOMO está correlacionada com uma maior probabilidade de doar elétrons, enquanto que uma menor energia do LUMO está relacionada a uma maior facilidade em aceitar elétrons (BARREIRO e RODRIGUES, 1997).

A modelagem molecular também permite a visualização tridimensional (3D) do complexo substância bioativa-receptor, e fornece informações sobre os requisitos estruturais essenciais que permitem uma interação adequada no seu sítio receptor. Esta ferramenta também tem o potencial de planejar, teoricamente, novas moléculas que satisfaçam as propriedades eletrônicas e estruturais para um perfeito encaixe no sítio receptor (RODRIGUES, 2001).

A maioria dos programas de modelagem molecular é capaz de desenhar a estrutura molecular e realizar os cálculos de otimização geométrica e estudos de análise conformacional (RODRIGUES, 2001).

### **3.1.1.2. Software CODESSA e Estudos de QSAR/QSPR**

Desde os estudos pioneiros de Hansch e Fujita na área de QSAR, várias abordagens foram desenvolvidas para o entendimento da correlação estrutura de compostos bioativos-atividade biológica. Dentre estas diferentes abordagens, menciona-se a utilização do *software* CODESSA (COMprehensive DEscriptores for Structural and Statistical Analysis). Desenvolvido graças a uma colaboração entre os grupos de pesquisa do Center of Heterocyclic Chemistry (coordenado pelo Dr. Alan Katritzky, University of Florida, Estados Unidos) e do Institute of Chemical Physics (coordenado pelo Dr. Mati Karelson, University of Turta, Estônia), este *software* vem sendo amplamente utilizado em estudos de correlação quantitativa estrutura-atividade (QSAR) e correlação quantitativa entre estrutura-propriedade (QSPR).

O programa CODESSA é capaz de calcular um número relativamente grande de descritores moleculares (acima de 600) para cada um dos compostos envolvidos no estudo de QSAR/QSPR. Tais descritores podem ser classificados como constitucional, topológico, geométrico, eletrostático, químico-quântico e termodinâmico. Os cálculos dos diferentes descritores moleculares são realizados com base nas informações da geometria molecular e funções termodinâmicas obtidas a partir de outro *software* denominado MOPAC (KATRITZKY *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2008).

Os descritores topológicos contêm informação a cerca do número, tipo e conectividade de átomos na molécula, codificam informações a respeito do tamanho, composição e grau de ramificação. Os descritores geométricos são calculados pelas coordenadas atômicas da molécula em 3D, incluem dentre eles o momento de inércia, volume molecular, área superficial da molécula e índices gravitacionais. Os descritores eletrônicos atribuem os aspectos eletrônicos das estruturas e refletem as características de distribuição de cargas na molécula. Os descritores químico-quânticos incluem informações de energias de ligação e formação, cargas atômicas parciais, momento de dipolo e níveis de energia de orbitais moleculares HOMO e LUMO (XIA *et al.*, 2008).

Uma etapa chave no desenvolvimento de um modelo matemático QSAR consiste na otimização das diferentes geometrias moleculares (análise conformacional) dos compostos investigados. Considerando-se o *software* CODESSA (KATRITZKY *et al.*, 2004a), este processo de otimização pode ser inicialmente feito via cálculos semi-empíricos AM1 (Austin Method 1) (DEWAR *et al.*, 1985). Uma vez que o *software* CODESSA utiliza como *input*, dados do *software* MOPAC, os resultados dos cálculos semi-empíricos AM1 devem ser carregados para este último *software* que realiza uma série de cálculos quanto-mecânicos. As informações referentes às geometrias e dados quanto-mecânicos assim obtidos são, então, usados como *input* no *software* CODESSA (LILL, 2007) para o cálculo de diversos descritores moleculares. De posse dos descritores, métodos de regressão linear são aplicados visando a obtenção de um modelo matemático que melhor descreva a correlação estrutura-atividade.

### 3.1.2. Estudo de propriedades teóricas para obter novos herbicidas

Tradicionalmente, o grande desafio para a descoberta de novas drogas era sintetizar novas estruturas com potencial elevado para um alvo específico. Em ajuda a esse desafio, duas técnicas complementares surgiram no início dos anos 1990, a química combinatória e o *high-throughput screening* (HTS), que revolucionaram a maneira de descobrir novas drogas (SENECI e MIERTUS, 2000).

A química combinatória permite a síntese de um grande número de moléculas em um espaço de tempo reduzido, enquanto que o HTS torna possível rastrear esses compostos sintetizados contra uma série de alvos específicos (SENECI e MIERTUS, 2000).

Entretanto, estudos mostravam que os compostos mais ativos contra um determinado alvo eram inadequados para posterior otimização no sentido de tornar-se um fármaco, pois suas propriedades inerentes, como tamanho, disponibilidade para uso oral e permeabilidade estavam fora do ideal para um potencial fármaco.

No sentido de resolver esse problema, LIPINSKI e colaboradores (1997) publicaram os parâmetros estruturais e físico-químicos necessários a uma nova molécula para se tornar um fármaco. Essa proposta ficou conhecida como “regra dos 5” de Lipinski, cujas principais propriedades eram: massa molecular (MW) menor ou igual a 500 Da, logaritmo do coeficiente de partição octanol/água ( $\text{Log } P_{\text{octanol}}$ ) menor ou igual a 5, número de átomos na molécula capazes de receber hidrogênio em uma ligação de hidrogênio, ou seja, flúor, oxigênio e nitrogênio com par de elétrons livres, menor ou igual a 10 e número de átomos na molécula com hidrogênio realizando ligação de hidrogênio menor ou igual a 5. Esses parâmetros foram escolhidos por melhor representarem características essenciais em qualquer fármaco: Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade - ADMET (LIPINSKI *et al.*, 1997).

Comparativamente, as características necessárias a um fármaco são diferentes para um pesticida, como por exemplo, os pesticidas são aplicados ao ar livre, enquanto que os fármacos não. Assim, a fotoestabilidade nos pesticidas é um parâmetro importante que necessita ser otimizado em uma molécula, caso ela se torne um potencial agroquímico. Outra característica

inerente aos pesticidas que não é observado nos fármacos, é que os primeiros são aplicados na superfície de folhas (plantas daninhas ou culturas) e para serem absorvidos é necessário que atravessem a parede celular que é composta basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e pectina. Em contrapartida, os humanos não possuem parede celular, então para os fármacos serem absorvidos necessitam penetrar apenas na parede digestiva se forem administrados via oral ou atravessar a pele se forem aplicados via epiderme (HAO *et al.*, 2011).

Além disso, os principais pesticidas: herbicidas, inseticidas e fungicidas, obviamente controlam espécies totalmente diferentes de plantas e animais com características de absorção igualmente diferentes. Desse modo, o estudo das principais propriedades que uma nova molécula deve apresentar para se tornar um pesticida, fazendo alusão a “regra dos 5” de Lipinski se tornou muito difícil.

Recentemente HAO e colaboradores (2011), aplicando conhecimentos computacionais às tentativas sem sucesso de TICE (2002) que utilizou parâmetros de área de superfície e CLARKE e DELANEY (2003) que estudaram parâmetros físico-químicos e moleculares de agroquímicos; conseguiram estabelecer parâmetros básicos para os pesticidas assim como já existiam para os fármacos, concluindo as cinco propriedades que uma molécula deve apresentar para se tornar um novo pesticida, levando em consideração todas as particularidades que um pesticida deve apresentar como o potencial efeito do composto somente depois de penetrar na planta alvo, tensão superficial entre herbicida e a superfície da folha e a lipofilicidade do composto ao penetrar na cutícula da planta, bem como, na bicamada lipídica das células (HAO *et al.*, 2011).

No caso dos herbicidas, interesse deste trabalho, os parâmetros a serem analisados são: massa molecular (MW), logaritmo do coeficiente de partição octanol/água calculado ( $ClogP$ ), número médio de átomos na molécula capazes de receber hidrogênio em uma ligação de hidrogênio, ou seja, flúor, oxigênio e nitrogênio com par de elétrons livres (nON), número médio de átomos na molécula com hidrogênio realizando ligação de hidrogênio (nOHNH) e número médio de ligações rotacionais na molécula (nrotb).

## 3.2. Material e Métodos

### 3.2.1. Cálculo do valor de EC<sub>50</sub>

Os valores de EC<sub>50</sub> foram obtidos após o ajuste dos dados a uma concentração de fitotoxicidade (escala logarítmica), em uma curva dose-resposta sigmoideal, definida pela equação:

$$Y = Y_{\min} + \frac{Y_{\max} - Y_{\min}}{1 + 10^{\log EC_{50} - X}}$$

Onde:

X indica o logaritmo da concentração,

Y indica a resposta (atividade) e

Y<sub>max</sub> e Y<sub>min</sub> são os valores máximos e mínimos da resposta, respectivamente.

O ajustamento dos dados e r<sup>2</sup> foram obtidos utilizando o *software* GraphPad PRISM versão 4.0 (2003).

### 3.2.2. Cálculos semi-empíricos e estudo de QSAR

O estudo de QSAR foi realizado com os vinte tetraoxanos sintetizados (Figura 1, página 125) e contou com a colaboração do Professor José Walkimar de Mesquita Carneiro da Universidade Federal Fluminense (Niterói, Rio de Janeiro).

O *software* SPARTAN'06 (2011) foi utilizado para o “desenho” das estruturas moleculares e para a realização da análise conformacional dos tetraoxanos, usando a sub-rotina *conformer distribution*. Nesta etapa foram determinadas as conformações de menor energia, que foram empregadas na “criação” dos *inputs* para os demais cálculos computacionais (BARBOSA *et al.*, 2012).

Com o programa MOPAC (OPENMOPAC, 2013) foram realizados os cálculos semi-empíricos, fazendo uso das seguintes *key words* para o cálculo de otimização de geometria: AM1, PRECISE, XYZ, EF, ENPART, VECTORS,

BONDS, PI e POLAR. Para o cálculo das funções termodinâmicas foi empregado o seguinte conjunto de *key words*: AM1, PRECISE, THERMO, ROT=1 e XYZ. Estes cálculos forneceram os valores de propriedades moleculares necessários para o estudo de QSAR (BARBOSA *et al.*, 2012).

O procedimento para obtenção dos modelos matemáticos no estudo de QSAR foi realizado com a utilização do pacote CODESSA (SEMICHEM, 2013) para o cálculo dos descritores moleculares, sendo utilizados como dados de entrada os parâmetros obtidos com o MOPAC. Centenas de descritores moleculares foram calculados e, de posse também dos valores de EC<sub>50</sub> dos compostos, foi construída a matriz de dados para a execução dos procedimentos de regressão linear (KATRITSKY *et al.*, 2004b). O método Heurístico foi empregado na pré-seleção dos descritores para a construção dos modelos lineares, sendo empregados os seguintes parâmetros na construção dos modelos:

Número máximo de descritores por modelo: 1

Critério de significância do parâmetro: 0,01

Nível de alta correlação: 0,99

Nível de inter-correlação significativa: 0,8

Este método, além de fornecer uma boa estimativa da qualidade da correlação dos dados, deriva diversos modelos de regressão, indicando aqueles que apresentam maior significância estatística (XIA *et al.*, 2008).

### **3.2.3. Cálculo das propriedades teóricas**

Os vinte tetraoxanos sintetizados, juntamente com os herbicidas comerciais *glyphosate* e *imazethapyr* tiveram suas propriedades teóricas que predizem se poderão ser potenciais herbicidas calculadas através do programa Molinspiration (2013).

De acordo com os estudos de HAO e colaboradores (2011) um potencial herbicida deve apresentar peso molecular (MW) entre 150 e 500 Da; coeficiente de partição octanol/água calculado (Clog*P*) entre 0,2 e 6,0; número médio de átomos na molécula capazes de receber hidrogênio em uma ligação

de hidrogênio (nON), aproximadamente a 4,3; enquanto que o número médio de átomos na molécula com hidrogênio realizando ligação de hidrogênio (nOHNH), aproximadamente a 1,1 e o número médio de ligações rotacionais na molécula (nrotb), aproximadamente a 4,1.

### **3.3. Resultados e Discussão**

#### **3.3.1. Cálculo do valor de EC<sub>50</sub>**

Para a obtenção de modelos de QSAR dos tetraoxanos sintetizados (Figura 1, página 125), calculou-se inicialmente os valores de EC<sub>50</sub> a partir dos resultados obtidos nos ensaios biológicos com *Sorghum bicolor* (sorgo) e *Cucumis sativus* (pepino) (Capítulo 2). O valor do EC<sub>50</sub> refere-se a concentração mínima estimada que provoca inibição do crescimento das plantas em 50% para cada composto. Este parâmetro além de ser utilizado nos estudos de QSAR, é importante, pois prevê a fitotoxicidade dos produtos sintetizados, ajudando a dirigir a síntese de novos compostos que possam apresentar valores ainda menores de inibição.

O bom ajuste da curva é descrito pelo coeficiente de determinação,  $r^2$  (MACÍAS *et al.*, 2009) e a Tabela 1, página 126 mostra os resultados de EC<sub>50</sub> obtidos para os vinte tetraoxanos e os dois herbicidas utilizados ao longo de todos os ensaios biológicos em plântulas de pepino e sorgo.

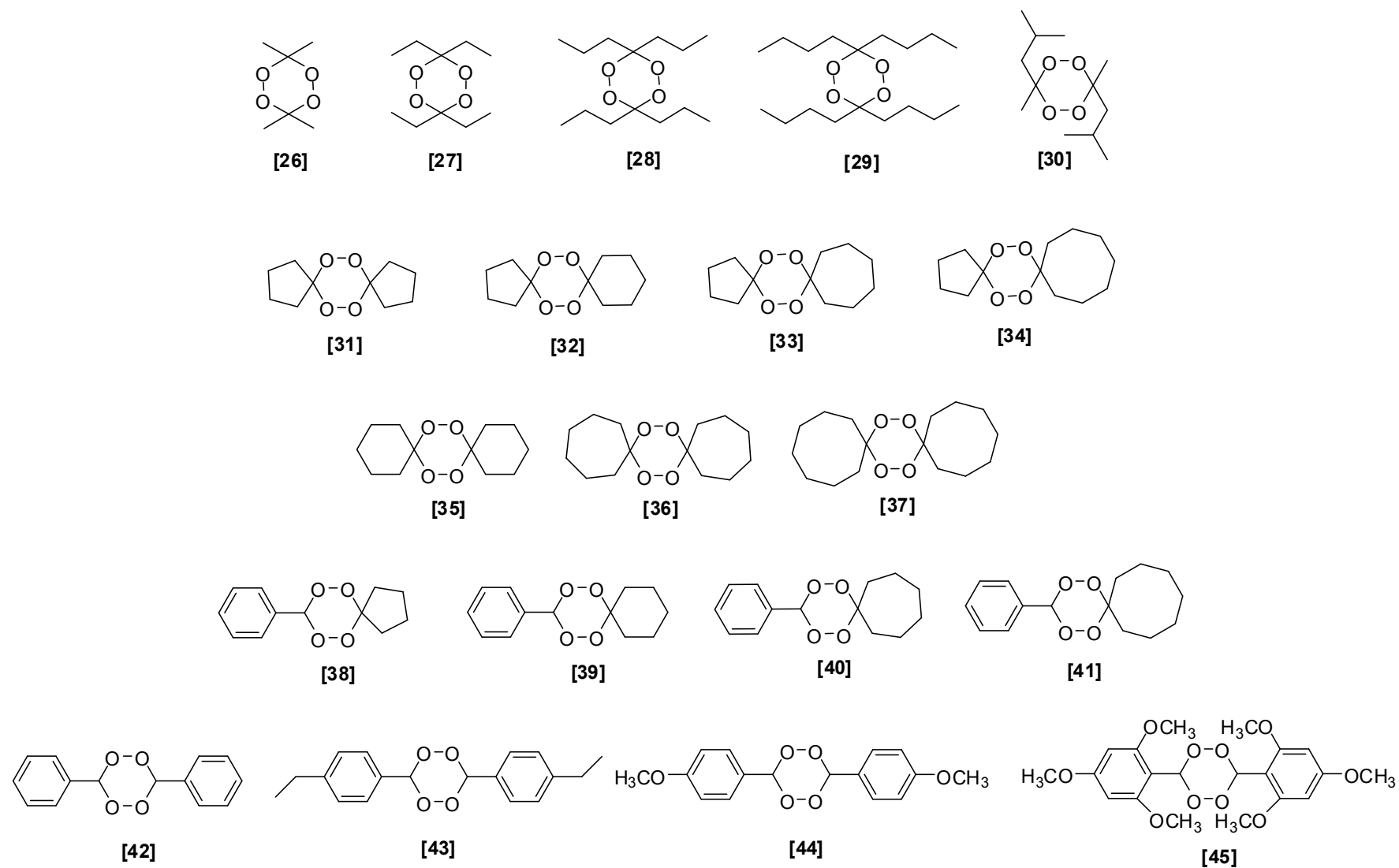


Figura 1. Estrutura dos tetraoxanos sintetizados

Tabela 1. Valores calculados de EC<sub>50</sub> para os tetraoxanos **26-45**, *glyphosate* e *imazethapyr* em plântulas de *C. sativus* (pepino) e *S. bicolor* (sorgo)

Composto	<i>S. bicolor</i>				<i>C. sativus</i>			
	Radícula		Parte aérea		Radícula		Parte aérea	
	EC <sub>50</sub> (µM)	r <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> (µM)	r <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> (µM)	r <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> (µM)	r <sup>2</sup>
<b>26</b>	27,43	0,9817	4,68	0,9923	3,93	0,9875	<b>2,82</b>	0,9943
<b>27</b>	26,08	0,9769	3,26	0,9976	3,43	0,9893	<b>2,61</b>	0,9894
<b>28</b>	28,64	0,9700	2,89	1,0000	<b>2,72</b>	0,9973	<b>2,14</b>	0,9742
<b>29</b>	29,06	0,9934	2,82	0,9738	3,05	0,9995	<b>2,77</b>	0,9878
<b>30</b>	41,12	0,9902	3,45	0,9819	4,10	1,0000	<b>2,86</b>	0,9957
<b>31</b>	36,08	0,9916	2,86	0,9657	3,69	0,9998	<b>2,27</b>	0,9948
<b>32</b>	18,75	0,9933	1,81	0,9794	<b>2,06</b>	0,9982	<b>1,44</b>	0,9856
<b>33</b>	22,84	0,9881	1,89	0,9971	2,98	0,9914	<b>1,94</b>	0,9985
<b>34</b>	17,17	0,9995	<b>1,50</b>	0,9977	2,71	0,9986	<b>2,45</b>	0,9921
<b>35</b>	91,34	0,9894	<b>1,14</b>	0,9790	2,63	0,9788	<b>1,32</b>	0,9656
<b>36</b>	19,55	0,9993	1,67	0,9805	2,41	0,9996	<b>1,67</b>	0,9878
<b>37</b>	19,00	0,9999	2,07	0,9993	3,69	1,0000	<b>1,67</b>	1,0000
<b>38</b>	14,17	0,9999	<b>1,45</b>	0,9950	<b>1,80</b>	0,9932	<b>1,56</b>	0,9897
<b>39</b>	<b>13,26</b>	0,9961	1,62	0,9916	2,82	0,9777	<b>1,86</b>	0,9992
<b>40</b>	35,02	0,9840	3,24	0,9870	2,41	0,9815	<b>1,89</b>	0,9790
<b>41</b>	35,22	0,9936	2,20	0,9999	3,96	0,9987	<b>1,74</b>	0,9944
<b>42</b>	35,14	0,9903	2,65	0,9957	3,81	0,9784	<b>2,08</b>	0,9982
<b>43</b>	26,70	0,9999	2,31	0,9999	3,43	1,0000	<b>2,83</b>	0,9954
<b>44</b>	35,07	0,9994	3,68	0,9988	3,78	0,9952	3,02	0,9812
<b>45</b>	24,39	0,9992	3,13	0,9986	3,36	0,9913	2,89	1,0000
<b>Gli<sup>a</sup></b>	13,94	0,9933	1,48	0,9894	2,39	0,9997	2,86	0,9998
<b>Ima<sup>b</sup></b>	10,82	0,9933	1,08	0,9956	3,82	0,9829	2,94	0,9980

<sup>a</sup> – Gli = glyphosate, <sup>b</sup> – Ima = imazethapyr

Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que o modelo estatístico utilizado foi satisfatório, uma vez que os valores obtidos de r<sup>2</sup> variam de 0,97 a 1,00 e, na grande maioria foram superiores a 0,99, ou seja, mais de 99% dos pontos da curva (valores observados) podem ser explicados pelo modelo estatístico empregado.

Alguns compostos destacam-se nesta análise, pois apresentaram valores menores que os encontrados para os herbicidas comerciais utilizados. Nesse sentido, o tetraoxano **[39]** apresentou valor semelhante ao herbicida *glyphosate* (13.26 µM) para radícula de sorgo, já em relação a parte aérea, três compostos se destacaram, **[34]**, **[35]** e **[38]** com valores 1,50 µM; 1,14 µM e 1,48 µM, respectivamente.

Resultados semelhantes foram observados em plântulas de pepino, novamente com valores menores comparados aos herbicidas. O tetraoxano **[38]** com 1,8 µM para as radículas em plântulas de pepino, enquanto que

*glyphosate* apresentou valor 2,39  $\mu\text{M}$  e *imazethapyr* 3,82  $\mu\text{M}$ . Já em relação a parte aérea dezoito compostos (tetraoxanos [26-43]) apresentaram valor de  $\text{EC}_{50}$  menores que dos herbicidas (*glyphosate* 2,86  $\mu\text{M}$  e *imazethapyr* 2,94  $\mu\text{M}$ ), refletindo o que foi observado na Figura 4 (Capítulo 2, página 94) e Tabela 1 (anexo II, página 224).

### 3.3.2. Estudos de QSAR

Para a obtenção de modelos de QSAR fez-se necessário dispor de um conjunto de dados experimentais referentes à variável dependente. No caso, foi investigada a eficiência de um conjunto de moléculas que atuam na inibição do crescimento radicular e parte aérea de plantas e para tal, foi calculado o  $\log 1/\text{EC}_{50}$  a partir dos resultados obtidos nos ensaios biológicos realizados anteriormente (Capítulo 2).

A Tabela 2 mostra os valores de  $\log 1/\text{EC}_{50}$  para a parte aérea e raiz em plântulas de sorgo e pepino, calculados a partir da porcentagem de inibição dos compostos testados e herbicidas cuja concentração variava na faixa de 0,125 a 1,0 mM.

Tabela 2. Valores de log 1/EC<sub>50</sub> determinados nos ensaios biológicos

Composto	<i>S. bicolor</i>		<i>C. sativus</i>	
	Radícula Log 1/EC <sub>50</sub> <sup>c</sup>	Parte aérea Log 1/EC <sub>50</sub>	Radícula Log 1/EC <sub>50</sub>	Parte aérea Log 1/EC <sub>50</sub>
<b>26</b>	0,4515	0,5624	0,2932	0,7435
<b>27</b>	0,1906	0,0241	0,6902	0,6940
<b>28</b>	0,1349	0,7018	0,2927	1,0844
<b>29</b>	0,0633	0,0332	0,4515	0,8841
<b>30</b>	0,3589	0,1622	1,3067	0,7031
<b>31</b>	0,3931	0,5544	0,0744	1,1784
<b>32</b>	0,1136	0,2162	0,3263	0,5759
<b>33</b>	0,5389	0,4515	0,6419	0,2550
<b>34</b>	1,1926	0,8573	0,5819	0,3150
<b>35</b>	0,0334	0,7104	1,2066	1,4288
<b>36</b>	0,1582	1,0555	0,7095	1,7873
<b>37</b>	0,6471	0,4515	0,0394	0,8342
<b>38</b>	0,5805	0,8181	0,7206	0,8794
<b>39</b>	1,1016	1,0609	1,1632	0,3512
<b>40</b>	0,3583	0,0893	0,3810	0,2611
<b>41</b>	0,6855	0,5339	1,1484	1,4134
<b>42</b>	0,4515	0,1543	0,4515	1,2200
<b>43</b>	0,4625	1,1372	0,0667	0,4515
<b>44</b>	1,1514	0,9311	0,5042	0,5844
<b>45</b>	0,8202	0,3348	0,8761	1,3067
<b>Gli<sup>a</sup></b>	0,4515	1,3284	0,7496	0,3776
<b>Ima<sup>b</sup></b>	0,4515	0,7222	0,0859	0,1944
Média	0,4515	0,4927	0,4778	0,6392
Desvio Padrão	0,5145	0,5879	0,4996	0,7119

<sup>a</sup> – Gli = glyphosate, <sup>b</sup> – Ima = imazethapyr, <sup>c</sup> - cada tratamento foi conduzido em triplicata e o valor obtido é uma média das triplicatas

Em seguida foi realizada a otimização das geometrias das moléculas de interesse (Figura 1, página 125), através do *software* SPARTAN'06, com o emprego do método semi-empírico AM1. Após a determinação da conformação mais estável de cada composto, foi realizada uma re-otimização da conformação de menor energia, empregando o programa MOPAC e, novamente, o método AM1. Com isto, foram gerados dois arquivos que seriam posteriormente empregados como dados de entrada para o *software* CODESSA (BARBOSA *et al.*, 2012).

O primeiro contendo informações geométricas e eletrônicas e o segundo contendo informações termodinâmicas, ambos obtidos com o uso dos dois conjuntos de *key words* descritos no item 3.2.2. (página 122).

As informações dos arquivos de otimização de geometria, juntamente com os dados de  $\log 1/EC_{50}$  para cada molécula foram então inseridos em um terceiro arquivo que serviu de *input* para o programa CODESSA. Com o emprego deste programa, foram calculados centenas de descritores moleculares para cada substância, utilizando as informações contidas nos arquivos supracitados.

Diversos modelos foram gerados pelo CODESSA, porém nenhum deles apresentou significância estatística elevada. O modelo que apresentou melhor resultado é baseado em três descritores que foram colocados em ordem decrescente de relevância estatística conforme está mostrado na Tabela 3, porém como pode ser visto, com valor do coeficiente de correlação linear ( $r^2 = 0,5205$ ) baixo.

Tabela 3. Modelo de QSAR proposto para os tetraoxanos sintetizados

Descritor nº	X	$\pm \Delta X$	t Teste	Descritor
0	-2.5609e+00	1.1089e+00	-2.3094	Intercept
1	-3.7057e-01	1.3407e-01	-2.7640	Balaban's J index
2	1.4405e+02	4.6275e+01	3.1130	FPSA-3
3	1.9586e-02	9.3992e-03	2.0838	Lowest normal mode vib frequency

$n = 20$ ;  $R^2 = 0,5205$ ;  $F = 6,15$ ;  $s^2 = 0,2937$

Os três descritores que compõem esse modelo estatístico não apresentam informação relevante a ponto de mostrar indícios sobre características importantes dos compostos analisados. A comparação entre os valores experimentais e calculados de  $\log 1/EC_{50}$  está mostrado na Figura 2.

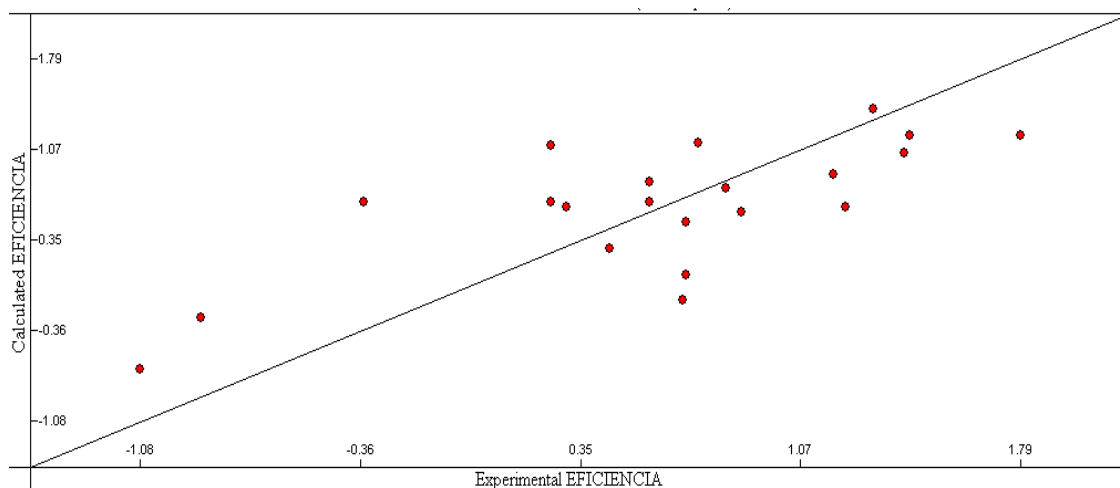




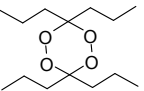
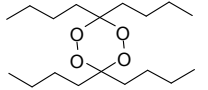
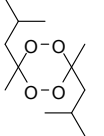
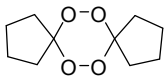
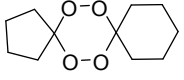
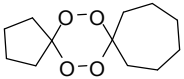
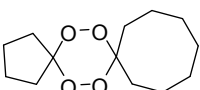
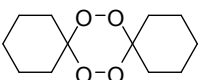
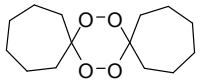
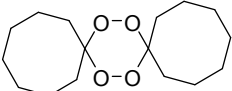
Figura 2. Comparação entre os valores experimentais e calculados de  $\log 1/EC_{50}$  baseado em três parâmetros de equação

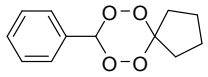
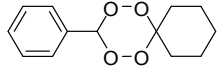
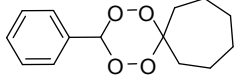
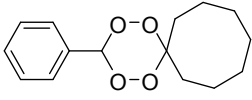
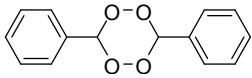
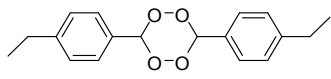
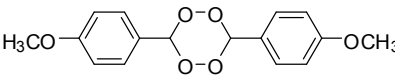
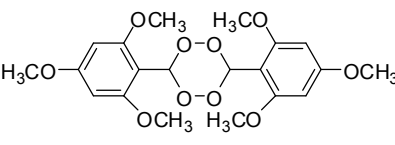
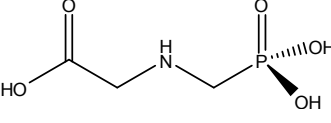
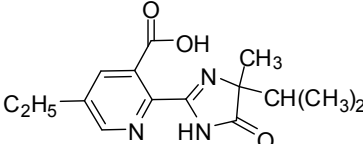
Analisando a Figura 2 percebe-se que os pontos encontram-se muito dispersos ao longo do gráfico, justificando o valor baixo de  $r^2$  encontrado, de modo, a concluir que a tentativa de realizar estudos de QSAR não foi satisfatória e uma explicação para esse fato seria a pequena variabilidade estrutural entre os tetraoxanos sintetizados (Figura 1, página 126).

### 3.3.3. Estudo de propriedades teóricas para obter novos herbicidas

Os vinte tetraoxanos sintetizados, juntamente com os herbicidas comerciais *glyphosate* e *imazethapyr* tiveram suas propriedades que predizem ser potenciais herbicidas calculadas através do programa Molinspiration e os resultados estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 4. Propriedades teóricas calculadas para os compostos sintetizados **26-45**, *glyphosate* e *imazethapyr*

Composto	Estrutura	Propriedades Calculadas				
		ClogP	MW	nON	nOHNH	nrotb
26		1,654	148,158	4	0	0
27		3,664	204,266	4	0	4
28		5,901	260,374	4	0	8
29		7,922	316,482	4	0	12
30		4,208	232,320	4	0	4
31		2,975	200,234	4	0	0
32		3,481	214,261	4	0	0
33		3,986	228,288	4	0	0
34		4,491	242,315	4	0	0
35		3,987	228,288	4	0	0
36		4,997	256,342	4	0	0
37		6,000	284,396	4	0	0

38		2,975	200,234	4	0	0
39		3,593	236,267	4	0	1
40		4,098	250,294	4	0	1
41		4,603	264,321	4	0	1
42		3,198	244,246	4	0	2
43		5,028	300,354	4	0	4
44		3,312	204,298	6	0	4
45		3,251	242,402	10	0	8
Gli <sup>a</sup>		2,840	169,073	6	4	4
Ima <sup>b</sup>		2,096	288,347	5	2	4

<sup>a</sup> – Gli = glyphosate, <sup>b</sup> – Ima = imazethapyr

De acordo com a literatura (HAO *et al.*, 2011), uma molécula com potencial para ser um herbicida deve apresentar peso molecular (MW) no máximo até 500 Da para não dificultar sua mobilidade até o sítio de ação e pela análise dos dados na Tabela 4 todos os tetraoxanos e inclusive os herbicidas comerciais estão dentro do limite considerado ideal.

Em relação ao valor do coeficiente de partição octanol/água ( $ClogP$  - parâmetro que mede a lipofilicidade da molécula), deve variar entre 0,2 e 6,0; somente o tetraoxano [29] apresentou valor fora da faixa considerada ideal,

com valor de  $\text{Clog}P = 7,922$ , ou seja, mostrando que essa molécula é pouco polar e de acordo com a sua estrutura (Tabela 4, página 131) nota-se uma cadeia carbônica grande, o que dificultaria sua movimentação no meio intracelular (meio aquoso) polar, tornando-se um complicador para utilizá-la como herbicida. Esse valor alto para o parâmetro  $\text{Clog}P$  pode ser uma explicação para o efeito inibitório moderado deste composto comparado aos demais tetraoxanos (Figura 3 e 4, página 93 e 94, respectivamente, Capítulo 2 e Tabelas 1 e 2, anexo II, páginas 224 e 225, respectivamente).

Já os parâmetros  $nON$  (indica o número médio de átomos na molécula capazes de receber hidrogênio em uma ligação de hidrogênio) e  $nOHNH$  (indica o número médio de átomos na molécula com hidrogênio realizando ligação de hidrogênio), ambos relacionados à facilidade da molécula se dissolver no meio intracelular (aquoso), apresentam valor médio para  $nON$  em torno de 4,3 e a grande maioria dos tetraoxanos apresentaram valores próximos a 4,0, com exceção dos tetraoxanos [44] e [45] com valores iguais a 6,0 e 10,0; respectivamente. Os herbicidas comerciais também apresentaram valores acima do considerado ideal com 6,0 para o *glyphosate* e 5,0 para o *imazethapyr*. Em relação a  $nOHNH$  todos tetraoxanos apresentaram valor igual a zero, ou seja, não há na estruturas das moléculas grupos hidroxil ou amino. O valor médio considerado ideal é 1,1 e os herbicidas possuem valores acima deste, com 4,0 para o *glyphosate* e 2,0 para o *imazethapyr*.

O último parâmetro considerado para análise,  $nrotb$  (indica o número médio de ligações rotacionais na molécula) está relacionado a flexibilidade molecular, importante indicador da sua solubilidade (ZMITEK *et al.*, 2006), cujo valor médio ideal é 4,1. Os tetraoxanos [27], [30], [43], [44], além de *glyphosate* e *imazethapyr* apresentaram valor muito próximos ao ideal, 4,0. Os demais compostos apresentaram valores abaixo ou acima do ideal.

A análise destes parâmetros teóricos mostrou que os compostos com média de valor dos parâmetros estudados acima ou abaixo do ideal apresentaram efeito inibitório moderado, de acordo com a análise de *Cluster* (Figura 5, página 96, Capítulo 2), sendo agrupados em G2. Os compostos mais ativos (G1 - Figura 5) apresentaram valores dos parâmetros dentro da faixa esperada para um herbicida potencial, mas é digno de nota que esses parâmetros servem como uma ajuda para direcionar a síntese de novas

moléculas e outros testes devem ser realizados para garantir que uma nova substância possa ser um herbicida em potencial.

### 3.4. Conclusões

Estudos e cálculos teóricos foram realizados com o intuito de compreender melhor esta classe de compostos e poder direcionar a síntese de novas substâncias, a partir dos primeiros resultados de ensaio biológico envolvendo os 1,2,4,5-tetraoxanos.

O valor de  $EC_{50}$  de alguns dos compostos sintetizados apresentaram valores da ordem de micromolar e bem menores que os apresentados pelos herbicidas comerciais utilizados neste trabalho.

De posse destes valores foi calculado o  $\log 1/EC_{50}$  e juntamente com a análise conformacional das estruturas dos compostos sintetizados tentou-se chegar a um modelo matemático capaz de relacionar de maneira quantitativa a atividade biológica dos compostos com sua estrutura química, porém não foi possível estabelecer nenhuma correlação estrutural ou eletrônica com a bioatividade dos mesmos. Uma possível explicação para não obtenção de correlação pode estar no fato que a série de moléculas sintetizadas apresenta pouca variação estrutural, no qual, volume, polaridade, peso molecular, número de doadores e receptores de hidrogênio são semelhantes para a maioria dos compostos.

Por último, alguns parâmetros teóricos que servem de ajuda para direcionar a síntese de novas moléculas foram calculados, demonstrando que os compostos mais ativos (sete tetraoxanos escolhidos no Capítulo 2) apresentaram valores muito próximos aos considerados ideais para uma molécula ser um potencial herbicida.

## CAPÍTULO 4

### ANÁLISE CRISTALOGRÁFICA DE OZONÍDEOS (1,2,4-TRIOXOLANOS)

#### 4.1. Introdução

Neste capítulo foram utilizados compostos (ozonídeos) sintetizados durante o trabalho de Mestrado de Raphael Campos Cusati e Ulisses Alves Pereira, cuja síntese e ensaio biológico já foram publicados anteriormente (CUSATI, 2008; BARBOSA *et al.*, 2009; PEREIRA, 2008; BARBOSA *et al.*, 2008), porém a análise por difração de raio-x ainda não havia sido feita. Acreditamos que essa análise permite uma caracterização completa destes compostos, uma vez que há poucos trabalhos publicados que abordam esse assunto.

A caracterização destes cristais obtidos é interessante uma vez que na literatura, a síntese de ozonídeos é tratada como altamente explosiva (ORNUM *et al.*, 2006), sendo o produto pouco estável (GRIESBAUM *et al.*, 2006) e durante o trabalho de Mestrado obtivemos uma série de ozonídeos estáveis a ponto de formarem estruturas cristalinas bem definidas e inclusive com grupo espacial em posição não trivial.

A semelhança estrutural entre ozonídeos (1,2,4-trioxolanos) e 1,2,4,5-tetraoxanos discutida anteriormente e também o fato de os ozonídeos terem sido precursores em nosso trabalho acadêmico e fonte de inspiração para a realização de pesquisas com os tetraoxanos, justifica a elaboração deste capítulo juntamente com os demais que abordam exclusivamente sobre os 1,2,4,5-tetraoxanos.

## 4.2. Material e Métodos

### 4.2.1. Síntese

Os ozonídeos analisados neste capítulo (Figura 1) foram preparados anteriormente (durante o trabalho de Mestrado) e todos os detalhes experimentais e espectroscópicos estão de acordo com a literatura (CUSATI, 2008; BARBOSA *et al.*, 2009; PEREIRA, 2008; BARBOSA *et al.*, 2008).

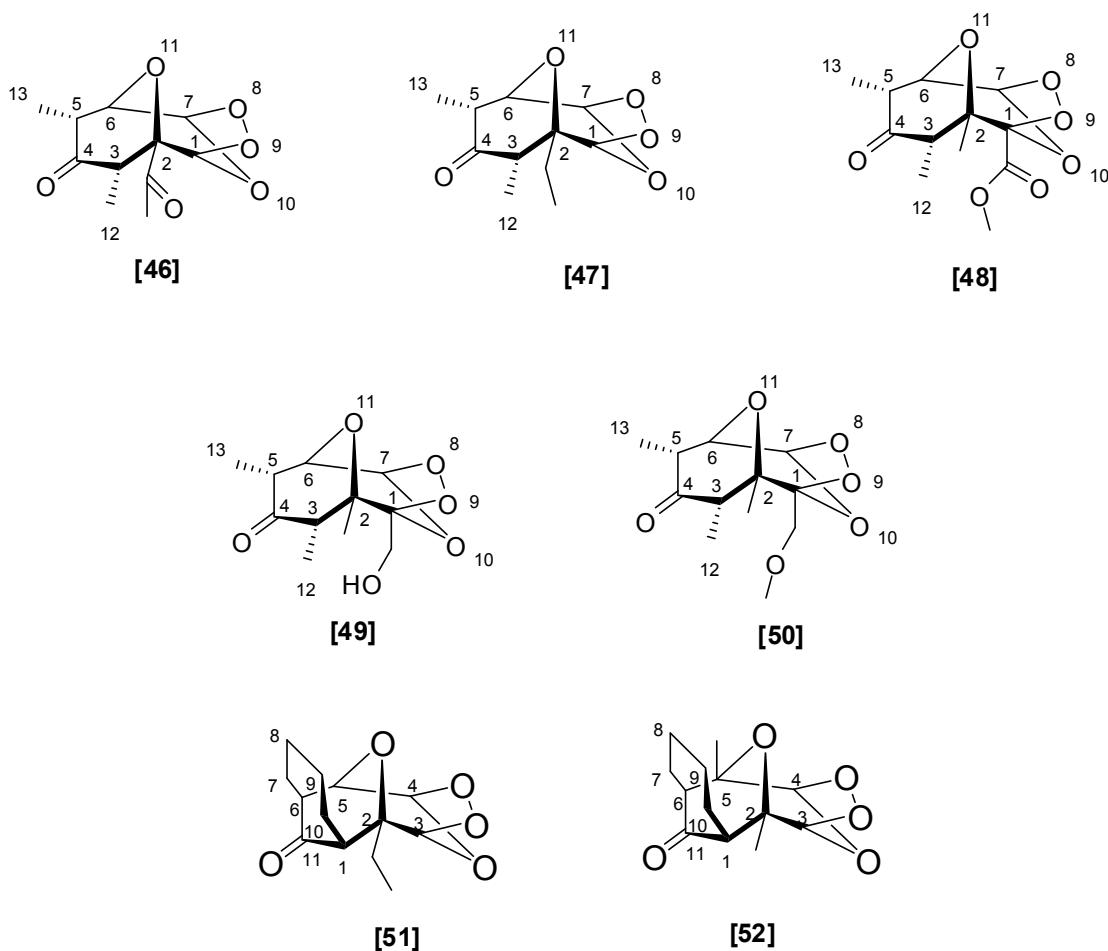


Figura 1. Estrutura dos ozonídeos analisados por difração de raios-X

A rota sintética utilizada por PEREIRA (2008) levou à formação de ozonídeos tricíclicos, já a rota utilizada por CUSATI (2008) culminou com a formação de ozonídeos tetracíclicos. A Figura 2 mostra as rotas de preparo de cada tipo de ozonídeo bem como os respectivos reagentes utilizados.

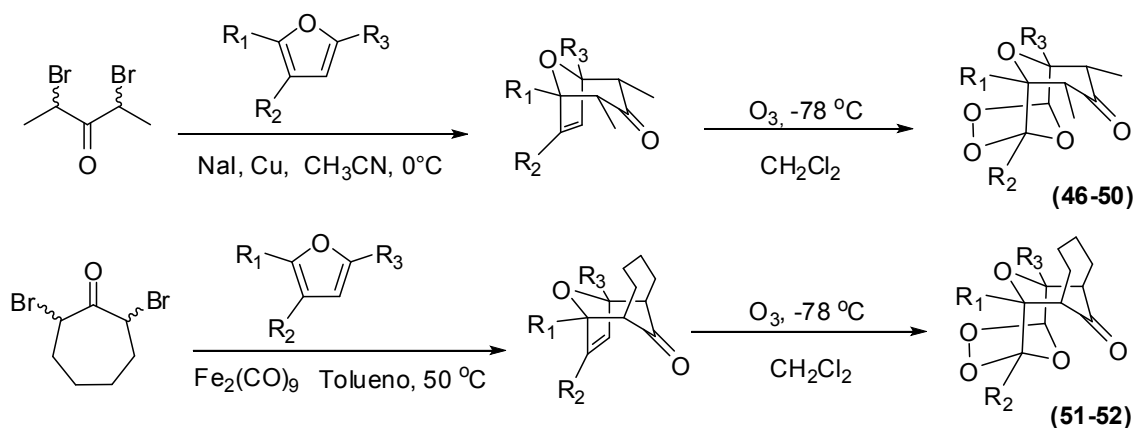


Figura 2. Rota sintética adotada no preparo dos ozonídeos (46-50) por PEREIRA (2008) e dos ozonídeos (51-52) por CUSATI (2008)

#### 4.2.2. Análise cristalográfica por difração de raios-X de monocristal

O estudo cristalográfico por difração de raios-X contou com a colaboração do professor Antônio Carlos Doriguetto da Universidade Federal de Alfenas (Alfenas, Minas Gerais).

Cristais dos ozonídeos 46-52 foram obtidos por aquecimento de cada composto em hexano, seguido por adição de algumas gotas de diclorometano, até o sólido estar completamente dissolvido. A solução resultante foi deixada em repouso à temperatura ambiente por 24 horas até que cristais brancos individuais adequadamente bem formados para análises de raios-X fossem obtidos. Eles foram separados, lavados com hexano a frio e posteriormente, secos.

As medições foram feitas a 293 K em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD, utilizando-se como fonte de radiação um tubo selado de MoK $\alpha$  0,71073 Å (monocromador de grafite). Os parâmetros das células unitárias finais foram baseados em todas as reflexões. A temperatura foi controlada usando um dispositivo de baixa temperatura Oxford Cryosystem. A coleta de dados foi feita utilizando o *software* COLLECT (NONIUS, 1999); integração e dimensionamento das reflexões foram realizadas com o *software* HKL Denzo-Scalepack System (OTWINOWSKI e MINOR, 1997).

As estruturas foram resolvidas por métodos diretos e o refinamento das estruturas cristalinas foram feitos empregando o método dos mínimos quadrados de matriz completa em F<sup>2</sup>, com parâmetros térmicos anisotrópicos

para átomos diferentes de hidrogênio utilizando o *software* SHELXL-2013 (SHELDRICK, 2008). Já os átomos de hidrogênio foram posicionados estereoquimicamente e foram refinados com parâmetros de deslocamento individuais fixos [ $U_{iso}(H) = 1.5U_{eq}(C)$  para grupos metil ou  $1.2U_{eq}(C)$  para grupos metinos e metilenos], usando o modelo SHELXL com comprimentos de ligação C-H 0,96; 1,00 e 0,99 Å para grupos metila, metino e metileno, respectivamente. O átomo de hidrogênio do grupo hidroxila do composto **[49]** foi localizado por diferença na síntese de Fourier e foi refinado com coordenadas livres e  $U_{iso}(H) = 1.5U_{eq}(O)$ . O *software* WINGX foi utilizado para analisar e realizar o tratamento dos dados para apresentação. Representações gráficas das moléculas foram preparadas usando ORTEP-3 (FARRUGIA, 1997) e Mercury (MACRAE *et al.*, 2006).

Os dados dos cristais, processos de coleta de dados, métodos de determinação de estrutura e os resultados de refinamento estão sumarizados na Tabela 2 (página 141). Os dados cristalográficos para a análise estrutural dos compostos discutidos foram depositados no Centro de Dados de Cristalografia de Cambridge, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, Reino Unido, e estão disponíveis mediante o pedido de número de depósito CCDC (sigla inglesa: Cambridge Crystallographic Data Centre) 1016944, 1016932, 1016945, 1016943, 1016946, 1016947, 1016942 para os compostos **[46]**, **[47]**, **[48]**, **[49]**, **[50]**, **[51]** e **[52]**, respectivamente.

#### 4.2.3. Cálculos computacionais

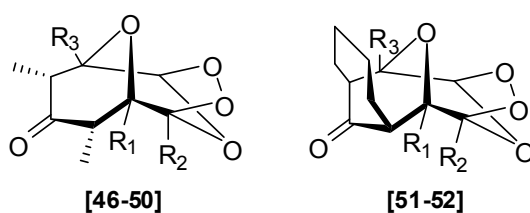
Para identificar a conformação mais estável de cada ozonídeo empregamos a subrotina *conformer distribution* do *software* SPARTAN06 (Spartan, 2011) utilizando o método semi-empírico PM6 (STEPHENS *et al.*, 1994) para a otimização de geometria. Após localização da conformação mais estável para cada ozonídeo, esta conformação foi re-otimizada utilizando o funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G(d) (FRANCL *et al.* 1982). Os cálculos da constante de acoplamento ( $J$ ) foi realizado para as geometrias otimizadas usando o funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-311++G(2d, p). Os cálculos DFT foram realizados com o *software* Gaussian09 (GAUSSIAN, 2009).

## 4.3. Resultados e Discussão

### 4.3.1. Síntese dos ozonídeos

Todos os ozonídeos foram previamente preparados e suas atividades biológicas relatadas (BARBOSA *et al.*, 2008 e 2009), mas os detalhes estruturais não foram descritos. Para o preparo dos precursores dos ozonídeos **46-50**, os cicloadutos (alquenos) foram preparados via uma reação de cicloadição [4+3] entre furanos com o cátion oxialílico, gerado *in situ* a partir de 2,4-dibromopentan-3-ona, utilizando um processo padrão da literatura (BARBOSA *et al.*, 2008). Os alquenos foram então submetidos a ozonólise gerando os 8,9,10,11-tetraoxatriciclo[5.2.1.1<sup>2,6</sup>]oct-6-en-3-onas (ozonídeos **46-50**, Tabela 1). O mesmo procedimento de cicloadição utilizando o cátion oxialílico gerado a partir de 2,7-dibromocicloheptanona com furanos, originou, após a ozonólise, os 12-oxatriciclo [4.4.1.1<sup>2,5</sup>]dodec-3-en-11-onas adutos [**51**] e [**52**] (BARBOSA *et al.*, 2009). A Tabela 1 mostra o rendimento da etapa de ozonólise dos compostos utilizados a partir da variação dos substituintes do anel furânico.

Tabela 1. Rendimento da etapa de ozonólise a partir da variação dos radicais do anel furânico



Compostos	Rendimento (%)	Substituintes		
		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>46</b>	98	COCH <sub>3</sub>	H	H
<b>47</b>	100	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	H
<b>48</b>	50	CH <sub>3</sub>	(CO)OCH <sub>3</sub>	H
<b>49</b>	75	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H
<b>50</b>	100	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H
<b>51</b>	42	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	H
<b>52</b>	55	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>

Como discutido anteriormente, observaram-se os rendimentos da ozonólise variando de 42% a 100% e não há correlações entre a estrutura e os rendimentos. Mesmo que os dados espectroscópicos relatados são consistentes com as estruturas propostas, uma análise completa de cristais foi realizada a fim de lançar luz sobre a influência dos substituintes na forma tridimensional e arranjo do cristal no estado sólido.

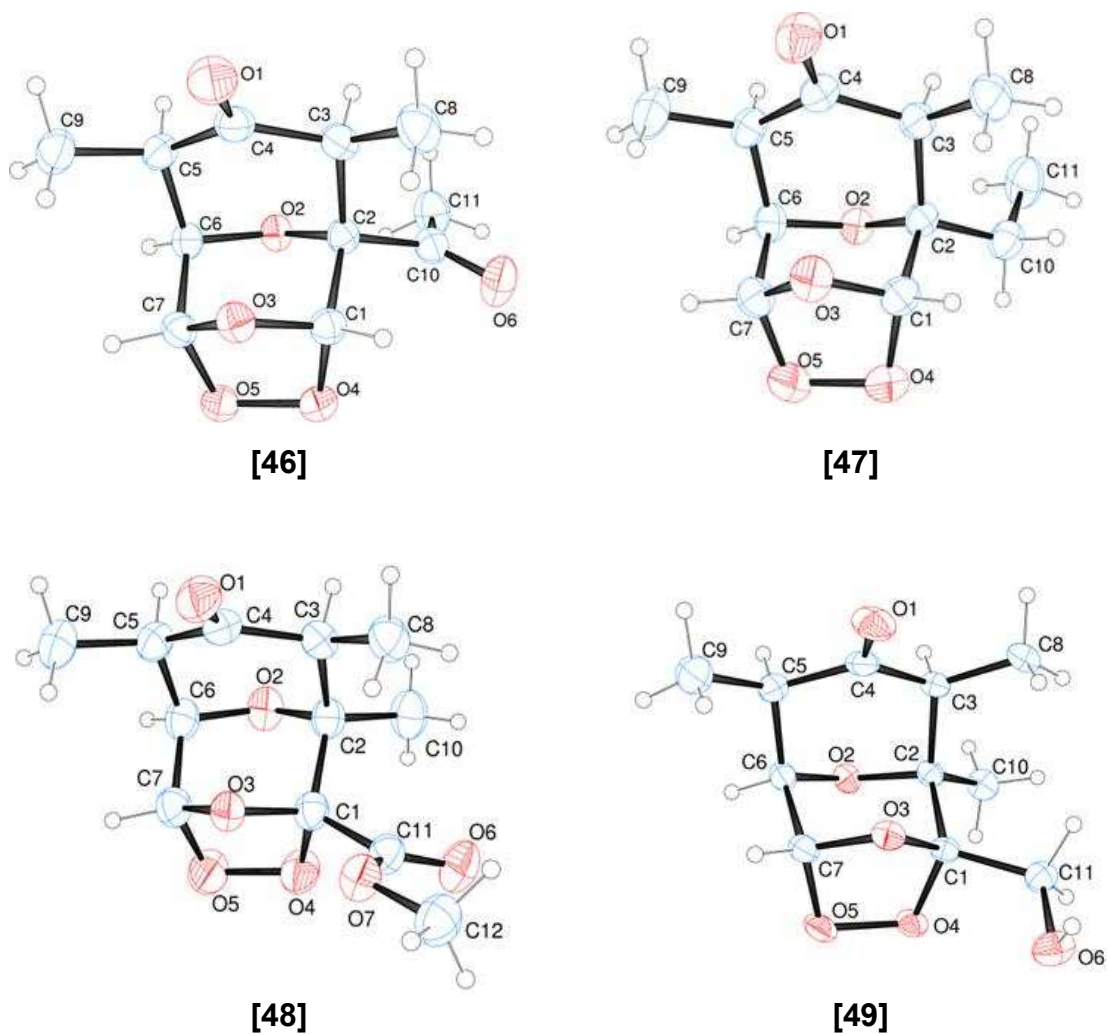
#### **4.3.2. Análise da estrutura dos cristais e cálculos computacionais**

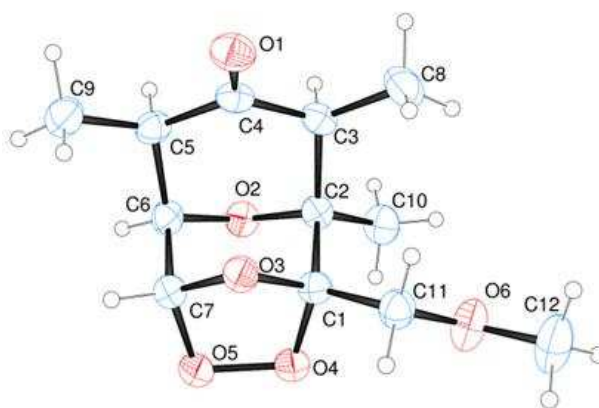
A Tabela 2 mostra os dados dos cristais coletados bem como os resultados do refinamento estrutural. Todos os compostos são quirais e cristalizam com grupo espacial centrossimétrico (Tabela 2), conforme mostra a representação ORTEP-3 para os ozonídeos **46-50** (Figura 3, página 143) e para os ozonídeos **[51]** e **[52]** (Figura 4, página 144).

Tabela 2. Dados cristalográficos dos compostos [46-52]

Identificação	[46]	[47]	[48]	[49]	[50]	[51]	[52]
Fórmula Empírica	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
Massa Molecular	726.66	228.24	272.25	244.24	258.26	254.27	254.27
Temperatura (K)	293(2)	293(2)	293(2)	293(2)	293(2)	293(2)	293(2)
Comprimento de onda (Å)	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073
Sistema Cristalino	Trigonal	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Ortorrômbico
Grupo Espacial	R $\bar{3}$ :H	P2 <sub>1</sub> /c	P2 <sub>1</sub> /c	P2 <sub>1</sub> /c	P2 <sub>1</sub> /c	P 2 <sub>1</sub> /c	P 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Dimensões da Cella Unitária (Å, °)	a = 20.9551(4) b = 20.9551(4) c = 13.1662(2) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 90 $\gamma$ = 120	a = 5.6815(1) b = 22.3266(8) c = 9.1255(3) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 106.939(2) $\gamma$ = 90	a = 6.7575(3) b = 25.973(1) c = 8.9210(2) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 126.252(2) $\gamma$ = 90	a = 5.8303(2) b = 13.8797(4) c = 14.1242(3) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 98.642(2) $\gamma$ = 90	a = 14.325(4) b = 7.095(2) c = 12.811(4) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 105.26(2) $\gamma$ = 90	a = 13.9049(4) b = 8.5122(3) c = 10.8393(3) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 110.98 $\gamma$ = 90	a = 8.0412(3) b = 10.5123(3) c = 14.3276(5) $\alpha$ = 90 $\beta$ = 90 $\gamma$ = 90
Volume (Å <sup>3</sup> )	5006.9(2)	1107.31(6)	1262.67(9)	1129.9	1255.99(6)	1197.88(7)	1211.13(7)
Z	18	4	4	4	4	4	4
Densidade Calculada (Mg/m <sup>3</sup> )	1.446	1.369	1.432	1.436	1.366	1.410	1.395
Coefficiente de Absorção $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	0.119	0.108	0.119	0.117	0.110	0.108	0.107
F(000)	2304	488	576	520	552	544	544
Tamanho do Cristal (mm <sup>3</sup> )	0.16 x 0.20 x 0.20	0.10 x 0.21 x 0.53	0.22 x 0.29 x 0.40	0.15 x 0.17 x 0.41	0.17 x 0.33 x 0.60	0.18 x 0.30 x 0.32	0.17 x 0.21 x 0.38
$\theta_{\max}$ (°)	26.615	26.780	26.098	27.425	26.228	26.596	27.481
Intervalo de Índices	-26<=h<=26, -22<=k<=22, -16<=l<=16	-6<=h<=6, -28<=k<=27, -11<=l<=11	-8<=h<=8, -32<=k<=31, -10<=l<=10	-7<=h<=7, -17<=k<=17, -17<=l<=17	-17<=h<=17, -8<=k<=8, -15<=l<=15	-17<=h<=17, -10<=k<=10, -13<=l<=13	-10<=h<=10, -13<=k<=13, -17<=l<=18
Reflexões Coletadas	4559	4006	4469	4276	4429	4341	5644
Reflexões Independentes	2297 [R(int) = 0.0226]	2134 [R(int) = 0.0363]	2375 [R(int) = 0.0385]	2212 [R(int) = 0.0263]	2489 [R(int) = 0.0267]	2495 [R(int) = 0.0172]	2662 [R(int) = 0.043]
Integralidade até $\theta_{\max}$ (%)	98.1	97.6	95.6	98.8	98.7	99.4	95.5
Dados/restricoes/parâmetross	2297 / 0 / 157	2134 / 0 / 148	2375 / 0 / 176	2212 / 0 / 158	2489 / 0 / 167	2495 / 0 / 164	2662 / 0 / 165
Qualidade do ajuste em F <sup>2</sup>	1.063	1.049	1.021	1.062	1.057	1.058	1.041
Índices R Finais [ $I > 2\sigma(I)$ ]	R1 = 0.0444, wR2 = 0.1188	R1 = 0.0490, wR2 = 0.1232	R1 = 0.0531, wR2 = 0.1385	R1 = 0.0411, wR2 = 0.1085	R1 = 0.0497, wR2 = 0.1365	R1 = 0.0438, wR2 = 0.1192	R1 = 0.0385, wR2 = 0.0952
Índices R (todos os dados)	R1 = 0.0597, wR2 = 0.1293	R1 = 0.0759, wR2 = 0.1370	R1 = 0.0814, wR2 = 0.1578	R1 = 0.0567, wR2 = 0.1185	R1 = 0.0621, wR2 = 0.1471	R1 = 0.0539, wR2 = 0.1271	R1 = 0.0478, wR2 = 0.1016
$\Delta\rho_{\max}$ e $\Delta\rho_{\min}$ (e.Å <sup>-3</sup> )	0.157 and -0.154	0.163 and -0.149	0.145 and -0.117	0.185 and -0.181	0.172 and -0.202	0.409 and -0.199	0.108 and -0.096

As estruturas cristalinas são uma mistura equimolar (50:50) de um par de enantiômeros numa disposição bem definida. Os enantiômeros são (C1(S), C2(S), C3(S), C5(R), C6(R), C7(R)) para os compostos **46-47**, **49-50** e (C1(R), C2(S), C3(S), C5(R), C6(R), C7(R)) para o composto **[48]**. Na Figura 3, as unidades assimétricas foram escolhidas arbitrariamente para os ozonídeos tricíclicos.





[50]

Figura 3. Representação ORTEP-3 da estrutura dos ozonídeos **46-50** com os átomos identificados. Os átomos de hidrogênio são mostrados como pequenas esferas de raio arbitrário. A numeração utilizada na representação ORTEP-3 é diferente da utilizada na página 137

A representação ORTEP-3 para os ozonídeos **51-52** são mostrados na Figura 4 e assim como os ozonídeos **46-50**, estes cristalizam em um grupo espacial centrossimétrico e, portanto, é um cristal racêmico. O ozonídeo **[52]** foi resolvido em um grupo espacial  $P2_12_12_1$  e uma vez que se trata de uma molécula quiral que foi cristalizada em um grupo espacial quiral contendo apenas uma molécula na unidade assimétrica, então sua estrutura cristalina contém apenas um enantiômero puro. No entanto, não foi possível determinar a estrutura absoluta do composto **[52]** usando difração de raios-X, uma vez que contém apenas átomos doadores de elétrons, não apresentando dispersão anômala suficientemente grande (usando radiação  $MoK\alpha$ ) para permitir um valor de parâmetro de Flack refinado com confiabilidade (CIANCI *et al.*, 2005). Os enantiômeros são (C1(R), C2(R), C3(S), C5(R), C6(S), C7(S)) para o composto **[51]** e (C1(S), C2(S), C3(R), C5(S), C6(R), C7(R)) para o composto **[52]**. Na Figura 4, as unidades assimétricas foram escolhidas arbitrariamente para os ozonídeos tetracíclicos.

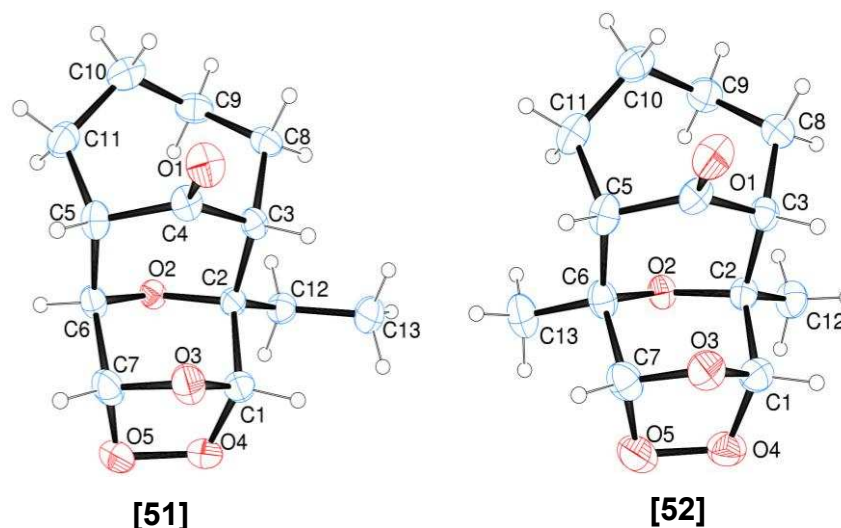


Figura 4. Representação ORTEP da estrutura dos ozonídeos **[51]** e **[52]** com os átomos identificados. Os átomos de hidrogênio são mostrados como pequenas esferas de raio arbitrário. A numeração utilizada na representação ORTEP-3 é diferente da utilizada na página 137

Enantiômeros equivalentes dos ozonídeos tricíclicos **46-50** foram sobrepostas em estruturas no formato de varas coloridas (Figura 5a). A sobreposição da “espinha dorsal” dos compostos mostrou a semelhança conformacional entre átomos homólogos nos três anéis fundidos e seus primeiros átomos vizinhos. Em outras palavras, exceto para as porções dos grupos funcionais ligados a C1 e C2 que varia nas moléculas, a geometria restante é muito semelhante (ver também as Tabelas 4 e 5, páginas 154 e 155, respectivamente). As mesmas características são observadas quando os ozonídeos tetracíclicos **[51]** e **[52]** são comparados (Figura 5b). A sobreposição dos esqueletos moleculares do composto **[47]** (tricíclico) e **[52]** (tetracíclico) mostra que os átomos homólogos de três e quatro anéis fundidos também são geometricamente idênticos (Figura 5c). Uma diferença importante é observada apenas para a orientação de um dos três átomos diferentes de hidrogênio ligados a átomos de carbono C3 e C5, nos ozonídeos tricíclicos (C8 e C9) aponta para frente e nos tetracíclicos (C8 e C11) aponta para a parte de trás.

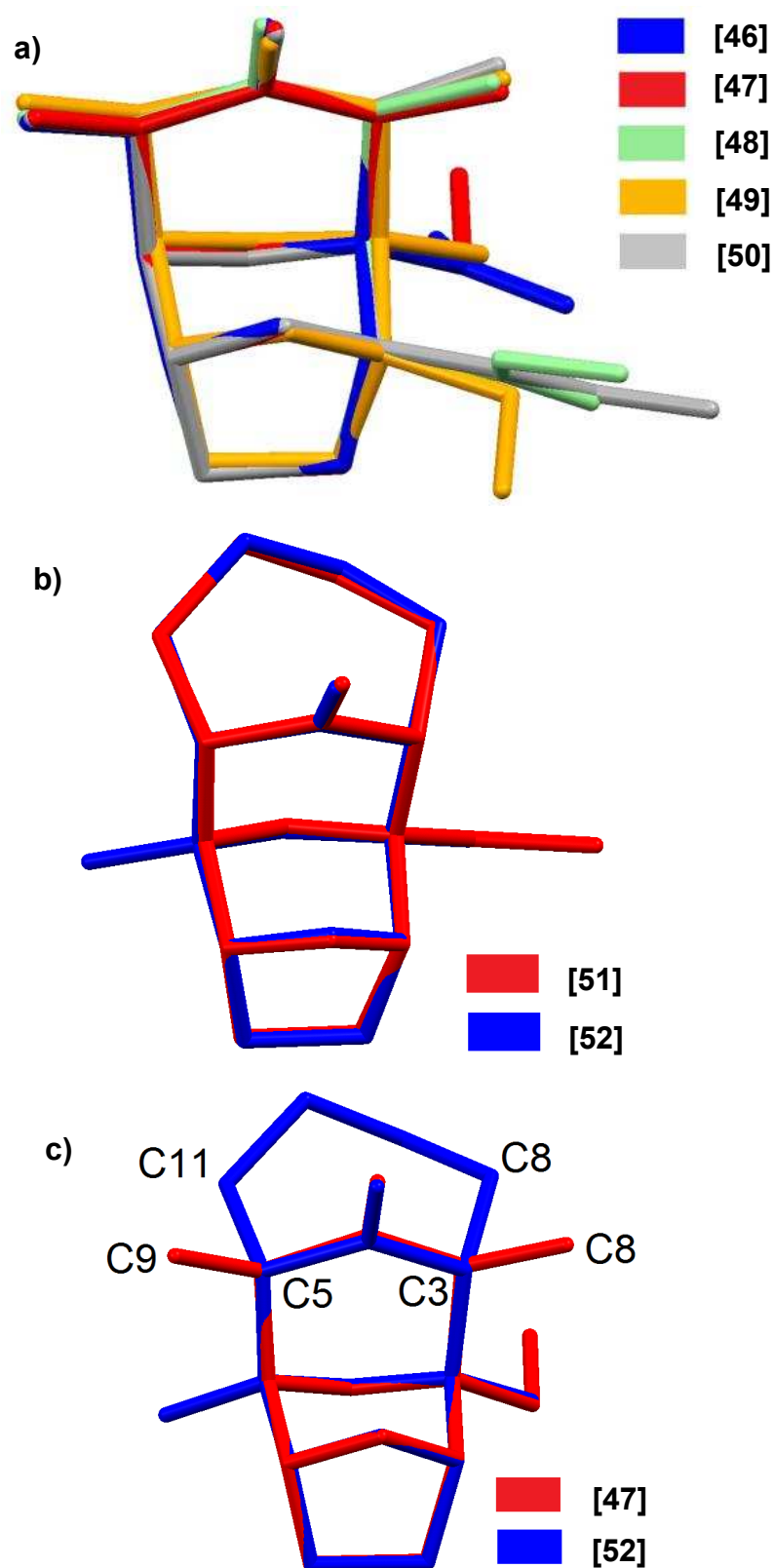


Figura 5. Representação MERCURY mostrando a sobreposição dos enantiômeros equivalentes de a) **46-50**, b) **[51]** e **[52]**, c) **[47]** e **[52]**. Os ozonídeos são identificados pelo esquema de cores. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da representação

Levando em consideração as interações intermoleculares, dímeros montados com simetria invertida em relação a molécula apresentam ligação de hidrogênio não clássica e são comuns para os ozonídeos (**46-51**) que apresentam grupo espacial centrossimétrico (Figura 6). As ligações de hidrogênio para os dímeros supramoleculares são  $R_2^2(8)$  para **[46]**, **[47]** e **[49]**;  $R_2^2(10)$  para **[48]** e **[50]**;  $R_2^2(12)$  para **[51]** (BERNSTEIN *et al.*, 1995). A ligação mais forte doadora de elétrons na ligação de hidrogênio não clássica ocorre através do grupo metino nos compostos **[46]**, **[47]**, **[49]** e **[51]** (ALLERHAND and SCHLEYER, 1963). Em três dos cinco ozonídeos tricíclicos, **[46]**, **[47]** e **[50]**, o átomo de oxigênio O1 funciona como um aceptor na ligação de hidrogênio formando essa sintonia supramolecular em que a simetria de inversão nas moléculas relacionadas apresenta orientação muito semelhante, especialmente para os compostos **[46]** e **[47]**. O átomo de oxigênio O1 também aparece como aceptor na ligação de hidrogênio para o ozonídeo tetracíclico **[51]**.

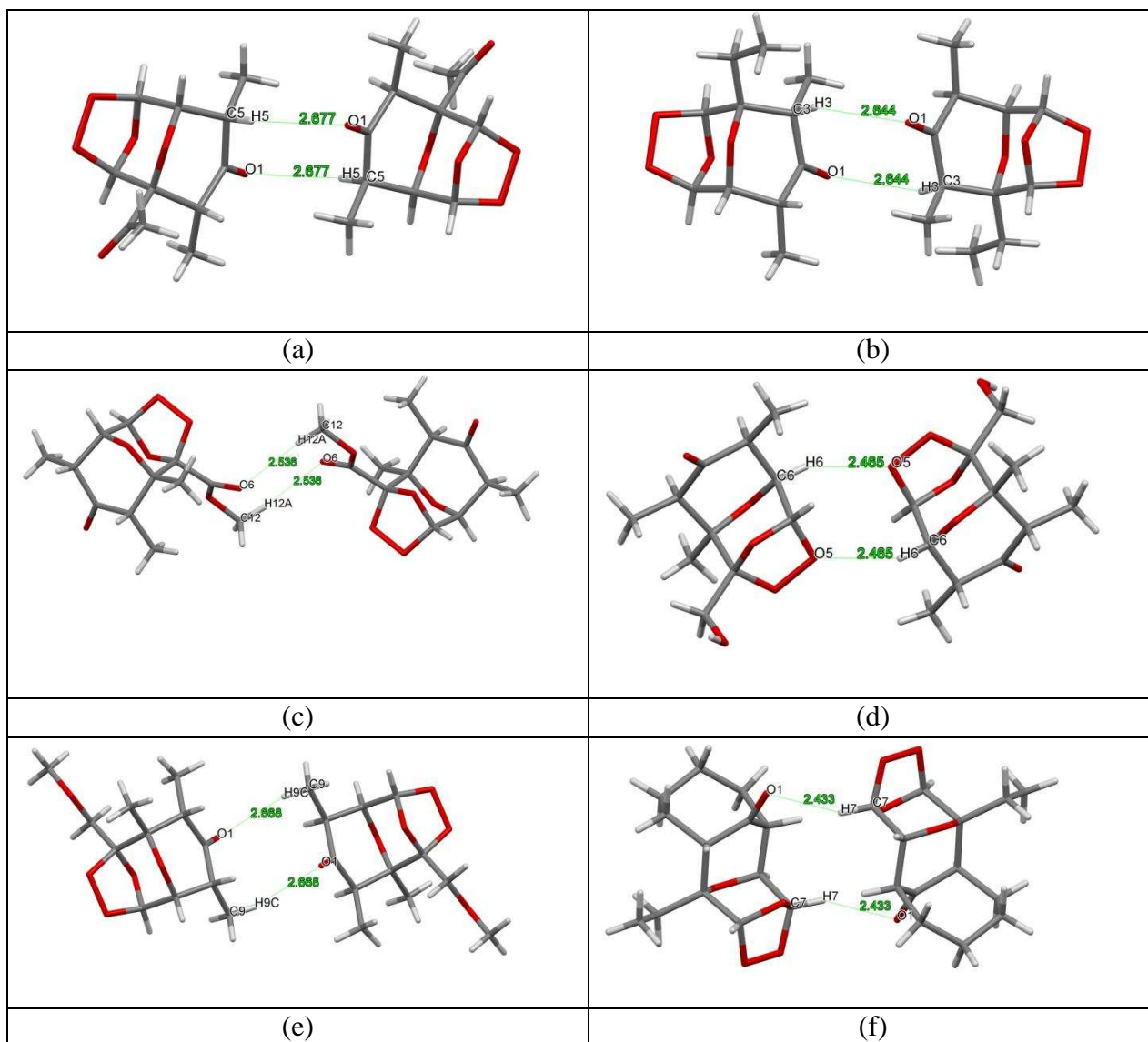


Figura 6. Representação Mercury do dímero centrossimétrico formado por (a) **[46]**; (b) **[47]**; (c) **[48]**; (d) **[49]**; (e) **[50]**; e (f) **[51]**. As distâncias das ligações de hidrogênio (Å) também são mostradas

Os dímeros centrossimétricos estão se ligando por ligações de hidrogênio clássica (ozonídeo **[49]**, Figura 7) e ligação de hidrogênio não clássica (ozonídeo **[47]**, Figura 8), além de forças de van der Waals para todos os ozonídeos. O empacotamento completo dos dímeros está exemplificado para o ozonídeo **[47]** na Figura 9. Os demais empacotamentos estão apresentados no anexo III (páginas 227-232).

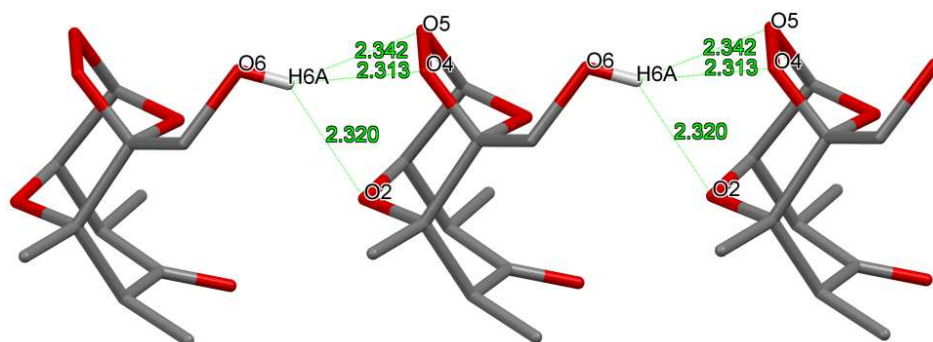


Figura 7. Empacotamento parcial do composto **[49]** mostrando a infinita cadeia paralela à direção [100] estabilizada por ligação de hidrogênio clássica, na qual os átomos de oxigênio O4, O5 e O6 são aceptores da ligação de hidrogênio trifurcados para o átomo de hidrogênio H6A. Algumas distâncias de separação dos aceptores (Å) são mostradas. Os átomos de hidrogênio que não estão envolvidos nas ligações de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da representação

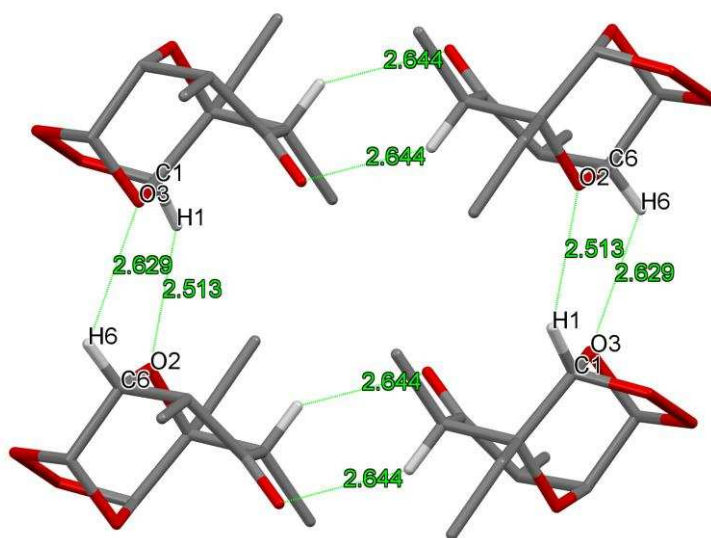


Figura 8. Empacotamento parcial do composto **[47]** mostrando uma porção supramolecular estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas. Algumas distâncias de separação dos aceptores (Å) são mostradas. Os átomos de hidrogênio que não estão envolvidos nas ligações de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da representação

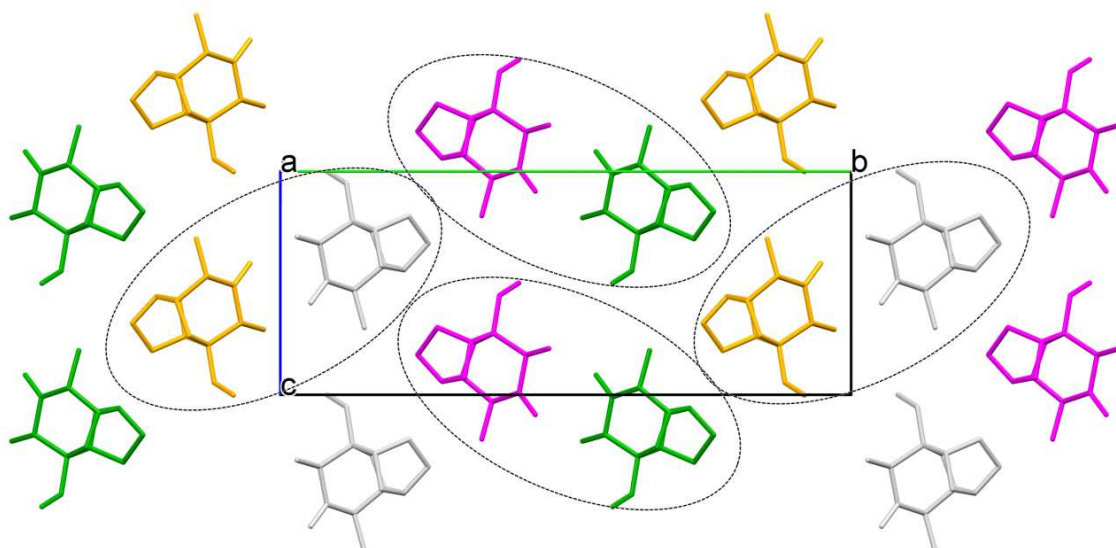


Figura 9. Empacotamento do composto **[47]** projetadas no plano *bc* (011). Os dímeros centrossimétricos estão circulados por linha pontilhadas. O esquema de cores representa as operações de simetria além da tradução do grupo espacial  $P2_1/c$ . Cinza claro = identidade ( $x, y, z$ ); verde = eixo parafuso  $2_1$  ( $-x, y+1/2, -z+1/2$ ); amarelo = centro de inversão ( $-x, -y, -z$ ); rosa = plano deslizante ( $x, -y-1/2, z-1/2$ )

O empacotamento da estrutura não centrossimétrica das moléculas do composto **[52]** está relacionado ao eixo  $2_1$  parafuso e também é governada por ligações de hidrogênio não clássicas. As ligações de hidrogênio mais fortes são aquelas que envolvem os carbonos metínicos  $C_{sp^3}$  em C1-H1 e C5-H5, doadores de elétrons na ligação de hidrogênio e o oxigênio O1 atua como acceptor de maneira bifurcada. As ligações de hidrogênio formam infinitas cadeias duplas paralelas à direção [100] (Figura 10).

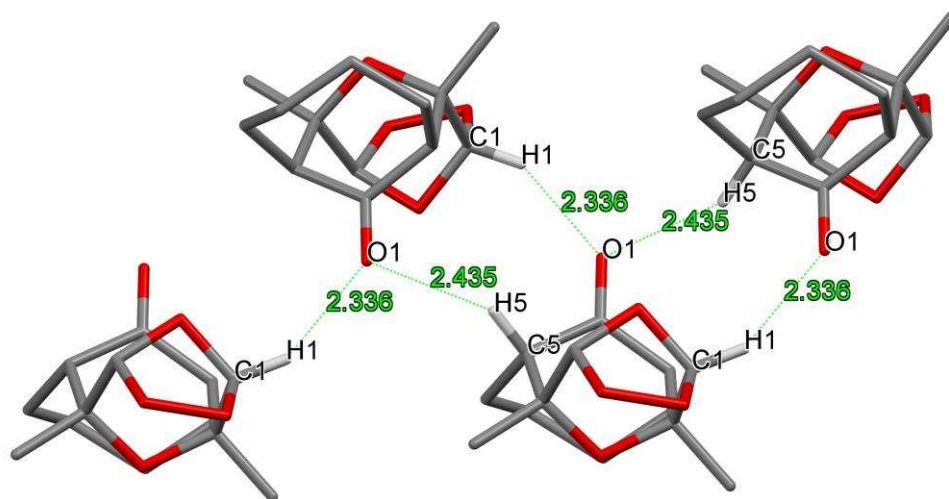


Figura 10. Empacotamento parcial do composto **[52]** mostrando as infinitas cadeias duplas paralelas à direção [100] estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas. Algumas distâncias de separação dos aceptores (Å) são mostradas. Os átomos de hidrogênio que não estão envolvidos nas ligações de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da representação

O composto **[46]** por apresentar uma característica supramolecular incomum teve discutido seu sistema de empacotamento com mais detalhes. Os dímeros centrossimétricos em **[46]** (Figura 6a, página 148), são eles próprios centrossimétricos ligados por outras ligações de hidrogênio do tipo  $R_2^2(8)$  formando cadeias infinitas ao longo da direção [211] (Figura 11).

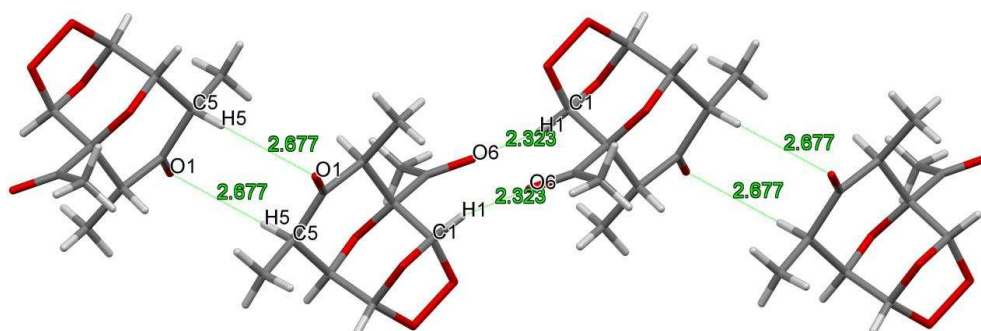


Figura 11. Empacotamento parcial do composto **[46]** mostrando as infinitas cadeias paralelas à direção [211] estabilizadas por ligações de hidrogênio não clássicas, onde os átomos de oxigênio O1 e O6 são aceptores na ligação de hidrogênio para os doadores C1-H1 e C5-H5. Algumas distâncias de separação dos aceptores (Å) são mostradas

Outra ligação supramolecular interessante são as ligações de hidrogênio tendo C7-H7 como doador bifurcado aos átomos de oxigênio O4 e O5 (Figura 12a), na qual ligam seis moléculas do composto **[46]** relacionadas pelo eixo  $\bar{3}$  ao longo da direção [001] (Figura 12b). Esta sintonia supramolecular é conseguida via interações de van der Waals paralelas à direção [001], formando infinitas estruturas de forma hexagonal (Figuras 12b e 12c).

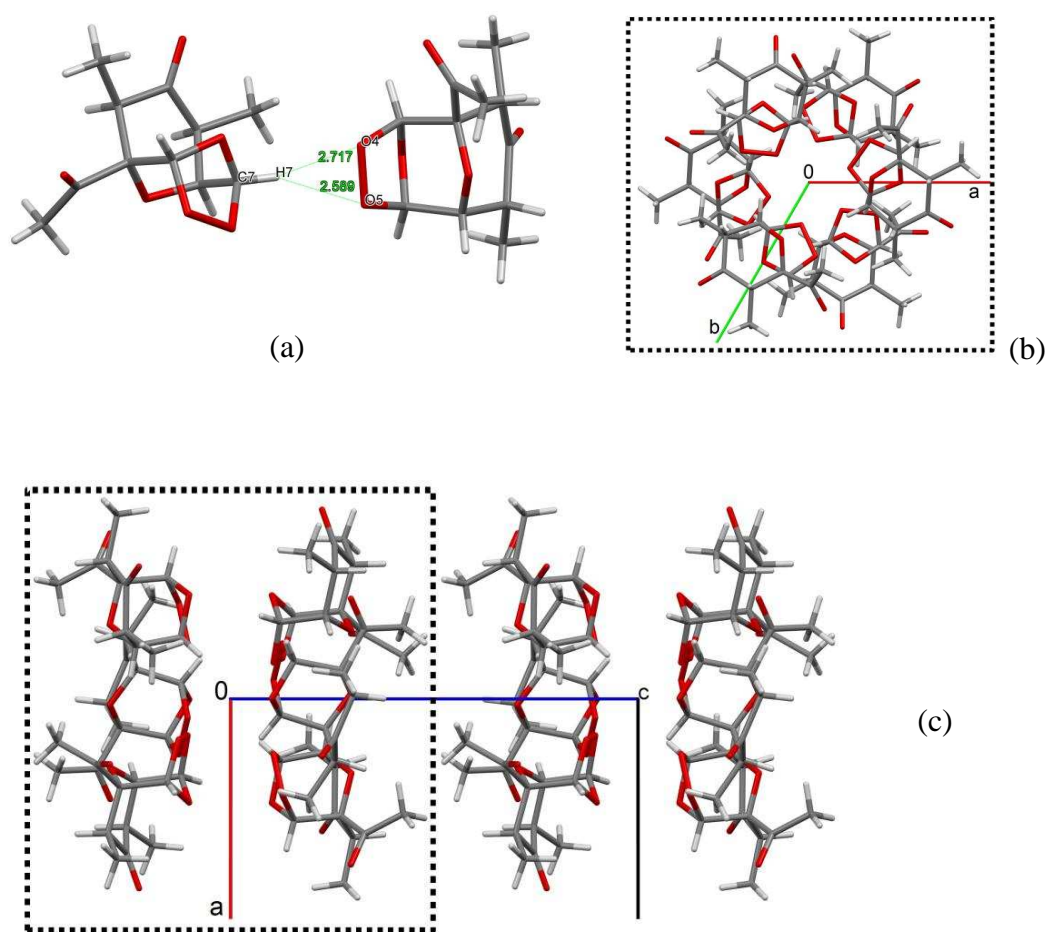


Figura 12. a) Ligação de hidrogênio não clássica intermolecular onde os átomos de oxigênio O4 e O5 são aceptores na ligação de hidrogênio bifurcada em relação ao doador C7-H7. Algumas distâncias de separação dos aceptores (Å) são mostradas. b) Hexagrama formado por seis moléculas relacionadas pelo eixo  $\bar{3}$  ao longo da direção [001], estabilizadas por ligação de hidrogênio envolvendo os átomos C7-H7, O4 e O5. c) Visão do hexagrama ao longo do plano *ac*

Cada estrutura é rodeada por seis outras, devido à simetria do grupo espacial formando uma estrutura muito interessante do tipo favo de mel (Figura 13). De fato, o grupo espacial hexagonal altamente simétrico observado para ozonídeo [46] é incomum considerando a estrutura cristalina de pequenas moléculas orgânicas e organometálicos. No banco de dados Cambridge Structural Database - CSD (ALLEN, 2002) apenas 290 das estruturas depositadas cristalizam com grupo espacial  $R\bar{3}m$ , o que representa aproximadamente 0,04% do número total de estruturas depositadas (717.895 estruturas depositadas no CSD versão 5.35 com atualizações em novembro de 2013, fevereiro de 2014 e maio 2014).

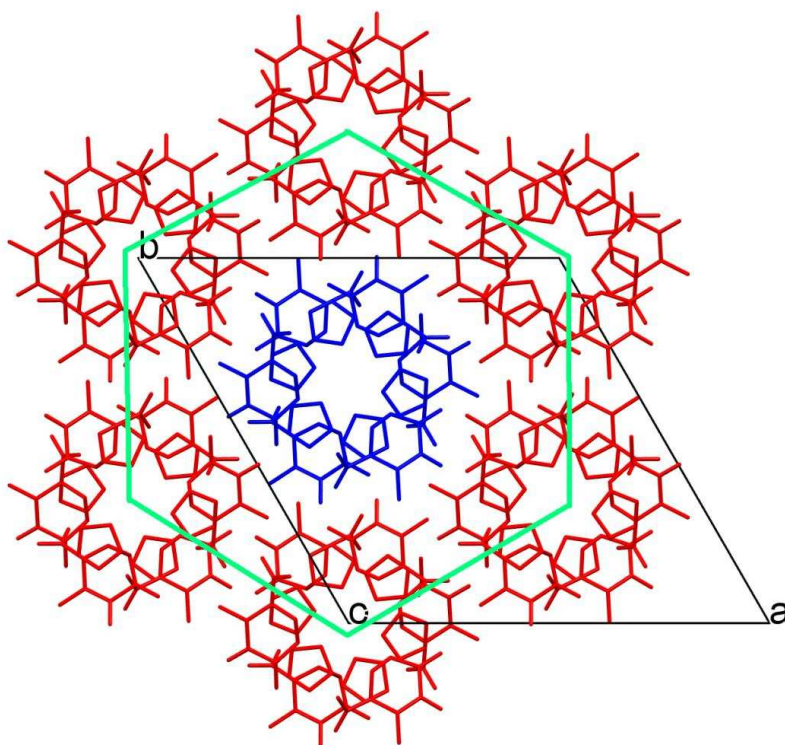


Figura 13. Visão do empacotamento no formato de hexagrama na direção do plano *ab* destacando a estrutura no formato de favo de mel. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para a maior clareza da representação

Após investigar com detalhes a estrutura de alguns ozonídeos por cristalografia de raios-X e ter encontrado alguns sistemas de empacotamento incomuns, seguimos o trabalho com a otimização da geometria das moléculas utilizando o método semi-empírico PM6 e o método DFT, utilizando o funcional

B3LYP e conjunto de bases 6-31G(d). Interesse especial está relacionado à ligação peróxido dos ozonídeos, pois é de fundamental importância ao modo de ação destes compostos. A Tabela 3 lista o comprimento de ligação oxigênio-oxigênio na porção peróxido dos ozonídeos, obtidos através de cálculos teóricos e análise de raios-X.

Tabela 3. Comparação entre os valores de comprimento de ligação (Å) oxigênio-oxigênio obtido por cálculos teóricos e análise por difração de raios-X

Composto	Comprimento de ligação oxigênio(4) <sup>a</sup> -oxigênio(5) (Å)		
	Cálculos Teóricos		Dados raios-X
	Semi-empírico (PM6) (erro %) <sup>b</sup>	DFT (B3LYP/6-31G(d)) (erro %) <sup>b</sup>	
<b>46</b>	1,448 (2,5)	1,481 (0,4)	1,487(2)
<b>47</b>	1,447 (3,0)	1,481 (0,7)	1,492(2)
<b>48</b>	1,444 (2,8)	1,477 (0,6)	1,485(2)
<b>49</b>	1,442 (3,8)	1,472 (1,8)	1,499(2)
<b>50</b>	1,445 (3,6)	1,479 (0,9)	1,492(2)
<b>51</b>	1,449 (3,1)	1,482 (0,9)	1,495(3)
<b>52</b>	1,449 (2,3)	1,482 (0,1)	1,484(3)

<sup>a</sup> Os números 4 e 5 nos oxigênios se referem somente as representações ORTEP-3

<sup>b</sup> Valores entre parênteses referem à porcentagem de erro entre os valores experimentais e teóricos

Como pode ser visto na Tabela 3, os comprimentos de ligação oxigênio-oxigênio calculados com o método semi-empírico PM6 apresentam maior desvio em relação aos valores experimentais (2,3-3,8%) comparados com os valores obtidos com o método DFT (0,1-1,8%). Em geral, os comprimentos de ligação O-O observados pela análise de raios-X (1,484-1,499 Å) foram mais alongados do que o valor padrão de 1,47 Å (GRIESBAUM *et al.*, 2006). Nas estruturas cíclicas dos compostos analisados esperava-se um comprimento de ligação mais curto devido à tensão de anel.

Nas Tabelas 4 e 5 são mostrados os valores adicionais (incluindo o anteriormente discutido) para os parâmetros geométricos estudados dos ozonídeos. Os resultados utilizando o método B3LYP/6-31G(d) são comparáveis com os dados experimentais de raios-X. Estes dados (Tabelas 4 e 5) apresentam muito boa correlação entre os valores experimentais e os valores calculados para estas estruturas cíclicas.

Tabela 4. Comprimento de ligação (Å) dos ozonídeos (46-52) obtidos por raios-X e cálculos teóricos

Fragmento	46		47		48		49		50		Fragmento	51		52	
	Compr. Ligação	DFT*	Compr. Ligação	DFT*	Compr. Ligação	DFT*	Compr. Ligação	DFT*	Compr. Ligação	DFT*		Compr. Ligação	DFT*	Compr. Ligação	DFT*
C(1)-C(2)	1,532(2)	1,548	1,528(2)	1,551	1,556(3)	1,552	1,614(2)	1,564	1,563(2)	1,568	C(1)-C(2)	1,542(2)	1,553	1,537(3)	1,551
C(1)-O(3)	1,411(2)	1,415	1,415(2)	1,418	1,413(2)	1,409	1,395(2)	1,421	1,422(2)	1,424	C(1)-O(3)	1,418(2)	1,416	1,421(3)	1,415
C(1)-O(4)	1,421(2)	1,425	1,432(2)	1,426	1,444(2)	1,444	1,381(2)	1,450	1,439(2)	1,441	C(1)-O(4)	1,428(2)	1,427	1,417(3)	1,426
C(2)-C(10)	1,530(2)	1,540	1,504(2)	1,536	1,515(3)	1,514	1,490(2)	1,526	1,508(2)	1,525	C(10)-C(11)	1,535(3)	1,542	1,523(4)	1,542
C(2)-C(3)	1,550(2)	1,563	1,543(2)	1,558	1,546(3)	1,584	1,502(2)	1,566	1,550(2)	1,565	C(2)-C(12)	1,524(2)	1,535	1,508(3)	1,524
C(2)-O(2)	1,429(2)	1,431	1,443(2)	1,439	1,433(2)	1,429	1,466(2)	1,444	1,445(2)	1,446	C(2)-C(3)	1,541(2)	1,560	1,543(3)	1,557
C(3)-C(4)	1,528(2)	1,544	1,512(2)	1,539	1,515(3)	1,538	1,509(2)	1,538	1,518(2)	1,538	C(2)-O(2)	1,435(2)	1,442	1,444(2)	1,439
C(3)-C(8)	1,522(2)	1,532	1,524(2)	1,533	1,529(3)	1,531	1,517(2)	1,533	1,524(3)	1,534	C(3)-C(4)	1,523(2)	1,528	1,513(3)	1,528
C(4)-C(5)	1,521(2)	1,535	1,526(2)	1,536	1,514(3)	1,537	1,512(3)	1,534	1,516(2)	1,535	C(3)-C(8)	1,544(2)	1,565	1,542(3)	1,563
C(4)-O(1)	1,212(2)	1,213	1,210(2)	1,215	1,218(2)	1,215	1,157(2)	1,215	1,210(2)	1,216	C(4)-C(5)	1,516(2)	1,528	1,513(3)	1,528
C(5)-C(6)	1,527(2)	1,541	1,521(3)	1,543	1,528(3)	1,545	1,475(2)	1,544	1,527(2)	1,544	C(4)-O(1)	1,214(2)	1,215	1,225(2)	1,216
C(5)-C(9)	1,522(2)	1,531	1,516(3)	1,531	1,518(3)	1,531	1,512(3)	1,530	1,518(2)	1,530	C(5)-C(11)	1,558(2)	1,562	1,566(3)	1,563
C(6)-C(7)	1,516(2)	1,539	1,519(2)	1,539	1,510(3)	1,539	1,585(2)	1,535	1,522(2)	1,534	C(5)-C(6)	1,527(2)	1,546	1,540(3)	1,557
C(6)-O(2)	1,432(2)	1,430	1,431(2)	1,426	1,425(2)	1,428	1,424(2)	1,424	1,420(2)	1,423	C(6)-C(7)	1,515(2)	1,539	1,538(3)	1,551
C(7)-O(3)	1,417(2)	1,419	1,422(2)	1,418	1,418(2)	1,420	1,428(2)	1,418	1,419(2)	1,416	C(6)-O(2)	1,437(2)	1,430	1,437(2)	1,439
C(7)-O(5)	1,425(2)	1,423	1,424(2)	1,424	1,417(3)	1,420	1,382(2)	1,419	1,424(2)	1,419	C(7)-O(3)	1,422(2)	1,418	1,414(3)	1,415
O(4)-O(5)	1,487(2)	1,481	1,492(2)	1,481	1,485(2)	1,477	1,499(2)	1,472	1,492(2)	1,479	C(7)-O(5)	1,420(3)	1,424	1,423(3)	1,426
C(1)-C(11)	-	-	-	-	1,524(3)	1,535	1,572(2)	1,537	1,510(2)	1,542	C(8)-C(9)	1,515(3)	1,542	1,520(3)	1,542
C(10)-C(11)	1,481(2)	1,508	1,504(3)	1,532	-	-	-	-	-	-	C(9)-C(10)	1,514(3)	1,569	1,526(4)	1,568
C(10)-O(6)	1,206(2)	1,217	-	-	-	-	-	-	-	-	O(4)-O(5)	1,484(2)	1,482	1,495(3)	1,482
C(11)-O(7)	-	-	-	-	1,198(2)	1,204	-	-	-	-	C(6)-C(13)	-	-	1,521(3)	1,524
C(11)-O(6)	-	-	-	-	1,314(2)	1,343	1,451(2)	1,436	1,390(2)	1,406	C(12)-C(13)	1,526(2)	1,534	-	-
C(12)-O(6)	-	-	-	-	-	-	-	-	1,413(3)	1,423					
C(12)-O(7)	-	-	-	-	1,452(2)	1,442	-	-	-	-					

\* Método B3LYP/6-31G(d)

Tabela 5. Ângulo de ligação (°) dos ozonídeos (46-52) obtidos por raios-X e cálculos teóricos

Fragmento	46		47		48		49		50		51		52		
	Ângulo de Ligação	DFT*	Ângulo de Ligação	DFT*	Ângulo de Ligação	DFT*	Ângulo de Ligação	DFT*	Ângulo de Ligação	DFT*	Fragmento	Ângulo de Ligação	DFT*	Ângulo de Ligação	DFT*
C(1)-C(2)-C(10)	108,99(12)	109,00	110,32(14)	109,62	113,34(16)	112,35	110,50(13)	112,29	113,23(14)	112,70	C(1)-C(2)-C(12)	110,18(13)	110,47	110,86(17)	109,77
C(1)-C(2)-C(3)	111,36(11)	111,96	110,14(14)	110,99	111,06(15)	114,48	116,60(12)	113,92	113,29(13)	114,03	C(1)-C(2)-C(3)	109,45(12)	110,93	106,25(16)	110,14
C(1)-O(3)-C(7)	99,90(10)	99,54	99,68(13)	99,38	100,67(14)	99,99	104,15(11)	100,78	101,50(12)	100,98	C(1)-O(3)-C(7)	98,83(13)	99,60	99,06(16)	99,62
C(1)-O(4)-O(5)	103,71(10)	103,99	103,54(12)	103,95	103,91(12)	104,15	105,31(10)	105,29	104,86(11)	105,28	C(1)-O(4)-O(5)	104,08(13)	103,93	103,39(17)	103,81
C(2)-C(3)-C(4)	109,50(11)	110,61	112,17(15)	111,59	112,14(15)	110,80	110,49(13)	111,77	111,23(13)	111,46	C(2)-C(3)-C(4)	112,35(11)	110,18	111,39(16)	109,86
C(2)-C(3)-C(8)	115,19(13)	115,89	114,18(14)	115,64	115,21(16)	115,76	113,49(14)	118,16	117,09(15)	118,26	C(2)-C(3)-C(8)	114,26(11)	111,59	116,57(17)	111,84
C(2)-O(2)-C(6)	110,46(10)	111,64	111,35(12)	112,19	112,03(14)	111,02	113,61(11)	112,93	112,43(11)	113,16	C(2)-O(2)-C(6)	110,74(10)	111,86	111,69(14)	112,78
C(3)-C(2)-C(10)	111,81(11)	111,32	114,12(15)	114,18	112,73(17)	111,93	110,83(13)	112,53	112,93(14)	112,51	C(3)-C(2)-C(12)	114,52(11)	114,94	114,44(17)	114,23
C(3)-C(4)-C(5)	117,18(13)	117,59	116,50(15)	116,88	117,04(17)	116,61	118,22(14)	116,59	115,17(14)	116,56	C(3)-C(4)-C(5)	117,26(12)	114,22	117,60(16)	114,20
C(4)-C(3)-C(8)	111,99(14)	111,02	112,04(15)	111,05	111,77(17)	111,96	114,57(14)	110,74	112,71(15)	111,13	C(3)-C(8)-C(9)	117,10(13)	115,16	116,50(18)	115,04
C(4)-C(5)-C(6)	110,60(12)	110,24	110,13(14)	109,97	109,44(15)	110,48	104,32(13)	109,68	109,84(13)	109,85	C(4)-C(3)-C(8)	107,37(12)	107,84	107,97(17)	108,91
C(4)-C(5)-C(9)	112,96(13)	112,15	112,77(16)	112,22	113,26(18)	112,21	116,78(17)	112,33	114,18(15)	112,34	C(4)-C(5)-C(11)	110,10(12)	109,29	108,99(19)	109,16
C(5)-C(6)-C(7)	112,03(12)	113,44	112,05(14)	112,84	112,57(17)	113,12	115,04(14)	112,67	112,03(14)	113,00	C(4)-C(5)-C(6)	110,22(13)	109,12	110,61(18)	109,86
C(6)-C(5)-C(9)	113,53(13)	114,79	114,18(17)	114,85	114,28(17)	114,77	112,23(15)	114,97	113,39(15)	114,88	C(5)-C(11)-C(10)	117,90(14)	114,93	117,70(2)	115,04
C(7)-O(5)-O(4)	103,80(10)	103,74	103,84(13)	103,76	103,99(12)	103,43	104,85(10)	103,14	103,68(11)	103,42	C(5)-C(6)-C(7)	111,63(13)	111,81	109,48(17)	110,14
O(1)-C(4)-C(3)	121,16(15)	120,96	122,06(17)	121,55	121,30(18)	121,68	121,02(17)	121,70	122,36(16)	121,75	C(6)-C(5)-C(11)	111,53(12)	110,53	113,55(17)	111,84
O(1)-C(4)-C(5)	121,55(15)	121,31	121,33(17)	121,40	121,55(19)	121,57	120,69(17)	121,57	122,39(16)	121,65	C(7)-O(5)-O(4)	103,23(12)	103,77	103,55(16)	103,81
O(2)-C(2)-C(1)	108,93(11)	108,04	106,78(13)	107,09	106,06(14)	107,14	108,37(12)	106,09	105,84(12)	106,23	C(8)-C(9)-C(10)	114,84(14)	116,50	114,83(18)	116,47
O(2)-C(2)-C(10)	106,60(11)	107,72	106,82(13)	106,14	104,75(15)	105,99	107,55(12)	104,78	103,97(13)	104,18	C(9)-C(10)-C(11)	117,22(15)	116,53	115,60(2)	116,47
O(2)-C(2)-C(3)	109,00(11)	108,64	108,33(12)	108,14	108,36(15)	108,83	102,30(12)	106,37	106,62(13)	106,23	O(1)-C(4)-C(3)	120,38(13)	122,64	120,60(2)	122,63
O(2)-C(6)-C(5)	109,62(11)	108,87	110,04(14)	109,25	110,10(16)	109,40	109,21(13)	109,49	110,78(13)	109,62	O(1)-C(4)-C(5)	122,09(14)	122,65	121,45(19)	122,63
O(2)-C(6)-C(7)	108,67(11)	108,43	108,93(13)	108,58	108,93(16)	108,56	106,89(12)	108,77	108,29(13)	108,23	O(2)-C(2)-C(1)	107,28(11)	106,59	108,09(17)	107,08
O(3)-C(1)-C(2)	109,85(11)	109,19	111,32(13)	109,95	109,10(14)	108,91	106,97(11)	108,52	109,12(12)	108,53	O(2)-C(2)-C(12)	105,90(11)	105,52	106,03(16)	106,71
O(3)-C(1)-O(4)	104,07(11)	104,62	103,70(14)	104,24	104,10(14)	104,88	101,33(12)	103,96	103,65(12)	103,69	O(2)-C(2)-C(3)	109,22(11)	107,88	111,07(15)	108,60
O(3)-C(7)-C(6)	108,98(11)	109,21	109,07(15)	108,92	109,03(15)	109,24	112,84(12)	108,98	108,37(13)	108,73	O(2)-C(6)-C(5)	110,37(11)	109,83	108,84(16)	108,60
O(3)-C(7)-O(5)	104,11(11)	104,63	103,72(14)	104,57	103,31(15)	104,07	98,17(12)	104,15	103,82(13)	104,56	O(2)-C(6)-C(7)	109,07(13)	108,07	107,98(18)	107,08
O(4)-C(1)-C(2)	110,49(11)	110,50	111,25(14)	111,38	109,41(15)	108,71	109,67(11)	108,08	108,33(13)	108,62	O(3)-C(1)-C(2)	110,34(13)	110,48	109,79(17)	110,04
O(5)-C(7)-C(6)	111,27(12)	110,85	111,39(14)	111,14	112,44(18)	111,70	113,88(13)	111,99	111,36(15)	111,49	O(3)-C(1)-O(4)	104,29(13)	104,02	104,04(19)	104,11
C(2)-C(1)-C(11)	-	-	-	-	117,30(15)	117,80	119,51(13)	120,70	120,61(14)	120,60	O(3)-C(7)-C(6)	109,42(12)	108,70	110,88(18)	110,04
C(2)-C(10)-C(11)	119,08(14)	118,09	115,72(16)	115,06	-	-	-	-	-	-	O(3)-C(7)-O(5)	104,36(15)	104,39	104,00(2)	104,11
C(11)-O(6)-C(12)	-	-	-	-	-	-	-	-	111,99(17)	114,86	O(4)-C(1)-C(2)	110,60(13)	110,98	112,51(17)	111,28
C(11)-O(7)-C(12)	-	-	-	-	116,34(16)	115,28	-	-	-	-	O(5)-C(7)-C(6)	112,14(15)	111,41	111,54(18)	111,28
O(3)-C(1)-C(11)	-	-	-	-	111,23(15)	109,98	114,27(12)	108,96	105,48(13)	105,93	C(5)-C(6)-C(13)	-	-	114,70(2)	114,23
O(4)-C(1)-C(11)	-	-	-	-	104,80(14)	105,74	103,47(12)	105,33	108,37(13)	108,18	C(7)-C(6)-C(13)	-	-	108,63(19)	109,77
O(6)-C(11)-C(1)	-	-	-	-	112,52(16)	109,22	115,40(14)	112,30	110,80(15)	116,10	O(2)-C(6)-C(13)	-	-	106,96(17)	108,60
O(6)-C(10)-C(11)	121,83(15)	123,04	-	-	-	-	-	-	-	-	C(2)-C(12)-C(13)	114,55(14)	115,68	-	-
O(6)-C(10)-C(2)	119,09(14)	118,86	-	-	-	-	-	-	-	-					
O(7)-C(11)-C(1)	-	-	-	-	121,82(19)	124,99	-	-	-	-					
O(7)-C(11)-O(6)	-	-	-	-	125,66(19)	125,77	-	-	-	-					

\* Método B3LYP/6-31G(d)

Outro parâmetro importante é o ângulo diedro, no caso, H6-C6-C5-H5 para os ozonídeos **46-52** (Figura 14). A partir desse ângulo, é possível atribuir a estereoquímica do carbono que ostenta os grupos metil e esta informação pode ser obtida por dados de RMN de  $^1\text{H}$  (HOFFMANN *et al.*, 1973). Os valores calculados para os ângulos diedros são comparados com os dados experimentais de raios-X mostrados na Tabela 6. Tal como pode ser observado a partir destes dados uma melhor correlação com os dados experimentais foram obtidos a partir dos cálculos DFT. Além disso, os valores calculados para a constante de acoplamento  $J$  estão em boa concordância com os dados experimentais obtidos por RMN de  $^1\text{H}$ .

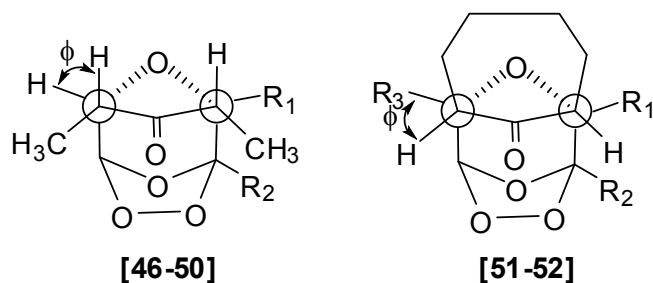


Figura 14. Estruturas tridimensionais dos compostos **46-52** ( $R_1 = \text{COCH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_3$ ;  $R_2 = \text{H}, (\text{CO})\text{OCH}_3, \text{CH}_2\text{OH}, \text{CH}_2\text{OCH}_3$ ;  $R_3 = \text{H}, \text{CH}_3$ ) mostrando o ângulo diedro ( $\phi$ ) H6-C6-C5-H5

Tabela 6. Comparação entre o valor experimental e teórico do ângulo diedro para os átomos H5-C5-C6-H6 e da constante de acoplamento  $J_{5,6}$

Composto	Ângulo Diedro ( $\phi$ H5-C5-C6-H6)			Constante de acoplamento (J/Hz), H-5 and H-6	
	Cálculos Teóricos			Experimental	Teórico (B3LYP/6-311++g(2d,p)) (erro %) <sup>a</sup>
	Semi-empírico (PM6) (erro %) <sup>a</sup>	DFT (B3LYP/6-31G(d)) (error %) <sup>a</sup>	X-ray data		
<b>46</b>	-48,5° (12,1)	- 55,2° (0,0)	-55,2°	6,9	6,8 (1,4)
<b>47</b>	-49,1° (13,2)	- 56,0° (1,1)	-56,6°	7,2	7,2 (0,0)
<b>48</b>	-49,2° (13,7)	- 55,5° (2,6)	-57,0°	6,5	6,6 (1,5)
<b>49</b>	-50,1° (16,1)	- 55,6° (6,9)	-59,7°	7,0	7,2 (2,8)
<b>50</b>	-50,1° (11,3)	- 54,8° (3,0)	-56,5°	6,8	6,7 (1,5)
<b>51</b>	72,5° (2,7)	70,6° (0,0)	70,6°	- <sup>b</sup>	-
<b>52<sup>c</sup></b>	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Valores entre parênteses referem a porcentagem de erro entre o valor teórico e o valor experimental

<sup>b</sup> Não foi medido o valor, pois o sinal era um multiplete

<sup>c</sup> No ozonídeo **[52]** há um grupo metil no carbono C6

#### 4.4. Conclusões

Uma série de novos ozonídeos estáveis foram sintetizados com intuito de encontrar novas moléculas fitotóxicas. Neste capítulo foram estudadas a estrutura de sete ozonídeos através de difração de raios-X e também por cálculos teóricos semi-empíricos (PM6) e por métodos da teoria do funcional de densidade (DFT). A partir das análises de raios-X verificou-se que cinco ozonídeos (**47-50**) cristalizam no sistema cristalino monoclinico com grupo espacial  $P2_1/c$  como cristal racêmico. O composto **[52]** é o único que apresenta cristal enantiopuro dentre os compostos estudados. O resultado mais inusitado foi obtido para o composto **[46]** que cristaliza em um grupo espacial centrossimétrico incomum  $R\bar{3}m$ , o que representa aproximadamente 0,04% do número total de estruturas depositadas no Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge/UK (CCDC em inglês). Os resultados de otimização de geometria usando o funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G(d) estão em concordância com os dados experimentais obtidos por raios-X e também por RMN de  $^1H$ .

## CONCLUSÕES GERAIS

Uma série de compostos do tipo 1,2,4,5-tetraoxanos foram preparados utilizando compostos carbonílicos na presença de peróxido de hidrogênio em meio ácido, posteriormente o hidroperóxido formado reagiu com outro composto carbonílico em meio ácido formando um total de vinte 1,2,4,5-tetraoxanos de interesse, que foram completamente caracterizadas via espectroscopia no IV e de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Embora na maioria dos casos tenham sido obtidos baixos rendimentos no preparo dos mesmos, pode-se destacar algumas vantagens nessa metodologia, como a facilidade em realizar a síntese em duas etapas rápidas sem a necessidade de tratamento prévio de solventes e reagentes, além de utilizar reagentes de baixo valor econômico viabilizando sua utilização.

O presente trabalho investigou pela primeira vez a fitotoxicidade desta classe de compostos, na qual os vinte tetraoxanos sintetizados foram avaliados inicialmente com respeito à sua capacidade de inibir o crescimento radicular e de parte aérea em plântulas de pepino e sorgo. Todos apresentaram resultados satisfatórios no tocante a fitotoxicidade e sete destes foram mais ativos, com resultados estatisticamente comparáveis aos herbicidas comerciais *glyphosate* e *imazethapyr* e então, estes foram avaliados com respeito à sua capacidade em inibir o crescimento da biomassa de raiz e de caule em plantas daninhas (picão-preto, falso-massambará, braquiária e leiteiro), além da avaliação visual dos sintomas causados pelos compostos nas plantas. Os resultados obtidos mostraram que de maneira geral, os compostos foram mais ativos em plantas monocotiledôneas, demonstrando seletividade para essa classe de compostos, além de um deles apresentar resultados de inibição do crescimento da biomassa na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , superiores aos herbicidas

utilizados no teste, apresentando ainda, sintomas visíveis nas plantas como amarelecimento das folhas e necrose das raízes.

Realizou-se também, estudos teóricos com o intuito de compreender melhor esta classe de compostos e poder direcionar a síntese de novas substâncias, a partir dos primeiros resultados de ensaio biológico envolvendo os 1,2,4,5-tetraoxanos. Nesse sentido, primeiro foi calculado o valor de  $EC_{50}$  e alguns dos compostos sintetizados apresentaram valores da ordem de micromolar e bem menores que os apresentados pelos herbicidas comerciais utilizados neste trabalho. De posse destes valores foi calculado o  $\log 1/EC_{50}$  e juntamente com a análise conformacional das estruturas dos compostos sintetizados tentou-se chegar a um modelo matemático capaz de relacionar de maneira quantitativa a atividade biológica dos compostos com sua estrutura química, porém não foi possível estabelecer nenhuma correlação estrutural ou eletrônica com a bioatividade dos mesmos. Por último, alguns parâmetros teóricos que servem de ajuda para direcionar a síntese de novas moléculas foram calculados, demonstrando que os compostos mais ativos (sete tetraoxanos escolhidos para os testes com plantas daninhas) apresentaram valores muito próximos aos considerados ideais para uma molécula ser um potencial herbicida.

No intuito de caracterizar de forma completa os 1,2,4-trioxolanos (ozonídeos), realizou-se então, estudos da estrutura de sete ozonídeos através de difração de raios-X e também por cálculos teóricos. A partir das análises de raios-X verificou-se que cinco ozonídeos cristalizam no sistema cristalino monoclinico com grupo espacial  $P2_1/c$  como cristal racêmico. Um composto foi o único que apresentou-se como cristal enantiopuro dentre os compostos estudados e ainda um outro composto cristalizou em um grupo espacial centrossimétrico incomum  $R\bar{3}m$ , representando aproximadamente 0,04% do número total de estruturas conhecidas. Os resultados de otimização de geometria usando cálculos DFT estão em concordância com os dados experimentais obtidos por raios-X e também por RMN de  $^1H$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÂNTARA, A. F.; PILÓ-VELOSO, D.; De ALMEIDA, W. B.; MALTHA, C. R. A.; BARBOSA, L. C. A. Conformational analysis of 8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one derivatives by NMR and theoretical calculations. **J. Mol. Struct.**, vol. 791, p. 180-185, 2006.

ALLEN, F. H. The Cambridge structural database: a quarter of a million crystal structures and rising. **Acta Cryst. B**, vol. 58, n. 1, p. 380-388, 2002.

ALLERHAND, A.; SCHLEYER, P. von R. A survey of C-H groups as proton donors in hydrogen bonding. **J. Am. Chem. Soc.**, vol. 85, n. 12, p. 1715-1723, 1963.

ANTHONY, R. G.; HUSSEY, P. J. Dinitroaniline herbicide resistance and the microtubule cytoskeleton. **Trend Plant Sci.**, vol. 4, n. 3, p. 112-116, 1999.

AZARIFAR, D.; KHOSRAVI, K.  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$  as a catalyst for simple and efficient synthesis of *gem*-dihydroperoxides from ketones and aldehydes using aqueous  $H_2O_2$ . **J. Iran. Chem. Soc.**, vol. 8, nº 4, p. 1006-1013, 2011.

BAGCHI, G. D.; JAIN, D. C.; KUMAR, S. The phytotoxic effects of artemisinin and related compounds of *Artemisia annua*. **J. Med. Arom. Plant Sci.**, vol. 20, p. 5–11, 1998.

BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; LAGE, M. R.; BARCELOS, R. C.; DONÀ, A.; CARNEIRO, J. W. M.; FORLANI, G. Synthesis of rubrolide analogues as new inhibitors of the photosynthetic electron transport chain. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 60, p. 10555 – 10563, 2012.

BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; CUSATI, R. C.; TEIXEIRA, R. R.; RODRIGUES, F. F.; SILVA, A. A.; DREW, M. G. B.; ISMAIL, F. M. D. Synthesis and biological evaluation of new ozonides with improved plant growth regulatory activity. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 57, p. 10107 – 10115, 2009.

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. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 56, p. 9434 – 9440, 2008.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189p.

BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; ALVARENGA, E. S. Síntese e avaliação da atividade antimalárica de novos ozonídeos. **Ecl. Quím.**, vol. 27, p. 171-183, 2002.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R. Modelagem Molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. **Quím. Nova**, vol. 20, n. 1, p. 1-11, 1997.

BELZ, R. G.; CEDERGREEN, N.; DUKE, S. O. Herbicide hormesis – can it be useful in crop production?. **Weed Res.**, vol. 51, n. 4, p. 321-332, 2011.

BERNSTEIN, J.; DAVIS, R. E.; SHIMONI, L.; CHANG, N. L. Patterns in hydrogen bonding: functionality and graph set analysis in crystals. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, vol. 34, p. 1555-1573, 1995.

CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. B. Hormesis and plant biology. **Environ. Pollut.**, vol. 157, n. 1, p. 42-48, 2009.

CANTRELL, C. L.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural products as sources for new pesticides. **J. Nat. Prod.**, vol. 75, p. 1231–1242, 2012.

CEDERGREEN, N. Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? **Environ. Pollut.**, vol. 156, p. 1099-1104, 2008.

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. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 53, p. 4091-4095, 2005.

CHEN, P. K.; LEATHER, G. R. Plant growth regulatory activities of artemisinin and its related compounds. **J. Chem. Ecol.**, vol. 16, n. 6, p. 1867-1876, 1990.

CHISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ OVEJERO, R. F.; NICOLAI, M.; VARGAS, L. V.; CARVALHO, S. J. P.; CAETANO, A. C.; CARVALHO, J. C.; MOREIRA, M. S. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**, Piracicaba: HRAC-BR, 2008, 120p.

CIANCI, M.; HELLIWELL, J. R.; HELLIWELL, M.; KAUCIC, V.; LOGAR, N. Z.; MALI, G.; TUSAR, N.N. Anomalous scattering in structural chemistry and biology. **Crystallogr. Rev.**, vol. 11, n. 4, p. 245-335, 2005.

CLARKE, E. D.; DELANEY, J. S. Physical and molecular properties of agrochemicals: an analysis of screen inputs, hits, leads and products. **Chimia – Intern. J. Chem.**, vol. 57, n.11, p 731-734, 2003.

COBB, A. **Herbicides and plant physiology**. London: Chapman & Hall, 1992. 176 p.

COPPING, L. G. **Crop protection agents from nature. Natural products and analogues**. United Kingdom: The Royal Society of Chemistry, 1996. 501p.

CRIEGEE, R. Mechanism of ozonolysis. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, vol. 14, n. 11, p. 745-752, 1975.

CUSATI, R. C. **Síntese e Fitotoxicidade de Ozonídeos Substituídos Derivados de 8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-onas**. Dissertação de Mestrado. Viçosa, 130p., 2008.

DAYAN, F. E.; HERNÁNDEZ, A.; ALLEN, S. N.; MORAES, R. M.; VROMAN, J. A.; AVERY, M. A.; DUKE, S. O. Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. **Phytochem.**, vol. 50, p. 6007-6014, 1999.

DEUBER, R. **Ciência das plantas daninhas: Fundamentos**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 1992. 431p.

DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model. **J. Am. Chem. Soc.**, vol. 107, p. 3902-3909, 1985.

DEVINE, M. D., SHUKLA, A. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. **Crop Protec.**, vol. 19, p. 889-889, 2000.

DREW, M. G. B.; METCALFE, J.; DASCOMBE, M. J.; ISMAIL, F. M. D. *De novo* identification and stability of the artemisinin pharmacophore: Studies of the reductive decomposition of deoxyartemisinins and deoxyarteethers and the implications for the mode of antimalarial action. **J. Mol. Struct.: THEOCHEM**, vol. 823, p. 34–46, 2007.

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 disc. in Agrochem.*, p.151-160, 2005.

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.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHARADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemicals from nature for weed management. **Weed Sci.**, vol. 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 Res.**, vol. 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**, vol. 19, p. 583-589, 2000b.

DUKE, S. O.; VAUGHIN, K. C.; JR, E. M. C.; ELSOHL, H. N. Artemisinin, a constituent of annual wormwood (*Artemisia annua*), is a selective phytotoxin. **Weed Sci.**, vol. 35, p. 499-505, 1987.

EINHELLING, F. A.; SCHON, M. K.; RASMUSSEN, J. A. Synergistic effects of four cinnamic acid compounds on grain sorghum. **J. Plant Growth Regul.**, vol. 1, p. 251-258, 1983.

ELLIS, G. L.; AMEWU, R.; SABBANI, S.; STOCKS, P. A.; SHONE, A.; STANFORD, D.; GIBBONS, P.; DAVIES, J.; VIVAS, L.; CHARNAUD, S.; BONGARD, E.; HALL, C.; RIMMER, K.; LOZANOM, S.; JESÚS, M.; GARGALLO, D.; WARD, S. A.; O'NEILL, P. M. Two-step synthesis of achiral dispiro-1,2,4,5-tetraoxanes with outstanding antimalarial activity, low toxicity and high-stability profiles. **J. Med. Chem.**, vol. 51, p. 2170-2177, 2008.

EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL - EWRC. Report of 3rd and 4rd meetings of EWRC. Citee of methods in weed research. **Weed Res.**, vol. 4, n. 1, p. 88, 1964.

FARRUGIA, L. J. *WinGX* and *ORTEP* for Windows: an update. **J. App. Crystal.**, vol. 30, p. 565, 1997.

FARRUGIA, L. J. *Ortep3* for Windows – a version of *Ortep-III* with a graphical user interface (GUI). **J. App. Crystal.**, vol. 45, p. 849-854, 2012.

FERREIRA, M. M. C. Multivariate QSAR. **J. Braz. Chem. Soc.**, vol. 13, n. 6, p. 742-753, 2002.

FRANCL, M. M.; PIETRO, W. J.; HEHRE, W. J.; BINKLEY, J. S.; GORDON, M. S.; DeFREES, D. J.; POPLE, J. A. Self-consistent molecular orbital methods.

XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. **J. Chem. Phys.**, vol. 77, n. 7, p. 3654-3665, 1982.

FRANCO, L. L.; ALMEIDA, M. V.; SILVA, L. F. R.; VIEIRA, P. P. R.; POHLIT, A. D.; VALLE, M. V. Synthesis and antimalarial activity of dihydroperoxides and tetraoxanes conjugated with bis(benzyl)acetone derivatives. **Chem. Biol. Drug. Des.**, p. 1-8, 2012.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; ZAKRZEWSKI, V. G.; MONTGOMERY, J. A.; STRATMANN, R. E.; BURANT, J. C.; DAPPRICH, S.; MILLAM, J. M.; DANIELS, A. D.; KUDIN, K. N.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; TOMASI, J.; BARONE, V.; COSSI, M.; CAMMI, R.; MENNUCI, B.; POMELLI, C.; ADAMO, C.; CLIFFORD, S.; OCHTERSKI, J.; PETERSON, G. A.; AYALA, P. Y.; CUI, Q.; MOROKUMA, K.; MALICK, D. K.; RABUCK, A. D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J. B.; CIOSLOWSKI, J.; ORTIZ, J. V.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; GOMPERS, R.; MARTIN, R. L.; FOX, D. J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; GONZALES, C.; CHALLACOMBE, M.; GIL, P. M. W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M. W.; ANDRES, J. L.; HEADGORDON, M.; REPLOGLE, E. S.; POPLER, J. A. **GAUSSIAN 09 program**. Pittsburgh, PA: Gaussian Inc., 2009.

**GAUSSIAN 09**, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.

GELETNEKY, C.; BERGER, S. The mechanism of ozonolysis revisited by <sup>17</sup>O-NMR spectroscopy. **Eur. J. Org. Chem.**, vol. 98, n. 8, p. 1625-1627, 1998.

GODFREY, C. R. A. **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcel Dekker, Inc.: 1995. 418 p.

GRIESBAUM, K.; FRANK, A.; MCCULLOUGH, K. J. Syn- and anti-isomers of a O-methyloxime-substituted tricyclic ozonide. **Eur. J. Org. Chem.**, vol 8, p. 1978-1980, 2006.

HAO, G.; DONG, Q.; YANG, G. A comparative study on the constitutive properties of marketed pesticides. **Mol. Inf.**, vol.30, p.614-622, 2011.

HEAP, I. International survey of herbicide resistant weeds. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acessado em 08 de Maio de 2013.

HOFFMANN, H. M. R.; HENNING, R.; LALKO, O. R. Synthesis of seven- and five-membered rings from allyl cations. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, vol. 12, n. 10, p. 819-835, 1973.

JEFFORD, C. W.; BOUKOUVALAS, A. J. J. Efficient preparation of 1,2,4,5-tetraoxanes from bis(trimethylsilyl) peroxide and carbonyl compounds. **Synthesis**, p. 391-393, 1988.

KAPPOR, R.; CHAUDHARY, V.; BHATNAGAR, A.K. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. **Mycorrhiza**, vol. 17, p. 581–587, 2007.

KATRITZKY, A. R.; KULSHYN, V.; STOYANOVA-SLAVOVA, I.; DOBCHEV, D. A.; KUANAR, M.; FARA, D. C.; KARELSON, M. Antimalarial activity: a QSAR modeling using CODESSA PRO software. **Bioorg. & Med. Chem.**, vol. 14, p. 2333-2357, 2006.

KATRITZKY, A. R.; FARA, D. C.; KARELSON, M. QSPR of 3-aryloxazolidin-2-one antibacterials. **Bioorg. & Med. Chem.**, vol. 12, p. 3027–3035, 2004a.

KATRITZKY, A. R.; KARELSON, M.; LOBANOV, V. S.; DENNINGTON, R.; KEITH, T. **User's Manual Codessa**. Semichem, Inc., Shawnee, KS, 2004b.

KIM, H-S; SHIBATA, Y; WATAYA, Y.; TSUCHIYA, K.; MASUYAMA, A.; NOJIMA, M. Synthesis and antimalarial activity of cyclic peroxides, 1,2,4,5,7-pentoxacanes and 1,2,4,5-tetroxanes. **J. Med. Chem.**, vol. 42, p. 2604-2609, 1999.

KUMAR, N.; STINGH, R.; RAVAT, D. Tetraoxanes: synthetic and medicinal chemistry perspective. **Med. Res. Rev.**, vol. 32, n. 3, p. 581-610, 2012.

LEIN, W.; BORNKE, F.; REINDL, A.; EHRHARDT, T.; STITT, M.; SONNEWALD, U. Target-based discovery of novel herbicides. **Curr. Op. Plant Biol.**, vol.7, p. 219-225, 2004.

LILL, M. A. Multi-dimensional QSAR in drug Discovery. **Drug Disc. Today**, vol. 12, p. 23-24, 2007.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug Discovery and development settings. **Adv. Drug Del. Rev.**, vol. 23, p. 3-25, 1997.

MACÍAS, F. A.; CHINCHILLA, N.; VARELA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G.; MARÍN, D.; SIQUEIRA, J. M. Aromatic-ring-functionalised benzoxazinones in the system *Oryza sativa* – *Echinochloa crus-galli* as biorational herbicide models. **Pest. Manag. Sci.**, vol. 65, p. 1104-1113, 2009.

MACÍAS, F. M.; MARÍN, D.; OLIVEROS-BASTIDAS, A.; CASTELLANO, D.; SIMONET, A. M.; MOLINILLO, J. M. G. Structure-activity relationship (SAR) studies of benzoxazinones, their degradation products, and analogues. phytotoxicity on problematic weeds *Avena fatua* L. and *Lolium rigidum* Gaud. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 54, p. 1040-1048, 2006.

MACÍAS, F. A.; VELASCO, R. F.; VIÑOLO, V. M. I.; CASTELLANO, D.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G. *Cluster* analysis. A valuable tool for allelopathic SAR studies? In **Allelopathy: from Molecules to Ecosystems**; REIGOSA, M. J.; PEDROL, N., Eds.; Science Publishers, Inc.: Enfield, NH, 2002. p. 305-316.

MACRAE, C.F.; EDGINGTON, P. R.; McCABE, P.; PIDCOCK, E.; SHIELDS, G. P.; TAYLOR, R.; TOWLER, M.; van de STREEK, J. *Mercury: visualization and analysis of crystal structures*. **J. App. Crystal.**, vol. 39, p. 453-457, 2006.

MESHNICK, S. R. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. **Int. J. Parasitol.**, vol. 32, p. 1655-1660, 2002.

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 Manag. Sci.**, vol. 57, p. 120-128, 2001.

MASUNARI, A.; TAVARES, L. C. Aplicação de estudos de QSAR-2D em derivados 5-nitro-2-tiofilidênicos com atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* multiresistente (MRSA). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 42, n. 2, p. 203-214, 2006.

**Molinspiration**. Disponível em: <<http://www.molinspiration.com>>. Acessado em 18 de Junho de 2013.

NETO, Q. A. L.; NOGUEIRA, M. A. REIS, R. R.; MELO, E. B. Estudo da relação estrutura-atividade quantitativa de dibenzoilmetanos  $\alpha$ -substituídos quanto à atividade anticâncer da mama (linhagem celular MCF7). **Revista Brasileira de Cancerologia**, vol. 52, n. 4, p. 345-357, 2006.

**NONIUS COLLECT**. Nonius BV, Delft, The Netherlands, 1999.

OLIVA, A.; MORAES, R. M.; WATSON, S. B.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Aryltetralin lignans inhibit plant growth by affecting the formation of mitotic microtubular organizing centers. **Pestic. Biochem. Physiol.**, vol. 72, n. 1, p. 45-54, 2002.

van ORNUM, S. G; CHAMPEAU, R. M.; PARIZA, R. Ozonolysis applications in drug synthesis. **Chem. Rev.**, vol. 106, n. 7, p. 2990-3001, 2006.

OPENMOPAC. Disponível em: <<http://openmopac.net/manual/index.html>>. Acessado em 23 de Maio de 2013.

OPSENICA, I.; OPSENICA, D.; SMITH, K. S.; MILHOUS, W. K.; SOLJA, B. A. Chemical stability of the peroxide bond enables diversified synthesis of potent tetraoxane antimalarials. **J. Med. Chem.**, vol. 51, p. 2261-2266, 2008a.

OPSENICA, D. M.; TERZIC, N.; SMITH, P. L.; YANG, Y.; ANOVA, L.; SMITH, K. S.; SOLAJA, B. A. Mixed tetraoxanes containing the acetone subunit as antimalarials. **Bioorg. and Med. Chem.** vol. 16, p. 7039-7045, 2008b.

OPSENICA, I.; TERZIC, N.; OPSENICA, D.; ANGELOVSKI, G.; LEHING, M.; EILBRACHT, P.; TINANT, B.; JURANIC, Z.; SMITH, K. S.; YANG, Y. S.; DIAS, D. S.; SMITH, P. L.; MILHOUS, W. K.; DOKOVIC, D.; SOLAJA, B. A. Tetraoxane antimalarials and their reaction with Fe(II). **J. Med. Chem.**, vol. 49, p. 3790-3799, 2006.

OTWINOWSKI, Z.; MINOR, W. Methods in enzymology, in: CARTER JR., C.W.; SWEET, R. M. (Eds.), **Macromolecular Crystallography, Part A**, vol. 276, Academic Press, New York, 1997, pp. 307-326.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 700p.

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. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 51, p. 2246-2252, 2003.

PEREIRA, U. A. **Síntese e Avaliação da Atividade Fitotóxica de 8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona Substituídos e de Ozonídeos Derivados**. Dissertação de Mestrado. Viçosa, 107p., 2008.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 3.ed. Londres: Butterworth-Heinemann Ltd., 1994. 340p.

**PRISM 4.0. GraphPad Software**, Inc., San Diego, CA, 2003.

REIS, F. P. **Curso de Estatística Aplicada**, Viçosa, 2006. 103p.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. L. S. **Guia de Herbicidas**. 5. ed. Londrina: Edição dos Autores, 2005. 591p.

RODRIGUES, C. R. Processos Modernos no Desenvolvimento de Fármacos: Modelagem Molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova**, n. 3, p. 43-49, 2001.

SANTOS, H. F. O Conceito da Modelagem Molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 4, p. 4-5, 2001.

SASHIDHARA, K. V.; AVULA, S. R.; SINGH, L. R.; PALNATI, G. R. A facile and efficient Bi(III) catalyzed synthesis of 1,1-dihydroperoxides and 1,2,4,5-tetraoxanes. **Tetrahedron Lett.**, vol. 53, p. 4880-4884, 2012.

SAXENA, S.; PANDEY, A. K. Microbial metabolites as eco-friendly agrochemicals for the next millennium. **App. Microb. Biotec.**, vol. 55, p. 395-403, 2001.

SELASSIE, C. D. **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**. John Wiley&Sons, Inc., 6<sup>a</sup> ed., v. 1, 2003. 48p.

SEMICHEM. Disponível em: <http://www.semichem.com/codessa/>. Acessado em 01 de Junho de 2013.

SENECI, P.; MIERTUS, S. Combinatorial chemistry and high-throughput screening in drug discovery: Different strategies and formats. **Molec. Divers.**, vol. 5, p. 75-89, 2000.

SHELDERICK, G. M.; *SHELXL-2013. Program for crystal structure analysis*. Germany: University of Göttingen, 2008.

SHORT, P. L. Growing Agr. Chem. r & d. **Chemical and Engineering News**, vol. 83, p.19-22, 2005.

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**. Viçosa: Editora UFV, 279-324, 2007.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SILVA, J. F. **Controle de plantas daninhas**. Brasília: ABEAS, Viçosa: UFV, 2001, 201p.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6.ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2000. 460p.

SINDAG. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. Disponível em: <http://www.sindag.com.br>. Acessado em 15 de Dezembro de 2013.

**SPARTAN '06**. Wavefunction Inc., Irvine, CA, USA, 2011.

**STATISTICA for Windows 5.0 Software**. Statsoft Inc., Tulsa, OK, 1995.

STEPHENS, P. J.; DEVLIN, F. J.; CHABALOWSKI, C. F.; FRISCH, M. J. Ab Initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields. **J. Phys. Chem.**, vol. 98, n. 45, p. 11623-11627, 1994.

STETTER, J.; LIEB, F. Innovation in crop protection: Trends in research. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, vol. 39, p. 1724-1744, 2000.

STILES, L. H.; LEATHER, G. R.; CHEN, P. K. Effects of two sesquiterpene lactones isolated from *Artemisia annua* on physiology of *Lemna minor*. **J. Chem. Ecol.**, vol. 20, n. 4, p. 969-978, 1994.

TAVARES, L. C. QSAR: A Abordagem de Hansch. **Quim. Nova**, vol. 27, n. 4, p. 631-639, 2004.

TERENT'EV, A. O.; BORISOV, D. A.; CHERNYSHEV, V. V.; NIKISHIN, G. I. Facile and selective procedure for the synthesis of bridged 1,2,4,5-tetraoxanes; strong acids as cosolvents and catalyst for addition of hydrogen peroxide to  $\beta$ -diketones. **J. Org. Chem.**, vol. 74, p. 3335-3340, 2009.

TERENT'EV, A. O.; KURKIN, A. V.; PLATONOV, M. M.; VORONTSOV, I. I.; ANTIPIN, M. Y.; OGIBIN, Y. N.; NIKISHIN, G. I. Synthesis of peroxide compounds by the  $\text{BF}_3$ -catalyzed reaction of acetals and enol ethers with  $\text{H}_2\text{O}_2$ . **Rus. Chem. Bul., Intern. Ed.**, vol. 53, n. 3, p. 681-687, 2004.

TICE, C. M. Selecting the right compounds for screening: use of surface-area parameters. **Pest Manag. Sci.**, vol. 58, p. 219-233, 2002.

vanKLINK, J. W.; BROPHY, J. J.; PERRY, N. B.; WEAVERS, R.  $\beta$ -triketones from Myrtaceae: Isoleptospermone from *Leptospermum scoparium* and papuanone from *Corymbia dallachiana*. **J. Nat. Prod.**, vol. 62, p. 487-489, 1999.

VAUGHAN, K. C.; LEHNEN, L. P. J. Miotic disrupter herbicides. **Weed Sci.**, vol. 39, n. 3, p. 450-457, 1991.

VYVYAN, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, vol. 58, p. 1631-1646, 2002.

WALTER, M. W. Structure-based design of agrochemicals. **Nat. Prod. Rep.**, vol. 19, p. 278-291, 2002.

WANG, W.; HE, H. W.; ZUO, N.; HE, H. F.; PENG, H.; TAN, X. Synthesis and herbicidal activity of 2-(substituted phenoxyacetoxy)-alkyl-5,5-dimethyl-1,3,2-dioxaphosphinan-2-one. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 60, p. 7581-7587, 2012.

WANG, Z.; SONG, J.; CHEN, J.; SONG, Z.; SHANG, S.; JIANG, Z.; HAN, Z. QSAR study of mosquito repellents from terpenoid with a six-member-ring. **Bioorg. & Med. Chem. Let.**, vol. 18, p. 2854–2859, 2008.

WARE, G. W. **The pesticide book**. Fresno: Thomson Publications, 2000, 418p.

XIA, B.; MA, W.; ZHENG, B.; ZHANG, X.; FAN, B. Quantitative structure-activity relationship studies of a series of non-benzodiazepine structural ligands binding to benzodiazepine receptor. **Eur. J. Med. Chem.**, vol. 43, p. 1489-1498, 2008.

ZMITEK, K.; ZUPAN, M.; STAVBER, S.; ISKRA, J. The Effect of iodine on the peroxidation of carbonyl compounds. **J. Org. Chem.**, vol. 72, p 6534-6540, 2007.

ZMITEK, K.; STAVBER, S.; ZUPAN, M.; BONNET-DELPON, D.; CHARNEAU, S.; GRELLIER, P.; ISKAR, J. Synthesis and antimalarial activities of novel 3,3,6,6-tetraalkyl-1,2,4,5-tetraoxanes. **Bioorg. & Med. Chem.**, vol. 14, p. 7790-7795, 2006.

# **ANEXO I**

# **ESPECTROS**

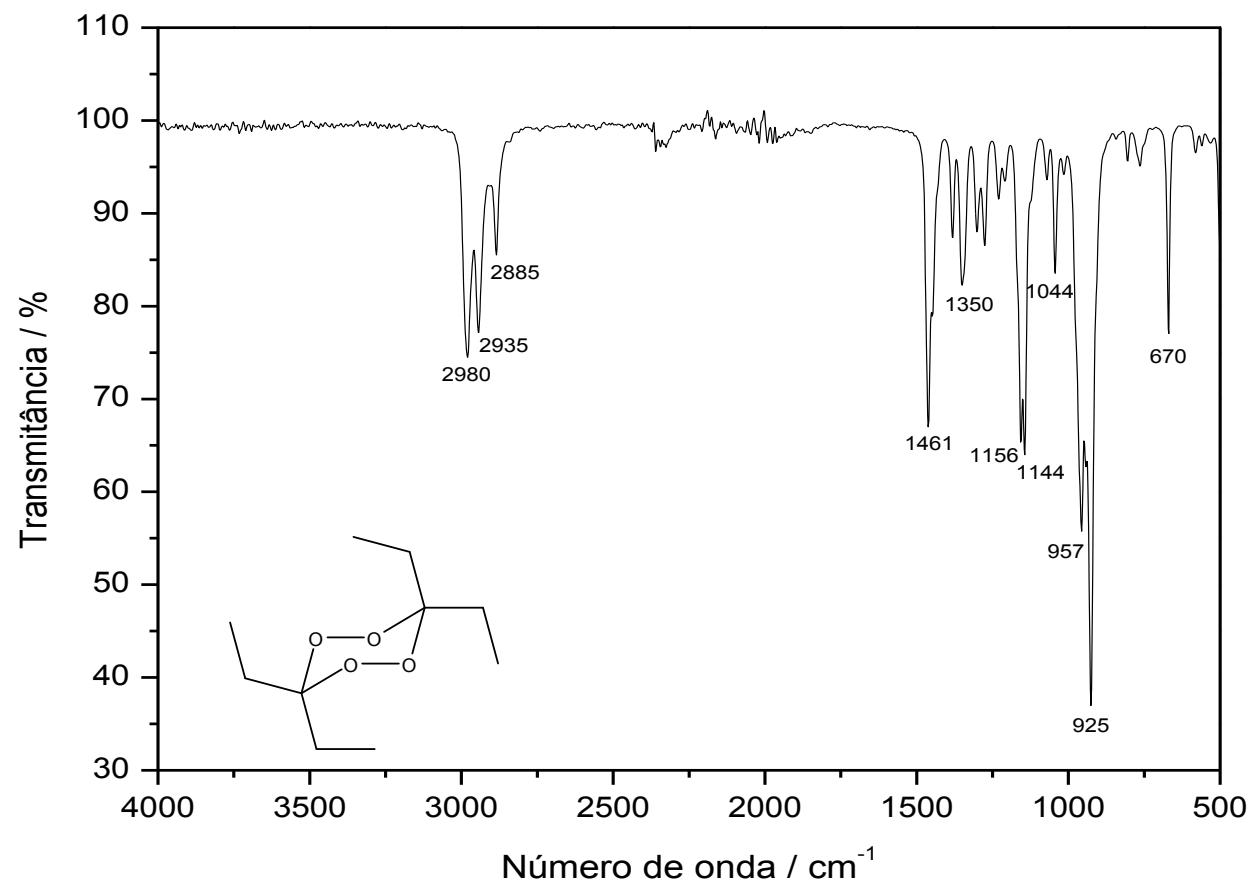


Figura 1. Espectro no infravermelho (IV) do composto [27]

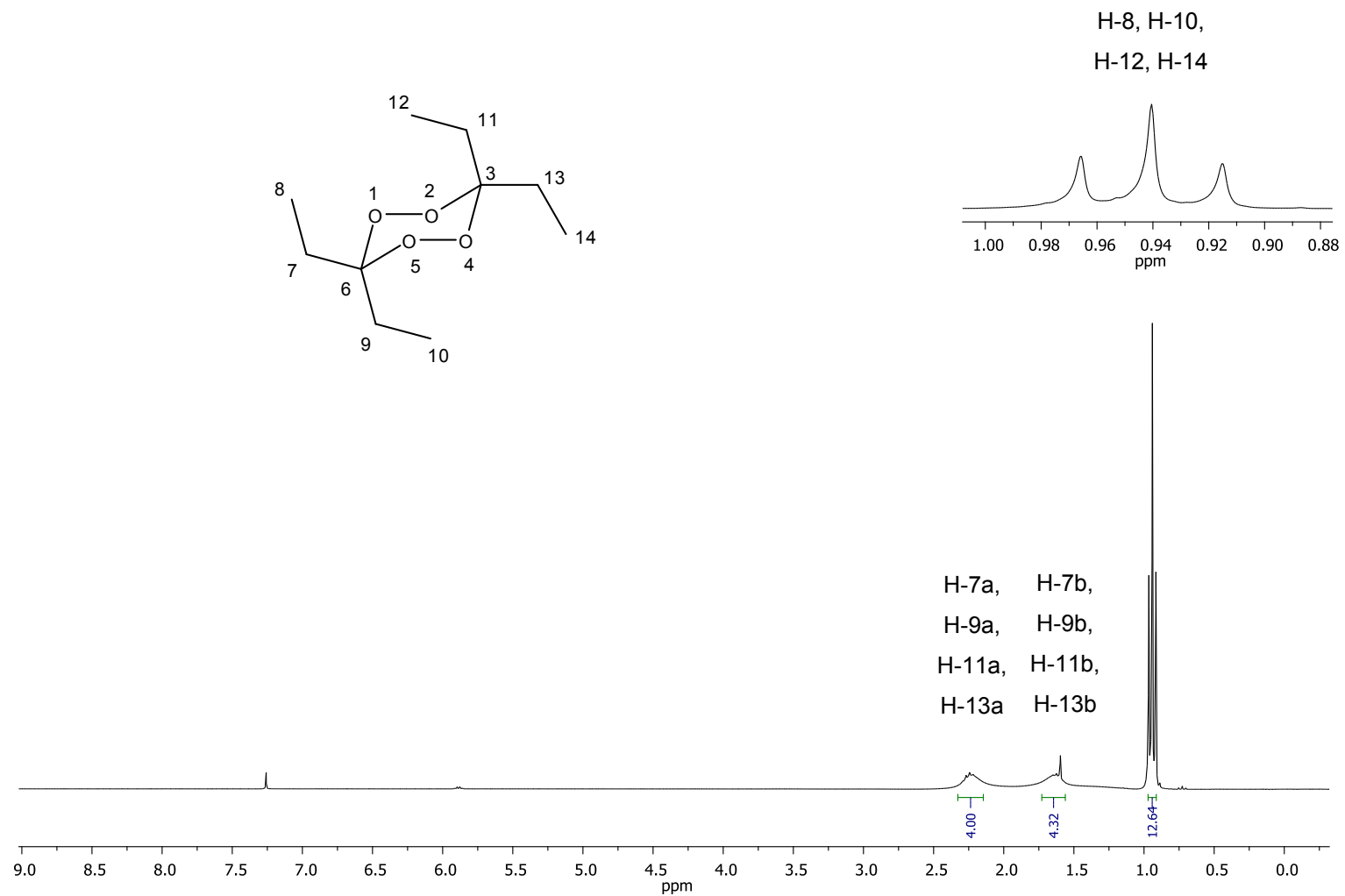


Figura 2. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [27]

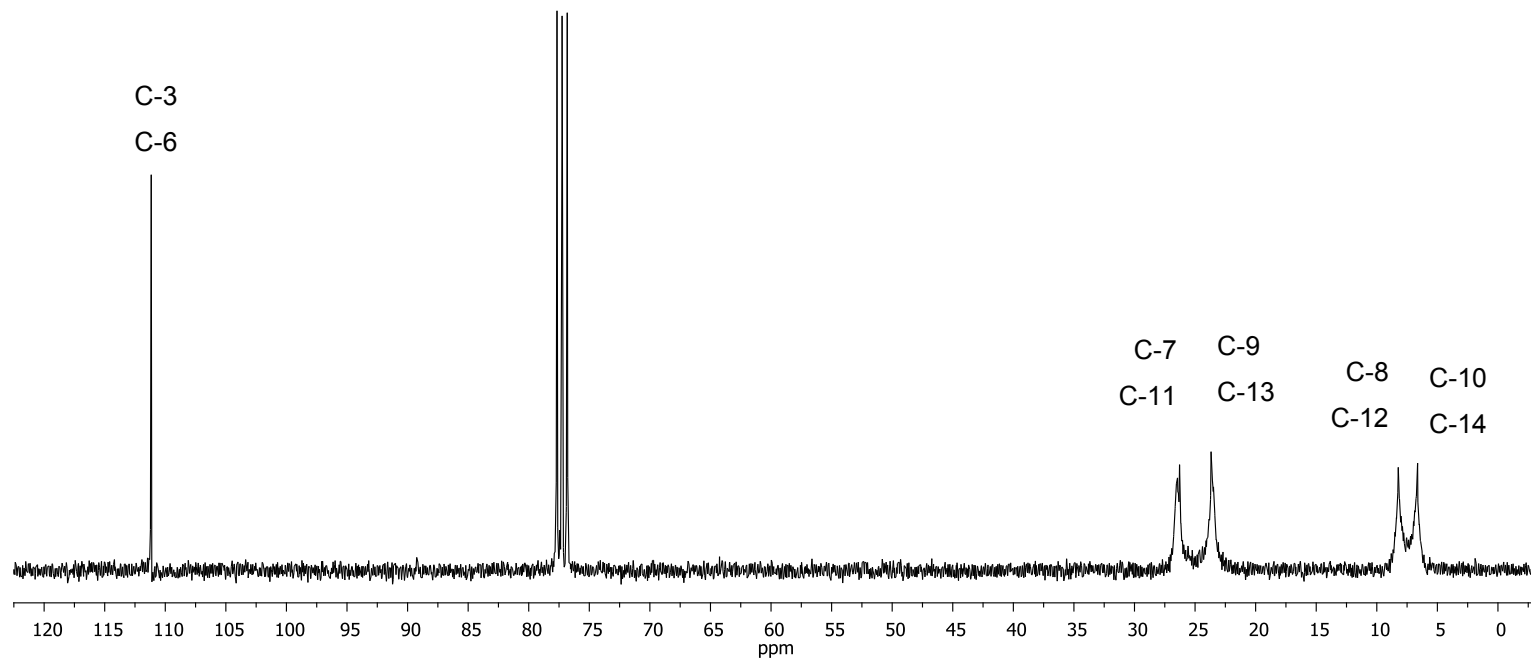
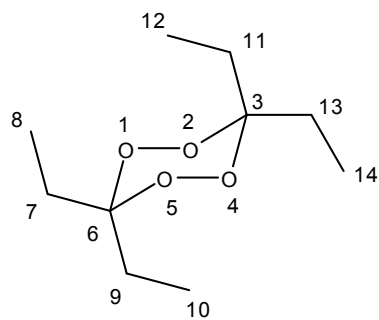


Figura 3. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [27]

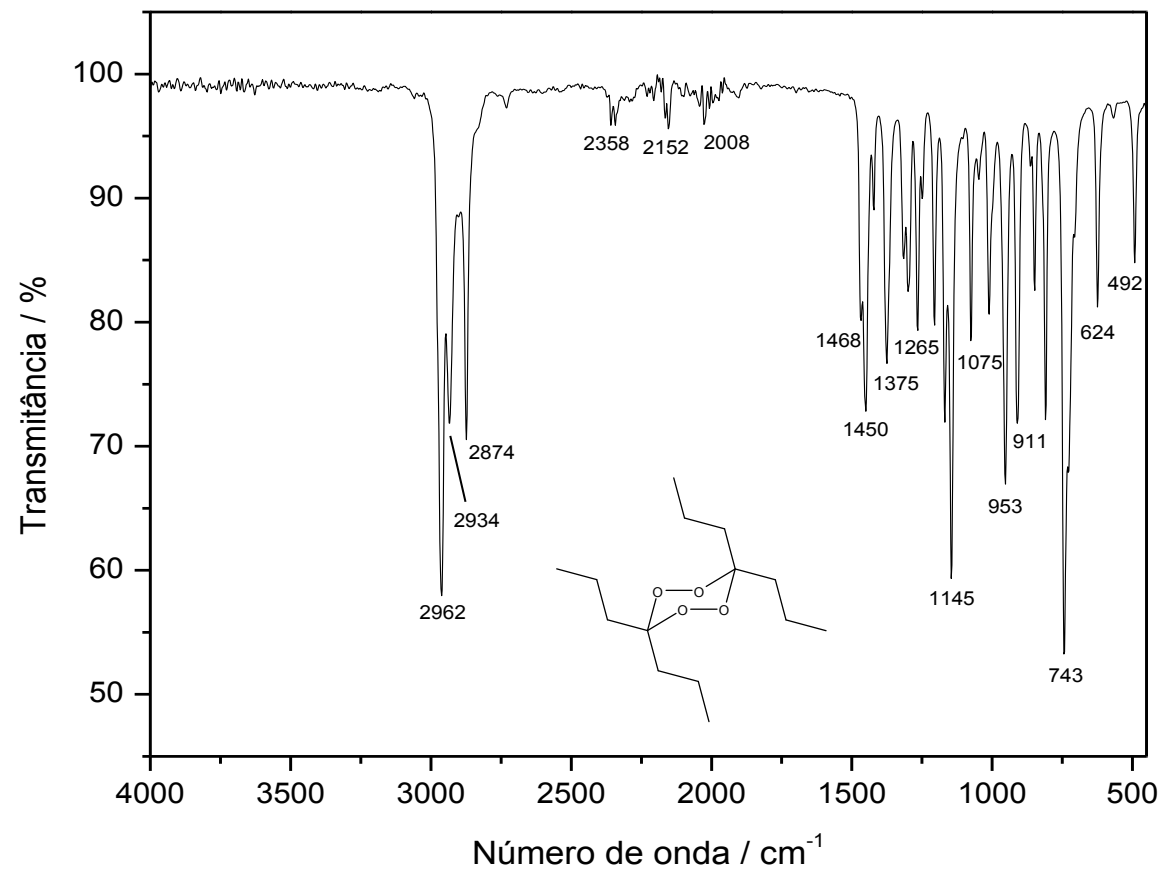


Figura 4. Espectro no infravermelho (IV) do composto [28]

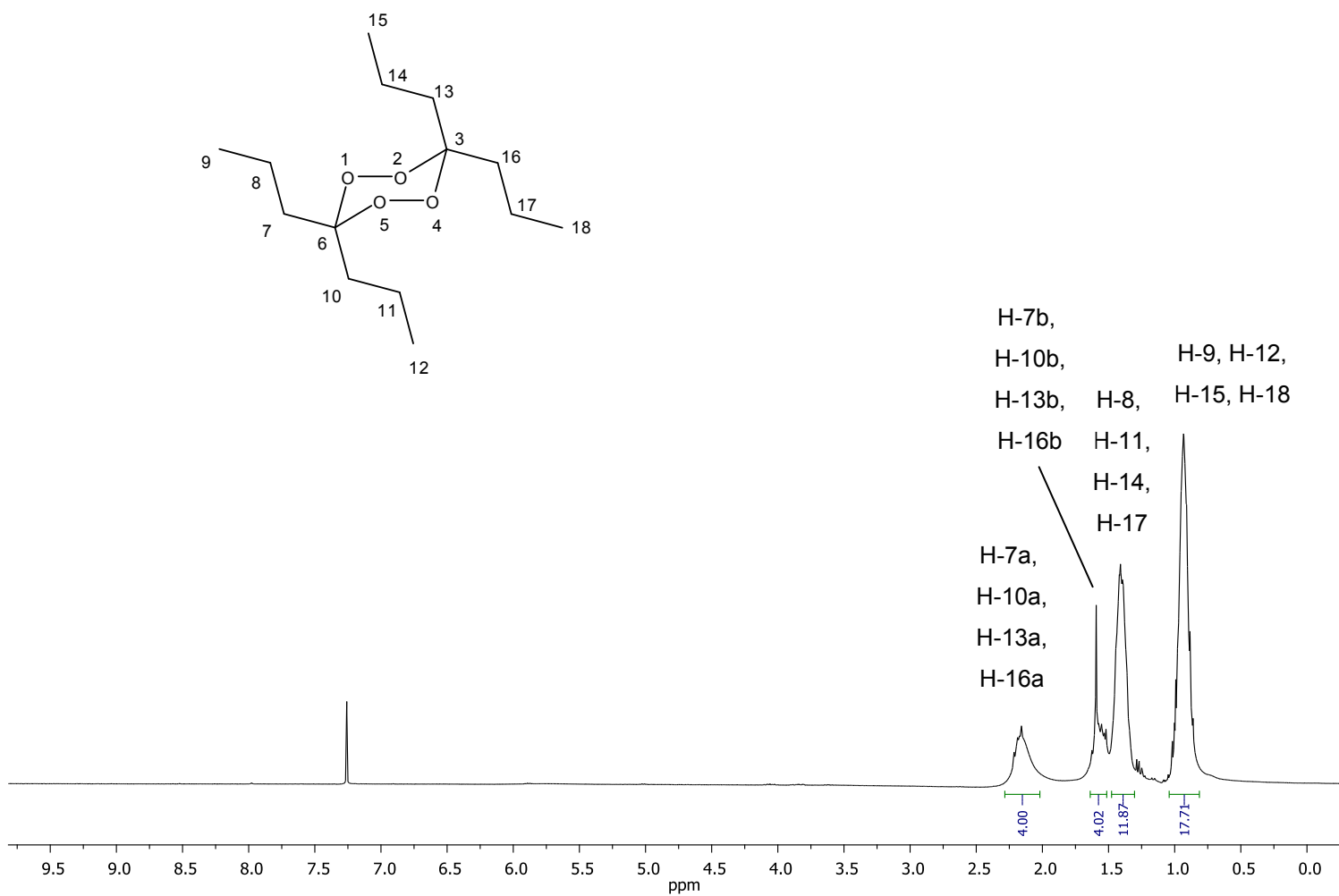


Figura 5. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [28]

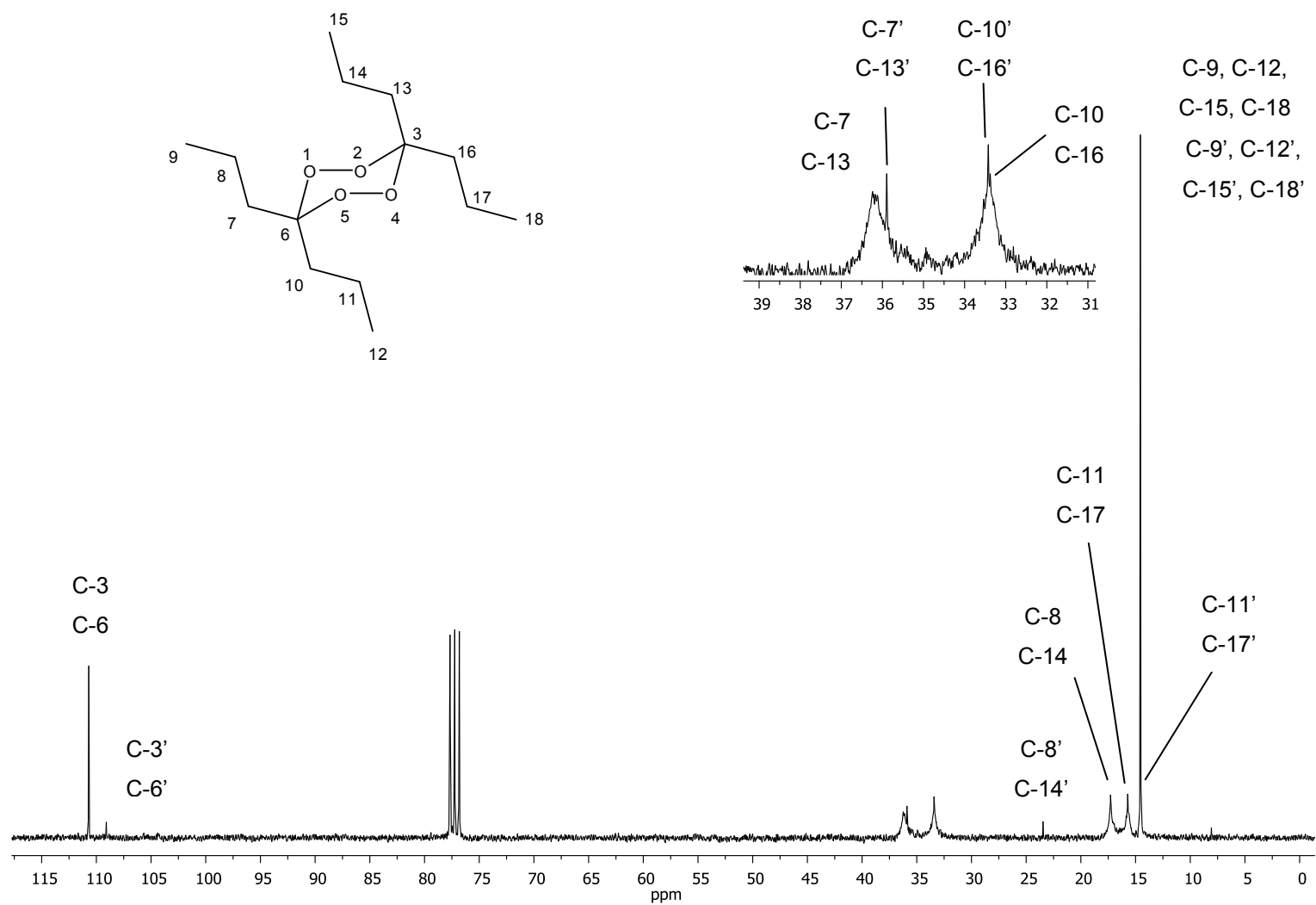


Figura 6. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [28]

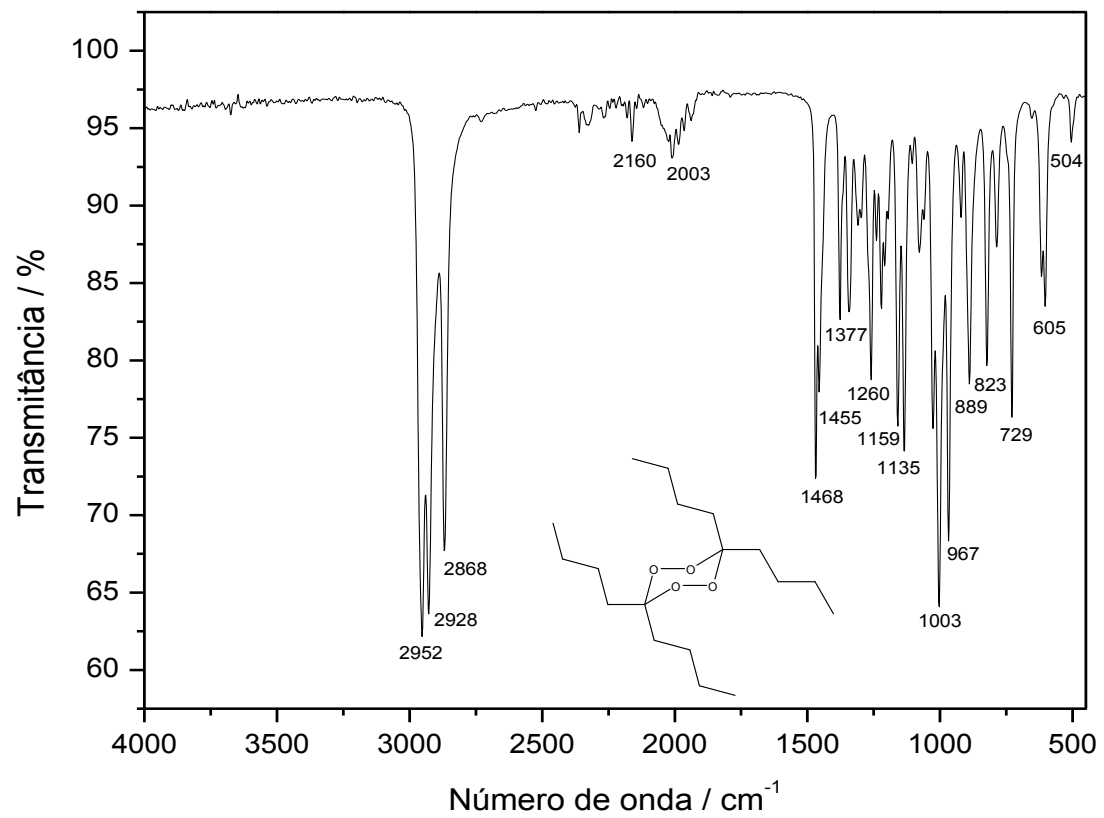


Figura 7. Espectro no infravermelho (IV) do composto [29]

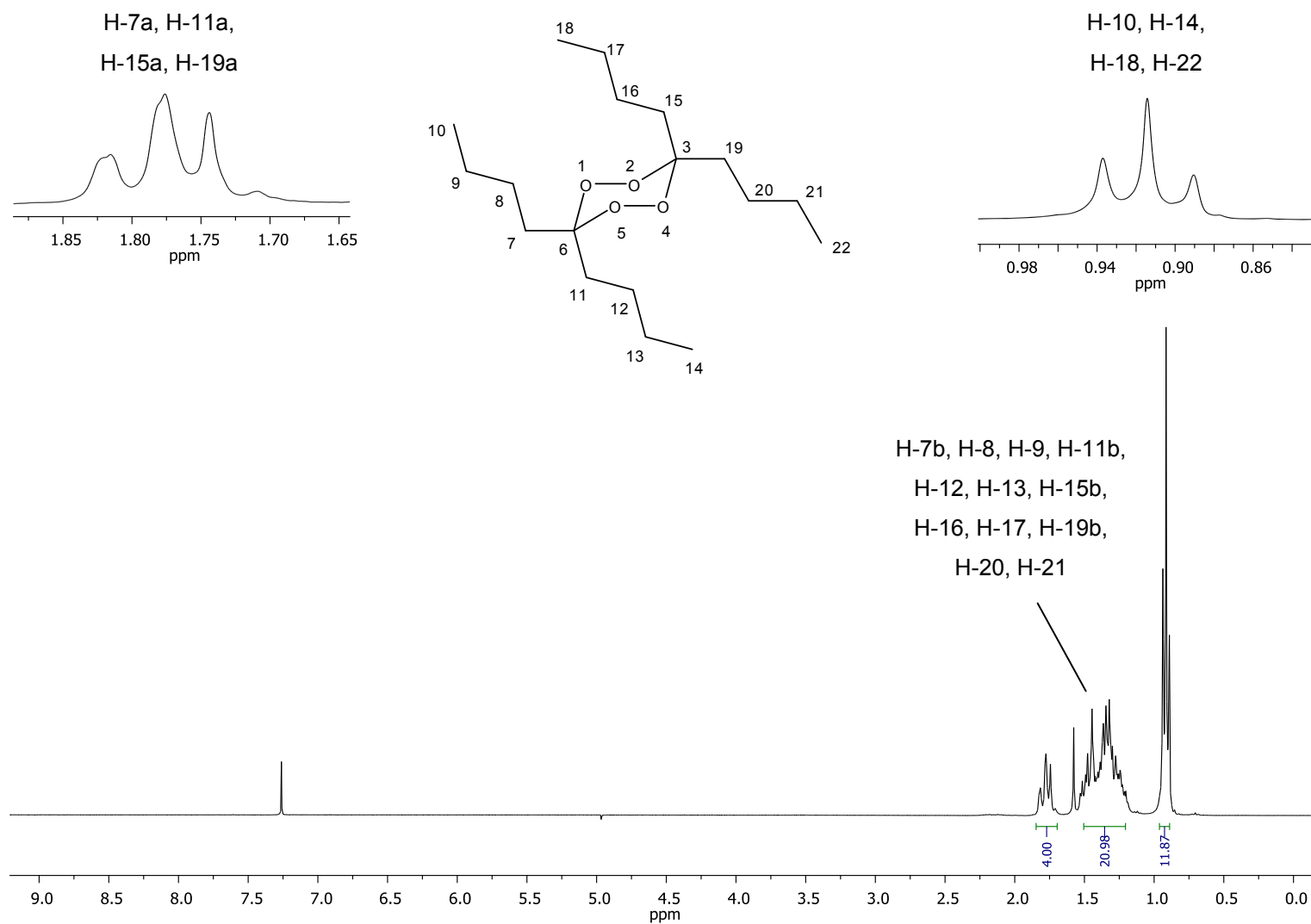


Figura 8. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [29]

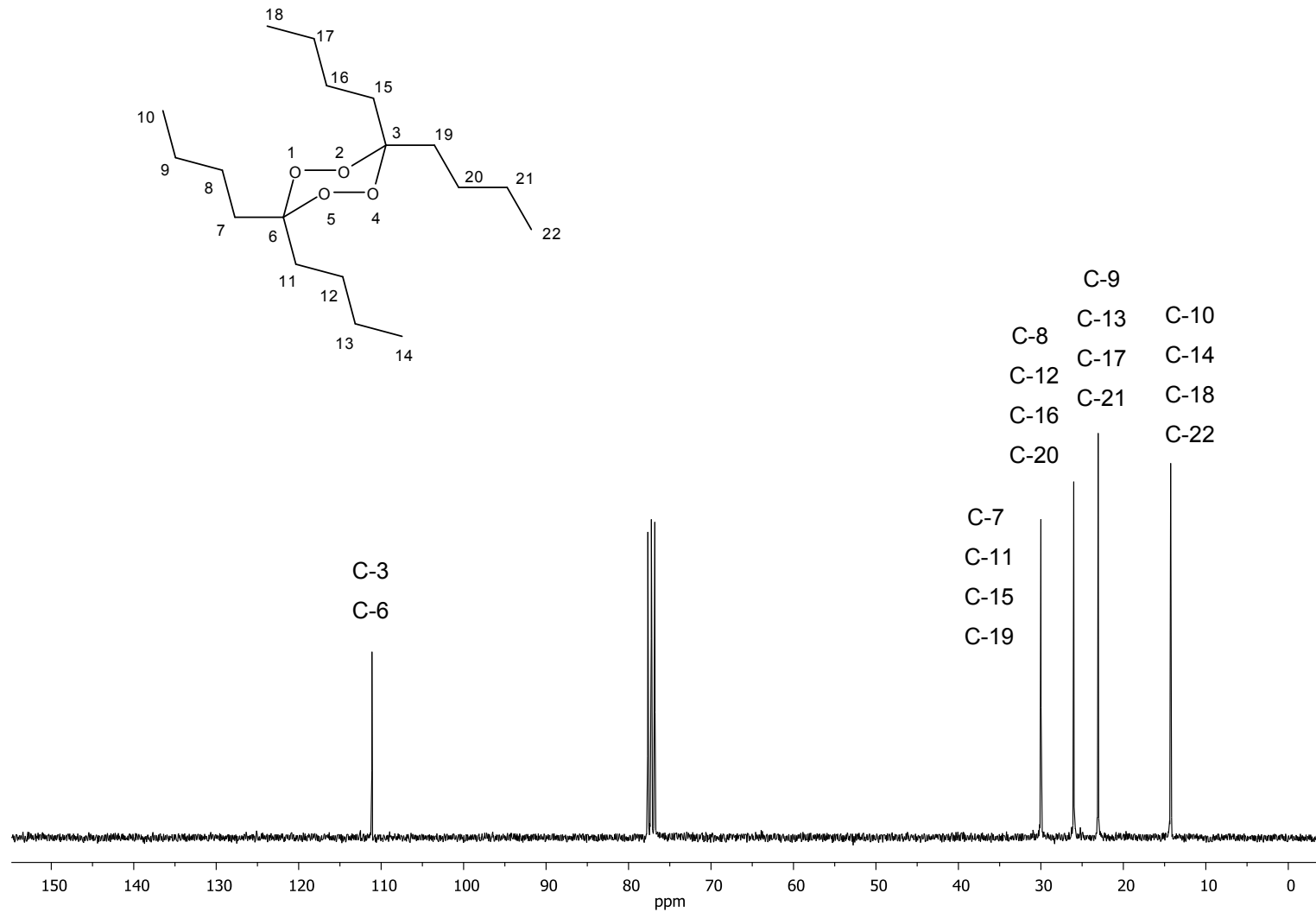


Figura 9. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [29]

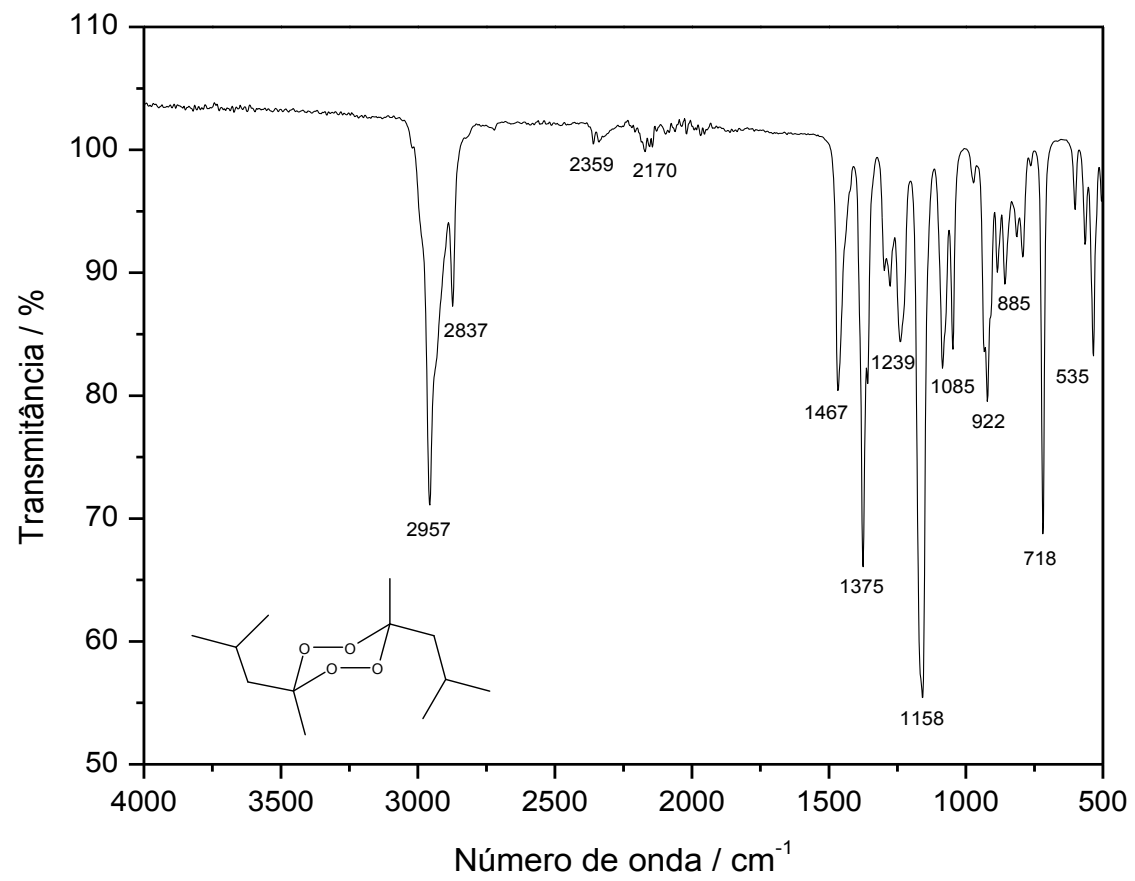


Figura 10. Espectro no infravermelho (IV) do composto [30]

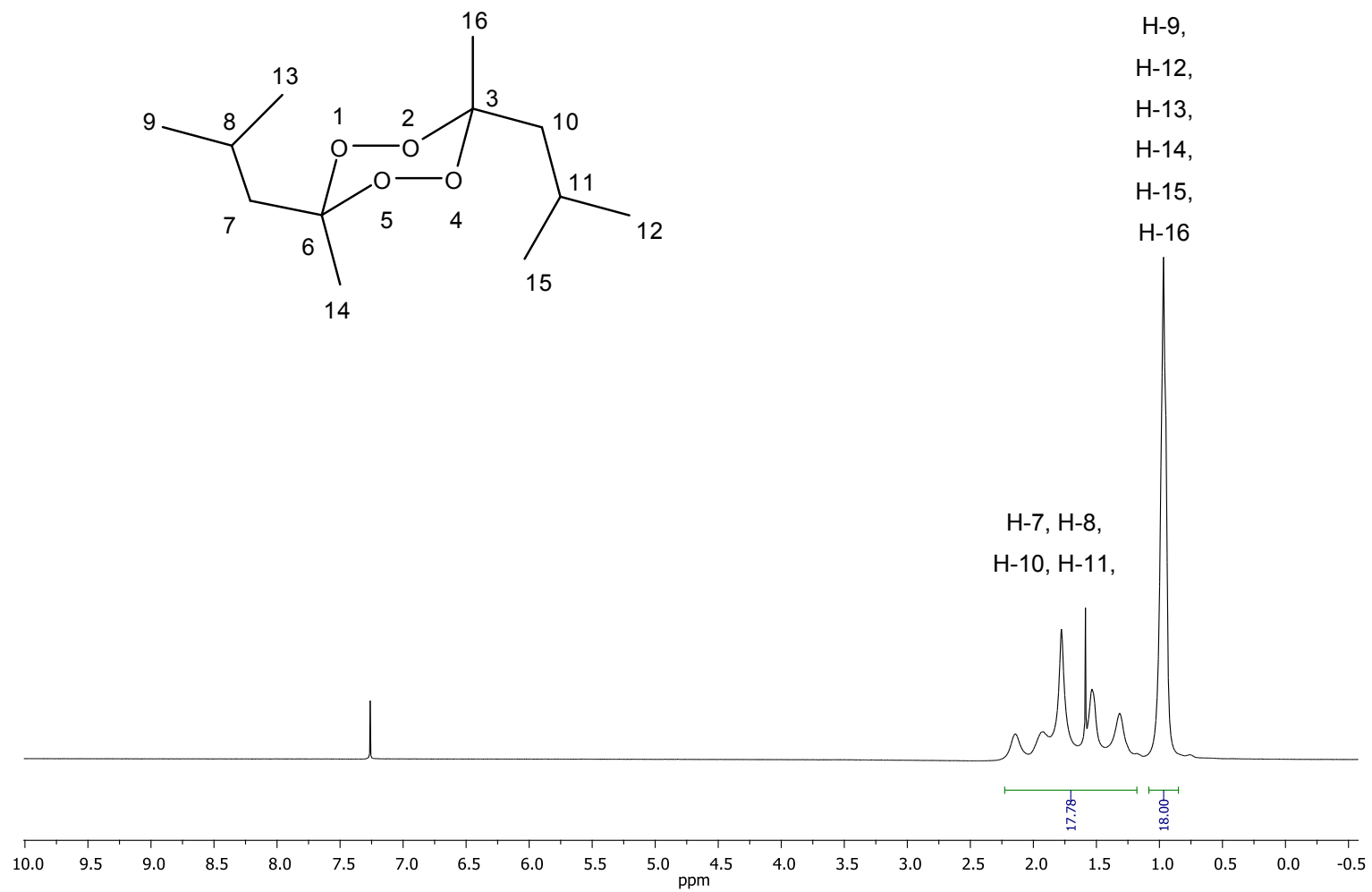


Figura 11. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [30]

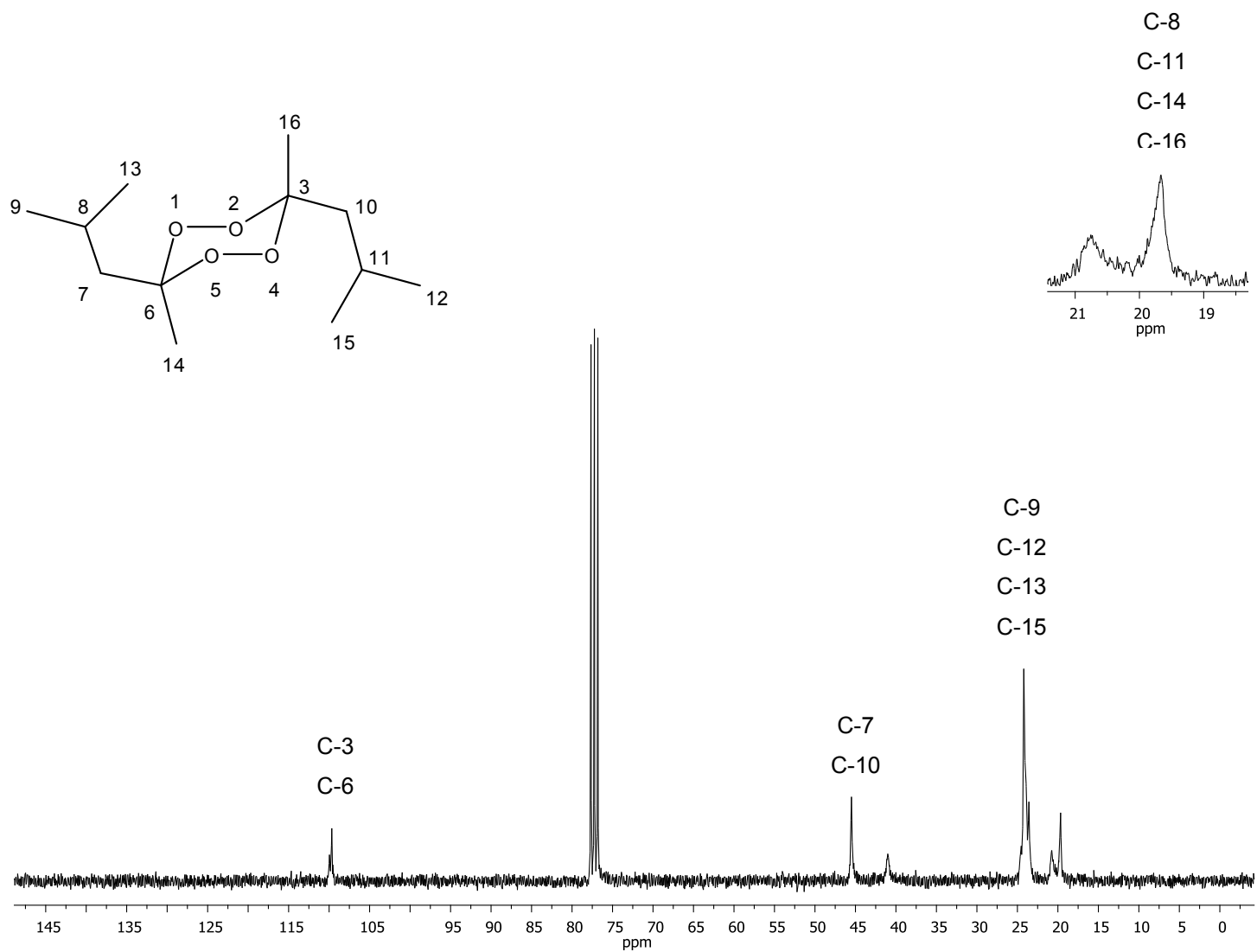


Figura 12. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [30]

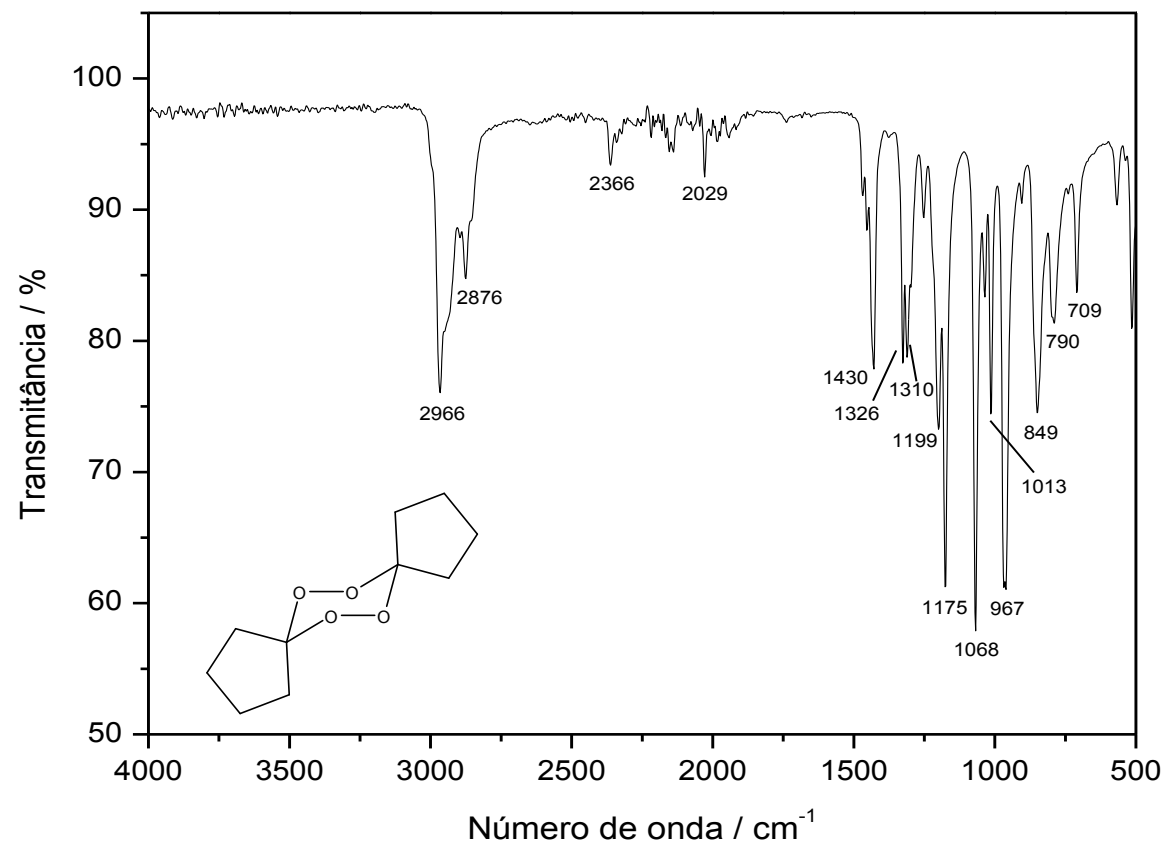


Figura 13. Espectro no infravermelho (IV) do composto [31]

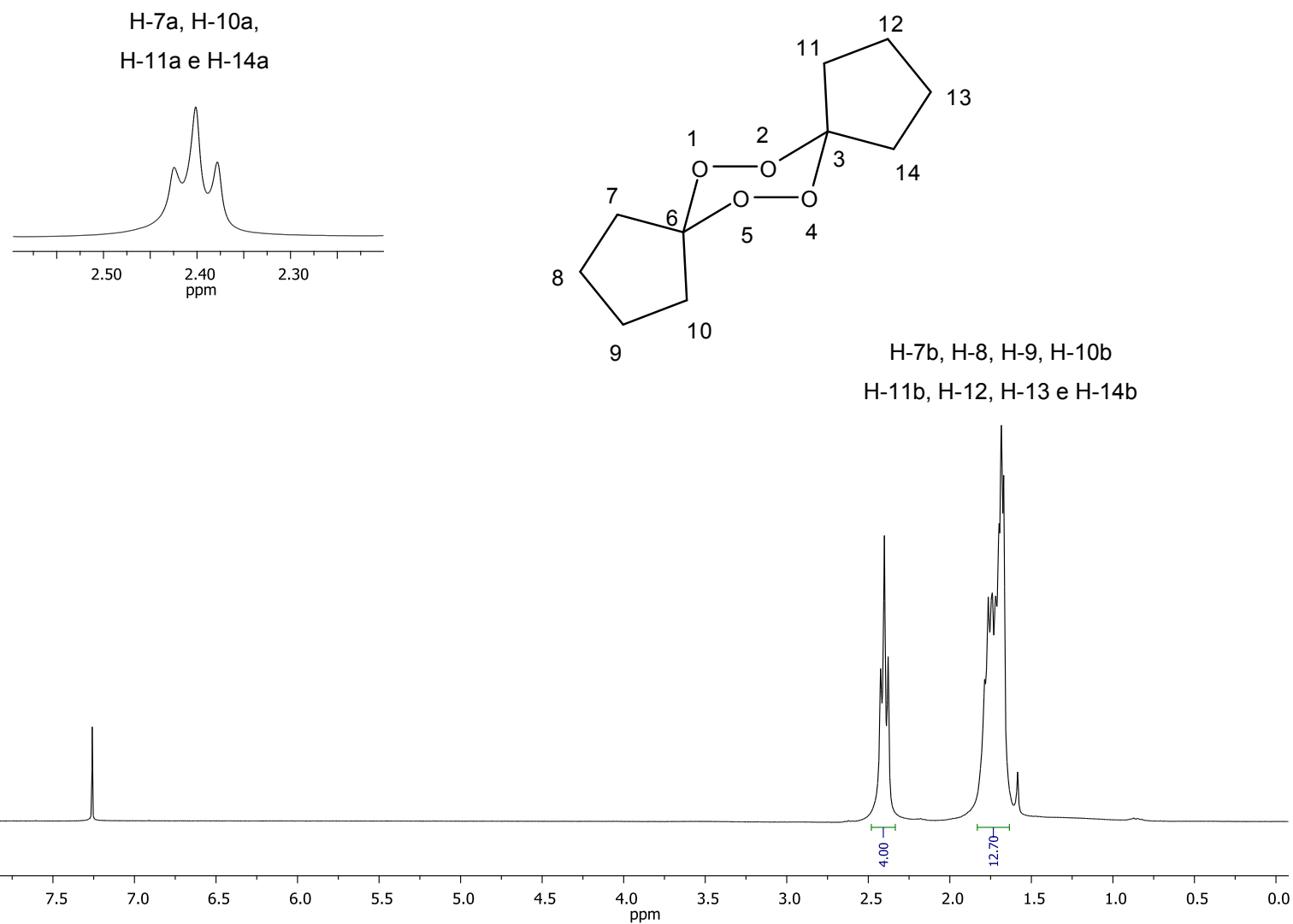


Figura 14. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[31]**

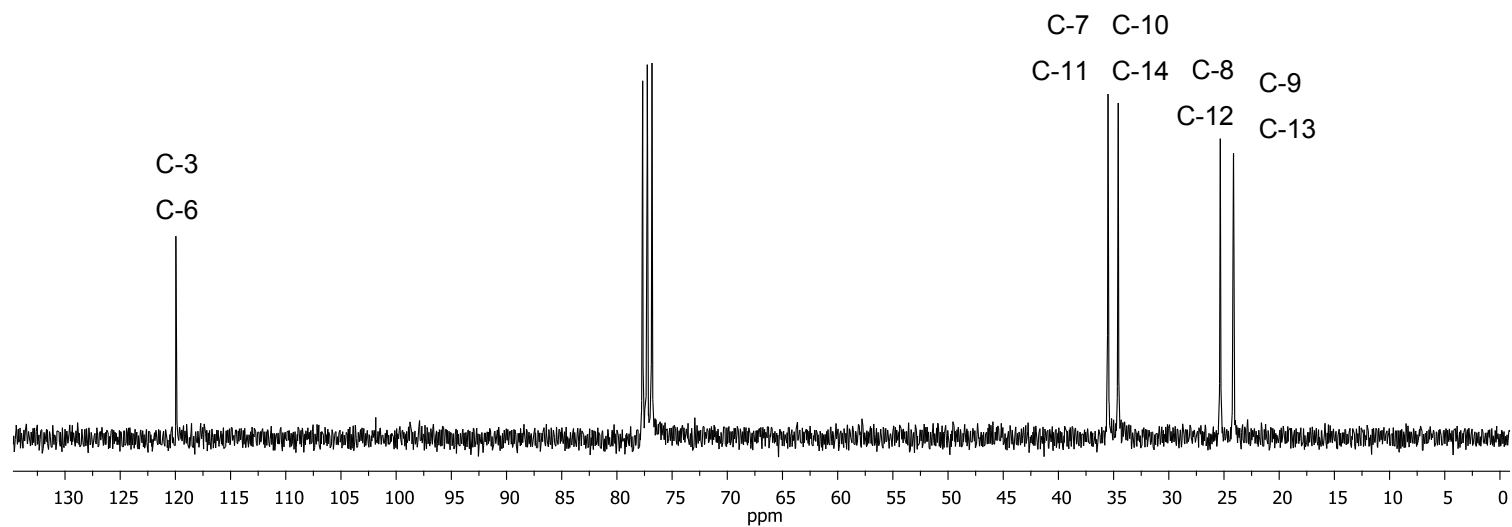
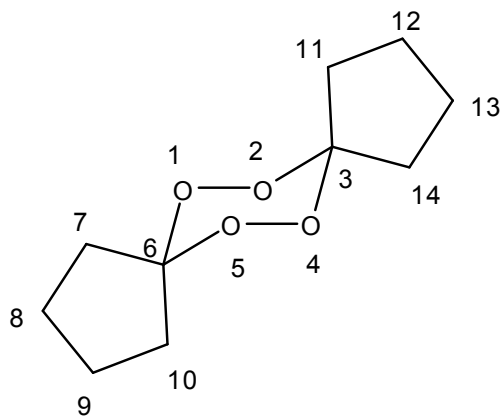


Figura 15. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [31]

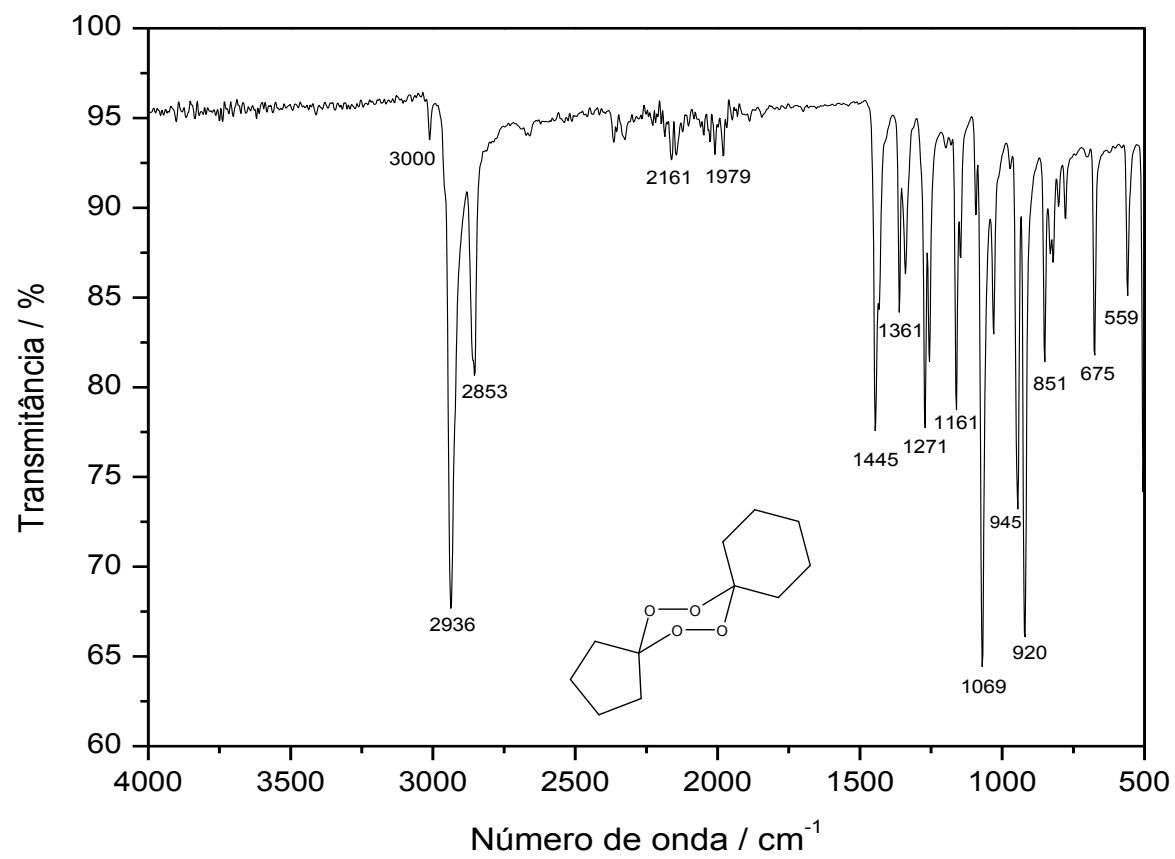


Figura 16. Espectro no infravermelho (IV) do composto [32]

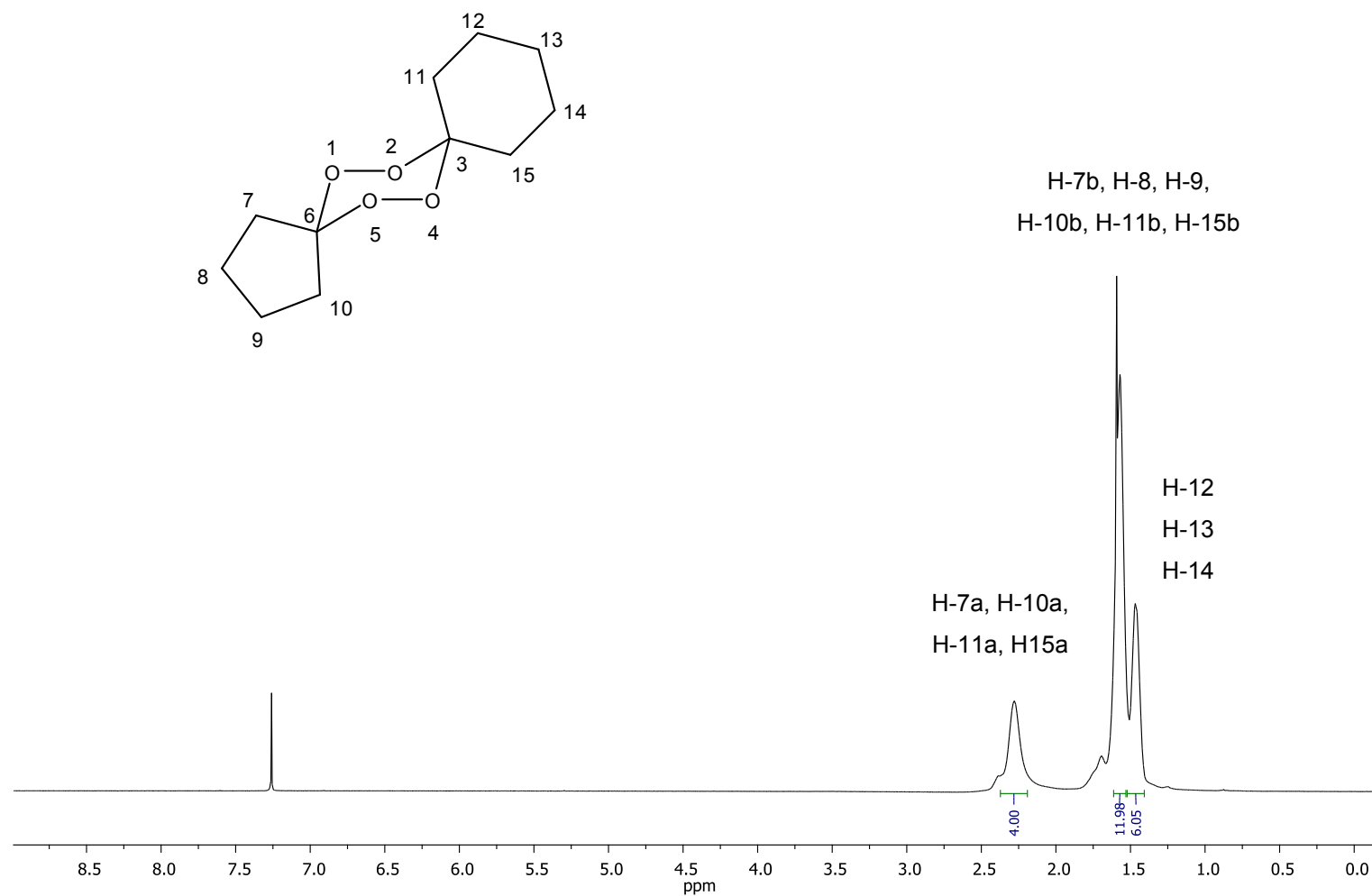


Figura 17. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [32]

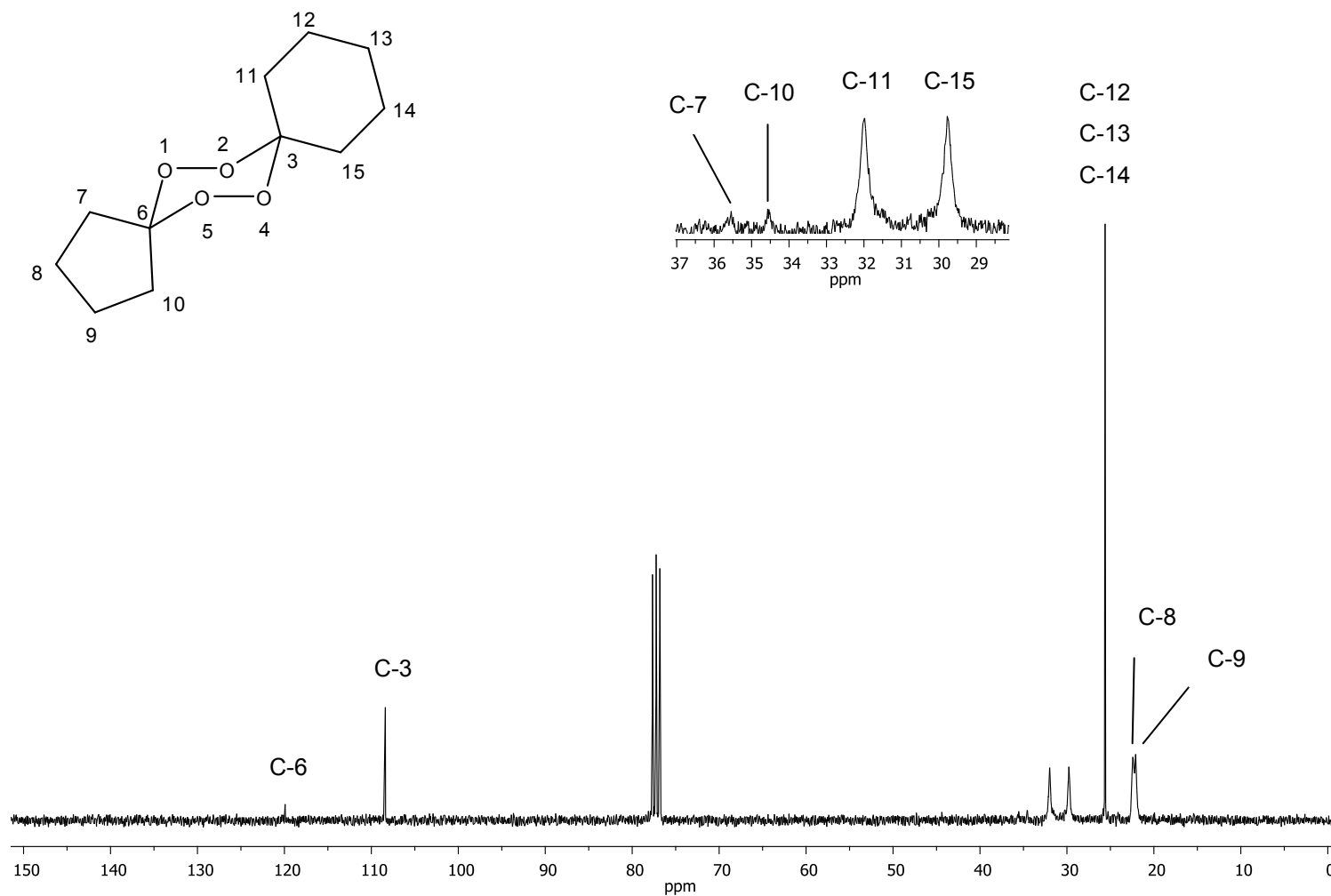


Figura 18. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [32]

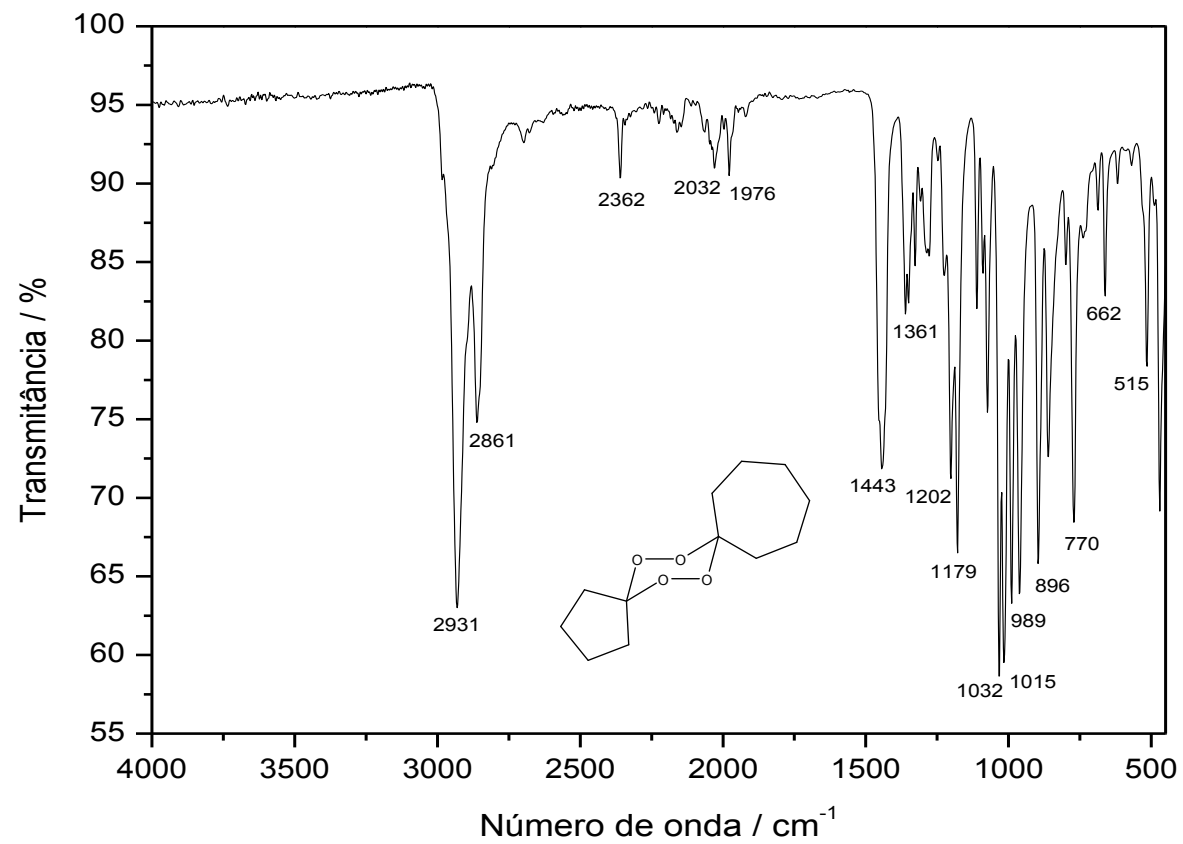


Figura 19. Espectro no infravermelho (IV) do composto [33]

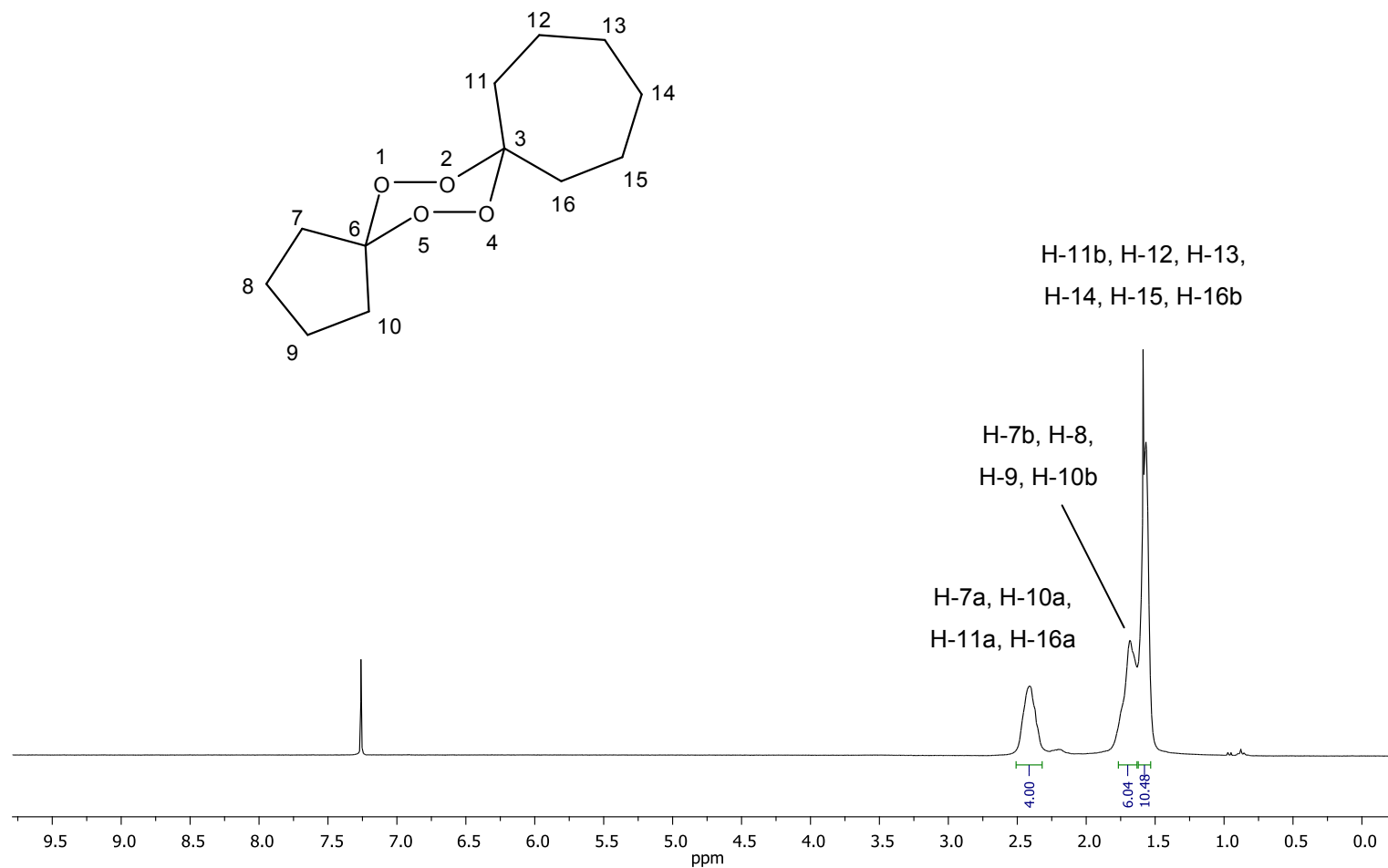


Figura 20. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [33]

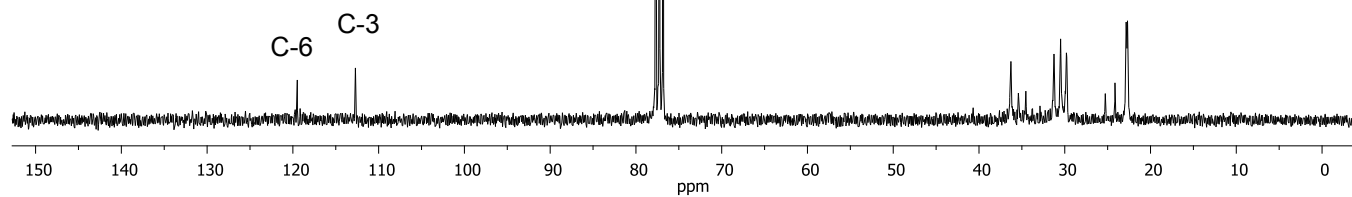
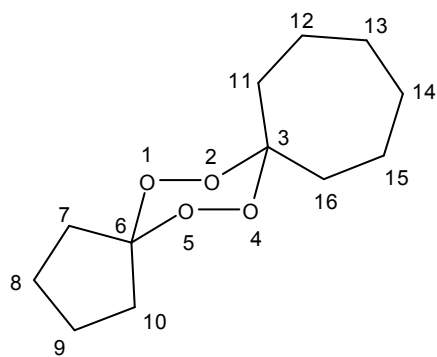
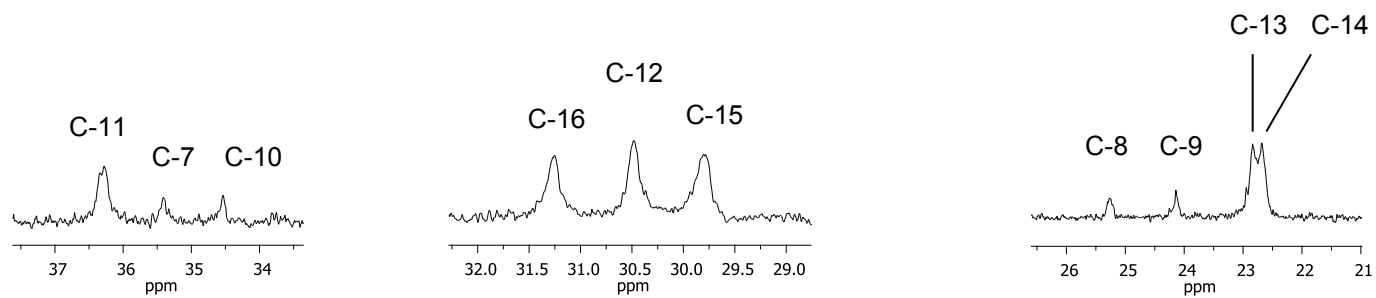


Figura 21. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [33]

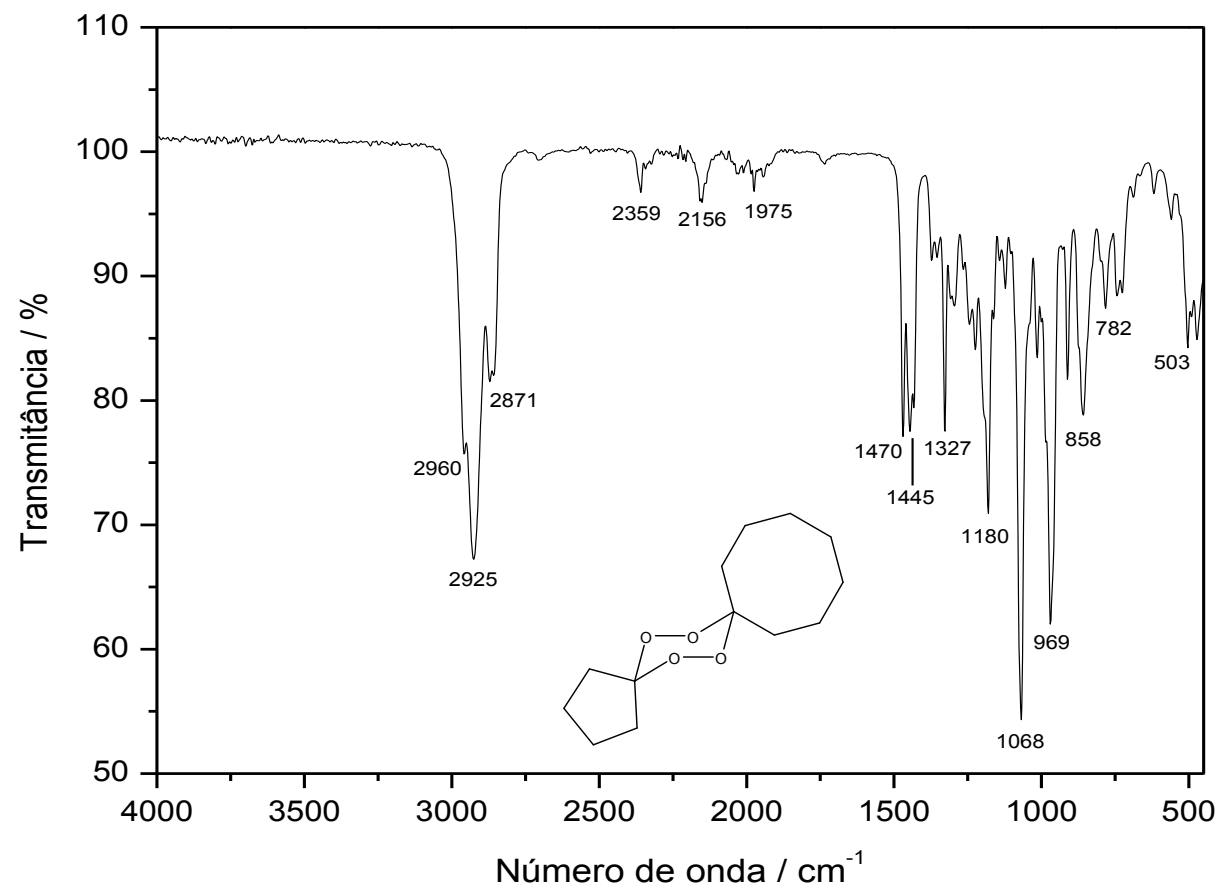


Figura 22. Espectro no infravermelho (IV) do composto [34]

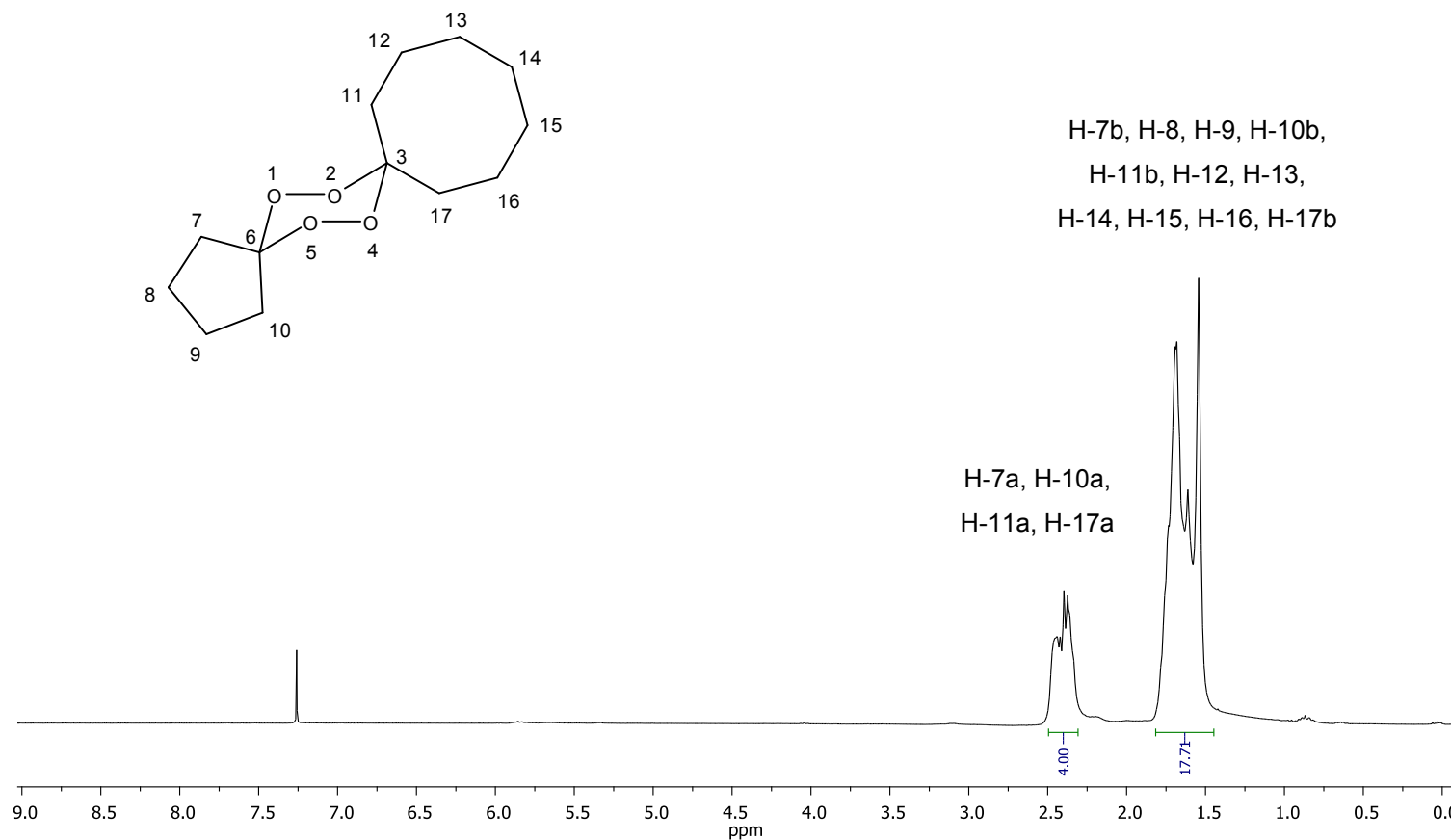


Figura 23. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [34]

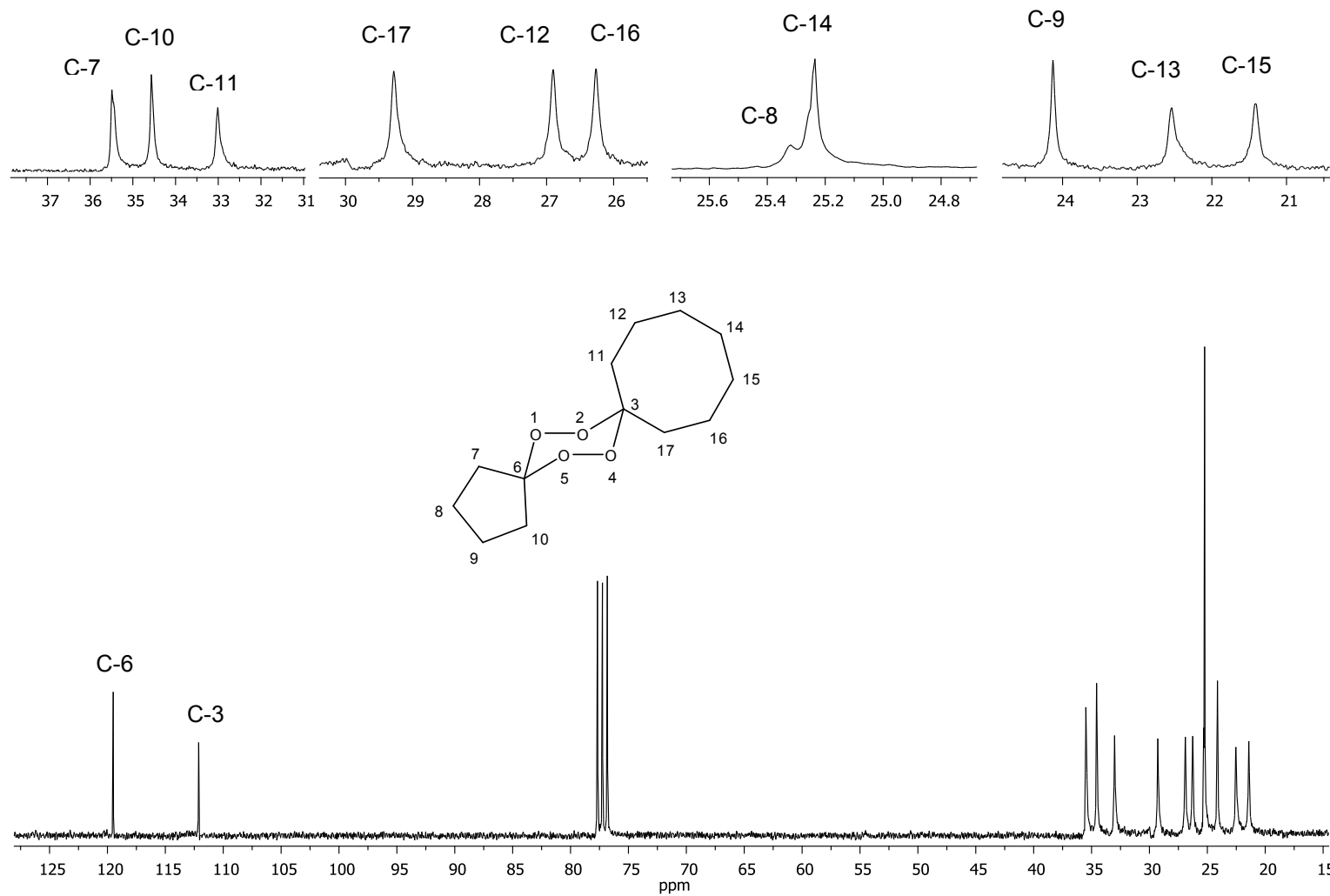


Figura 24. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[34]**

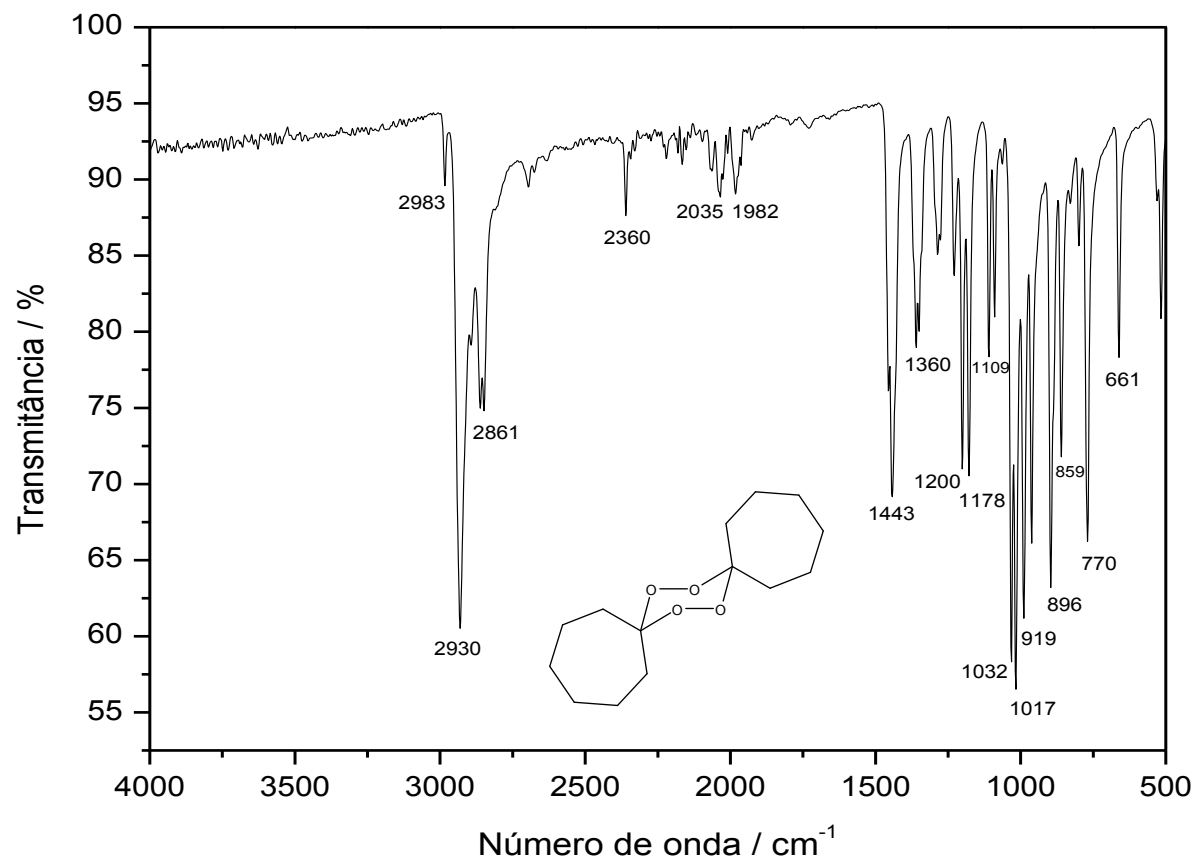


Figura 25. Espectro no infravermelho (IV) do composto [36]

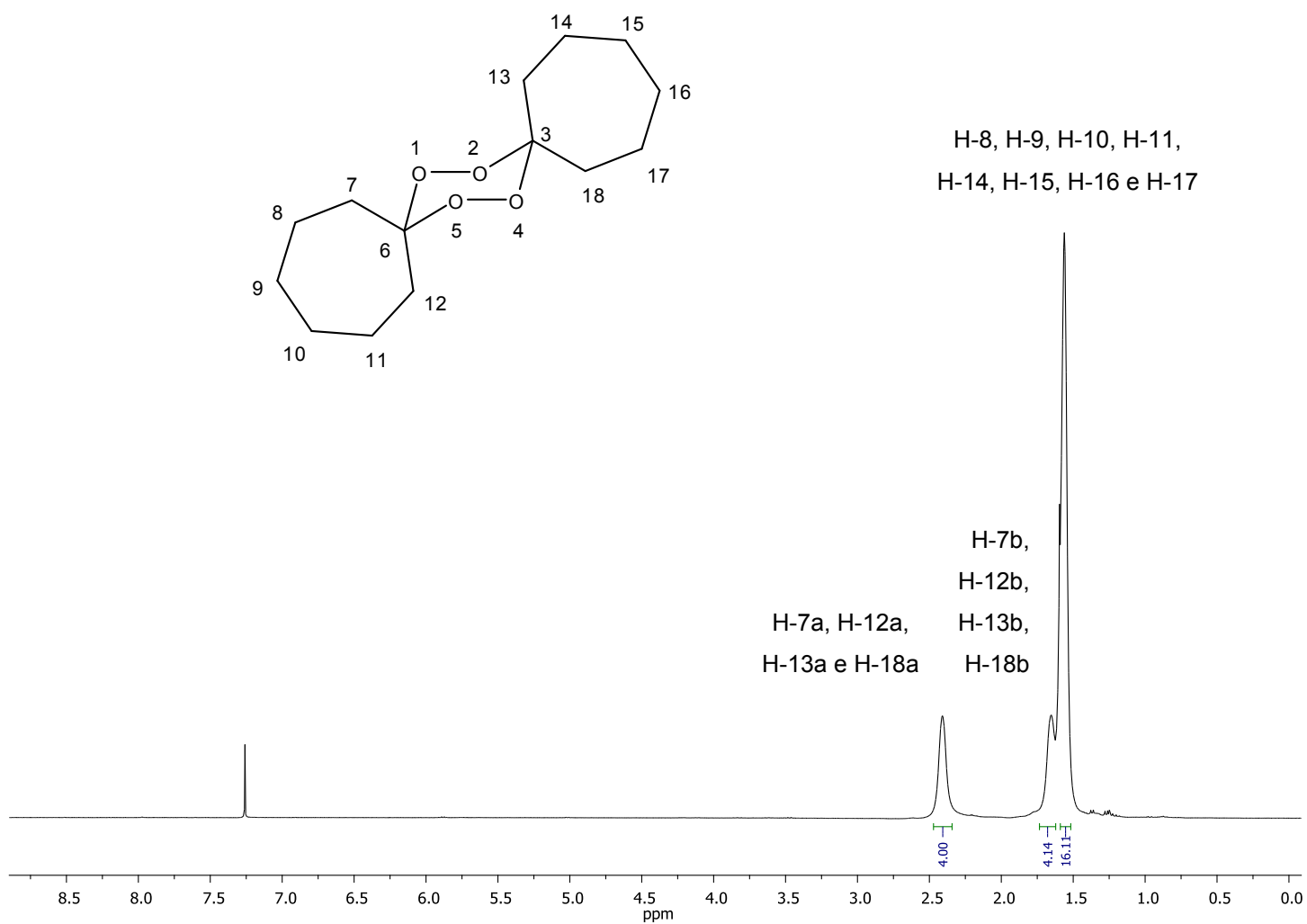


Figura 26. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [36]

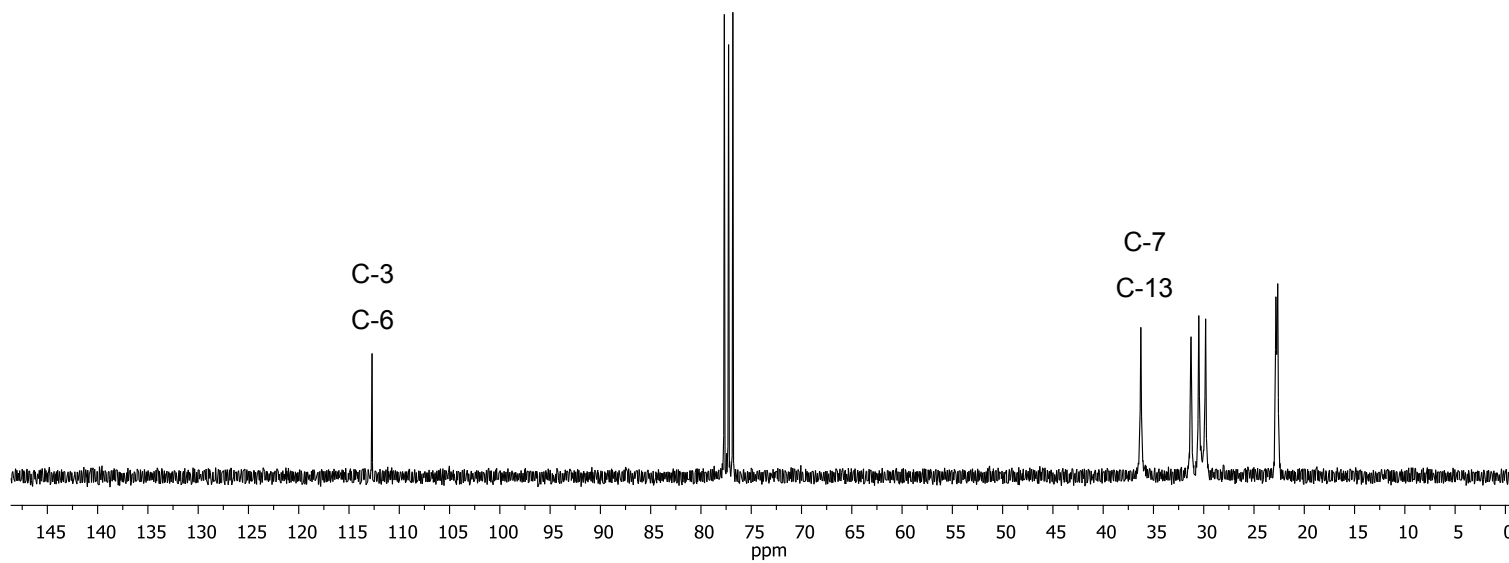
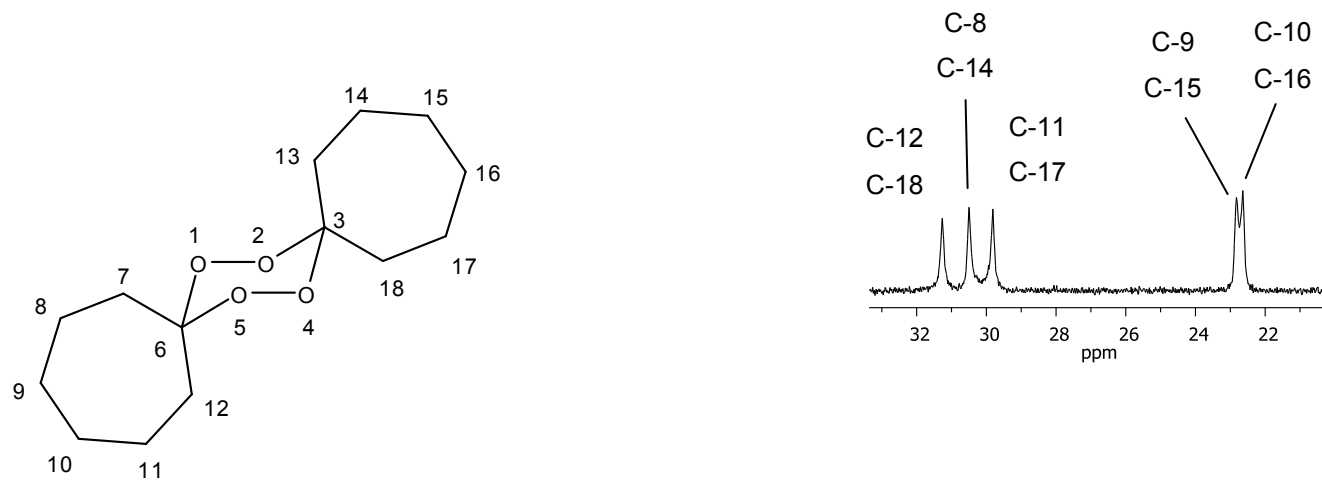


Figura 27. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [36]

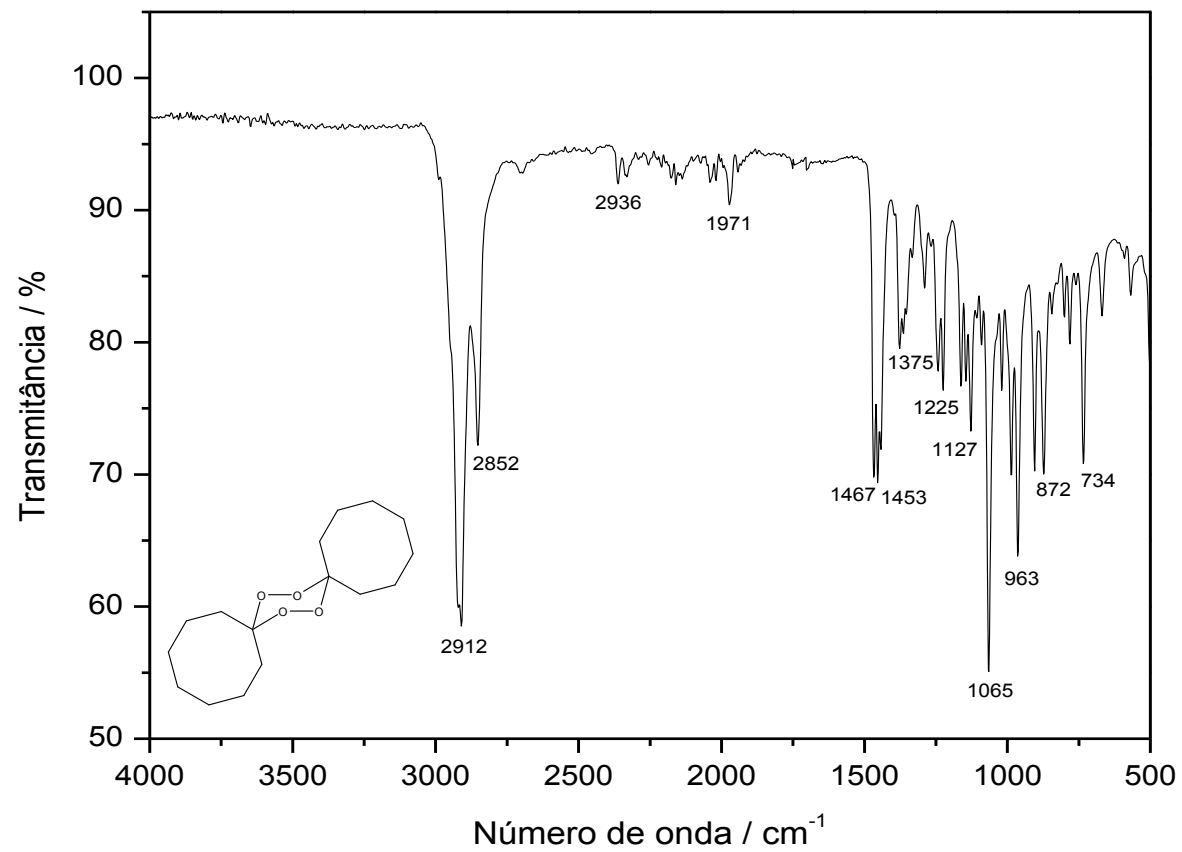
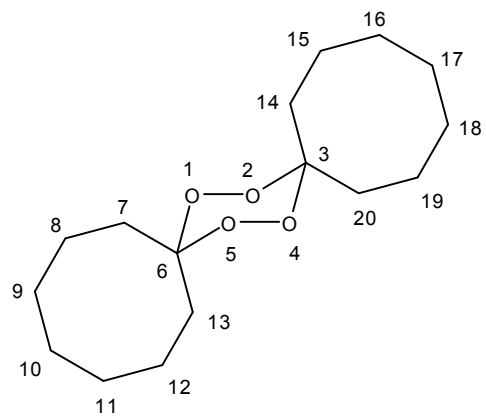


Figura 28. Espectro no infravermelho (IV) do composto [37]



H-7b, H-8, H-9, H-10,  
H-11, H-12, H-13b,  
H-14b, H-15, H-16,  
H-17, H-18, H-19,  
H-20b

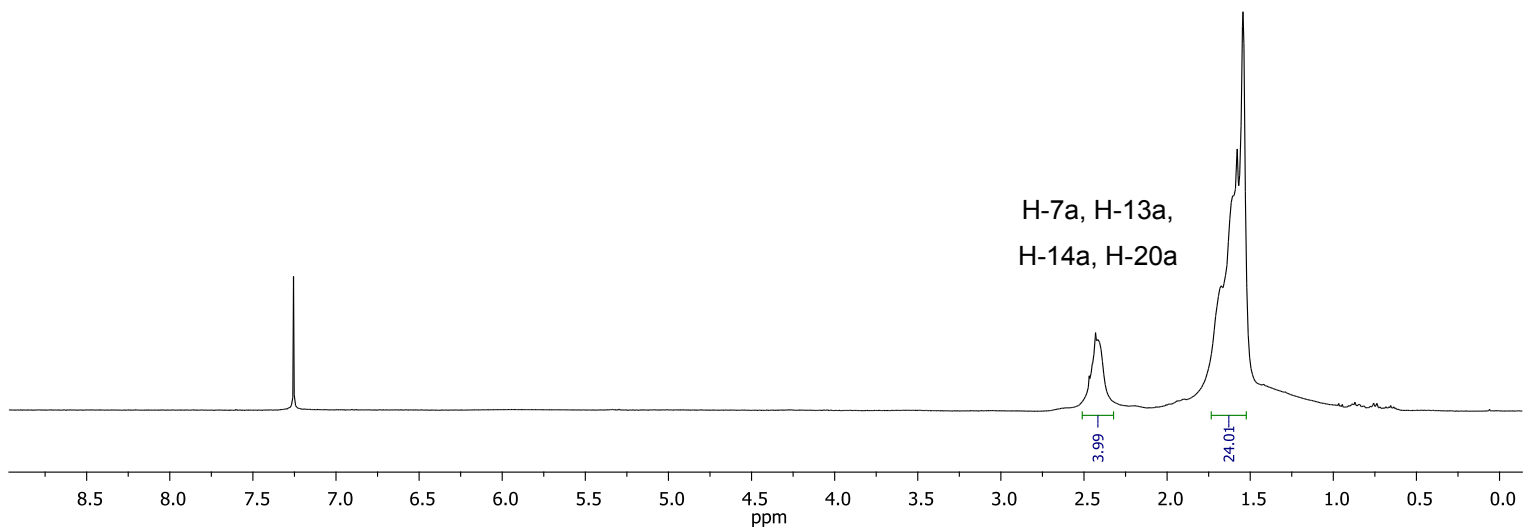


Figura 29. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [37]

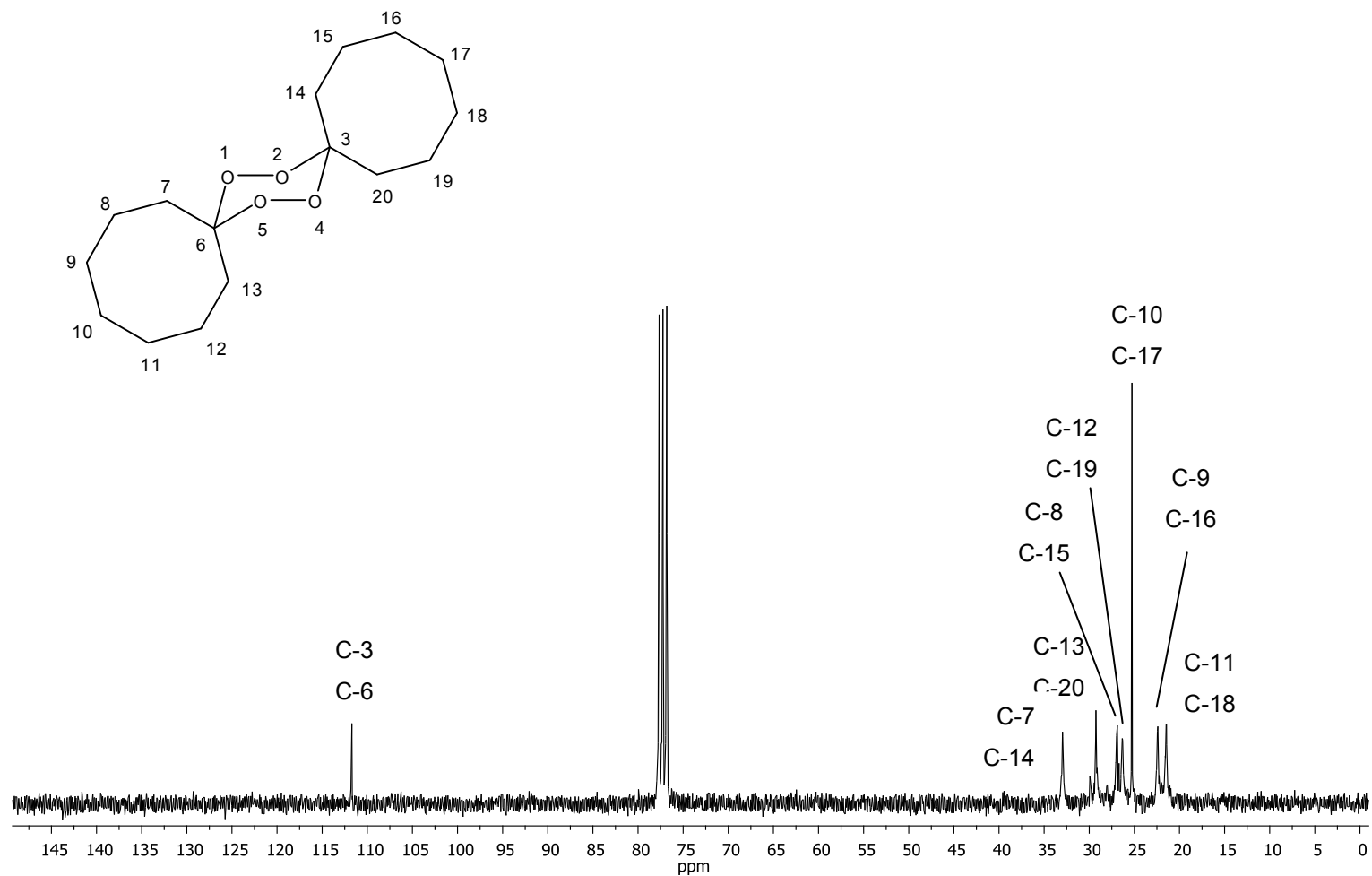


Figura 30. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [37]

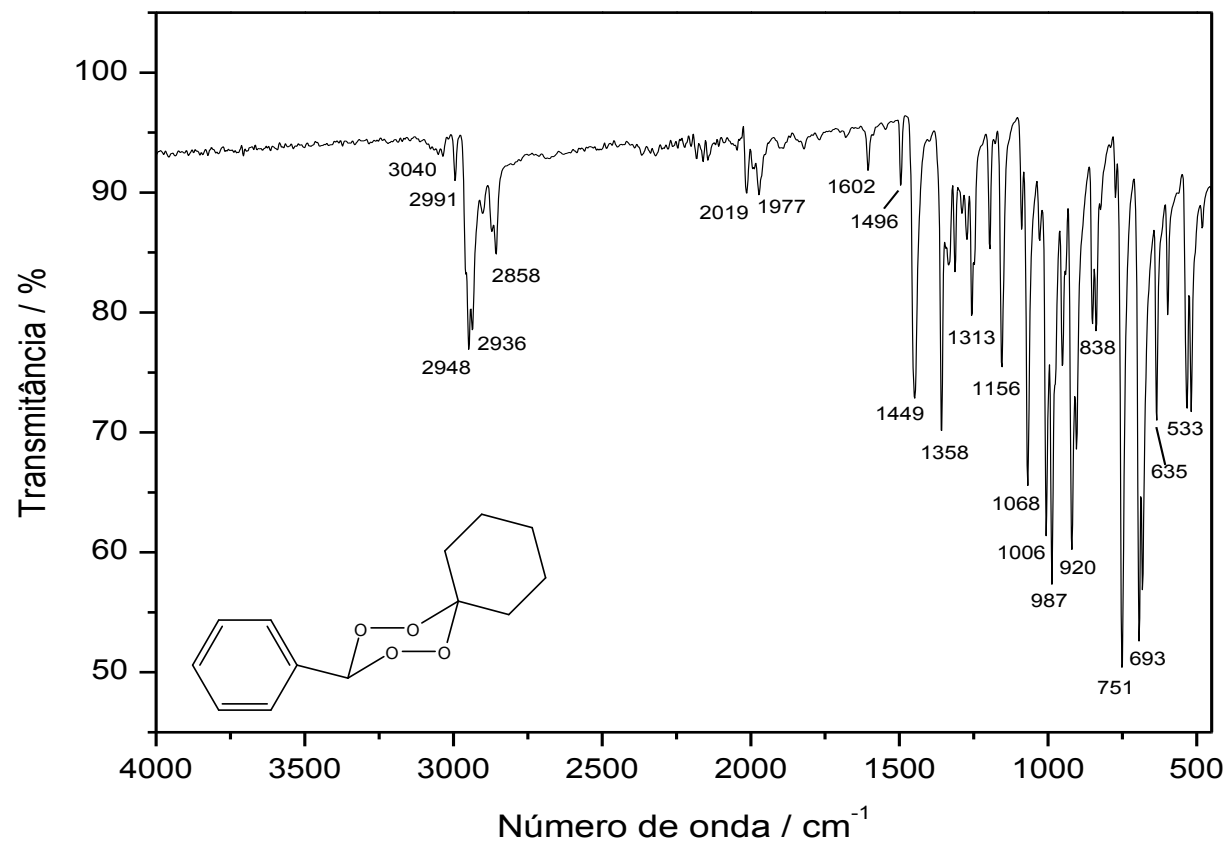


Figura 31. Espectro no infravermelho (IV) do composto [39]

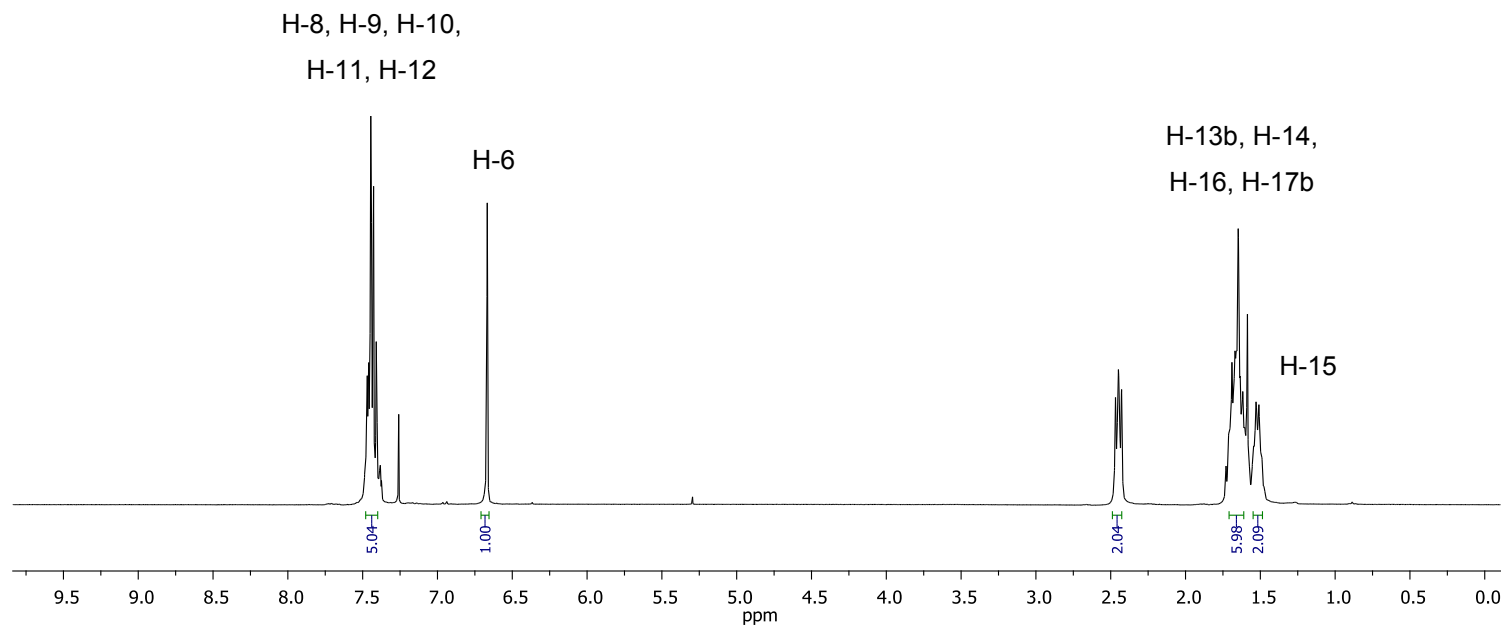
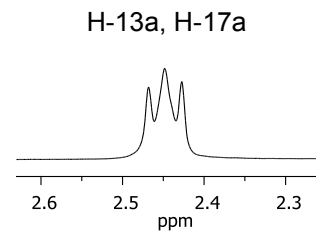
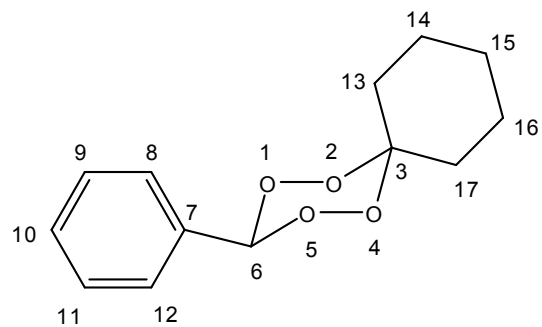


Figura 32. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[39]**

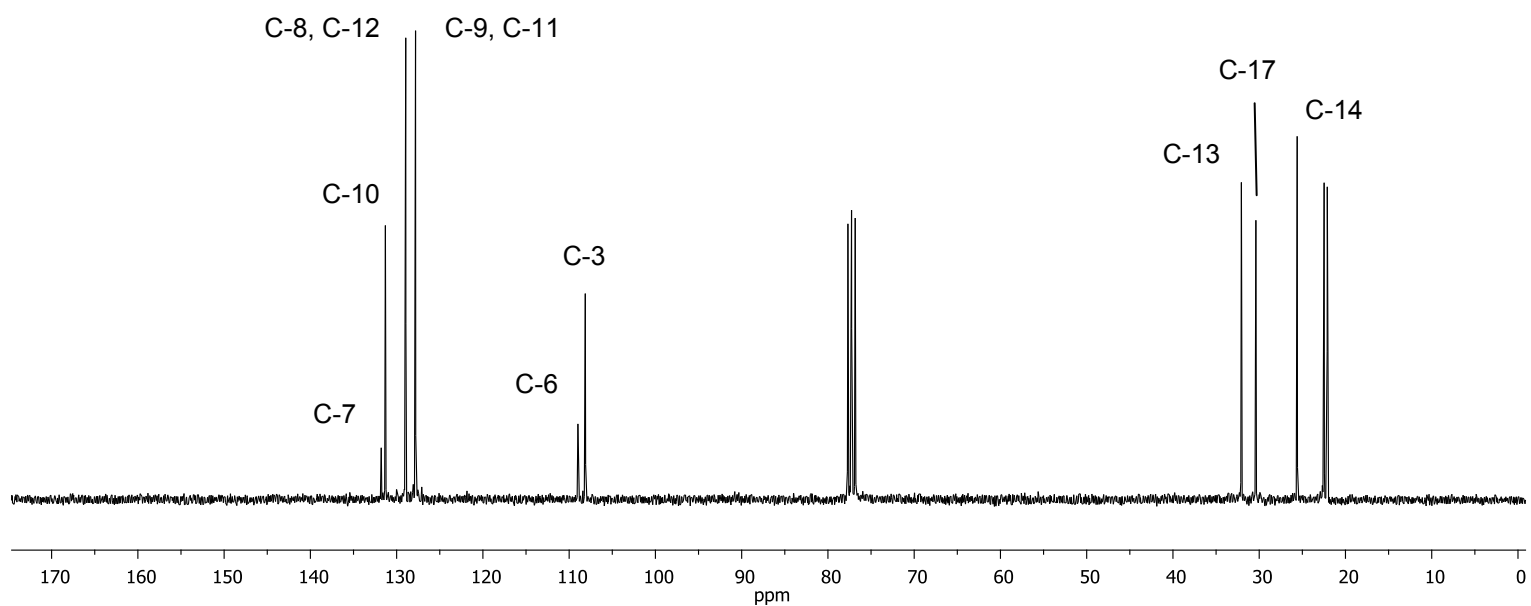
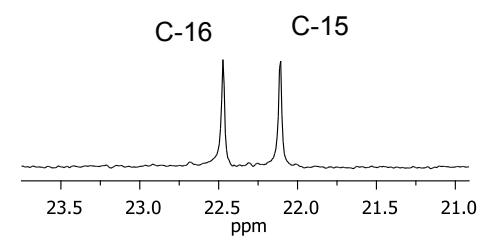
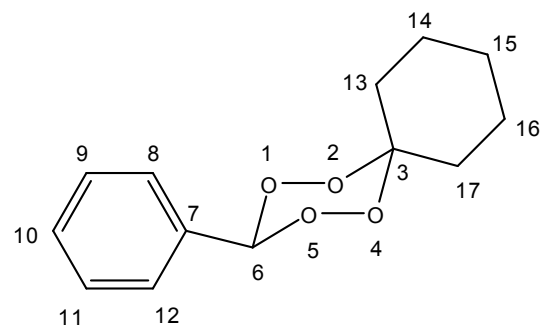


Figura 33. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [39]

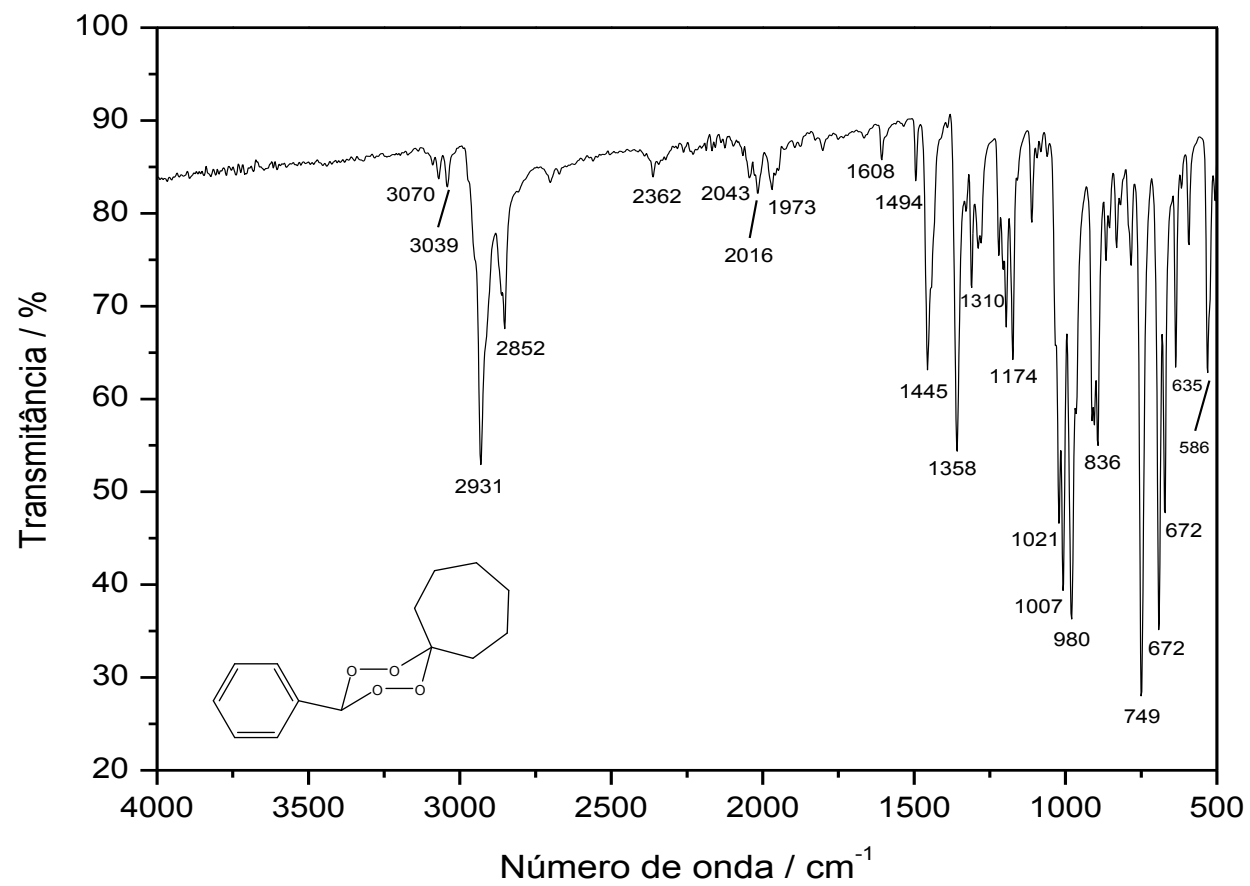


Figura 34. Espectro no infravermelho (IV) do composto [40]

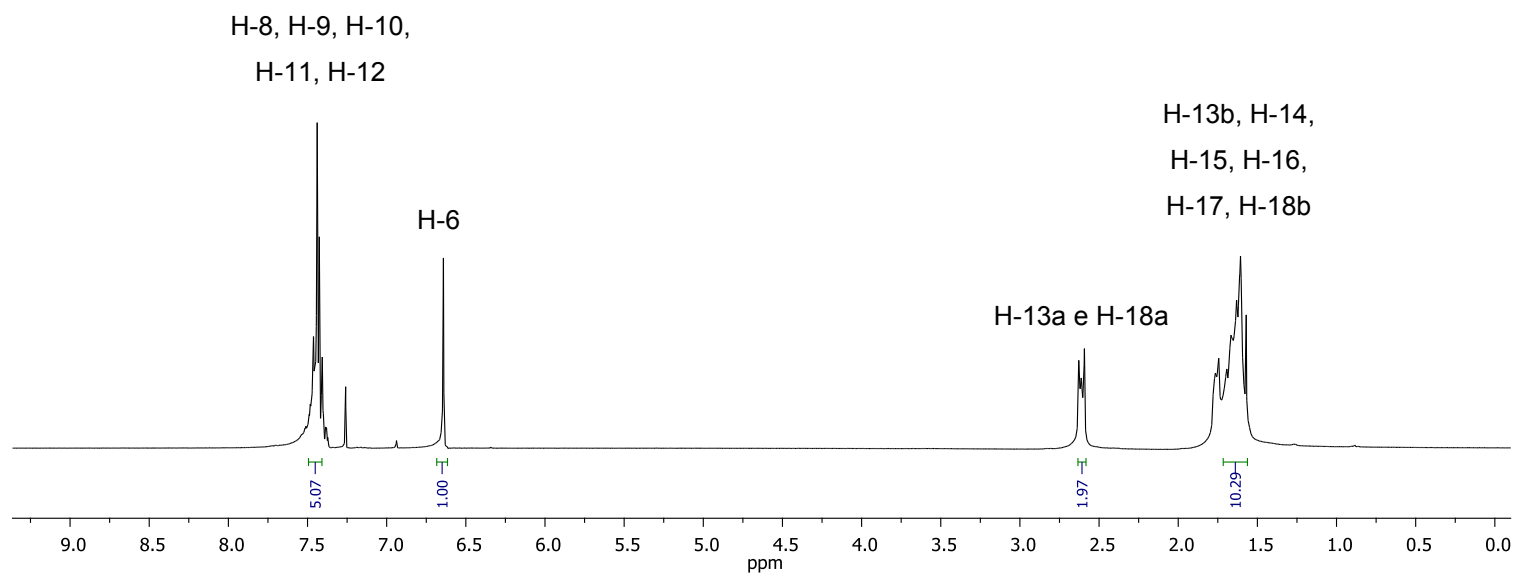
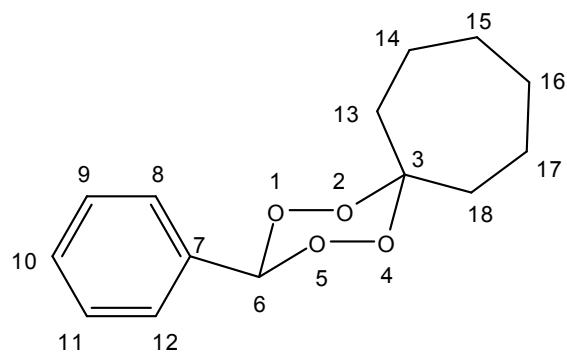


Figura 35. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[40]**

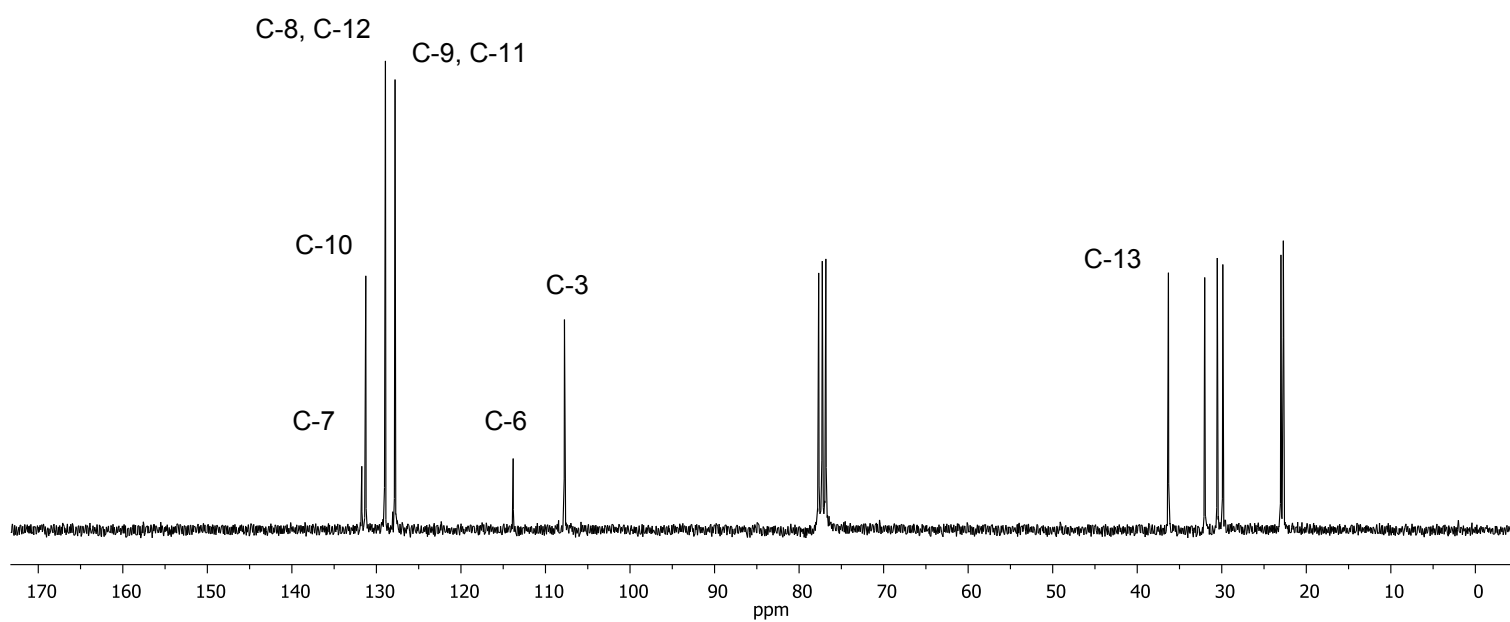
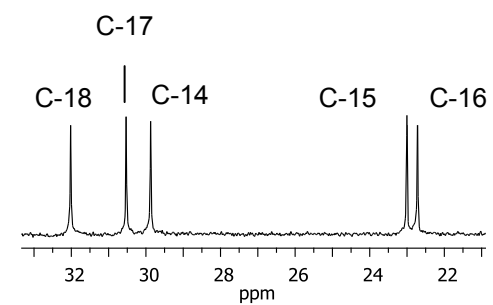
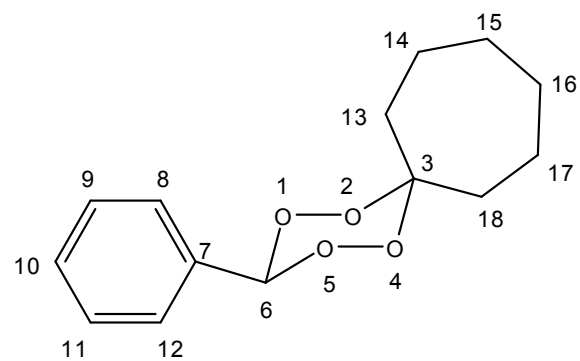


Figura 36. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [40]

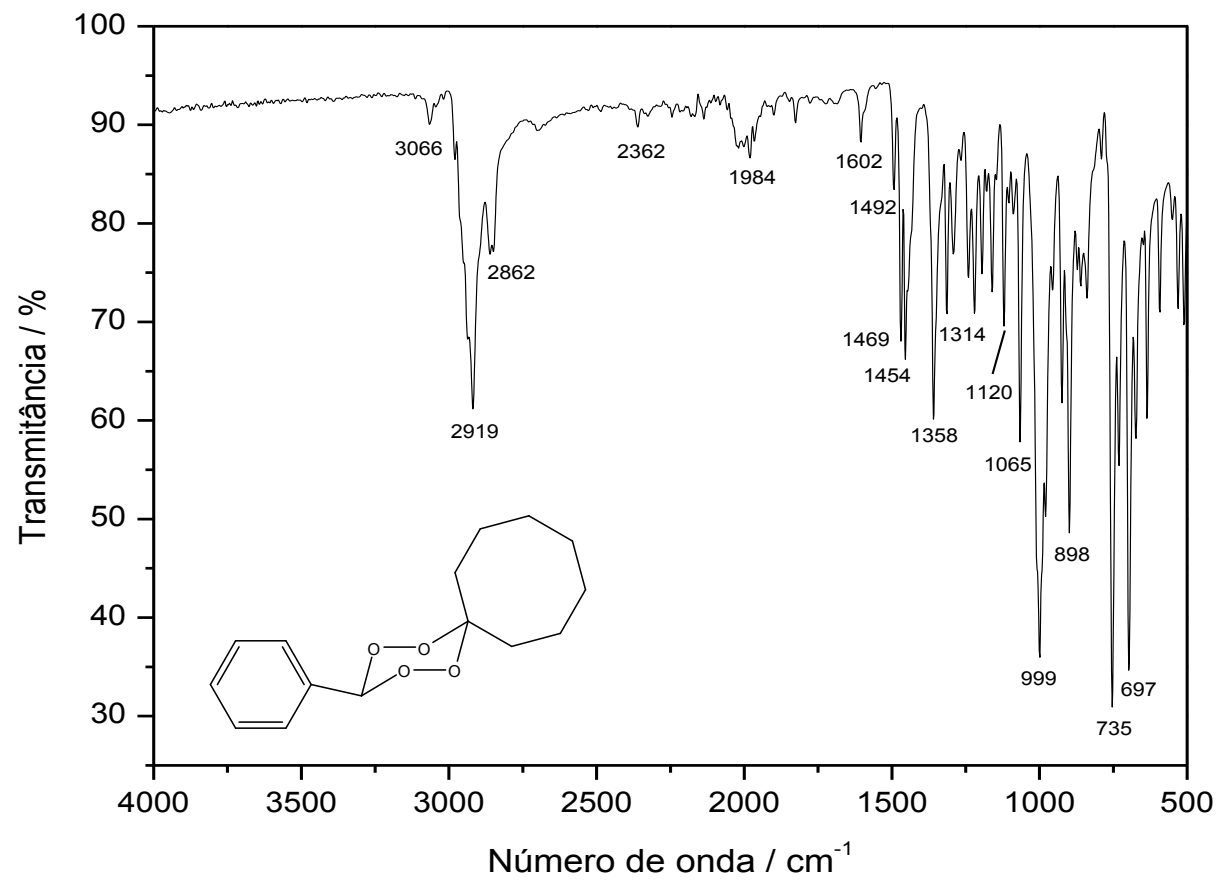


Figura 37. Espectro no infravermelho (IV) do composto [41]

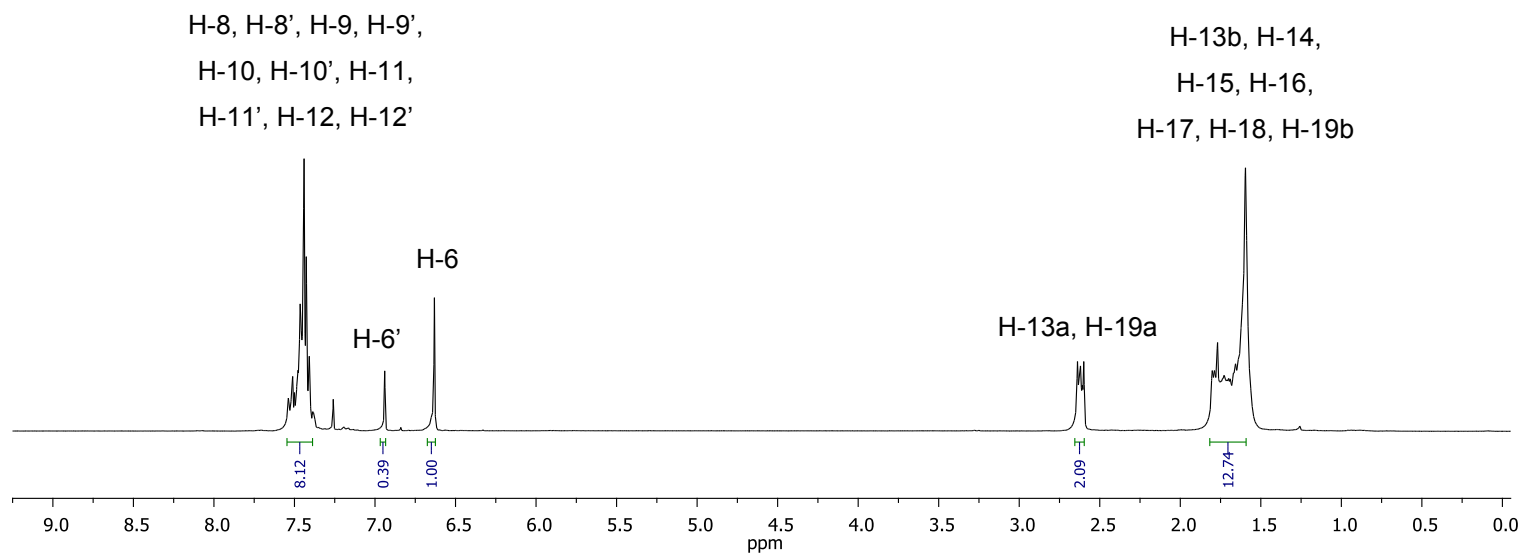
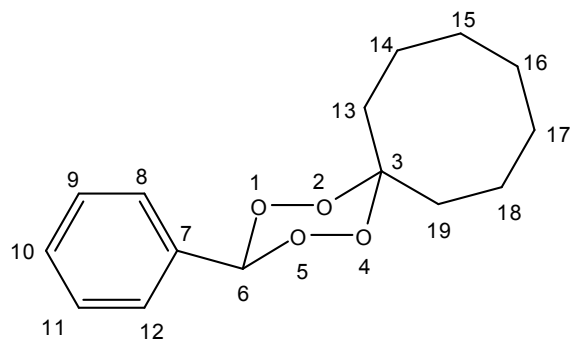


Figura 38. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[41]**

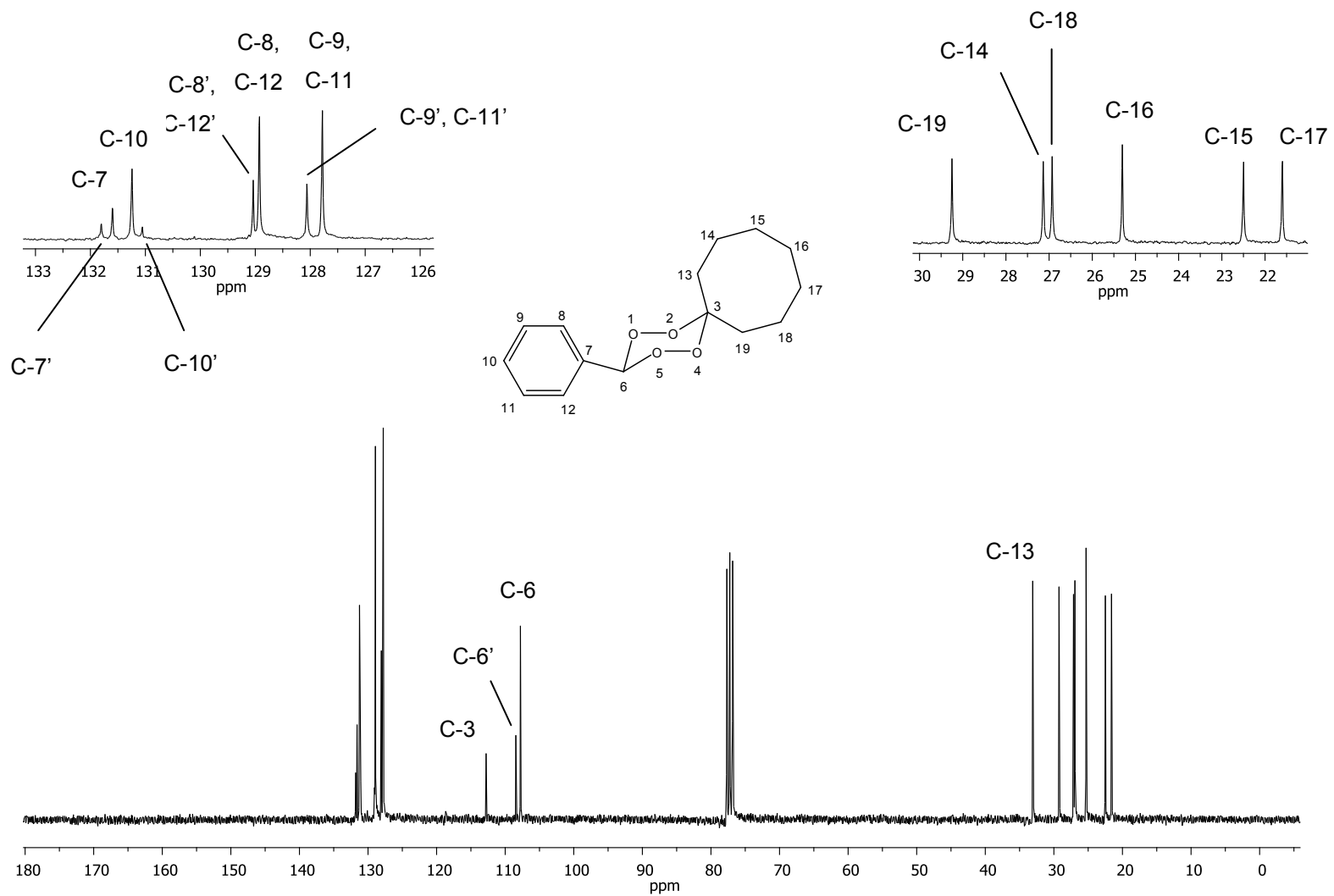


Figura 39. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [41]

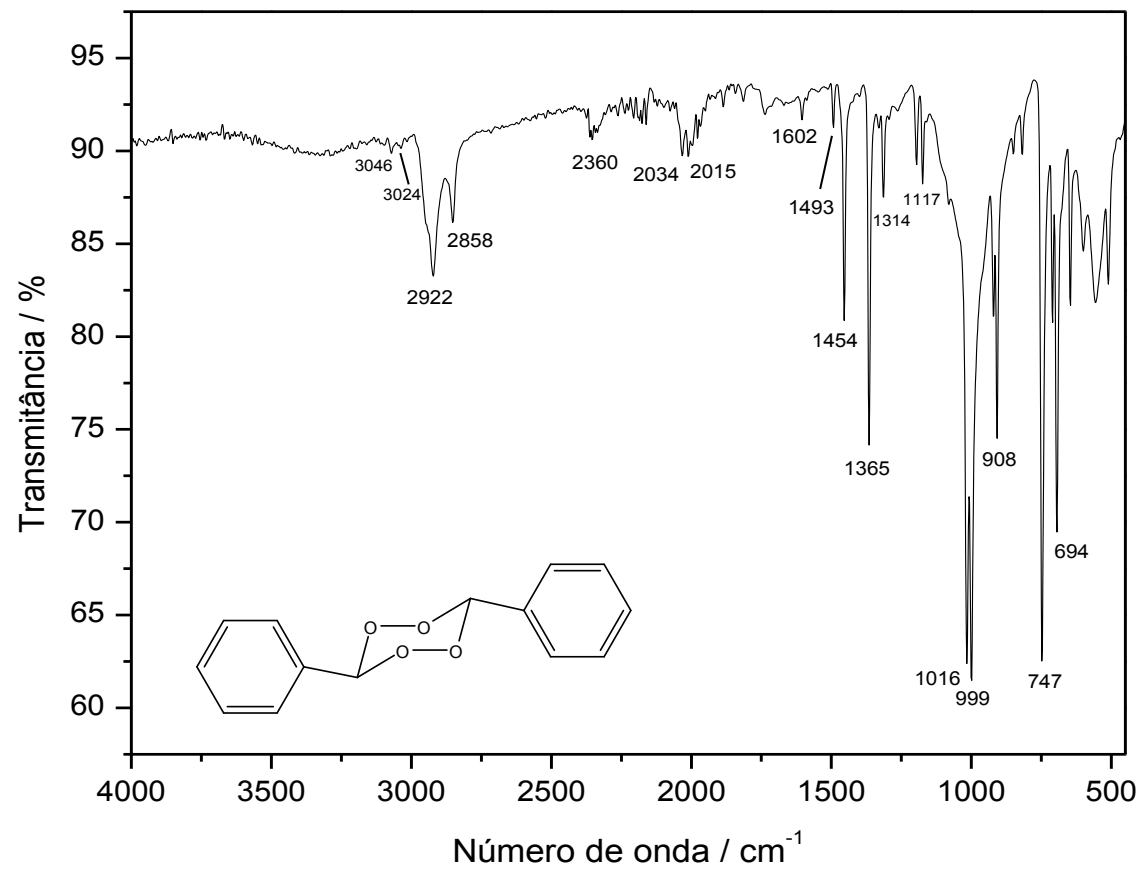


Figura 40. Espectro no infravermelho (IV) do composto [42]

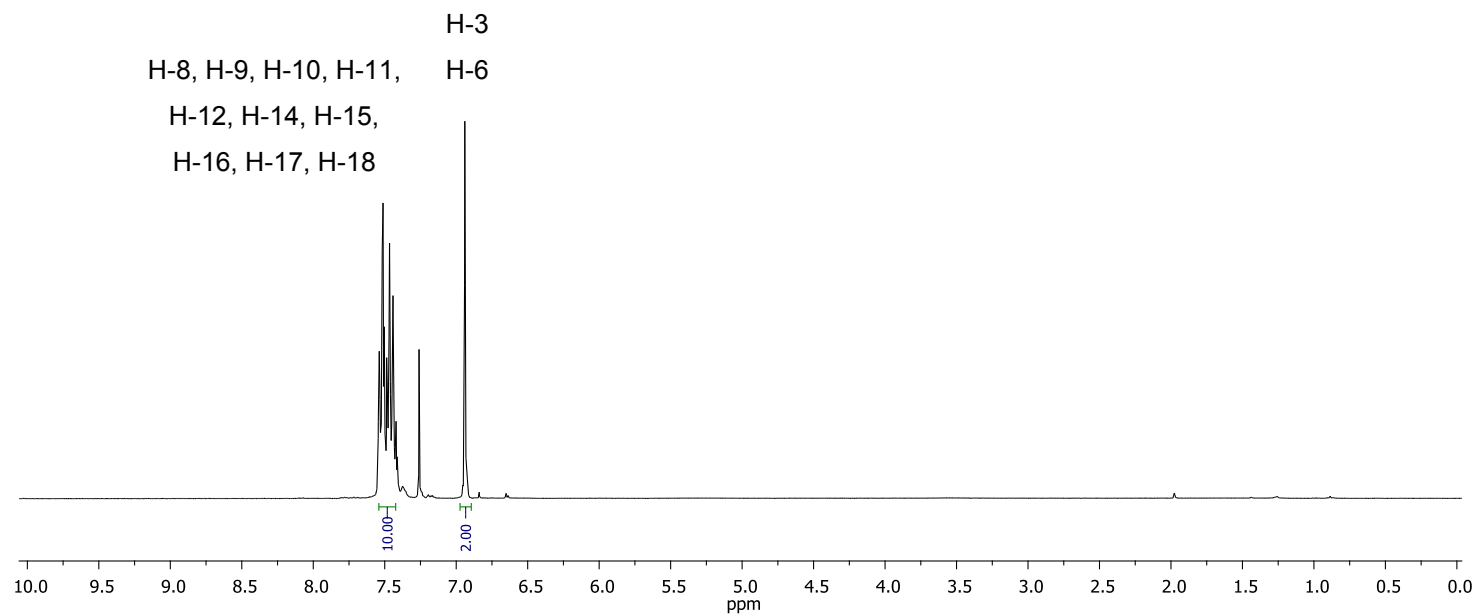
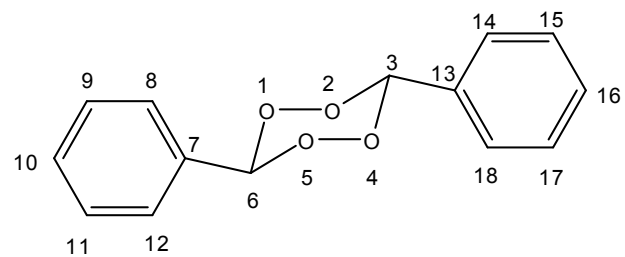


Figura 41. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[42]**

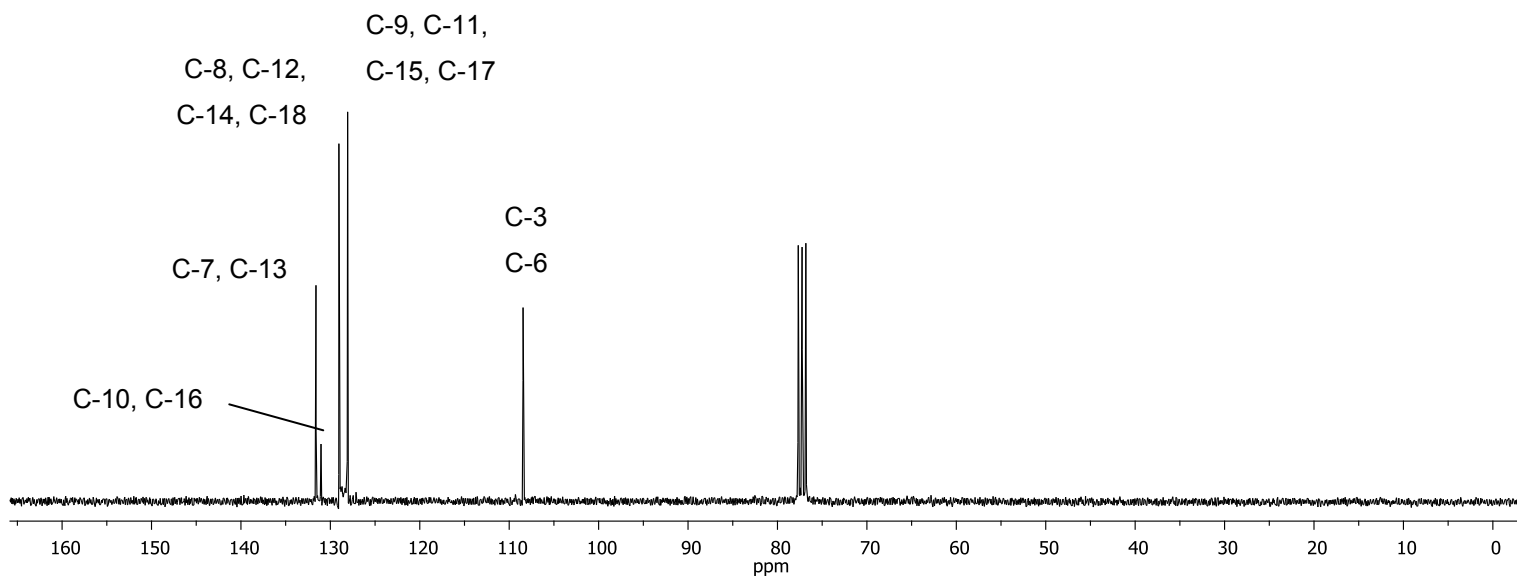
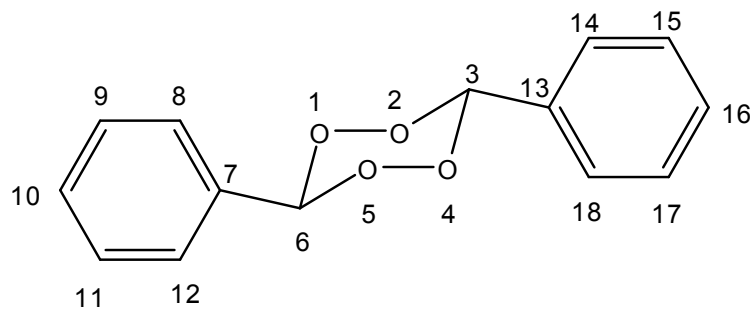


Figura 42. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [42]

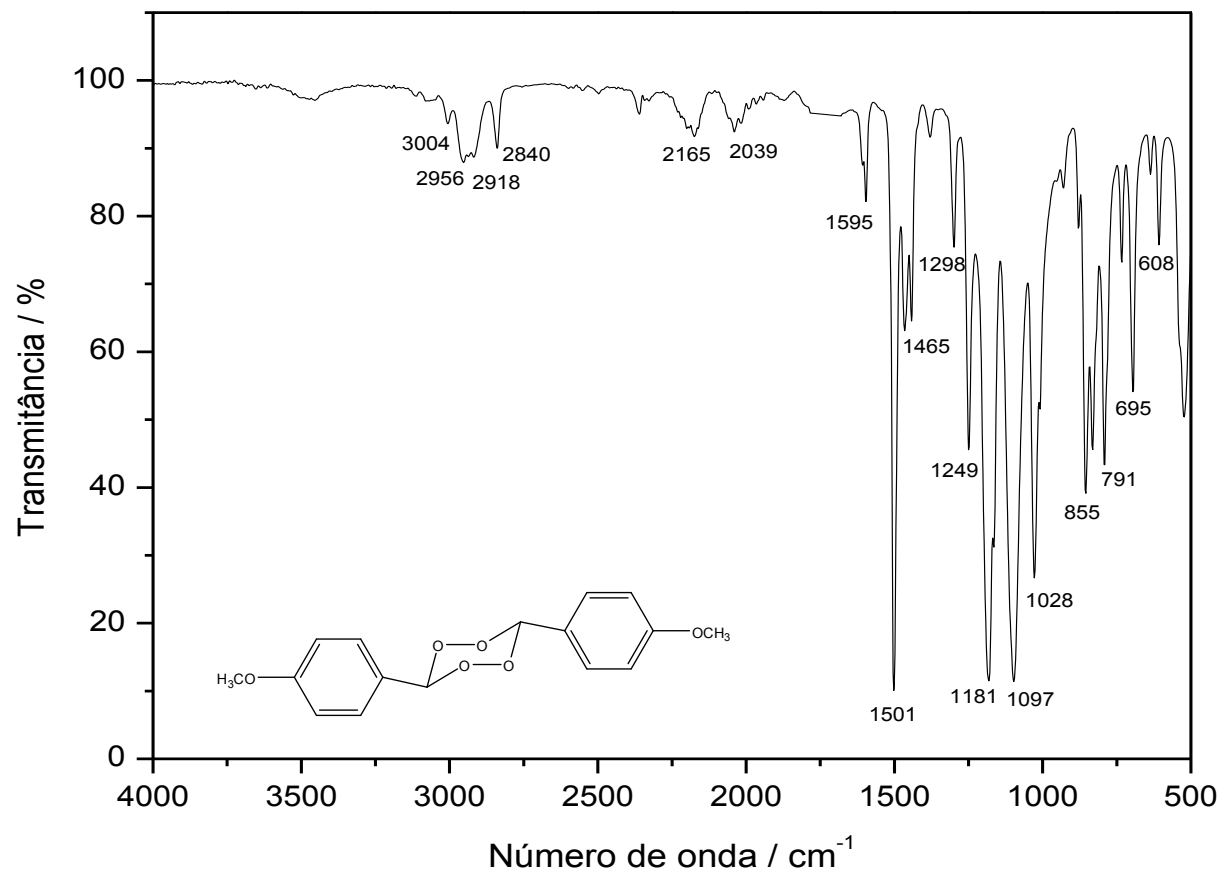


Figura 43. Espectro no infravermelho (IV) do composto [44]

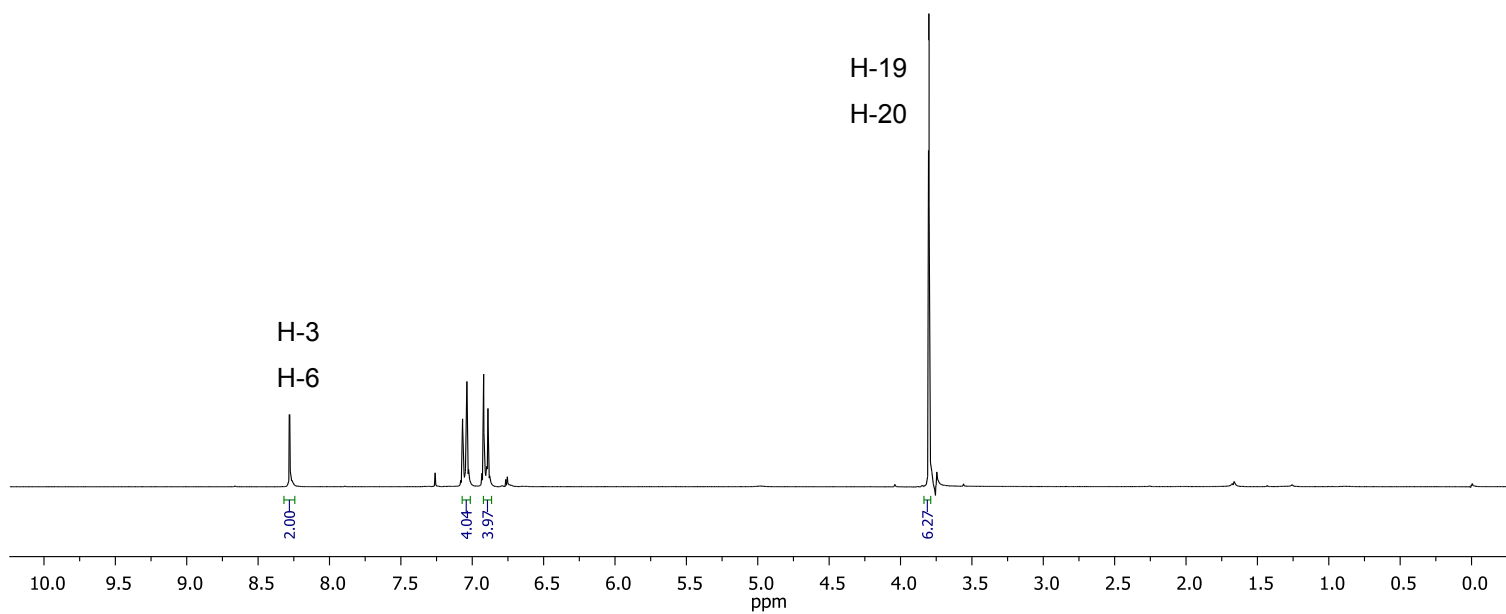
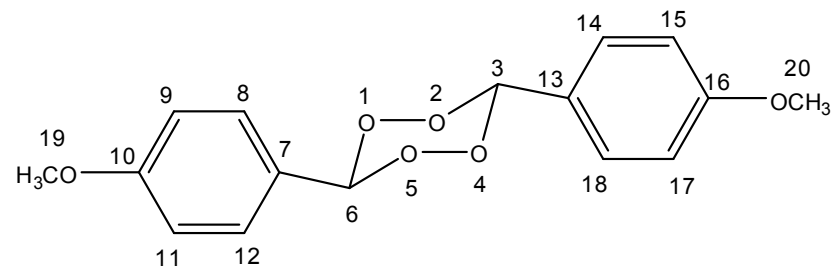
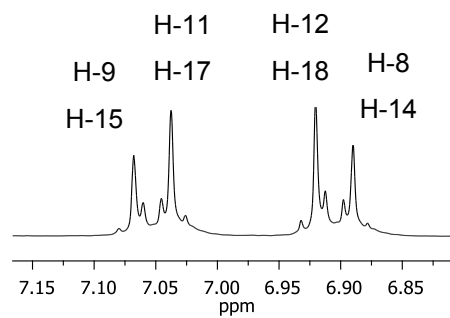


Figura 44. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **[44]**

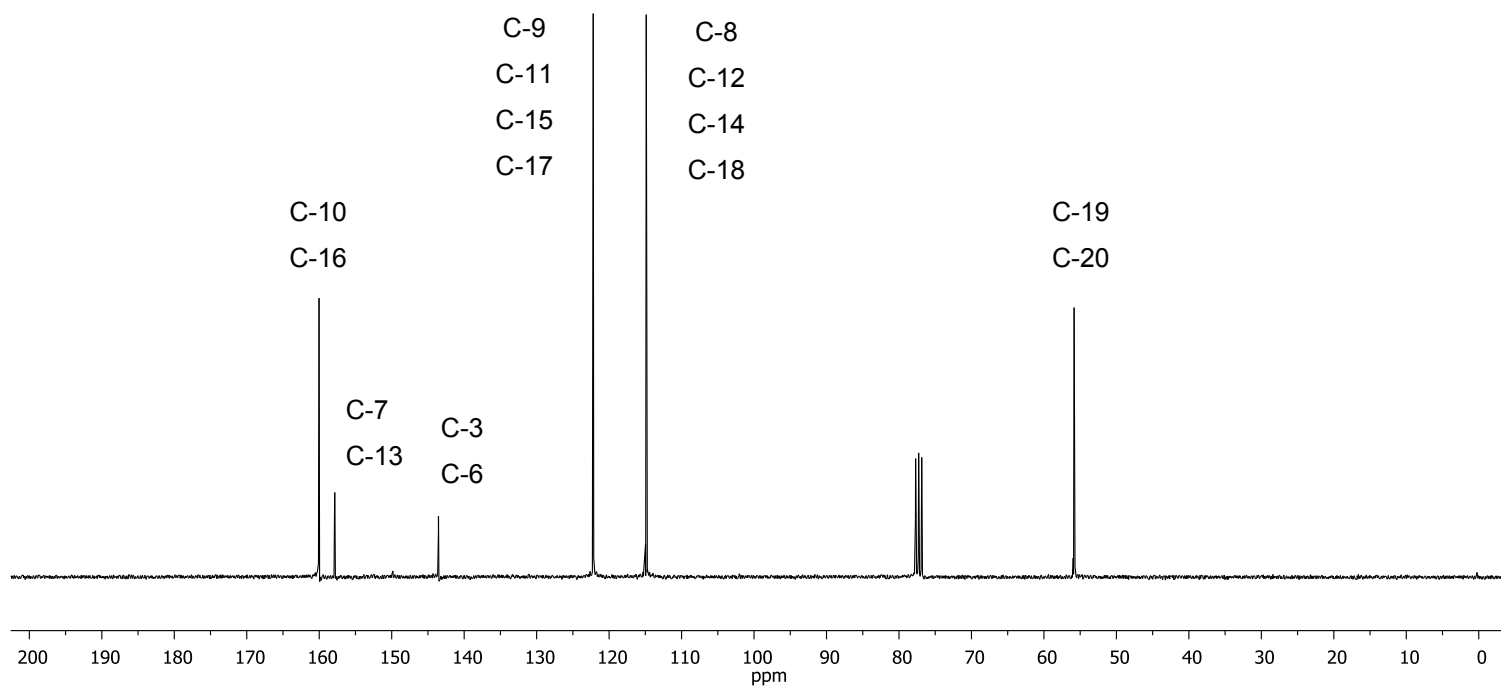
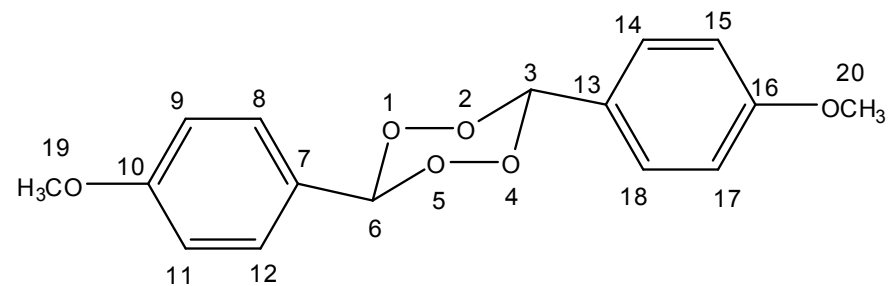


Figura 45. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [44]

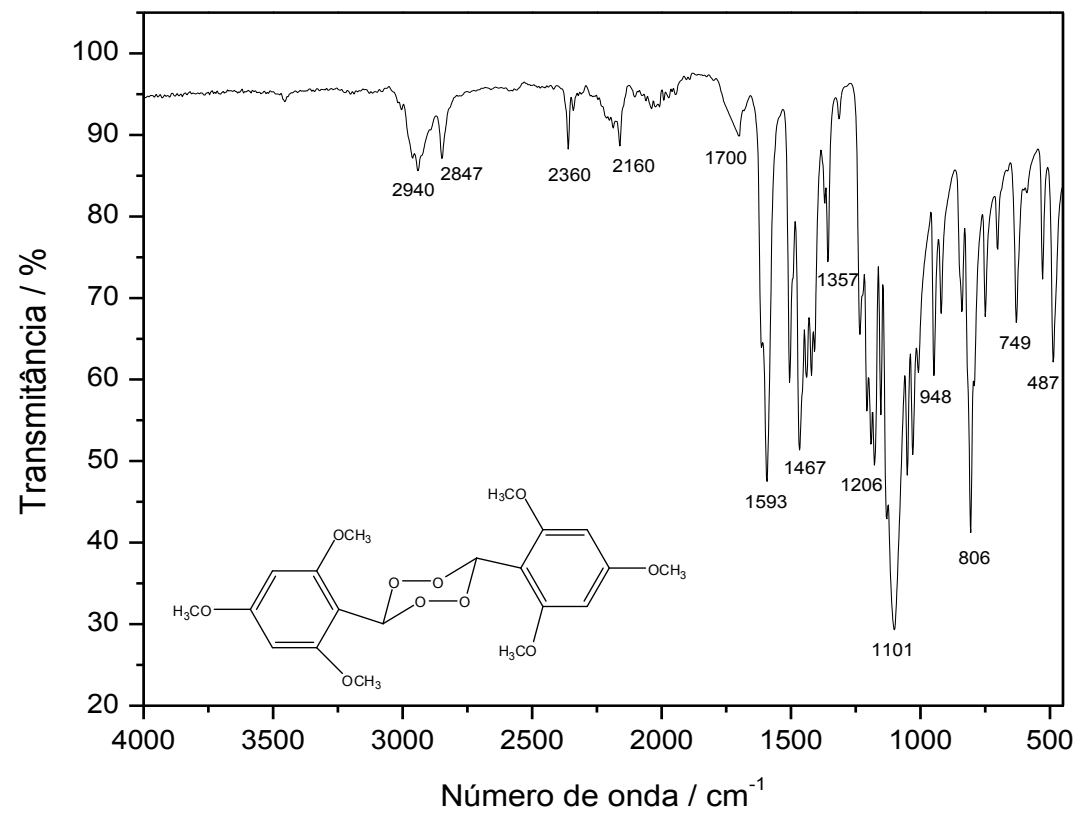


Figura 46. Espectro no infravermelho (IV) do composto [45]

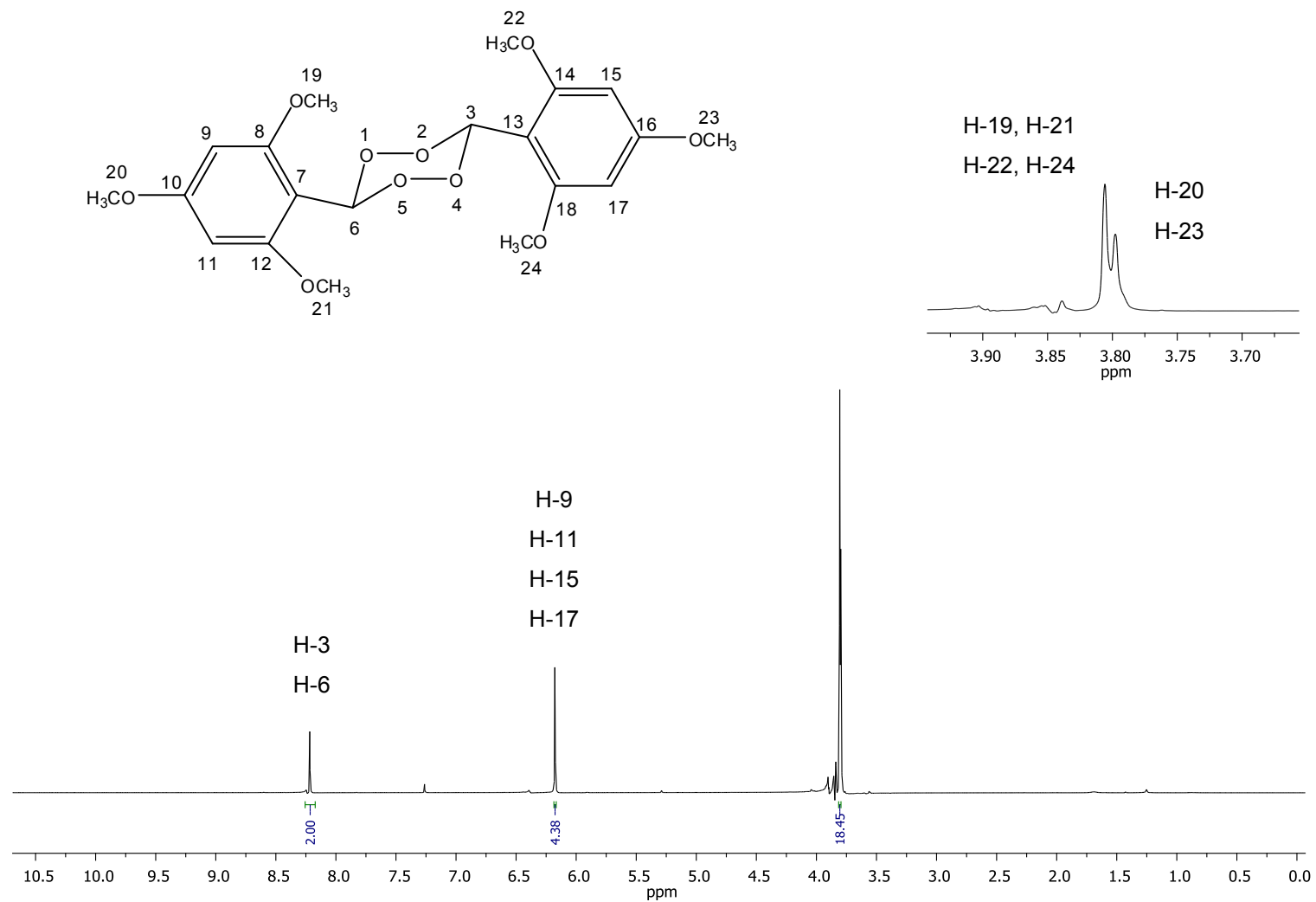


Figura 47. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto [45]

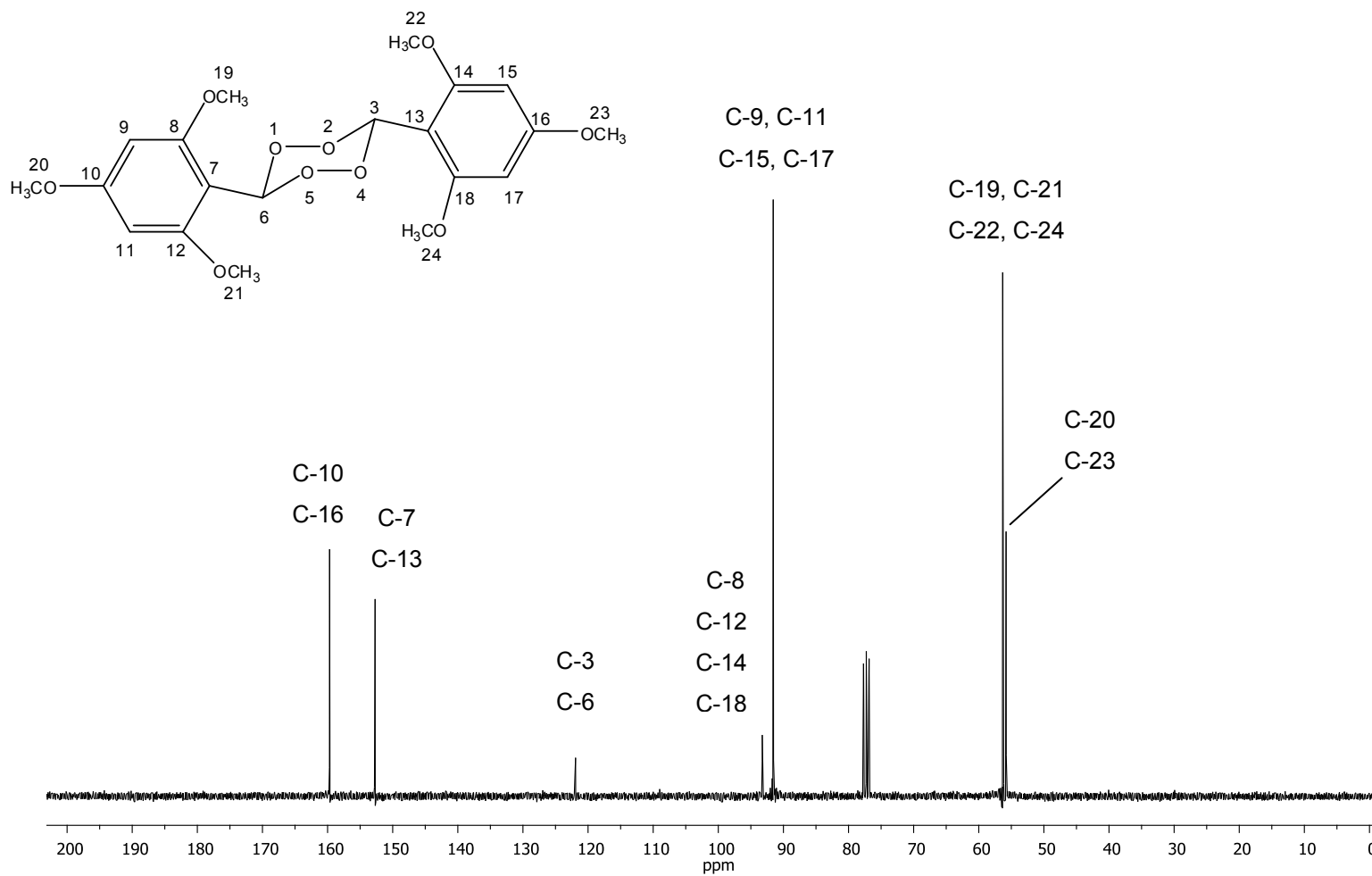


Figura 48. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto [45]

# **ANEXO II**

# **TABELAS**

Tabela 1. Efeito dos tetraoxanos **26-45**, *glyphosate* e *imazethapyr* no crescimento de plântulas de *C. sativus* após 10 dias de semeadura

<i>Cucumis sativus</i>																
Composto	1,0 mM				0,5 mM				0,25 mM				0,125 mM			
	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)
<b>26</b>	1,7 ± 0,1	54,0	1,0 ± 0,0	68,0	1,9 ± 0,1	47,0	1,2 ± 0,2	60,0	2,1 ± 0,1	43,0	1,4 ± 0,1	53,0	2,3 ± 0,0	37,0	1,8 ± 0,3	42,0
<b>27</b>	1,3 ± 0,1	64,0	0,7 ± 0,1	76,0	1,7 ± 0,4	53,0	1,1 ± 0,1	65,0	1,9 ± 0,1	49,0	1,3 ± 0,1	57,0	2,0 ± 0,2	44,0	1,7 ± 0,2	43,0
<b>28</b>	1,2 ± 0,2	68,0	0,5 ± 0,1	84,0	1,3 ± 0,2	64,0	1,1 ± 0,3	64,0	1,5 ± 0,1	59,0	1,2 ± 0,2	60,0	1,6 ± 0,3	56,0	1,3 ± 0,1	56,0
<b>29</b>	1,3 ± 0,1	64,0	0,8 ± 0,1	75,0	1,4 ± 0,1	61,0	1,3 ± 0,1	57,0	1,5 ± 0,1	58,0	1,5 ± 0,1	51,0	1,9 ± 0,1	49,0	1,7 ± 0,1	43,0
<b>30</b>	1,5 ± 0,1	58,0	0,8 ± 0,0	75,0	1,7 ± 0,1	53,0	1,1 ± 0,1	63,0	2,0 ± 0,3	44,0	1,4 ± 0,2	52,0	2,6 ± 0,1	30,0	1,9 ± 0,1	36,0
<b>31</b>	1,4 ± 0,0	63,0	0,9 ± 0,1	70,0	1,7 ± 0,0	53,0	1,0 ± 0,1	66,0	2,0 ± 0,0	45,0	1,2 ± 0,1	62,0	2,2 ± 0,0	39,0	1,4 ± 0,1	54,0
<b>32</b>	0,6 ± 0,0	84,0	0,3 ± 0,0	90,0	0,9 ± 0,0	75,0	0,5 ± 0,0	82,0	1,1 ± 0,0	70,0	0,7 ± 0,1	77,0	1,3 ± 0,0	66,0	1,0 ± 0,1	68,0
<b>33</b>	0,9 ± 0,1	76,0	0,6 ± 0,0	79,0	1,1 ± 0,1	70,0	0,8 ± 0,1	72,0	1,6 ± 0,2	57,0	1,1 ± 0,1	64,0	1,9 ± 0,0	48,0	1,2 ± 0,1	59,0
<b>34</b>	1,1 ± 0,2	70,0	0,8 ± 0,0	75,0	1,3 ± 0,1	66,0	1,0 ± 0,0	67,0	1,5 ± 0,1	60,0	1,4 ± 0,1	55,0	1,6 ± 0,1	55,0	1,5 ± 0,1	49,0
<b>35</b>	0,9 ± 0,0	77,0	0,4 ± 0,1	89,0	1,1 ± 0,1	70,0	0,4 ± 0,1	89,0	1,3 ± 0,1	66,0	0,7 ± 0,1	79,0	1,7 ± 0,2	54,0	0,9 ± 0,2	70,0
<b>36</b>	0,9 ± 0,0	76,0	0,6 ± 0,1	81,0	1,0 ± 0,1	72,0	0,7 ± 0,1	77,0	1,3 ± 0,1	66,0	0,8 ± 0,0	74,0	1,5 ± 0,1	60,0	1,1 ± 0,2	65,0
<b>37</b>	1,4 ± 0,3	62,0	0,6 ± 0,1	82,0	1,7 ± 0,1	52,0	0,8 ± 0,1	75,0	2,0 ± 0,2	44,0	1,1 ± 0,1	65,0	2,2 ± 0,1	39,0	1,4 ± 0,2	53,0
<b>38</b>	0,5 ± 0,1	86,0	0,3 ± 0,0	91,0	0,7 ± 0,1	80,0	0,4 ± 0,0	87,0	0,9 ± 0,0	75,0	0,8 ± 0,1	75,0	1,2 ± 0,0	67,0	1,1 ± 0,1	65,0
<b>39</b>	0,8 ± 0,2	78,0	0,4 ± 0,1	86,0	1,1 ± 0,2	69,0	0,8 ± 0,1	74,0	1,3 ± 0,1	64,0	1,0 ± 0,1	67,0	1,9 ± 0,4	49,0	1,2 ± 0,2	62,0
<b>40</b>	0,7 ± 0,1	81,0	0,6 ± 0,0	80,0	0,9 ± 0,2	75,0	0,8 ± 0,1	75,0	1,4 ± 0,2	63,0	1,0 ± 0,1	66,0	1,5 ± 0,0	58,0	1,1 ± 0,1	63,0
<b>41</b>	1,4 ± 0,3	61,0	0,6 ± 0,2	79,0	1,6 ± 0,1	56,0	0,8 ± 0,2	75,0	2,0 ± 0,1	45,0	0,9 ± 0,1	71,0	2,5 ± 0,1	31,0	1,1 ± 0,1	62,0
<b>42</b>	1,5 ± 0,2	60,0	0,8 ± 0,1	74,0	1,9 ± 0,1	48,0	0,9 ± 0,1	70,0	2,1 ± 0,1	42,0	1,1 ± 0,1	65,0	2,2 ± 0,0	39,0	1,3 ± 0,0	56,0
<b>43</b>	1,3 ± 0,2	63,0	0,9 ± 0,1	72,0	1,7 ± 0,3	55,0	1,1 ± 0,1	63,0	1,9 ± 0,1	49,0	1,5 ± 0,1	49,0	2,0 ± 0,1	45,0	1,8 ± 0,2	40,0
<b>44</b>	0,8 ± 0,1	78,0	0,7 ± 0,1	76,0	1,4 ± 0,3	62,0	1,2 ± 0,0	60,0	1,9 ± 0,2	49,0	1,5 ± 0,1	51,0	2,5 ± 0,1	32,0	2,0 ± 0,4	33,0
<b>45</b>	1,0 ± 0,3	72,0	1,0 ± 0,0	67,0	1,2 ± 0,1	67,0	1,1 ± 0,2	62,0	1,7 ± 0,0	53,0	1,4 ± 0,1	53,0	2,2 ± 0,5	41,0	1,9 ± 0,2	39,0
<b>Gli<sup>a</sup></b>	0,9 ± 0,1	75,0	0,9 ± 0,1	70,0	1,1 ± 0,1	71,0	1,2 ± 0,2	60,0	1,2 ± 0,1	66,0	1,5 ± 0,3	50,0	1,5 ± 0,1	60,0	1,8 ± 0,2	41,0
<b>Ima<sup>b</sup></b>	1,4 ± 0,2	62,0	1,0 ± 0,1	69,0	1,8 ± 0,3	51,0	1,3 ± 0,2	57,0	2,0 ± 0,2	46,0	1,6 ± 0,2	49,0	2,3 ± 0,3	38,0	1,8 ± 0,3	40,0
Controle	3,6 ± 0,4	0,0	3,0 ± 0,2	0,0	3,6 ± 0,4	0,0	3,0 ± 0,2	0,0	3,6 ± 0,4	0,0	3,0 ± 0,2	0,0	3,6 ± 0,4	0,0	3,0 ± 0,2	0,0

<sup>a</sup> – Gli = glyphosate, <sup>b</sup> – Ima = imazethapyr. Cada tratamento foi conduzido em triplicatas e o valor do desvio padrão (±SD) foi expresso como medida (cm) do comprimento da radícula e da parte aérea das plântulas

Tabela 2. Efeito dos tetraoxanos **26-45**, *glyphosate* e *imazethapyr* no crescimento de plântulas de *S. bicolor* após 7 dias de semeadura

<i>Sorghum bicolor</i>																
Composto	1,0 mM				0,5 mM				0,25 mM				0,125 mM			
	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)	Raiz (cm)	Inibição (%)	Caule (cm)	Inibição (%)
<b>26</b>	0,7 ± 0,2	81,0	0,9 ± 0,1	73,0	1,2 ± 0,2	68,0	2,1 ± 0,3	35,0	1,4 ± 0,1	61,0	2,5 ± 1,0	23,0	1,9 ± 0,5	48,0	2,9 ± 0,9	10,0
<b>27</b>	0,7 ± 0,1	82,0	0,6 ± 0,2	82,0	0,8 ± 0,3	80,0	1,2 ± 0,4	62,0	1,4 ± 0,4	63,0	1,8 ± 0,3	43,0	1,9 ± 0,9	48,0	2,1 ± 1,0	34,0
<b>28</b>	0,9 ± 0,1	76,0	1,0 ± 0,2	68,0	1,2 ± 0,1	68,0	1,3 ± 0,2	61,0	1,7 ± 0,1	54,0	1,5 ± 0,2	52,0	1,8 ± 0,3	51,0	1,8 ± 0,5	42,0
<b>29</b>	0,8 ± 0,1	77,0	1,0 ± 0,3	68,0	1,3 ± 0,2	65,0	1,4 ± 0,4	57,0	1,6 ± 0,2	58,0	1,5 ± 0,2	53,0	1,9 ± 0,1	50,0	1,7 ± 0,1	45,0
<b>30</b>	1,6 ± 0,3	58,0	1,3 ± 0,1	61,0	1,9 ± 0,5	47,0	1,6 ± 0,2	48,0	2,2 ± 0,3	40,0	1,8 ± 0,4	43,0	2,6 ± 0,1	30,0	2,1 ± 0,5	35,0
<b>31</b>	0,4 ± 0,1	89,0	0,9 ± 0,1	73,0	1,0 ± 0,2	72,0	1,0 ± 0,1	68,0	2,1 ± 0,5	44,0	1,6 ± 0,4	51,0	2,6 ± 0,8	29,0	1,8 ± 0,3	44,0
<b>32</b>	0,4 ± 0,1	89,0	0,4 ± 0,0	88,0	0,8 ± 0,2	79,0	0,8 ± 0,1	77,0	1,0 ± 0,3	73,0	0,9 ± 0,1	72,0	1,3 ± 0,1	66,0	1,2 ± 0,2	63,0
<b>33</b>	0,3 ± 0,0	93,0	0,6 ± 0,1	83,0	0,6 ± 0,0	84,0	0,8 ± 0,1	76,0	1,3 ± 0,1	65,0	1,0 ± 0,1	70,0	1,7 ± 0,1	54,0	1,2 ± 0,0	63,0
<b>34</b>	0,4 ± 0,1	89,0	0,4 ± 0,0	88,0	0,5 ± 0,2	85,0	0,5 ± 0,1	84,0	0,9 ± 0,1	77,0	0,8 ± 0,0	76,0	1,3 ± 0,4	66,0	1,0 ± 0,0	68,0
<b>35</b>	0,1 ± 0,0	97,0	0,2 ± 0,0	92,0	0,2 ± 0,0	96,0	0,3 ± 0,0	90,0	0,4 ± 0,0	90,0	0,6 ± 0,3	80,0	0,8 ± 0,1	77,0	0,8 ± 0,1	74,0
<b>36</b>	0,6 ± 0,1	85,0	0,6 ± 0,1	83,0	0,8 ± 0,3	77,0	0,7 ± 0,1	78,0	1,1 ± 0,2	69,0	0,8 ± 0,0	75,0	1,3 ± 0,3	64,0	1,1 ± 0,2	67,0
<b>37</b>	0,5 ± 0,1	87,0	0,3 ± 0,1	91,0	0,9 ± 0,1	77,0	0,7 ± 0,2	80,0	1,1 ± 0,0	71,0	1,1 ± 0,2	66,0	1,2 ± 0,3	68,0	1,4 ± 0,2	55,0
<b>38</b>	0,3 ± 0,0	92,0	0,3 ± 0,0	90,0	0,5 ± 0,1	86,0	0,5 ± 0,0	86,0	0,8 ± 0,2	79,0	0,8 ± 0,1	77,0	1,0 ± 0,3	72,0	1,0 ± 0,2	69,0
<b>39</b>	0,3 ± 0,0	93,0	0,4 ± 0,0	89,0	0,4 ± 0,1	90,0	0,8 ± 0,1	76,0	0,7 ± 0,1	82,0	0,9 ± 0,1	72,0	1,0 ± 0,3	73,0	1,0 ± 0,2	69,0
<b>40</b>	0,8 ± 0,1	79,0	1,0 ± 0,1	68,0	1,6 ± 0,2	57,0	1,5 ± 0,1	54,0	1,9 ± 0,2	49,0	1,7 ± 0,4	47,0	2,3 ± 0,6	37,0	2,0 ± 0,7	37,0
<b>41</b>	0,8 ± 0,2	79,0	0,6 ± 0,2	81,0	1,2 ± 0,2	69,0	0,9 ± 0,2	73,0	1,9 ± 0,1	48,0	1,2 ± 0,1	64,0	2,5 ± 0,1	32,0	1,4 ± 0,3	55,0
<b>42</b>	0,4 ± 0,2	91,0	0,3 ± 0,0	92,0	0,9 ± 0,2	75,0	0,9 ± 0,1	71,0	2,0 ± 0,4	46,0	1,4 ± 0,1	57,0	2,6 ± 0,1	30,0	1,8 ± 0,1	42,0
<b>43</b>	0,1 ± 0,0	98,0	0,1 ± 0,0	96,0	1,0 ± 0,3	73,0	0,4 ± 0,0	86,0	1,5 ± 0,6	58,0	1,0 ± 0,1	68,0	1,9 ± 0,1	49,0	1,8 ± 0,2	43,0
<b>44</b>	0,8 ± 0,1	79,0	0,8 ± 0,3	76,0	1,1 ± 0,5	70,0	1,2 ± 0,4	62,0	1,8 ± 0,4	52,0	1,8 ± 0,1	45,0	2,6 ± 0,9	28,0	2,5 ± 0,5	20,0
<b>45</b>	0,4 ± 0,0	88,0	0,5 ± 0,0	83,0	0,8 ± 0,2	78,0	1,3 ± 0,1	60,0	1,3 ± 0,1	66,0	1,7 ± 0,3	47,0	1,8 ± 0,2	50,0	2,0 ± 0,1	37,0
<b>Gli<sup>a</sup></b>	0,5 ± 0,1	87,0	0,4 ± 0,0	87,0	0,6 ± 0,2	84,0	0,6 ± 0,0	82,0	0,8 ± 0,2	79,0	0,7 ± 0,1	78,0	0,9 ± 0,2	76,0	1,0 ± 0,3	68,0
<b>Ima<sup>b</sup></b>	0,3 ± 0,0	93,0	0,3 ± 0,0	92,0	0,3 ± 0,1	91,0	0,4 ± 0,1	89,0	0,6 ± 0,0	85,0	0,6 ± 0,1	83,0	0,8 ± 0,2	78,0	0,7 ± 0,1	78,0
Controle	3,6 ± 0,3	0,0	3,2 ± 0,3	0,0	3,6 ± 0,3	0,0	3,2 ± 0,3	0,0	3,6 ± 0,3	0,0	3,2 ± 0,3	0,0	3,6 ± 0,3	0,0	3,2 ± 0,3	0,0

<sup>a</sup> – Gli = glyphosate, <sup>b</sup> – Ima = imazethapyr. Cada tratamento foi conduzido em triplicatas e o valor do desvio padrão (±SD) foi expresso como medida (cm) do comprimento da radícula e da parte aérea das plântulas

# **ANEXO III**

# **FIGURAS**

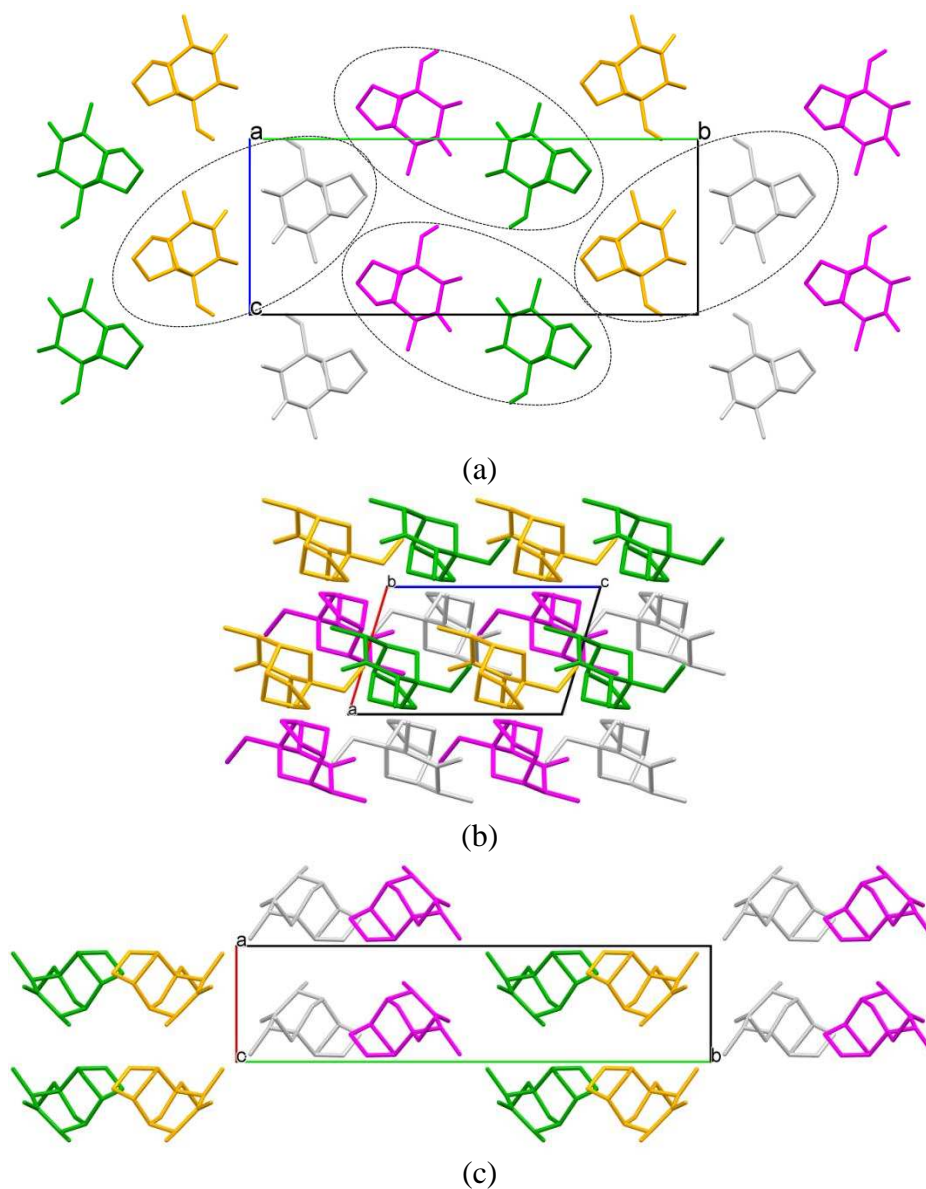


Figura 1. Empacotamento do composto **[47]** projetado nos planos *bc* (a), *ac* (b), e *ab* (c), respectivamente. Os dímeros centrossimétricos na projeção *bc* (a) estão circulado com linhas pontilhadas. O esquema de cores representa a operação de simetria além tradução do grupo espacial  $P2_1/c$ . Cinza claro = identidade ( $x, y, z$ ); verde = eixo parafuso  $2_1$  ( $-x, y+1/2, -z+1/2$ ); amarelo = centro de inversão ( $-x, -y, -z$ ); rosa = plano deslizante ( $x, -y-1/2, z-1/2$ )

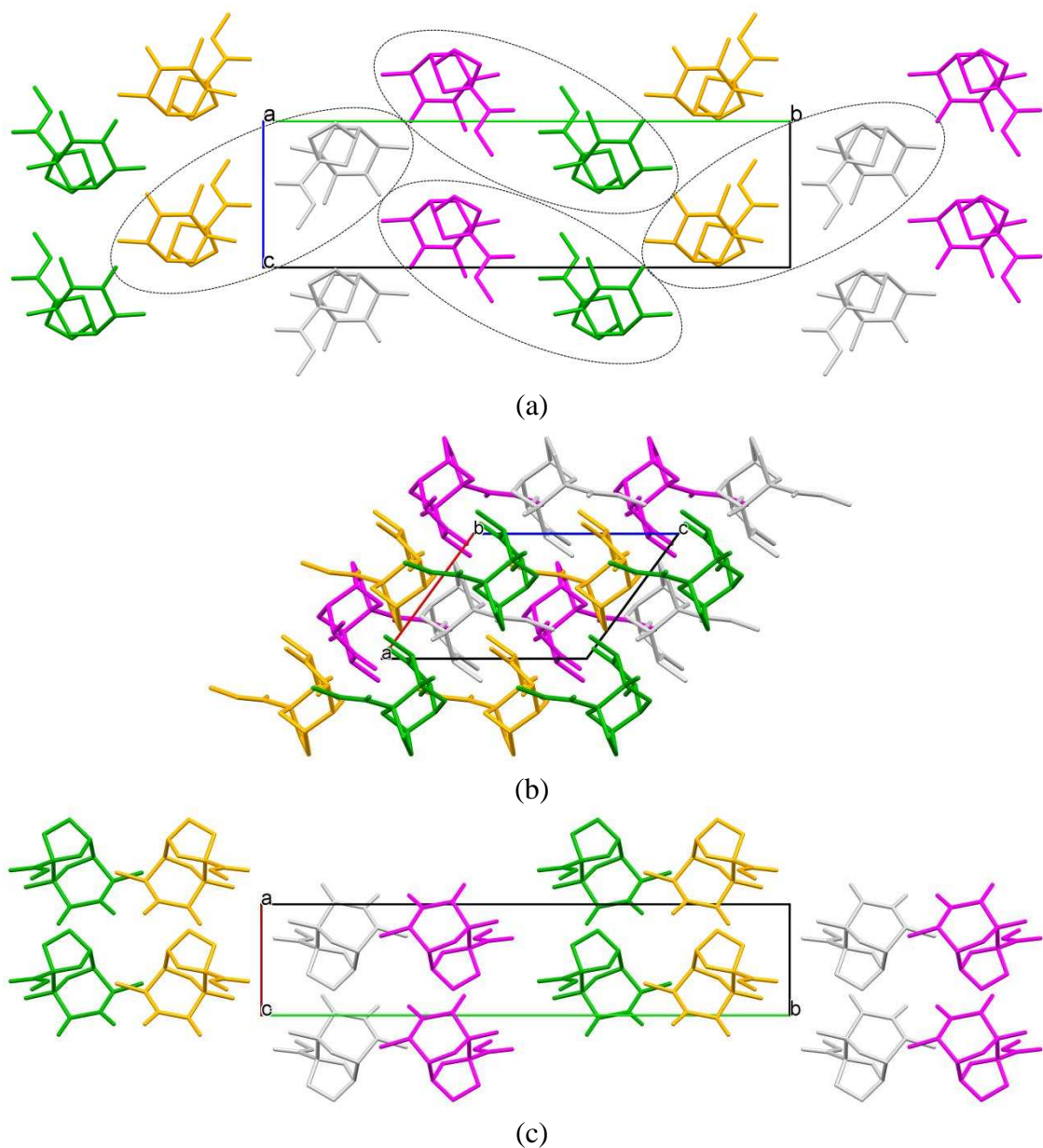


Figura 2. Empacotamento do composto **[48]** projetado nos planos *bc* (a), *ac* (b), e *ab* (c), respectivamente. Os dímeros centrossimétricos na projeção *bc* (a) estão circulos com linhas pontilhadas. O esquema de cores representa a operação de simetria além tradução do grupo espacial  $P2_1/c$ . Cinza claro = identidade  $(x, y, z)$ ; verde = eixo parafuso  $2_1$   $(-x, y+1/2, -z+1/2)$ ; amarelo = centro de inversão  $(-x, -y, -z)$ ; rosa = plano deslizante  $(x, -y-1/2, z-1/2)$

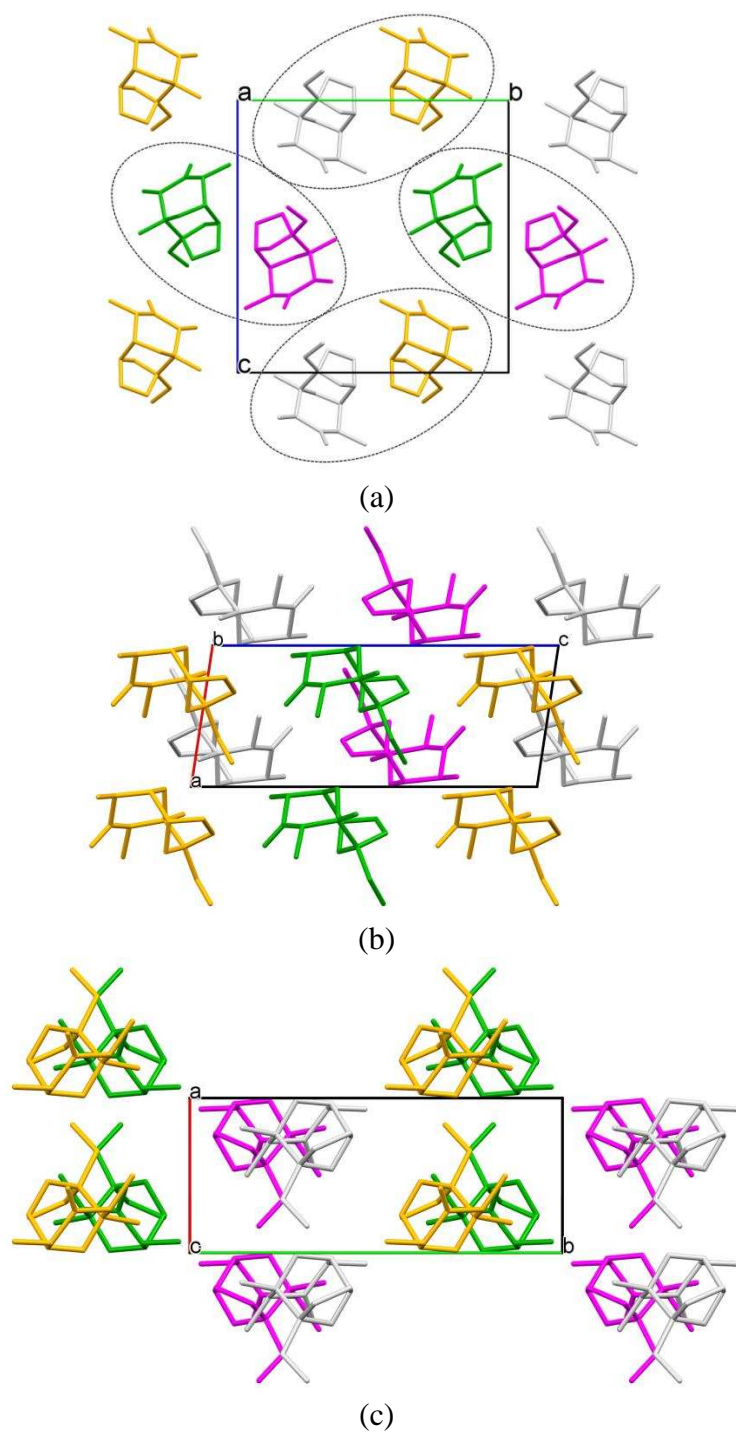


Figura 3. Empacotamento do composto **[49]** projetado nos planos *bc* (a), *ac* (b), e *ab* (c), respectivamente. Os dímeros centrossimétricos na projeção *bc* (a) estão circulado com linhas pontilhadas. O esquema de cores representa a operação de simetria além tradução do grupo espacial  $P2_1/c$ . Cinza claro = identidade ( $x, y, z$ ); verde = eixo parafuso  $2_1$  ( $-x, y+1/2, -z+1/2$ ); amarelo = centro de inversão ( $-x, -y, -z$ ); rosa = plano deslizante ( $x, -y-1/2, z-1/2$ )

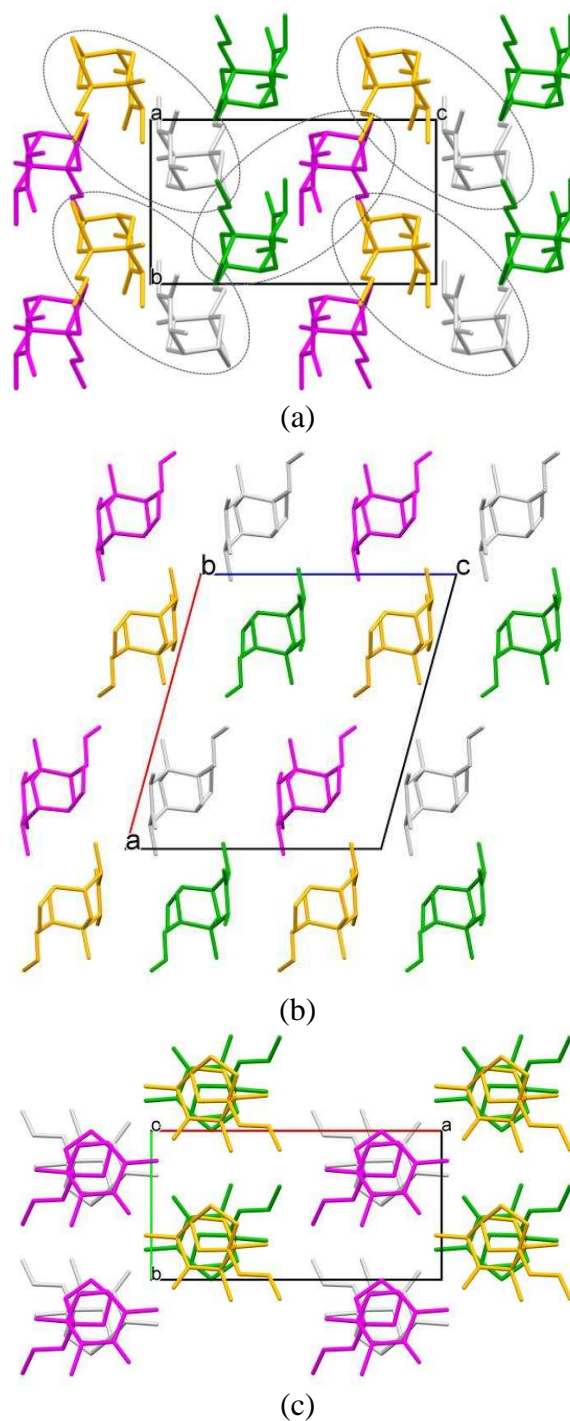


Figura 4. Empacotamento do composto **[50]** projetado nos planos *bc* (a), *ac* (b), e *ab* (c), respectivamente. Os dímeros centrossimétricos na projeção *bc* (a) estão circulado com linhas pontilhadas. O esquema de cores representa a operação de simetria além tradução do grupo espacial  $P2_1/c$ . Cinza claro = identidade ( $x, y, z$ ); verde = eixo parafuso  $2_1$  ( $-x, y+1/2, -z+1/2$ ); amarelo = centro de inversão ( $-x, -y, -z$ ); rosa = plano deslizante ( $x, -y-1/2, z-1/2$ )

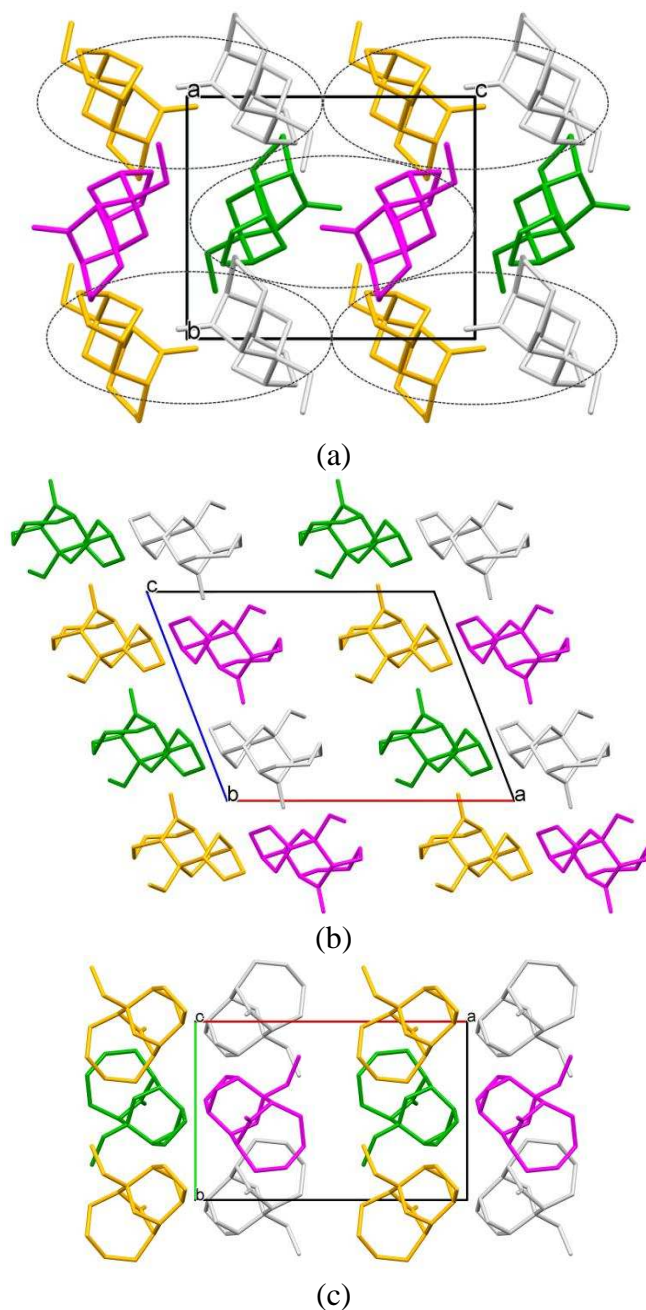


Figura 5. Empacotamento do composto **[51]** projetado nos planos *bc* (a), *ac* (b), e *ab* (c), respectivamente. Os dímeros centrossimétricos na projeção *bc* (a) estão circutados com linhas pontilhadas. O esquema de cores representa a operação de simetria além tradução do grupo espacial  $P2_1/c$ . Cinza claro = identidade ( $x, y, z$ ); verde = eixo parafuso  $2_1$  ( $-x, y+1/2, -z+1/2$ ); amarelo = centro de inversão ( $-x, -y, -z$ ); rosa = plano deslizante ( $x, -y-1/2, z-1/2$ )

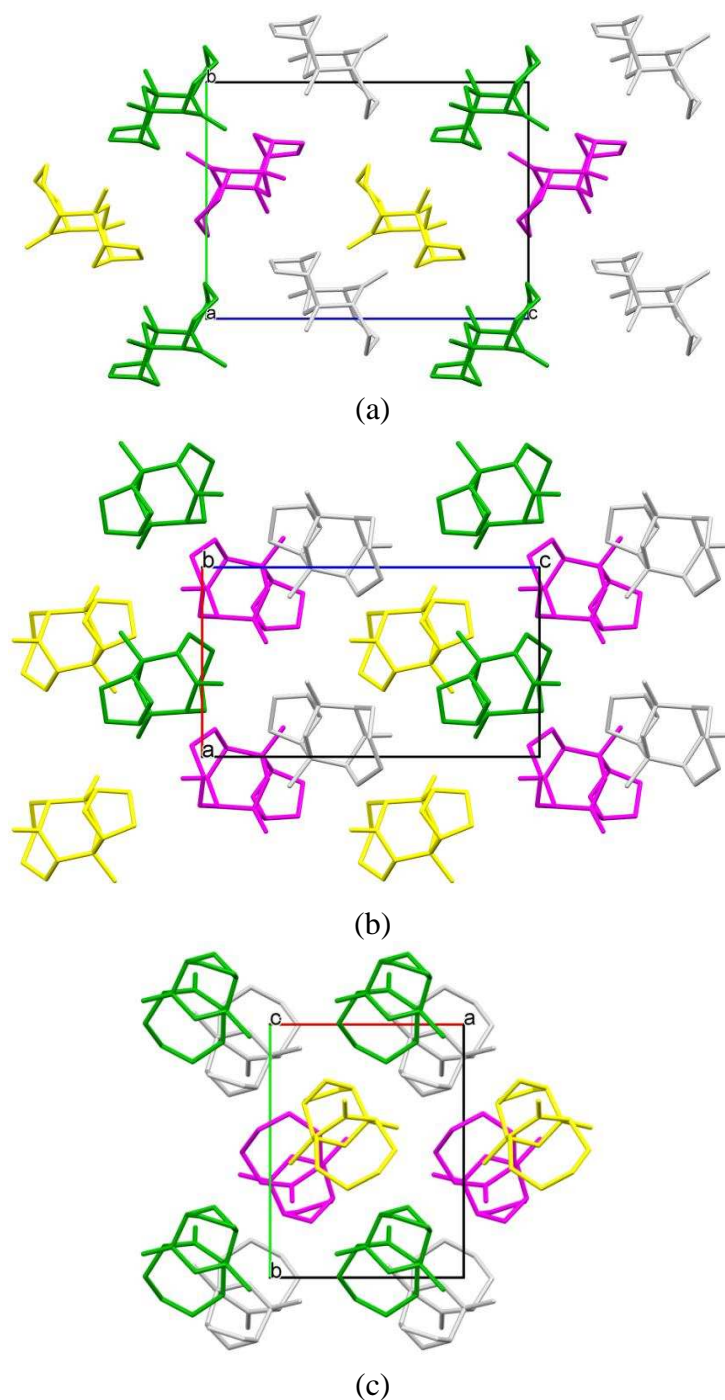


Figura 6. Empacotamento do composto **[52]** projetado nos planos *bc* (a), *ac* (b), e *ab* (c), respectivamente. Os dímeros centrossimétricos na projeção *bc* (a) estão circulado com linhas pontilhadas. O esquema de cores representa a operação de simetria além tradução do grupo espacial  $P2_12_12_1$ . Cinza claro = identidade ( $x, y, z$ ); verde = eixo parafuso  $2_1$  paralelo ao eixo  $c$  ( $-x+1/2, -y, z+1/2$ ); amarelo = eixo parafuso  $2_1$  paralelo ao eixo  $a$  ( $x+1/2, -y+1/2, -z$ ); rosa = eixo parafuso  $2_1$  paralelo ao eixo  $b$  ( $-x, y+1/2, -z+1/2$ )

**ANEXO IV**  
**PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

- **Artigo 1:** Tetraoxanes as a new class of efficient herbicides comparable to commercial products. Artigo aceito (versão *on line* DOI: 10.1002/ps.3891) – Pest Management Science.
- **Artigo 2:** Structural characterization of unusually stable polycyclic ozonides. Artigo aceito – Journal of the Molecular Structure, 1082, p. 151-161, 2015.
- **Patente:** 1,2,4,5-tetraoxanos, formulações e uso destes como herbicidas. Depósito realizado no dia 23/01/2014 sob o número de registro BR 10 2014 0017151.