

SINVAL GARCIA PEREIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DE
COMPOSTOS AROMÁTICOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
OUTUBRO - 2000

SINVAL GARCIA PEREIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DE
COMPOSTOS AROMÁTICOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO**

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

Aprovada: 8 de março de 2000.

Prof. Luiz Cláudio de A. Barbosa
(Conselheiro)

Prof. Laércio Zambolim
(Conselheiro)

Prof^a Célia Regina A. Maltha

Prof. Elson Santiago de Alvarenga

Prof^a Mayura Marques Magalhães Rubinger
(Orientadora)

Em memória de minha filha Catarina Azevedo Garcia,
que, apesar do pouco tempo de convívio, muito me ensinou.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À Professora Mayura M. M. Rubinger, por sua orientação competente e segura, pela dedicação e atenção durante a realização deste trabalho, bem como pelo seu humor linear, mesmo durante as dificuldades.

Aos Professores Luiz Cláudio A. Barbosa, Célia Regina A. Maltha, Elson Santiago de Alvarenga e Antônio Jacinto Demuner, pelas sugestões e pelo apoio durante a realização deste trabalho e pelo convívio como aluno na obtenção dos créditos disciplinares.

Ao Professor Laércio Zambolim, ao bolsista de iniciação científica Sílvio André Meirelles Alves e ao mestrando Jefferson Fernandes do Nascimento do Laboratório de Proteção de Plantas, pela valiosa colaboração na realização dos ensaios biológicos.

Aos amigos do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), em especial a Adilson, Alan, Alberto, Andréia, Cassiano, Fernando, Itamar, Larissa, Lourdes, Lucimar, Marco Aurélio, Roqueline e Silvino, pela prestatividade e convivência agradável.

Aos técnicos de laboratório, Sr. Antônio, Ricardo, Lucinha e Onezina, e a todos os funcionários do Departamento de Química, pela atenção, disponibilidade e amizade.

Ao amigo Alesandro Araújo da Silva, ao técnico Eduardo Resende Pereira e ao professor Gulab Newandram Jham, pela obtenção dos espectros de massas.

Ao Professor Elson Santiago de Alvarenga, pela obtenção de espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Ao técnico Márcio José Gomes Alvarenga, pela obtenção de todos os espectros no infravermelho.

À bolsista de iniciação científica Vanessa Jóia de Melo, pelo apoio na realização das etapas iniciais deste trabalho.

A toda a minha família, em especial à minha irmã Neusa Garcia e ao meu sobrinho Ronaldo da Silva, pelo apoio constante.

À Rosa Maria Teixeira, pelo incentivo e, principalmente, pela ajuda na digitação desta tese.

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

BIOGRAFIA

SINVAL GARCIA PEREIRA, filho de Osvaldo Higino Pereira e Sebastiana Garcia de Matos Pereira, nasceu em Alpercatas, Minas Gerais, em 14 de abril de 1965.

Em 1990, ingressou na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde, em março de 1995, recebeu o título de Licenciado em Química e, em 28 de outubro de 1997, o título de Especialista em Fitoquímica.

Em março de 1998, iniciou os estudos no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, nível de Mestrado, área de concentração em Síntese de Agroquímicos, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em 8 de março de 2000.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
EXTRATO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1 - SÍNTESE DE COMPOSTOS AROMÁTICOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO.....	
1. INTRODUÇÃO.....	6
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.1. Tratamento de reagentes e solventes.....	12
2.2. Cromatografia em camada delgada.....	13
2.3. Cromatografia em coluna.....	13
2.4. Recuperação de sílica-gel.....	13
2.5. Aparelhos e equipamentos.....	14
2.6. Preparo dos sais de Wittig.....	15
2.7. Preparo do oxidante PDC.....	15
2.8. Desenvolvimento experimental.....	15
2.8.1. Oxidação da diacetona-D-glicose(I).....	15

	Página
2.8.2. Reação de Wittig-Horner.....	17
2.8.3. Hidrogenação catalítica dos <i>E,Z</i> -3-C-(Carbometoximetileno)-3-deoxi-1,2:5,6-di- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-alofuranose [III].....	18
2.8.4. Hidrólise seletiva do grupo 5,6- <i>O</i> -isopropilideno de 3-C-(carbometoximetil)-3-deoxi-1,2:5,6-di- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-alofuranose [IV].....	19
2.8.5. Clivagem oxidativa da 3-C-(carbometoximetil)-3-dioxi-1,2- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-alofuranose [V].....	20
2.8.6. Reações de Wittig.....	21
2.8.7. Hidrogenação catalítica das 6-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-1,2- <i>O</i> -isopropilideno-3,5,6-trideoxi- α -D-ribo-hex-5(<i>Z</i>)-enofuranoses [VII].....	24
2.8.8. Hidrólise dos intermediários 5-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-3,5-dideoxi-1,2- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-ribofuranoses [VIII].....	27
2.8.9. Oxidação das 5-C-aril-3-C-(carboximetil)-3,5,6-trideoxi- α -D-ribohexofuranose-2,3- γ -lactonas [IX].....	31
2.8.9.1. Método de Swern.....	31
2.8.9.2. Método de Jones.....	31
2.8.10. Reações de metilenação descarboxilativa dos ácidos dilactônicos.....	34
2.8.10.1. Obtenção dos ácidos dilactônicos [XI].....	34
2.8.10.2. Metilenação descarboxilativa dos ácidos dilactônicos [XI]..	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.1. Oxidação da diacetona-D-glicose (I).....	39
3.2. Reação de Wittig-Horner.....	47
3.3. Hidrogenação catalítica dos ésteres insaturados [III].....	49
3.4. Hidrólise seletiva do grupo 5,6- <i>O</i> -isopropilideno de 3-C-(carbometoximetil)-3-deoxi-1,2:5,6-di- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-alofuranose [IV].....	54

	Página
3.5. Clivagem oxidativa da 3-C-(carbometoximetil)-3-deoxi-1,2- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-alofuranose [V].....	57
3.6. Reações de Wittig.....	60
3.7. Hidrogenação catalítica das 6-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-1,2- <i>O</i> -isopropilideno-3,5,6-trideoxi- α -D-ribo-hex-5(<i>Z</i>)-enofuranoses [VII].....	67
3.8. Hidrólise dos intermediários-5-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-3,5-dideoxi-1,2- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-ribofuranoses [VIII].....	75
3.9. Oxidação dos álcoois lactônicos [IX].....	83
3.10. Reações de metilenação descarboxilativa dos ácidos dilactônicos [X].....	98
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	109
 CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DE COMPOSTOS AROMÁTICOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO.....	
1. INTRODUÇÃO.....	111
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	119
2.1. Preparo do meio de cultura.....	119
2.2. Produção de esporos dos fungos em estudo.....	120
2.3. Preparo das amostras para os testes biológicos.....	120
2.4. Quantificação dos esporos.....	121
2.5. Montagem dos ensaios biológicos.....	121
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	123
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	127
RESUMO E CONCLUSÕES.....	128
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	131

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
AcOH	Ácido acético
AcONa	Acetato de sódio
AIBN	Azobisisobutironitrila
Ar	Grupo aril(a)
BDA	Batata-dextrose-ágar
Bu	Grupo butil(a)
BuLi	Butilítio
CCD	Cromatografia em camada delgada
CMM	Carbonato de metilmetoximagnésio
COSY	Correlated spectroscopy
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
Et	Grupo etil(a)
EM	Espectrometria de massas

Et ₂ NH	Dietilamina
Et ₂ O	Éter dietílico
f	Intensidade fraca
F	Intensidade forte
FA	Fase aquosa
FM	Fórmula molecular
FO	Fase orgânica
HETCOR	Heteronuclear correlated spectroscopy
HMQC	Heteronuclear multiple quantum correlation
J	Constante de acoplamento
L	Sinal largo
m	Multiplete
M	Intensidade média
Me	Grupo metil(a)
MeOH	Álcool metílico
MPM	Grupo p-metoxifenilmetil(a) ou p-metoxibenzil(a)
m/z	Razão entre a massa do fragmento e sua carga elétrica
PCC	Clorocromato de piridínio
PDC	Dicromato de piridínio
Ph	Grupo fenil(a)
Ph ₃ P	Trifenilfosfina
q	Quarteto
R	Grupo alquil(a)
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
t	Triplete
T	Transmitância
TEA	Trietilamina
T _f	Temperatura de fusão

THF	Tetraidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
v/v	Volume/volume
δ	Deslocamento químico

EXTRATO

PEREIRA, Sinval Garcia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2000. **Síntese e avaliação da atividade fungicida de compostos aromáticos análogos ao avenaciolídeo.** Orientadora: Mayura Magalhães Marques Rubinger. Conselheiros: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Laércio Zambolim.

Os produtos naturais têm sido importantes fontes para novos agroquímicos. Dessa forma, sintetizaram-se novos compostos análogos ao avenaciolídeo, um produto natural com atividade fungicida, presente em culturas de *Aspergillus avenaceus*. Dentre estes compostos, foram sintetizados nove análogos ao avenaciolídeo, todos a partir da diacetona-D-glicose, dos quais três são lactóis e seis são bis- γ -lactonas, três delas contendo uma dupla ligação exocíclica, sendo os lactóis precursores sintéticos das bis-lactonas. Os compostos metilênicos foram obtidos pela metilação descarboxilativa na posição 3 das bis- γ -lactonas, realizada em duas etapas, com o isolamento dos ácidos dilactônicos intermediários. A atividade fungicida dos análogos obtidos foi avaliada em testes preliminares, a fim de se determinar a importância das duas carbonilas nas bis-lactonas e, ainda, da dupla ligação exocíclica na posição 3 das bis- γ -lactonas, identificando-se possíveis sítios ativos nas moléculas. Foram empregados como fungos-testes o *Colletotrichum gossypii* j. sp. *gloeosporioides*,

isolado de tecidos de algodão, e o *Fusarium oxysporum*, isolado de frutos de café. Os ensaios foram realizados usando-se soluções de esporos dos fungos *Fusarium* e *Colletotrichum* em concentrações conhecidas, e todas as substâncias foram testadas na dose de 500 µg. A toxicidade foi avaliada considerando-se o halo de inibição do crescimento fúngico, em comparação ao de um fungicida-padrão (Benomyl). Os compostos testados apresentaram atividades diferenciadas nos dois gêneros de fungos. Os resultados mais significativos para *Colletotrichum* foram obtidos para os compostos 4-feniletilperidrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [Xa], 4-(4-bromofeniletil)peridrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [Xc], 3-metileno-4-feniletilperidrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [XIIa] e 4-(4-bromofeniletil)-3-metilenoperidrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [XIIc], com percentagens de inibição iguais a 40%, 32%, 55% e 44%, respectivamente, após 24 horas de incubação, e a 40%, 12%, 47% e 41%, após 48 horas. Dentre os compostos testados contra o *Fusarium*, destacaram-se as bis-lactonas 4-(4-bromofeniletil)peridrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [Xc], 3-metileno-4-feniletilperidrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [XIIa] e 4-(4-bromofeniletil)-3-metilenoperidrofuro[3,4-b]furan-2,6-diona [XIIc], com inibições relativas de 54%, 78% e 38%, respectivamente, após 24 horas de incubação, havendo ligeira diminuição de atividade após 48 horas de incubação (50%, 72% e 35%, respectivamente). Os lactóis não apresentaram inibição significativa, apontando para a importância da estrutura bis- γ -lactônica na atividade avaliada. A presença da dupla ligação exocíclica aumenta a atividade das bis-lactonas.

ABSTRACT

PEREIRA, Sinval Garcia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, October, 2000. **Synthesis and antifungic evaluation of avenaciolide analogs with aril substituents.** Adviser: Mayura Magalhães Marques Rubinger. Committee members: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Laércio Zambolim.

The natural products have been important sources of new agrochemicals. Avenaciolide is a natural product isolated from *Aspergillus avenaceus*, possessing a strong antifungic activity. Nine new analogs of this natural metabolite were prepared from diacetone-D-glucose: six bis- γ -lactones, three of them presenting an exocyclic double bond, and the three synthetic precursors bicyclic lactols. The exocyclic double bond was added to the bis-lactone skeleton by a decarboxylative methylenation in two steps, via a carboxylic acid intermediate. In order to determine the importance of the two lactone carbonyls and of the exocyclic double bond, preliminary biological tests were performed. The novel analogs were applied at the dose of 500 μ g on to sterile paper discs placed at the center of Petry dishes containing *Fusarium* or *Colletotrichum* spores. The toxicity was evaluated by the measurement of the inhibition halo relatively to a standard fungicide. Against *Colletotrichum*, the most significant results were obtained for 4-phenethylperhydrofuro[3,4-b]furan-2,6-dione [Xa], 4-(4-bromophenethyl-[3,4-b]furan-2,6-dione [Xc], 3-methylene-4-

phenethylperhydrofuro[3,4-b]-furan-2,6-dione [XIIa] and 4-(4-bromophenethyl)-3-methyleneperhydro-furo[3,4-b]furan-2,6-dione [XIIf], with inhibitions of 40%, 32%, 55%, and 44%, respectively, after 24 h of incubation and of 40%, 12%, 47%, and 41% after 48 h. Among the analogs tested against *Fusarium*, the most active were the bis-lactones 4-(4-bromophenethyl)perhydrofuro[3,4-b]furan-2,6-dione [Xc], 3-methylene-4-phenethylperhydrofuro[3,4-b]furan-2,6-dione [XIIa] and 4-(4-bromophenethyl)-3-methyleneperhydrofuro[3,4-b]furan-2,6-dione [XIIf], with relative inhibitions of 54%, 78%, and 38%, respectively, after 24 h of incubation, the activity declining after 48 hours to 50%, 72%, and 35%, respectively. The lactols showed no significant activity, indicating that the bis- γ -lactone structure is necessary to the evaluated activities and the presence of the exocyclic double bond seems to strongly increase the activity.

INTRODUÇÃO

A necessidade de aumentar a produção agrícola para alimentar os seis bilhões de habitantes da terra aumenta também o uso de agroquímicos para combater as doenças, pragas e plantas daninhas. À medida que a agricultura vai se tornando mais especializada e mais competitiva, os agroquímicos vão sendo utilizados com maior freqüência e em maior quantidade, como ferramentas essenciais para uma agricultura mais eficiente (SOLOMONS, 1996).

Entretanto, há muito vêm sendo discutidos os perigos de certos produtos químicos utilizados pela indústria, agricultura e nas áreas de saúde. O desenvolvimento de resistência aos agroquímicos, a persistência de determinados compostos no ambiente e os seus efeitos secundários indesejáveis têm levado a comunidade científica a pesquisar métodos alternativos de controle de pragas e doenças de plantas.

MORAES e ZANETTI (1999) relatam que o uso inadequado de pesticidas pode reduzir a população dos inimigos naturais das pragas. Esse procedimento leva invariavelmente ao desequilíbrio biológico, colocando em risco todo o agroecossistema.

Segundo Cava et al. (1985), citados por TEIXEIRA (1996), o termo pesticida refere-se a um grupo de substâncias que podem ser categorizadas quanto às respectivas funções, no controle de insetos (inseticidas), de ervas

daninhas (herbicidas), de fungos (fungicidas), de nematóides (nematicidas) e de bactérias (bactericidas). Atualmente, a denominação pesticida tem sido substituída pelos termos defensivo agrícola, agroquímico ou produto fitossanitário.

O uso correto dos agroquímicos aumenta a produção agrícola, apesar da contaminação ambiental e das alterações do equilíbrio ecológico já constatadas. Especificamente, tem-se como exemplo o DDT. Desde a descoberta das suas propriedades inseticidas, em 1942, grandes quantidades de hidrocarbonetos clorados foram usadas num esforço para destruir insetos, inicialmente com grande êxito, erradicando de grandes áreas do planeta insetos, principalmente os vetores do tifo e da malária. Com o tempo, constatou-se que os hidrocarbonetos clorados são estáveis e, portanto, degradam-se lentamente pelos processos naturais, sendo ainda lipossolúveis, acumulando-se nos tecidos gordurosos da maioria dos animais através da cadeia alimentar.

Dessa forma, torna-se necessário conhecer a eficiência e o modo de ação dos produtos fitossanitários, para possibilitar o controle das doenças, reduzindo os prejuízos causados por patógenos, sem grandes impactos ambientais, garantindo assim a qualidade dos produtos agrícolas.

Controles alternativos de pragas têm sido estudados. O campo de atraentes sexuais e esterilização de insetos tem apresentado progresso significativo. No caso de infestação por fungos, a estratégia tem sido a obtenção de culturas modificadas geneticamente, os chamados transgênicos, mais resistentes às pragas e ao uso de sínteses orgânicas para o desenvolvimento de fungicidas mais adequados. Esses trabalhos permitem, ainda, o desenvolvimento de novas metodologias de síntese, promovendo o avanço científico da Química Orgânica e a formação de pessoal qualificado.

Após um determinado período de tempo de aplicação de certos fungicidas, sua atividade começa a declinar, em virtude da resistência desenvolvida por parte dos fungos a determinado princípio ativo. Atualmente se dispõe de uma considerável variedade de princípios ativos de ação fungicida e, ou, fungistática, mas ao mesmo tempo conhecem-se muitos casos de indução de

resistência (AKIBA et al., 1999). Dessa forma, a síntese de novos compostos com atividade fungicida é altamente desejável, considerando-se os grandes prejuízos causados por fungos na produção de alimentos.

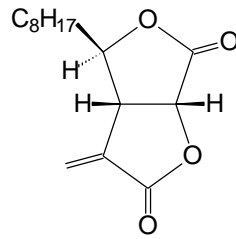
Há dois caminhos principais a serem seguidos para a descoberta de novos agroquímicos. Em um dos métodos, grande número de compostos químicos é submetido a uma variedade de ensaios biológicos, selecionando-se aqueles de maior potencial para, em seguida, se proceder a estudos de toxicologia e avaliação do modo de ação (envolvendo a síntese de derivados). Um segundo método procura a reprodução da atividade biológica de determinados compostos já conhecidos (sintéticos ou naturais) por meio de modificações químicas destes ou da síntese de análogos.

Os produtos naturais têm sido importantes fontes para novos agroquímicos. Na verdade, poucos produtos naturais alcançam o mercado, uma vez que sua extração raramente é comercialmente favorável. Entretanto, estes compostos têm servido de modelo para a síntese de análogos com atividade igual e, ou, superior. Além disso, a síntese de diversos análogos pode produzir compostos com ou sem atividade fungicida que auxiliem na elucidação de seu modo de ação.

A pesquisa de novos agroquímicos é, ainda, impulsionada pelas questões ambientais, numa tentativa de obter compostos mais ativos, específicos e, ao mesmo tempo, menos tóxicos a outros organismos e menos persistentes no ambiente.

Assim, neste trabalho pretendeu-se sintetizar novos compostos com potencial fungicida e, posteriormente, testar sua atividade.

BROOKES et al. (1958) perceberam que os filtrados de culturas de *Aspergillus avenaceus* em meio aquoso apresentavam propriedades antifúngicas. O composto ativo isolado é um sólido cristalino de fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_4$, com três centros quirais, com características de uma bis- γ -lactona. A estrutura do composto natural avenaciolídeo (1) foi confirmada por espectroscopias no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

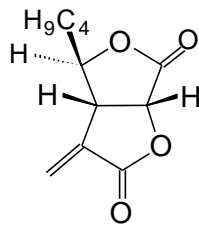


(1)

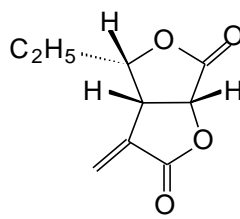
O avenaciolídeo, em pH 3,5, inibiu a germinação de vários tipos de fungos em concentrações de 1 a 10 $\mu\text{g/mL}$. A germinação de *Botrytis alii* e *Penicillium gradioli* é inibida na concentração de 3 $\mu\text{g/mL}$. Já o *Mucor erectos* requer concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ para inibição de sua germinação (BROOKES et al., 1958).

A cromatografia líquida de alta resolução (CLAE) de fase de reversa, utilizada para determinar os metabólitos secundários presentes nos fungos *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*, mostrou a presença de 134 compostos, entre eles os análogos ao avenaciolídeo, canadensolídeo (2) e etisolídeo (3). Entretanto, o autor não faz menção ao avenaciolídeo (FRISVAD, 1987).

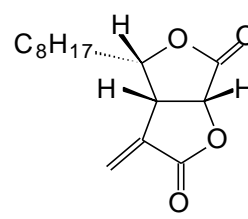
Avenaciolídeo (1), canadensolídeo (2), etisolídeo (3) e isoavenaciolídeo (4) formam o quarteto de metabólitos secundários isolados de fungos com atividade biológica semelhante.



(2)



(3)



(4)

A simplicidade estrutural relativa do avenaciolídeo, de seus isômeros e análogos, bem como as suas potencialidades fungicidas, merecem uma pesquisa mais detalhada de suas atividades biológicas e convidam à obtenção de análogos sintéticos, aprofundando-se o conhecimento a respeito da relação estrutura química - atividade biológica desse grupo de compostos.

Os objetivos deste trabalho foram:

1. Sintetizar compostos análogos ao avenaciolídeo com substituintes aromáticos.
2. Purificar os compostos obtidos por técnicas cromatográficas e recristalização.
3. Identificar as substâncias obtidas com o uso de métodos espectrométricos (infravermelho, EM e RMN).
4. Avaliar a atividade biológica dos compostos sintetizados, com enfoque sobre a atividade fungicida.

CAPÍTULO 1

SÍNTESE DE COMPOSTOS AROMÁTICOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO

1. INTRODUÇÃO

Nas diversas sínteses do avenaciolídeo e metabólitos análogos já publicadas observa-se grande variedade de metodologias. No entanto, elas podem ser agrupadas nas seguintes estratégias básicas, envolvendo: condensação de Fittig (PARKER e JOHNSON, 1973); adição a butenolídeos (DAMON e SCLESSINGER, 1975; HERRMANN et al., 1979); cicloadição [4+2] de furanos (MASAMUNE et al., 1981); cicloadição [2+2] furano-aldeído (SCHREIBER e HOVEYDA, 1984); rearranjo tipo Claisen de glicolatos (KALLMERTEN e GOULD, 1985; BURKE et al., 1986 e 1992; BURKE e PACOFSKY, 1986); rearranjo epoxi-álcool (SUZUKI et al., 1988); ciclização radicalar (BURKE et al., 1994; COSSY et al., 1996; MARTÍN et al., 1996); modificação de produtos naturais (OGAWA et al., 1990) e de carboidratos (ANDERSON e FRASER-REID, 1975, 1977, 1985 e 1985; McDONALD e DUGGER, 1988; WEE, 1990; SHARMA e VEPACHEDU, 1990) e metodologias diversas auxiliadas por metais de transição (LIU e NARKUNAN, 1998; ITO et al., 1995 e 1996;

UDDING et al., 1994). Todos estes trabalhos descrevem a síntese do avenaciolídeo, isoavenaciolídeo, etisolídeo ou canadensolídeo, de maneira bastante elegante. Entretanto, a maioria das rotas sintéticas apresentadas na literatura leva à formação de misturas racêmicas, ou utiliza-se de procedimentos bastante complexos e específicos.

O trabalho pioneiro de PARKER e JOHNSON (1973), por exemplo, produziu o avenaciolídeo, como mistura racêmica, a partir da descarboxilação acilativa do ácido tricarbálico com anidrido nonanóico, obtendo a dilactona do ácido 3-(1,1-diidroxinonil)glutárico (5). A redução da dilactona se dá em meio alcalino, induzindo-se a produção do ácido *trans*-tetraidro-2-octil-5-oxo-3-furanoacético (6), o qual é convertido em pirrolidinamida via cloreto de ácido. Com a posterior carbometoxilação da amida, obtém-se o éster amidolactônico. O tratamento deste material com solução de hipoclorito de sódio, seguido de fervura, acidificando-se com solução aquosa de ácido bromídrico, induziu a formação da dilactona precursora do (\pm)-avenaciolídeo. Tratamento com carbonato de metilmetoximagnésio produz o ácido dilactônico, o qual é tratado com formaldeído e dietilamina em solução tampão de ácido acético, produzindo avenaciolídeo como um racemato (Figura 1). Essas duas etapas foram empregadas por diversos outros pesquisadores para introdução do grupo metileno exocíclico no esqueleto bis- γ -lactônico do avenaciolídeo, sendo utilizadas também neste trabalho com o mesmo fim. A Figura 1 representa a formação da dilactona como mistura racêmica. Para simplificação, foi representado apenas um dos enantiômeros nas etapas subseqüentes.

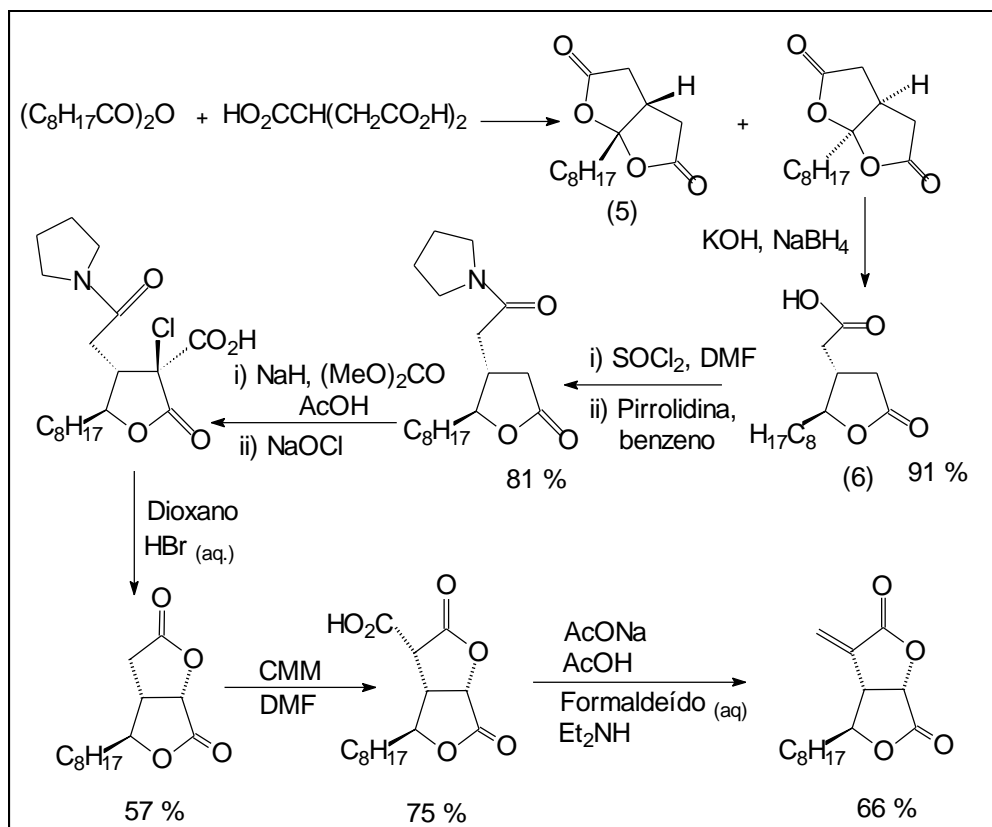


Figura 1 - Síntese da mistura racêmica do avenaciolídeo realizada por PARKER e JOHNSON (1973).

Em 1990, SHARMA e VEPACHEDU apresentaram uma rota sintética a partir da D-glicose, envolvendo uma ciclização radicalar intramolecular na síntese do avenaciolídeo (Figura 2), que foi cogitada como uma alternativa possível para a síntese de análogos neste trabalho. O aldeído (7) é submetido a uma reação de Wittig, seguida de hidrogenação catalítica. Dessa forma, o grupo n-octila é adicionado já no início da rota sintética. A seguir, o grupo isopropilideno protetor é eliminado por metanólise, sendo adicionada a seguir a cadeia precursora de um dos anéis γ -lactônicos. A substituição do grupo protetor da hidroxila no carbono 3 por um grupo xantato (composto 8) permite a ciclização radicalar, levando ao intermediário bicíclico (9), o qual é convertido no avenaciolídeo por hidrólise do éter seguida de oxidação.

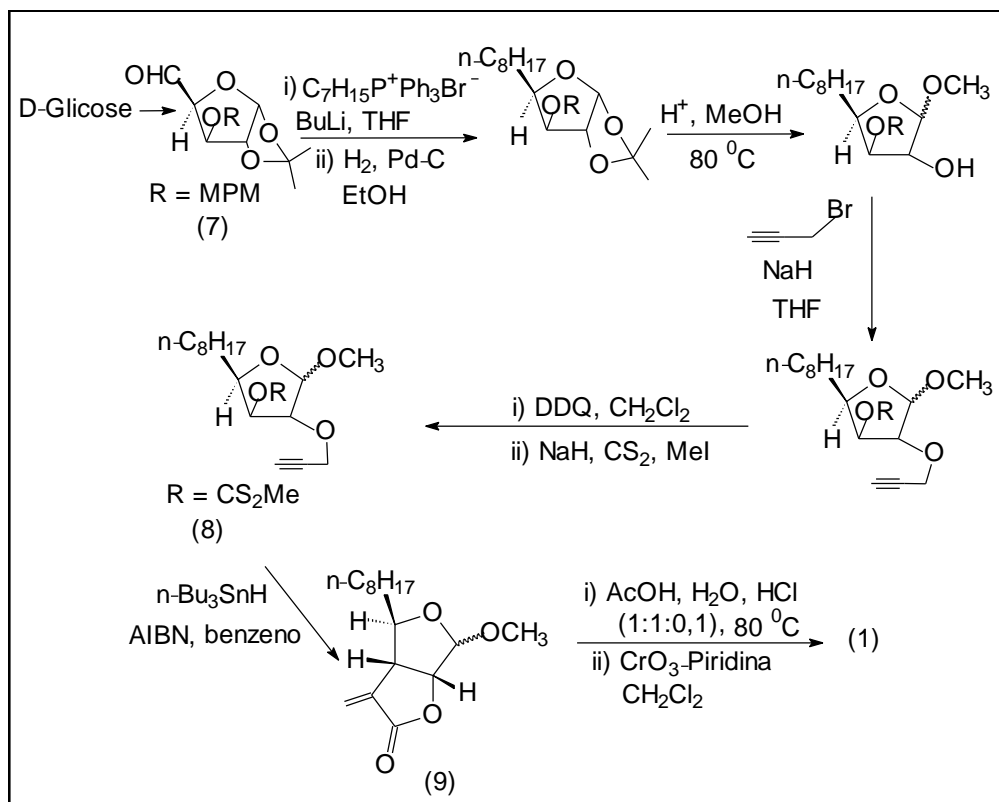


Figura 2 - Rota sintética a partir da D-glicose, publicada por SHARMA e VEPACHEDU (1990).

A proposta para obtenção dos análogos ao avenaciólídeo, neste trabalho, envolveu 11 etapas, a partir da diacetona-D-glicose, como mostrado na Figura 3. O desenvolvimento dessa rota baseia-se nos artigos de ANDERSON e FRASER-REID, que, primeiramente em 1975, comunicaram a síntese do avenaciólídeo opticamente ativo. Em 1985, os mesmos autores publicaram a sua rota sintética completa para o avenaciólídeo e o isoavenaciólídeo, tendo como precursor comum a glicose protegida (I). Ainda, no mesmo ano, apresentaram a síntese do canadensólídeo opticamente ativo, utilizando estratégia semelhante.

Esta rota foi escolhida por apresentar reações de sucesso provável, clássicas em síntese orgânica, por se basear em um material de partida com os requisitos quirais necessários à obtenção de enantiômeros puros dos análogos desejados e por utilizar reagentes de baixo custo e de fácil aquisição.

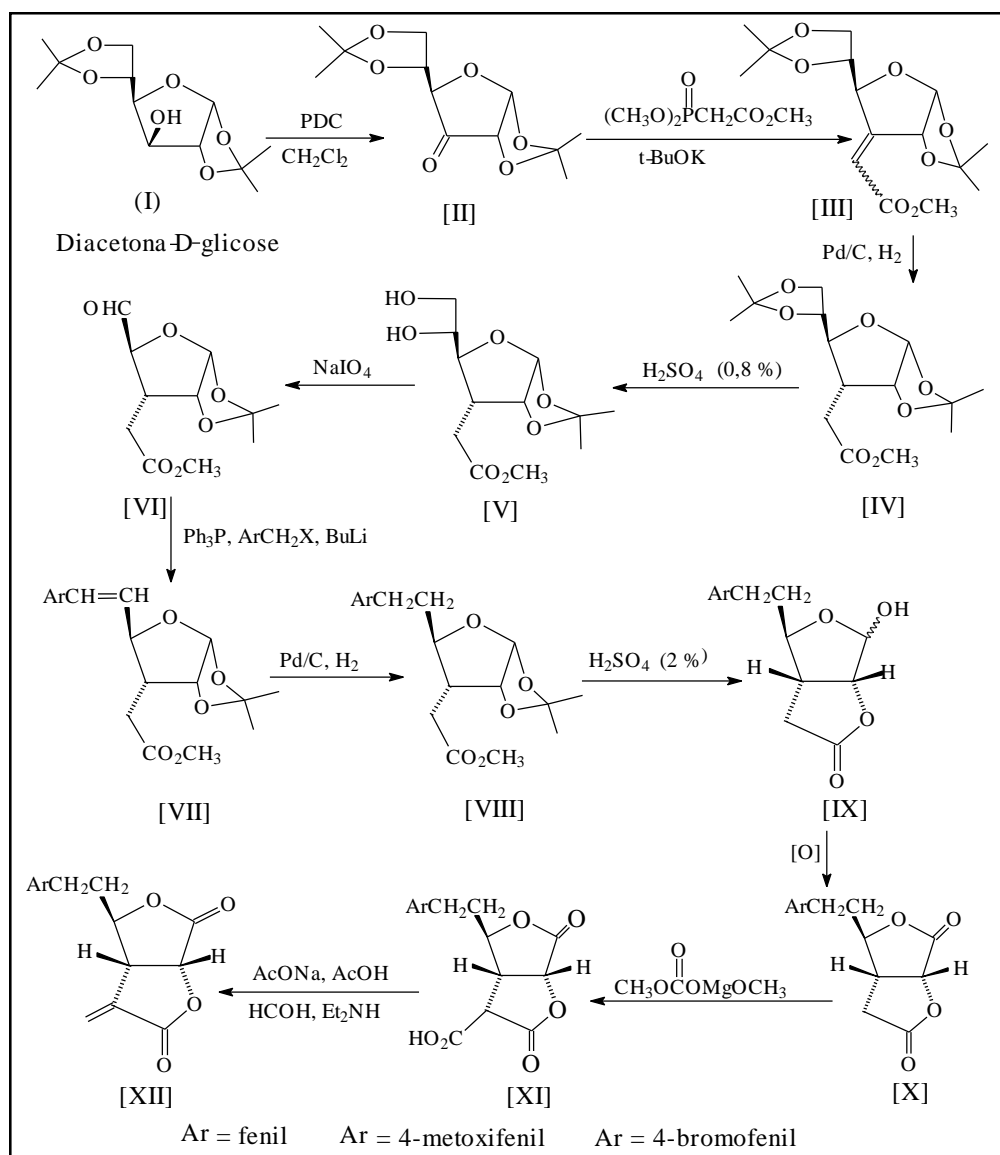


Figura 3 - Rota sintética utilizada neste trabalho para obtenção de análogos ao avenaciolídeo opticamente ativo a partir da diacetona-D-glicose, baseada nos trabalhos de ANDERSON e FRASER-REID (1975, 1985).

O composto [II] (Figura 3) é obtido pela oxidação da D-glicose protegida (I). Em seguida, o grupo éster, precursor de um dos anéis γ -lactônicos, é introduzido utilizando-se uma variação da reação de Wittig, conhecida como Wittig-Horner, seguida de hidrogenação catalítica. Uma hidrólise ácida em condições brandas regenera seletivamente o diol nos carbonos 5 e 6, que sofre posteriormente uma clivagem oxidativa levando ao aldeído [VI].

A partir do intermediário-chave [VI], uma série de análogos inéditos pode ser obtido por meio de reações de Wittig com os ilídeos apropriados. Após a hidrogenação dos compostos [VII], nova hidrólise, em condições mais severas, leva à formação do anel lactônico. A oxidação dos lactóis [IX] completa a estrutura básica bis-lactônica dos análogos ao avenaciolídeo.

O grupo metileno exocíclico é adicionado utilizando-se a metodologia de PARKER e JOHNSON (1973), via intermediários ácidos [XI].

Os análogos [XII] obtidos apresentam grupos substituintes aromáticos que os distinguem do produto natural avenaciolídeo. Testes biológicos com os análogos [IX], [X] e [XII] permitirão a avaliação da importância da dupla exocíclica e da carbonila para a atividade fungicida desses compostos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Tratamento de reagentes e solventes

Os solventes utilizados em cromatografia em coluna foram previamente destilados.

Secou-se o tetraidofurano (THF) (VETEC) com MgSO_4 anidro, filtrou-se e acrescentou-se CaH_2 , deixando em refluxo por duas horas, destilando em seguida. Ao destilado acrescentou-se sódio metálico e benzofenona, deixando em refluxo até que a solução obtivesse coloração azul. A mistura foi, então, destilada e o THF seco armazenado em um recipiente vedado com peneira molecular 4 Å.

O diclorometano, CH_2Cl_2 , foi tratado com CaH_2 , sob refluxo por duas horas, destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å.

O benzeno foi mantido em refluxo por quatro horas e posteriormente acrescentou-se sódio metálico, mantendo-se em refluxo por mais uma hora, destilando em seguida. O destilado foi armazenado em um recipiente vedado com peneira molecular 4 Å.

A acetona foi tratada com KMnO_4 , sob refluxo por três horas, destilada e armazenada sobre peneira molecular 4 Å.

O dimetilsulfóxido (DMSO) foi destilado sob pressão reduzida e armazenado sobre peneira molecular 4 Å.

A trietilamina (TEA) foi destilada após duas horas sob refluxo, na presença de KOH, e estocada sobre KOH em atmosfera de nitrogênio.

A 100 mL de ácido acético glacial adicionaram-se 3 mL de anidrido acético. A mistura foi deixada sob refluxo a 118°C por duas horas. Em seguida, destilou-se e recolheu-se o material em frasco seco contendo peneira molecular 4 Å.

A peneira molecular 3 Å (ALDRICH) pulverizada foi ativada por aquecimento a uma temperatura de aproximadamente 300°C, em mufla, durante cinco horas. Quando retirada da mufla, a peneira molecular ativada foi rapidamente pesada e adicionada à mistura reagente.

2.2. Cromatografia em camada delgada (CCD)

Na preparação de placas para CCD, utilizou-se uma suspensão aquosa de sílica-gel 60G - F254, com indicador de fluorescência, na proporção de 1:2 de sílica/água destilada. As placas foram preparadas com 0,25 mm de espessura. Utilizaram-se como reveladores solução alcoólica de ácido fosfomolibdico (12 g/250 mL de etanol) e solução aquosa de KMnO_4 (3 g de KMnO_4 /20 g de K_2CO_3 /5 mL de NaOH 5 %, 300 mL de água destilada).

2.3. Cromatografia em coluna

Na purificação e no isolamento dos derivados sintetizados utilizou-se cromatografia em coluna, tendo como fase estacionária sílica-gel (0,063 - 0,200 mm).

2.4. Recuperação de sílica-gel

A sílica-gel usada (1 kg) foi lavada com metanol (aprox. 500 mL) e água destilada (1 a 2 litros) e, a seguir, calcinada em mufla a 900°C, durante quatro a

oito horas. A seguir, procedeu-se a nova lavagem com água até pH 7, secando-se a 120°C.

2.5. Aparelhos e equipamentos

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF - 301, sem correção.

Os espectros no infravermelho foram registrados a partir de pastilhas de KBr ou, no caso de compostos oleosos, de filmes finos sobre células de NaCl, em espectrômetro PERKIM ELMER FT-IR 1000 (Departamento de Química- UFV).

Os espectros de RMN de ^1H (200 e 400 MHz) e de ^{13}C (50 e 100 MHz) foram registrados em espectrômetro BRUKER DPX200 e DPX400 (Departamento de Química ICEX-UFMG). Alguns espectros foram obtidos a 300 MHz (^1H) e 75 MHz (^{13}C) em espectrômetro VARIAN Mercury 300, no Departamento de Química da UFV. Foram utilizados clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno de referência ($\delta = 0$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro acoplado a cromatógrafo a gás QP500 SHIMADZU (CG-EM), com coluna BD1 (0,22 mm, 30 m), em temperatura de 80 - 300°C (auto-injetor, temperatura 250°C) Departamento de Química - UFV.

Durante o desenvolvimento da rota sintética utilizaram-se, ainda, evaporador rotatório, para concentrar as fases orgânicas sob pressão reduzida; estufa, para secagem de vidrarias; mufla, para ativar a peneira molecular 3 Å; agitador/aquecedor magnético; balança de precisão (METTLER TOLEDO AB200); e revelador UV $\lambda = 254 \text{ nm}$ (ESPECTRLINE modelo CM 10).

2.6. Preparo dos sais de Wittig

A um balão bitubulado (100 mL) adicionou-se trifetilfosfina (ALDRICH). Sob atmosfera de nitrogênio e agitação acrescentou-se benzeno seco, elevando a temperatura para 80°C. Em seguida, adicionou-se o haleto de alquila. Após um período sob refluxo, lavou-se o precipitado formado com Et₂O, obtendo-se os sais de Wittig a, b, c (Quadro 1), a serem utilizados na síntese de [VIIa], [VIIb] e [VIIc], respectivamente.

Quadro 1 - Condições para a obtenção dos sais de Wittig a, b, c

Haleto/ g	Sal de Wittig	Benzeno	Ph ₃ P	Tempo	Rendimento
PhCH ₂ Br/ 6,0	a	2,0 mL	6,50 g	1 h	90 %
<i>p</i> -MeOPhCH ₂ Br/ 2,7	b	1,5 mL	5,04 g	2 h	95 %
<i>p</i> -BrPhCH ₂ Br/ 2,9	c	5,0 mL	3,39 g	4 h	93 %

2.7. Preparo do oxidante PDC

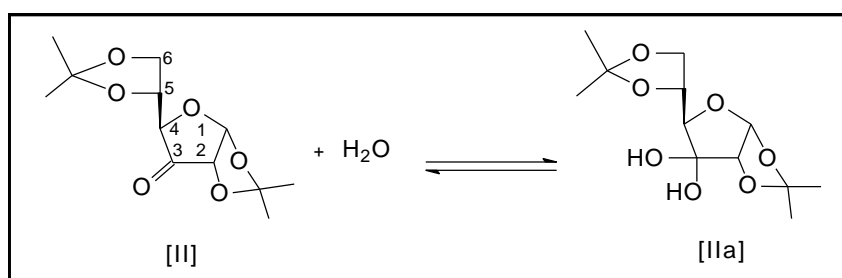
Adicionou-se, gradualmente, 1,4 mL de piridina sobre uma solução aquosa de CrO₃ (1,73 g de CrO₃ em 1,7 mL de H₂O). A solução foi, então, diluída com 7 mL de acetona e resfriada a aproximadamente -20°C (gelo, NaCl e CaCl₂). Observou-se a formação de cristais alaranjados (91%), que foram filtrados a vácuo e lavados com acetona gelada.

2.8. Desenvolvimento experimental

2.8.1. Oxidação da diacetona-D-glicose (I)

A um balão de fundo redondo (500 mL) contendo PDC (10,7 g, 0,0284 mol) foi adicionada lentamente, sob agitação magnética, uma solução do

composto I (ALDRICH) (5,12 g, 0,0197 mol) em CH₂Cl₂ seco (95 mL). A esta mistura adicionaram-se 15,3 g de peneira molecular 3 Å (ALDRICH) ativada e ácido acético tratado (1,6 mL). Adaptou-se ao balão um tubo contendo CaCl₂ anidro, deixando-se sob agitação por 14 horas. Após este período, acrescentaram-se 8 g de celite, mantendo sob agitação por mais 10 minutos. A mistura foi filtrada em funil de placa porosa a pressão reduzida, e o resíduo foi lavado com acetato de etila. O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório, posteriormente solubilizado em Et₂O e secado com MgSO₄ anidro e novamente concentrado em evaporador rotatório. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel com acetato de etila como eluente, obtendo-se uma mistura da cetona [II] e seu hidrato correspondente [IIa] (cristais brancos, 5,08 g, rendimento ≥ 93%).



FM: C₁₂H₁₈O₆ [II]

T_f = 74,6 - 75,6°C; **CCD:** R_f = 0,07 (hexano/AcOEt 2:1).

Infravermelho de [II] (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.428 (fL), 2.988 (F), 2.934 (F), 2.913 (M), 1.773(F), 1.457 (M), 1.375 (F), 1.240 (F), 1.217 (F), 1.155 (F), 1.072 (F), 1.065 (F), 847 (F), 797 (F), 638 (M), 512 (M). (Obs.: Espectro obtido imediatamente após a síntese de [II]).

Infravermelho de [IIa] (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.408 (F), 2.984 (M), 2.926 (M), 2.918 (M), 1.459 (m), 1.388 (m), 1.374 (mF), 1.300 (m), 1.270 (m), 1.236 (M), 1.225 (MF), 1.166 (MF), 1.088 (F), 1.053 (F), 1.001 (MF), 950 (M), 876 (MF), 827 (MF), (F), 797 (f), 739 (f), 660 (f), 607 (M). (Obs.: Espectro obtido após 48 horas da síntese de [II]).

RMN de ^1H (400 MHz): Sinais referentes a [II] $\delta=1,36$ (s, 3H, Me), 1,39 (s, 3H, Me), 1,49 (s, 3H, Me), 1,59 (s, 3H, Me), 3,91 (d, 1H, J = 6,8, H4), 4,01-4,05 (m, 2H, H6a,b), 4,28 (d, 1H, J = 3,6, H2), 4,44 (m*, 1H, H5), 5,85 (d, 1H, J = 3,6, H1). Sinais referentes a [IIa] $\delta = 1,34$ (s, 6H, 2 \times Me), 1,44 (s, 3H, Me), 1,46 (s, 3H, Me), 4,04 (d, 1H, J = 6,4, H4), 4,09 (dd, 1H, J = 6,0 e 8,8, H6a), 4,15 (dd, 1H, J = 6,4 e 8,8, H6b), 4,35-4,39 (sL/m, 3H, 2 \times OH e H5), 4,40 (dd, 1H, J = 0,8 e 4,4, H2), 6,15 (d, 1H, J = 4,4, H1). (Obs.: * Possivelmente um td, J ~ 6,0, 6,0 e 8,0 Hz. Os sinais referentes a [IIa] apresentaram integração duas vezes maior que os sinais referentes a [II]).

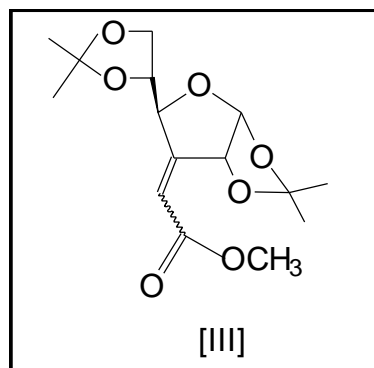
RMN de ^{13}C (100 MHz): Sinais referentes a [II] $\delta = 25,07$ (Me), 26,52 (Me), 26,54 (Me), 26,91 (Me), 66,80 (C6), 73,95 (C5), 78,72 (C4), 83,71 (C2), 104,22 (C1), 110,03 (C), 113,24 (C), 208,81 (C3=O). Sinais referentes a [IIa] $\delta = 25,22$ (Me), 25,92 (Me), 27,11 (Me), 27,50 (Me), 64,25 (C6), 76,31 (C5), 77,21 (C4), 78,91 (C2), 100,97 (C3), 103,06 (C1), 110,34 (CMe₂), 114,27 (CMe₂). (Obs.: C = isopropilideno. Os sinais referentes a [II] apresentaram menor intensidade que os referentes a [IIa]. Foi também obtido o espectro de DEPT 135).

EM, m/z (%): 261 (4), 243 (14), 101 (100), 73 (27), 59 (52).

2.8.2. Reação de Wittig-Horner

A um balão bitubulado (250 mL), contendo (2,5 g, 0,021 mol) de *tert*-butóxido de potássio 95%, sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, acrescentaram-se 38 mL de THF seco, 10 mL (0,061 mol) de fosfonoacetato de trimetila 98% (ALDRICH) adicionados lentamente e, por último, 5,2 g (0,02 mol) da cetona [II], solubilizados em 13 mL de THF seco. Deixou-se o sistema sob agitação magnética por 48 horas. Após este período, eliminou-se o THF em evaporador rotatório, acrescentaram-se 50 mL de água destilada e extraiu-se o produto com Et₂O (4 \times 25 mL), secou-se com MgSO₄ anidro, concentrando-se em evaporador rotatório. O concentrado foi cromatografado em coluna de sílica-

gel, utilizando-se como eluentes hexano/AcOEt 3:1, obtendo-se o par de isômeros [III] (óleo incolor, 4,205 g, 0,0134 mol, 67%).



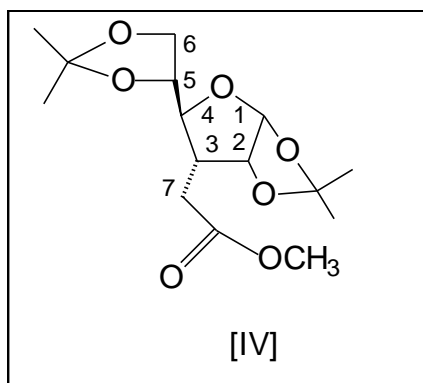
FM: C₁₅H₂₂O₇

CCD: R_f = 0,63 e 0,64 (hexano/AcOEt 2:1).

Infravermelho (NaCl, n_{máx.}/cm⁻¹): 2.988 (F), 2.952 (M), 2.887 (f), 1.727 (F), 1.678, 1.654, 1.436, 1.373 (F), 1.219, 1.159, 1.069, 918 (f), 886, 845, 825, 793, 697 (f).

2.8.3. Hidrogenação catalítica dos *E, Z*-3-C-(Carbometoximetileno)-3-deoxi-1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- α -D-alofuranose [III]

A um balão de fundo redondo (1.000 mL), contendo 0,602 g de Pd/C (10%), acrescentaram-se 4,786 (0,015 mol) da mistura dos isômeros [III], solubilizados em 750 mL de AcOEt. O sistema foi mantido sob agitação por quatro horas em atmosfera de hidrogênio. A mistura foi filtrada e o resíduo lavado com AcOEt. O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório, obtendo-se o composto [IV] (cristais brancos, 4,543 g, 0,014 mol, 94%).



FM: C₁₅H₂₄O₇

T_f = 86,0 - 87,0°C; **CCD:** R_f = 0,58 (hexano/AcOEt 3:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 2.983 (M), 2.935, 2.899, 1.731 (F), 1.560 (f), 1.458, 1.372, 1.357, 1.337, 1.216 (F), 1.183, 1.131, 946, 857, 661, 613.

RMN de ¹H (400 MHz) δ: 1,31 (s, 3H, Me), 1,33 (s, 3H, Me), 1,41 (s, 3H, Me), 1,50 (s, 3H, Me), 2,34 (m, 1H, H3), 2,67 (dd, 1H, J = 10,4 e 17,6 H7a), 2,84 (dd, 1H, J = 4,0 e 17,2, H7b), 3,66-3,73 (m, 1H, H4), 3,71 (s, 3H, OCH₃), 3,92-4,00 (m, 2H, H6a e 6b), 4,11 (ddd, 1H, J = 4,8, 5,6 e 12,7, H5), 4,81 (dd, 1H, J = 4,0 e 4,4, H2), 5,78 (d, 1H, J = 3,6, H1).

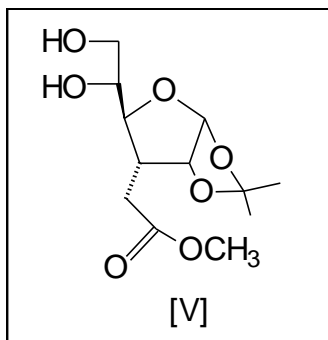
RMN de ¹³C (100 MHz) δ: 25,21 (Me), 26,33 (Me), 26,59 (Me), 26,71 (Me), 29,73 (C7), 44,57 (C3), 51,63 (OCH₃), 67,89 (C6), 77,90 (C4), 80,89 (C5), 81,43 (C2), 105,00 (C1), 109,62 (CMe₂), 111,83 (CMe₂), 172,74 (C=O).

EM, m/z (%): 316 (M⁺ 0,3), 301 (2), 273 (0,5), 243 (2), 215 (2), 157 (7), 143 (1), 101 (6), 59 (8), 43 (100).

2.8.4. Hidrólise seletiva do grupo 5,6-*O*-isopropilideno de 3-*C*-(carbometoxi-metil)-3-deoxi-1,2:5,6-di-isopropilideno- α -*D*-alofuranose [IV]

A uma solução do composto [IV] (4,534 g, 0,014 mol) em MeOH (26 mL) foi adicionada uma solução de H₂SO₄ 0,8% (3,0 mL). Após 16 horas sob agitação magnética, neutralizou-se o meio reacional com solução de Na₂CO₃ 10% e eliminou-se o MeOH em evaporador rotatório. O produto [V] formado permanece na fase aquosa, utilizada na etapa seguinte da rota sintética.

Alternativamente, a neutralização do meio foi feita com $\text{BaCO}_{3(s)}$, cujo excesso foi filtrado e o produto isolado (óleo incolor, 68%), para obtenção do espectro no infravermelho.



FM: $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_7$

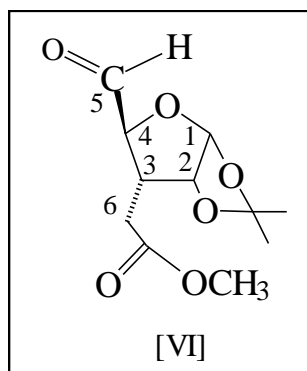
CCD: $R_f = 0,25$ (AcOEt/hexano 2:1).

Infravermelho ($n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 3.421 (FL), 2.982, 2.945, 2.938, 1.734 (F), 1.439, 1.376, 1.217, 1.167, 1.082, 1.017, 874, 515.

2.8.5. Clivagem oxidativa da 3-C-(carbomtoximetil)-3-deoxi-1,2-O-isopropilideno- α -D-alofuranose [V]

À solução aquosa, contendo o diol [V], obtida conforme procedimento descrito no item 2.8.4., foi adicionada uma solução de NaIO_4 (3,450 g) em água destilada (30 mL). A mistura foi agitada e o pH foi mantido em torno de 7, pela adição de solução de NaOH 0,1 mol/L. Após uma hora e meia, extraiu-se com AcOEt (4×75 mL) e secou-se com MgSO_4 , obtendo o composto [VI] (óleo incolor, 3,095 g, 0,014 mol, 87,8%).

A purificação de [VI] não é necessária para sua utilização na etapa posterior. Entretanto, o composto [VI] pode ser purificado por cromatografia em coluna, utilizando-se como eluente a mistura AcOEt/hexano 2:1.



FM: C₁₁H₁₆O₆

CCD: R_f = 0,33 (AcOEt/hexano 2:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 2.988 (M), 2.955 (M), 1.737 (F), 1.458 (M) 1.439 (M), 1.375 (M), 1.332 (M), 1.127 (F), 1.075 (F), 1.218 (F), 1.167 (f), 1.018 (F), 917 (f), 875 (M).

RMN de ¹H (300 MHz) δ: 1,24 (s, 3H, Me), 1,45 (s, 3H, Me), 2,40-2,53 (m, 1H, H3), 2,69-2,80 (dd, 1H, J = 9,9 e 10,2, H6a e b), 3,65 (s, 3H, OMe), 4,06 (dd, 1H, J = 2,4 e 3,3, H4), 4,83 (m, 1H, H2), 5,95 (d, 1H, J = 3,3, H1), 9,65 (d, 1H, J = 2,4, CHO).

RMN de ¹³C (100 MHz) δ: 26,62 (Me), 27,00 (Me), 29,04 (C6), 42,15 (C3), 52,20 (OMe), 80,78 (C4), 83,67 (C2), 106,27 (C1), 112,94 (CMe₂), 172,16 (C=O), 200,56 (CHO).

EM, m/z (%): 229, 215, 187, 169, 157, 141, 127, 112, 97, 85, 69, 59, 55, 43 (100), 29.

2.8.6. Reações de Wittig

A um balão bitubulado (250 mL), contendo o sal de Wittig, obtido como descrito no item 2.6., e sob atmosfera de nitrogênio, acrescentaram-se THF seco, butilítio (solução 1 mol/L em hexano) e, após 10 minutos, o aldeído [VI] solubilizado em THF seco (Quadro 2).

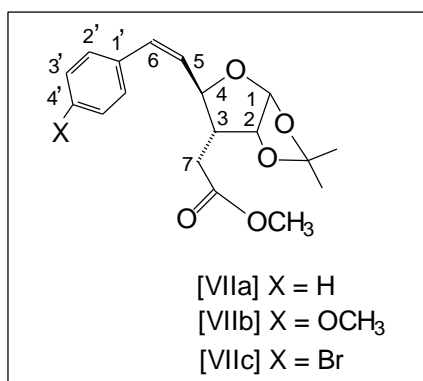
Quadro 2 - Reagentes e solventes usados nas reações de Wittig

Sal de Wittig	THF	BuLi	Aldeído/ g (mmol)	THF
a 7,40 g	53 mL	11,0 mL	3,53 (14,4)	8,0 mL
b 4,78 g	34 mL	6,5 mL	2,11 (8,6)	5,0 mL
c 6,50 g	42 mL	8,0 mL	2,11 (8,6)	7,0 mL

Após 18 horas de reação, eliminou-se o THF, acrescentou-se água destilada e extraiu-se com Et₂O. Secou-se a fase etérea com MgSO₄, filtrou-se e concentrou-se em evaporador rotatório. O concentrado foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. Os eluentes utilizados e os resultados obtidos estão relacionados no Quadro 3.

Quadro 3 - Condições utilizadas na elaboração das reações de Wittig e purificação, característica e rendimento dos produtos obtidos

Produto	[VIIa]	[VIIb]	[VIIc]
Água destilada	45 mL	25 mL	36 mL
Et ₂ O/ mL	4 × 60	4 × 35	4 × 50
Eluente	hexano:AcOEt 2:1	hexano/AcOEt 4:1	hexano/AcOEt 3:1
Característica	óleo incolor	óleo incolor	óleo de cor avermelhada
Massa/ g (mmol)	2,499 (7,8)	2,496 (7,2)	1,500 (3,8)
Rendimento	54%	84%	44%



Composto [VIIa]

FM: C₁₈H₂₂O₅

CCD: R_f = 0,53 (hexano/AcOEt 2:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.017 (f), 2.987 (f-M), 2.960 (f-M), 2.940 (f-M), 1.735 (F), 1.456 (M), 1.436 (M), 1.383 (M), 1.331 (M), 1.247 (M), 1.209 (M-F), 1.168 (M-F), 1.134 (M), 1.022 (F), 965 (f), 873 (M), 704 (M), 608 (f).

Composto [VIIb]

FM: C₁₉H₂₄O₆

CCD: R_f = 0,36 (hexano/AcOEt 3:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 2.987 (M), 2.953 (M), 2.838 (f), 1.738 (F), 1.607 (M-F), 1.512 (F), 1.438 (M), 1.381 (M), 1.250 (F), 1.176 (F), 1.018 (F), 965 (M), 845 (M), 818 (f).

RMN de ¹H (300 MHz) δ: 1,26 (s, 3H, Me), 1,43 (s, 3H, Me), 2,20-2,29 (m, 2H, H3 e H7a), 2,54 (dd, 1H, J = 11,0 e 17,6, H7b), 3,62 (s, 3H, OMe), 3,80 (s, 3H, PhOMe), 4,62 (t, 1H, J = 9,6, H4), 4,79 (t, 1H, J = 3,6 H2), 5,47 (dd, 1H, J = 9,3 e 11,4, H5), 5,90 (d, 1H, J = 3,9, H1), 6,74 (d, 1H, J = 11,4, H6), 6,87 (dt, 2H, J = 2,0 e 8,7, H3' e 5'), 7,33 (dt, 2H, J = 2,0 e 8,4, H2' e 6').

RMN de ¹³C (75 MHz) δ: 26,45 (Me), 26,56 (Me), 29,07 (C7), 46,54 (C3), 51,68 (OCH₃ éster), 55,21 (PhOCH₃), 75,97 (C4), 80,73 (C2), 104,87 (C), 111,57 (CMe₂), 113,64 (C3' e 5'), 125,71 (C6), 128,48 (C5), 130,16 (C2' e 6'), 136,55 (C1') 159,14 (C4'), 172,49 (C=O).

EM, m/z (%): 332 (1), 304 (1), 290 (0,5), 232 (2,5), 185 (2), 173 (3), 158 (2), 141 (2,5), 131 (3), 108 (3), 91 (2,5), 77 (2,5), 58 (18), 43 (100).

Composto [VIIc]

FM: C₁₈H₂₁O₅Br

CCD: R_f = 0,64 (hexano/AcOEt 2:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm-1): 2.987 (M), 2.958 (M-f), 2.930 (M-f), 1.737 (F), 1.488 (M), 1.437 (M-F), 1.374 (M), 1.331 (M), 1.215 (F), 1.167 (F), 1.073 (F), 1.011(F), 913 (f), 872 (M), 846 (M-F), 804 (f), 755 (f).

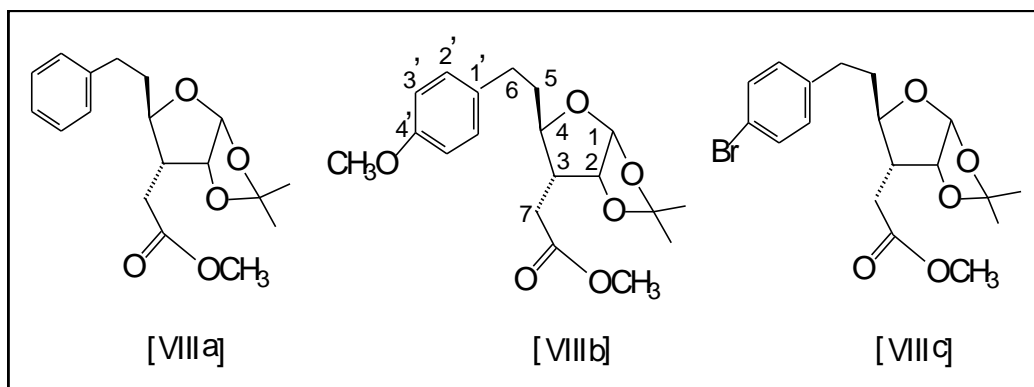
EM, m/z (%): 376 (2), 303 (1,5), 208 (2), 191 (2), 171 (6,5), 143 (3), 127 (5), 115 (1,5), 97 (4), 91(2,5), 90 (4), 77 (2), 70 (3), 58 (12), 44 (10), 43 (100).

2.8.7. Hidrogenação catalítica das 6-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno-3,5,6-trideoxi-α-D-ribo-hex-5(Z)-enofuranoses [VII]

A um balão de fundo redondo (500 mL), contendo Pd/C (a 10%), adicionou-se uma solução de [VII] (2,499 g de [VIIa], 2,296 g de [VIIb] ou 1,5 g de [VIIc]) em AcOEt. A mistura foi agitada vigorosamente sob atmosfera de hidrogênio. Filtrou-se em funil de placa porosa G4 à pressão reduzida, lavando-se o resíduo com AcOEt. O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório, obtendo-se os compostos [VIIIa] e [VIIIb] como cristais brancos e [VIIIc], um óleo de coloração avermelhada, conforme Quadro 4.

Quadro 4 - Condições das reações de hidrogenação catalítica dos compostos [VII(a, b, c)]

Composto	Pd/C	AcOEt	Tempo	Massa/ g (mmol)	Rendimento
[VIIIa]	0,31 g	390 mL	4 h	2,4 (7,5)	95 %
[VIIIb]	0,30 g	350 mL	16 h		75 %
[VIIIc]	0,19 g	230 mL	18 h	1,8 (5,1) 1,1 (2,7)	73 %



Composto [VIIIa]

FM: C₁₈H₂₄O₅

T_f = 89,6 - 90,6°C; **CCD:** R_f = 0,60 (hexano/AcOEt 2:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.028 (f), 2.985 (f), 2.940 (M), 2.926 (f), 2.883 (f), 2.867(f), 1.735 (F), 1.461 (f), 1.439 (f), 1.382 (f), 1.376 (M), 1.339 (M), 1.244 (M), 1.209 (M), 1.195 (M), 1.173 (M), 1.134 (M), 1.091 (M), 1.010 (F), 986 (f), 877 (M), 751 (f), 703 (M), 653 (f).

RMN de ¹H (400 MHz) δ: 1,25 (s, 3H, Me), 1,40 (s, 3H, Me), 1,63-1,70 (m, 1H, H5a), 1,75-1,80 (m, 1H, H5b), 2,02 (tt, 1H, J = 4,4 e 10,0, H3), 2,21 (dd, 1H, J = 4,0 e 16,8, H7a), 2,56 (dd, 1H, J = 10,0 e 17,0, H7b), 2,58-2,62 (m, 1H, H6a), 2,77-2,84 (m, 1H, H6b), 3,62 (s, 3H, OCH₃), 3,72 (ddd, 1H, J = 2,8, 9,0 e 10,2, H4), 4,70 (dd, 1H, J = 4,0 e 4,4, H2), 5,78 (d, 1H, J = 3,6, H1), 7,08-7,13 (m, 3H, H3', 4', 5'), 7,18-7,23 (m, 2H, H2' e 6').

RMN de ¹³C (100 MHz) δ: 25,38 (Me), 25,52 (Me), 28,46 (C7), 31,25 (C6), 33,44 (C5), 43,77 (C3), 50,76 (OCH₃), 78,45 (C4), 80,11 (C2), 103,37 (C1), 110,37 (CMe₂), 124,86 (C4'), 127,36 (C2' e 6'), 127,41 (C3' e 5'), 140,81 (C1'), 171,55 (C=O).

EM, m/z (%): 305 (2), 262 (2), 244 (2), 231 (1), 213 (3), 185 (3), 171 (4), 167 (2), 153 (9), 143 (9), 129 (8), 117 (8), 97 (10), 91 (56), 65 (11), 59 (24), 43 (100).

Composto [VIIIb]

FM: C₁₉H₂₆O₆

T_f = 72,5 - 73,9°C, **CCD:** R_f = 0,36 (hexano/AcOEt 3:1).

Infravermelho (KBr, $n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 3.022 (f), 2.990 (M), 2.953 (M), 2.925 (M), 2.866 (f), 2.838 (f), 1.733 (F), 1.608 (M), 1.513 (F), 1.461 (M), 1.438 (M), 1.382 (M), 1.249 (F), 1.216 (F), 1.164 (F), 1.023 (F), 879 (M), 811 (f), 670 (f).

RMN de ^1H (300 MHz) δ : 1,26 (s, 3H, Me), 1,43 (s, 3H, Me), 1,62-1,71 (m, 1H, H5a), 1,74-1,90 (m, 1H, H5b), 2,03-2,13 (m, 1H, H3), 2,27 (dd, 1H, $J = 4,1$ e $17,0$, H7a), 2,62 (dd, 1H, $J = 10,2$ e $17,0$, H7b), 2,57-2,67 (m, 1H, H6a), 2,76-2,86 (m, 1H, H6b), 3,65 (s, 3H, OMe), 3,70-3,80 [m/s (3,78), 4H, H4 e PhOMe], 4,78 (dd, 1H, $J = 3,9$ e $4,5$, H2), 5,84 (d, 1H, $J = 3,9$, H1), 6,81 (d, 2H, $J = 8,7$, H3' e 5'), 7,11 (d, 2H, $J = 8,4$, H2' e 6').

RMN de ^{13}C (75 MHz) δ : 26,62 (Me), 26,78 (Me), 29,68 (C7), 31,58 (C5), 34,93 (C6), 44,99 (C3), 52,04 (OCH₃), 55,48 (PhOCH₃), 79,62 (C4), 81,30 (C2), 104,87 (C1), 111,60 (CMe₂), 114,00 (C3' e 5'), 129,55 (C2' e 6'), 134,09 (C1'), 158,00 (C4'), 172,83 (C=O).

EM, m/z (%): 313 (1), 293 (0,5), 271 (1), 200 (1), 186 (2), 172 (2), 147 (3,5), 134 (3), 121 (14), 91 (2,5), 77 (2,5), 55 (2,5), 43 (100).

Composto [VIIIc]

FM: C₁₈H₂₃O₅Br

CCD: R_f = 0,64 (hexano/AcOEt 2:1).

Infravermelho (KBr, $n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 2.993 (f), 2.950 (f), 2.936 (f), 2.865 (f), 1.735 (F), 1.458 (f), 1.373 (f), 1.213 (M), 1.165 (M), 1.013 (F), 872 (f).

RMN de ^1H (300 MHz) δ : 1,30-1,90 (m, 7H, H5a,b + impurezas, incluindo AcOEt), 1,35 (s, 3H, Me), 1,45 (s, 3H, Me), 2,00-2,15 (m, H3), 2,40-2,50 (dt, H7a), 2,55-2,70 (m, H6a e 7b), 2,80-2,90 (m, H6b), 3,60-3,80 (s/m, OCH₃ e H4), 4,00-4,20 (m, impureza), 4,75 (dd, 1H, $J = 4,5$ e $1,8$, H2), 5,83 (d, 1H, $J = 3,9$, H1), 7,06 (d, 2H, H3' e 5'), 7,40 (d, 2H, H2' e 6').

RMN de ^{13}C (75 MHz) δ : 26,58 (Me), 26,77 (Me), 29,67 (C7), 31,88 (C5), 34,48 (CH6), 44,96 (C3), 52,96 (OCH₃), 79,41 (C4), 81,39 (C2), 104,84 (C1), 111,66 (CMe₂), 130,45 (C2' e 6'), 131,63 (C3' e 5'), 140,97 (C1'), 172,31 (C=O).

EM, m/z (%): 385 (3), 312 (3), 254 (2,5), 207 (2,5), 191 (2,5), 169 (7,5), 153 (2,5), 126 (2,5), 111 (2), 100 (2,5), 90 (6), 77 (2), 58 (12), 43 (100).

2.8.8. Hidrólise dos intermediários 5-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-3,5-dideoxi-1,2-*O*-isopropilideno- α -D-ribofuranoses [VIII]

A um balão de fundo redondo (250 mL), contendo o éster [VIII (a, b ou c)], acrescentaram-se 1,4-dioxano e, sob agitação, solução aquosa de H₂SO₄ 2%, mantendo-se o sistema sob refluxo até o total consumo do material de partida. No Quadro 5 estão relacionadas as condições de reação para os diversos ésteres [VIII].

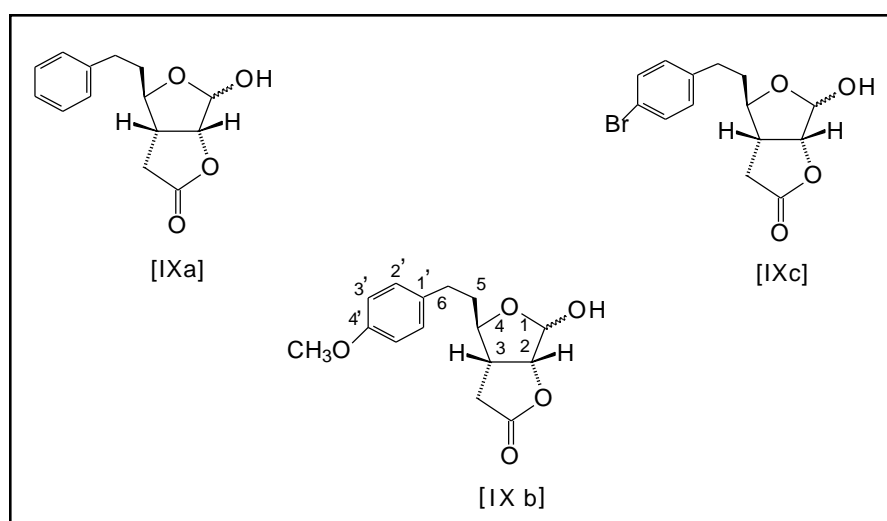
Quadro 5 - Condições de reação para obtenção dos álcoois

Éster/ g	1,4-dioxano	H ₂ SO ₄ 2 %	Tempo
[VIIIa] 2,400 (7,5 mmol)	130 mL	51 mL	2,0 h
[VIIIb] 1,800 (5,1 mmol)	89 mL	35 mL	2,5 h
[VIIIc] 0,977 (2,4 mmol)	43 mL	17 mL	2,5 h

A mistura foi transferida para um funil de decantação, acrescentado-se Et₂O (130 mL/ mmol). A solução foi lavada com três porções de água destilada e com três porções de solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi secada com MgSO₄, concentrada em evaporador rotatório e submetida a cromatografia em coluna com os eluentes relacionados no Quadro 6, obtendo-se assim as misturas de isômeros [IX] com a hidroxila em α [(IXa α , IXb α , IXc α)] e com a hidroxila em β [(IXa β , IXb β , IXc β)], sendo estes últimos os isômeros majoritários.

Quadro 6 - Condições utilizadas na elaboração das reações de hidrólise e purificação, característica e rendimento dos produtos obtidos

	[IXa]	[IXb]	[IXc]
Eluente/ mL	Et ₂ O:hexano 3:1	Et ₂ O:hexano 2:1	Et ₂ O:hexano 3:1
Característica	Óleo incolor	Óleo incolor	Sólido branco
Massa/ g	1,15 (4,6 mmol)	0,89 (3,2 mmol)	0,54 (1,6 mmol)
Rendimento	62 %	63 %	66 %



Obs.: Nesta reação obtiveram-se os isômeros [IXa(α e β)], [IXb(α e β)], [IXc(α e β)].

Isômeros [IXa α e β]

FM: C₁₄H₁₆O₄

CCD: R_f = 0,26 (Et₂O/hexano 3:1).

Infravermelho (NaCl, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.422 (M-F,L), 3.027 (F), 2.935 (M), 2.866 (f), 1.781 (F), 1.497 (M), 1.457 (M), 1.419 (M), 1.296 (f), 1.165 (F), 1.079 (M-F) 1.047 (F), 909 (M), 751 (M), 701 (M-F).

RMN de ¹H (400 MHz) d: 1,85-2,00 (m, 2,5H, H5a, H5a*,b), 2,07-2,15 (m, 1H, H5b), 2,38-2,42 (m, 0,5H, H7a*), 2,40 (dd, 1H, H7a), 2,63-2,72 (m, 2,5H, H3*, H6a, H6a*, H7b*), 2,74-2,82 (m, 1,5H, H6b, H6b*), 2,77 (dd, 1H, J = 9,0 e 18,0, H7b), 2,88-2,94 (m, 1H, H3), 3,40 (sL, 1H, OH), 3,70 (sL, 0,5H, OH*), 3,94 (dt, 1H, J = 8,3, 5,2 e 5,2, H4), 4,01 (dt, 0,5H, J ~ 7,2, 5,5 e 5,6, H4*), 4,88 (d, 1H, J = 6,4, H2), 4,88-4,92 (m, 0,5H, H2*) 5,53 (dL, 0,5H, J ~ 3,2, H1*), 5,56 (s, 1H,

H1), 7,16-7,22 (m, 4,5H, H3', 4', 5' e H3', 4', 5'*), 7,25-7,31 (m, 3H, H2', 6' e H2', 6'*). {Obs.: As atribuições marcadas (*) referem-se ao isômero minoritário [IXa α], e as demais, ao isômero principal [IXa β], sendo a proporção [IXa α]:[IXa β] igual a 2:1. Foi obtido também o espectro em 2D COSY}.

RMN de ^{13}C (100 MHz) d: 31,91 (C6#), 32,24 (C6#), 33,28 (C7#), 33,89 (C7#), 36,38 (C5), 39,23 (C5), 41,98 (C3), 42,56 (C3), 82,17 (C4), 82,62 (C2), 87,24 (C4), 88,31 (C2), 95,56 (C1-OH), 100,98 (C1-OH), 126,10 (C4'), 126,16 (C4'), 128,29 (C2' e 6'), 128,34 (C2' e 6'), 128,50 (C3' e 5'), 128,52 (C3' e 5'), 140,87 (C1'), 140,96 (C1'), 175,72 (C=O), 176,43 (C=O). [Obs.: As atribuições marcadas (#) podem estar trocadas].

EM, m/z (%) [IXa α,β]: 204 (1), 161 (5), 133 (3), 119 (19), 109 (11), 107 (9), 105 (10), 93 (29), 91 (18), 79 (18), 77 (14), 69 (28), 67 (19), 65 (7), 58 (3), 55 (23), 53 (20), 43 (73), 41 (100).

Isômeros [IXb α e β]

FM: C₁₅H₁₈O₅

CCD: R_f = 0,68 (Et₂O/hexano 3:1).

Infravermelho (NaCl, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.421 (ML), 3.027 (f), 2.937 (M), 2.838 (f), 1.781 (F), 1.609 (M), 1.513 (F), 1.458 (f), 1.419 (f), 1.300 (f), 1.245 (F), 1.177 (F), 1.035 (F), 972 (M), 835 (M).

RMN de ^1H (400 MHz) d: 1,80-2,00 (m, 2H, H5a, H5a,b*), 2,00-2,10 (m, 1H, H5b), 2,30-2,90 (m, 5,5H, H3, H3*, H6a,b, H6a,b*, H7a,b e H7a,b*), 3,30 (sL, 0,5H, OH*), 3,70 (sL, 1H, OH), 3,70 (s, 1,5H, PhOMe*), 3,80 (s, 3H, PhOMe), 3,90 (m, H4, H4*), 4,85 (d, 1H, H2), 4,90 (m, 0,5H, H2*), 5,50 (m, 0,5H, H1*), 5,55 (m, 1H, H1), 6,80 (d, \geq 2H, H3', 5' e H3'*, 5'*), 7,10 (d, H2', 6' e H2'*, 6'*). {Obs.: As atribuições marcadas (*) referem-se ao isômero minoritário [IXa α], e as demais, ao isômero principal [IXa β], sendo a proporção [IXa α]:[IXa β] igual a 2:1. Foi obtido o espectro em 2D-COSY}.

RMN de ^{13}C (100 MHz) d: 31,27 (C6*), 31,58 (C6), 33,56 (C7*), 34,19 (C7), 36,89 (C5*), 39,67 (C5), 42,26 (C3*), 42,82 (C3), 55,51 (PhOMe e PhOMe*),

82,41 (C4*), 82,82 (C2*), 87,47 (C4), 88,55 (C2), 95,81 (C1*-OH), 101,22 (C1-OH), 114,16 (C3' e 5'), 114,16 (C3'* e 5'*), 129,47 (C2'* e 6'*), 129,51 (C2' e 6'), 133,18 (C1' e C1'*), 158,15 (C4' e C4'*), 175,96 (C=O), 176,00 (C=O*). [Obs.: As atribuições marcadas (*) referem-se ao isômero minoritário α , sendo relativas a sinais de menor intensidade no espectro].

EM, m/z (%): 278 (4,5), 276 (1,5), 260 (6), 233 (2,5), 200 (2), 187 (1), 164 (8,5), 143 (1,5), 121 (100), 119 (7,5), 91 (15,5), 77 (18), 55 (19), 44 (19).

Isômeros [IXc α e β]

FM: C₁₄H₁₅O₄Br

T_f = 98,2 - 101,5°C, **CCD:** R_f = 0,57 (Et₂O/hexano 3:1).

Infravermelho (NaCl, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.527(M), 3.463 (ML), 2.955 (f), 2.924 (M), 2.868 (f), 1.781 (F), 1.489 (M), 1.350 (f), 1.177(M), 1.040(M-F), 959(M), 901(M), 801(M), 613(M).

RMN de ¹H (300 MHz) d: 1,81-1,95 (m, 2H, H5a, H5a,b*), 2,03-2,13 (m, 1H, H5b), 2,57-2,94 (m, 5,5H, H3, H3*, H6a,b, H6a,b*, H7a,b e H7a,b*), 3,34 (sL, 0,5H, OH*), 3,70 (sL, 1H, OH), 3,84-3,98 (m, H4, H4*), 4,88 (d, 1H, J = 6,0, H2), 4,98 (m, 0,5H, H2*), 5,45 (m, 0,5H, H1*), 5,60 (m, 1H, H1), 7,15 (m, \geq 2H, H3', 5' e H3'* , 5'*), 7,45 (m, H2', 6' e H2'* , 6'*). {Obs.: As atribuições marcadas (*) referem-se ao isômero minoritário [IXa α], e as demais, ao isômero principal [IXa β], sendo a proporção [IXa α]:[IXa β] igual a 2:1. Foi obtido o espectro em 2D-COSY}.

RMN de ¹³C (75 MHz) d: 31,64 (C6*), 31,96 (C6), 33,51 (C7*), 34,18 (C7), 36,52 (C5*), 39,31 (C5), 42,27 (C3*), 42,85 (C3), 82,39 (C4*), 82,57 (C2*), 87,29 (C4), 88,50 (C2), 95,86 (C1*-OH), 101,26 (C1), 128,61 (C4'*), 128,78 (C4'), 130,34 (C3'* e 5'*), 130,39 (C3' e 5'), 131,81 (C2' e 5'), 131,83 (C2' e 5'*), 140,20 (C1'*), 140,21 (C1'), 175,89 (C=O), 176,00 (C=O*). [Obs.: As atribuições marcadas (*) referem-se ao isômero minoritário α , sendo relativas a sinais de menor intensidade no espectro].

2.8.9. Oxidação das 5-C-aril-3-C-(carboximetil)-3,5,6-trideoxi- α -D-ribohexofuranose-2,3-g-lactonas [IX]

2.8.9.1. Método de Swern

A um balão bitubulado sob atmosfera de $N_{2(g)}$ adicionaram-se $(COCl)_2$ (0,16 mL, 1,8mmol) e 2 mL de CH_2Cl_2 seco. À temperatura de $-62^\circ C$ foi adicionada lentamente uma solução de DMSO (0,32 mL) em CH_2Cl_2 seco (2,4 mL). Após 30 minutos sob agitação magnética a $-62^\circ C$, acrescentou-se uma solução da mistura dos álcoois [IXa] (400 mg, 1,6 mmol) em CH_2Cl_2 seco (6,0 mL). A mistura foi mantida sob agitação ainda a $-62^\circ C$ por uma hora e meia. Adicionou-se, então, TEA (1,7 mL) e permitiu-se que o sistema atingisse a temperatura ambiente. Após duas horas, adicionou-se ao sistema água destilada (10 mL), e, após 10 minutos de agitação, a fase aquosa foi transferida para um funil de decantação e submetida a uma extração com CH_2Cl_2 (20 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução de HCl 0,07 mol/L (20 mL), com solução de Na_2CO_3 5% (20 mL) e, por último, com água destilada. Secou-se com $MgSO_4$ anidro, filtrou-se e concentrou-se em evaporador rotatório. O concentrado foi lavado sucessivas vezes com Et_2O , obtendo-se assim o composto [Xa] (cristais incolores, 0,268 g, 1,1 mmol, 69%).

2.8.9.2. Método de Jones

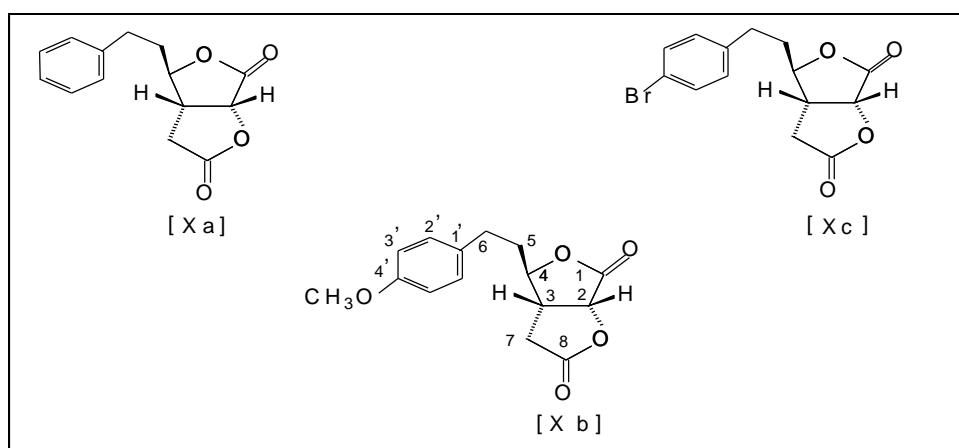
Preparou-se primeiramente a solução oxidante de Jones pela dissolução de 267 g de CrO_3 e 230 mL H_2SO_4 concentrado em 400 mL de água destilada, completando-se o volume da solução final para 1,0 L.

Os álcoois [IX (0,200 g de IXa, 0,700 g de IXb e 0,470 g de IXc)] foram dissolvidos em acetona tratada (4,0 mL, 7,0 mL e 6,0 mL, respectivamente). Por meio de uma bureta, adicionou-se o reagente de Jones gota-a-gota, sob agitação, até a mistura adquirir uma cor laranja-marrom permanente.

Foi acrescentado CH_2Cl_2 , deixando-se sob agitação por cinco minutos. A mistura foi transferida para funil de separação, fazendo-se extrações com água e, posteriormente, com solução saturada de NaHCO_3 . A fase orgânica foi secada com MgSO_4 e concentrada em evaporador rotatório. Os compostos obtidos foram recristalizados em éter dietílico, obtendo-se assim os compostos [Xa] (cristais incolores, 0,18 g, 7,3 mmol, 94%), [Xb] (sólido branco, 0,44 mg, 1,6 mmol, 63%) ou [Xc] (sólido branco, 0,37 g, 1,1 mmol, 78%). As condições de elaboração das misturas reacionais para obtenção das bis-lactonas [X(a, b, c)] estão relacionadas no Quadro 7.

Quadro 7 - Condições utilizadas na elaboração das reações de Jones

	[Xa]	[Xb]	[Xc]
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{mL}$	20	50	43
$\text{H}_2\text{O}/\text{mL}$	3×10	3×45	3×40
Sol. NaHCO_3/mL	3×10	3×45	3×40



Composto [Xa]

FM: $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_4$

T_f = 88 - 89°C; **CCD:** **R_f** = 0,13 ($\text{Et}_2\text{O}/\text{hexano}$ 3:1).

Infravermelho (KBr, $n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 3.025 (f), 3.007 (f), 2.995 (f), 2.958 (f), 2.943 (f), 2.925 (f), 2.867 (f), 1.792 (F), 1.773 (F), 1.491 (f), 1.456 (f), 1.366 (f), 1.312 (M-f), 1.244 (M), 1.217 (M), 1.199 (M), 1.168 (M-F), 1.096 (M), 1.083 (M), 1.061 (M), 1.008 (M), 981 (M), 754 (M), 703 (M), 607 (f), 595 (f), 545 (M-f).

RMN de ^1H (200 MHz) d: 1,98-2,09 (m, 2H, H5a,b), 2,47 (dd, 1H, J = 4,0 e 18,0, H7 β), 2,66-2,96 (d/m, 3H, J = 18,0, H7 α /H6a,b), 2,98-3,11 (m, 1H, H3), 4,31 (ddd, 1H, J = 5,0, 5,2 e 7,6, H4), 5,02 (d, 1H, J = 7,8, H2), 7,16-7,36 (m, 5HPh). [Obs.: Foram obtidos espectros HMQC e COSY].

RMN de ^{13}C (50 MHz) d: 31,15 (C6), 32,58 (C7), 37,02 (C5), 39,94 (C3), 77,00 (C2), 83,87 (C4), 126,46 (C4'), 128,32 (C2' e C6'), 128,66 (C3' e C5'), 139,64 (C1'), 170,01 (C1=O), 173,78 (C8=O).

EM, m/z (%): 246 (M^+ .10), 228 (0,5), 204 (7), 186 (4), 171 (6), 159 (5), 155 (4), 143 (6), 142 (5), 129 (5), 118 (6), 117 (10), 105 (11), 104 (15), 92 (59), 91 (100), 77 (10), 70 (12), 65 (22), 57 (9), 55 (23), 51 (13), 41 (19).

Composto [Xb]

FM: $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_5$

T_f = 127,2 - 128,3°C, **CCD:** **R_f** = 0,35 (Et₂O/hexano 2:1).

Infravermelho (KBr, $n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 2.957 (f), 2.926 (f), 2.853 (f), 1.794(F), 1.769 (M-F), 1.613 (f), 1.515 (M), 1457 (f), 1.258 (M), 1.243 (M), 1.221 (f), 1.157 (f), 1.092 (f), 1.032 (M), 1.023 (M), 933 (f), 643 (FL), 610 (F).

RMN de ^1H (300 MHz) d: 1,91-2,09 (m, 2H, H5a,b), 2,47 (dd, 2H, J = 4,6 e J = 18,0, H7 β), 2,61-2,95 (m, 3H, H7 α e H6a,b), 2,99-3,11 (m, 1H, H3), 3,78 (s, 3H, OCH₃), 4,31 (ddd, 1H, J= 5,4, 2,7 e 4,8, H4), 5,02 (d, 1H, J = 7,0 H2), 6,86 (d, 2H, J = 6,6, H3' e 5'), 7,19 (d, 2H, J = 6,9, H2' e 6').

RMN de ^{13}C (75 MHz) d: 30,59 (C6), 32,93 (C7), 37,65 (C5), 40,38 (C3), 55,52 (OCH₃), 77,09 (C2), 83,95 (C4), 114,39 (C3' e 5'), 129,58 (C2' e 6'), 131,74 (C1'), 158,51 (C4), 170,07 (C1=O), 173,82 (C8=O)

Composto [Xc]

FM: C₁₄H₁₃O₄Br

T_f = 138 - 139°C, **CCD:** **R_f** = 0,25 (Et₂O/hexano 2:1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 2.993 (f), 2.970 (f), 2.939 (f), 2.865 (f), 1.789 (F), 1.774(F), 1.487 (M), 1.354 (f), 1.246 (M), 1.217 (f), 1.144 (M), 1.059 (M), 1.008 (F), 932 (M), 860 (f), 835 (M), 797 (f), 688 (f), 627 (f).

RMN de ¹H (300 MHz) d: 1,96-2,09 (m, 2H, H5a,b), 2,50 (dd, 1H, J = 4,1 e 18,2, H7β), 2,65-2,92 (m, 2H, H6a,b), 2,92 (d, 1H, J = 18,0, H7α), 3,03-3,09 (m, 1H, H3), 4,29 (ddd, 1H, J = 5,4, 5,1 e 7,8, H4), 5,02 (d, 1H, J = 7,8, H2), 7,07 (d, 2H, J = 8,1, H2' e 6'), 7,43 (d, 2H, J = 8,7, H3' e 5').

RMN de ¹³C (75 MHz) d: 31,03 (C6), 32,87 (C7), 37,35 (C5), 40,43 (C3), 76,99 (C2), 83,70 (C4), 120,65 (C4'), 130,39 (C2' e 6'), 132,09 (C3' e 5'), 138,79 (C1'), 169,91 (C1=O), 173,65 (C8=O).

2.8.10. Reações de metilação descarboxilativa dos ácidos dilactônicos

2.8.10.1. Obtenção dos ácidos dilactônicos [XI]

A um balão bitubulado (5 mL), contendo as bislactonas [X (360 mg de Xa, 73 mg de Xb ou 150 mg de Xc)] e sob atmosfera de nitrogênio, acrescentou-se a solução de carbonato de metilmetoximagnésio 2,0 mol/L em DMF (3,8, 0,7 e 1,3 mL, respectivamente). A mistura foi mantida sob refluxo por cinco horas a 120°C. A mistura reacional foi resfriada e vertida sobre uma mistura gelada de éter dietílico e solução de HCl 6 mol/L {5:1, 12 mL/ mmol de [X]}, mantendo-se sob agitação até a dissolução de todo o precipitado. A fase etérea foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl e secada com MgSO₄ anidro. O éter foi evaporado em evaporador rotatório, obtendo-se, assim, os ácidos [XIa] (400 mg, 1,4 mmol, 94%), [XIb] (74 mg, 0,23 mmol, 87%) e [XIc] (52 mg, 0,14 mmol, 30%). Os compostos [XI] foram utilizados na etapa seguinte sem purificação.

Composto [XIa]

FM: C₁₅H₁₄O₆

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.564 (F), 3.493 (F), 2.450-3.200 (LM) [incluindo 3.032, 2.924, 2.888, 2.585], 1.790 (FL), 1.732 (F), 1.637 (M), 1.601 (M), 1.499 (M), 1.443 (M), 1.356 (M), 1.292 (F), 1.224 (F), 1.148 (F), 1.081 (F), 1.023 (F), 983 (M), 940 (F), 863 (M), 793 (M), 743 (M), 701 (M), 650 (f), 536 (f). (Obs.: Amostra bruta, contaminada com DMF.)

Composto [XIb]

FM: C₁₆H₁₇O₇

Composto [XIc]

FM: C₁₅H₁₃O₆Br

2.8.10.2. Metilenação descarboxilativa dos ácidos dilactônicos [XI]

A um balão de fundo redondo (25 mL), contendo uma solução de formaldeído e dietilamina, foi adicionada uma mistura de acetato de sódio em ácido acético e, sob agitação, acrescentaram-se os ácidos [XI (400 mg de XIa, 74 mg de XIb ou 52 mg de XIc)] (Quadro 8). Deixou-se a mistura reacional sob agitação vigorosa, até que cessasse a evolução de CO₂ (~1 min). A mistura foi, então, aquecida em banho-maria por cinco minutos. Resfriou-se e verteu-se a mistura reacional sobre água destilada e Et₂O (30 mL).

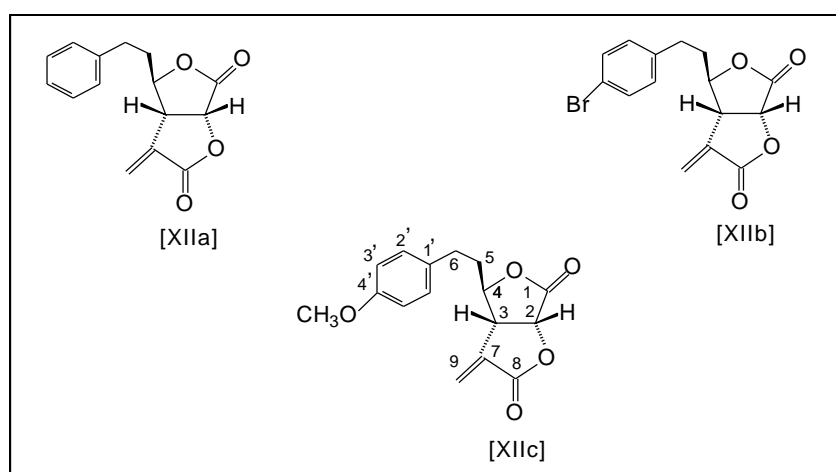
Quadro 8 - Condições de reação de metilenação dos ácidos [XI]

Ácido	Formaldeído	Et ₂ NH/ mL	AcONa	AcOH/ mL	H ₂ O/ mL	Et ₂ O/ mL
[XIa]	4,50 mL	1,5	0,140 g	5,5	15	30
[XIb]	0,73 mL	0,25	0,023 g	0,9	5	10
[XIc]	0,55 mL	0,2	0,019 g	0,8	10	20

A fase etérea foi lavada diversas vezes com água destilada e, posteriormente, com solução saturada de NaHCO₃. Secou-se com MgSO₄ anidro, concentrando-se em evaporador rotatório. O concentrado foi purificado em coluna cromatográfica, usando-se os eluentes relacionados no Quadro 9.

Quadro 9 - Condições de purificação e rendimento das reações de metilenação

Produto	Eluente	Característica do Produto Puro	Massa/ mg (mmol)	Rendimento
[XIIa]	Hexano/AcOEt	óleo incolor	200 (0,8)	57%
[XIIb]	Et ₂ O/hexano 2:1	óleo incolor	34 (0,12)	51%
[XIIc]	Et ₂ O/hexano 2:1	sólido de cor amarela	30 (0,09)	63%



Composto [XIIa]

FM: C₁₅H₁₄O₄

CCD: R_f = 0,28 (hexano/AcOEt 2;1).

Infravermelho (KBr, n_{máx.}/cm⁻¹): 3.027 (f), 2.925 (f), 2.859 (f), 1.781 (F), 1.664 (f), 1.603 (f), 1.497 (f), 1.455 (f), 1.404 (f), 1.361 (f), 1.297 (M), 1.266 (f), 1.222 (M), 1.105 (M), 1.063 (M), 1.048 (M), 963 (f), 933 (f), 809 (f), 751 (f), 702 (M).

RMN de ^1H (300 MHz) d: 2,10-2,17 (m, 2H, H5a,b), 2,74-2,94, (m, 2H, H6a,b), 3,53-3,59 (m, 1H, H3), 4,38-4,44 (m, 1H, H4), 5,06 (d, 1H, J = 8,4, H2), 5,82 (d, 1H, J = 2,4, H9a), 6,44 (d, 1H, J = 2,7, H9b), 7,19-7,27 (m, 3H, H3', 4', 5'), 7,30-7,35 (m, 2H, H2', 6').

[Obs.: Foi obtido também espectro em 2D-COSY].

RMN de ^{13}C (75 MHz) d: 31,27 (C6), 37,77 (C5), 44,14 (C3), 74,07 (C2), 83,97 (C4), 126,45 (C9), 126,66 (C4'), 128,32 (C2' e 6'), 128,80 (C3' e 5'), 134,18 (C7), 139,43 (C1'), 167,16 (C1=O), 169,57 (C8=O).

[Obs.: Foi obtido também o DEPT].

EM, m/z (%): 258 (M^+ , 3), 167 (2), 134 (6), 117 (37), 105 (25), 91 (100), 77 (24), 68 (26), 55 (16), 65 (36), 51 (40), 41 (48).

Composto [XIIb]

FM: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$

CCD: $R_f = 0,50$ (Et_2O /hexano 2:1).

Infravermelho (KBr, $n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 2.956 (M), 2.925 (M), 2.853 (M), 1.779(F), 1.685 (f), 1.611 (M), 1.513(F), 1.439 (M), 1.300 (M), 1.247 (F), 1.178 (F), 1.107 (F), 1.033 (F), 809 (M).

Composto [XIIc]

FM: $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_4\text{Br}$

$T_f = 113,9 - 115^\circ\text{C}$; **CCD:** $R_f = 0$, (Et_2O /hexano 2:1).

Infravermelho (KBr, $n_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 2.963 (f), 2.926 (M), 2.854 (f), 1.775(F), 1.490 (M), 1.299 (M), 1.237 (M), 1.199 (M), 1.118 (M), 1.011 (M), 968 (f), 925 (f), 811 (M), 609 (M).

RMN de ^1H (300 MHz) d: 2,03-2,12 (m, 2H, H5a,b), 2,68-2,88 (m, 2H, H6a,b), 3,53-3,59 (m, 1H, H3), 4,34-4,41 (m, 1H, H4), 5,07 (d, 1H, J = 8,4 H2), 5,84 (d, 1H, J = 2,1, H9a), 6,46 (d, 1H, J = 2,7, H9b), 7,08 (d, 2H, J = 8,1, H2' e 6'), 7,44 (d, 2H, J = 8,7, H3' e 5').

(Obs.: Foi obtido também o espectro em 2D-COSY).

RMN de ^{13}C (50 MHz) d: 31,03 (C6), 37,98 (C5), 44,54 (C3), 74,02 (C2), 83,96 (C4), 120,71 (CBr4'), 126,73 (C9), 130,32 (C2' e 6'), 132,12 (C3' e 5'), 134,33 (C7), 138,67 (C1'), 167,42 (C1=O), 169,50 (C8=O).

EM, m/z (%): 326 (1), 208 (6,5), 149 (85), 123 (8), 104 (13), 91 (6), 77 (10), 76 (20) 57 (62), 41 (100).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados alcançados a partir do desenvolvimento da rota sintética proposta (Figura 3) serão discutidos a seguir. Os dados obtidos através de espectroscopias no infravermelho, de RMN de ^1H e de ^{13}C e de espectrometria de massas serão analisados de modo a comprovar as estruturas propostas para os compostos sintetizados neste trabalho.

3.1. Oxidação da diacetona-D-glicose (I)

O composto I, comercialmente conhecido como diacetona-D-glicose (ALDRICH), foi utilizado como material de partida para a rota sintética, apresentando boa pureza e custo relativamente baixo. Alternativamente, este produto poderia ser facilmente obtido a partir da proteção da D-glicose com acetona em meio ácido (SCHMIDT, 1962) (Figura 4).

A oxidação da D-glicose protegida (I) foi realizada segundo o método de CZERNECKI et al. (1985), fornecendo a cetona [II] com rendimento de aproximadamente 93% (Figura 5).

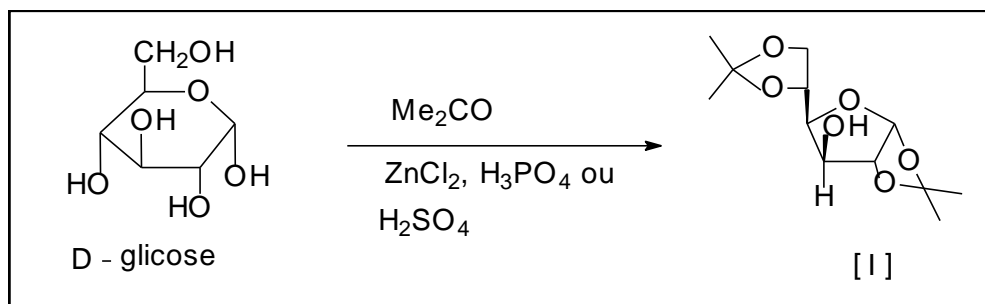


Figura 4 - Proteção das hidroxilas nos carbonos 1, 2, 5 e 6 da D-glicose.

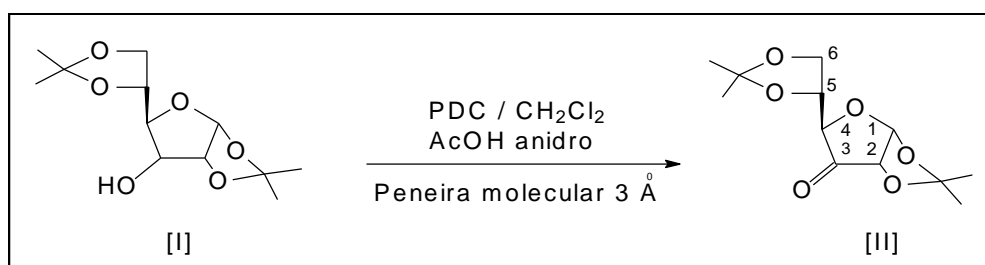


Figura 5 - Oxidação da diacetona-D-glicose.

Nessa metodologia, o agente oxidante é o dicromato de piridínio (PDC). Utilizam-se peneira molecular 3 Å ativada e ácido acético anidro como catalisadores. O PDC permite condições de oxidação brandas, sendo facilmente preparado (CZERNECKI et al., 1985) a partir de piridina e anidrido crômico, apresentando-se como cristais alaranjados solúveis em água e pouco solúveis em acetona a frio (Figura 6).

Estudos anteriores envolvendo uma série de reagentes oxidantes, bem como diferentes condições de reação com PDC e de purificação do produto obtido, permitiram a seleção deste método de oxidação e a maximização dos rendimentos da reação (RUBINGER et al., 1998).

Seguindo-se o procedimento clássico de COREY e SCHMIDT (1979), mesmo com excesso do oxidante, o rendimento após sete dias de reação era de 27% (Quadro 10), e parte do material de partida era recuperada.

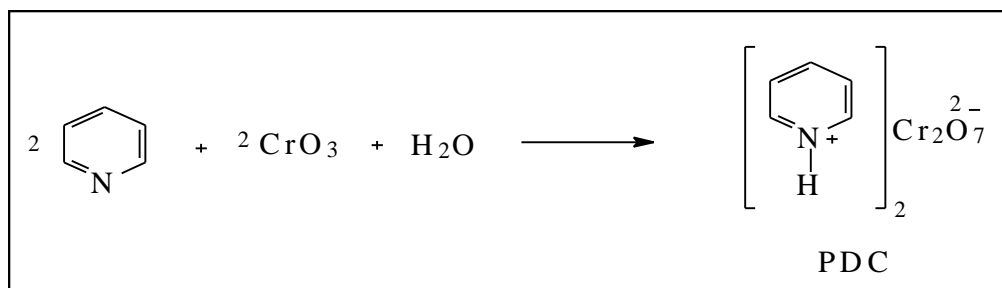


Figura 6 - Obtenção do agente oxidante PDC.

Quadro 10 - Comparação de resultados de aplicação de diversas condições de reação para a oxidação do composto (I) (RUBINGER et al., 1998)

OXIDANTE (oxidante:substrato)	Condições de reação	Tempo	Rendimento
PDC (6:1)	Procedimento clássico	7 dias	27%
PDC (4:1)	US* (50 min)	11 dias	44%
PDC (6:1)	US* (50 min) e sílica-gel	11 dias	44%
PDC (1:1)	Peneira 4 Å	19 h	40%
PDC (1,5:1)	Peneira 4 Å e AcOH	27 h	73%
PDC (1:1)	Peneira 3 Å e AcOH	5 h	95%
DMSO (35:1)	P ₂ O ₅ (1:1)	20 h	25%
DMSO (2:1)	P ₂ O ₅ (1:1) e TEA	2 h	52%
DMSO (28:1)	(COCl) ₂ (1:1) e TEA	2,5 h	54%

* ultra-som.

Segundo ADAMS e LUZZIO (1989), o acréscimo de sílica (SiO₂) a reações de oxidação com PCC (C₅H₅NHCrO₃Cl) catalisava e melhorava o seu rendimento. Entretanto, o mesmo não foi observado na oxidação do composto (I) com PDC. A utilização de ultra-som (US) em reações onde os reagentes se apresentam em diferentes fases costuma acelerá-las. A inicialização destas oxidações em um banho de US também não provocou efeito apreciável.

A utilização de peneira molecular 4 Å ativada, de maneira semelhante à descrita por CZERNECKI et al. (1985), diminuiu consideravelmente o tempo de reação (19 horas) e aumentou o rendimento para 40%, e a adição de ácido acético anidro elevou o rendimento para 73%. No entanto, as melhores condições

encontradas envolveram a utilização de peneira molecular 3 Å e ácido acético anidro.

Para garantir bom rendimento, é importante que o PDC e a peneira molecular sejam finamente pulverizados e o ácido acético e o solvente (CH_2Cl_2) sejam recentemente tratados.

Outros métodos tradicionais de oxidação envolvendo DMSO ativado por uma série de reagentes (método de Swern e similares) também foram testados (Quadro 10), porém nenhum deles apresentou rendimento satisfatório.

A purificação do produto de oxidação se fez por filtração a vácuo, utilizando-se celite para reter os subprodutos de cromo e, posteriormente, uma coluna cromatográfica de sílica-gel para aumentar a pureza do produto. Por último, concentrou-se em evaporador rotatório à pressão reduzida, obtendo-se, assim, cristais brancos, que foram caracterizados como 1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- α -D-ribo-exofuran-3-ulose [II].

O espectro no infravermelho do composto [II] apresentou um sinal em 1.773 cm^{-1} , devido à deformação axial da carbonila (Figura 7). Entretanto, observou-se também forte absorção em 3.408 cm^{-1} , característica de hidroxilas. Uma comparação com o espectro do material de partida mostrou que não se tratava de uma reação incompleta, pois a diacetona-D-glicose apresenta uma banda em frequência superior (3.429 cm^{-1}). Além disso, verificou-se que, com o passar do tempo, a banda em 3.408 cm^{-1} se tornava mais intensa, ocorrendo até o desaparecimento do sinal da carbonila (Figura 8). Concluiu-se que a cetona sofria hidratação, formando o composto [IIa], como mostra a Figura 9.

O espectro de RMN de ^1H demonstrou que se tratava realmente de uma mistura em equilíbrio, através dos sinais que apareciam duplicados. Como exemplo, dois dupletos, um relativo ao hidrato ($\delta = 6,14$) e outro à cetona ($\delta = 5,85$), podem ser atribuídos ao hidrogênio do carbono 1 (Figura 10, Quadro 11). Observa-se, ainda, uma proporção de 1:2 da cetona para o hidrato neste espectro. Entretanto, proporções variáveis foram obtidas nas diversas repetições deste experimento.

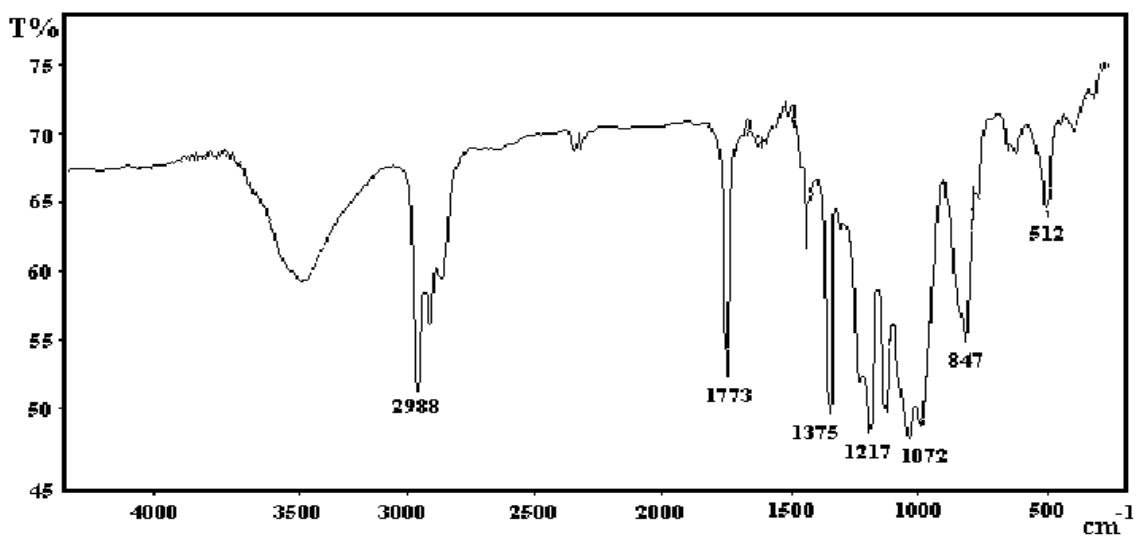


Figura 7 - Espectro no infravermelho (KBr) do produto de oxidação da diacetona-D-glicose, obtido logo após a elaboração da reação.

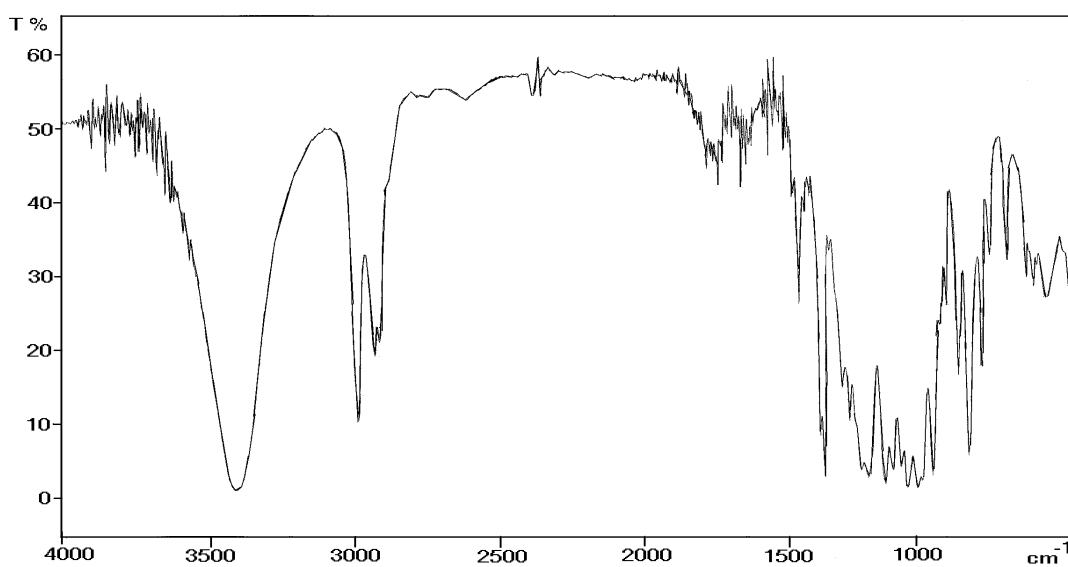


Figura 8 - Espectro no infravermelho (KBr) do produto de oxidação da diacetona-D-glicose, obtido 48 horas após a elaboração da reação.

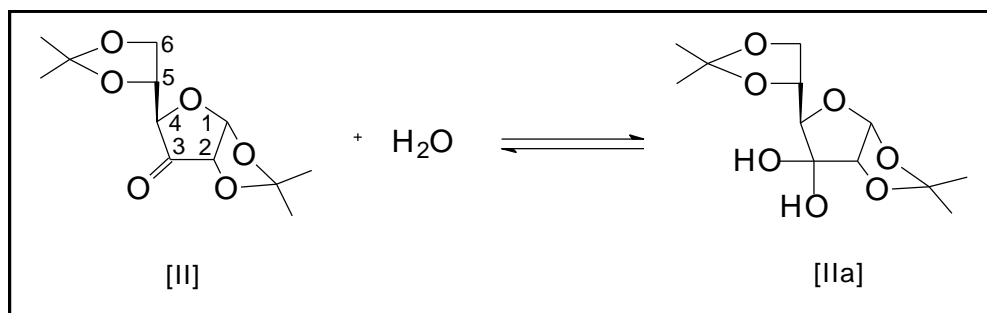


Figura 9 - Equilíbrio entre a cetona [II] e o hidrato correspondente [IIa].

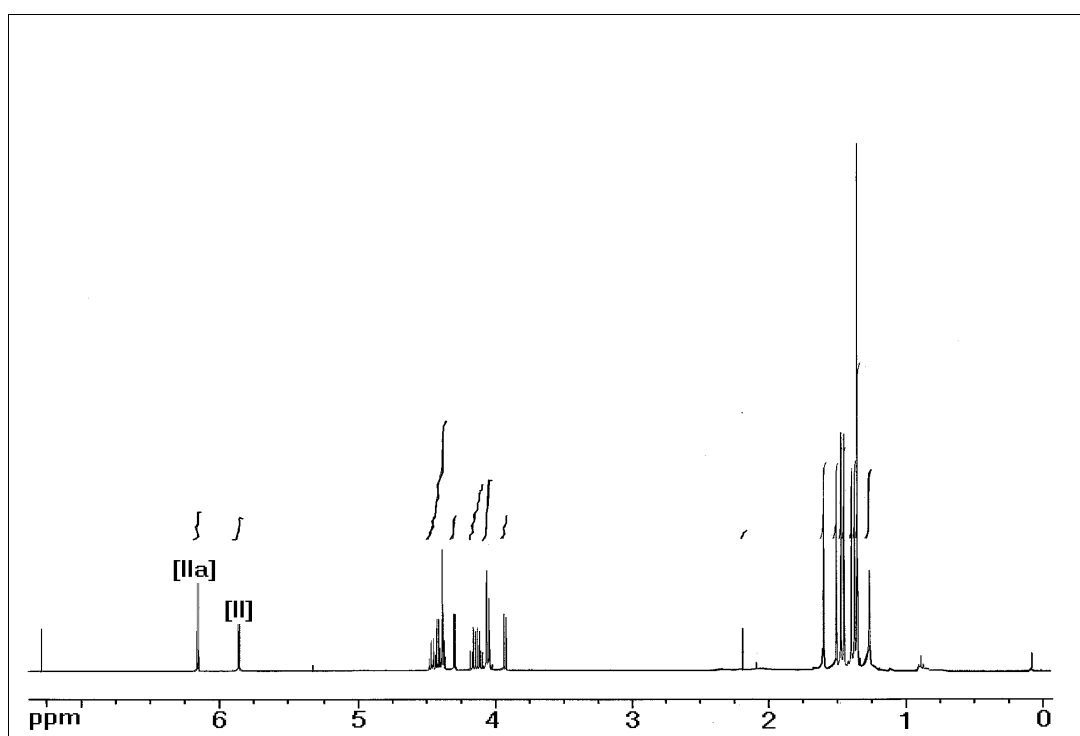


Figura 10 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a mistura de produtos [II] e [IIa].

O espectro de RMN de ^{13}C da mistura de [II] e [IIa] apresentou todos os sinais esperados. Um sinal com valor de $\delta = 208,81$ foi atribuído à carbonila e outro, em $\delta = 100,97$, ao carbono correspondente no hidrato, e no espectro de DEPT 135 estes sinais não foram observados, o que confirma as atribuições (Figura 11, Quadro 12).

Quadro 11 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) dos compostos [II] e [IIa]

δ ^1H	Multiplicidade	Integração	J / Hz	Atribuição
				[II] [IIa]
1,34	s	6	-	$2 \times \text{Me}$
1,36	s	1,5	-	Me
1,39	s	1,5	-	Me
1,44	s	3	-	Me
1,46	s	3	-	Me
1,49	s	1,5	-	Me
1,59	s	1,5	-	Me
3,91	d	0,5	6,8	H4
4,01-4,05	m	1	-	H6a,b
4,04	d	1	6,4	H4
4,09	dd	1	6,0 e 8,8	H6a
4,15	dd	1	6,4 e 8,8	H6b
4,28	d	0,5	3,6	H2
4,35-4,39	sL/m	~ 3	-	H5 e $2 \times \text{OH}$
4,40	dd	1	0,8 e 4,4	H2
4,44	m*	0,5	-	H5
5,85	d	0,5	3,6	H1
6,15	d	1	4,4	H1

* Possivelmente um td, J ~ 6, 6 e 8 Hz.

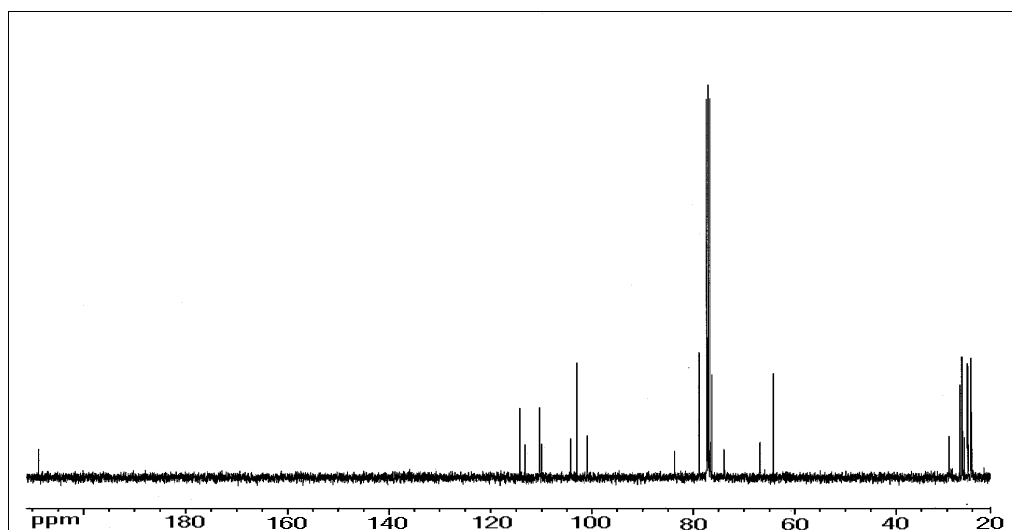


Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da mistura em equilíbrio cetona-hidrato.

Quadro 12 - RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) dos compostos [II] e [IIa]

$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	Atribuição		$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	Atribuição	
		[II]	[IIb]			[II]	[IIb]
25,07	+	Me		77,21	+		C4
25,22	+		Me	78,72	+	C4	
25,92	+		Me	78,91	+		C2
26,52	+	Me		83,71	+	C2	
26,54	+	Me		100,97			C3
26,91	+	Me		103,06	+		C1
27,11	+		Me	104,22	+	C1	
27,50	+		Me	110,03		$\underline{\text{CMe}}_2$	
64,25	-		C6	110,34			$\underline{\text{CMe}}_2$
66,80	-	C6		113,24		$\underline{\text{CMe}}_2$	
73,95	+	C5		114,27			$\underline{\text{CMe}}_2$
76,31	+		C5	208,81		C3=O	

Obs.: $\underline{\text{CMe}}_2$ carbono quaternário do grupo isopropilideno; DEPT: sinais marcados (+) foram observados na fase positiva do espectro (CH_3 e CH) e sinais marcados (-), na fase negativa (CH_2). Os demais sinais não são observados.

O espectro de RMN de ^1H do material de partida (diacetona-D-glicose) apresenta, em campo alto, quatro simpletos com integração relativa a 3H cada, atribuídos aos grupos isopropilideno, e o sinal bem característico do H1, um duplete em $\delta = 5,93$ com valor de $J = 3,6$ Hz (Figura 12). Como esperado, estes sinais também estão presentes no espectro dos produtos de oxidação, mas aparecem duplicados e em maior intensidade para o hidrato do que para a cetona. A duplicação de sinais também existe no espectro de RMN de ^{13}C dos compostos em equilíbrio. O carbono que sustenta as hidroxilas no hidrato é responsável por um sinal em $\delta = 100,91$. Já no espectro do material de partida o valor de δ é de 85,50 para o carbono correspondente.

O espectro de massas da mistura cetona-hidrato apresentou o pico-base com valor de $m/z = 101$. Este pico, também presente no espectro do material de partida (55%), pode ser atribuído ao íon resultante da quebra da ligação entre C4 e C5, com a carga positiva permanecendo sobre o grupo isopropileno.

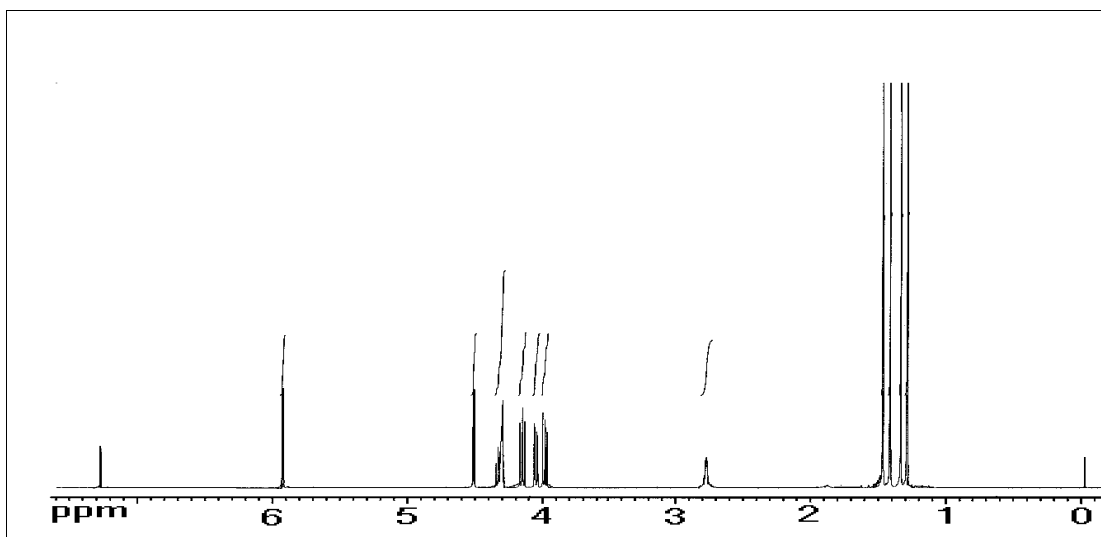


Figura 12 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto (I).

Os sinais dos íons moleculares da cetona ou do hidrato não foram observados. Esse fato era esperado, uma vez que substâncias que apresentam grupos isopropilideno perdem facilmente um radical metila sob as condições de realização do experimento de espectrometria de massas por impacto eletrônico. Assim, o espectro do material de partida (I) apresenta um pico em $m/z = 245$ (260-15) e o espectro da mistura dos produtos de oxidação em $m/z = 261$ (4%) e 243 (14%) ($M^+_{\text{hidrato}}-15$ e $M^+_{\text{cetona}}-15$, respectivamente). A maior intensidade do sinal em $m/z = 243$ pode indicar, ainda, a perda de uma molécula de água a partir do íon de $m/z = 261$.

3.2. Reação de Wittig-Horner

Utilizou-se a reação de Wittig modificada, conhecida como Wittig-Horner, para introdução da cadeia lateral precursora do anel lactônico. Este tipo de reação envolve ilídeos especiais, sendo os mais importantes aqueles preparados a partir de fosfonatos (MARCH, 1992) (Figura 13).

O ilídeo desejado foi preparado pela reação entre *tert*-butóxido de potássio e fosfonoacetato de trimetila. A adição da cetona [II] a esse sistema

levou à formação de [III], uma mistura de isômeros *E* e *Z* com valores de R_f muito próximos. O mecanismo proposto para esta transformação está apresentado na Figura 13.

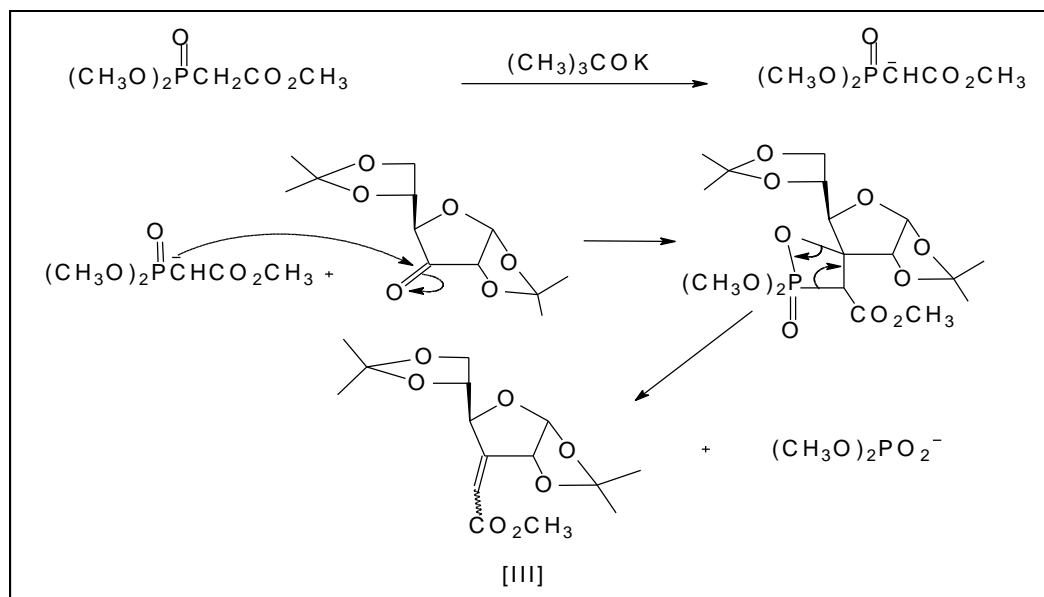


Figura 13 - Mecanismo proposto para a reação de Wittig-Horner.

A reação teve duração de 48 horas e foi elaborada pelo método de partição entre água destilada e éter etílico. A fase etérea foi concentrada e purificada em coluna cromatográfica de sílica-gel, obtendo-se, assim, um óleo incolor com rendimento aproximado de 67%.

As manchas dos isômeros [III] em CCD puderam ser observadas sob luz UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e foram reveladas com solução alcoólica de ácido fosfomolibdico. No espectro no infravermelho da mistura [III] observou-se a absorção intensa em 1.727 cm^{-1} , característica de carbonila de éster α,β -insaturado (Figura 14).

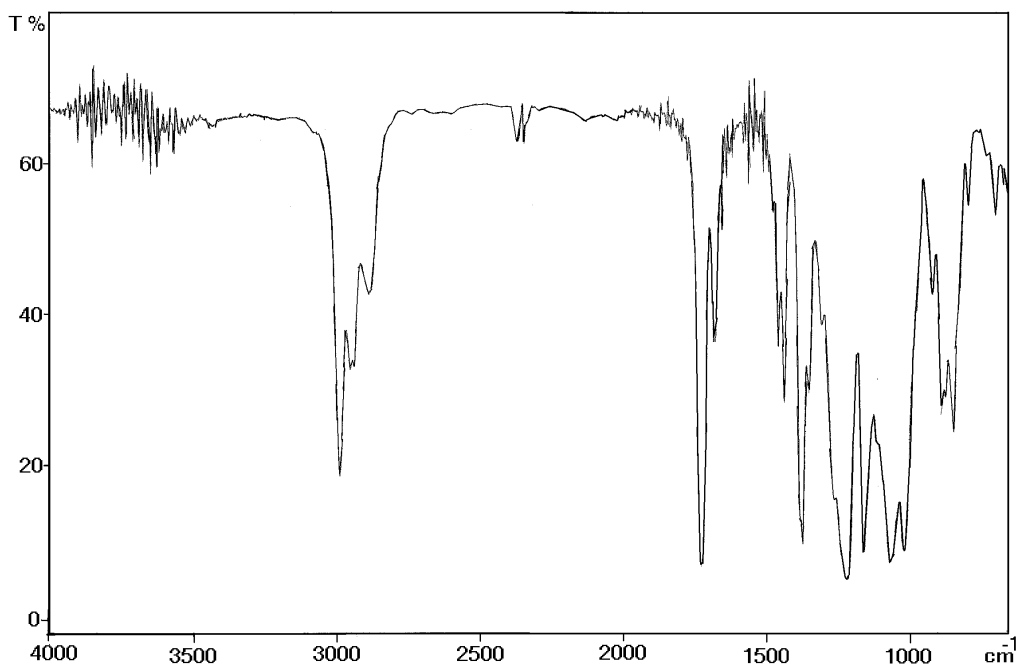


Figura 14 - Espectro no infravermelho (NaCl) da mistura de isômeros *E*, *Z*-[III].

3.3. Hidrogenação catalítica dos ésteres insaturados [III]

Vários metais de transição, particularmente platina, paládio, rutênio, ródio e níquel, são usados na hidrogenação catalítica, e a reação ocorre na interface entre o catalisador insolúvel e a solução do substrato (CAREY e SUNDBERG, 1993). Os catalisadores finamente divididos servem, aparentemente, para adsorver as moléculas de hidrogênio na sua superfície. Elétrons “emparelham-se” com elétrons do hidrogênio e ligam o hidrogênio à superfície. A colisão entre a molécula contendo dupla ligação C=C e a superfície com o hidrogênio adsorvido provoca a adsorção do substrato. Por uma transferência, em etapas, dos átomos de hidrogênio ao composto insaturado, completa-se a hidrogenação antes de a molécula orgânica abandonar a superfície do catalisador. Os dois átomos de hidrogênio adicionam-se, usualmente, no mesmo lado da molécula - adição *sin* (ANSELME, 1997) (Figura 15).

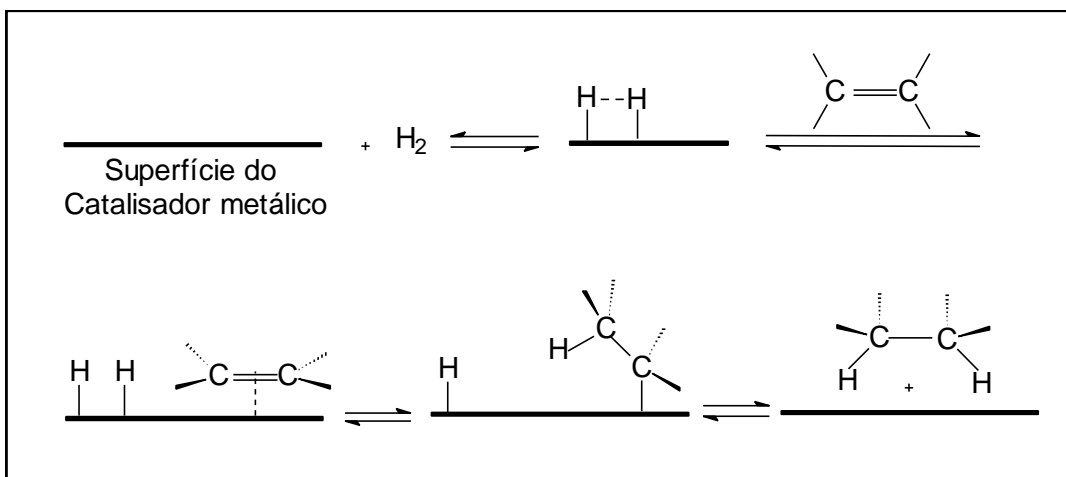


Figura 15 - Mecanismo proposto para a hidrogenação catalítica de alquenos.

Na hidrogenação dos isômeros [III] utilizou-se AcOEt como solvente e Pd em C (10%) como catalisador (Figura 16).

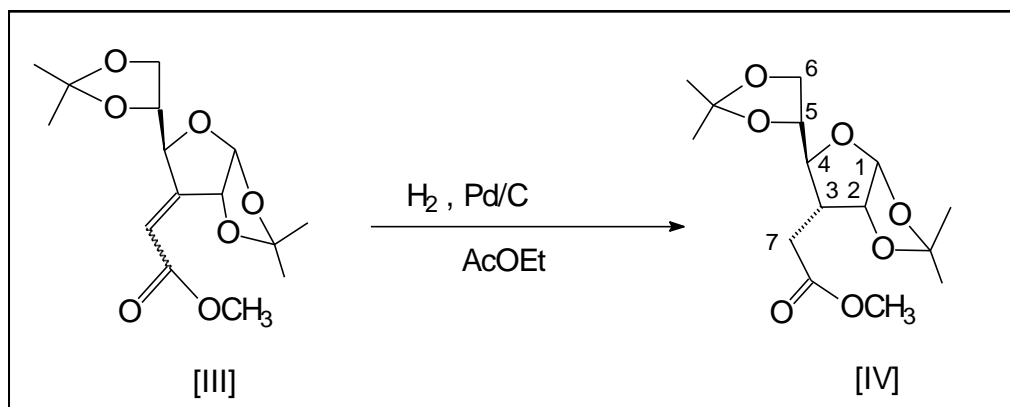


Figura 16 - Hidrogenação catalítica da mistura de isômeros [III].

A reação teve duração de quatro horas, com rendimento de 94%. Após a filtração, o material foi concentrado em evaporador rotatório, obtendo-se cristais brancos, caracterizados como 3-C-(carbometoxi-metil)-3-deoxi-1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- α -D-alofuranose [IV]. A formação de um produto único de

hidrogenação se explica pela adição *sin* (Figura 15) dos hidrogênios pela face menos impedida da molécula.

Comprovou-se a hidrogenação dos isômeros [III] pelo deslocamento da banda de carbonila no espectro no infravermelho de 1.727 cm^{-1} para 1.735 cm^{-1} e pelo comportamento do produto [IV] na CCD, apresentando somente uma mancha não observável sob luz UV.

Os sinais do espectro de RMN de ^1H do éster hidrogenado [IV] estão relacionados no Quadro 13. A presença de um simpleto em $\delta = 3,7$ é o dado mais característico e foi atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila (Figura 17).

Quadro 13 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) obtidos para o composto [IV]

$\delta\ ^1\text{H}$	Multiplicidade	Integração	J/ Hz	Atribuição
1,31	s	3		Me
1,33	s	3		Me
1,41	s	3		Me
1,50	s	3		Me
2,34	m	1		H3
2,67	dd	1	10,4 e 17,6	H7a
2,84	dd	1	4,0 e 17,2	H7b
3,66-3,73	m	1		H4
3,71	s	3		OCH_3
3,92-4,00	m	2		H6a e b
4,11	ddd	1	4,8, 5,6 e 12,7	H5
4,81	dd*	1	4,0 e 4,4	H2
5,78	d	1	3,6	H1

* O sinal em $\delta = 4,81$ é um tripleto aparente. Todavia, os valores de J diferem à esquerda (4,0 Hz) e à direita (4,4 Hz) do pico central, ligeiramente alargado. Acredita-se então que as linhas dos picos centrais do dd estejam se sobrepondo, dificultando a demarcação exata do sinal.

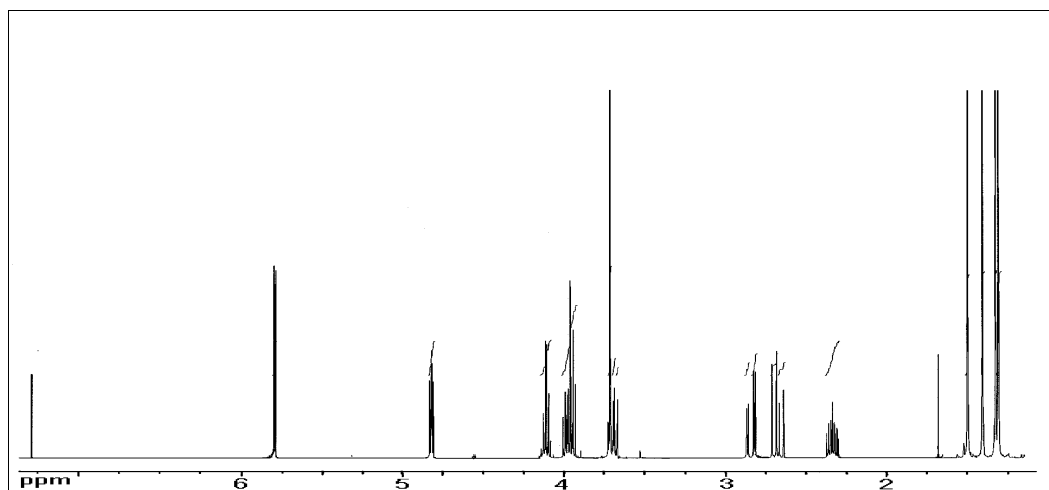


Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do éster hidrogenado [IV].

O espectro de RMN de ^{13}C confirma a obtenção de [IV] através do sinal em $\delta = 172,7$ para o carbono da carbonila e de um sinal para a metoxila com valor de $\delta = 51,6$, caracterizando o éster metílico (Figura 18, Quadro 14).

Quadro 14 - Dados de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) obtidos para o composto [IV]

$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	Atribuição
25,21	+	Me	77,90	+	C4
26,33	+	Me	80,89	+	C5
26,59	+	Me	81,43	+	C2
26,71	+	Me	105,00	+	C1
29,73	-	C7	109,62		$\underline{\text{C}}\text{Me}_2$
44,57	+	C3	111,83		$\underline{\text{C}}\text{Me}_2$
51,63	+	OMe	172,74		C=O
67,89	-	C6			

Obs.: $\underline{\text{C}}\text{Me}_2$ carbono quaternário do grupo isopropilideno; DEPT: sinais marcados (+) foram observados na fase positiva do espectro (CH_3 e CH) e sinais marcados (-), na fase negativa (CH_2). Os demais sinais não são observados.

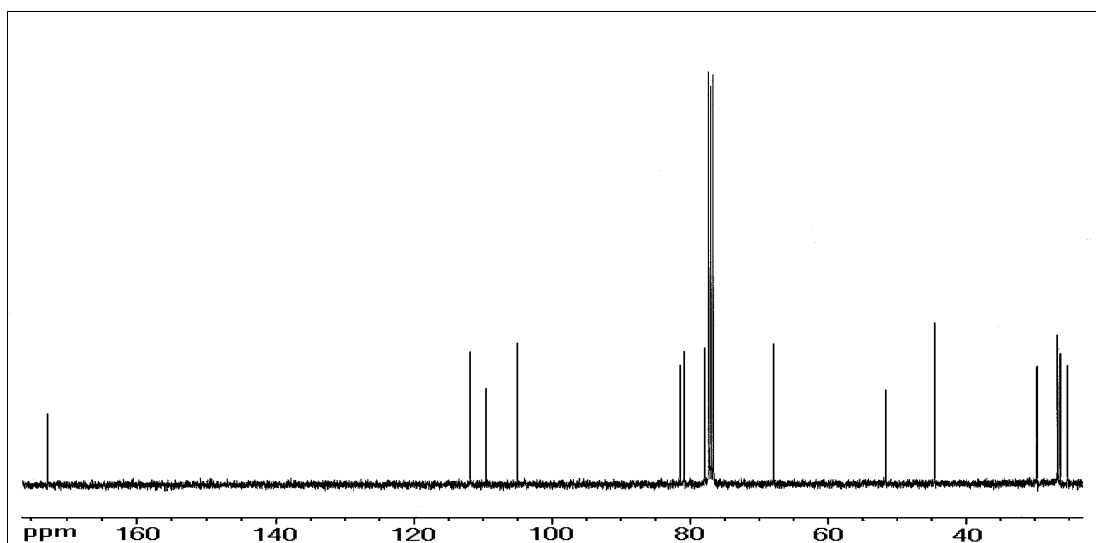


Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [IV].

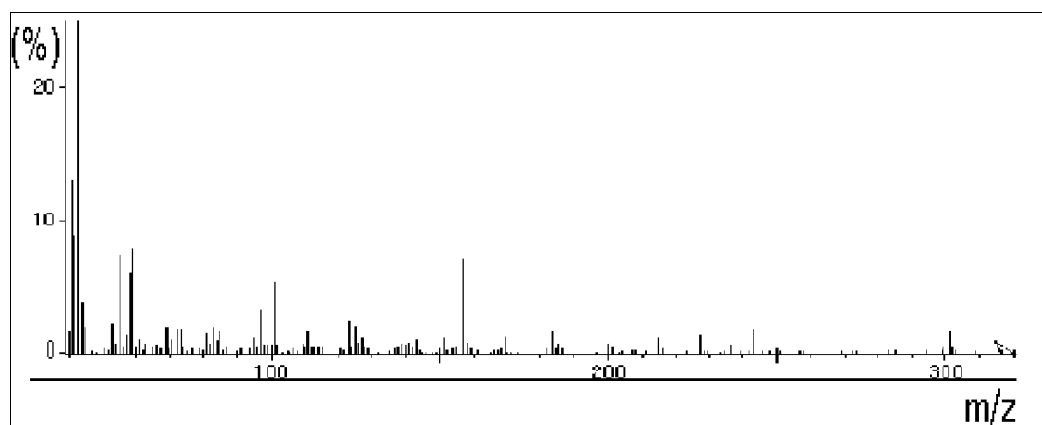


Figura 19 - Espectro de massas do composto [IV].

As informações obtidas do espectro de massas do composto [IV] confirmam a estrutura proposta. O espectro apresentou um pico em $m/z = 316$ (0,3%), correspondente ao íon molecular, bem como o pico em $m/z = 301$ (2%), correspondente à perda de uma metila. O pico-base apresentou valor de $m/z = 43$ ($[\text{CH}_3\text{C}=\text{O}]^+$) (Figura 19).

3.4. Hidrólise seletiva do grupo 5,6-*O*-isopropilideno de 3-C-(carbometoximetil)-3-deoxi-1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- α -D-alofuranose [IV]

O grupo isopropilideno é bastante utilizado na proteção de gem-dióis, pois, como os éteres, é relativamente inerte em meio básico (SOLOMONS, 1996). Entretanto, pode ser clivado pela ação de ácidos, devolvendo a funcionalidade diol à molécula.

Uma hidrólise ácida branda foi utilizada para a remoção seletiva de um dos grupos isopropilideno do composto [IV]. Utilizou-se MeOH como solvente e uma solução aquosa de H₂SO₄ a 0,8%. Esta concentração baixa foi necessária, para se evitar a quebra simultânea dos dois acetais presentes na molécula. O acetal ligado diretamente ao anel heterocíclico está mais protegido espacialmente, e por isso, nestas condições, não é hidrolisado em quantidades apreciáveis que possam inviabilizar esta reação. Contudo, ela precisa ser monitorada por CCD e deve ser interrompida antes que grandes quantidades deste acetal sejam hidrolisadas. Para um bom rendimento, a temperatura é mantida em torno de 20°C durante a reação (Figura 20).

Os acetais são hidrolisados com grande facilidade, devido aos carbocátions, que são grandemente estabilizados por ressonância. Essas reações obedecem ao procedimento mecanístico S_N1 (KREEVOY e TAFT, 1955) (Figura 20).

O diol [V] obtido foi caracterizado como 3-C-(carbometoximetil)-3-deoxi-1,2-*O*-isopropilideno- α -D-alofuranose [V]. O indício da obtenção do composto foi feito com base na comparação dos valores de R_f do cromatograma entre o material de partida e o produto obtido; estes valores foram de 0,60 e 0,25, respectivamente, em AcOEt:hexano 2:1. O composto obtido possui duas hidroxilas, o que aumenta a sua polaridade, apresentando, assim, o menor valor de R_f na CCD.

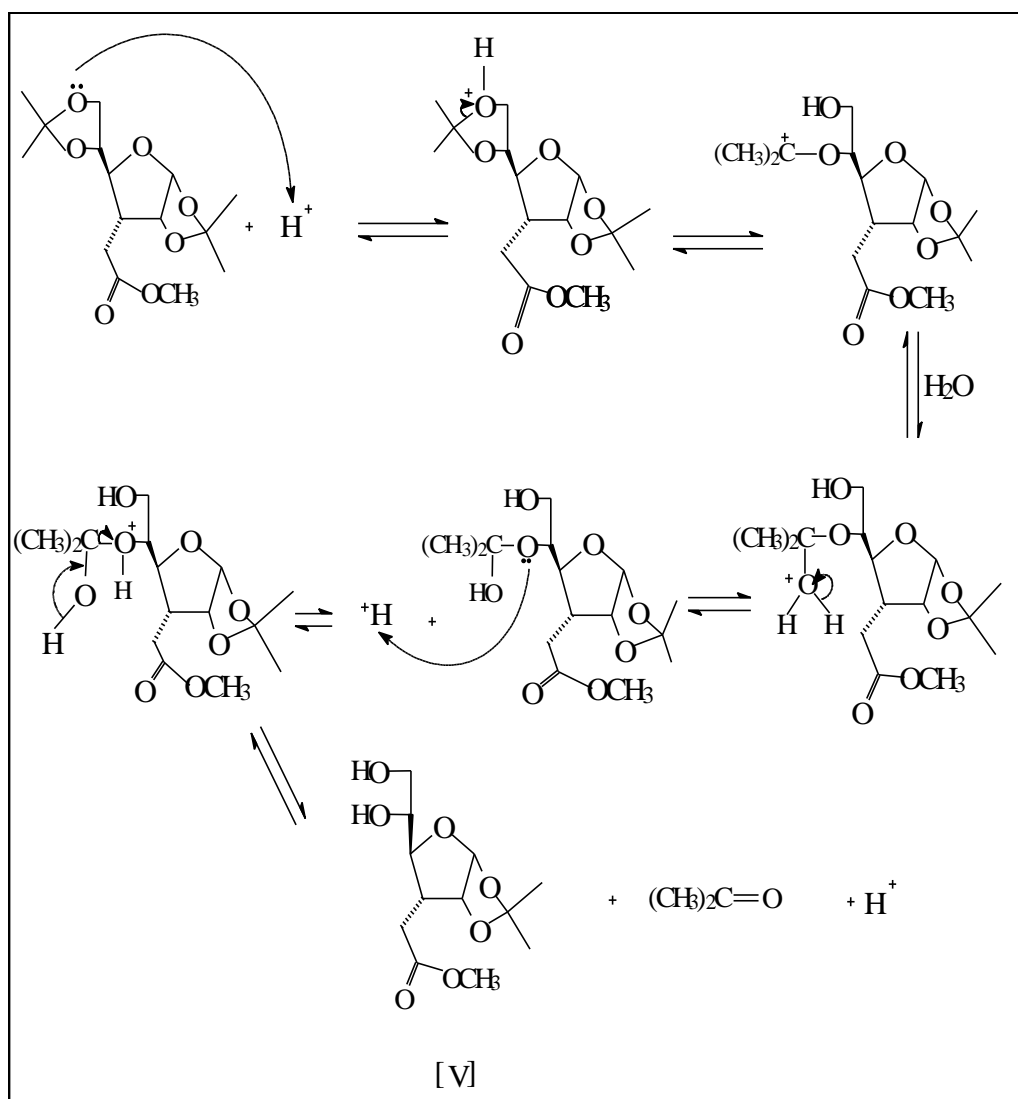


Figura 20 - Mecanismo da reação de hidrólise.

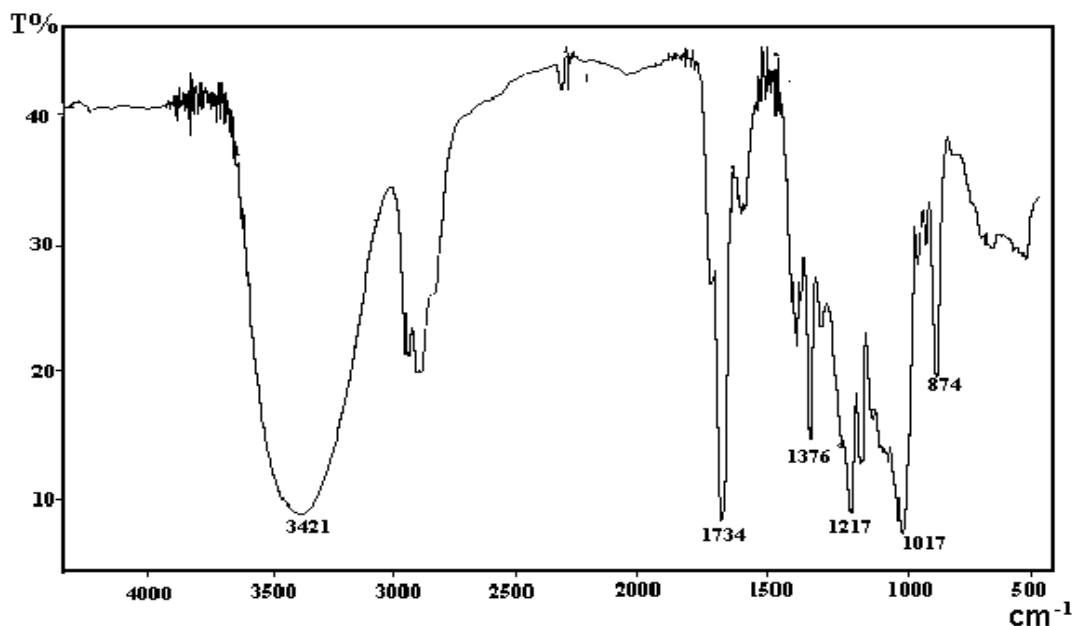


Figura 21 - Espectro no infravermelho do diol [V].

O produto [V] pode ser isolado da mistura reacional pela adição de $\text{BaCO}_3(\text{s})$ para a neutralização do meio. O excesso de BaCO_3 é separado por filtração simples. Após a evaporação do solvente e adição de CH_2Cl_2 , nova filtração elimina o BaCO_3 remanescente. O filtrado é concentrado à pressão reduzida, fornecendo o composto [V] como óleo incolor com 68% de rendimento. Entretanto, para dar prosseguimento à rota sintética, o isolamento de [V] não é necessário. Assim, uma elaboração alternativa envolve a adição de solução de Na_2CO_3 10%, seguida da eliminação do MeOH em evaporador rotatório à pressão reduzida. Esta mesma fase aquosa foi utilizada na etapa seguinte, para obtenção do aldeído. Este procedimento foi adotado para evitar perdas, pois as duas reações são realizadas em meio aquoso.

O espectro do composto [V] no infravermelho apresentou uma banda larga em 3421 cm^{-1} , atribuída às deformações axiais de O-H, e uma banda estreita em 1734 cm^{-1} , relativa ao estiramento da ligação C=O de éster (Figura 21).

3.5. Clivagem oxidativa da 3-C-(carbometoximetil)-3-deoxi-1,2-O-isopropilideno- α -D-alofuranose [V]

A clivagem oxidativa do composto [V] foi feita de maneira semelhante ao procedimento descrito por ROSENTHAL e NGUYEN (1968), que envolve o uso de NaIO_4 , em solução aquosa. Segundo o mecanismo proposto, forma-se primeiramente um intermediário cíclico com cinco membros (Figura 22) e, posteriormente, o aldeído (CAREY e SUNDBERG, 1993).

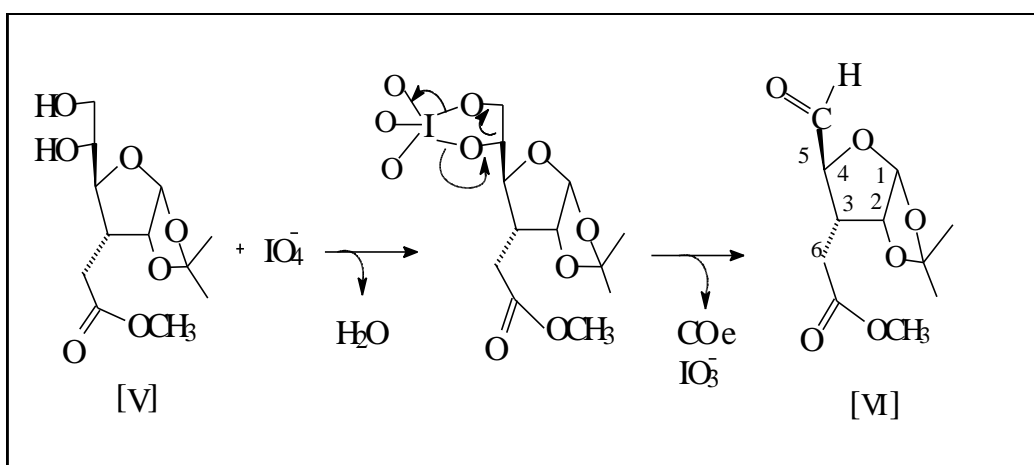


Figura 22 - Mecanismo proposto para a clivagem oxidativa do diol [V].

Utilizou-se solução de NaOH 0,1 mol/L para neutralizar o ácido formado (HIO_3), mantendo-se o pH em torno de 7. Esta reação completou-se em uma hora e meia.

Na elaboração desta reação acrescentou-se solução de NaCl saturada e extraiu-se com AcOEt . Da fase orgânica obteve-se o aldeído [VI], com rendimento de 88% a partir de [IV].

No espectro no infravermelho do composto [VI] observou-se somente uma banda na região das carbonilas, em 1.735 cm^{-1} . No entanto, o desaparecimento da banda intensa em 3.421 cm^{-1} , presente no espectro do diol precursor, indicou que a transformação desejada havia ocorrido e que as bandas

de deformação axial das carbonilas estariam provavelmente se superpondo (Figura 23).

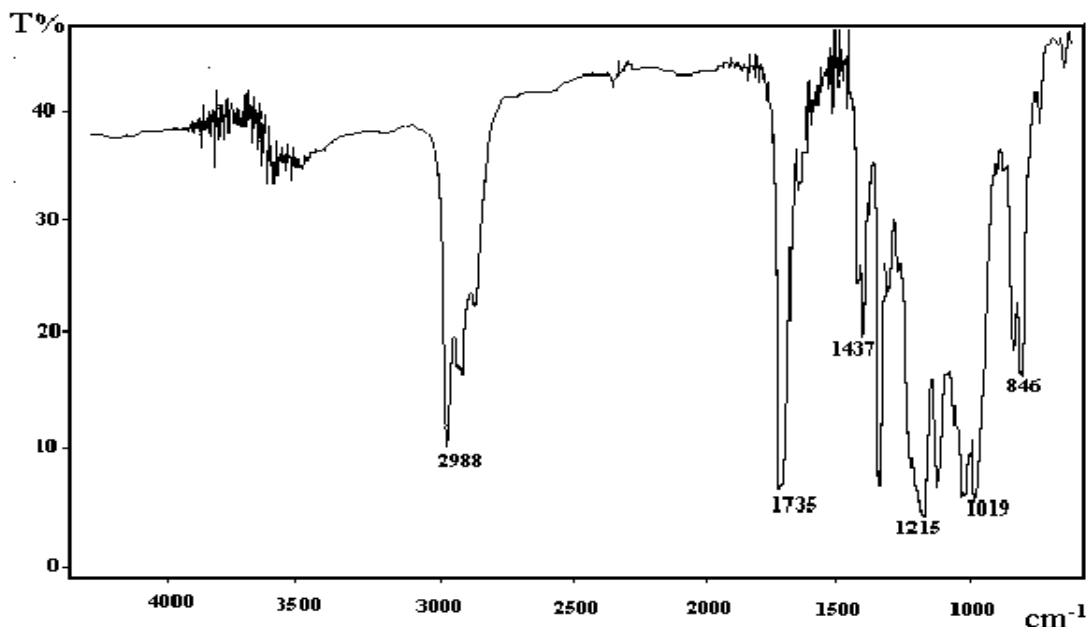


Figura 23 - Espectro no infravermelho (NaCl) do composto [VI].

Os sinais do espectro de RMN de ^1H para o composto [VI] estão relacionados no Quadro 15. Desses dados destaca-se o duplete em $\delta = 9,6$, com valor de $J_{\text{CHO},\text{H}_4} = 2,6$ Hz, característico de hidrogênio de aldeído, bem como o duplo duplete em $\delta = 4,10$ para o hidrogênio do carbono 4 ($J_{4,5} = 2,6$ Hz e $J_{4,3} = 10,8$ Hz).

O espectro de RMN de ^{13}C do composto [VI] confirma a obtenção do aldeído, devido aos sinais para CHO em $\delta = 200,56$ e para a carbonila do éster em $\delta = 172,16$. Ressalta-se que o sinal da carbonila de aldeído foi observado na fase positiva do espectro de DEPT 135. Os demais sinais estão relacionados no Quadro 16.

Quadro 15 - RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para o composto [VI]

δ ^1H	Multiplicidade	Integração	J/ Hz	Atribuição
1,24	s	3		Me
1,45	s	3		Me
2,40-2,53	m	1		H3
2,69-2,80	dd	1	9,9 e 10,2	H6a e b
3,65	s	3		OMe
4,06	dd	1	2,4 e 3,3	H4
4,83	m	1		H2
5,95	d	1	3,3	H1
9,65	d	1	2,4	CH=O

Quadro 16 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto [VI]

δ ^{13}C	DEPT	Atribuição	δ ^{13}C	DEPT	Atribuição
26,62	+	Me	83,67	+	C2
27,00	+	Me	106,27	+	C1
29,04	-	C6	112,94		<u>C</u> Me ₂
42,15	+	C3	172,16		C=O
52,20	+	OMe	200,56	+	CHO
80,78	+	C4			

Obs: CMe₂ carbono quaternário do grupo isopropilideno; DEPT: sinais marcados (+) foram observados na fase positiva do espectro (CH_3 e CH) e sinais marcados (-), na fase negativa (CH_2). Os demais sinais não são observados.

O espectro de massas de [VI] não apresentou o pico do íon molecular, mas foram observados os sinais em $m/z = 229$ ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), o que confirma a perda de uma metila, e o sinal referente à perda do grupo aldeídico em $m/z = 215$ ($\text{M}^+ - \text{CHO}$).

3.6. Reações de Wittig

As reações de Wittig acontecem entre aldeídos e, ou, cetonas com íldeos de fósforo (fosfonas). Os íldeos de fósforo são usualmente preparados por tratamento do sal de fosfônio com uma base. Os sais de Wittig utilizados neste trabalho foram preparados pela reação entre trifenilfosfina (Ph_3P) e haletos de aquila, em benzeno, sob refluxo (Figura 24).

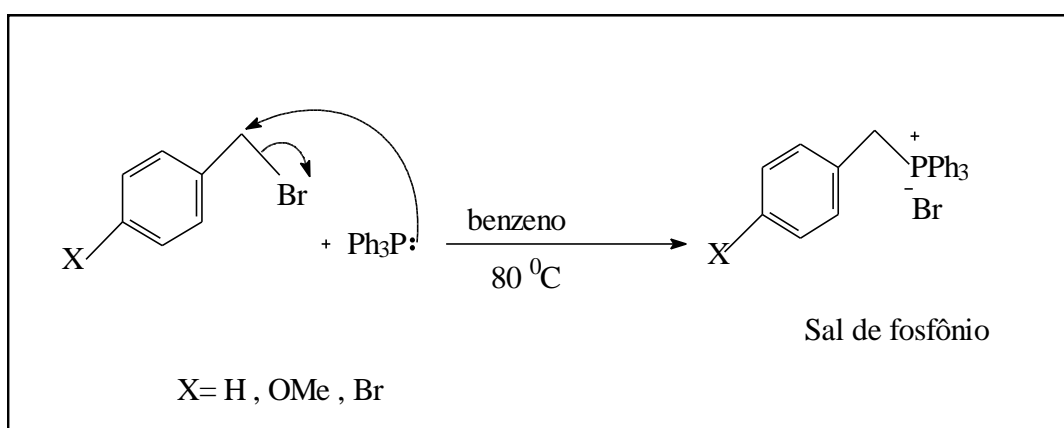


Figura 24 - Preparação dos sais de fosfônio.

Os íldeos de fósforo correspondentes foram obtidos em atmosfera de nitrogênio pela reação entre os sais de Wittig e BuLi. A este sistema foi acrescentado o aldeído [VI], levando à formação dos compostos [VIIa], [VIIb] e [VIIc] (Figura 25).

O acompanhamento das reações de Wittig foi feito por CCD, com revelação sob luz UV. A elaboração foi feita pelo método de partição, utilizando-se água:Et₂O. As fases etéreas foram concentradas em evaporador à pressão reduzida, sendo purificadas por cromatografia em coluna. Os compostos [VII] obtidos apresentaram aspecto oleoso, com rendimentos entre 44 e 84%.

Os compostos obtidos [VII(a, b, c)] apresentaram os sinais esperados nos espectros no infravermelho. Especificamente em relação aos sinais característicos

de aromáticos, a banda em 3.017 cm^{-1} atribuída à deformação axial de C-H de aromáticos aparece em evidência no espectro de [VIIa], mas encontra-se incluída na banda larga centrada em 2.987 cm^{-1} , devido a outras ligações C-H das moléculas de [VIIb] e [VIIc]. Por outro lado, o espectro do composto [VIIb] apresenta o sinal intenso em 1.607 cm^{-1} , atribuído a deformações de C=C, sendo este sinal pouco intenso no espectro de [VIIa] e não observável no espectro de [VIIc].

Para o composto [VIIa] tem-se o sinal em 704 cm^{-1} , atribuído à deformação angular fora do plano de C-H de aromáticos monossustituídos. Os sinais referentes às carbonilas foram observados em 1.735 cm^{-1} , nos espectros dos compostos [VII(a, c)], e em 1.737 cm^{-1} , no espectro de [VIIb]. Outro sinal importante e presente em todos os espectros destes compostos é o sinal característico de éteres, em 1.022 cm^{-1} , para [VIIa]; 1.018 cm^{-1} , para [VIIb]; e 1.011 cm^{-1} , para [VIIc] (Figura 26).

Foi obtido o espectro de RMN de ^1H para o composto [VIIb], cujos dados estão relacionados no Quadro 17. Observou-se o sinal em $\delta = 6,74$, um duplete com $J = 11,4\text{ Hz}$, correspondente ao H6, e outro em $\delta = 5,47$ (dd), com $J = 9,3\text{ Hz}$ e $11,4\text{ Hz}$, atribuído ao H5, além de dois simpletos, um atribuído aos hidrogênios da metoxila do éster em $\delta = 3,62$ e outro à metoxila ligada ao anel aromático com $\delta = 3,80$. Estes sinais estão bem definidos, não apresentando superposição (Figura 27), indicando que nestas reações de Wittig formaram-se apenas os isômeros Z (MARYANOFF et al., 1985). As observações em CCD, que revelaram uma única mancha sob UV, reforçam essa hipótese.

A confirmação da formação de apenas um isômero nestas reações de Wittig é dada pela RMN de ^{13}C . O espectro apresentou um sinal em $\delta = 136,00$, atribuído ao carbono C6, valor característico de carbono sp^2 em conjugação com aromáticos. O carbono C5 apresentou sinal em $\delta = 125,71$ (Figura 28). Os demais sinais estão listados no Quadro 18.

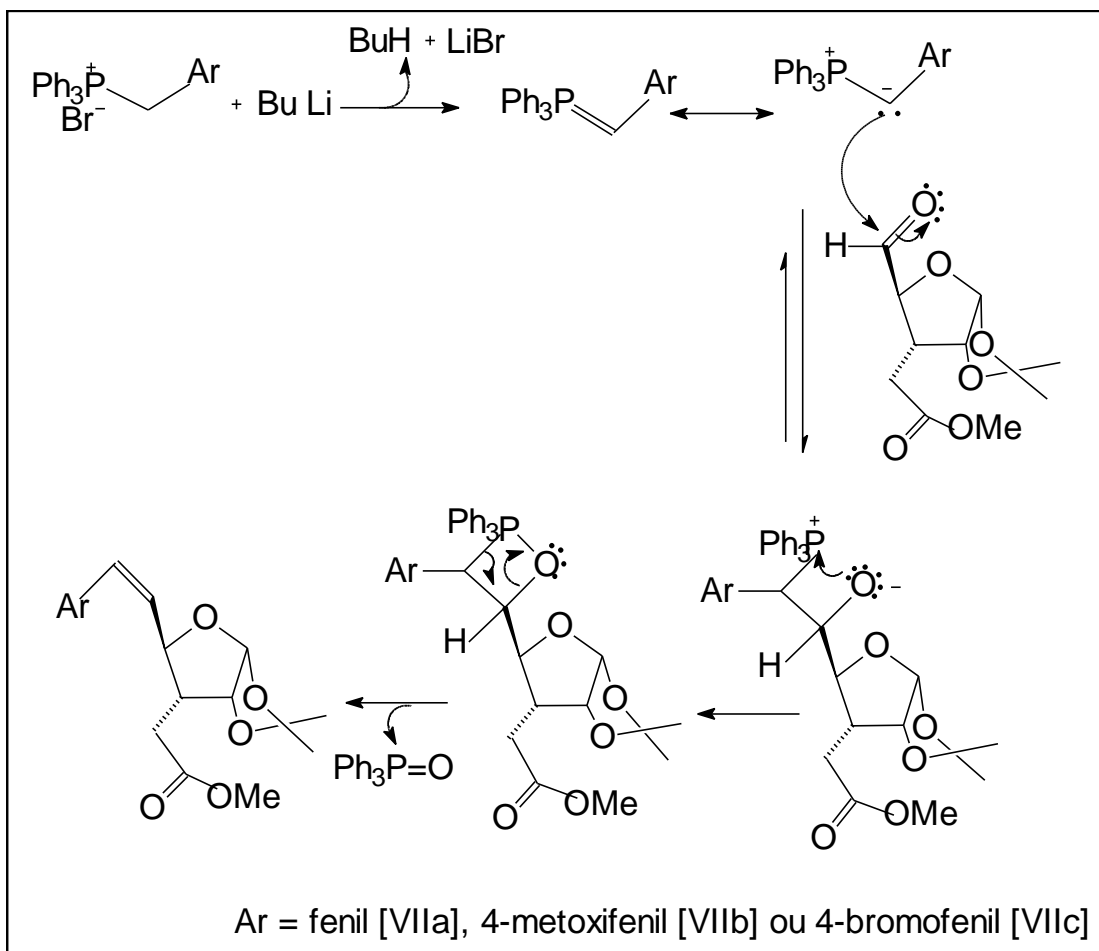


Figura 25 - Mecanismo das reações de Wittig.

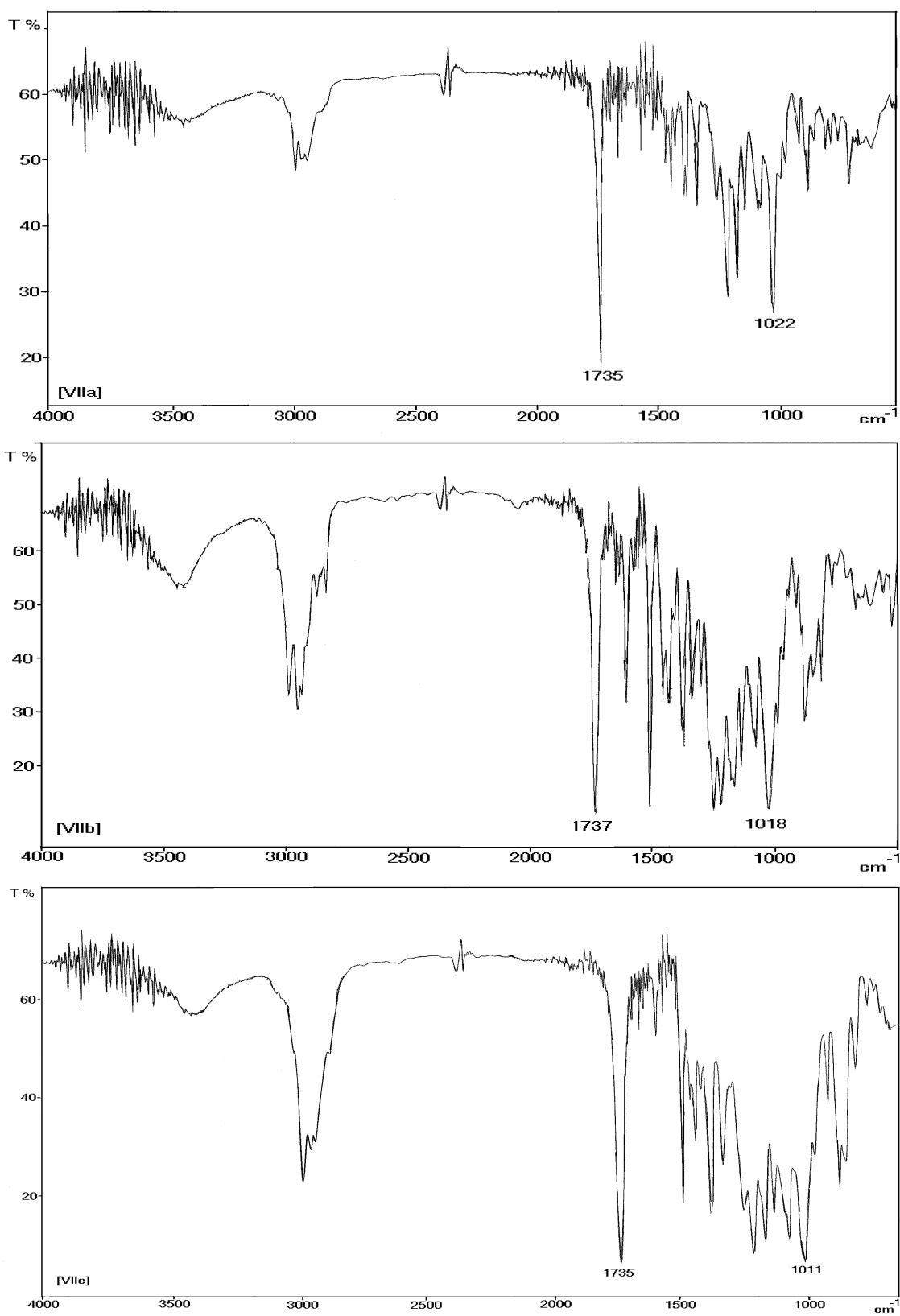


Figura 26 - Espectros no infravermelho (NaCl) dos compostos [VIIa], [VIIb] e [VIIc].

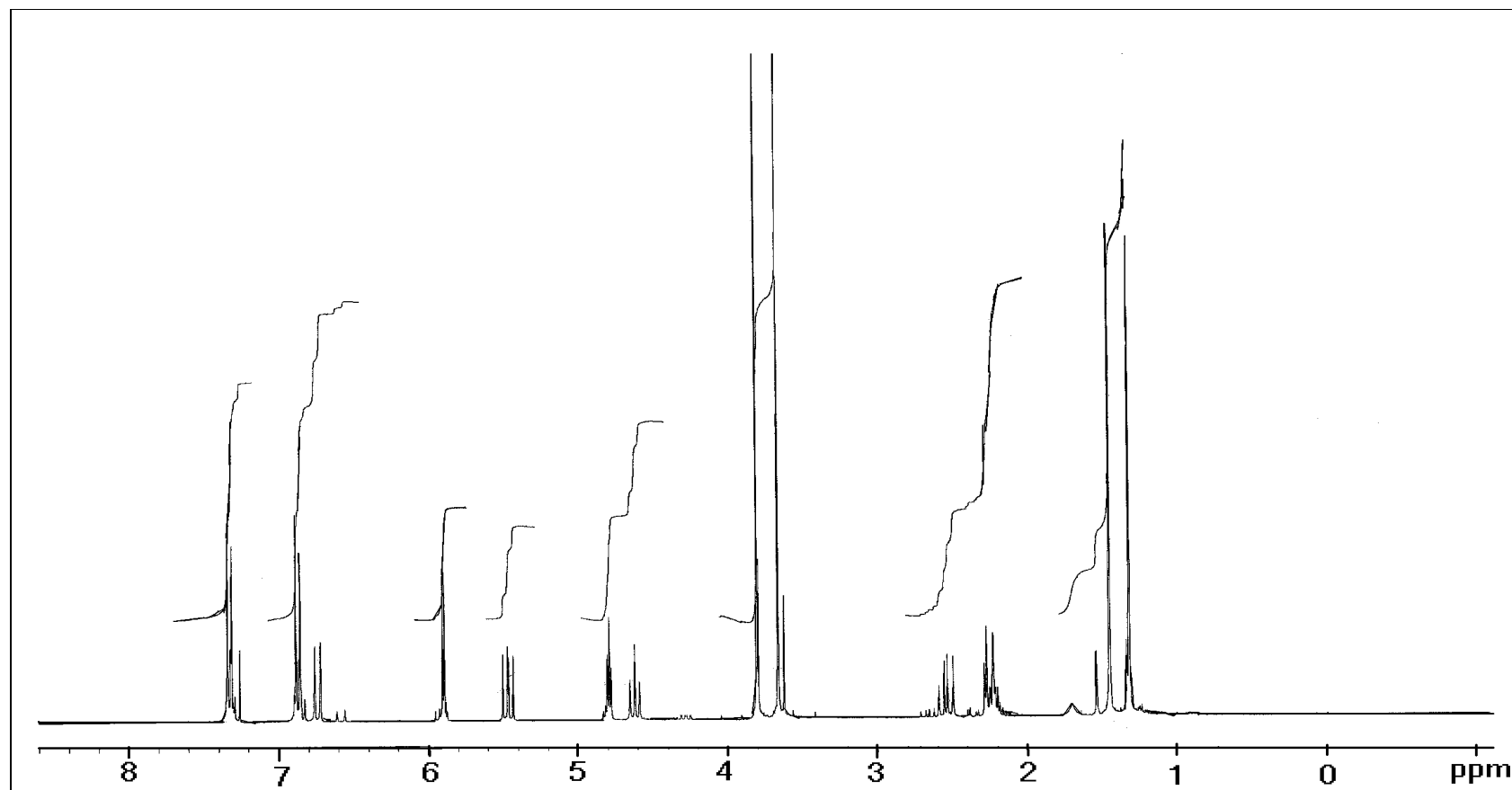


Figura 27 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz) do composto [VIIb].

Quadro 17 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz) obtidos para o composto [VIIb]

δ ^1H	Multiplicidade	Integração	J/ Hz	Atribuição
1,26	s	3H	–	Me
1,43	s	3H	–	Me
2,20-2,29	m	2H	–	H3 e H7a
2,54	dd	1H	11,0 e 17,6	H7b
3,62	s	3H	–	OMe
3,80	s	3H	–	PhOMe
4,62	t	1H	9,6	H4
4,79	t	1H	3,8	H2
5,47	dd	1H	9,3 e 11,4	H5
5,90	d	1H	3,9	H1
6,74	d	1H	11,4	H6
6,87	dt	2H	2,0 e 8,7	H3' e 5'
7,33	dt	2H	2,0 e 8,4	H2' e 6'

Quadro 18 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para o composto [VIIb]

δ ^{13}C	DEPT	Atribuição	δ ^{13}C	DEPT	Atribuição
26,45	+	Me	104,87	+	C1
26,56	+	Me	111,57		<u>C</u> Me ₂
29,07	-	C7	113,84	+	C3' e 5'
46,54	+	C3	125,71	+	C6
51,68	+	OMe	128,48	+	C5
55,21	+	PhOMe	130,16	+	C2' e 5'
75,97	+	C4	159,14		C4'
80,73	+	C2	172,48		C=O

Obs.: CMe₂ carbono quaternário do grupo isopropilideno; DEPT: sinais marcados (+) foram observados na fase positiva do espectro (CH_3 e CH) e sinais marcados (-), na fase negativa (CH_2). Os demais sinais não são observados.

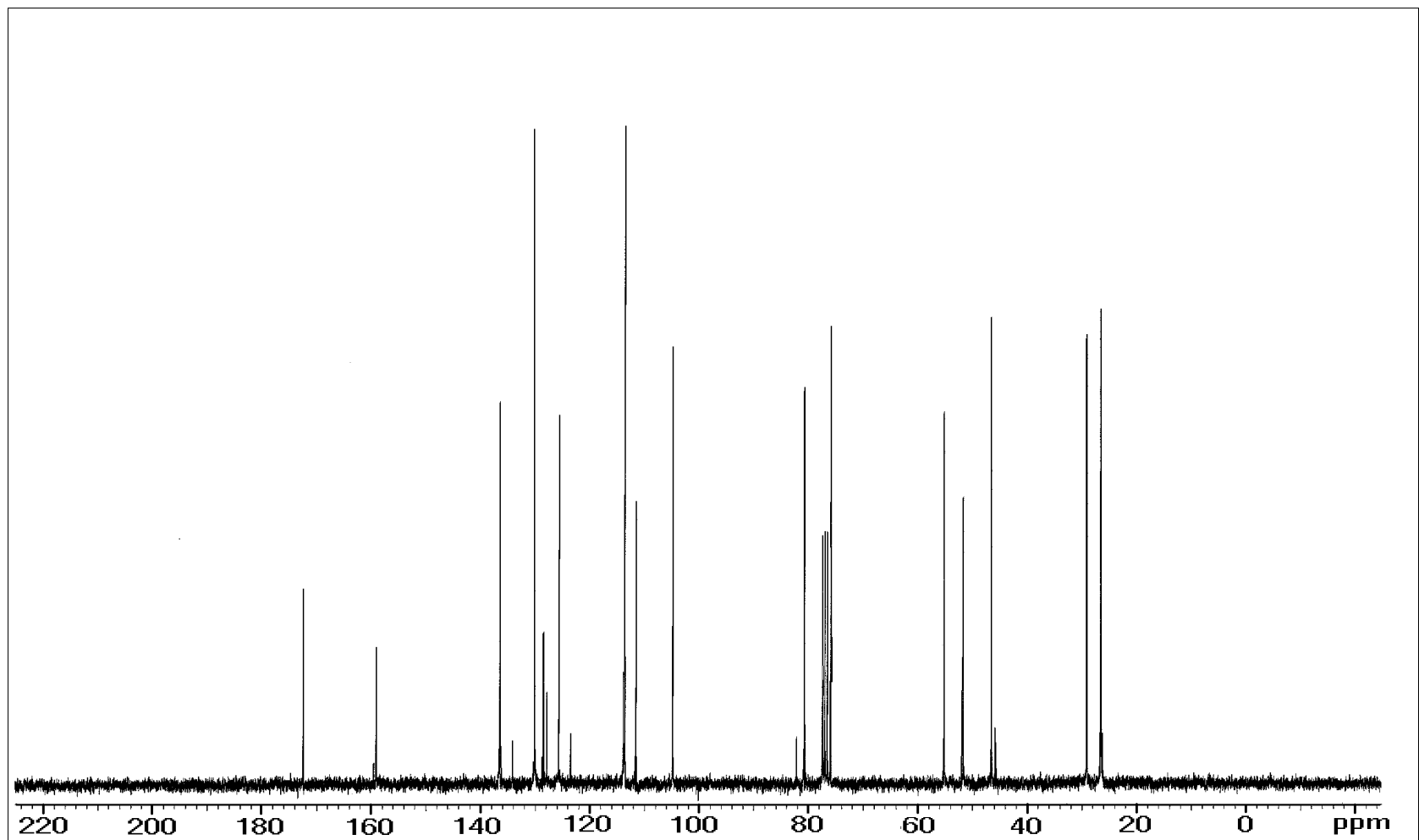


Figura 28 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto [VIIb].

3.7. Hidrogenação catalítica das 6-C-aryl-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno-3,5,6-trideoxi- α -D-ribo-hex-5(Z)-enofuranoses [VII]

A hidrogenação dos alquenos [VII] foi feita de maneira semelhante à descrita no item 3.3. Todavia, a análise por CCD foi dificultada, já que tanto os isômeros Z como os produtos hidrogenado revelam-se sob luz UV e seus R_f s são muito próximos. Os produtos hidrogenados [VIII(a e b)] são sólidos, sendo [VIIIc] oleoso. Os rendimentos da hidrogenação variaram entre 73 e 95%.

Os espectros no infravermelho, tanto dos produtos hidrogenados [VIIIa], [VIIIb] e [VIIIc] como os dos seus precursores [(VIIa, VIIb e VIIc)], são semelhantes. A presença da dupla ligação entre C5 e C6, que os diferencia, não pode ser observada no infravermelho, estando mascarada pelas demais duplas ligações dos anéis aromáticos. A Figura 29 mostra o espectro para o produto hidrogenado [VIIIa].

Os dados de RMN de ^1H obtidos para os compostos hidrogenados [VIII(a, b, c)] estão listados no Quadro 19 e mostram sinais que os caracterizam, como aqueles em $\delta = 5,78, 5,84$ e $5,85$, atribuídos aos hidrogênios H1 dos compostos [VIIIa], [VIIIb] e [VIIIc], respectivamente. Os sinais dos hidrogênios aromáticos dos anéis dissubstituídos apresentaram-se como dupletos. O espectro do composto [VIIIb] apresentou o sinal em $\delta = 6,81$ para os H3' e 5' e em $\delta = 7,11$ para os H2' e 6'. Já o composto [VIIIc] apresentou estas ressonâncias em $\delta = 7,05$ (H3' e 5') e $\delta = 7,40$ (H2' e 6'). No espectro do composto [VIIIa], que é monossubstituído, observou-se um multiplete entre $\delta = 7,12$ e $7,22$ (5H) para os hidrogênios aromáticos (Figura 30). No caso do composto [VIIIb] observou-se um simpleto em $\delta = 3,82$, atribuído aos hidrogênios da metoxila ligada ao anel aromático (Figura 31).

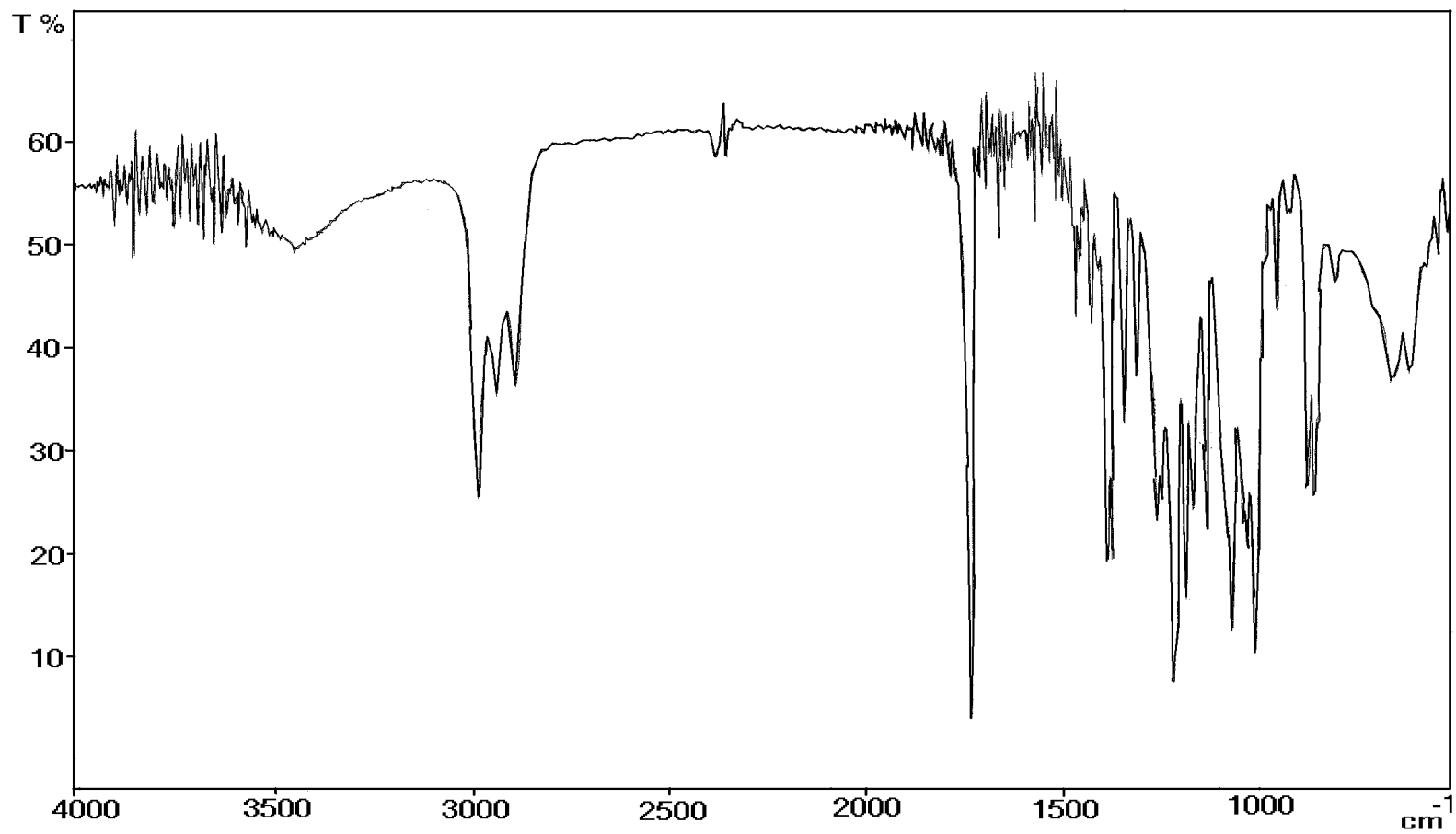


Figura 29 - Espectro no infravermelho do composto [VIIIa].

Quadro 19 - Comparação entre os dados de espectrometria de RMN de ^1H obtidos para os compostos [VIII(a,b,c)]

Atribuição	[VIIIa]	[VIIIb]	[VIIIc]
H1	5,78 (d, J = 3,6 Hz)	5,84 (d, J = 3,9 Hz)	5,83 (d, J = 3,9 Hz)
H2	4,70 (dd*, J = 4,0 e 4,4 Hz)	4,76 (dd*, J = 3,9 e 4,5 Hz)	4,75 (dd*, J = 4,5 e 1,8 Hz)
H3	2,02 (tt, J = 4,0 e 10,0 Hz)	2,03-2,13 (m**)	2,00-2,15 (m)
H4	3,72 (ddd, J = 2,8, 9,0 e 10,2 Hz)	3,70-3,80 (#)	3,60-3,80 (#)
H5	1,63-1,70 (m) e 1,75-1,80 (m)	1,61-1,75 (m) e 1,76-1,90 (m)	1,30-1,90 (m)
H6	2,58-2,62 (m) e 2,77-2,84 (m)	2,57-2,67 (m) e 2,76-2,86 (m)	2,55-2,70 (m) e 2,80-2,90 (m)
H7	2,21 (dd, J = 4,0 e 16,8 Hz) e 2,56 (dd, J = 10,0 e 17,0 Hz)	2,27 (dd, J = 4,1 e 17,0 Hz) e 2,62 (dd, J = 10,2 e 17,0 Hz)	2,40-2,50 (~dt) e 2,55-2,75 (m)
OMe	3,62 (s)	3,65 (s)	3,65 (s)
Me	1,24 (s)	1,32 (s)	1,35 (s)
Me	1,40 (s)	1,45 (s)	1,45 (s)
Ph	7,08-7,13 (m, H3', 4', 5') e 7,18-7,23 (m, H2' e 6')	6,81 (d, H3' e 5') e 7,11 (d, H2' e 6')	7,05 (d, H3' e 5') e 7,40 (d, H2' e 6')
PhOMe		3,78 (s,#)	

Obs.: Os sinais marcados (*) aparentam ser tripletos (J ~ 4,2). O sinal multipletto marcado (**) aparenta ser um ddd. Os sinais marcados (#) estão superpostos.

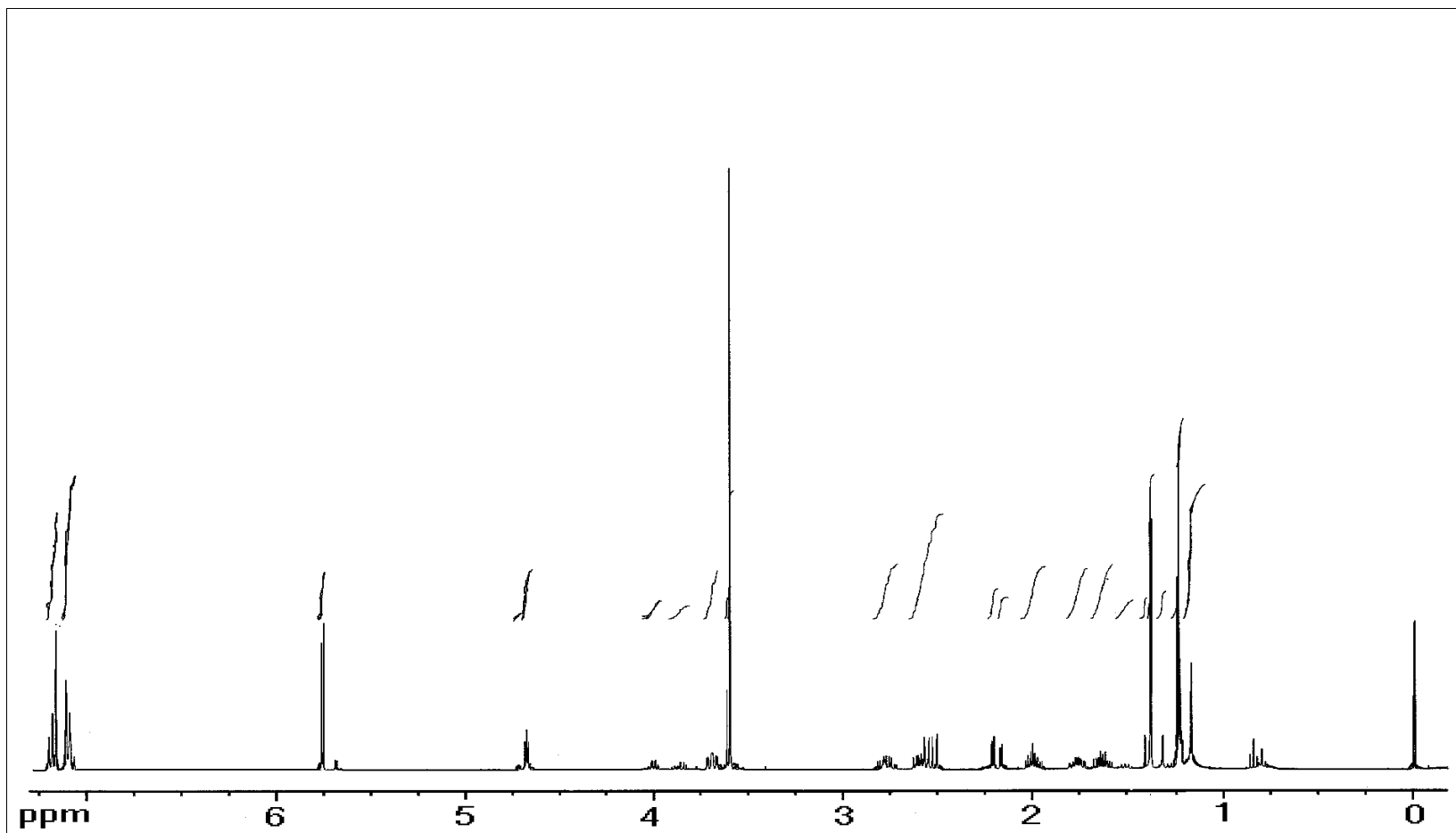


Figura 30 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto [VIIIa].

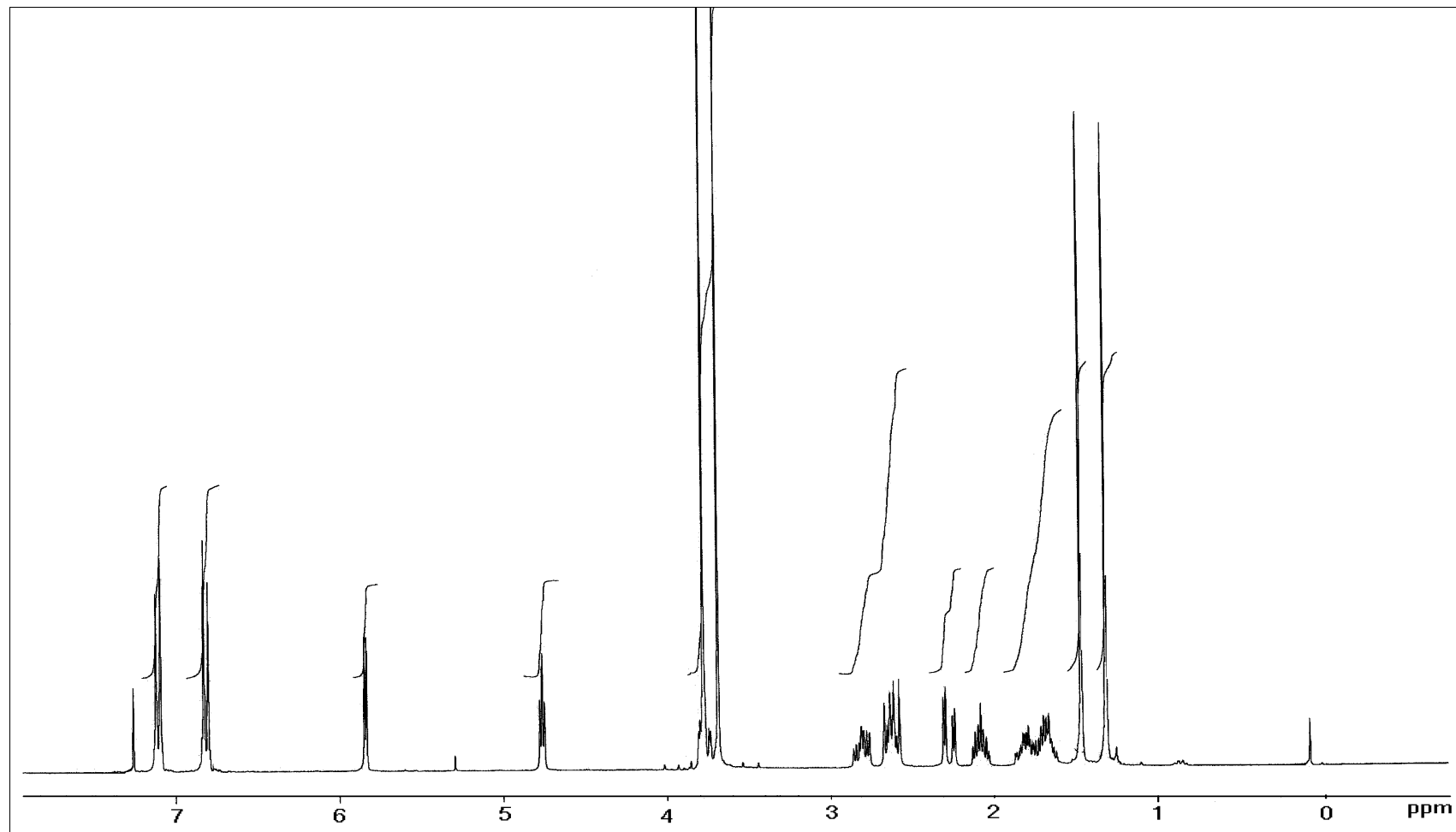


Figura 31 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto [VIIIb].

Os dados de RMN de ^{13}C obtidos para o composto [VIIIa] (Figura 32), [VIIIb] e [VIIIc] são apresentados no Quadro 21, confirmando as informações obtidas a partir dos espectros de RMN de ^1H , o que torna mais segura a caracterização destes compostos. Os valores de δ para a parte aromática dos três compostos foram calculados segundo SILVERSTEIN et al. (1991) e comparados aos valores experimentais obtidos (Quadro 20).

Quadro 20 - Valores calculados e experimentais de deslocamentos químicos de ^{13}C na RMN dos compostos [VIIIa], [VIIIb] e [VIIIc], relacionados à parte aromática das moléculas

Composto	δ - Valor calculado				δ - Valor experimental			
	C1'	C2' e 6'	C3' e 5'	C4'	C1'	C2' e 6'	C3' e 5'	C4'
[VIIIa]	144,10	128,80	128,50	125,90	140,80	127,30	127,41	124,86
[VIIIb]	136,40	125,40	111,50	157,30	134,09	129,55	114,00	158,00
[VIIIc]	141,20	130,20	131,90	120,50	140,21	131,83	130,90	119,85

Através da técnica de RMN DEPT 135, confirmou-se a presença dos grupos metileno esperados para os compostos [VIII], com valores de δ variando entre 33,44 e 34,93 (C6), 31,25 e 31,88 (C5) e 28,46 e 29,68 (C7). Os sinais da carbonila de éster foram observados entre $\delta = 171,55$ e $172,53$. Os sinais característicos do grupo isopropilideno (2 x Me e C quaternário) foram observados em todos os espectros. A metoxila de éster foi responsável pelos sinais entre $\delta = 50,76$ e $52,07$, havendo no espectro de [VIIIb] um sinal extra em $\delta = 55,48$, atribuído à metoxila ligada ao anel aromático.

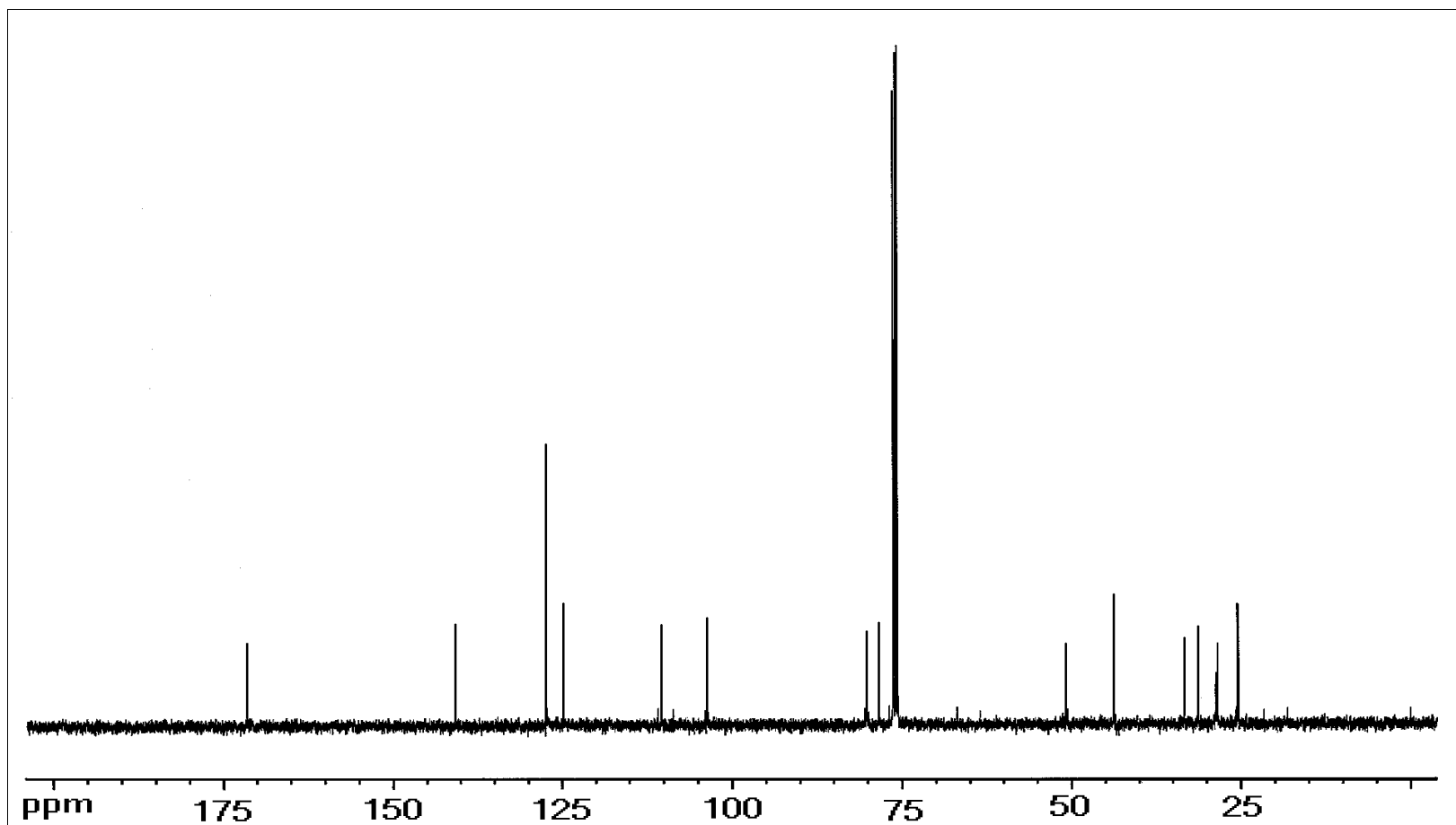


Figura 32 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto [VIIIa].

Quadro 21 - Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{13}C (100 ou 75 MHz) dos compostos [VIIIa], [VIIIb] e [VIIIc]

Atribuição	[VIIIa]	[VIIIb]	[VIIIc]
C1	103,66	104,87	104,84
C2	80,11	81,30	81,39
C3	43,77	44,99	44,96
C4	78,45	79,62	79,41
C5	31,25	31,58	31,88
C6	33,44	34,93	34,48
C7	28,46	29,68	29,67
C=O	171,55	172,53	172,31
Ome	50,76	52,04	52,07
Me	25,38	26,62	26,59
Me	25,52	26,78	26,78
CMe_2	110,37	111,60	111,66
C1'	140,81	134,09	140,97
C2' e 6'	127,36	129,55	130,45
C3' e 5'	127,41	114,00	131,63
C4'	124,86	158,01	119,85
PhOMe	-	55,48	-

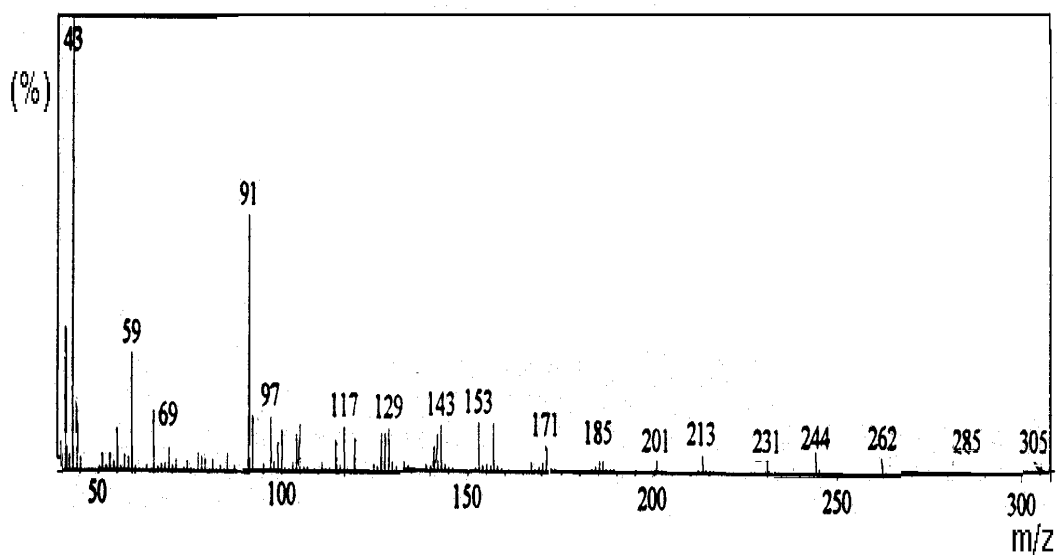


Figura 33 - Espectro de massas do composto [VIIIa].

Os compostos [VIII(a, b, c)] apresentaram o mesmo valor para o pico-base, em $m/z = 43$, e nenhum deles apresentou o sinal do íon molecular nos seus espectros de massas. No entanto, como nos casos anteriores, foi observado o pico característico da perda de um radical metila ($m/z = 305$) para o composto [VIIIa] (Figura 33). Outro pico significativo foi observado para os compostos [VIII(a, b)] em $m/z = 91$ (57 e 2,5%, respectivamente), característico de compostos contendo grupos CH_2Ph .

3.8. Hidrólise dos intermediários 5-C-aril-3-C-(carbometoximetil)-3,5-dideoxi-1,2-*O*-isopropilideno- α -D-ribofuranoses [VIII]

A hidrólise dos compostos [VIIIa], [VIIIb] e [VIIIc] foi feita segundo procedimento descrito por ANDERSON e FRASER-REID (1985). Utilizaram-se H_2SO_4 , com a concentração de 2%, e 1,4-dioxano como solvente. A mistura foi mantida sob refluxo por duas horas e meia. Após este período, foi acrescentado Et_2O e a fase orgânica foi lavada com água e solução de NaHCO_3 saturada. O Et_2O foi eliminado em evaporador à pressão reduzida e a purificação foi feita em coluna cromatográfica.

Os compostos [IXa] e [IXb] foram isolados como óleos incolores, com [IXc] apresentando-se como um sólido branco. Os rendimentos da hidrólise variaram entre 62 e 66%. O mecanismo de reação é apresentado na (Figura 34).

A epimerização no carbono 1 pode ocorrer ao longo das várias etapas do mecanismo. A protonação da hidroxila livre pode ser seguida de um ataque por moléculas de água, levando à inversão da configuração do carbono 1. Como foi verificado por RMN, o produto principal corresponde ao isômero mais estável, com a hidroxila na posição equatorial.

O espectro no infravermelho para o composto [IXa] apresentou uma banda larga centrada em 3.422 cm^{-1} , atribuída à deformação axial de O-H em ligação hidrogênio intermolecular, e a absorção a 1.781 cm^{-1} , característica de C=O de γ -lactonas (Figura 35). Valores muito próximos foram observados para os compostos [VIIIb] e [VIIIc].

Como exemplo, os dados do espectro de RMN de ^1H para o composto [IXa] estão relacionados no Quadro 22. Tanto para o composto [IXa] como para os compostos [IXb] e [IXc], os sinais mais característicos foram aqueles referentes aos hidrogênios das hidroxilas, observados como simpletos largos com valores de δ entre 3,4 e 3,8 (Figura 36). Estes sinais aparecem duplicados em todos os espectros obtidos para os compostos [IX]. A formação de isômeros também é evidenciada por outros sinais “duplicados,” com curvas de integração coerentes para as proporções obtidas de cada isômero ao longo dos espectros. Exemplificando, fica evidente a proporção de 2:1 dos isômeros [IXa β]:[IXa α], se observados os sinais das hidroxilas [$\delta = 3,4$ (1H) e $\delta = 3,7$ (0,5H)] ou os sinais de H1 { $\delta = 5,56$ (s, 1H) e $\delta = 5,53$ (d,0,5H)}.

Os sinais relativos a H1 foram particularmente importantes para determinação da configuração relativa de C1 nos isômeros obtidos. Tomando como exemplo o espectro de [IXa], observaram-se um simpleto (1H) e um duplete (0,5H, $J_{1,2} = 3,2\text{ Hz}$), referentes a H1 (Quadro 22). Considerando que no espectro do isômero majoritário não se observa um acoplamento entre H1 e H2, supõe-se que haja um ângulo próximo a 90° entre eles, o que sugere a configuração com a hidroxila em β para este composto.

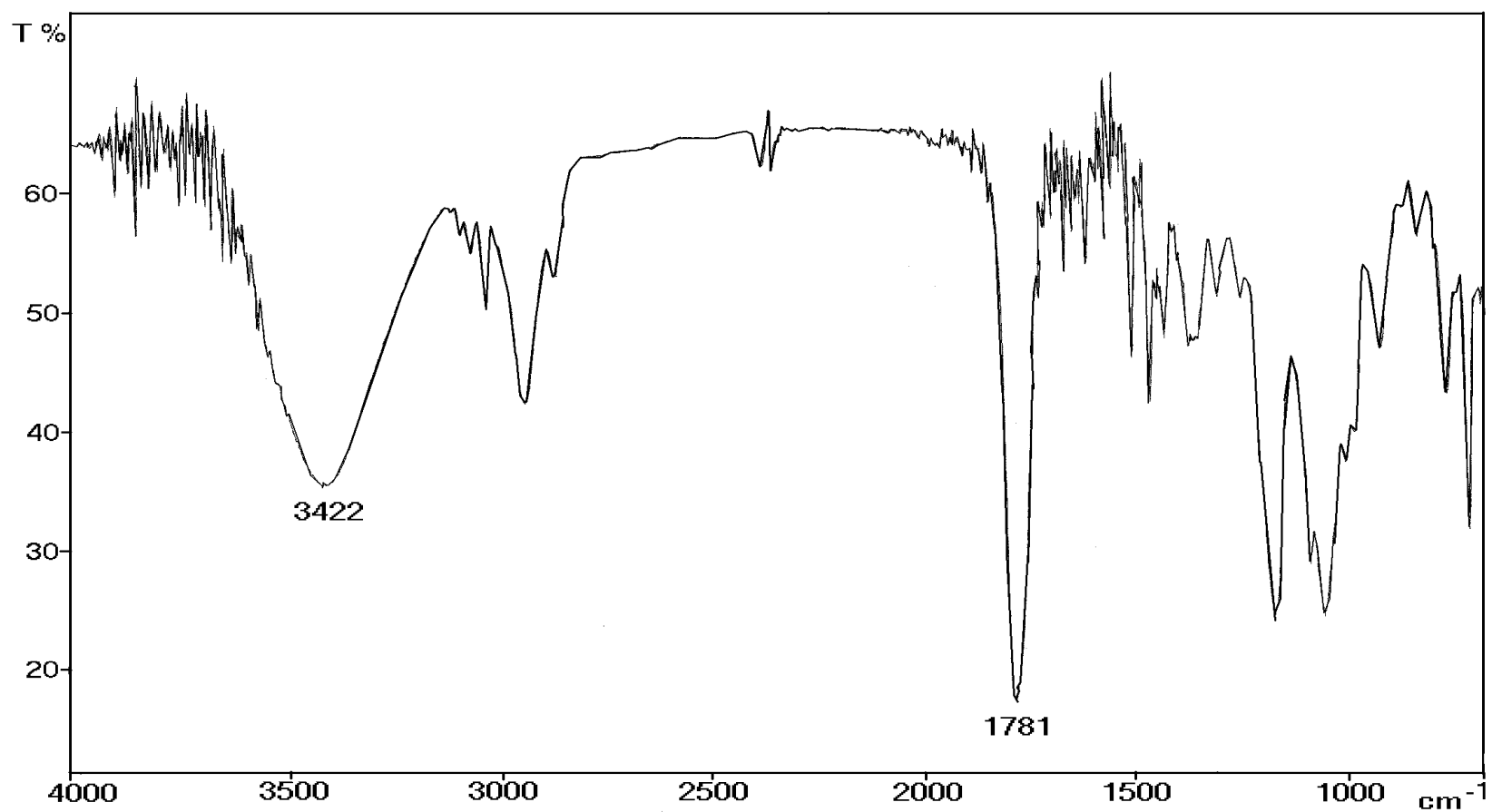


Figura 35 - Espectro no infravermelho da mistura de compostos [IXa α] e [IXa β].

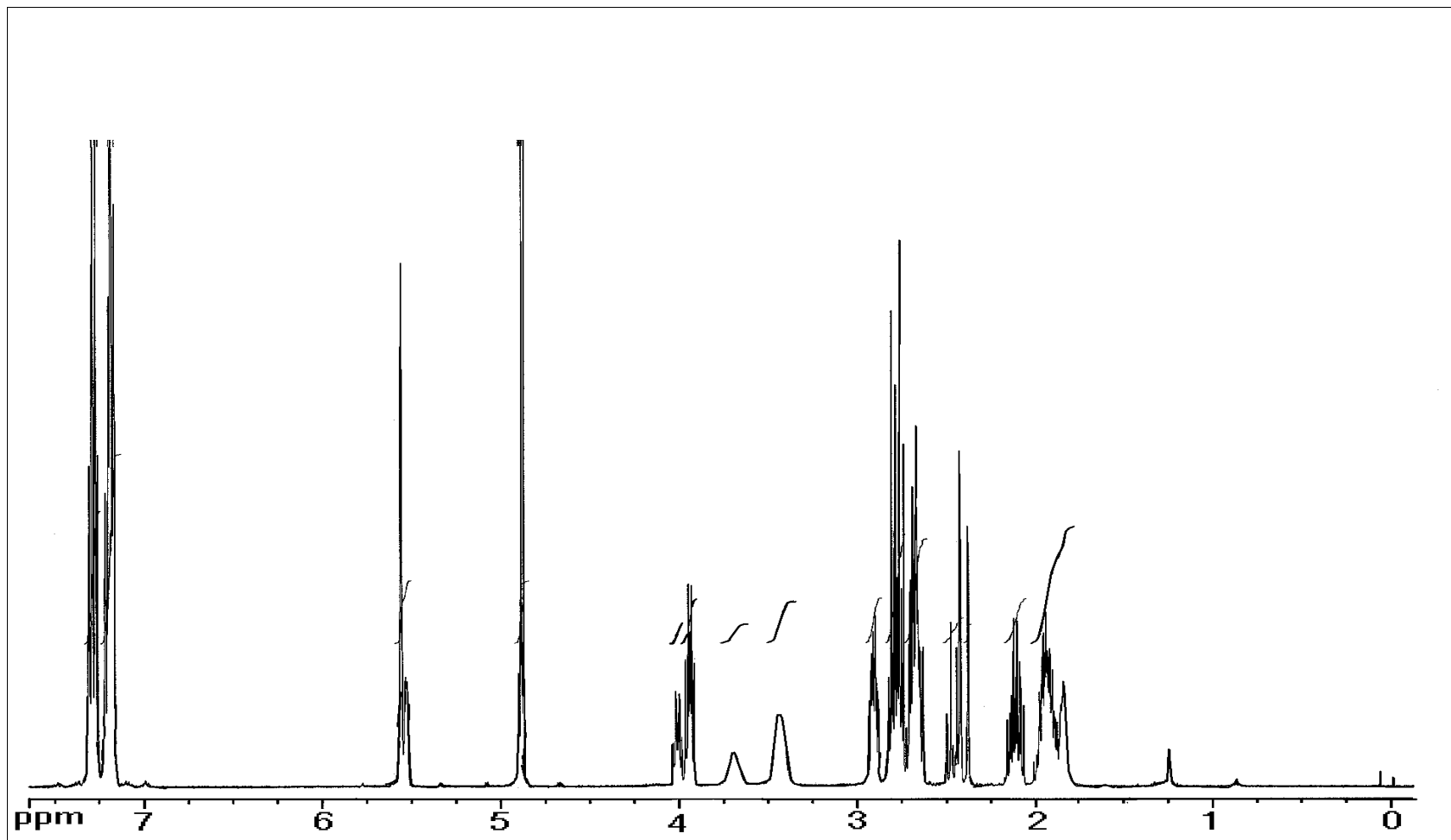


Figura 36 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura de isômeros [IXa].

Quadro 22 - RMN de ^1H (400 MHz) para os isômeros [IXa]

Atribuição	[IXa α]	[IXa β]
H1	5,53 (dL, J=3,2 Hz)	5,56 (s)
H2	4,88 (dd#)	4,88 (d#, J=6,4 Hz)
H3	2,63-2,72 (m#)	2,88-2,94 (m)
H4	4,01 (dtL, J~7,2, 5,6 e 5,5)	3,94 (dt, J=8,3, 5,2 e 5,2)
H5	1,85-2,00 (m #)	1,85-2,00 (m#) e 2,07-2,15 (m)
H6	2,63-2,72 (m#) e 2,74-2,82 (m#)	2,63-2,72 (m#) e 2,74-2,82 (m#)
H7	2,38-2,42 (m#) e 2,63-2,72 (m#)	2,40 (dd#, J=2 e 18) e 2,77 (dd#, J= 9 e 18)
OH	3,7 (sL)	3,4 (sL)
Ph (H3', 5' e 4')	7,16-7,22 (m#)	7,16-7,22 (m#)
Ph (H2', 6')	7,25-7,31 (m#)	7,25-7,31 (m#)

Obs.: Sinais marcados (#) estão superpostos.

Assim como nos espectros de RMN de ^1H , todos os sinais dos espectros de RMN de ^{13}C aparecem duplicados, confirmando, assim, a presença dos álcoois isoméricos. Os dados de RMN de ^{13}C para os lactóis [IX(a, b, c)] são apresentados no Quadro 23. Os sinais mais característicos são os dos carbonos 1, com valores entre $\delta = 95,60$ e $101,3$, bem como os picos em torno de $\delta = 176$, atribuídos às carbonilas das γ -lactonas formadas.

Não há diferença de deslocamento químico pronunciada entre os sinais atribuídos aos isômeros [IXa] (Figura 37), quando comparados a [IXb] e [IXc]. As peculiaridades ficam por conta da presença do sinal em $\delta = 55,51$ no espectro de [IXb], atribuído à metoxila ligada ao anel aromático e às diferenças nos deslocamentos químicos dos próprios sinais dos carbonos aromáticos sob a influência dos substituintes $-\text{OMe}$ ou $-\text{Br}$.

Quadro 23 - Dados de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para os isômeros [IX]

Atribuição	[IXa α]	[IXb α]	[IXc α]	[IXa β]	[IXb β]	[IXc β]
C1	95,56	95,81	95,86	100,98	101,22	101,26
C2	82,62	82,82	82,57	88,31	88,55	88,50
C3	41,98	42,26	42,27	42,56	42,82	42,85
C4	82,17	82,41	82,39	87,24	87,47	87,29
C5	36,38	36,89	36,52	39,14	39,67	39,31
C6	33,28*	33,56	33,51	33,89	34,19	34,18
C7	31,98*	31,27	31,64	32,23	31,58	31,96
C=O	176,00	176,00	176,00	175,72	175,96	175,
C1'	140,87	133,18	140,20	140,96	133,18	140,21
C2' e 6'	128,29	128,13	131,83	128,34	129,51	130,39
C3' e 5'	128,50	114,32	130,34	128,52	114,16	131,81
C4'	126,10	158,15	128,61	126,16	158,15	128,78
PhOMe		55,51			55,51	

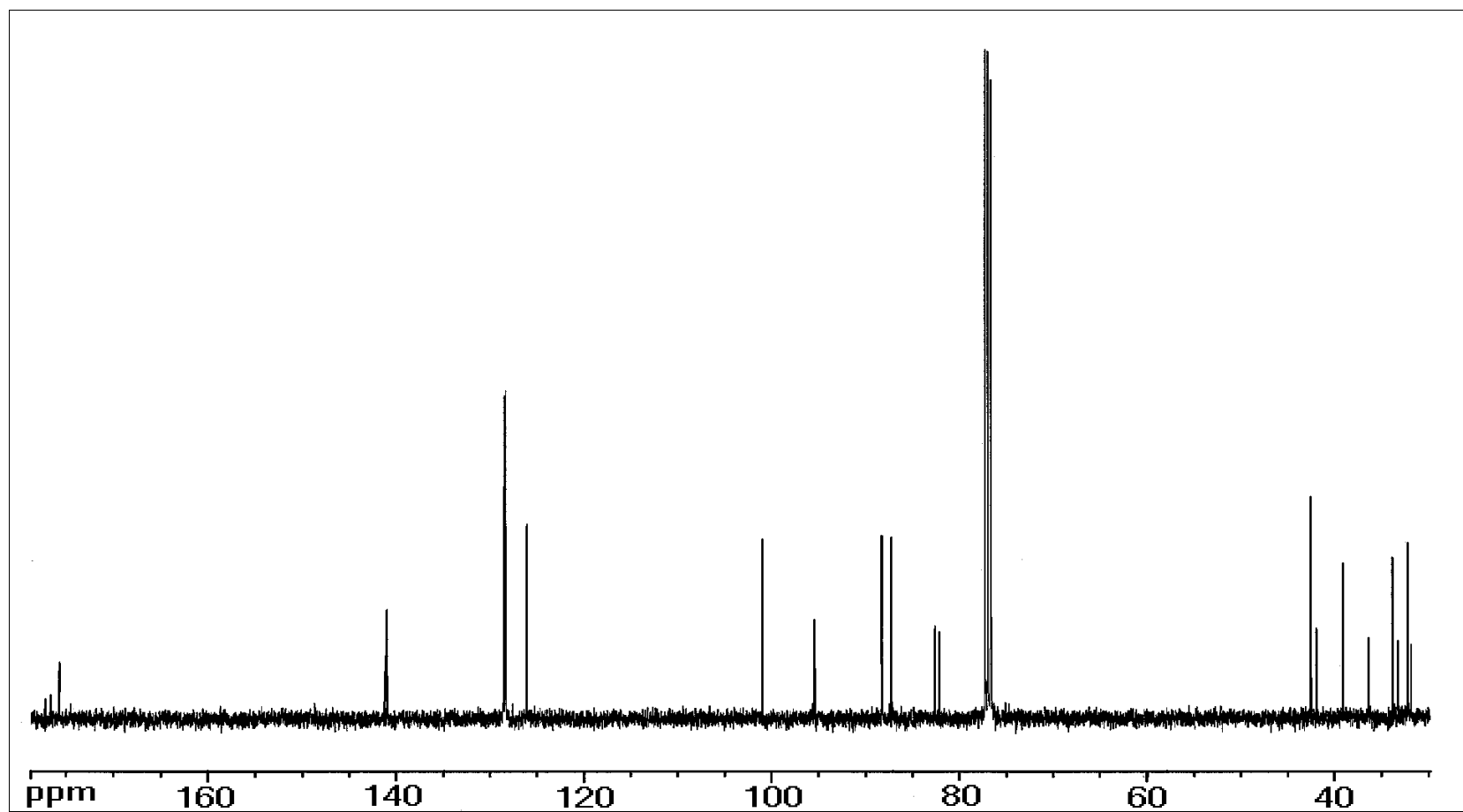


Figura 37 - Espectros de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da mistura de isômeros [IXa].

3.9. Oxidação dos álcoois lactônicos [IX]

Dois métodos de oxidação foram testados para obtenção da bis-lactona [Xa]. Utilizou-se primeiramente o método de Swern (OMURA e SWERN, 1978), segundo procedimento descrito por SUZUKI et al. (1988). A oxidação de Swern é a mais popular das variações de oxidação em que o DMSO é empregado. Neste caso, o cloreto de oxalila é usado para ativar o DMSO.

Este método serve para oxidar álcoois primários, secundários, alílicos e benzílicos. O $(\text{COCl})_2$ reage violenta e exotermicamente com o DMSO à temperatura ambiente. A ativação do DMSO pelo $(\text{COCl})_2$ requer, portanto, o uso de baixas temperaturas (-60°C) para formar o intermediário, mostrado na Figura 38.

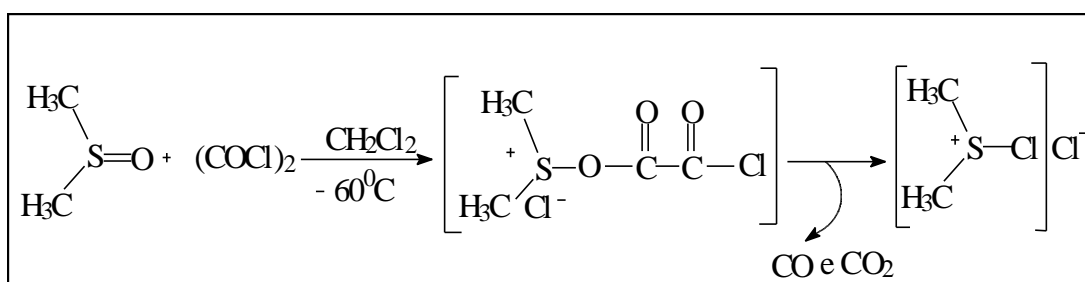


Figura 38 - Ativação do DMSO pelo $(\text{COCl})_2$.

O complexo formado reage com o álcool, gerando o sal de alcoxissulfônio correspondente, que se decompõe em presença da base (Et_3N) , para formar o composto carbonílico (Figura 39).

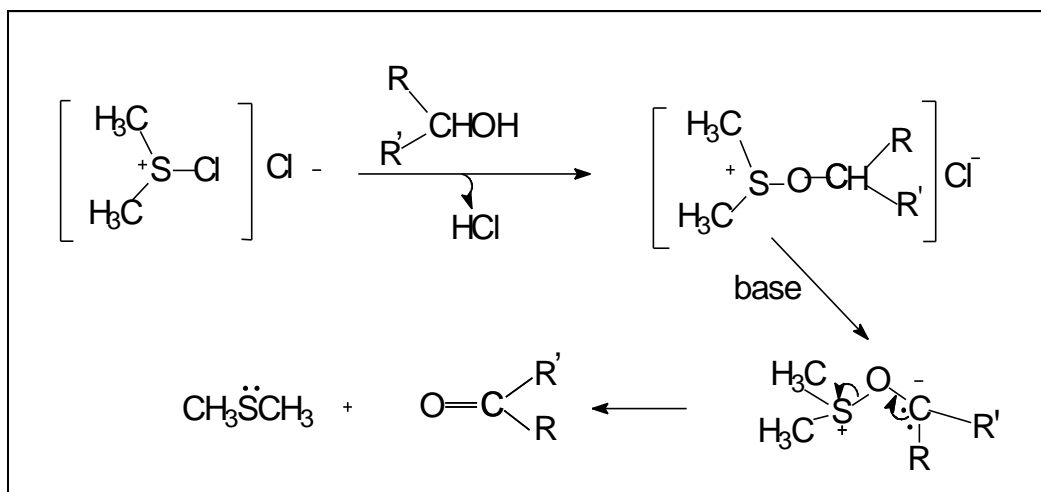


Figura 39 - Mecanismo de formação do composto carbonílico.

O excesso de base (Et₃NH) é eliminado por extração com solução diluída de HCl (OMURA e SWERN, 1978).

O composto [IXa] foi oxidado por este método, fornecendo a bis-lactona [Xa] em 69% de rendimento.

Alternativamente, os compostos [IXa], [IXb] e [IXc] foram oxidados segundo a metodologia de Jones (ANDERSON e FRASER-REID, 1975), cujo mecanismo está mostrado na Figura 40.

Ao composto [IXa] foi adicionado, gota a gota, o reagente de Jones (formado pela mistura de anidrido crômico-CrO₃, ácido sulfúrico e água), até que a mistura adquirisse uma cor marrom-alaranjada permanente, indicando o total consumo do material de partida. A elaboração da reação foi feita por extração com CH₂Cl₂, lavando-se a fase orgânica com solução saturada de NaHCO₃.

O produto [Xa] foi obtido por evaporação do solvente e cristalizado em éter dietílico, fornecendo cristais incolores com cerca de 74% de rendimento.

A simplicidade metodológica da oxidação de Jones e o melhor rendimento alcançado na obtenção de [Xa] levaram à escolha deste método para oxidação dos álcoois [IXb] e [IXc].

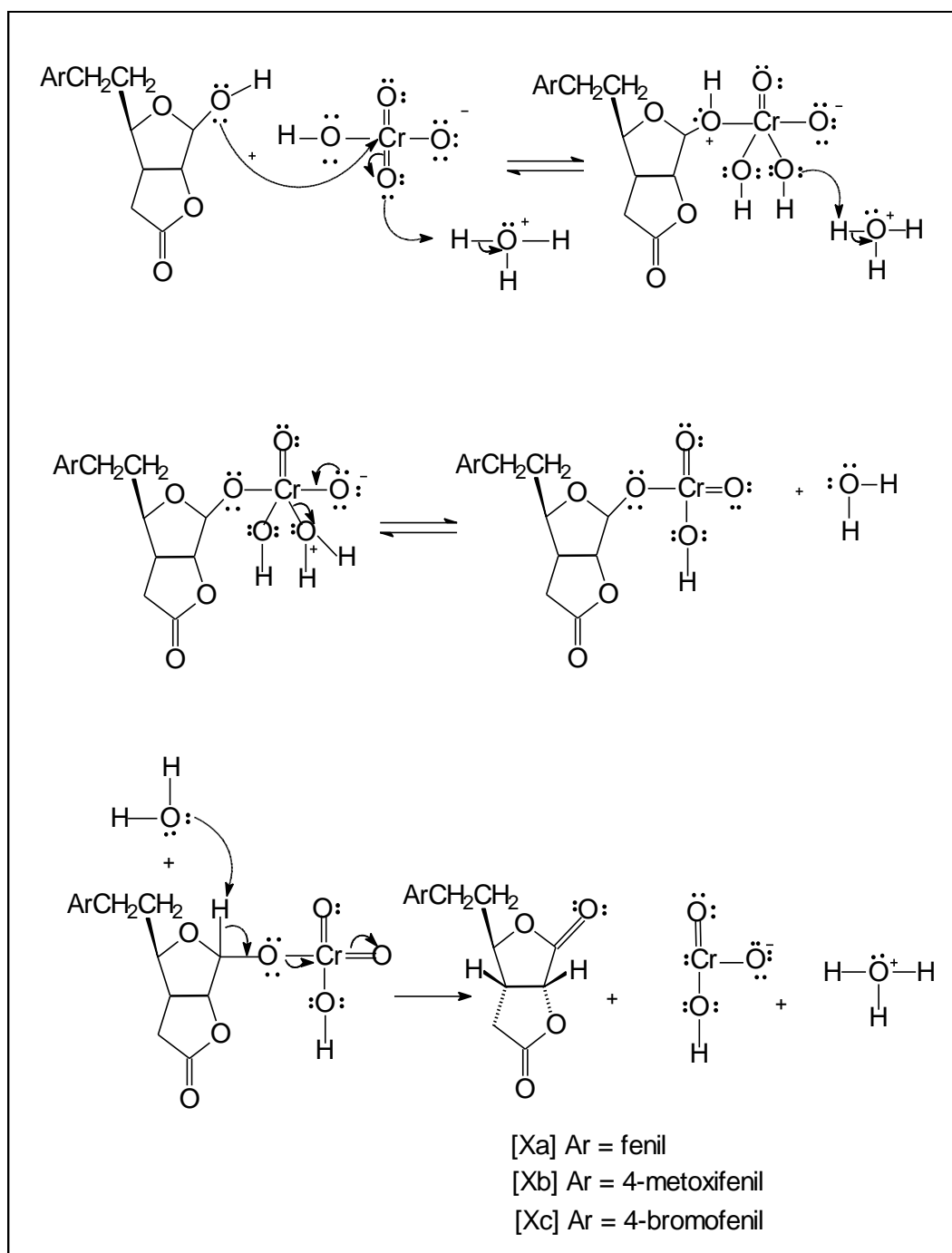


Figura 40 - Mecanismo de oxidação de Jones dos compostos [IX].

As bis-lactonas [Xb] e [Xc] foram obtidas como sólidos brancos, com rendimentos de 63 e 78%, respectivamente.

A análise dos espectros dos compostos [X] no infravermelho mostra a ausência de bandas características da presença da hidroxila (valor próximo a 3.500 cm^{-1}) e a presença de duas absorções para carbonilas de γ -lactona (entre 1.769 e 1.794 cm^{-1}), consistindo em evidências da formação das bis-lactonas. Como exemplo, tem-se, na Figura 41, o espectro de [Xa].

Os sinais do espectro de RMN de ^1H do composto [Xa] estão relacionados no Quadro 24. As atribuições foram confirmadas pela técnica COSY, em que os sinais acoplados entre si são relacionados. Percebe-se, no espectro de [Xa], a ausência do duplete atribuído ao H1 do isômero principal [IXa β] em $\delta = 5,60$ e dos sinais de hidroxila em $\delta = 3,40$ e $3,70$.

O sinal do hidrogênio 2 apresentou-se como um duplete acoplando-se com o H3, com uma constante escalar $J = 7,8\text{ Hz}$. O hidrogênio 3 acopla-se, ainda, com H7 β ($J = 4,0\text{ Hz}$) e com H4 ($J = 5,0\text{ Hz}$), havendo um acoplamento de menor valor com H7 α , pois é verificado apenas no espectro de COSY (Figura 44). H7 α e H7 β apresentam uma constante escalar $J = 18,0\text{ Hz}$, característica de acoplamento geminal. Os demais sinais observados estão em pleno acordo com a estrutura da bis-lactona [Xa] (Quadro 25).

Quadro 24 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) e COSY do composto [Xa]

Sinal	$\delta\ ^1\text{H}$	Multi- plicidade	Integração	J/Hz	COSY	Atribuição
a	1,98-2,09	m	2		c, e	H5a e5b
b	2,47	dd	1	4,00 e 18,0	a, d	H7 β
c	2,66-2,96	d/m	3	18,0	b, c, e, f	H7 α , H6a e H6b
d	2,98-3,11	m	1		a, d	H3
e	4,31	~ddd	1	5,0, 5,2 e 7,6	d	H4
F	5,02	d	1	7,8	(g)	H2
G	7,11-7,36	m	5			Ph

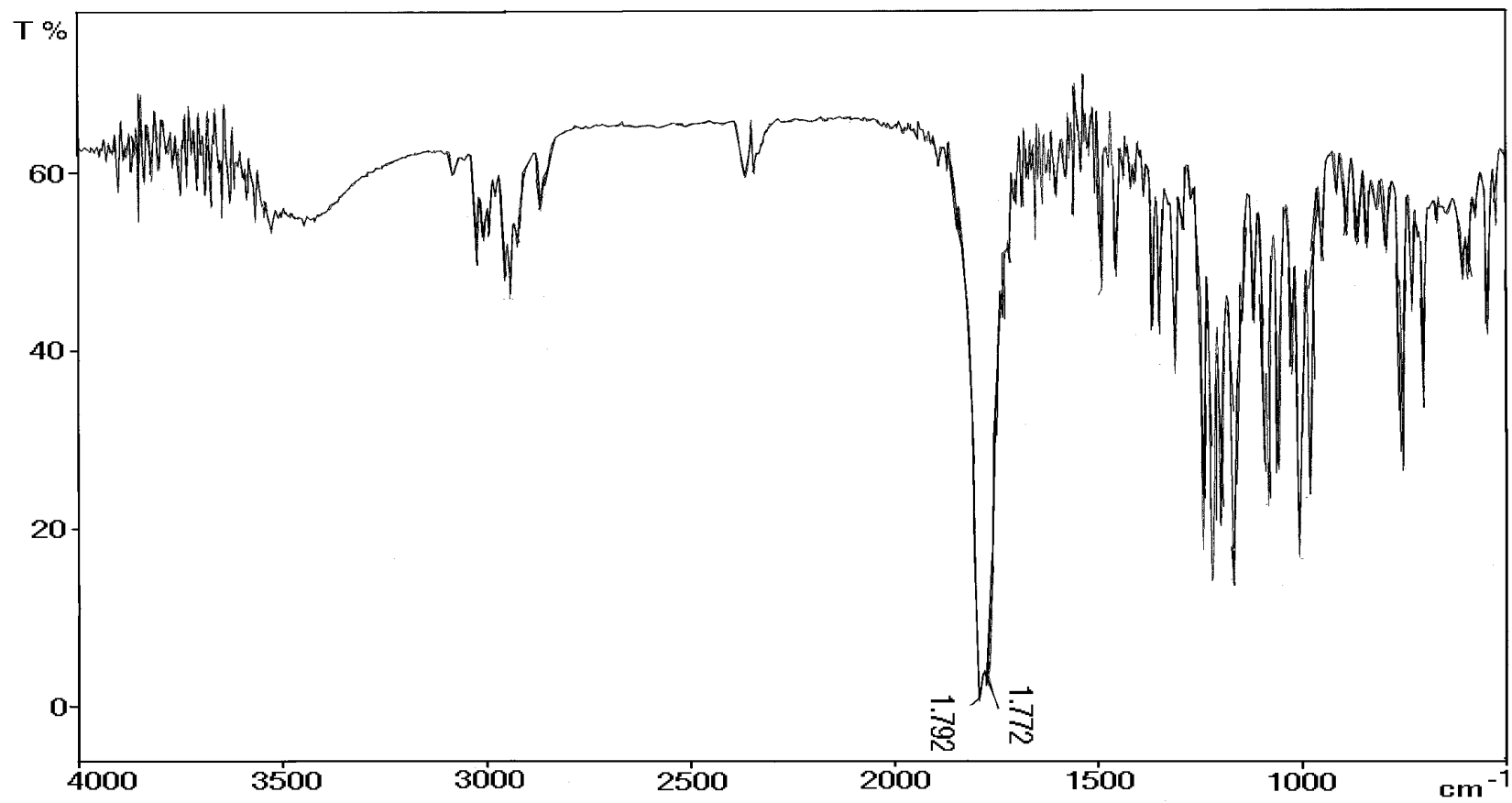


Figura 41 - Espectro do composto [Xa] no infravermelho.

Quadro 25 - Dados de RMN de ^1H (400 e 300 MHz, CDCl_3) obtidos para os compostos [Xa], [Xb] e [Xc]

Atribuição	[Xa]	[Xb]	[Xc]
H2	5,02 (d, J = 7,8 Hz)	5,02 (d, J = 7,0 Hz)	5,02 (d, J = 7,8 Hz)
H3	2,98-3,11 (m)	2,99-3,11 (m)	3,03-3,09 (m)
H4	4,31 (ddd, J = 5,0, 5,2 e 7,6 Hz)	4,31 (ddd, J = 5,4, 2,7, 4,8 Hz)	4,29 (ddd, J = 5,4, 5,1 e 7,8 Hz)
H5	1,98-2,09 (m)	1,91-2,09 (m)	1,96-2,05 (m)
H6	2,66-2,96 (m, H6a, b)	2,61-2,94 (m)	2,65-2,92 (m, H6a, b)
H7	2,42 (d, J = 4,0 Hz, H7b) 2,47 (d, 1H, J = 4,0 Hz, H7b) 2,51 (d, J = 18,0 Hz, H7a)	2,47 (dd, J = 4,6 e 18,0 Hz, H7b*)	2,50 (dd, 1H, J = 4,1 e 18,2 Hz, H7 β) 2,92 (d, 1H, J = 18,0 Hz, H7 α)
Ph	7,16-7,36 (m, 5H)	7,19 (d, J = 6,9 Hz, H2' e 6') 6,86 (d, J = 6,6 Hz, H3' e 5')	7,07 (d, 2H, J = 8,1 Hz, H2' e 6') 7,43 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H3' e 5')

Os espectros de RMN de ^1H das bis-lactonas [Xb] (Figura 42) e [Xc] (Figura 43) são bastante semelhantes ao de [Xa]. As principais diferenças são a presença do simpleto em $\delta = 3,8$ no espectro de [Xb], atribuído ao grupo metoxila, e a simplificação dos sinais aromáticos, divididos em dois dupletos, devido à presença dos substituintes (OMe ou Br) nos anéis de [Xb] e [Xc]. Os sinais dos hidrogênios H2' e 6' são observados em torno de $\delta = 7,1$ nos espectros de [Xb] e [Xc], e os dos hidrogênios H3' e 5', em $\delta = 6,9$ [Xb] ou $\delta = 7,4$ [Xc].

Os sinais de RMN de ^{13}C relacionados no Quadro 26 confirmam a obtenção dos compostos [Xa], [Xb] (Figura 45) e [Xc] (Figura 46). A análise destes espectros foi auxiliada por experimentos de DEPT para os três compostos e pela obtenção do espectro em 2D-HMQC (Figura 47, Quadro 27) para a bis-lactona [Xa].

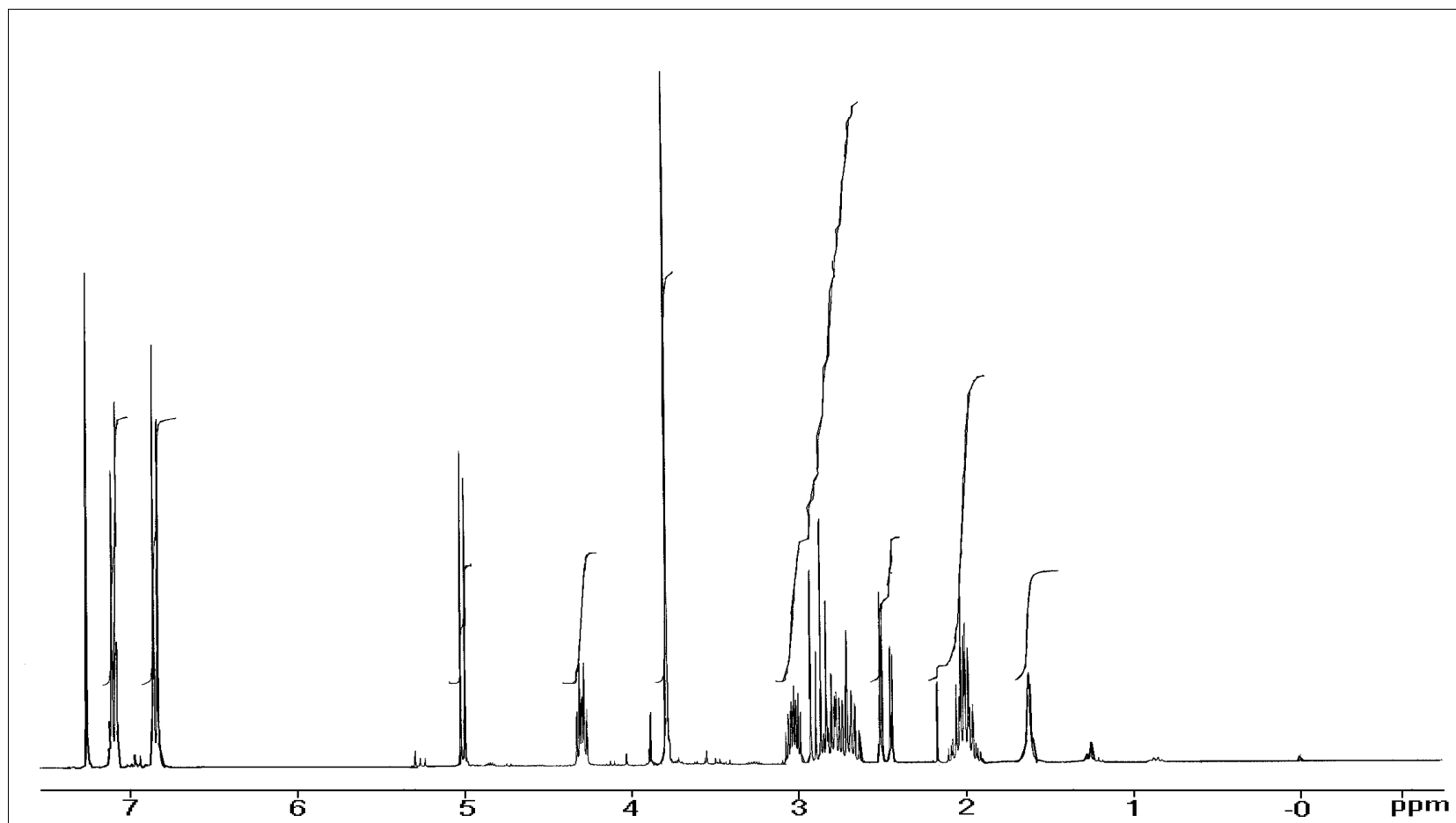


Figura 42 - Espectro de RMN de ¹H da bis-lactona [Xb].

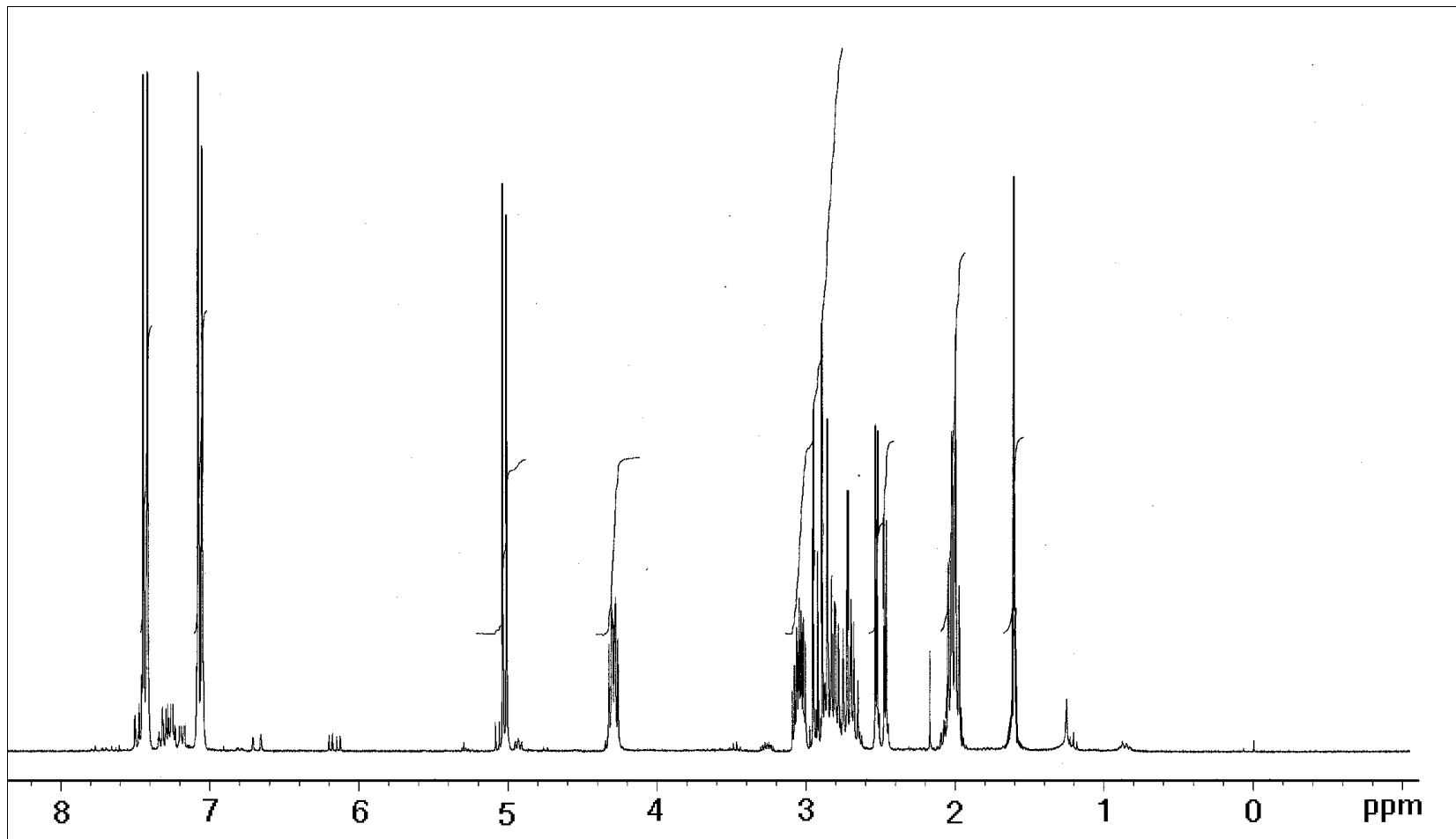


Figura 43 - Espectro de RMN de ¹H da bis-lactona [Xc].

Quadro 26 - Dados de RMN de ^{13}C (100 ou 75 MHz) para os compostos [Xa], [Xb] e [Xc]

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}/ [\text{Xa}]$	$\delta^{13}\text{C}/ [\text{Xb}]$	$\delta^{13}\text{C}/ [\text{Xc}]$
C1=O	170,01	170,07	169,91
C2	77,00	76,85	76,84
C3	39,94	40,37	40,43
C4	83,87	83,95	83,70
C5	37,02	37,65	37,35
C6	31,15	30,58	31,03
C7	32,58	32,93	32,87
C8=O	173,78	173,81	173,78
C1'	139,64	131,74	138,79
C2' e 6'	128,32	129,58	130,39
C3' e 5'	128,66	114,39	132,09
C4'	126,46	158,51	120,65
OCH ₃		55,52	

Quadro 27 - Dados de RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl_3), DEPT e HMQC (100 MHz, CDCl_3) para o composto [Xa]

Sinal	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	HMQC*	Atribuição
A	31,15	-	c	C5
B	32,58	-	b	C7
C	37,02	-	a	C6
D	39,94	+	d	C3
E	77,00	+	f	C2
F	83,87	+	e	C4
G	126,46	+	g	C4'
H	128,32	+	g	C2' e 6'
I	128,66	+		C3' e 5'

Obs.: DEPT: sinais marcados (+) foram observados na fase positiva do espectro (CH_3 e CH) e sinais marcados (-), na fase negativa (CH_2). Os demais sinais não são observados. * Sinal de hidrogênio correspondente no espectro de RMN de ^1H , segundo o Quadro 25.

As informações obtidas do espectro de massas do composto [Xa] também confirmam a sua obtenção (Figura 48). O espectro apresenta um pico em $m/z = 246$ (9%), correspondente ao íon molecular, assim como os picos em $m/z = 77$ (10%) e $m/z = 91$ (100%) e 105 (11%), característicos do grupo substituinte $\text{PhCH}_2\text{CH}_2-$ (SILVERSTEIN et al., 1991). Não foram obtidos espectros de massas para os compostos [X(b, c)].

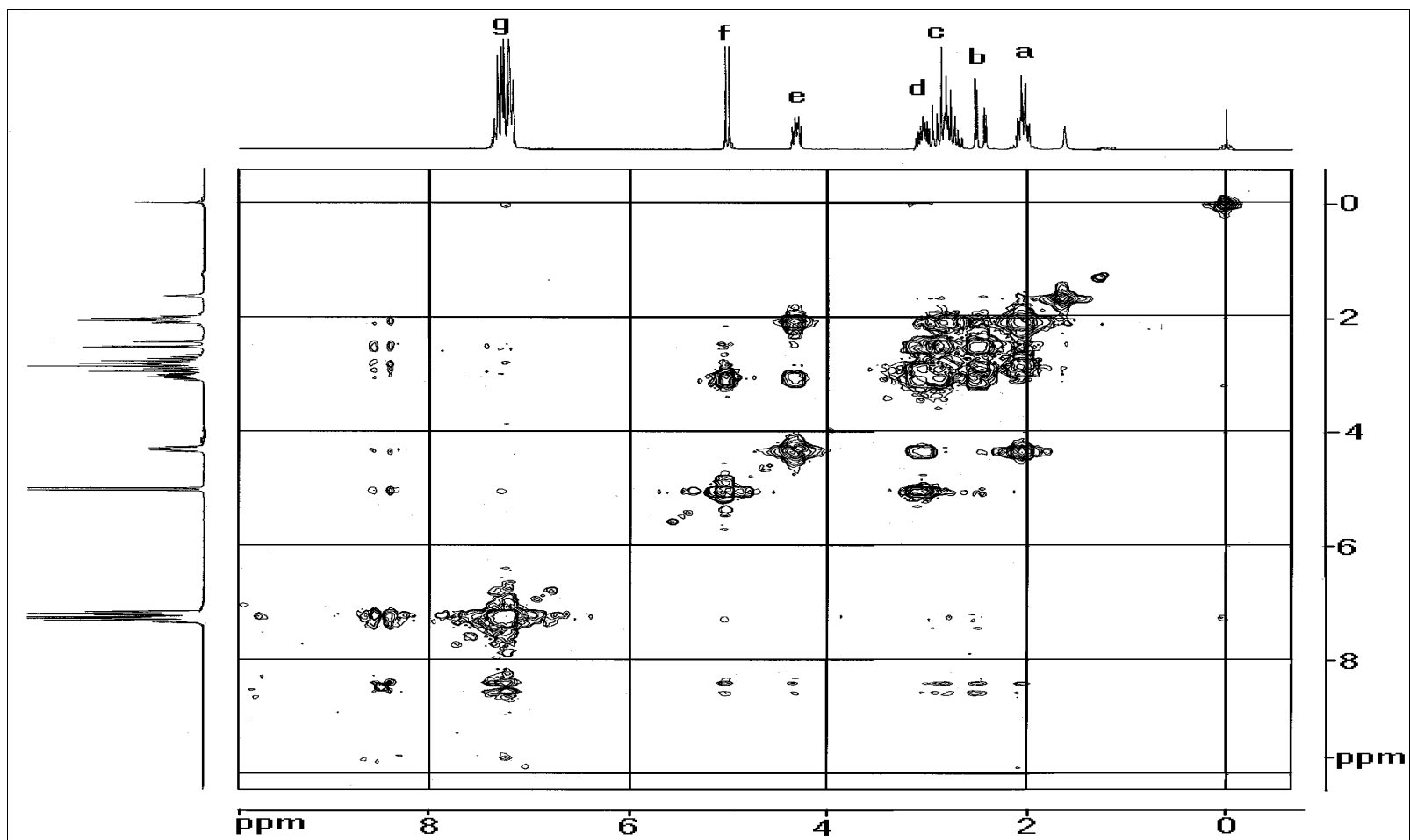


Figura 44 - Espectro 2-COSY (300 MHz, CDCl₃) do composto [Xa].

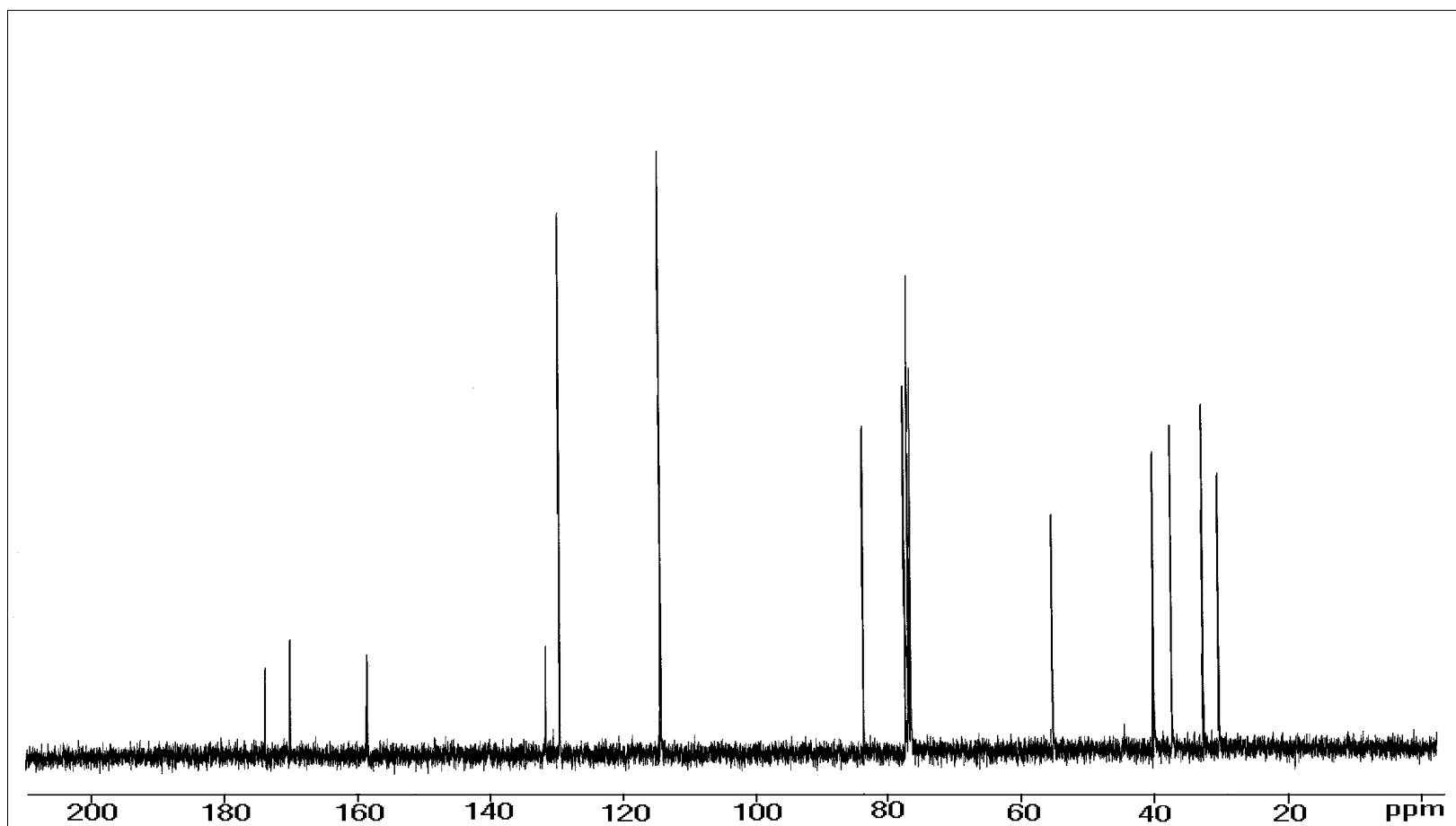


Figura 45 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 ou 75 MHz) do composto [Xb].

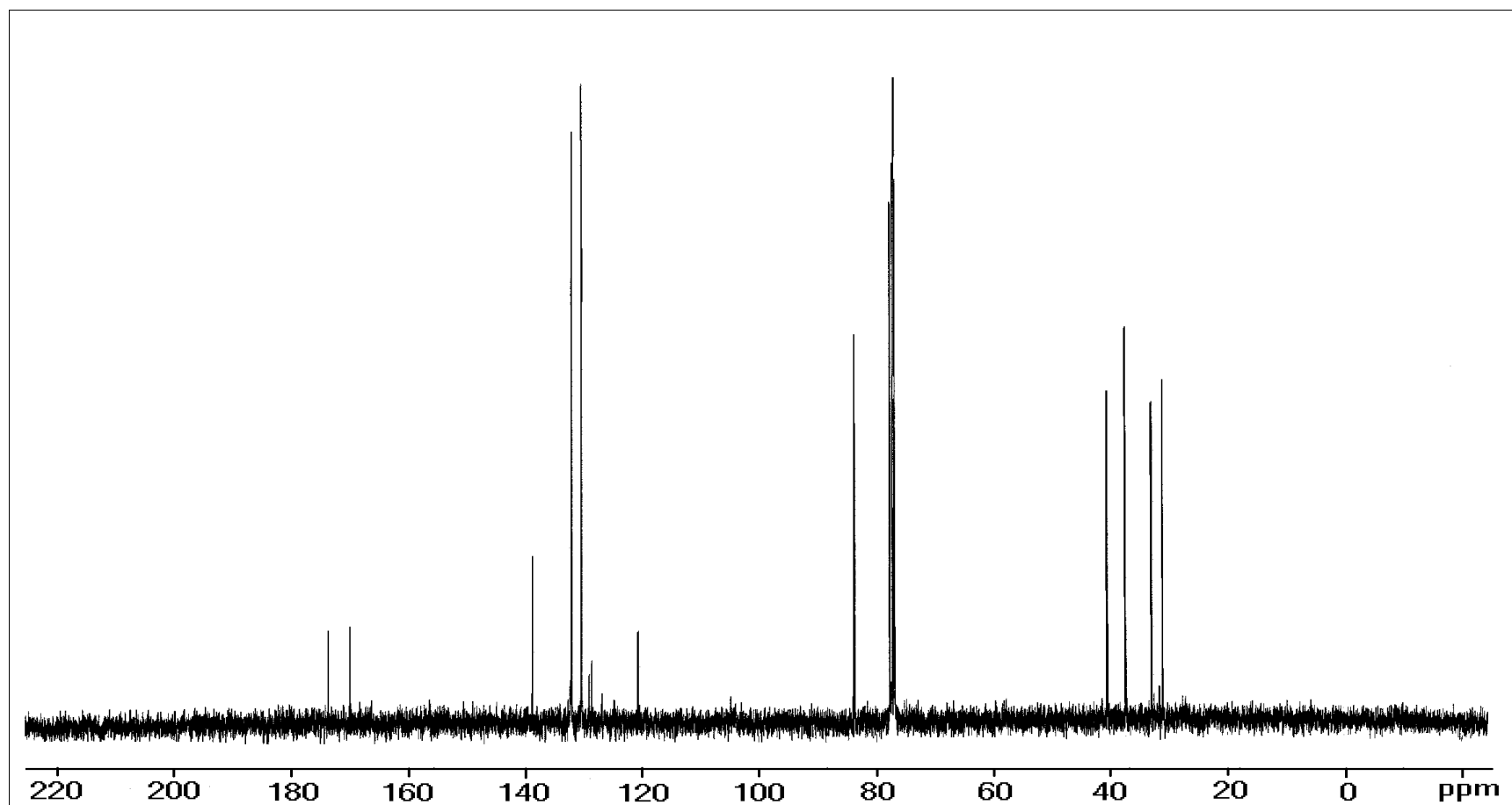


Figura 46 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 ou 75 MHz) do composto [Xc].

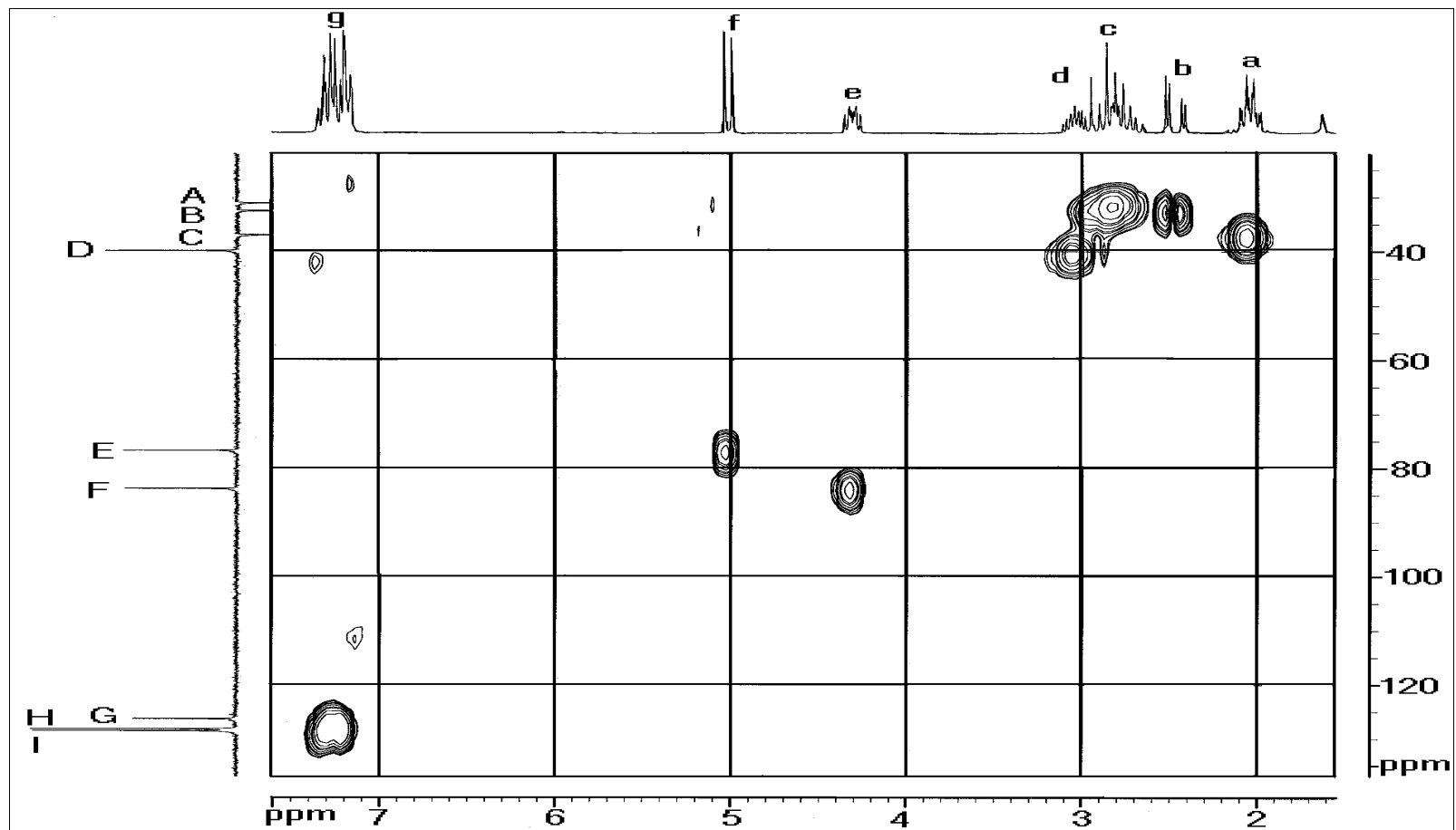


Figura 47 - Espectro de HMQC (100 MHz, CDCl₃) para o composto [Xa].

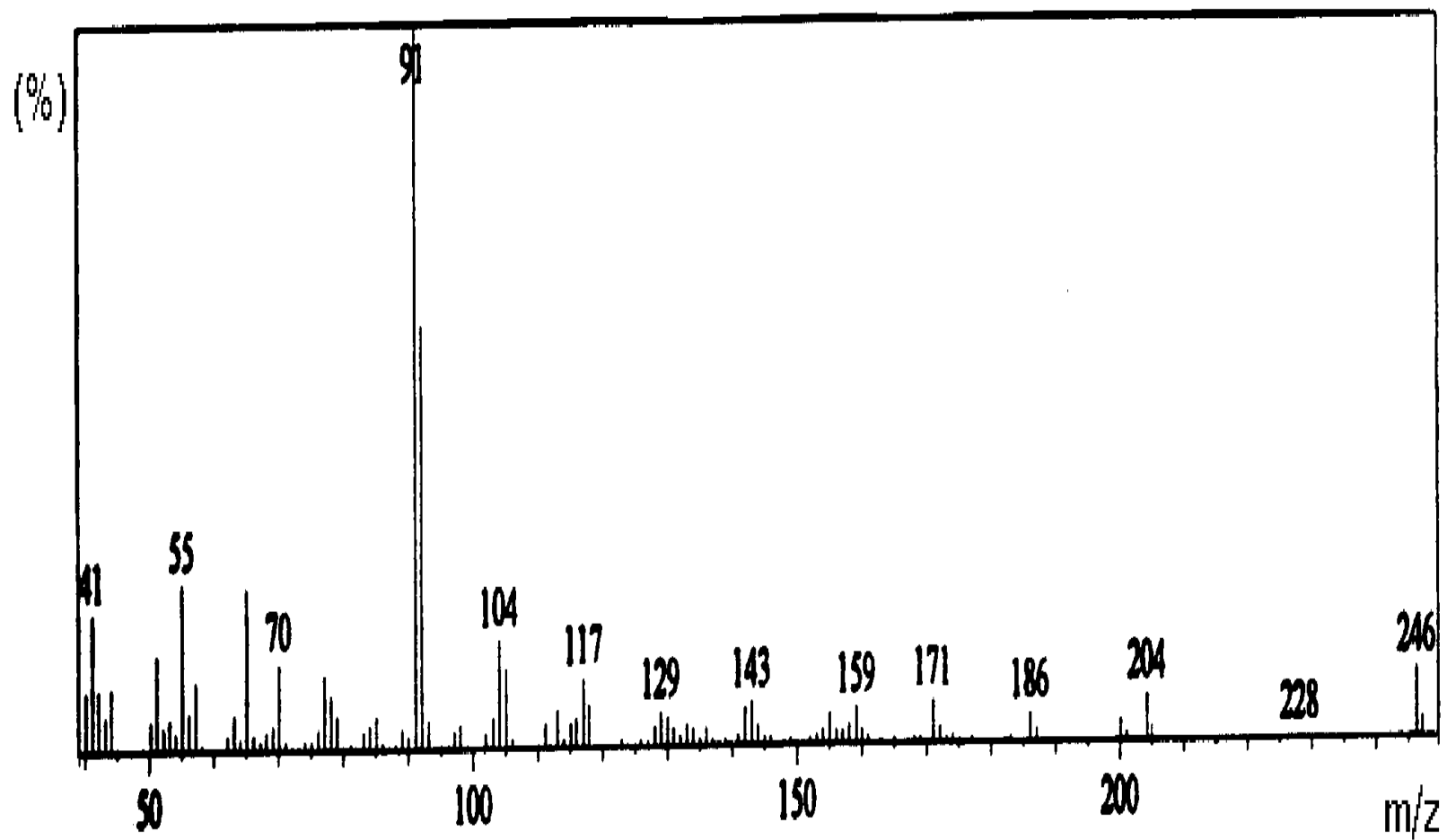


Figura 48 - Espectro de massas do composto [Xa].

3.10. Reações de metilenação descarboxilativa dos ácidos dilactônicos [X]

A dupla ligação exocíclica foi adicionada às bis-lactonas [X], segundo a metodologia descrita por PARKER e JOHNSON (1973), em duas etapas (Figura 49).

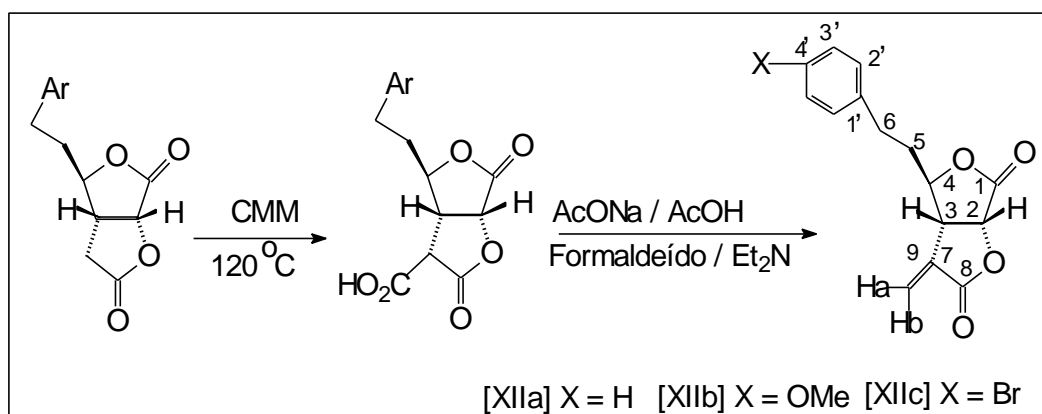


Figura 49 - Formação da dupla ligação exocíclica no carbono 3 das bis-lactonas, em duas etapas.

A obtenção dos ácidos dilactônicos foi feita pela reação entre as lactonas [X(a, b, c)] e o carbonato de metilmetoximagnésio (CMM), na proporção de 1:5, em mol. As reações foram feitas sob atmosfera de nitrogênio e a 120°C, com aproximadamente cinco horas de duração. Na elaboração, utilizou-se uma mistura gelada de éter e solução de HCl 6 mol/L, mantendo-se sob agitação até a dissolução de todo o precipitado. As fases etéreas foram lavadas com solução aquosa saturada de NaCl e secadas com MgSO₄ anidro. O éter foi evaporado em evaporador rotatório, obtendo-se, assim, os compostos [XIa], [XIb] e [XIc], com aproximadamente 94, 87 e 30% de rendimento, respectivamente.

Uma proposta de mecanismo para essa reação pode ser vista na Figura 50. Intermediários cíclicos de seis membros, envolvendo o magnésio, são

descritos na literatura para reações semelhantes, entre cetonas ou lactonas e $(\text{MeOCO}_2)_2\text{Mg}$ (MARCH, 1992).

Os ácidos obtidos não foram caracterizados, já que não foi necessário purificá-los. Entretanto, a obtenção do espectro no infravermelho de [XIa] impuro revelou a banda larga característica de ácidos carboxílicos entre 2.450 e 3.200 cm^{-1} .

Uma segunda etapa consistiu na adição de uma solução de acetato de sódio em ácido acético a uma mistura de formalina e dietilamina, seguida da adição do ácido [XI(a, b ou c)] (Figura 51). A reação é rápida e o produto é isolado após aproximadamente cinco minutos de aquecimento em banho-maria, por partição entre água e éter etílico. A fase orgânica é neutralizada por extrações com água destilada e $\text{NaHCO}_{3(\text{sat.})}$. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna, com rendimentos finais entre 51 e 63%. Os compostos [XII(a, b)] apresentaram-se como óleos incolores, e o [XIIc], como um sólido amarelado.

O espectro no infravermelho de [XIIa] apresentou a absorção em 3.027 cm^{-1} , que foi atribuída à deformação axial de C-H de aromáticos, bem como os sinais em torno de 1.603, 1.497 e 1.455 cm^{-1} , que foram atribuídos aos estiramentos das ligações C=C de aromáticos e metilenos. O pico em 702 cm^{-1} foi atribuído à deformação angular fora do plano de C-H de aromáticos (Figura 52). No espectro de [XIIb], bandas intensas em 1.611 e 1.513 cm^{-1} também apontaram a presença de duplas ligações, sendo estas bandas de muito menor intensidade nos espectros de [XIIa] ou [XIIc].

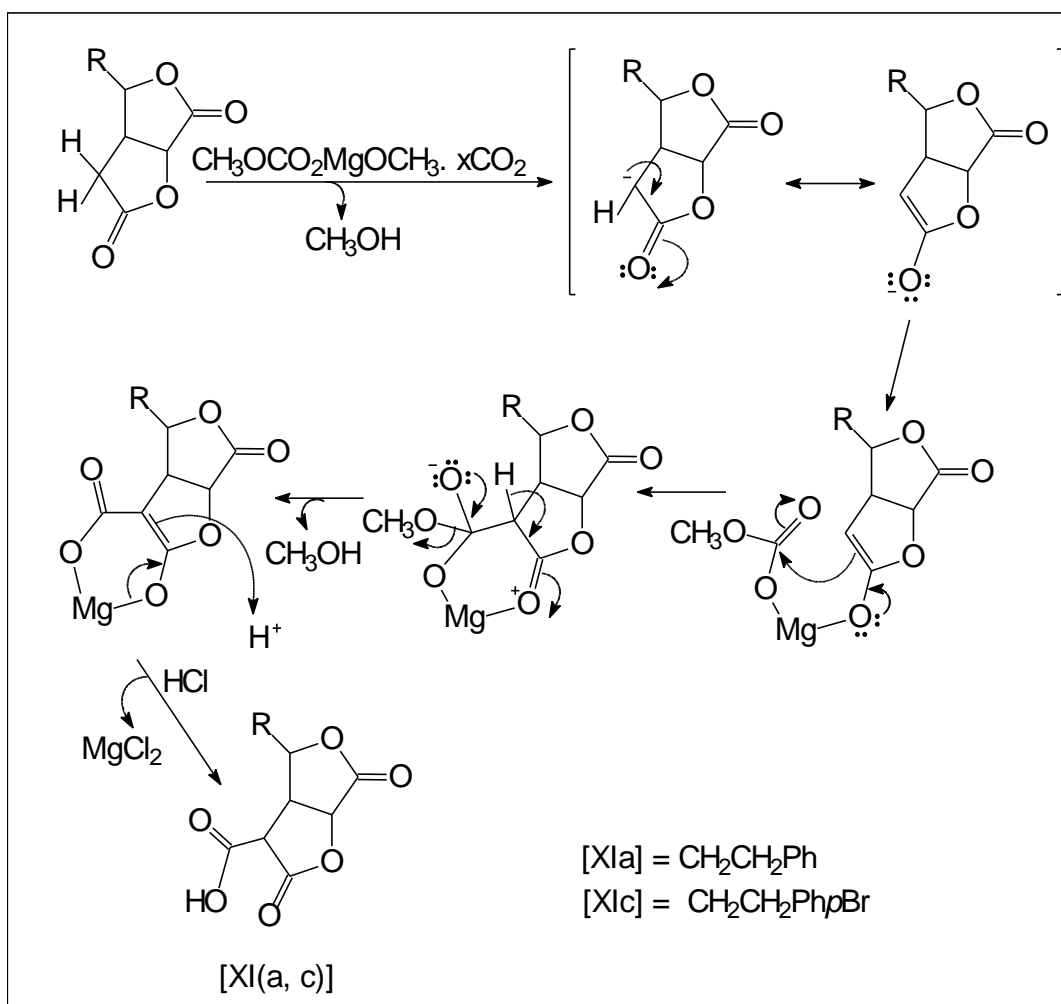


Figura 50 - Proposta de mecanismo para a primeira etapa da metilenação descarboxilativa das bis-lactonas.

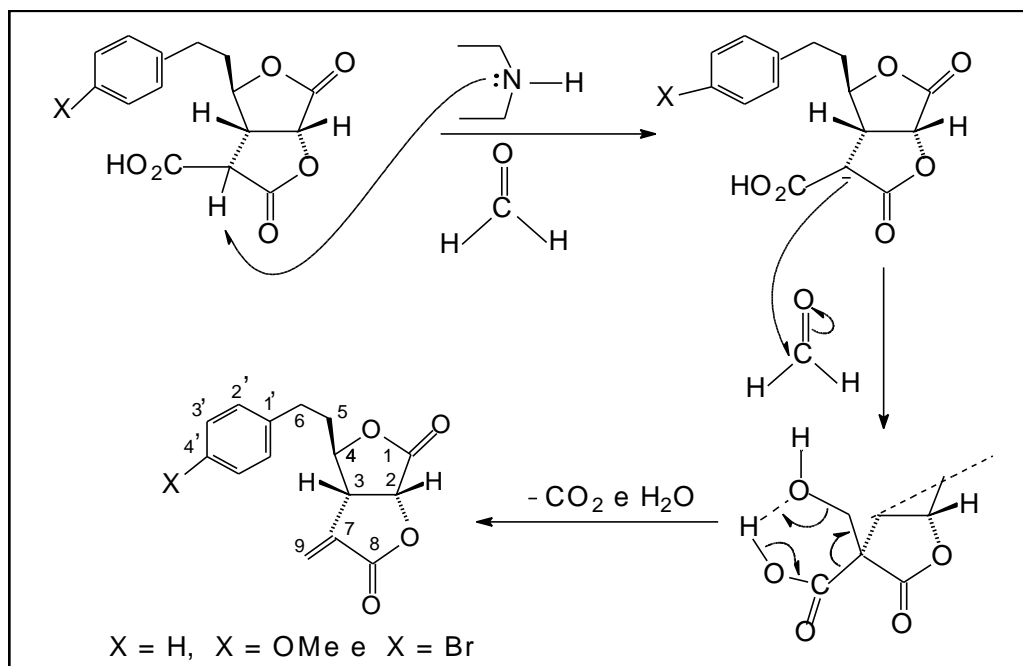


Figura 51 - Mecanismo de reação de descarboxilação dos compostos [XI(a, c)].

Os dados de RMN de ^1H obtidos para os compostos [XII(a, c)] estão relacionados no Quadro 28. Dentre estes dados destacam-se os sinais dos hidrogênios metilênicos do carbono 9. O composto [XIIa] apresenta um sinal em $\delta = 5,82$ e outro em $\delta = 6,44$ (Figura 53). Já para o composto [XIIc] estes valores são: $\delta = 5,84$ ($J = 2,1$ Hz) e $\delta = 6,46$ ($J = 2,7$ Hz) (Figura 54). A obtenção do composto [XIIa] é confirmada pela RMN de ^1H , por causa da ausência dos sinais dos hidrogênios do carbono 7, agora um carbono quaternário. Os demais dados para os compostos [XII] são muito semelhantes, diferenciando-se apenas com relação ao anel aromático, que apresentou dupletos em $\delta = 7,08$ ($J = 8,1$ Hz) para os hidrogênios 2' e 6' e em $\delta = 7,44$ ($J = 8,7$ Hz) para 3' e 5' no espectro de [XIIc]. Já o espectro do composto [XIIa] apresentou um multipletto em $\delta = 7,19$ - $7,27$. Para o composto [XIIb] não foi obtido RMN de ^1H , por não apresentar pureza e quantidade suficientes.

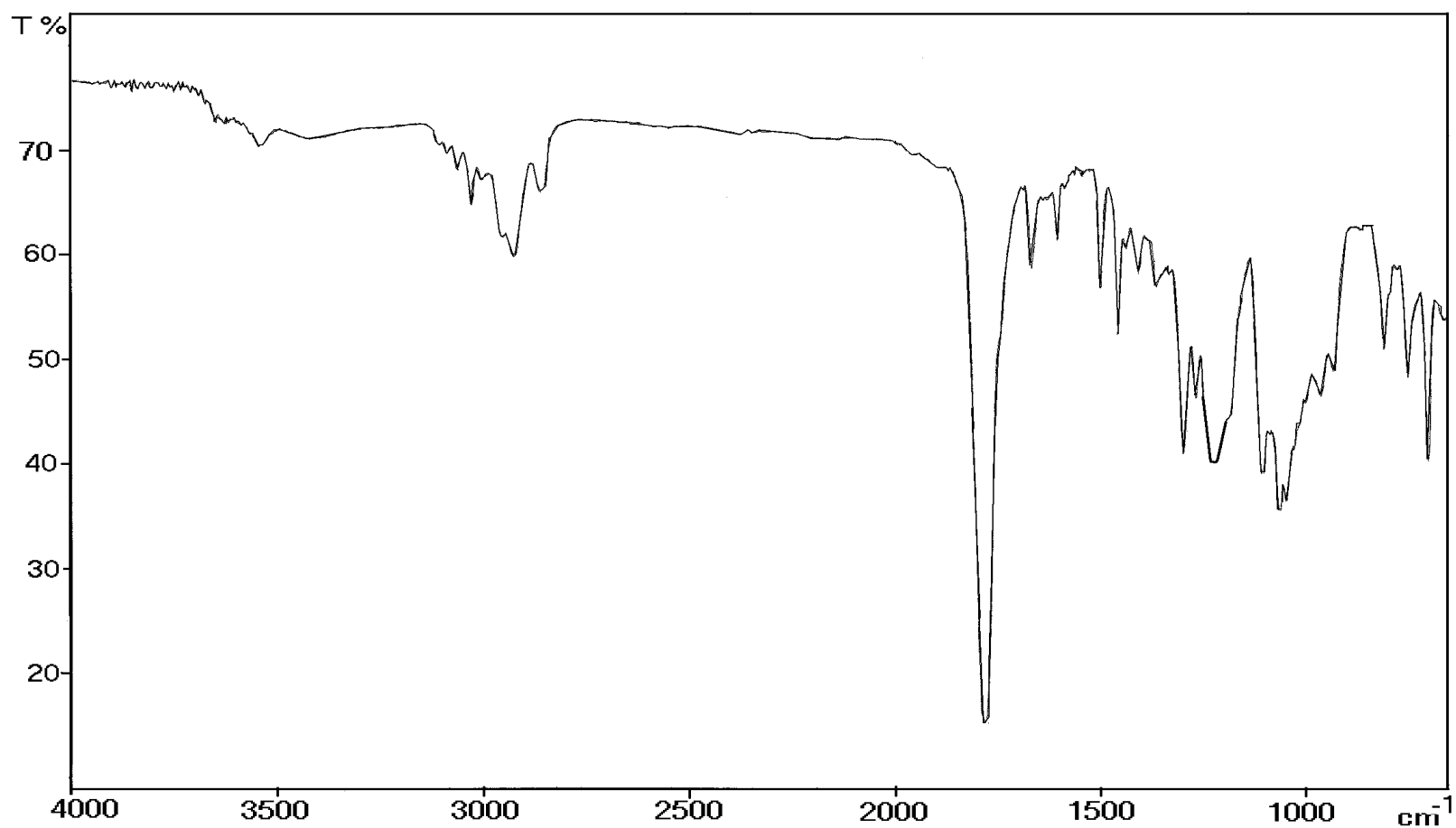


Figura 52 - Espectro no infravermelho (NaCl) do composto [XIIa].

Quadro 28 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para os compostos [XII(a, c)]

Atribuição	δ ^1H [XIIa]	δ ^1H [XIIc]
H2	5,06 (d, J = 8,4 Hz)	5,07 (d, J = 8,4 Hz)
H3	3,53-3,59 (m)	3,53-3,59 (m)
H4	4,38-4,44 (m)	4,34-4,41 (m)
5H	2,10-2,07 (m)	2,03-2,12 (m)
6H	2,74-2,94 (m)	2,68-2,88 (m)
Ph	7,19-7,27 (m, H3', 4' e 5')	7,08 (d, J = 8,1 Hz, H2' e 6')
	7,30-7,35 (m, H2' e 6')	7,44 (d, J = 8,7 Hz, H3' e 5')
H9a	5,82 (d, J = 2,4 Hz, H9a)	5,84 (d, J = 2,1 Hz, H9a)
H9b	6,44 (d J = 2,7 Hz, H9b)	6,46 (d, J = 2,7 Hz, H9b)

Quadro 29 - Dados de RMN de ^{13}C (100 e 75MHz, CDCl_3) para os compostos [XIIa] e [XIIb]

C	δ ^{13}C / [XIIa]	δ ^{13}C / [XIIc]
1	167,16	167,42
2	74,07	74,02
3	44,14	44,54
4	83,97	83,96
5	37,77	37,98
6	31,27	31,03
7	134,18	134,33
8	169,57	169,50
9	126,45	126,73
1'	139,43	138,67
2' e 6'	128,32	130,32
3' e 5'	128,80	132,12
4'	126,66	120,71

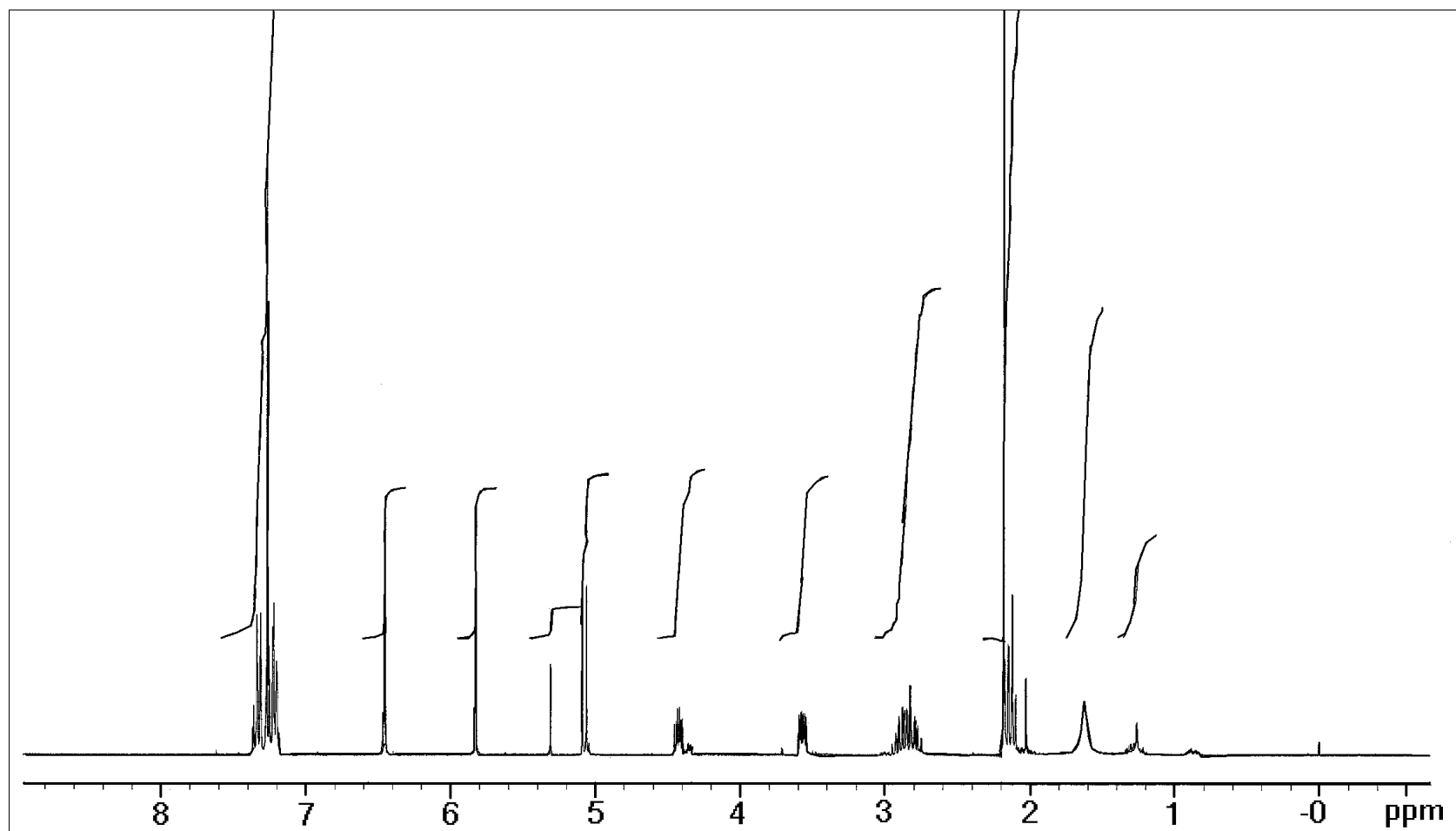


Figura 53 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [XIIa].

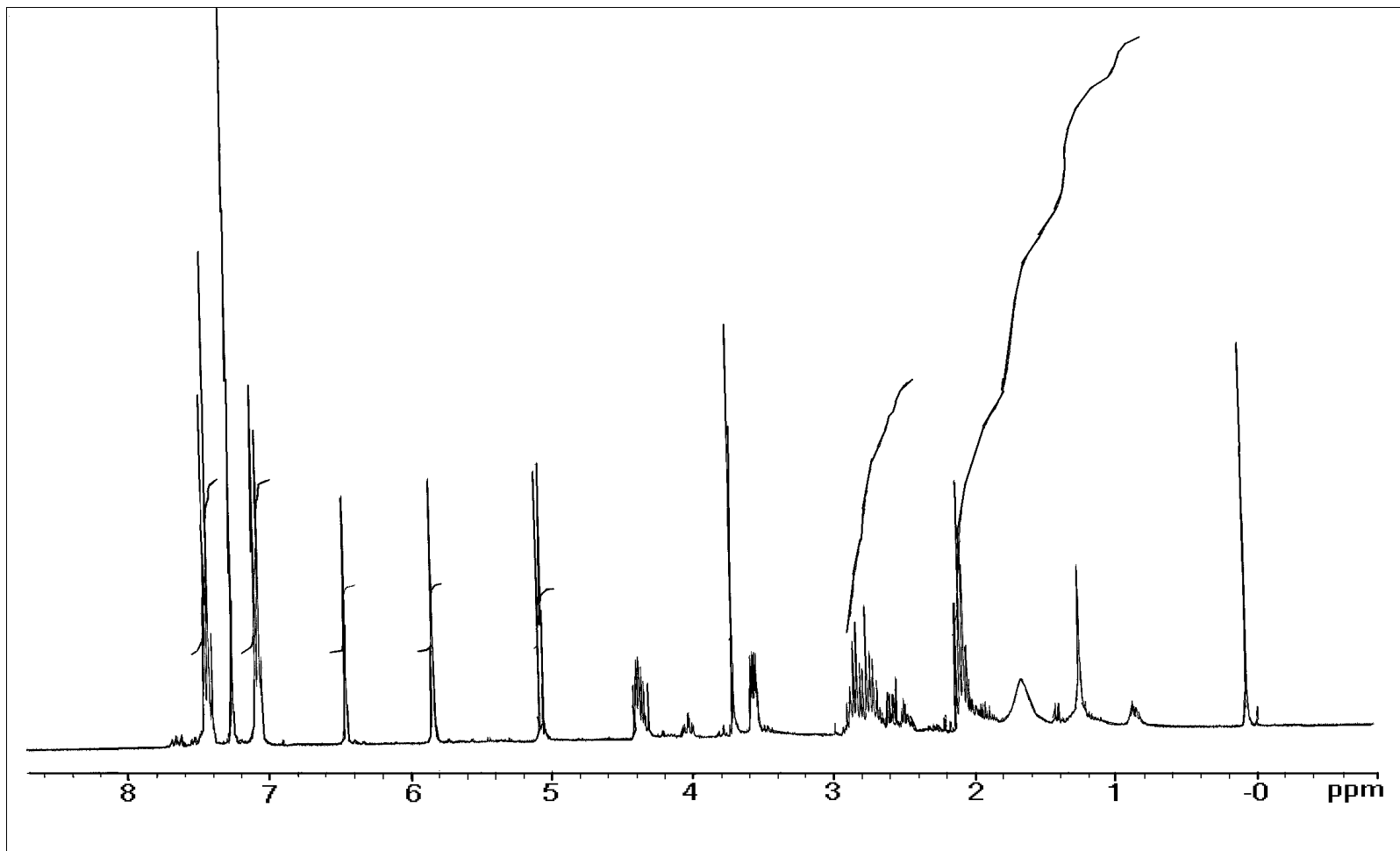


Figura 54 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto [XIIc].

Os dados de RMN de ^{13}C obtidos para os compostos [XIIa] e [XIIc] são apresentados no Quadro 29. O composto [XIIa] apresentou o valor de $\delta = 134,18$ para o carbono 7. Para o composto [XIIc] este valor foi de $\delta = 134,33$ (Figura 55). Este carbono é importante, já que se trata de um CH_2 no composto de partida [X], o que caracteriza bem a ocorrência da metilenação, por se tratar agora de um carbono quaternário. Outro sinal importante é atribuído ao carbono 9 do metileno, observado nos valores de $\delta = 126,45$ e $126,73$ para [XIIa] e [XIIc], respectivamente. Esses dados importantes foram confirmados através da técnica DEPT 135, que informa sobre a multiplicidade destes sinais.

O espectro de massas do composto [XIIa] também reforça a confirmação da estrutura obtida, pois apresenta um pico em $m/z = 258$, correspondente ao íon molecular. Outros picos importantes aparecem em $m/z = 117, 105, 91$ (pico-base), 65 e 41 , apresentados na Figura 56. Para o composto [XIIc] destacam-se o pico-base em $m/z = 41$ e os sinais em $m/z = 91$ (6%) e 77 (10%). Todavia, não foi observado o íon molecular correspondente ao composto.

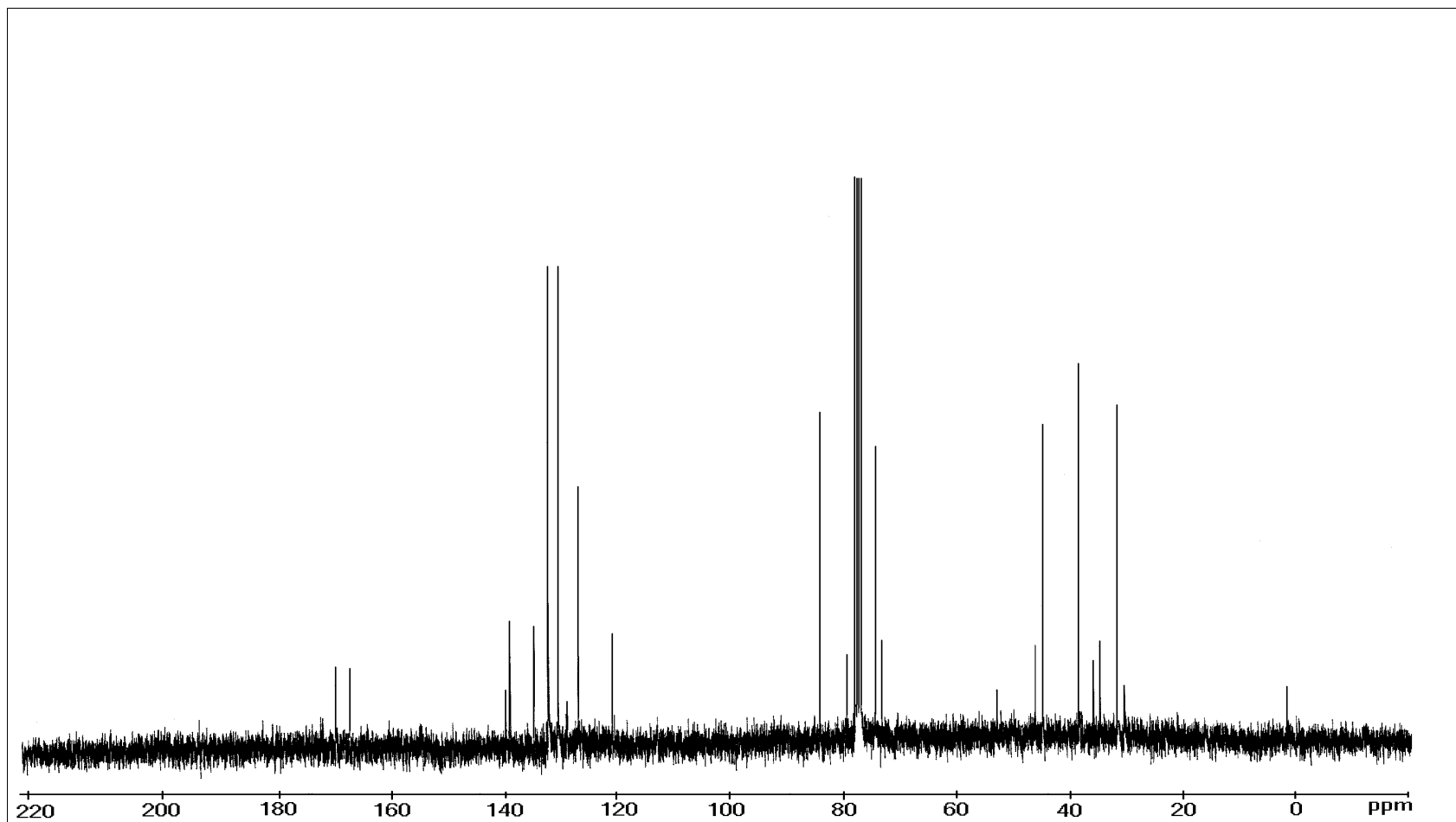


Figura 55 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto [XIIc].

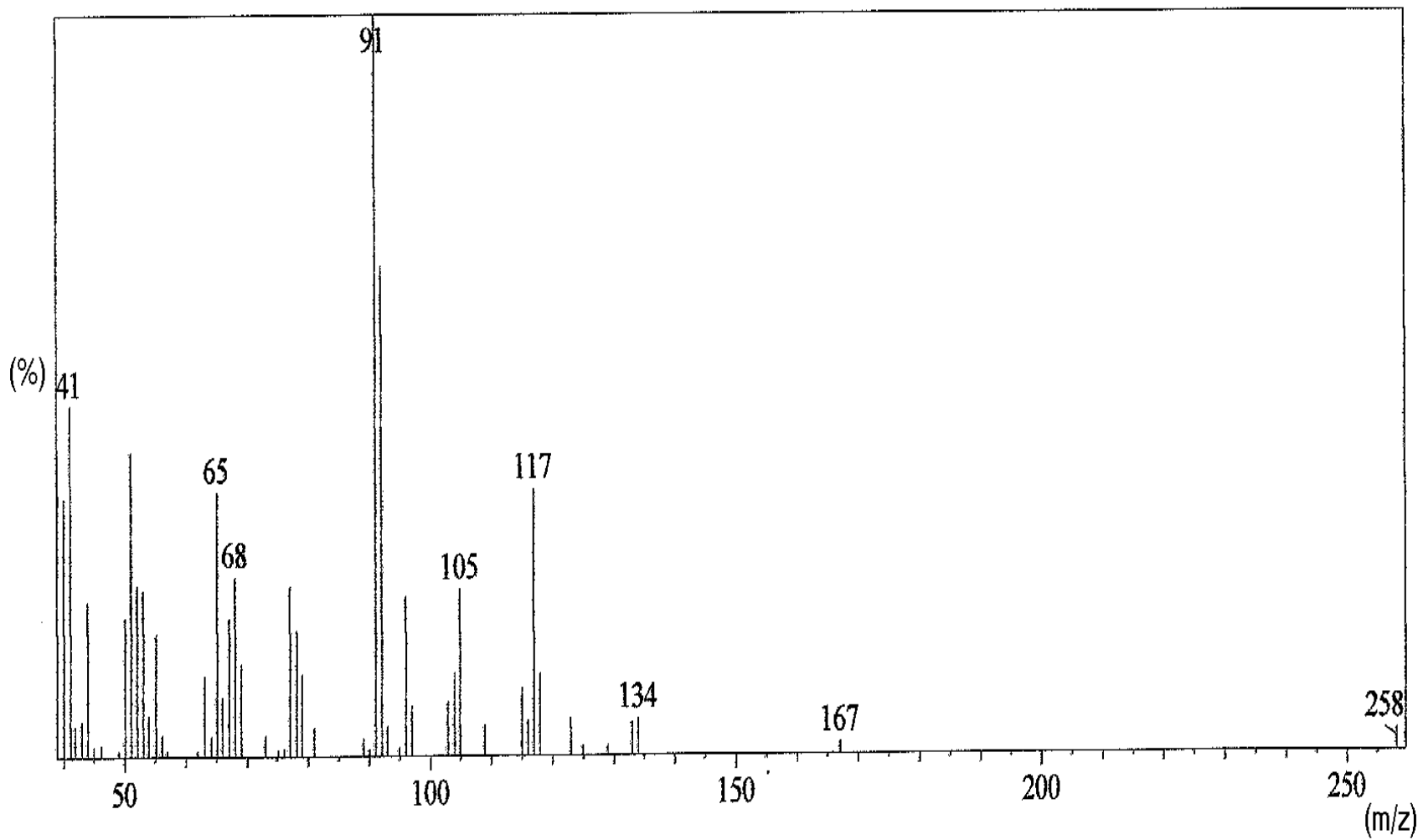


Figura 56 - Espectro de massas do composto [XIIa].

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Essa etapa do trabalho foi dedicada à síntese de novos compostos análogos ao avenaciolídeo. Os compostos sintetizados possuem substituintes aromáticos e, entre si, são diferenciados pela substituição na posição 4 do anel benzênico.

Dessa forma, foram sintetizados e caracterizados 18 compostos inéditos [VII(a, b, c)], [VIII(a, b, c)], [IX(α e β)], [IX($b\alpha$ e β)], [IX($c\alpha$ e β)], [X(a, b, c)], [XII(a, b e c)], entre eles os compostos bicíclicos análogos ao avenaciolídeo [IX($\alpha\alpha$ e β)], [IX($b\alpha$ e β)], [IX($c\alpha$ e β)], [Xa], [Xb], [Xc], [XIIa] e [XIIc] (Figura 57), submetidos a testes de atividade fungicida contra *Fusarium* e *Colletotrichum*, cujos resultados são descritos no capítulo 2 deste trabalho.

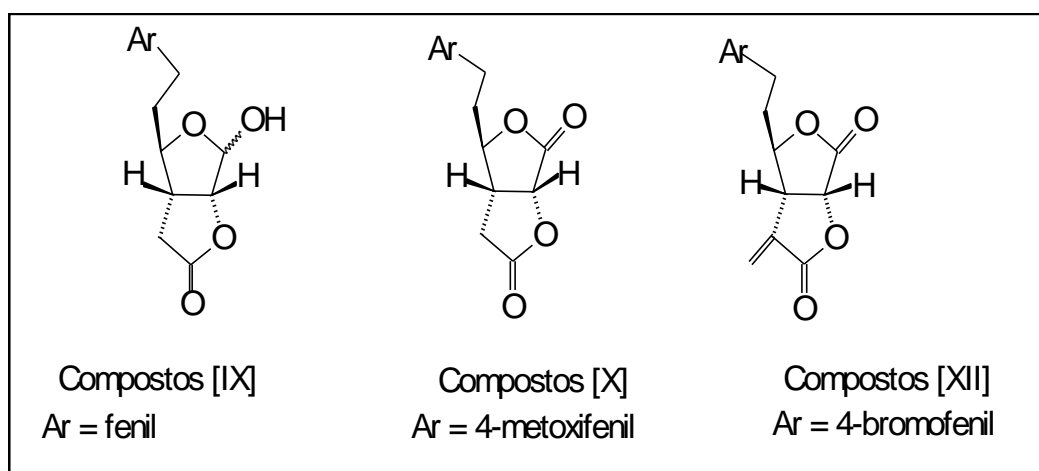


Figura 57 - Compostos submetidos a testes de atividade fungicida.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DE COMPOSTOS AROMÁTICOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO

1. INTRODUÇÃO

Os fungicidas exercem papel importante na expressão do potencial genético de espécies de plantas cultivadas (ZAMBOLIM, 1999). Para ilustrar esta importância, citam-se algumas epidemias causadas por fungos. Por volta de junho de 1945 ocorreu uma doença, conhecida por requeima da batata, causada pelo fungo *Phytophthora infestans*, que foi observada primeiramente na Bélgica e, posteriormente, nos países vizinhos Holanda e França. No mesmo mês, a doença foi identificada no sul da Inglaterra, e em setembro o patógeno já havia chegado à Irlanda. No ano seguinte, o fungo foi observado sobre plantas de batata dois meses mais cedo do que no ano anterior. Com isso, encontrando plantas mais jovens, clima favorável e tendo mais tempo para se multiplicar, o patógeno destruiu cerca de 80% da produção de batata. A requeima da batata e do tomate ainda hoje pode causar destruição completa das culturas em época de clima favorável (BERGAMIN FILHO e KIMATI, 1995).

Ainda segundo BERGAMIN FILHO e KIMATI (1995), em plena guerra asiática (1942), a região chamada Bengala (hoje dividida entre Índia e

Bangladesh) viu suas plantações de arroz serem dizimadas por um fungo, naquele tempo conhecido por *Hemithosporium oryzae*. As perdas na variedade precoce chegaram a 50% e, nas variedades tardias, os danos ficaram entre 75 e 90%. Com a guerra, não foi possível importar arroz, e o número de mortos atingiu dois milhões de pessoas. No Ceilão, hoje Sri Lanka, por volta do ano de 1870, a ferrugem, causada por *Hemileia vastatrix*, dizimou plantações de café ocasionando, vinte anos mais tarde, queda na produção de 50 mil toneladas para zero. A Inglaterra, principal importador de café daquele país, mudou de hábito, trocando o café pelo chá e os milhares de indianos e nativos perderam seus empregos, ficando o país sem divisas para pagar a importação de arroz. Hoje, a ferrugem ainda causa redução de 35-40% na produção de café.

No Brasil, há cerca de cinco, seis anos, observou-se a devastação da cultura do cacau, na Bahia, pelo fungo causador da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*), e, com isso, houve grande êxodo rural e destruição da Mata Atlântica, que sombreava as lavouras de cacau. Sabe-se também que outras culturas de grande importância econômica no Brasil dependem dos fungicidas para que sua produtividade e qualidade sejam mantidas (ZAMBOLIM, 1999).

Outras doenças importantes causadas por fungos no País são: banana (*Musa spp.*) (sigatoka-negra) - *Mycosphaerella fijiensis*; arroz (bruzone) - *agnaporthe grisea*; feijão (ferrugem) - *Uromyces appendiculatus*; trigo (oídio) - *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*; trigo (ferrugem-da-folha) - *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*; abacaxi (fusariose) - *Fusarium subglutinans* j. sp. *ananas*; e banana (mal-de-sigatoka) - *Mycosphaerella musicola*.

Especificamente, o gênero *Fusarium* causa inúmeras doenças em plantações economicamente importantes no Brasil, como mostra o Quadro 1. Espécies de *Fusarium* podem sobreviver no solo por mais de 10 anos e, em alguns casos, as doenças causadas por elas envolvem ação conjunta com outros patógenos.

Quadro1 - Algumas doenças causadas pelo gênero *Fusarium*

Cultura	Nome da doença	Espécies de <i>Fusarium</i>
Café	Fusariose	Várias espécies
Feijão	Murcha	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>
Fumo	Murcha de fusarium	<i>F. oxysporum</i>
Gergelim	Murcha de fusarium	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>sesani</i>
Mamona	Murcha de fusarium	<i>F. oxysporum</i>
Milho	Podridão de fusarium	<i>F. moniliforme</i>
Algodão	Murcha	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinjectum</i>
Banana	Murcha	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>
Palmáceas	Fusariose do dendezeiro	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>claidis</i>
Pimenta-do-reino	Fusariose	<i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i>
Soja	Podridão vermelha da raiz ou Síndrome da morte súbita	<i>F. solani</i>

Referência: VALE e ZAMBOLIM (1997).

Os principais sintomas das doenças causadas por espécies do gênero *Fusarium* são murcha das plantas; podridão de raízes, caule e espigas; e amarelecimento e mancha avermelhada nas raízes. Na cultura do café, a fusariose ainda é uma doença pouco estudada e vem se expandindo pouco a pouco em viveiros e em campos de produção de café. No feijão, o ciclo da doença pode se iniciar por meio de sementes contaminadas; nas plantações de fumo, o patógeno é bem adaptado como habitante do solo, podendo muitas raças sobreviver por cerca de 10 anos; e no milho ocorrem parasitas não-especializados, podendo infectar diversas espécies de plantas. Já na soja, a podridão vermelha da raiz, ou Síndrome da Morte Súbita, parece associada com a monocultura da soja (VALE e ZAMBOLIM, 1997).

Ainda segundo VALE e ZAMBOLIM (1997), o gênero *Colletotrichum*, do ponto de vista fitopatológico, é também muito importante, atacando inúmeras espécies de plantas de grande importância econômica, como mostra o Quadro 2.

Quadro 2 - Algumas doenças causadas pelo gênero *Colletotrichum*

Cultura	Nome da doença	Espécie de <i>Colletotrichum</i>
Café	Antracnose	<i>C. coffeanum</i>
Feijão	Antracnose	<i>C. lindemuthianum</i>
Fumo	Antracnose	<i>C. nicotianae</i>
Cana-de-açúcar	Podridão vermelha	<i>C. falcatum</i>
Mandioca	Antracnose	<i>C. gloeosporioides</i>
Milho	-	<i>C. graminicola</i>
Pimenta-do-reino	-	<i>C. gloeosporioides</i>
Soja	Antracnose	<i>C. truncatum</i>
Sorgo	Antracnose	<i>C. graminicola</i>
Mamão	Antracnose	<i>C. gloeosporioides</i>
Manga	Antracnose	<i>C. gloeosporioides</i>

Referência: VALE e ZAMBOLIM (1997).

Nas plantações de soja, a antracnose está presente em quase todas as regiões de plantio, sendo um dos principais problemas nos cerrados. Na cultura do sorgo é a mais importante doença, sendo comum também na cultura de café. A antracnose ataca plantações de feijão em regiões tropicais e subtropicais, e, com alta umidade relativa, as perdas podem atingir 100%. Quando sementes contaminadas são utilizadas nas plantações de fumo, a umidade é considerada o fator mais importante para o aparecimento e desenvolvimento da doença. Na cana-de-açúcar, a podridão vermelha manifesta-se sob diferentes formas, de acordo com os órgãos afetados e o estágio vegetativo. No milho, ataca as folhas e, na pimenta-do-reino, a doença está associada à deficiência de potássio ou a um desequilíbrio do suprimento de cálcio e magnésio.

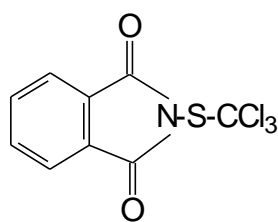
Devido ao poder de destruição de muitos fungos, os agricultores recorrem ao controle químico, garantindo melhor produtividade e qualidade de produção (KIMATI, 1995).

Desde 1.000 anos a.C. o enxofre era usado como fungicida (ZAMBOLIM, 1999). Com o desenvolvimento da Química e a descoberta de

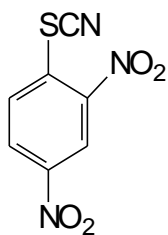
fungicidas orgânicos, passou-se a dividir os fungicidas em inorgânicos e orgânicos. Outra classificação útil é a separação dos fungicidas em protetores ou de contato, erradicantes e sistêmicos, que também podem ser curativos. Os primeiros fungicidas inorgânicos tiveram como base o enxofre elementar. O “enxofre elementar molhável” ainda constitui o produto mais largamente usado na agricultura. Depois vêm os fungicidas à base de cobre, com destaque para a calda Bordalesa. Mais tarde surgiram os compostos à base de cobre, sendo denominado cobres fixos, como o oxiclureto de cobre, óxido cuproso, hidróxido de cobre, entre outros; e os compostos à base de mercúrio, hoje proibidos. Com exceção dos compostos à base de enxofre, todos os outros são classificados como fungicidas protetores e são aplicados nas partes suscetíveis do hospedeiro, formando uma camada superficial protetora. Nesta classe incluem-se, ainda, os compostos orgânicos ditiocarbamatos, derivados do ácido ditiocarbâmico ($\text{H}_2\text{N-CS-SH}$) - produto instável, como o dimetilditiocarbamato ($\text{Me}_2\text{N-CS-SH}$); os etilenobisditiocarbamatos tetrametil-tiuram-dissulfetos ($\text{Me}_2\text{N-CS-S-S-CS-NMe}_2$); os compostos aromáticos; e os compostos heterocíclicos nitrogenados (KIMATI, 1995; GELMIN et al., 1986; BARBERÁ, 1974).

Os fungicidas curativos sistêmicos têm ação dirigida contra o patógeno após o estabelecimento de seu contato efetivo com o hospedeiro. Os fungicidas sistêmicos, em função de sua capacidade de penetração e translocação dentro da planta, são capazes de agir curativamente. Dentre os principais fungicidas com esta ação destacam-se produtos do grupo benzimidazóis, os inibidores da biossíntese do ergosterol, o grupo piperazina, carboximidas, fenilamidas, imidazóis e pirimidina (GELMIN et al., 1986).

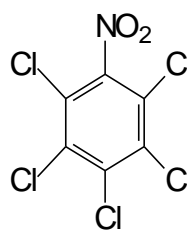
Entre outros compostos fungicidas orgânicos citam-se: derivados imídicos (N-S-R), como a N-triclorometiltioftalimida (26); dinitroderivados, por exemplo o 2,4-dinitrotiocianobenzeno (27); outros nitroderivados, como pentacloronitrobenzeno (28) e 2,6-dicloro-4-nitroanilina (29); derivados de estanho, por exemplo acetato de trifetil-estanho [$\text{CH}_3\text{-COO-Sn(C}_6\text{H}_5)_3$]; e cloronitropropano, como o 1-cloro-2-nitropropano [$\text{ClCH}_2\text{-CH(NO}_2\text{)-CH}_3$] (BARBERÁ, 1974).



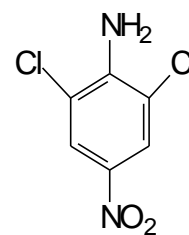
(26)



(27)

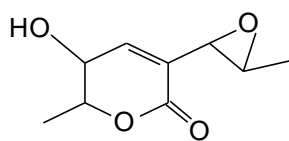


(28)

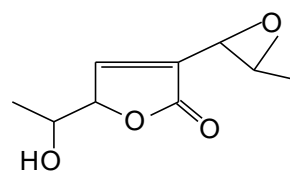


(29)

Muitos estudos que visam sintetizar novos compostos e testar sua atividade fungicida estão descritos na literatura. Como exemplo, tiuréias alifáticas 1,3-dissubstituídas, aromáticas simétricas e assimétricas, foram testadas nos patógenos *Pyricularia grisea* e *Drechslera oryzae*, em diferentes concentrações, usando-se acetona como solvente (KRISHNAMURTHY, 1998). Em uma outra pesquisa, uma série de 11 N-(*p*-sulfonilfenil)-N-carbamoiluréias preparadas a partir da 1,6-difenil-2,4-dioxoexaidro-*s*-triazina com ácido clorosulfônico e cloreto de tionila foram testadas como fungicidas *in vivo* (ELLAM et al., 1998). Ainda no ano de 1998, os compostos aspirona (30) e asperlactona (31), que são metabólitos secundários com atividade fungicida e bactericida obtidos dos fungos *Aspergillus*, foram estudados. Suas atividades foram diferentes; no entanto, o grupo epóxido presente nas duas moléculas é responsável por sua atividade.



(30)



(31)

Segundo MAFFIA e MIZUBUTI (1999), em nível mundial, em 1997, as vendas de defensivos agrícolas (herbicidas, inseticidas e fungicidas) movimentaram cerca de US\$ 30,2 bilhões, e, no Brasil, em 1998, a agricultura consumiu cerca de US\$ 2,19 bilhões. Ainda assim, de modo geral, as doenças de

plantas são responsáveis por perdas quantitativas e qualitativas da ordem de 12% do total de produtos agrícolas produzidos no mundo.

Por exemplo, estudos de PICININI et al. (1995) determinaram o impacto econômico do uso do fungicida propiconazole na cultura de cevada (*Hordeum vulgare* L.). Os ensaios de controle de doenças da parte aérea foram realizados na EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de trigo (CNPT), no período de 1981 a 1992. O fungicida propiconazole, por ser amplamente empregado pelos agricultores, foi utilizado para teste. A cultivar utilizada foi a Antártica 5. As diferenças no rendimento de grãos nas parcelas tratadas e não-tratadas variaram de 5%, em 1989, a 63%, em 1983. Na média, as parcelas pulverizadas com esse fungicida apresentaram o rendimento de 3.932 kg/ha, sendo 23% superiores à da testemunha, sem fungicida. Os tratamentos com fungicida foram mais eficientes em termos econômicos, proporcionando receita líquida média de US\$106,08/ha, maior estabilidade e menor fator de risco na produção da cevada cervejeira.

Em relação a plantações de trigo, GOULART et al. (1992) estimaram as perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, isoladamente da ocorrência de outras doenças, em condições naturais e sem emprego de fungicidas, nos anos de 1988, 1989 e 1990, em lavouras e parcelas experimentais, nos municípios de Rio Brilhante, Dourados e Itaporã. Em 1988 e 1989, em Rio Brilhante, as perdas no rendimento de grãos foram, em média, de 10,5% da produção total estimada. A incidência média foi de 48% de espigas com brusone, em ambos os anos. No ano de 1990, em Dourados, as perdas foram maiores do que as registradas em 1988 e 1989, representando 40% da produção total estimada, com média de incidência de espigas com brusone de 93%. No mesmo ano, em Itaporã, as perdas representaram 32% do rendimento, com 86% de espigas com brusone. Nos três anos de avaliação, a massa das espigas sofreu redução de 56%, com infecção precoce, e de 24%, com infecção tardia, independentemente da localidade.

Estudos são direcionados também no sentido de se conhecer e controlar os fungos. MENDES e FERREIRA (1994), durante o período de 1990 a 1992, examinaram 22.862 acessos de germoplasma vegetal referentes a 70 produtos

introduzidos na forma de sementes (99,25%) ou órgãos de propagação vegetal, como estacas, raízes, mudas ou tubérculos (0,75%). Os principais remetentes foram Estados Unidos, Colômbia e México. Em 1990, 1991 e 1992, a percentagem de acessos infectados com fungos patogênicos foi, respectivamente, de 48,8; 52,0; e 39,0%. Foram detectados fungos pertencentes a 18 gêneros diferentes, a maioria deles patógenos que podem afetar a germinação, o vigor das sementes e, ou, causar morte das plântulas. Os fungos detectados em maior incidência no período mencionado foram: *Alternaria alternata* (Fr.; Fr) keissl., detectados em 38 espécies de plantas; *A. padwickii* (Ganguly) M.B.Ellis e *Curvularia* spp., em arroz; *Fusarium moniliforme* J. Sheld, em milho; e *Phoma* spp., em sorgo.

A dose do fungicida a ser aplicada também é de grande importância. Muitas vezes a quantidade de fungicida aplicada pode ser reduzida na presença de alguma outra substância que potencialize sua atividade. Por exemplo, PEREIRA (1992) determinou o efeito da meia-dose dos fungicidas sistêmicos - triadimenol, triforine e fenarimol, associados ao sulfato de zinco ou ao cloreto de potássio, no controle do mal-das-folhas da seringueira, causado por *Microcyclus ulei* (P. Henn) Arx, utilizando-se plantas dos clones IAN 6721, Fx 985 e Fx 3864, em condições de jardim clonal. Os resultados mostraram que as meias-doses triadimenol +ZnSO₄, triforine + ZnSO₄, fenarimol +ZnSO₄ e tradimenol +KCl, triforine + KCl, controlaram eficientemente a doença, tanto quanto o triadimenol e o triforine empregados em doses convencionais.

Considerando, então, a importância de se ter novas metodologias de apoio à agricultura em defesa aos ataques por fungos, os compostos sintetizados foram submetidos a testes de atividade, para avaliar seus potenciais como fungicidas. Até o presente momento não há na literatura um estudo sistemático da atividade fungicida de análogos ao avenaciolídeo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios biológicos foram realizados no laboratório de Proteção de Plantas do Departamento de Fitopatologia da UFV, que também forneceu os isolados dos fungos. As amostras foram preparadas no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA-DEQ-UFV).

Foram avaliados os seguintes fungos nos testes *in vitro*: *Fusarium* e *Colletotrichum*. *Fusarium* sp. foi obtido de tecidos doentes de plantas, sendo denominado *Fusarium oxysporium*, e o *Colletotrichum* sp. foi obtido de tecidos doentes de algodão, sendo denominado *Colletotrichum gossypii* J. sp. *cephadosporioides*. Os ensaios biológicos foram realizados com os esporos dos fungos em estudo, por serem a estrutura básica de reprodução dos fungos. As características morfológicas do esporo, como tamanho, forma, coloração, septação, ornamentação da parede, etc., variam substancialmente entre os fungos, constituindo características importantes para a taxonomia (KRUGNER e BACCHI, 1995).

2.1. Preparo do meio de cultura

Uma suspensão contendo 39 g de BDA (BIOBRÁS) em um litro de água deionizada em erlenmeyer de 1.000 mL foi preparada e, posteriormente, dividida

(10 × 100 mL) em erlenmeyers (250 mL). Vedou-se com bucha de algodão. O meio, a seguir, foi esterilizado a 120°C em autoclave vertical (PHOENIX) durante 15 minutos, a uma pressão de 1,2 kgf cm⁻².

2.2. Produção de esporos dos fungos em estudo

O meio de cultura BDA foi aquecido por um minuto em microondas, para que se fundisse. A mistura líquida foi homogeneizada por aquecimento, agitação e, a uma temperatura em torno de 40°C, foi acrescida de cerca de 0,30 mg de sulfato de estreptomicina (SIGMA) para 100 mL do meio de cultura e vertida sobre 12 placas de Petri. Os fungos foram repicados sobre as placas após a solidificação do meio de cultura e, posteriormente, transferidos para a incubadora com temperatura controlada para 25°C (CÂMARA DE GERMINAÇÃO-BOD MA403-MARCONI) e com um regime de oito horas de luz.

2.3. Preparo das amostras para os testes biológicos

As amostras para teste foram preparadas sobre discos de papel “Blank estéreis” (CECOM) de 6 mm de diâmetro. As soluções de concentrações conhecidas foram gotejadas sobre os discos, dispostos em placas de toque de porcelana, sendo o solvente evaporado nas condições ambientes. O número de gotas adicionadas a cada disco foi calculado com base na concentração da solução e na massa de substância que o disco deveria conter. As amostras foram preparadas em triplicata, de modo que cada disco contivesse 500 µg de substância-teste.

O branco foi preparado também em triplicata, pela adição do mesmo número de gotas adicionadas às amostras, porém do solvente puro (CH₂Cl₂-VETEC).

A testemunha (padrão) foi preparada da mesma maneira, utilizando-se o fungicida comercial Benlate 500, classificado como fungicida sistêmico de

formulação pó molhável, cujo grupo químico é o Benzimidazol (benomyl-DUPONT) e cujo nome químico é metil-1-(butilcarbomoi)-2-benzimidazol carbamato. Usou-se o mesmo solvente utilizado para as substâncias-teste.

Foram feitas três repetições por tratamento. Cada repetição consistiu de um disco de papel.

2.4. Quantificação dos esporos

Para quantificação dos esporos, usou-se a Câmara Hemacytometer (FISHER- E & A) adaptada ao microscópio (ZEISS WEST GERMANY). A média dos esporos contados em 10 pontos diferentes da câmara foi multiplicada por 50.000, o que corresponde à concentração de esporos por mL. Todos os experimentos foram montados sob câmara de ventilação e esterilizados sob luz ultravioleta.

2.5. Montagem dos ensaios biológicos

A montagem do ensaio biológico foi realizada 15 dias após a repicagem dos fungos, como descrito no item 2.2. Verteram-se cerca de 10 mL de água esterilizada sobre as placas contendo os fungos. Com um pincel esterilizado, fez-se uma varredura sobre o meio e filtrou-se com gazes adaptadas ao funil de vidro. Desta suspensão filtrada de esporos foi feito o cálculo da concentração de esporos/mL como descrito no item 2.4.

Fundiu-se o meio de cultura no erlenmeyer, como descrito no item 2.2. Deixou-se que o meio esfriasse até 45°C e verteu-se a solução de esporos sobre o meio, cujo volume depende da concentração final de esporos/mL. Acrescentou-se 0,30 mg de sulfato de estreptomicina (SIGMA) para 100 mL do meio de cultura. Ainda antes de solidificar, a solução de esporos foi vertida sobre 12 placas de Petri. Após solidificação do meio de cultura nas placas de Petri, colocou-se sobre estas os discos contendo as substâncias em estudo.

Cada conjunto foi incubado à temperatura de 25°C (CÂMARA DE GERMINAÇÃO-BOD MA403-MARCONI), onde permaneceu durante os

intervalos de 24 e 48 horas, quando foram medidos os halos de inibição, como mostra a Figura 1.

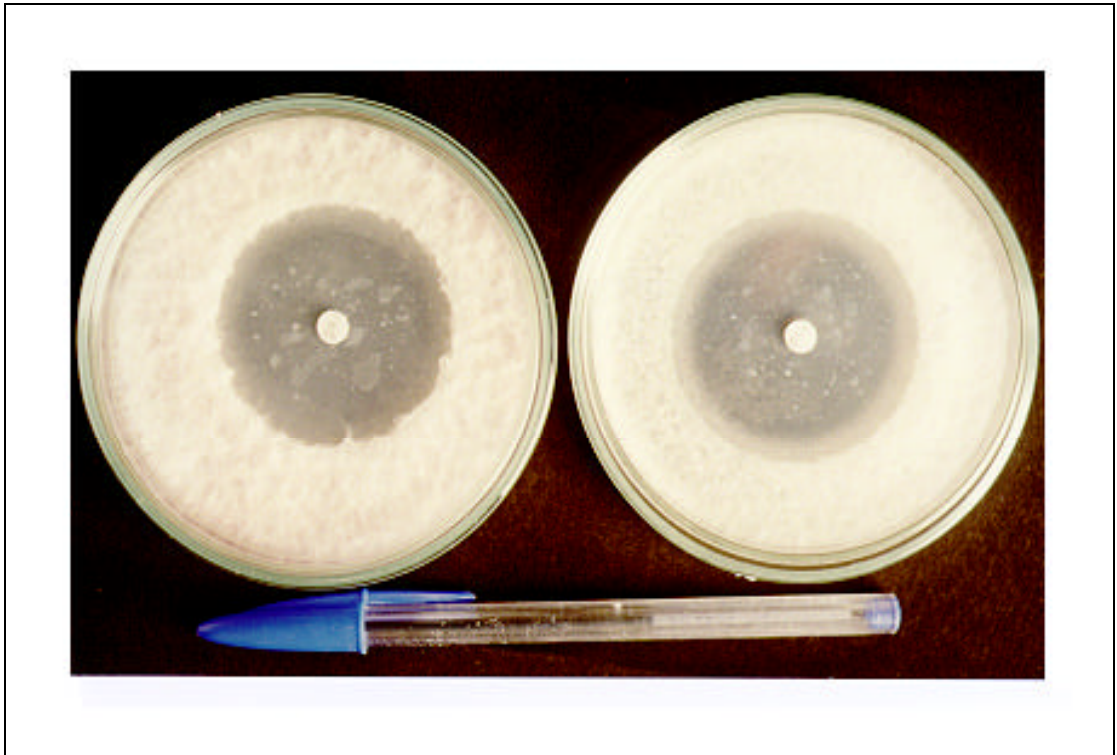


Figura 1 - Figura representativa dos ensaios biológicos com halo de inibição.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testados os compostos [IXa], [IXb], [IXc], [Xa], [Xb], [Xc], [XIIa] e [XIIc]. O composto [XIIb] não foi testado, por não ter sido obtido em quantidade suficiente.

Os álcoois [IXa], [IXb] e [IXc] não apresentaram atividade, indicando a necessidade da carbonila ou da estrutura resultante da oxidação para a manifestação da atividade testada. As medições dos halos de inibição foram realizadas em centímetros, 24 e 48 horas após a montagem dos experimentos, para cada substância analisada. Todas as amostras foram testadas na dose de 500 µg.

Dentre os compostos testados, destacam-se as bis-lactonas [XIIa], [Xc] e [XIIc], que inibiram em 77,6%, 53,7% e 38,0%, respectivamente, após 24 horas de incubação, o crescimento de *Fusarium*. Em todos os casos, o halo de inibição apresentou-se ligeiramente diminuído após 48 horas de incubação, devido ao crescimento do fungo nesse período (Quadros 3 e 4).

Quadro 3 - Diâmetro médio (cm) e percentagem de inibição do crescimento de *Fusarium oxysporum*, após 24 e 48 horas

Tratamento	Médias* 24 h	Inibição (%) 24 h	Médias* 48 h	Inibição (%) 48 h
(Padrão)	4,10 a**	100,0	4,30 a**	100,0
[XIIa]	3,18 b	77,6	3,10 b	72,1
[Xc]	2,20 c	53,7	2,13 c	49,6
[XIIc]	1,57 d	38,0	1,52 d	35,3
(Branco)	0,00 e	0,0	0,00 e	0,0
[Xa]	0,00 e	0,0	0,00 e	0,0
[Xb]	0,00 e	0,0	0,00 e	0,0
[IXa]	0,00 e	0,0	0,00 e	0,0
[IXb]	0,00 e	0,0	0,00 e	0,0
[IXc]	0,00 e	0,0	0,00 e	0,0

* Médias de três repetições. ** As médias seguidas de uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Quadro 4 - Diâmetro médio (cm) e percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gossypii* j. sp. *gloeosporioides*, após 24 e 48 horas

Tratamento	Médias*/ 24 h	Inibição (%) 24 h	Médias*/ 48 h	Inibição (%) 48 h
(Padrão)	3,65 a**	100,0	3,77 a**	100,0
[XIIa]	2,02 b	55,2	1,78 b	47,4
[XIIc]	1,60 b	43,8	1,53 b	40,8
[Xa]	1,48 b	40,6	1,52 b	40,3
[Xc]	1,15 bc	31,5	0,45 bc	12,0
(Branco)	0,00 c	0,00	0,00 c	0,00
[Xb]	0,00 c	0,00	0,00 c	0,00
[IXa]	0,00 c	0,00	0,00 c	0,00
[IXb]	0,00 c	0,00	0,00 c	0,00
[IXc]	0,00 c	0,00	0,00 c	0,00

* Médias de três repetições.** As médias seguidas de uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os dados de inibição para o crescimento do fungo *Colletotrichum* diferiram principalmente com relação ao composto [Xa], que apresentou inibição de 40,6% em 24 horas (Figura 2). Todavia, o composto [XIIa] apresentou inibição de 55,2%, valor este inferior ao apresentado para o *Fusarium*, em 24 horas. Inibição muito próxima à deste último composto foi apresentada por [XIc], uma bis-lactona contendo o grupo metileno exocíclico. Já o composto [Xc] apresentou os menores valores de inibição, sendo igual a 11,9% em 48 horas (Figura 3).

A ausência total de inibição de [Xa] e [Xb] sobre o *Fusarium* ou de [Xb] sobre o *Colletotrichum* pode estar relacionada com algum erro experimental, possivelmente no preparo da amostra. Para confirmar esses resultados, seria interessante a repetição dos ensaios.

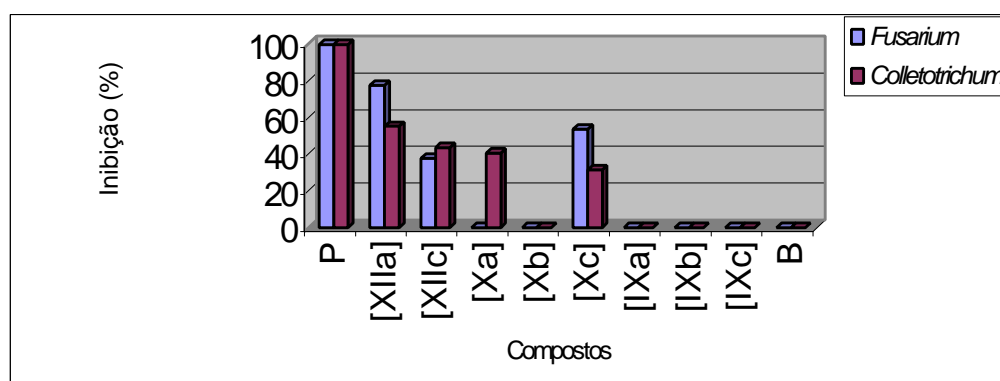


Figura 2 - Efeito dos compostos sobre a germinação dos fungos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gossypii* j. sp. *gloeosporioides gloeosporioides*, após 24 horas.

A bis-lactona [XIIa], que contém o grupo metileno, foi mais ativa que sua precursora em relação a ambos os gêneros de fungos testados, indicando a importância da dupla-ligação exocíclica. O mesmo se verificou para o composto [XIc] com relação ao gênero *Colletotrichum*, embora isto não tenha sido observado na inibição do *Fusarium*. Estes fatos sugerem algum mecanismo de

ação envolvendo adição de Michael de enzimas à dupla ligação, como mostra a Figura 4.

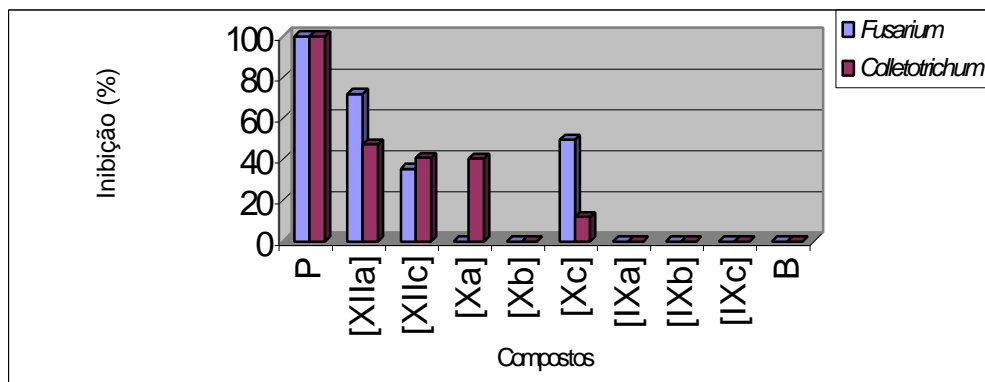


Figura 3 - Efeito dos compostos sobre a germinação dos fungos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gossypii* j. sp. *gloeosporioides gloeosporioides*, após 48 horas.

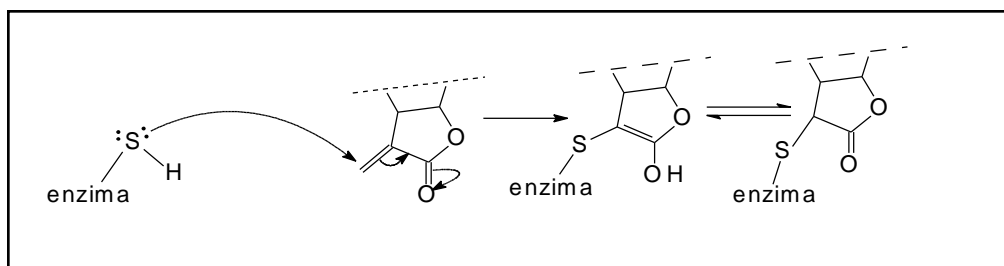


Figura 4 - Mecanismo de ação envolvendo adição de Michael de enzimas à dupla ligação.

A substituição de um hidrogênio aromático por um átomo de bromo parece reduzir a atividade das bis-lactonas sintetizadas.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Para se avançar na compreensão desses resultados, é necessária a síntese de maior número de análogos, bem como a sua obtenção em maiores quantidades, para realização de testes mais apurados.

Os testes realizados verificaram apenas a existência de alguma atividade sobre a germinação dos fungos *Fusarium* e *Colletotrichum*. Este estudo poderia ser estendido a outras classes de fungos. Outros testes poderiam ser, ainda, realizados para verificação de atividade sobre outras fases do desenvolvimento dos fungos, incluindo o efeito curativo dessas substâncias.

É preciso ressaltar que a percentagem de inibição, mesmo sobre a germinação do *Fusarium* e *Colletotrichum*, pode variar se aplicada em testes *in vivo*, uma vez que efeitos como difusão no meio (BDA) não foram considerados. Assim, os resultados de inibição podem ser ainda mais significativos.

Seria interessante verificar se esses compostos apresentam alguma ação sistêmica quando aplicados na planta. São necessários também estudos mais aprofundados sobre a absorção destas substâncias pelos fungos e seu modo de ação e, por fim, sobre a dosagem mínima requerida de cada substância.

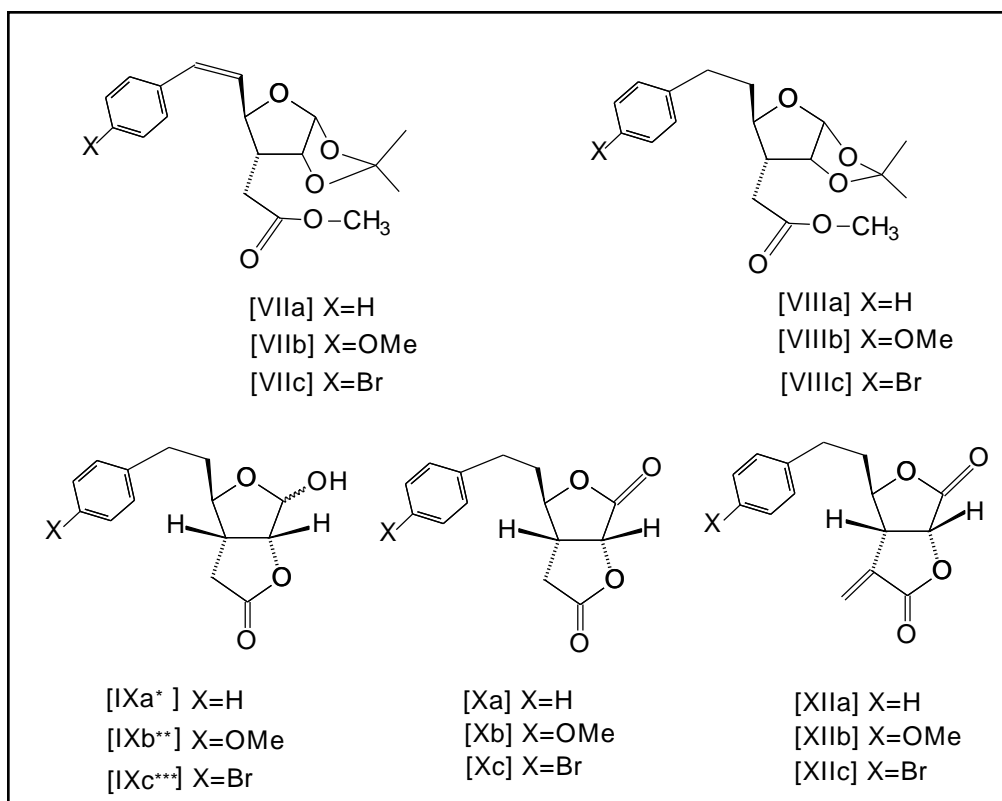
RESUMO E CONCLUSÕES

Todos os compostos sintetizados tiveram como material de partida a diacetona-D-glicose, e os seis primeiros intermediários sintéticos já foram descritos na literatura. Ainda assim, este trabalho permitiu uma caracterização mais completa destes compostos, em termos de RMN e espectrometria de massas. No desenvolvimento deste trabalho foi utilizada uma rota sintética que permitiu o sucesso na obtenção de novos compostos análogos ao avenaciolídeo, para verificação da atividade fungicida. Foram sintetizados 21 compostos inéditos, dos quais 11 foram isolados e nove apresentaram-se como misturas de isômeros, sendo um composto caracterizado apenas por infravermelho.

Os compostos [VIIb], [VIIIa], [VIIIb], [VIIIc], [Xa], [Xb], [Xc], [XIIa] e [XIIc] foram totalmente caracterizados por espectroscopia no infravermelho, de RMN de ^1H , ^{13}C e EM. Foram obtidos também os dados espectrométricos (RMN e infravermelho) dos isômeros [IXa], [IXb] e [IXc], e o composto [XIIb] foi caracterizado por infravermelho, por ter sido obtido em pequena quantidade (Figura 1).

Foi avaliada a atividade fungicida dos compostos [XIIa], [XIIc], [Xa], [Xb] e [Xc] e da mistura de isômeros [IXa], [IXb] e [IXc]. Os ensaios foram realizados utilizando-se como meio de cultura o BDA, sendo as substâncias testadas na dose de 500 μg . A toxicidade dos compostos foi avaliada sobre o

crescimento dos fungos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gossypii* j. sp. *gloeosporioides*, em concentrações conhecidas, misturados ao meio de cultura BDA, sobre o qual foram colocados os discos de papel contendo os compostos-teste. Posteriormente, foram medidos os halos de inibição, em comparação com o padrão (Benlate, fungicida comercial).



* isômeros IXa α e IXb β . ** isômeros IXb α e IXc β . *** isômeros IXc α e IXc β .

Figura 1 - Compostos inéditos sintetizados neste trabalho.

O composto [XIIa] apresentou a maior inibição para *Fusarium*, correspondendo a 77,6% em relação ao fungicida-padrão. No que se refere ao *Colletotrichum*, a percentagem de inibição do [XIIa] foi menor (55,2%), sendo, todavia, a substância mais ativa entre as demais. O composto [Xa], aparentemente sem ação fungicida contra o *Fusarium*, apresentou inibição de 40,6% para o *Colletotrichum*.

Não se obteve atividade por parte dos álcoois precursores das bis-lactonas. Este fato aponta para a importância da estrutura bis-lactônica na atividade relatada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, L. L., LUZZIO, F. A. Ultrasound in Oxochromium (VI)-Amine Mediated Oxidations-Modifications of the Corey-Suggs Oxidation for the Facile Conversion of Alcohols to Carbonyl Compounds. **Journal of Organic Chemistry**, v.54, p.5387-5390, 1989.
- AKIBA, F., CARMO, M. G. F., RIBEIRO, R. L. D. As Doenças Infecciosas das Lavouras Dentro de uma Visão Agroecológica. **Ação Ambiental**, n.5, p.30-33, 1999.
- ANDERSON, R. C., FRASER-REID, B. A Synthesis of Naturally Occuring (-)isoavenaciolide. **Tetrahedron Letters**, v.33, p.2865-2868, 1977.
- ANDERSON, R. C., FRASER-REID, B. A Synthesis of Optically Active Avenaciolide from D-glucose. The Correct Stereochemistry of the Natural Product. **Journal of the American Chemical Society**, v.97, n.13, p.3870-3871, 1975.
- ANDERSON, R. C., FRASER-REID, B. Synthesis of Bis- γ -lactones from "Diacetone glucose". Optically Active Canadensolide. **Journal of Organic Chemistry**, v.50, p.4786-4790, 1985.

- ANDERSON, R. C., FRASER-REID, B. Synthesis of Bis- γ -lactones from "Diacetone glucose". Optically Active Avenaciolide and Isoavenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**, v.50, p.4781-4786, 1985.
- ANSELME, J. P. Understanding Oxidation-Reduction in Organic Chemistry. **Journal of Chemical Education**, v.74, p.69-72, 1997.
- BARBERÁ, C. **Pesticidas Agrícolas**. 2. ed., Barcelona: Ed. Omega S.A., 1974. 569p.
- BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H. Importância das doenças de plantas. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3. ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.13-31.
- BROOKES, D., TIDD, B. K., TURNER, W. B. Avenaciolide, Antifungal Lactone from *Aspergillus avenaceus*. **Biochem. J.**, v.68, n.647, p.5385-5391, 1958.
- BURKE, S. D., JUNG, K. W., PERRI, R. F. A Short Route to Avenaciolide and Isoavenaciolide Via Radical Cyclization. **Tetrahedron Letters**, v.35, n.32, p.5841-5844, 1994.
- BURKE, S. D., PACOFSKY, G. J. The Ester Enolate Claisen Rearrangement. Total Synthesis of (\pm)-ethisolide. **Tetrahedron Letters**, v.27, n.4, p.445-448, 1986.
- BURKE, S. D., PACOFSKY, G. J., PISCOPIO, D. Synthesis of Ethisolide, Isoavenaciolide and Avenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**. v.57, p.2228-2235, 1992.
- BURKE, S. D., PACOFSKY, G. J., PISCOPIO, D. Total Synthesis of Avenaciolide. **Tetrahedron Letters**, v.27, n.29, p.3345-3348, 1986.
- CAREY, E. J., SUGGS, J. W. Pyridinium Chlorochromate. An Efficient Reagent for Oxidation of Primary and Secondary Alcohols to Carbonyl compounds. **Tetrahedron Letters**, v.31, p.2647-2650, 1975.

- CAREY, F. A., SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry. Part B: Reactions and Synthesis.** 3. ed., New York: John Wiley & Sons, 1993. 800p.
- COREY, E. J., SCHIMIDT, G. Pyridinium Chromate. An Efficient Reagent for Oxidation of Alcohols. **Tetrahedron Letters**, v.35, n.5, p.399-402, 1979.
- COSSY, J., RANAIVOSATA, J. L., BELLOSTA, V. Synthesis of (\pm) isoavenaciolide and of (\pm) ethisolide from (\pm)-7-oxabicyclo-[2,2,1]hept-5-en-2-one. **Tetrahedron**, v.52, n.2, p.629-638, 1996.
- CZERNECKI, S., GEORGOULOUS, C., STEVENS, C. L., VIJAYAKUMARAN, K. Pyridinium Dichromate Oxidation, Modifications Enhancing Its Synthetic Utility. **Tetrahedron Letters**, v.26, p.1699-1702, 1985.
- DAMON, R. E., SCLESSINGER, R. H. A High Yield Synthesis of dl-4-isoavenaciolide. **Tetrahedron Letters**. v.51, p.4551-4554, 1975.
- ELLAM, R. M., CREMLYN, R. J., FAROUK, S. Synthesis and Fungicidal Activity of N-(*p*-Sulfonyl)-N-Carbamoylureas. **Pesticide Science**, v.52, p.70-74, 1998.
- FRISVAD, J. C. High Performance Líquido Chromatographic Determination of Profilis of Mycotoxins and Other Secondary Metabolites. **Journal of Chromatography**, v.392, p.333-347, 1987.
- GELMIN, G. A., SOARES, J. P. N., ZAMARIOLLI, D. P. **Coletânea de Portaria e Informações Gerais sobre Defensivos Agrícolas e Receituário Agrônômico.** Campinas: CATI-Campinas/SP, 1986. 371p.
- GOULART, A. C. P., PAIVA, F. A., MESQUITA, A. Perdas em Trigo (*Tritium Aestivum*) Causadas por *Pyricularia oryzae*. **Fitopatol. Bras.**, v.17, p.115-117, 1992.
- HERRMANN, J. L., BERGER, M. H., SCHLESSINGER, R. H. A Total Synthesis of Racemic Avenaciolide. **Journal of the American Chemical Society**, v.101, n.6, p.1544-1549, 1979.

- ITO, Y., SUGINOME, M., MATSUNAGA, S., IWANAMI, T., MATSUMUTO, A. Palladium-catalyzed Intramolecular Addition of Trisilanes to Carbon-carbon Double Bonds. Polyol Synthesis by use of a Disilanyl Group as a Hydroseyl equivalent. **Tetrahedron Letters**, v.37, n.49, p.8887-8890, 1996.
- ITO, Y., SUGINOME, M., YAMAMOTO, Y., FUJIT, K. Diastereoselective Intramolecular bis-silylation of a Carbon-carbon Double Bond. A Highly Stereocontrolled Synthesis of (-) Avenaciolide. **J. A. Chem. Soc.**, v.177, p.9608-9609, 1995.
- KALLMERTEN, J., GOULD, T. J. A Short, Stereocontrolled Synthesis of Avenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**, v.50, p.1128-1131, 1985.
- KIMATI, H. Controle Químico. In BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3. ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 761-785.
- KREEVOY, B. Y. M. M., TAFT JR., R. W. Acid-catalyzed Hydrolysis of Acetal and Chloro-acetal. **J. Am. Chem. Soc.**, v.77, p.3146-3147, 1955.
- KRISHNAMURTHY, R., NARKUNAN, K., NGUYEN, L. Antifungal Activity of 1,3-Disubstituted Symmetrical and Unsymmetrical Thioureas. **Pesticide Science**, v.52, p.145-151, 1998.
- KRUGNER, T. L., BACCHI, L. M. A. Fungos. In BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.46-96.
- LIU, R. -S., NARKUNAN, K. An Efficient Method for Total Synthesis of Avenaciolide and Isoavenaciolide via Tungsten- π -allyl Complexes. **Chem. Commun.**, v.15, p.1521-1522, 1998.
- MAFFIA, L. A., MIZUBUTI, E. S. G. Fitopatologia \times Sociedade. **Ação Ambiental.**, n.5, p.9-12, 1999.
- MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**, 4. ed., New York: John Wiley & Sons, 1992. 1495p.

- MARTIN, T., RODRIGUEZ, C. M., MARTIN, V. S. (+) Avenaciolide and (-) Avenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**, v.61, p.8448-8452, 1996.
- MARYANOFF, B. E., REITZ, A. B., DUHL-EMSWILER, B. A. Stereochemistry of the Wittig Reaction. Effect of Nucleophilic Groups in the phosphonium Ylide. **J. Am. Chem. Soc.**, v.107, p.217-226, 1985.
- MASAMUNE, T., MURAI, A., TAKAHASHI, K., TAKETSURU, H. Cycloadditions of 3-methoxy furan with Monoactivated Dienophiles; Application to the Synthesis of (\pm) Avenaciolide. **J. C. S. Comm.**, v.1232, p.221-222, 1981.
- McDONALD, C. E., DUGGER, R. W. Formal Total Synthesis of (-) Isoavenaciolide. **Tetrahedron letters**, v.29, n.20, p.2413-2416, 1988.
- MENDES, M. A. S., FERREIRA, M. A. S. U. Fungos Patogênicos Detectados em Germoplasma Vegetal Introduzidos no Brasil de 1990 a 1992. **Fitopatol. Bras.**, v.19, n.3, p.449-454, 1994.
- MORAIS, J. C., ZANETTI, R. Surgimento de Pragas. **Ação Ambiental**. Ano II, n.4, p.17-18, 1999.
- OGAWA, S. A., CHIDA, N., TOB, T., SUWAMA, M., OHTSUKA, M. Formal Total Synthesis of (-)isoavenaciolide from L-quebrachitol. **J. Chem. Soc. Commum.**, v.14071, p.994-995, 1990.
- OMURA, K., SWERN, D. Oxidation of Alcohols by "Activated" Dimethyl Sulfoxide. A preparative, Steric and Mechanistic Study. **Tetrahedron**, v.34, p.1651-1660, 1978.
- PARKER, W. L., JOHNSON, F. The Total Synthesis of dl-avenaciolide. **J. Org. Chem.**, v.38, n.14, p.2489-2496, 1973.
- PEREIRA, J. C. R. Efeito Sinérgico do Zinco e Potássio Associados a Fungicidas no Controle do Mal-das-Folhas (*Microcyclus ulei*) da Seringeira (*Nevea* spp.). **Fitopatol. bras.**, v.17, n.4, p.368-372, 1992.

- PICININI, E. C., FERNANDES, J. M. C., IGNCZAK, J. C., AMBROSI, I. Impacto Econômico do uso do Fungicida Propiconazole na Cultura da Cevada Cervejeira. **Fitopatol. bras.**, v.20, n.3, p.434-439, 1995.
- ROSENTHAL, A., NGUYEN, L. (BENZING) Branched-Chain Sugar Nucleosides. I. 9-[deoxy-3-C-(2'-hydroxyethyl)- β -D-allofuranosyl]adenine and 9-[deoxy-3-C-(2'-hydroxyethyl)- β -D-ribofuranosyl]adenine. **The Journal of Organic Chemistry**, v.34, p.1029-1034, 1968.
- RUBINGER, M. M. M., MACEDO JR., F. C., MAIA, A. A. Estudo da Oxidação de 1,2:5,6-di-O-Isopropilideno- α -D-glicofuranose com Dicromato de Piridina em Diferentes Condições de Reação. In: XII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 1998, Ouro Preto-MG. **Resumos... Ouro Preto: SBQ**, 1998, p. 169.
- SCHMIDT, O. T. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. v.2, p.318-325. 1962.
- SCHREIBER, S. L., HOVEYDA, A. H. Synthetic Studies of the Furan-Carbonyl Photocycloaddition Reaction. A Total Synthesis of (\pm)-Avenaciolide. **J. Am. Chem. Soc.**, v.106, p.7200-7202, 1984.
- SHARMA, G. V. M., VEPACHEDU, S. R. A Simple and Stereoselective Synthesis of Avenaciolide from D-glucose. **Tetrahedron Letters**, v.31, n.34, p.4931-4932, 1990.
- SILVERSTEIN, R. M. B., BASSLER, G. C., MORRIL, T. C. **Identificação Espectométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed., Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1991. 387p.
- SOLOMONS, T. W. G. **Química Orgânica**. 6. ed., v.2, Rio de Janeiro: Ed. afiliada, 1996. 325p.
- SUZUKI, K., MIYAZAWA, M., SHIMAZAKI, M., TSUCHIHASHI, G. I. Stereo-divergent Asymmetric Total Synthesis of Avenaciolide and Isoavenaciolide. Complete Reserval of Stereoselectivity in Reducting of 2-Vinyl Aldols With/without Trimethylsilyl Directing Group. **Tetrahedron Letters**, v.27, n.51, p.6237-6240, 1986.

SUZUKI, K., MIYAZAWA, M., SHIMAZAKI, M., TSUCHIHASHI, G. I. Silicon-directed Stereoselective Synthesis of 1-vinyl-1,3-diols-stereo Divergence with and without the Silyl Group Related to the Synthesis of Avenaciolide and Isoavenaciolide. **Tetrahedron**, v.44, n.13, p.4061-4072, 1988.

TEIXEIRA, R. R. **Estudo da Atividade Inseticida e dos Constituintes Voláteis das Partes Aéreas (folhas e cascas) de *Gallesia gorazema* Moq. por Cromatografia em Fase Gasosa e Espectrometria de Massas.** Viçosa, MG: UFV, 1996. 104p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.

UDDING, J. H., TUIJP, K. C. J. M., VAN ZANDEN, M. N. A., HIEMSTRA, H., SPECKAMP, W. N. Transition Metal-Catalyzed, Chlorine-transfer Radical Cyclizations of -2-(3-alken-1-oxy)-2-chloroacetats. Formal Total Synthesis of Avenaciolide e Isoavenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**, v.59, p.1993-2003, 1994.

VALE, F. X. R., ZAMBOLIM, L. **Controle de Doenças de Plantas: Grandes culturas.** Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitopatologia, Brasília-DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, v.2, 1997. il.

WEE, A. G. H. Total Synthesis of (-) Isoavenaciolide and (-) Ethisolide. **Tetrahedron**, v.46, n.15, p.5065-5076, 1990.

ZAMBOLIM, L. Fungicidas: Benefícios × Riscos. **Ação Ambiental**. n.5, p.24-27, 1999.