

**TIAGO COELHO DE ASSIS LAGE**

**SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO  
AVENACIOLÍDEO E DE BIS- $\gamma$ -LACTONAS  
ANÁLOGAS COM CADEIAS LATERAIS ALIFÁTICAS**

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

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2010**

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

T

L174s  
2010

Lage, Tiago Coelho de Assis, 1981-

Síntese e atividade antifúngica do avenaciolídeo e de  
bis- $\gamma$ -lactonas análogas com cadeias laterais alifáticas /  
Tiago Coelho de Assis Lage. – Viçosa, MG, 2010.  
xi, 168f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Mayura Marques Magalhães Rubinger.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 149-160.

1. Compostos alifáticos - Síntese. 2. Lactonas - Síntese.  
3. Fungicidas. 4. Ensaio biológico.  
5. *Colletotrichum gloeosporioides*. 6. *Fusarium solani*.  
7. *Aspergillus flavus*. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 22.ed. 547.4

**TIAGO COELHO DE ASSIS LAGE**

**SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO  
AVENACIOLÍDEO E DE BIS- $\gamma$ -LACTONAS  
ANÁLOGAS COM CADEIAS LATERAIS ALIFÁTICAS**

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

APROVADA: 25 de fevereiro de 2010.

---

Pedro de A. Castelo Branco

---

Antônio Jacinto Demuner

---

Sergio Antonio Fernandes

---

Laercio Zambolim

(Coorientador)

(Coorientador)

---

Mayura Marques Magalhães Rubinger  
(Orientadora)

Dedico este trabalho aos meu pais  
José Ricardo e Marina pelo amor que sempre  
me devotaram e a minha Tia Milú pelo constante  
incentivo.

“O degrau de uma escada não serve simplesmente para que alguém permaneça em cima dele, destina-se a sustentar o pé de um homem por tempo suficiente para que ele coloque o outro um pouco mais alto”.

**Thomas Henry Huxley (Biólogo Inglês, 1825-1895).**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus guias, que me iluminaram durante toda a minha vida.

Ao meu pai José Ricardo por todo apoio e exemplo e a minha mãe Marina, meu eterno porto seguro, por todo o carinho e compreensão.

Aos meus irmãos Matheus e Marco Túlio pelo eterno companheirismo.

A minha Tia Milú, que por toda a minha vida se preocupou com a minha educação e me deu a base necessária para que eu pudesse chegar aqui.

Não poderia deixar de agradecer aos meus primos Camila e João Mariano, que nos momentos difíceis sempre me ajudaram a me reerguer e seguir em frente.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, por possibilitarem o desenvolvimento deste trabalho.

Ao CNPq pela concessão de bolsas de mestrado e à FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

A Professora e orientadora Mayura Rubinger, que com toda a sua paciência, ética e sabedoria me ensinou muito mais do que fazer Ciência.

Ao Professor Sergio Fernandes pela coorientação e por ter me ensinado sobre as técnicas de RMN.

Ao professor Laércio Zambolim pela grande amizade e orientação através dos tortuosos caminhos dos testes biológicos.

Aos professores Luiz Cláudio Barbosa e Antonio Jacinto Demuner pela permissão da utilização dos equipamentos do LASA para obtenção dos espectros de massa e das temperaturas de fusão.

Aos professores do Centro Universitário de Caratinga, Ivoni Reis, Luisa Del Carmen, que sempre me incentivaram a percorrer os caminhos da ciência. Ao Professor e amigo Paulo Tostes, o qual se tornou um exemplo de dedicação e profissionalismo.

Aos técnicos Márcio, José Luis e Geraldo pela obtenção dos espectros no infravermelho, massas, e análises elementares.

Às funcionárias do DEQ, Marisa, Karine, Irani e Silvana por toda atenção e carisma com que exercem seus trabalhos.

A Dona Onesina, que sempre com jeito de mãe me atendeu tão carinhosamente.

Aos amigos que fiz no Departamento e se tornaram irmãos: Ricardo Montanari, Guilherme Rodrigues, Katalin e Firmino, Vivianne Molica, Lílian Berliini, Leandro Carvalho.

Agradeço em especial ao meu amigo, Eder Tavares, que sempre me ajudou e me incentivou e tenho como exemplo de um grande químico e pessoa.

À minha “irmã” Nath, que por dois anos me aturou como colega de bancada e amigo.

Às minhas grandes amigas Juliana, Vânia, Anna Isabel, Shisley e Eleonice, que há 8 anos me acompanham na jornada acadêmica.

Aos amigos do Laboratório 305: Elba, Tiago Paschoal, Thayane, Simone, Paula, Letícia, Mariana, Dayana, Júnior, Gaby e Thaís pelo companheirismo e por compartilhar comigo meus momentos tristes e felizes ali dentro.

Aos amigos do Laboratório de Proteção de Plantas por toda a ajuda durante os ensaios Biológicos.

A Claudia Mamani, por quem tenho um grande carinho e pela ajuda nos testes estatísticos e sugestões.

Aos amigos de República: Chipan, Pedro, Igor, Jaca, Guto, Renan e Léo por todo o companheirismo.

Ao amigo Marcão que sempre me incentivou a seguir a carreira acadêmica.

## BIOGRAFIA

TIAGO COELHO DE ASSIS LAGE, filho de José Ricardo Guerra Lage e Marina Ribeiro Coelho Júnior Lage, nasceu em Capelinha, Minas Gerais, em 13 de março de 1981.

Em 2000 iniciou o curso técnico em Química Industrial no CET-CEFET/ MG unidade de Timóteo, onde concluiu seu curso em 2001.

Em 2002 ingressou no Centro Universitário de Caratinga, onde concluiu o curso de Licenciatura Plena em Química em julho de 2005.

A partir de agosto de 2005, iniciou o curso de especialização *lato sensu* em Ensino de Química nesta mesma Instituição, tendo concluído o curso em agosto de 2006.

Em março de 2008 ingressou na Universidade Federal de Viçosa para o Curso de Pós-Graduação *stricto sensu* em Agroquímica, tendo como área de concentração a Síntese de Agroquímicos.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....</b>	<b>IX</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>XX</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XI</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1 – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO COM CADEIAS LATERAIS ALIFÁTICAS.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>9</b>
1.2.1. TRATAMENTO DE REAGENTES E SOLVENTES.....	9
1.2.1.1. Secagem de Cloreto de Cálcio.....	9
1.2.1.2. Secagem do Carbonato de Potássio .....	9
1.2.1.3. Tratamento da Acetona .....	9
1.2.1.4. Tratamento de Diclorometano .....	9
1.2.1.5. Tratamento de Tetraidrofurano (THF) .....	10
1.2.1.6. Tratamento de Tolueno .....	10
1.2.1.7. Tratamento de Éter Dietílico.....	10
1.2.1.8. Tratamento de Ácido Acético .....	11
1.2.1.10. Ativação da Peneira Molecular 3Å .....	11
1.2.2. PREPARO DE REAGENTES.....	12
1.2.2.1. Preparo do Oxidante Dicromato de Piridínio (PDC).....	12
1.2.2.2. Preparo do Reagente de Jones .....	12
1.2.3. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS.....	12
1.2.3.1. Cromatografia em Camada Delgada .....	12
1.2.3.2. Cromatografia em Coluna.....	13
1.2.4. APARELHOS E EQUIPAMENTOS.....	13
1.2.4.1. Temperatura de Fusão.....	13
1.2.4.2. Rotação Específica .....	13
1.2.4.3. Análise Elementar .....	14
1.2.4.4. Demais Equipamentos .....	14
1.2.5. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.....	14
1.2.5.1. Espectroscopia no Infravermelho .....	14
1.2.5.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	15
1.2.5.3. Espectrometria de Massas.....	15
1.2.6. DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL.....	16
1.2.6.1. Síntese de 1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-glicofuranose [2].....	16
1.2.6.2. Síntese de 1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-ribo-exofuran-3-ulose [3].....	17
1.2.6.3. Síntese de 3-(E,Z)-C-(carbometoximetilideno)-3-desoxi-1,2:5,6-di-O- isopropilideno- $\alpha$ -D-alofuranose [4].....	19
1.2.6.4. Síntese de 3-C-(carbometoximetil)-3-desoxi-1,2:5,6-di-O-isopropilideno-a-D- alofuranose [5].....	20

1.2.6.5. Síntese de 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-alofuranose [6].....	21
1.2.6.6. Síntese de 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno-a-D-ribofuranose [7] .....	22
1.2.6.7. Preparo dos sais de Wittig .....	23
1.2.6.8. Síntese de (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-{1''-[(Z)-alquenil]-4',5'-isopropilidenodioxitetraidrofurano-3'-il} acetatos de metila [8A] e [8B] .....	23
1.2.6.9. Síntese de (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-(alquil-4',5'-isopropilidenodioxitetraidrofurano-3'-il) acetatos de metila [9A] e [9B] .....	28
1.2.6.10. Síntese de (3R,5R,6R,8S)-6-alquil-8-hidroxi-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3-onas [10 $\alpha$ ] e (3R,5R,6R,8R)-6-alquil-8-hidroxi-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3-onas [10 $\beta$ ].....	31
1.2.6.11. Síntese de (1R,5R,6R)-6-alquil-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-dionas [11]..	35
1.2.6.12. Síntese de (1R,5R,6R)-6-alquil-4-metilideno-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-dionas [13] .....	38
<b>1.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
1.3.1 SÍNTESE DE 1,2:5,6-DI-O-ISOPROPILIDENO- $\alpha$ -D-GLICOFURANOSE [2] .....	43
1.3.2 SÍNTESE DE 1,2:5,6-DI-O-ISOPROPILIDENO- $\alpha$ -D-RIBO-EXOFURANO-3-ULOSE [3] .....	47
1.3.3 SÍNTESE DE 3-(E,Z)-C-(CARBOMETOXIMETILIDENO)-3-DESOXI-1,2:5,6-DI-O-ISOPROPILIDENO- $\alpha$ -D-ALOFURANOS [4] .....	52
1.3.4 SÍNTESE DE 3-C-(CARBOMETOXIMETIL)-3-DESOXI-1,2:5,6-DI-O-ISOPROPILIDENO- $\alpha$ -D-ALOFURANOSE [5] .....	566
1.3.5 SÍNTESE DE 3-DESOXI-3-C-(CARBOMETOXIMETIL)-1,2-O-ISOPROPILIDENO- $\alpha$ -D-ALOFURANOSE [6] .....	60
1.3.6 SÍNTESE DE 3-DESOXI-3-C-(CARBOMETOXIMETIL)-1,2-O-ISOPROPILIDENO- $\alpha$ -D-RIBOFURANOSE [7] .....	63
1.3.7. PREPARO DOS SAIS DE WITTIG .....	65
1.3.8. SÍNTESE DE (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-{1''-[(Z)-ALQUENIL]-4',5'-ISOPROPILIDENODIOXITETRAIDROFURANO-3'-IL} ACETATOS DE METILA [8] .....	66
1.3.9. SÍNTESE DE (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-(ALQUIL-4',5'-ISOPROPILIDENODIOXITETRAIDROFURANO-3'-IL) ACETATOS DE METILA [9] .....	78
1.3.10. SÍNTESE DE (3R,5R,6R,8S)-6-ALQUIL-8-HIDROXI-2,7-DIOXABICLO[3.3.0]OCTANO-3-ONAS [10 $\alpha$ ] E (3R,5R,6R,8R)-6-ALQUIL-8-HIDROXI-2,7-DIOXABICLO[3.3.0]OCTANO-3-ONAS [10 $\beta$ ] .....	85
1.3.11. SÍNTESE DE (1R,5R,6R)-6-ALQUIL-2,7-DIOXABICLO[3.3.0]OCTANO-3,8-DIONA [11] .....	95
1.3.12. SÍNTESE DE (1R,5R,6R)-6-ALQUIL-4-METILIDENO-2,7-DIOXABICLO[3.3.0]OCTANO-3,8-DIONAS [13] .....	103
1.4. Conclusões.....	113

## **CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO AVENACIOLÍDEO E DAS SUBSTÂNCIAS ANÁLOGAS .....**

<b>2.1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>114</b>
<b>2.2. REVISÃO DE LITERATURA SOBRE OS FUNGOS SELECIONADOS PARA ESTUDO.....</b>	<b>122</b>
<b>2.3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>126</b>
2.3.1. MEIO DE CULTURA E OUTROS MATERIAIS.....	126
2.3.2. ESTERILIZAÇÃO E DESINFECÇÃO DOS MATERIAIS E MEIOS DE CULTURA.....	126
2.3.3. PREPARO DO MEIO DE CULTURA .....	127
2.3.4. REPLICAGEM DOS FUNGOS .....	127
2.3.5. MONTAGEM DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS .....	128
<b>2.4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>133</b>
<b>2.5. Conclusões.....</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\nu$	Estiramento
$\delta$	Deformação angular ou deslocamento químico (ppm)
$\bar{\nu}$	Número de onda
AcOH	Ácido acético
BDA	Batata-Dextrose-Ágar
CCD	Cromatografia em camada delgada
COSY	“Correlated Spectroscopy”
D	Dupleto
DCM	Diclorometano
Dd	Dupleto duplo
Ddt	Duplo dupleto triplo
Dt	Dupleto triplo
HETCOR	“Heteronuclear Chemical Shift Correlation”
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
$J$	Constante de acoplamento
M	Multiplete
MM	Massa Molar
PDC	Dicromato de piridínio
Tf	Temperatura de fusão
R	Grupo alquila
Rf	Fator de retenção em cromatografia em camada delgada
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S	Simpleto
SI	Sinal largo
T	Triplete
Td	Triplete duplo

## RESUMO

LAGE, Tiago Coelho de Assis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Síntese e Atividade Antifúngica do Avenaciolídeo e de bis- $\gamma$ -lactonas Análogas com Cadeias Laterais Alifáticas.** Orientadora: Mayura Marques Magalhães Rubinger. Coorientadores: Sergio Antonio Fernandes e Laércio Zambolim.

O avenaciolídeo é um produto natural com um esqueleto bis- $\gamma$ -lactônico  $\alpha,\beta$ -insaturado e uma cadeia lateral linear de oito átomos de carbono. Utilizando o *Chiral pool* como estratégia de síntese, a partir da D-glicose, neste trabalho foram sintetizados dois análogos ao avenaciolídeo com cadeias laterais lineares alifáticas contendo 11 e 17 átomos de carbono, [A] e [B], respectivamente. As diferentes cadeias laterais foram introduzidas por meio de reações de Wittig entre os íldeos apropriados e 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-ribofuranose. Após a hidrogenação catalítica dos produtos de Wittig, o esqueleto bis- $\gamma$ -lactônico foi obtido através de hidrólise ácida seguida de oxidação de Jones. A dupla ligação exocíclica conjugada à carbonila característica do esqueleto avenaciolídeo foi acrescentada às bis- $\gamma$ -lactonas por reações de metilenação descarboxilativa. Foram testadas as atividades antifúngicas dos análogos e do próprio avenaciolídeo através do método de Disco-Difusão contra *Colletotrichum gloesporioides*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium solani*. Pelo método conhecido como *Poisoned Food* foi estudada, ainda, a atividade das bis- $\gamma$ -lactonas contra *A. flavus*. O avenaciolídeo foi mais ativo que os análogos sintéticos, sendo [A] mais ativo que [B] em relação aos três fungos testados. As bis- $\gamma$ -lactonas foram mais ativas contra *C. gloesporioides* e menos ativas contra *F. solani*. Os valores de IC<sub>50</sub> determinados para a atividade do avenaciolídeo e de [A] e [B] contra *A. flavus* foram de 0,11; 0,24 e 1,93 mmol.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os resultados indicaram que cadeias laterais mais extensas que a do avenaciolídeo reduzem a atividade das bis- $\gamma$ -lactonas. O avenaciolídeo tem potencial para ser empregado como agroquímico, apresentando atividades crescentes contra *F. solani*, *A. flavus* e *C. gloesporioides*, nesta ordem

## ABSTRACT

LAGE, Tiago Coelho de Assis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, february of 2010. **Synthesis and Antifungal Activity of Avenaciolide and bis- $\gamma$ -lactones with aliphatic lateral chains.** Adviser: Mayura Marques Magalhães Rubinger. Co-advisers: Sergio Antonio Fernandes and Laercio Zambolim.

Avenaciolide is a natural product with an  $\alpha,\beta$ -unsaturated bis- $\gamma$ -lactone structure and a linear lateral chain with eight carbon atoms. Using the *Chiral pool* strategy, two avenaciolide analogs were prepared from D-glucose, containing linear lateral chains of 11 and 17 carbon atoms, [A] and [B], respectively. The different lateral chains were added *via* Wittig reactions of the appropriated ylides and 3-desoxy-3-C-(carbomethoxymethyl)-1,2-O-isopropylidene- $\alpha$ -D-ribofuranose. The bis- $\gamma$ -lactone skeleton was obtained after catalytic hydrogenation of the Wittig products followed by acid hydrolysis and Jones oxidation. The exocyclic double bond was added to the bis- $\gamma$ -lactones by decarboxylative methylenation reactions. The antifungal activities of avenaciolide and the new analogs were tested *in vitro* against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani*, using the disc diffusion method. The bis- $\gamma$ -lactones activities against *A. flavus* were further investigated by the *Poisoned Food* method. Avenaciolide was more active than their synthetic analogs, [A] being more active than [B], with respect to the three fungi tested. The IC<sub>50</sub> of avenaciolide, [A] and [B] values against *A. flavus* were 0.11, 0.24 and 1.93 mmol.L<sup>-1</sup>, respectively. These results indicated that the increase of the lateral chain length with respect to avenaciolide reduces the antifungal activity of the bis- $\gamma$ -lactones. Avenaciolide shows good agrochemical potential for the control of *F. solani*, *A. flavus* and *C. gloeosporioides* (ascending order of activity).

## INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento das civilizações sempre esteve associado ao crescimento da agricultura, devido à necessidade de produzir mais alimentos em uma área cada vez mais restrita (DAYAN, *et al.*, 2009; DEISING, *et al.*, 2008).

Por milhares de anos, as práticas agrícolas que visaram proteger as colheitas encontraram assistência na rotação de culturas para o controle natural de pragas. No entanto, o conceito de “pesticidas naturais” surgiu junto com o desenvolvimento da agricultura e relatos deste conceito datam desde 400 D.C. (DAYAN, *et al.* 2009).

Para garantir a segurança alimentar da população mundial, o setor agrícola deve acompanhar seu crescimento. Como a ocupação humana compete com a de áreas cultiváveis, torna-se necessária a otimização da produção das áreas já utilizadas para plantio evitando o desmatamento de novas áreas. Esse processo depende de diversos fatores, dentre eles a proteção das áreas cultivadas e da safra contra o ataque de pragas e doenças.

Ao final do século XIX e início do século XX, esquemas de proteção química de plantas foram desenvolvidos com a utilização de enxofre e de compostos de cobre para o controle de doenças da videira. Estes tipos de tratamentos levaram ao estabelecimento de uma indústria específica que então desenvolveu fungicidas modernos e eficientes, pertencendo a diversas classes químicas, diferindo no seu modo de ação e forma de absorção pelas plantas (DEISING, *et al.*, 2008).

Assim, o sucesso das modernas práticas agrícolas é devido, em parte, à descoberta e aprovação de produtos químicos para controle de pragas e doenças. Na verdade, o enorme aumento na produtividade das culturas não teria sido possível sem a contribuição dos agroquímicos sintéticos (DAYAN, *et al.* 2009).

Todo processo para a criação de um agroquímico sintético envolve vários anos de pesquisa e para que este chegue até o mercado o processo de pesquisa envolve o custo de algumas dezenas de milhões de dólares. Segundo BARBOSA (2004), o número médio de compostos que precisam ser sintetizados para que apenas um chegue ao mercado é de 22500.

Dentro do conceito de fungicidas naturais, o avenaciolídeo aparece como uma alternativa para a pesquisa por novos agroquímicos. Sua comprovada ação antifúngica (BROOKES, TIDD e TURNER, 1963; CASTELO-BRANCO *et al.* 2009) oferece uma oportunidade pela busca de compostos análogos, de forma a compreender e potencializar a sua atividade.

Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram a: síntese de (1*R*,5*R*,6*R*)-4-metilideno-6-undecil-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-diona e (1*R*,5*R*,6*R*)-6-heptadecil-4-metilideno-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-diona, substâncias análogas ao avenaciolídeo; caracterização destes compostos e de seus intermediários sintéticos por análise elementar, espectroscopias no infravermelho e de ressonância magnética nuclear, espectrometria de massas, temperaturas de fusão e rotação específica; avaliação da atividade antifúngica destes compostos e do avenaciolídeo contra *Colletotrichum gloesporioides*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium solani*; avaliação da influência da extensão da cadeia lateral sobre a atividade antifúngica exibida por estas bis- $\gamma$ -lactonas.

Este trabalho está organizado em dois capítulos. O primeiro descreve a síntese e a caracterização de todos os compostos obtidos e o segundo descreve os estudos de atividade antifúngica das bis- $\gamma$ -lactonas.

## CAPÍTULO 1

### SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS ANÁLOGOS AO AVENACIOLÍDEO COM CADEIAS LATERAIS ALIFÁTICAS

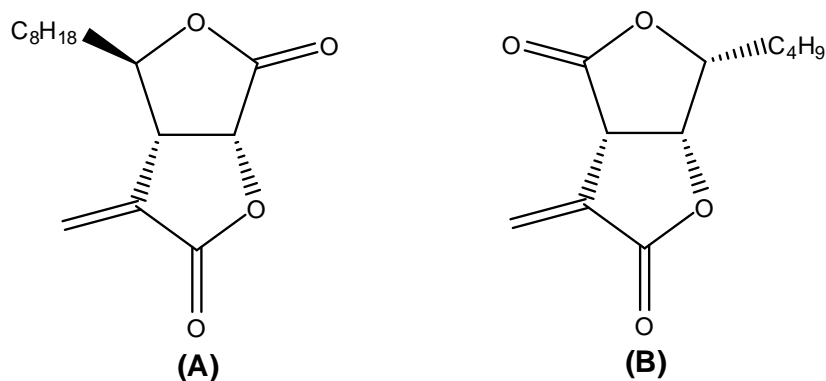
#### 1.1. INTRODUÇÃO

A abundância e alta qualidade de alimentos nos países desenvolvidos não dispensaram estudos para o aumento da produtividade agrícola. Preocupações sobre o impacto potencial de pesticidas sobre o ambiente e o desenvolvimento de resistência dos patógenos aos agroquímicos em uso tornou-se uma fronteira para a produção e pesquisa por novos compostos.

Dentro deste contexto, as  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactonas despontam como um grupo de derivados de produtos naturais com significantes atividades biológicas. Desde as mais simples às mais complexas lactonas sesquiterpênicas, todas as  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactonas exibem algum tipo de atividade, seja ela, citotóxica, anti-inflamatória, fitotóxica ou antimicrobial (HOFFMANN e RABE, 1985) .

Em razão de seu amplo espectro de atividades biológicas e de suas interessantes características estruturais, as  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactonas representam desafios científicos que refletem o grande número de investigações sobre estes heterociclos (GRIECO, 1975)

O avenaciolídeo é uma  $\alpha$ -metileno-bis- $\gamma$ -butirolactona com uma cadeia lateral de oito átomos de carbono (Figura 1.1). Foi isolado de *Aspergillus avenaceus* por BROOKES, TIDD e TURNER (1963), e apresenta atividade biológica. Segundo esses autores, o avenaciolídeo é uma substância antifúngica e bactericida, sendo ativo contra *Botrytis allii* e *Penicillium gladioli* e também contra *Bacillus subtilis*.



**Figura 1.1. (A)** Avenaciólídeo, isolado de *Aspergillus avenaceus*. **(B)** Canadensiolídeo, isolado de *Penicillium canadense*.

O modo de ação do avenaciólídeo como substância antifúngica ainda não foi totalmente desvendado. MAGATON *et al.* (2007) sugerem que de uma forma geral o avenaciólídeo atue se ligando a grupos –SH das enzimas através da adição de Michael ao seu grupo metilênico exocíclico.

No entanto a cadeia lateral presente nesta molécula também desempenha um papel fundamental em sua atividade biológica. Segundo MEYER e VIGNAIS, (1973), o avenaciólídeo inibe o transporte de glutamato através de membranas de mitocôndrias de ratos e a cadeia lateral pode auxiliar na adesão da molécula à membrana de forma que favoreça espacialmente a reação entre o grupo metilênico e os grupos tióis das enzimas.

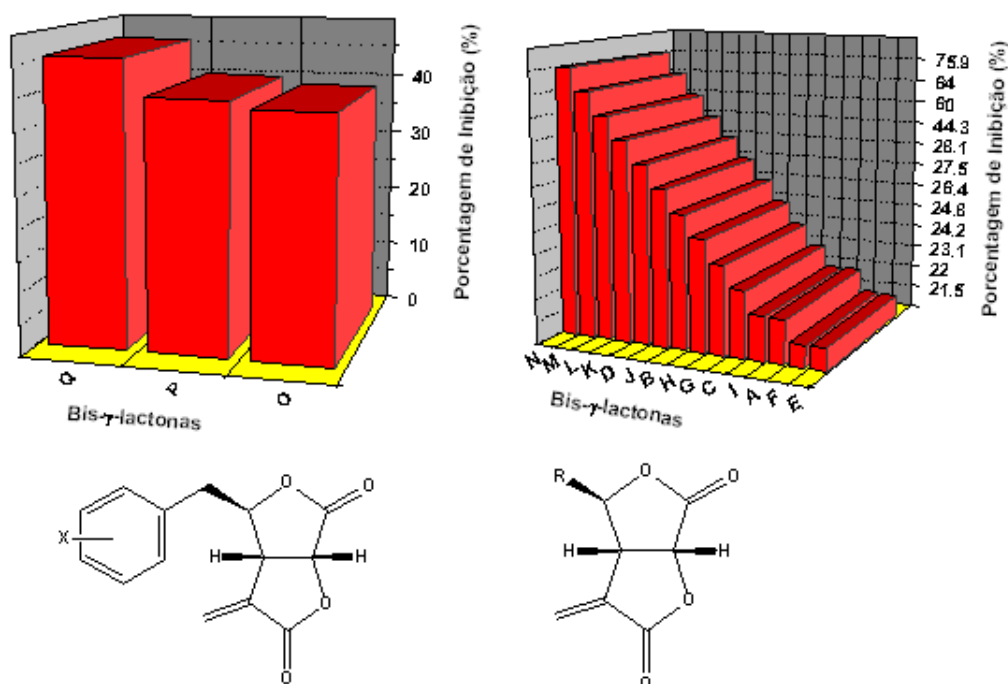
Com o objetivo de avaliar a atividade biológica desta substância, alguns autores já testaram a atividade antifúngica de compostos análogos ao avenaciólídeo e os seus resultados mostraram que a cadeia lateral realmente tem influência sobre a atividade antifúngica das bis- $\gamma$ -lactonas (PEREIRA, 2000; MAGATON, *et al.* 2007; CASTELO-BRANCO *et al.* 2007; CASTELO-BRANCO, *et al.* 2009; BARROS, 2007).

A Figura 1.2 apresenta um levantamento bibliográfico sobre as substâncias análogas ao avenaciólídeo sintetizadas por estes autores, e mostra uma relação entre a atividade antifúngica contra *Colletotrichum gloesporioides* e a estrutura dos análogos com diversas cadeias laterais.

Usando diferentes condições experimentais, MAGATON (2003) e BARROS (2007) observaram que o aumento da cadeia lateral de dois até sete átomos de carbono propiciava um aumento da atividade antifúngica dos análogos alifáticos. Na Figura 1.2 pode-se observar essa relação através dos compostos K, L, M, N, O, P e Q, onde N é o próprio avenaciolídeo. Não obstante, esses autores avaliaram apenas a influencia de cadeias alifáticas de dois a oito átomos de carbono, sobre o crescimento de *Colletotrichum gloesporioides*. Ainda não foi observada a influência de uma cadeia lateral mais extensa que a cadeia lateral do avenaciolídeo. A preparação e avaliação da atividade de análogos com cadeias longas poderia esclarecer até que ponto o aumento da cadeia melhora a atividade dessas bis- $\gamma$ -lactonas.

*Colletotrichum gloesporioides* - 100 ppm

*Colletotrichum gloesporioides* - 3000 ppm



**Figura 1.2.** Relação qualitativa entre a estrutura e atividade dos análogos ai avenaciolídeo testados contra *Colletotrichum gloesporioides*. (A) X = H; (B) X = 2-Cl; (C) X = 3-Cl; (D) X = 4-Cl; (E) X = 3-Br; (F) X = 4-F; (G) X = 4CF<sub>3</sub>; (H) X = 4-CH<sub>3</sub>; (I) X = 3-OCH<sub>3</sub>; (J) X = 4-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; (K) R = C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>; (L) R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>; (M) R = 3-metilbutil; (N) R = C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>; (O) R = C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>; (P) R = C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>; (Q) R = C<sub>7</sub>H<sub>15</sub> (MAGATON, *et al.* 2003; CASTELO-BRANCO, 2005; CASTELO-BRANCO, *et al.* 2007, CASTELO-BRANCO, *et al.* 2009).

O canadensolídeo (Figura 1.1) é outra bis- $\gamma$ -lactona natural isolada de *Penicillium canadense* (HON e HSIEH, 2006). Estudos biossintéticos com [1,2- $^{13}\text{C}$ ] acetato e [2,3- $^{13}\text{C}$ ] succinato sugerem que o canadensolídeo se origina através da condensação do grupo  $\alpha$ -metileno do ácido graxo e do grupo carbonila do ácido oxaloacético para gerar o ácido hexilcítrico. A descarboxilação do ácido italcônico correspondente e posterior hidroxilação leva ao canadensolídeo, indicando que este composto faz parte do ciclo do ácido cítrico nas células fúngicas. Estudos semelhantes com [1- $^{13}\text{C}$ ] e [2- $^{13}\text{C}$ ] acetato, sugerem uma biossíntese similar para o avenaciolídeo (HANSON, 2002).

Diversas propostas para sínteses em laboratório foram publicadas desde a descoberta da atividade biológica do avenaciolídeo. PARKER e JOHNSON em 1973 sintetizaram o avenaciolídeo como uma mistura racêmica através de uma reação de descarboxilação acilativa do ácido tricarbálico com anidrido nonanóico. Parte deste trabalho exerce uma grande influência nas publicações que se seguiram, não só por sua importância histórica. Uma de suas etapas é utilizada até os dias de hoje como forma de introdução do grupo metileno exocíclico no esqueleto bis- $\gamma$ -lactônico, através do tratamento da bislactona com carbonato de metilmetoximagnésio e posteriormente com formaldeído e dietilamina em solução tampão de ácido acético e acetato produzindo o avenaciolídeo e análogos (CASTELO-BRANCO, 2005).

No trabalho de revisão realizado por MARTÍN *et al.* (1998) encontram-se várias estratégias de síntese. As propostas variam desde o material de partida até os tipos de reações envolvidas em cada etapa de produção dos precursores. As diversas possibilidades de síntese do avenaciolídeo que já foram publicadas são elegantes, algumas mais complexas, outras mais simples. A proposta deste trabalho se baseou em uma estratégia de síntese assimétrica conhecida como “Chiral Pool” e que já foi sistematizada e testada por outros autores, onde o produto de partida é um carboidrato (D-Glicose) enantiomericamente puro.

Isto permite a preparação exclusiva do (-)-avenaciolídeo, que tem a estrutura exata do produto natural (CASTELO-BRANCO, *et al.* 2009; BARROS, 2008; ANDERSON e FRASER-REID, 1975; ANDERSON e FRASER-REID, 1985; SHARMA e VEPACHEDU, 1990). Por essa estratégia sintética já foram preparados diversos análogos, que apresentaram a mesma estereoquímica relativa do (-)-avenaciolídeo (PEREIRA, 2000; BARROS, 2007; MAGATON *et al.* 2007; CASTELO-BRANCO *et al.* 2007; CASTELO-BRANCO *et al.* 2009)

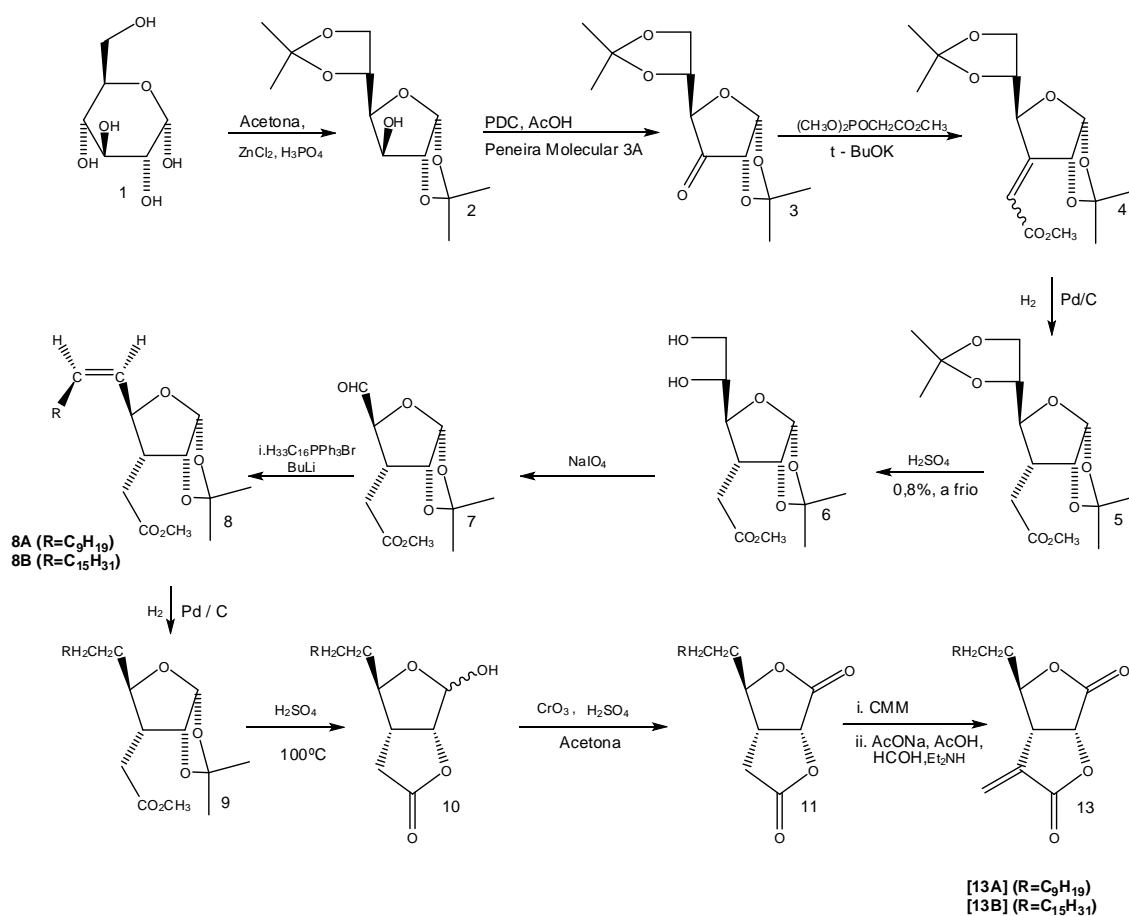
A estereoquímica relativa nesse caso é importante, pois enantiômeros podem apresentar diferentes ações sobre os organismos vivos, levando a diferentes sabores, odores, toxicidades e ações biológicas. Tal enantiodiferenciação é baseada nas diferentes propriedades físicas dos diastereoisômeros formados a partir da interação entre os enantiômeros de um substrato e os receptores biológicos, que são macromoléculas quirais (PINHEIRO & FERREIRA, 1998). Dessa forma é interessante a obtenção das substâncias análogas ao (-)-avenaciolídeo através de uma rota que resulte na mesma configuração do produto natural isolado para possibilitar a comparação.

A estratégia de síntese utilizada neste trabalho (Figura 1.3) teve início com a preparação do diacetónídeo [2] através da reação de proteção da D-glicose [1], de acordo com a metodologia descrita por SCHMIDT (1962). O composto [2] foi então oxidado com PDC (dicromato de piridínio) para formar a cetona [3], que foi imediatamente submetida a uma reação de olefinação, conhecida como reação de Wittig-Horner, para formar uma mistura *E/Z* dos ésteres [4].

A hidrogenação dos ésteres [4] forneceu o produto saturado [5] que, após ser submetido a hidrólise ácida seletiva na presença de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, deu origem ao diol [6]. Com as hidroxilas *cis*-vicinais desprotegidas, uma clivagem oxidativa de [6] com NaIO<sub>4</sub> levou ao aldeído [7]. Esse aldeído, já descrito na literatura (ROSENTHAL e NGUYEN, 1969) é o precursor-chave do avenaciolídeo (ANDERSON e FRASER-REID, 1985) e das duas bis-lactonas análogas inéditas preparadas neste trabalho.

Para tanto, o aldeído [7] foi submetido a reações com dois diferentes sais de Wittig, na presença de butilítio, formando os compostos [8]. Após hidrogenação, seguida de hidrólise ácida, foram produzidas as estruturas bicíclicas [10] que, via oxidação de Jones forneceram as bis-lactonas [11].

O grupo metilênico exocíclico foi adicionado segundo a metodologia de carboxilação e descarboxilação descrita por PARKER e JOHNSON, (1973) obtendo-se assim os dois análogos desejados [13A] e [13B].



**Figura 1.3.** Rota sintética utilizada para a obtenção de análogos ao avenaciólideo.

## **1.2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **1.2.1. Tratamento de Reagentes e Solventes**

#### **1.2.1.1. Secagem de Cloreto de Cálcio**

Mediu-se a massa de aproximadamente 50 g de cloreto de cálcio (Carlo Erba) em uma cápsula de porcelana, em seguida, levou-se a cápsula contendo o cloreto de cálcio para o forno mufla (Jung) por duas horas a uma temperatura de 200 °C.

#### **1.2.1.2. Secagem do Carbonato de Potássio**

Mediu-se a massa de 50g de carbonato de potássio (Merck) em uma cápsula de porcelana, em seguida, levou-se o a cápsula para o forno mufla (Jung) por duas horas a uma temperatura de 200 °C.

#### **1.2.1.3. Tratamento da Acetona**

Para a secagem da acetona foram adicionadas 40 g de carbonato de potássio anidro a 600 mL de acetona. A mistura foi deixada em sob refluxo por duas horas. Em seguida, destilou-se e armazenou-se em frasco vedado contendo peneira molecular de 4 Å.

#### **1.2.1.4. Tratamento de Diclorometano**

O diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) foi tratado com hidreto de cálcio ( $\text{CaH}_2$ ) na proporção de 2% m/v, em refluxo por duas horas. Em seguida, este foi destilado e armazenado em um frasco âmbar contendo peneira molecular 4 Å.

#### **1.2.1.5. Tratamento de Tetraidrofurano (THF)**

O tetraidrofurano (THF) foi tratado com raspas de sódio metálico e mantido em refluxo por 5 horas. Após esse tempo o THF foi destilado e recolhido. Em seguida foi tratado novamente com raspas de sódio metálico e mantido novamente em refluxo por mais 3 horas. Adicionou-se então, benzofenona ( $C_{13}H_{12}$ ), e manteve-se o refluxo até que aparecesse a coloração azul. Assim, o THF foi destilado e armazenado em vários frascos contendo peneira molecular 4 Å.

#### **1.2.1.6. Tratamento de Tolueno**

O tolueno foi tratado com raspas de sódio metálico, mantido em refluxo por três horas. Após esse período acrescentou-se benzofenona ( $C_{13}H_{12}$ ), e manteve-se o refluxo até o aparecimento da coloração azul, indicando o término do processo, o solvente foi então armazenado em frasco âmbar contendo peneira molecular 4 Å (PERRIN e ARMAREGO, 1996).

#### **1.2.1.7. Tratamento de Éter Dietílico**

Secou-se previamente o éter dietílico com  $Na_2SO_4$  anidro. Após a filtração do solvente em funil sinterizado G2 o sistema, contendo o solvente, foi mantido em refluxo por 3 horas em banho de glicerina. O solvente foi destilado e armazenado em frasco âmbar contendo peneira molecular 4 Å (PERRIN e AMAREGO, 1996).

#### **1.2.1.8. Tratamento de Ácido Acético**

Para a secagem do ácido acético foram adicionados 3,0 mL de anidrido acético a 100 mL de ácido acético glacial. A mistura foi mantida em refluxo por 2 horas. Em seguida procedeu-se a destilação e o solvente foi armazenado em um frasco âmbar vedado contendo perneira molecular 4Å (PERRIN e ARMAREGO, 1996).

#### **1.2.1.9. Purificação do Cloreto de Zinco**

Foi adicionado a cada 1,0 grama de cloreto de zinco (CROMOLINE), 1 mL de ácido clorídrico concentrado e a mistura foi mantida em agitação magnética a temperatura de 120°C até a solidificação (PERRIN e ARMAREGO, 1996).

#### **1.2.1.10. Ativação da Peneira Molecular 3Å**

A peneira molecular 3Å (ALDRICH) foi pulverizada e teve sua massa previamente medida, em seguida procedeu-se a ativação por aquecimento em forno mufla à temperatura de 300°C durante 5 horas. Passado este tempo o material foi levado ao dessecador e deixado para resfriar, sendo utilizada logo em seguida.

## **1.2.2. Preparo de Reagentes**

### **1.2.2.1. Preparo do Oxidante Dicromato de Piridínio (PDC)**

A um béquer de 500 mL contendo uma solução de óxido de cromo (VI) (VETEC) (10,6 g de  $\text{CrO}_3$  em 10,6 mL de água destilada), em banho de gelo e sal, foram adicionados gradualmente 9 mL de piridina. Adicionaram-se a esta solução 100 mL de acetona gelada. A mistura foi agitada com o auxílio de um bastão de vidro. Observou-se a formação de cristais alaranjados (18,3 g; 92% de rendimento), que foram filtrados a vácuo em funil sinterizado G3 e lavados com acetona gelada.

### **1.2.2.2. Preparo do Reagente de Jones**

O reagente de Jones foi preparado dissolvendo-se 6.57 g de  $\text{CrO}_3$  em 6 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado e 10 mL de água destilada. O volume da solução foi completado até 25 mL com água destilada.

## **1.2.3. Técnicas Experimentais**

### **1.2.3.1. Cromatografia em Camada Delgada**

As placas cromatográficas foram adquiridas da ALDRICH, constituídas de sílica gel 60 de 250  $\mu\text{m}$  de espessura sobre o vidro. Foram utilizados como reveladores uma câmara de luz UV de  $\lambda = 254 \text{ nm}$  e solução alcoólica de ácido fosfomolibídico (4,0 g de ácido/ 100 mL de etanol).

### **1.2.3.2. Cromatografia em Coluna**

A purificação dos compostos obtidos foi realizada por cromatografia em coluna de Sílica gel 60 VETEC (70 – 230 mesh) como fase estacionária. Os eluentes utilizados variaram de acordo com a característica de cada substância a ser purificada.

Em alguns casos foi utilizada sílica gel recuperada. Após o término do processo de separação, todo o material (ainda na coluna) foi lavado com 50 mL de etanol comercial e em seguida com 200 mL de água destilada, para cada 100 g de sílica. Posteriormente a sílica foi levada à estufa a uma temperatura de 100°C para secagem. O processo de recuperação utilizado foi baseado nos estudos de TEIXEIRA, *et al.* (2003) como descrito abaixo:

Para cada 100 g de Sílica-gel foi adicionada uma alíquota de 65 mL de peróxido de hidrogênio a 30% e a mistura foi mantida sob radiação solar por uma hora. Em seguida, outra alíquota de 65 mL foi adicionada e a mistura foi mantida novamente sobre radiação solar por mais 4 horas. Filtrou-se a vácuo e lavou-se com 200 mL de água destilada. A sílica foi ativada a 125°C por um período de 12 horas.

### **1.2.4. Aparelhos e Equipamentos**

#### **1.2.4.1. Temperatura de Fusão**

As temperaturas de fusão foram medidas em MICROQUÍMICA, mod.MQRPF-301 sem calibração.

#### **1.2.4.2. Rotação Específica**

As medidas de rotação específica foram realizadas em um polarímetro Bellinghan+Stanley Model D. A concentração dos compostos foi determinada em g/100mL.

### **1.2.4.3. Análise Elementar**

As análises elementares de carbono e hidrogênio foram realizadas em um Analisador Elementar CHNS/O, Perkin Elmer Modelo 2400, no laboratório de espectrometria molecular e atômica no departamento de solos da UFV.

### **1.2.4.4. Demais Equipamentos**

Foram utilizados neste trabalho os seguintes equipamentos: Evaporador rotatório (HEIDOLPH, mod. Laborota 4000 ), Estufa para a secagem dos materiais, vidrarias e ativação de sílica gel (QUIMIS, mod. B252), mufla para ativação da peneira molecular 3 Å e 4Å (JUNG, mod. 0612), chapa de aquecimento/agitação (FISATOM, Mod.753-A), Balança Analítica (METLER-TOLEDO, mod. AB204) e câmara reveladora UV  $\lambda = 254$  nm (SPECTROLINE, mod. ENF-240C ), bomba de vácuo (TECNAL, mod. TE-058).

## **1.2.5. Técnicas Espectroscópicas**

### **1.2.5.1. Espectroscopia no Infravermelho**

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 em infravermelho médio, utilizando pastilhas de KBr. Em alguns casos, as amostras foram dissolvidas em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e espalhadas sobre cristais de CsI e os espectros foram obtidos após a evaporação do solvente.

Para os compostos oleosos a análise foi realizada espalhando-se a amostra sobre cristais de CsI.

### **1.2.5.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Os espectros de ressonância magnética nuclear unidimensionais de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H 300 MHz) e de carbono (RMN <sup>13</sup>C 75 MHz), e mapas de contorno bidimensionais (COSY e HETCOR) foram obtidos em espectrômetro VARIAN MERCURY 300. Foi utilizado como solvente o clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>, ALDRICH) e o padrão de referência interna utilizado foi o tetrametilsilano ( $\delta = 0$ ). As constantes de acoplamento ( $J$ ) foram expressas em Hertz (HZ).

### **1.2.5.3. Espectrometria de Massas**

Os espectros de massa foram obtidos em um equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) do Departamento de Química da UFV. As separações ocorreram em uma coluna DB-5 MS de 30m x 0,25 mm de diâmetro e 0,25 mm de espessura com a seguinte programação de temperatura: 80°C inicial, 6°C/min até 220°C. A energia da ionização foi de 70 eV com detector de massas.

## 1.2.6. Desenvolvimento Experimental

### 1.2.6.1. Síntese de 1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-glicofuranose [2]



A um balão de fundo chato de 1000 mL, foram adicionados 74,96 g (0,42 mol) de  $\alpha$ -D-glicose anidra **[1]** (VETEC), 500 mL de acetona seca, 60,32 g de ZnCl<sub>2</sub> anidro e purificado, 2,20 mL de ácido fosfórico (MERCK). A mistura foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 30 horas. A  $\alpha$ -D-glicose que não reagiu (21,68 g; 0,12 mol), foi coletada por filtração a vácuo em funil sinterizado e lavada com 600 mL de acetona. Os filtrados foram transferidos para um erlenmeyer de 2000 mL e alcalinizados com solução de hidróxido de sódio (SYNTH) (42,6 g em 42 mL de água destilada) (1,06 mol). O precipitado de hidróxido de zinco foi separado por filtração sob vácuo em funil sinterizado e lavado com acetona (SYNTH).

O filtrado, de cor amarela-palha, foi transferido para um balão de fundo redondo de 1000 mL e concentrado em evaporador rotatório. O resíduo foi diluído com 200 mL de água destilada e transferido para um funil de separação onde foi extraído com clorofórmio (VETEC)(5 x 60 mL). Secou-se a fase orgânica com MgSO<sub>4</sub> anidro (SYNTH), em seguida foi realizada uma filtração a vácuo com funil sinterizado e o precipitado lavado com clorofórmio.

A fase orgânica foi então concentrada em evaporador rotatório. Os cristais obtidos foram recristalizados em uma mistura de 120 mL de clorofórmio-hexano (1:2 v/v), obtendo-se cristais brancos de **[2]** (59,17 g, 0,23 mol) com rendimento de 77%, sendo o rendimento calculado descontando-se a massa de D-glicose que não reagiu.

### Produto **[2]**

**FM:** C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>

**CCD:** 0,39 (Hexano/AcOEt 2:1)

**M:** 260,28 g.mol<sup>-1</sup>

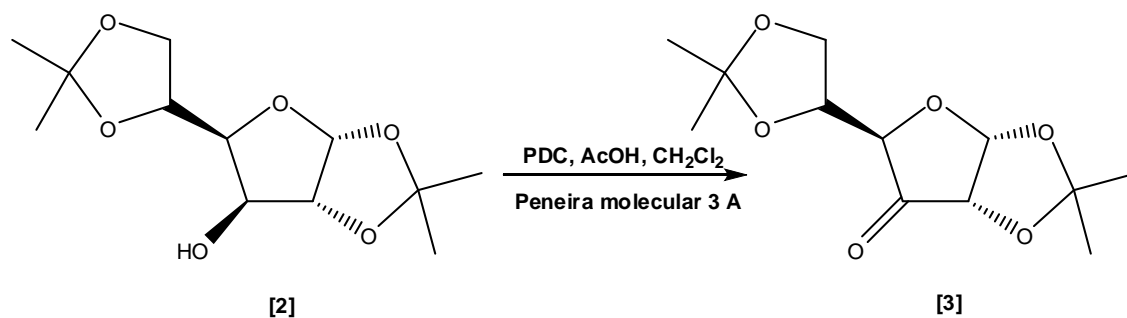
**Aspecto:** Cristais Brancos

**T<sub>f</sub>:** 107,7 – 109,9 °C

**T<sub>f</sub>: Produto comercial:** 109-113 °C

**Infravermelho (KBr, ν<sub>max</sub>):** 3429, 2985, 2950, 2934, 2902, 2872, 2660, 1456, 1426, 1374, 1318, 1288, 1248, 1221, 1162, 1119, 1090, 1069, 1031, 1006, 968, 942, 934, 885, 857, 846, 783, 693, 663, 638, 577, 526, 507, 458.

### 1.2.6.2. Síntese de 1,2:5,6-di-O-isopropilideno-α-D-ribo-exofuran-3-ulose **[3]**

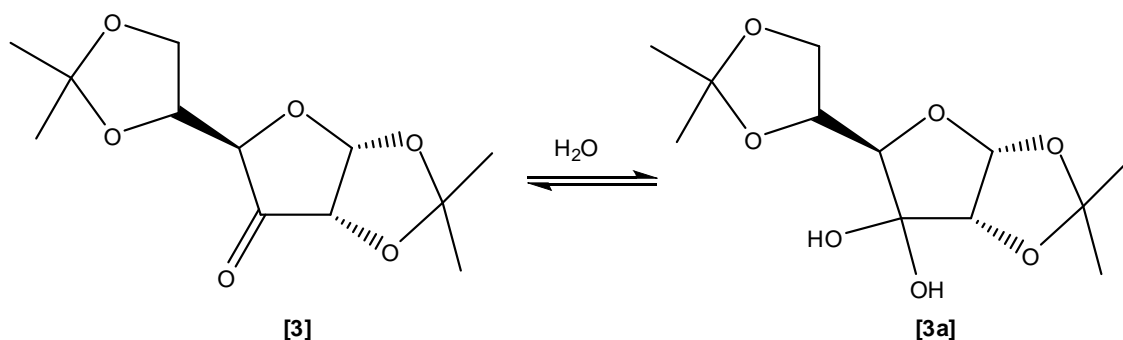


A um balão de duas vias e fundo redondo (250 mL) foram adicionados diacetona-D-glicose **[2]** (5 g; 0,019 mol) solubilizados em 117 mL de diclorometano seco. Ao balão foi acrescentado, sob agitação, o reagente oxidante PDC (Dicromato de Piridínio), recém preparado (10,9 g, 0,029 mol), 15 g de peneira molecular 3 Å (SIGMA – ALDRICH) previamente triturada e ativada e 1,91 mL (0,033 mol) de ácido acético glacial seco.

Ao balão foi adaptado um tubo de cloreto de cálcio anidro e o sistema permaneceu sob agitação por 18 horas, sendo a reação acompanhada por CCD.

A mistura foi filtrada em funil sinterizado contendo uma camada de celite e lavada com acetato de etila (VETEC).

O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório. Ao filtrado foi acrescentado éter dietílico seco e deixado sob agitação magnética por 15 minutos. Posteriormente, foi adicionado Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro (SYNTH). A mistura foi novamente filtrada em funil sinterizado contendo celite e o filtrado foi concentrado em evaporador rotatório. O produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica – gel, usando como eluente acetato de etila (CROMOLINE). Foi obtida uma mistura da cetona **[3]** com seu hidrato **[3a]**, (4,49 g) com rendimento de 91%.



### Produto **[3]** e **[3a]**

**FM:** C<sub>12</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>

**M<sub>[3]</sub>:** 258,26 g.mol<sup>-1</sup>

**T<sub>f</sub>:** 72,5 – 74,0 °C

**CCD:** 0,07 **[3a]** e 0,30 **[3]**

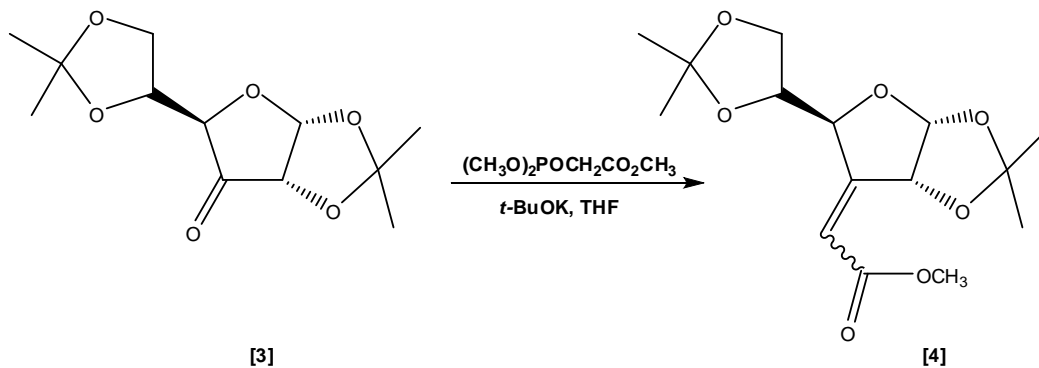
(Hexano/AcOEt 1:1)

**Aspecto:** Cristais incolores

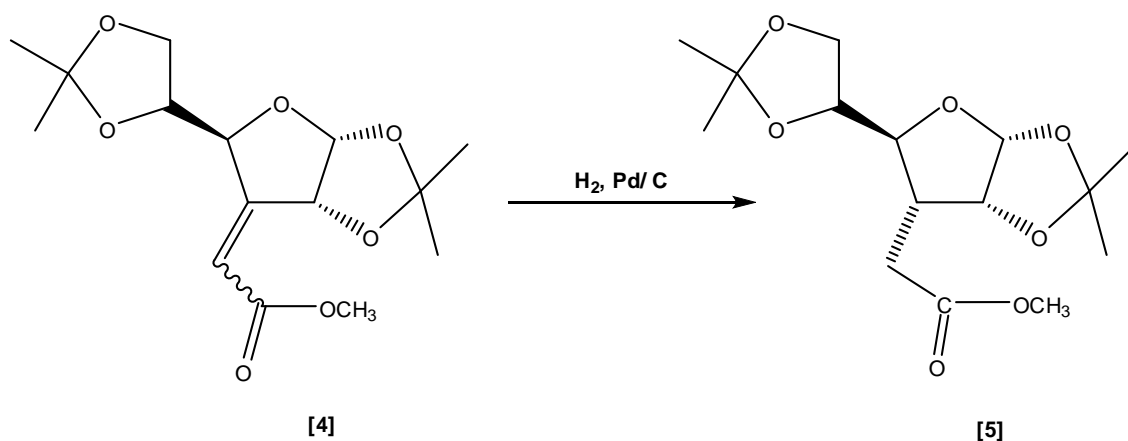
**T<sub>f</sub>:** 60-80 °C (SCHIMIDT, 1962)

**Infravermelho (Filme sobre CsI, ν<sub>max</sub>):** 2987, 2952, 2939, 2889, 1725, 1680, 1455, 1435, 1372, 1352, 1307, 1216, 1159, 1068, 1029, 917, 886, 845, 824, 792, 699, 585, 511. (Obs: Espectro obtido 12 horas após a síntese de **3**).

### 1.2.6.3. Síntese de 3-(E,Z)-C-(carbometoximetilideno)-3-desoxi-1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-alofuranose [4]



A um balão de duas vias de 500 mL, contendo *tert*-butóxido de potássio 95% (ALDRICH), (2,56 g; 0,023 mol), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados 33 mL de THF seco. O sistema foi resfriado em banho de gelo para a adição de fosfonoacetato de trimetila (ALDRICH; 3,12 mL; 0,020 mol). O sistema foi mantido sob agitação magnética por 30 minutos, sendo posteriormente o composto **[3]** (4,48 g, 0,017 mol) solubilizado com 16 mL de THF seco e adicionado ao sistema com o auxílio de uma seringa de vidro. Toda reação foi acompanhada por CCD e após 42 horas foi determinado o término da reação. A mistura foi então transferida para um balão de fundo redondo de 250 mL e concentrada em evaporador rotatório. Adicionaram-se ao concentrado 80 mL de água destilada e manteve-se o sistema em agitação magnética por 5 minutos. Posteriormente procedeu-se a extração com éter dietílico (4 x 60 mL). Em seguida secou-se a fase orgânica com Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se em funil sinterizado (G3) sendo o filtrado levado ao evaporador rotatório. O produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel (VETEC), utilizando uma mistura hexano/acetato de etila 3:1 como eluente. Foi obtido um par de isômeros E/Z **[4]** ( 3,88 g; 0,012 mol, 72%).

**Produto [4]****FM:** C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>**CCD:** 0,55/0,62 (Hexano/AcOEt 3:1)**M:** 314, 34 g.mol<sup>-1</sup>**Aspecto:** Óleo Incolor**Infravermelho (Filme sobre CsI,  $\nu_{\max}$ ):** 2987, 2951, 2938, 2889, 1725, 1680, 1455, 1435, 1372, 1352, 1307, 1216, 1159, 1068, 1019, 917, 886, 845, 824, 792, 699, 585, 511.**1.2.6.4. Síntese de 3-C-(carbometoximetil)-3-desoxi-1,2:5,6-di-O-isopropilideno-a-D-alfuranose [5]**

O composto **[4]** (3,88 g; 0,0123 mol) foi solubilizado em 500 mL de acetato de etila (VETEC) em um balão de fundo redondo de 1000 mL. Foram adicionados ao sistema 0,11 g de Pd/C (ALDRICH) e o mesmo foi mantido sob agitação magnética e atmosfera de hidrogênio. A reação foi acompanhada por CCD e seu ponto final determinado após 5 horas de reação. O sistema foi, então, filtrado em funil de Büchner, utilizando papel de filtro quantitativo (foram utilizados seis papéis de filtro) e em seguida concentrou-se o filtrado em evaporador rotatório, obtendo-se o composto **[5]** (3,70 g; 0,0117 mol, 95%).

### Produto [5]

FM: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>

CCD: 0,58 (Hexano/AcOEt 3:1)

M: 316, 35 g.mol<sup>-1</sup>

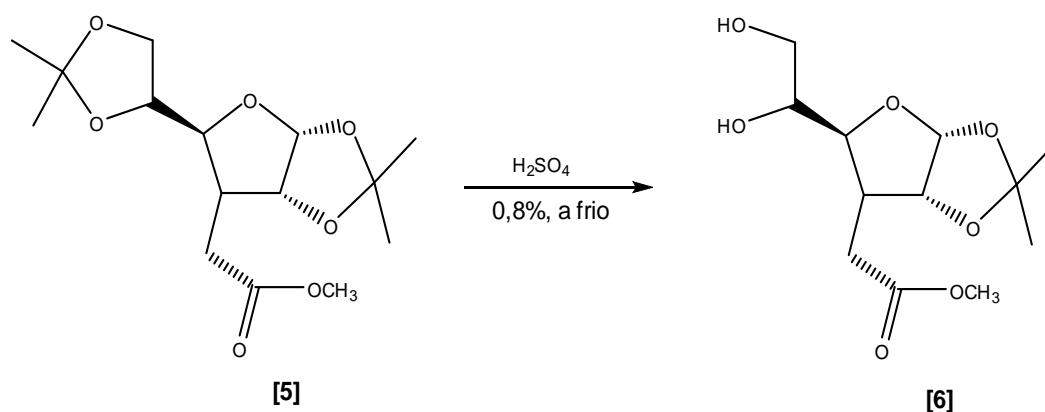
Aspecto: Cristais incolores

T<sub>f</sub>: 86,1 – 87,2 °C

[T<sub>f</sub>: 86 – 87 °C (PEREIRA, 2000; BARROS, 2008)]

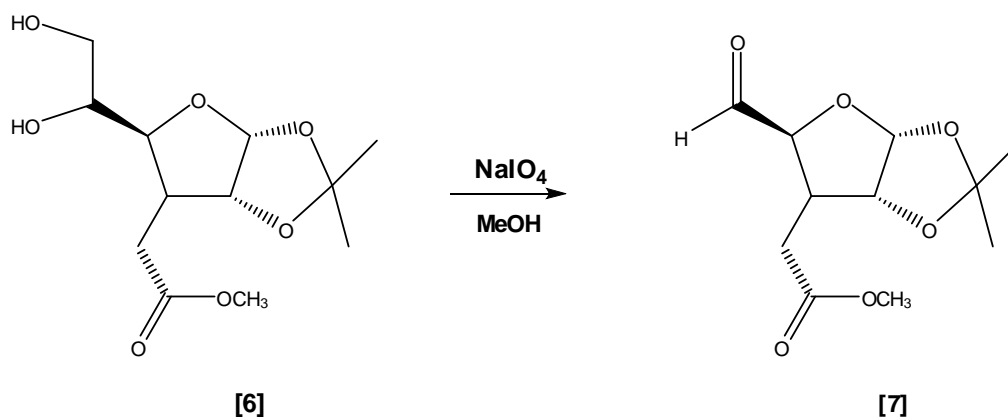
Infravermelho (Filme sobre Csl, ν<sub>max</sub>): 2987, 2937, 2882, 1737, 1456, 1437, 1419, 1381, 1372, 1335, 1241, 1214, 1167, 1127, 1094, 1065, 1018, 947, 915, 847, 846, 794, 657, 540, 511.

### 1.2.6.5. Síntese de 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno-α-D-alofuranose [6]



Em um balão de fundo redondo de 250 mL, o composto **[5]** (4,78 g, 0,0151 mol) foi solubilizado em 30 mL de metanol (VETEC) e 5 mL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,8% foram adicionados ao sistema, sendo esta mistura mantida em agitação por 48 horas. Após o término da reação procedeu-se a neutralização do pH utilizando-se uma solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10%. Posteriormente, o metanol foi eliminado em evaporador rotatório. A solução aquosa contendo o produto **[6]** foi transferida para um balão de 250 mL de fundo redondo e utilizada na etapa seguinte, sem isolamento e purificação.

### 1.2.6.6. Síntese de 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno-a-D-ribofuranose [7]



Ao balão contendo o composto **[6]**, obtido de acordo com o procedimento anterior, foi acrescentada uma solução de  $\text{NaIO}_4$  (3,80 g, 0,0176 mol) em 50 mL de água destilada. O sistema permaneceu em agitação e o pH mantido em torno de 7 pela adição de gotas de solução de  $\text{NaOH}$  0,25 mol.L<sup>-1</sup>. A reação foi acompanhada por CCD e após 3 horas foi determinado o seu término. A mistura foi então extraída com  $\text{AcOEt}$  (5 x 60 mL). Adicionou-se  $\text{MgSO}_4$  para secar a fase orgânica, filtrou-se em funil sinterizado G2 e o filtrado foi concentrado em evaporador rotatório. O produto **[7]** foi purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel, utilizando como eluente a mistura hexano/ $\text{AcOEt}$  1:1, obtendo-se o aldeído **[7]** (2,81 g, 0,0115 mol, 76% a partir de **[5]**).

#### Produto **[7]**

**FM:**  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_6$

**CCD:** 0,27 (Hexano/ $\text{AcOEt}$  1:1)

**M:** 244,24 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Óleo incolor

#### Infravermelho (Filme sobre $\text{CsI}$ , $\nu_{\text{max}}$ ):

3444, 2987, 2952, 1736, 1438, 1416, 1382, 1374, 1371, 1217, 1166, 1126, 1018, 916, 874, 735, 662, 515, 373.

### 1.2.6.7. Preparo dos sais de Wittig

A um balão de 250 mL de duas vias, contendo trifetilfosfina (ALDRICH) sob atmosfera de nitrogênio, foram acrescentados, com auxílio de uma seringa, 50 mL de tolueno seco. O sistema foi mantido sob agitação por 10 minutos e em seguida foi injetada na mistura, uma quantidade apropriada do haleto correspondente (ALDRICH). A mistura foi então mantida em refluxo e atmosfera de nitrogênio por 48 horas a uma temperatura de 120°C. O sistema permaneceu em geladeira por 30 horas e posteriormente o sal foi filtrado em funil sinterizado G4 e lavado com éter dietílico seco, obtendo-se 9,95 g do sal brometo de deciltrifetilfosfônio com rendimento de 66% e 25,5 g do sal brometo de hexadeciltrifetilfosfônio com rendimento de 85%.

Na Tabela 1.1 estão descritas as condições da reação.

**Tabela 1.1.** Reagentes e solventes utilizados no preparo do sal de Wittig.

Trifetilfosfina	Haleto de alquila
8,7 g (0,033 mol)	1-Bromodecano – 6,5 mL (0,032 mol)
15,23 g (0,058 mol)	1-Bromoexadecano – 16,14 mL (0,058 mol)

**Brometo de deciltrifenilfosfônio (A)**

**FM:** C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>PBr

**Aspecto:** Pó branco (Higroscópico)

**M:** 483,46 g.mol<sup>-1</sup>

**Infravermelho (KBr,  $\nu_{\max}$ ):** 3404, 3053, 2923, 2852, 1616, 1587, 1484, 1464, 1376, 1338, 1317, 1189, 1162, 1026, 9956, 898, 789, 749, 723, 691, 616, 535, 508, 455.

**Brometo de hexadeciltrifenilfosfônio (B)**

**FM:** C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>PBr

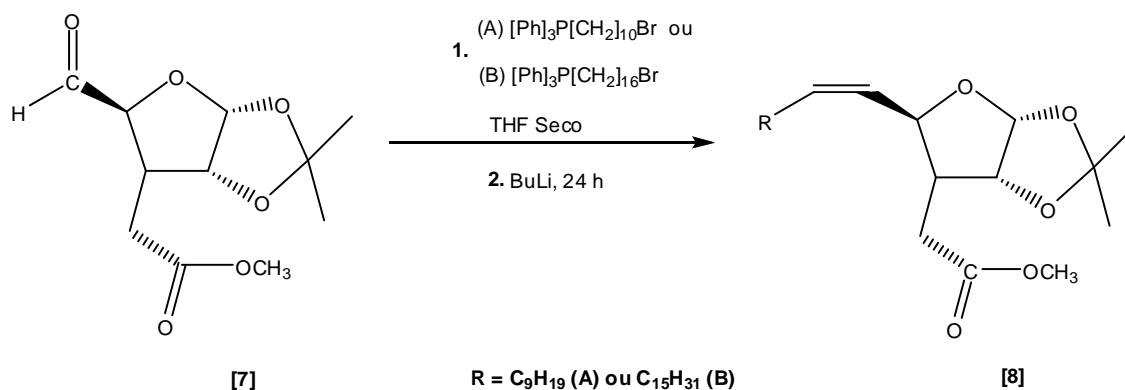
**M:** 567,62 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Pó branco

**T<sub>f</sub>:** 98,8 – 99,9 °C

**Infravermelho (KBr,  $\nu_{\max}$ ):** 3851, 3732, 3646, 3418, 3054, 3018, 2985, 2950, 2918, 2884, 2847, 2800, 2781, 1587, 1558, 1486, 1467, 1437, 1376, 1342, 1320, 1192, 1160, 1111, 996, 807, 749, 736, 721, 691, 614, 535, 511, 488, 450.

**1.2.6.8. Síntese de (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-{1''-[(Z)-alquenil]-4',5'-isopropilidenodioxitetraidrofuran-3'-il} acetatos de metila [8A] e [8B]**



A um balão de duas vias contendo o sal de Wittig adequado, preparado de acordo com o procedimento 1.2.6.7 e sob atmosfera de nitrogênio, foi acrescentado THF seco com o auxílio de uma seringa. O sistema foi mantido em agitação por 5 minutos e posteriormente injetou-se butillítio 2 mol.L<sup>-1</sup> (ALDRICH) mantendo-se a agitação por mais 20 minutos. Posteriormente o composto **[7]** solubilizado em 5 mL de THF seco foi injetado no meio reacional, que permaneceu em agitação por 24 horas.

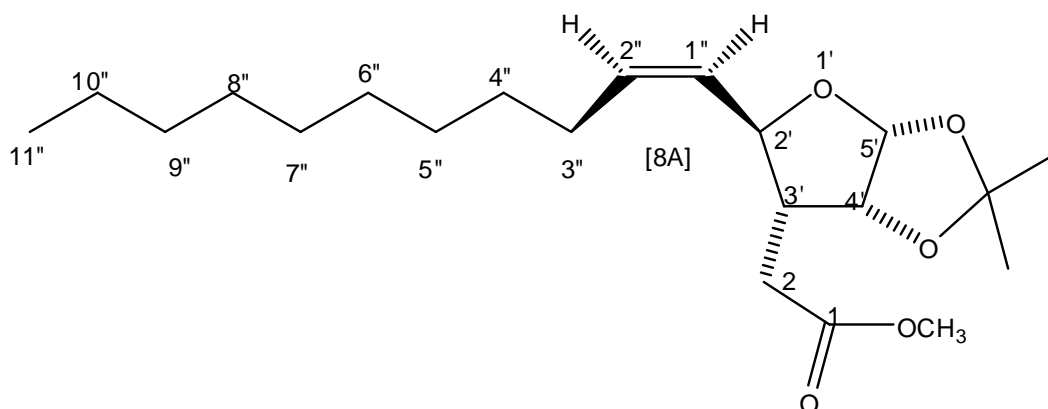
Após o término da reação, o THF foi eliminado sob pressão reduzida; à mistura adicionaram-se 30 mL de água destilada e procedeu-se a extração com diclorometano (VETEC). A fase orgânica foi então secada com Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro (VETEC), filtrada e concentrada. Os produtos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica-gel, obtendo-se 0,85 g do composto **[8A]** e 1,31 g do composto **[8B]**, com rendimentos de 31% e 35%, respectivamente.

**Tabela 1.2.** Reagentes e solventes utilizados nas reações de Wittig.

Sal de Wittig/ g (mmol)	THF/ mL	Butillítio/ mL (mmol)	Aldeído [7]/ g (mmol)
A – 3,65 (7,5)	30	3,8 (7,5)	1,8 (7,4)
B – 4,65 (8,2)	40	4,1 (8,2)	2,0 (8,2)

**Tabela 1.3.** Condições utilizadas na elaboração das reações de Wittig.

Produto	Água/ mL	Diclorometano/ mL	Eluente para a coluna
8A	20	5 x 40	Et <sub>2</sub> O/Hexano 5:1, 3:1
8B	25	5 x 45	Hexano/AcOEt 4:1, 3:1



**Produto [8A]**

**FM:** C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>

**CCD:** 0,39 (*E*) /0,34 (*Z*) (Hexano/Éter 3:1)

**M:** 368,51 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Pó branco

**T<sub>f</sub>:** 53,4 – 54,4 °C

**Análise elementar:** Calculado: C: 68,44%; H: 9,85%

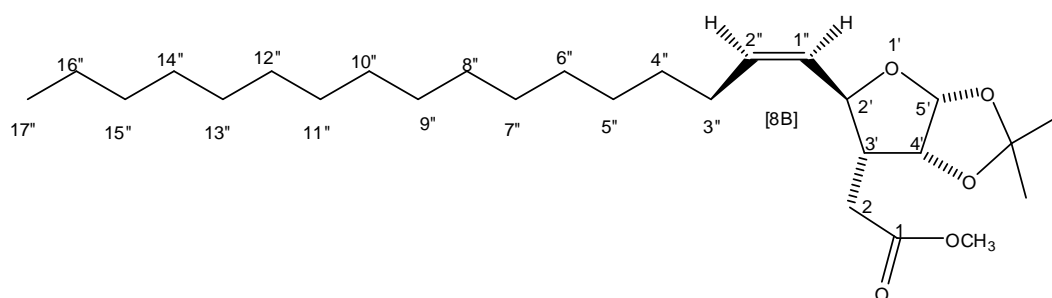
Experimental: C: 69,16%; H: 9,65%

**Infravermelho (Filme sobre CsI, ν<sub>max</sub>):** 2986, 2953, 2952, 2853, 1739, 1456, 1436, 1415, 1379, 1373, 1327, 1250, 1214, 1167, 1133, 1076, 1021, 962, 911, 872, 722, 669, 509.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) δ:** 0,87 (pseudo t, *J*-6,6, 3H, **H11''**); 1,23 – 1,29 (m, 16H, **H3''-H10''**); 1,32 (s, 3H, **Me-isopropila**); 1,52 (s, 3H, **Me-isopropila**); 2,00 – 2,16 (m, 1H, **H3'**); 2,26 (dd, 1H, *J*<sub>2a,3'</sub> = 4,2, *J*<sub>2a,2b</sub> = 17, **H2a**); 2,61 (dd, 1H, *J*<sub>2b,3'</sub> = 10,8, *J*<sub>2b,2a</sub> = 17, **H2b**); 3,68 (s, 3H, **OMe**); 4,52 (t, 1H, *J*<sub>2',3'</sub> = *J*<sub>2',1''</sub> = 9,9; **H2'**); 4,77 (t, 1H, *J*<sub>4',3'</sub> = *J*<sub>4',5'</sub> = 3,9; **H4'**); 5,26 (ddt, 1H, *J*<sub>1'',3''</sub> = 1,5, *J*<sub>1'',2'</sub> = 9,9, *J*<sub>1'',2''</sub> = 11, **H1''**); 5,67 (dt, *J*<sub>2'',2'</sub> = 0,5, *J*<sub>2'',3''</sub> = 7,8, *J*<sub>2'',1''</sub> = 11, **H2''**); 5,84 (d, 1H, *J*<sub>5',4'</sub> = 3,9, **H5'**);

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75MHz)  $\delta$ :** 14,1 (**C11''**); 26,3 (**Me-isopropila**); 26,6 (**Me-isopropila**); 27,9 (**C10''**); 27,9 (**C2**); 28,9 (**C3''**); 29,1 (**C8''**); 29,2 (**C7''**); 29,3 (**C6''**); 29,4 (**C5''**); 29,5 (**C4''**); 31,9 (**C9''**); 46,0 (**C3'**); 51,7 (**OMe**); 75,7 (**C2'**); 80,6 **C4'**; 104,9 (**C5'**); 111,4 (**CMe<sub>2</sub>**); 126,2 (**C1''**); 136,7 (**C2''**); 172,5 (**C1**).

**EM, m/z (%):** 368 (1), 278 (17), 183 (14), 153 (12), 128 (15), 127 (28), 109 (18), 107 (14), 100 (44), 99 (16), 97 (34), 96 (22), 95 (35), 93 (12), 86 (13), 85 (20), 84 (29), 83 (34), 81 (37), 79 (33), 71 (18), 70 (18), 69 (44), 67 (40), 59 (100), 55 (79), 53 (12), 51 (18).



### Produto [8B]

**FM:**  $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_5$

**CCD:** 0,68 (hexano/AcOEt 3/1 ).

**M:** 452,67 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Pó branco

**T<sub>f</sub>:** 85,1 – 88,9°C

**Análise elementar:** Calculado: C: 71,64%; H: 10,69%

Experimental: C 71,77%; H: 10,68%

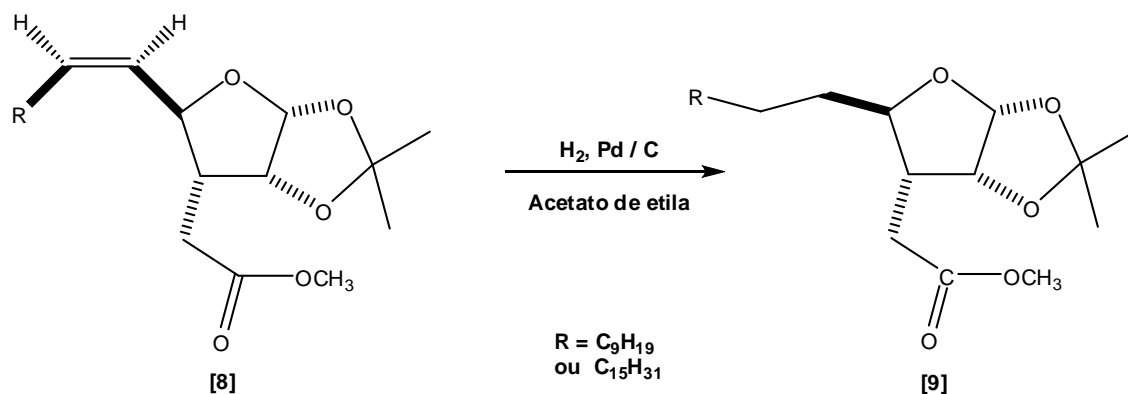
**Infravermelho (Filme sobre Csl,  $\nu_{\text{max}}$ ):** 2994, 2918, 2849, 1734, 1465, 1436, 1418, 1383, 1372, 1332, 1245, 1207, 1168, 1134, 1093, 1076, 1020, 987, 965, 908, 882, 871, 739, 720, 670, 572, 516.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  0,87 (t, 3H,  $J \sim 6,6$ , **H17''**); 1,32 (s, 3H, **Me-isopropila**); 1,52 (s, 3H, **Me-isopropila**); 1,52 (m, 28H, **H3''-H16''**); 1,99 – 2,1 (m, 1H, **H3'**); 2,26 (dd, 1H,  $J_{2a,3'} = 4,8$ ,  $J_{2a,2b} = 17$ ; **H2a**); 2,61 (dd, 1H,  $J_{2b,3'} = 10,5$ ,  $J_{2b,2a} = 17$ ; **H2b**); 3,70 (s, 3H, **OMe**); 4,52 (t, 1H,  $J_{2',3'} = J_{2',1''} = 9,9$ ; **H2'**); 4,77 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 4,2$ ; **H4'**); 5,26 (ddt, 1H,  $J_{1'',3''} = 1,5$ ,  $J_{1'',2''} = 9,3 - J_{1'',2''} = 11$ ; **H1''**); 5,67 (dt, 1H,  $J_{2'',2'} = 0,5$ ,  $J_{2'',3''} = 7,8$ ,  $J_{2'',1''} = 11$ ; **H2''**); 5,84 (d, 1H,  $J_{5',1'} = 3,9$ ; **H5'**).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14,1 (**C17''**); 22,7 (**C16''**); 26,3 (**Me-isopropila**); 26,6 (**Me-isopropila**); 27,9 (**C3''**); 27,9 (**C2**); 28,9 (**C14''**); 29,3 (**C13''**); 29,4 (**C12''**); 29,4 (**C11''**); 29,4 (**C10''**); 29,5 (**C9''**); 29,5 (**C8''**); 29,6 (**C7''**); 29,6 (**C6''**); 29,7 (**C5''**); 29,7 (**C4''**); 31,9 (**C15''**); 46,0 (**C3'**); ; 51,7 (**OMe**); 75,7 (**C2'**); 80,5 (**C4'**); 104,9 (**C5'**); 111,4 (**CMe<sub>2</sub>**); 126,2 (**C1''**); 136,7 (**C2''**); 172,5 (**C1**).

EM, m/z (%): 452 (1), 394 (16), 362 (23), 345 (10), 265 (12), 186 (20), 183 (24), 157 (25), 153 (17), 129 (21), 128 (31), 127 (46), 123 (13), 111 (11), 109 (18), 107 (17), 100 (66), 99 (18), 98 (12), 97 (46), 96 (24), 95 (39), 93 (16), 91 (12), 85 (22), 84 (14), 83 (43), 82 (15), 81 (48), 80 (12), 79 (37), 71 (27), 70 (27), 69 (50), 68 (19), 67 (49), 59 (100), 57 (82), 56 (14), 55 (89), 54 (11).

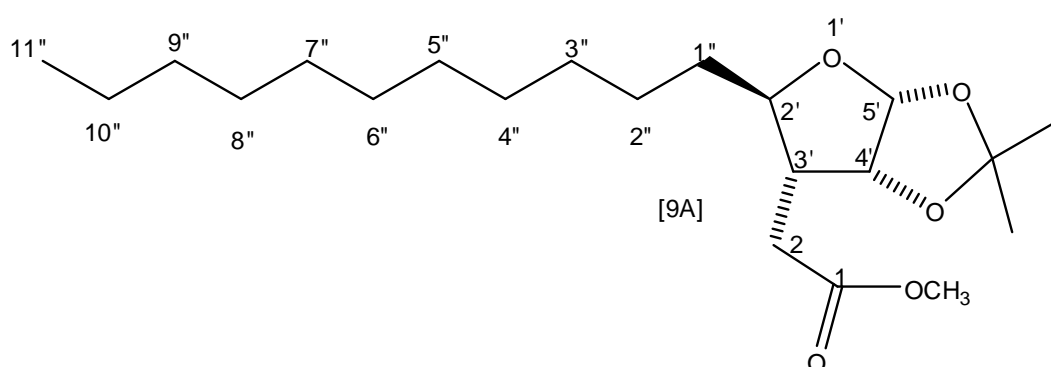
#### 1.2.6.9. Síntese de (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-(alquil-4',5'-isopropilidenodioxitetraidrofurano-3'-il) acetatos de metila [9A] e [9B]



A um balão de fundo redondo de 250 mL, contendo 0,060 g de Pd/C 10% (ALDRICH), adicionou-se 0,83 g (0,0027 mol) do produto [8A] ou 1,16 g (0,0025 mol) do produto [8B] solubilizados em 160 mL de acetato de etila (VETEC). O sistema foi então mantido em agitação magnética e sob atmosfera de hidrogênio por 24 horas.

O término da reação foi indicado por CCD, utilizando como reveladores uma câmara UV e em seguida uma solução alcoólica de ácido fosfomolibdico 4%. As misturas foram filtradas em funil de Buchenner, utilizando vários papeis de filtro, para a remoção do Pd/C e lavadas com acetato de etila.

Em seguida foram concentradas sob pressão reduzida obtendo-se 0,76 g de **[9A]** e 1,25 g de **[9B]** com rendimentos de 77% e 99%, respectivamente.



### Produto **[9A]**

**FM:** C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>

**CCD:** 0,74 (hexano/AcOEt 3:1)

**M:** 370,52 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Óleo incolor

**Análise elementar:** Calculado: C: 68,44%; H: 9,85%

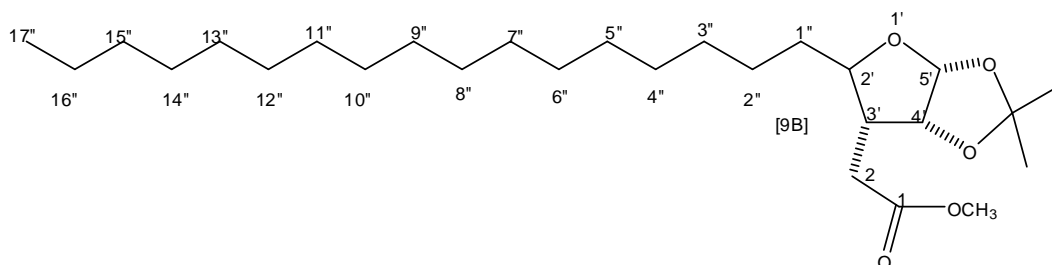
Experimental: C: 69,16%; H: 9,65%

**Infravermelho (Filme sobre CsI,  $\nu_{\max}$ ):** 2985, 2956, 2854, 1740, 1457, 1437, 1415, 1380, 1373, 1327, 1250, 1214, 1167, 1133, 1077, 1021, 963, 912, 873, 723, 670, 509.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :** 0,87 (t, 3H,  $J \sim 6,6$ , **H11''**); 1,24 (m, 16H, **H3''-H10''**); 1,24 – 1,29 (m, 2H, **H2''**); 1,30 (s, 3H, **Me-isopropila**); 1,38 – 1,42 (m, 2H, **H1''**); 1,47(s, 3H, **Me-isopropila**); 1,98 – 2,08 (m, 1H, **H3'**); 2,31 (dd, 1H,  $J_{2a,3'} = 4,2$ ;  $J_{2a,2b} = 17$ ; **H2a**); 2,64 (dd, 1H,  $J_{2b,3'} = 10,8$ ;  $J_{2b,2a} = 17$ ; **H2b**); 3,70 (s, 3H, **OMe**); 3,73 - 3,77 (m, 1H, **H2'**); 4,74 (t, 1H,  $J_{4',3'} \sim 4,0$ ; **H4'**); 5,80 (d, 1H,  $J_{5',4'} = 4,0$ ; **H5'**);

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 14,3 (**C11''**); 22,9 (**C10''**); 26,2 (**C2''**); 26,5 (**Me-isop.**); 26,7 (**Me-isop.**); 29,5 (**C2**); 29,6 (**C8''**); 29,7 (**C7''**); 29,8 (**C6''**); 29,8 (**C5''**); 29,9 (**C3''**); 29,9 (**C4''**); 32,8 (**C1''**); 32,1 (**C9''**); 45,0 (**C3'**); 51,9 (**OMe**); 80,6 (**C2'**); 81,2 (**C4'**); 104,9 (**C5'**), 111,4 (**CMe<sub>2</sub>**); 172,9 (**C1**).

**EM, m/z (%):** 370 (4), 369 (18), 355 (61), 295 (17), 281 (21), 263 (14), 215 (12), 203 (14), 171 (14), 157 (74), 128 (13), 113 (15), 109 (14), 100 (30), 99 (19), 97 (47), 95 (29), 93 (11), 83 (24), 81 (34), 79 (14), 71 (26), 70 (16), 69 (48), 67 (35), 59 (100), 57 (63), 56 (14), 55 (81).



### Produto [9B]

**FM:**  $\text{C}_{27}\text{H}_{50}\text{O}_5$

**CCD:  $R_f$ :** 0,71 (hexano/AcOEt 3:1)

**M:** 454,68  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

**Aspecto:** Sólido branco

**$T_f$ :** 52,1 – 53,5  $^\circ\text{C}$

**Análise elementar:** Calculado: C:71,32 %; H:11,08 %;

Experimental: C: 71,67%; H:11,12%.

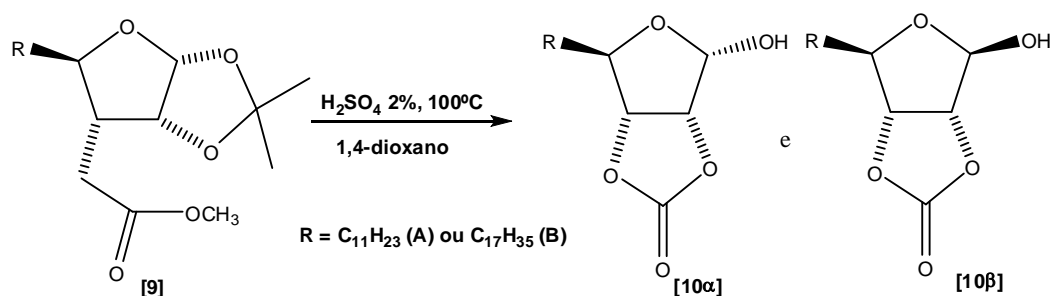
**Infravermelho (Filme sobre  $\text{CsI}$ ,  $\nu_{\text{max}}$ ):** 2980, 2954, 2914, 2847, 1731, 1469, 1440, 1418, 1384, 1373, 1336, 1271, 1235, 1223, 1205, 1166, 1136, 1101, 1051, 1017, 984, 956, 916, 881, 858, 841, 717, 552, 506.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 0,87 (t, 3H,  $J \sim 6,6$ ; **H17''**); 1,25(m, 30H, **H2''- H16''**); 1,30 (s, 3H, **Me-isopropila**); 1,36 – 1,42 (m, 2H, **H1''**); 1,48(s, 3H, **Me-isopropila**); 1,99 – 2,10 (m, 1H, **H3'**); 2,31 (dd, 1H,  $J_{2a,3'} = 3,9$ ;  $J_{2a,2b} = 17$ ; **H2a**); 2,64 (dd, 1H,  $J_{2b,3'} = 10,5$ ;  $J_{2b,2a} = 17$ ; **H2b**); 3,70 (s, 3H, **OMe**); 3,73 - 3,77 (m, 1H, **H2'**); 4,74 (t, 1H,  $J_{4',3'} = 4,0$ ; **H4'**); 5,80 (d, 1H,  $J_{5',4'} = 4,0$ ; **H5'**).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,3 ( $\text{C17''}$ ); 22,9 ( $\text{C16''}$ ); 26,2 ( $\text{C2''}$ ); 26,5 ( $\text{Me-isop.}$ ); 26,7 ( $\text{Me-isop.}$ ); 29,6 ( $\text{C2}$ ); 29,7-29,9 ( $\text{C3''-C14''}$ ); 32,1 ( $\text{C15''}$ ); 32,8 ( $\text{C1''}$ ); 45,0 ( $\text{C3'}$ ); 51,9 ( $\text{OMe}$ ); 80,6 ( $\text{C2'}$ ); 81,3 ( $\text{C4'}$ ); 104,9 ( $\text{C5'}$ ), 111,4 ( $\text{CMe}_2$ ); 172,9 ( $\text{C1}$ ).

EM, m/z (%): 454 (2), 440 (73), 379 (18), 305 (15), 215 (18), 186 (16), 157 (93), 128 (21), 109 (15), 100 (36), 99 (19), 97 (44), 95 (29), 85 (24), 84 (12), 83 (29), 82 (11), 81 (36), 79 (13), 71 (31), 70 (13), 69 (48), 68 (15), 67 (35), 59 (100), 57 (91), 56 (19), 55 (85).

#### 1.2.6.10. Síntese de (3*R*,5*R*,6*R*,8*S*)-6-alkuil-8-hidroxi-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-3-onas [10 $\alpha$ ] e (3*R*,5*R*,6*R*,8*R*)-6-alkuil-8-hidroxi-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-3-onas [10 $\beta$ ]

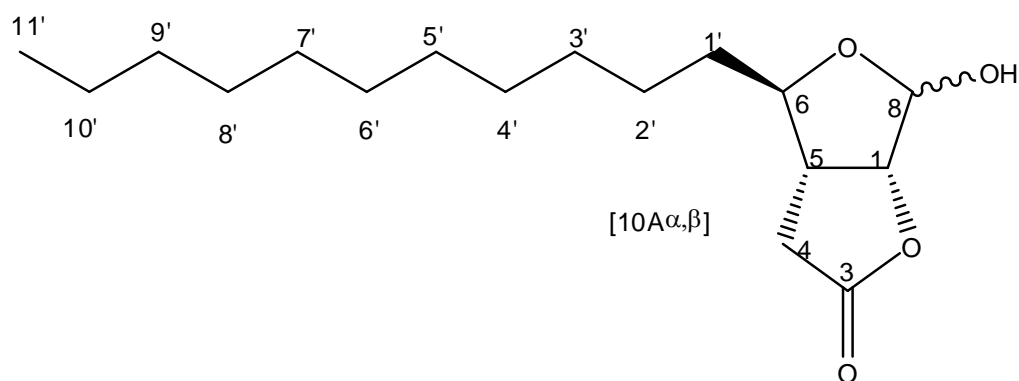


A um balão de fundo redondo de 250 mL, foi adicionado o éster [9A] ou [9B], solubilizado em 1,4–dioxano (Vetec). Em seguida adicionou-se solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2% e manteve-se o sistema em agitação e refluxo mantendo-se a temperatura do banho de glicerina igual a  $100^\circ\text{C}$  por 3 horas. As condições utilizadas para cada éster estão detalhadas na Tabela 1.4.

**Tabela 1.4.** Condições para a reação de hidrólise ácida.

Éster - (g) (mmol)	1,4-dioxano (mL)	$\text{H}_2\text{SO}_4$ 2% (mL)
[9A] - 0,62g (1,6 mol)	30	14
[9B ]- 1,10g (2,4 mmol)	50	22

Após entrar em equilíbrio térmico com o ambiente, a mistura foi então transferida para um funil de decantação e o balão, lavado com três alíquotas de 20 mL de éter dietílico. Em seguida, transferiu-se o material para o funil de separação contendo éter dietílico (130 mL/mmol) e agitou-se. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (30 mL/mmol), secada com  $\text{MgSO}_4$  anidro, filtrada em funil sinterizado G3 e concentrada em evaporador rotatório. A purificação dos produtos foi realizada em coluna cromatográfica de sílica-gel utilizando como eluente a mistura hexano/AcOEt (1:1), obtendo-se uma mistura de isômeros **[10]** com a hidroxila em  $\alpha$  e  $\beta$  {[**10A $\alpha$** ] e [**10A $\beta$** ]; 0,35g; 74%} e {[**10B $\alpha$** ] e [**10B $\beta$** ]; 0,83g; 90%}, sendo os isômeros  $\beta$  os majoritários.



### Produtos **[10A]**

**FM:**  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_4$

**CCD:** 0,49[ $\beta$ ]; 0,55[ $\alpha$ ] (hexano:AcOEt 2:1)

**M:** 298,42  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

**Aspecto:** Sólido branco

**T<sub>f</sub>:** 56,3 – 57,4 °C

**Análise elementar:** Calculado: C: 68,42%; H:10,13 %;

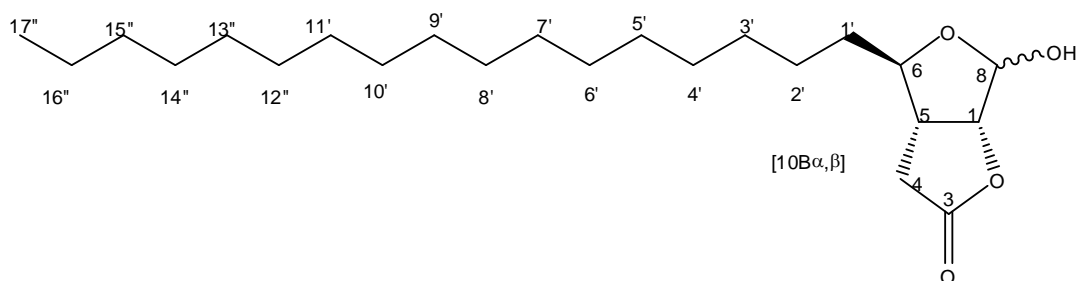
Experimental: C: 69,28%; H: 10,19%

**Infravermelho (Filme sobre CsI,  $\nu_{\text{max}}$ ):** 3415, 2922, 2852, 1780, 1465, 1419, 1358, 1293, 1165, 1078, 1045, 972, 904, 814, 774, 721, 697, 564.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz)**  $\delta$ : 0,87 (t, 3H,  $J_{11',10'} \sim 6,6$ ; **11'**  $\alpha,\beta$ ); 1,25 (m, 18H, **H2'-H10'**  $\alpha,\beta$ ); 1,39-1,43(m, 2H, **H1'**  $\alpha,\beta$ ); 1,55-1,63 (m, 1H, **OH**  $\alpha,\beta$ ); 2,40-2,53 (m, 1H, **H4a**  $\alpha,\beta$ ); 2,65-2,90 (m, 1H, **H4b**  $\alpha,\beta$ ); 2,65-2,90 (m, 1H, **H5 $\alpha,\beta$** ); 3,88-4,01 (m, 1H,**H6**  $\alpha,\beta$ ); 4,86 (d,1H,  $J_{1,5} = 6,0$ ; **H1 $\beta$** ); 4,9 (dd, 1H,  $J_{1,8} = 4,5$ ;  $J_{1,5} = 8,7$ ; **H1**  $\alpha$ ); 5,50 (d, 1H,  $J_{8,1} = 4,5$ ; **H8**  $\alpha$ ); 5,53 (s, 1H, **H8 $\beta$** ).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz)**  $\delta$ : 14,07 (**11' $\alpha,\beta$** ); 22,65 (**C10' $\alpha,\beta$** ); 25,63 (**C2' $\alpha$** ); 25,98 (**C2' $\beta$** ); 29,30 (**C8' $\alpha,\beta$** ); 29,38 (**C7' $\alpha,\beta$** ); 29,50 (**C5', C6' $\alpha,\beta$** ); 29,59 (**C3', C4' $\alpha,\beta$** ); 31,88 (**C9' $\alpha,\beta$** ); 33,32 (**C4 $\alpha,\beta$** ); 34,70 (**C1' $\alpha$** ); 37,54 (**C1' $\beta$** ); 42,07 (**C5 $\alpha$** ); 42,59 (**C5 $\beta$** ); 82,24 (**C6 $\alpha$** ); 83,34 (**C1 $\alpha$** ); 87,99 (**C6 $\beta$** ); 88,38 (**C1 $\beta$** ); 95,59 (**C8 $\alpha$** ); 100,86 (**C8 $\beta$** ); 175,69 (**C3 $\beta$** ); 176,53 (**C3 $\alpha$** );

**EM, m/z (%)**: 298 (0,1); 143 (96), 125 (18), 114 (15), 98 (17), 97 (51), 96 (17), 86 (15), 85 (61), 84 (23), 83 (33), 82 (14), 81 (22), 71 (19), 70 (36), 69 (49), 68 (19), 67 (31), 57 (67), 56 (22), 55 (100).



### Produtos [10B]

**FM:**  $\text{C}_{23}\text{H}_{42}\text{O}_4$

**CCD:** 0,46[ $\beta$ ]; 0,41[ $\alpha$ ] (Hexano/AcOEt 2:1)

**M:** 382,58  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

**Aspecto:** Sólido branco

**T<sub>f</sub>:** 87,6 – 88,9

**Análise elementar:** Calculado: C: 72,21%; H: 11,07%

Experimental: 71,90%; H:11,07%

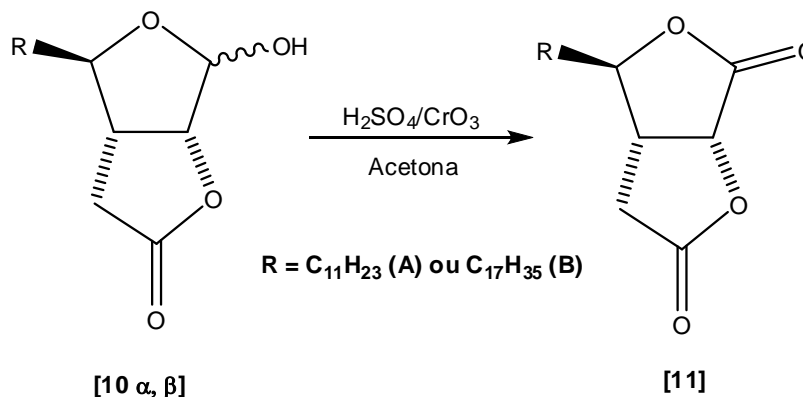
**Infravermelho (Filme sobre Csl,  $\nu_{\text{max}}$ ):** 3429, 2916, 2848, 1756, 1472, 1463, 1437, 1419, 1380, 1330, 1295, 1260, 1212, 1170, 1044, 995, 969, 915, 875, 847, 803,728, 718, 575.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz)**  $\delta$ : 0,87 (t, 3H,  $J_{17',16'} \sim 6,6$ ; **H17'**  $\alpha,\beta$ ); 1,25 (m, 30H, **H2'-H16'**  $\alpha,\beta$ ); 1,41-1,44 (m, 2H, **H1'**  $\alpha,\beta$ ); 1,57-1,75 (m, 1H, **OH**  $\alpha,\beta$ ); 2,41-2,53 (m, 1H, **H4a**  $\alpha,\beta$ ); 2,63-2,94 (m, 1H, **H4b**  $\alpha,\beta$ ); 2,63-2,94 (m, 1H, **H5 $\alpha,\beta$** ); 3,90-4,00 (m, 1H, **H6**  $\alpha,\beta$ ); 4,86 (d, 1H,  $J_{1,5} = 6,0$ ; **H1 $\beta$** ); 4,9 (dd, 1H,  $J_{1,8} = 3,9$ ;  $J_{1,5} = 8,1$ ; **H1**  $\alpha$ ); 5,51 (d, 1H,  $J_{1,8} = 3,9$ ; **H8**  $\alpha$ ); 5,54 (s, 1H, **H8 $\beta$** );

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz)**  $\delta$ : 14,1 (**C17' $\alpha,\beta$** ); 22,7 (**C16' $\alpha,\beta$** ); 25,7 (**C2' $\alpha$** ); 26,0 (**C2' $\beta$** ); 29,3 (**C14' $\alpha,\beta$** ); 29,4 (**C13' $\alpha,\beta$** ); 29,5 (**C12' $\alpha,\beta$** ); 29,5 (**C11' $\alpha,\beta$** ); 29,7 (**C3'-C10' $\alpha,\beta$** ); 31,9 (**C15' $\alpha,\beta$** ); 33,3 (**C4 $\alpha$** ); 33,9 (**C4 $\beta$** ); 34,7 (**C1' $\alpha$** ); 37,5 (**C1' $\beta$** ); 42,1 (**C5 $\alpha$** ); 42,6 (**C5 $\beta$** ); 82,2 (**C6 $\alpha$** ); 83,3 (**C1 $\alpha$** ); 88,0 (**C6 $\beta$** ); 88,3 (**C1 $\beta$** ); 95,6 (**C8 $\alpha$** ); 100,9 (**C8 $\beta$** ); 175,6 (**C3 $\beta$** ); 176,4 (**C3 $\alpha$** ).

**EM, m/z (%):** 382 (0,3); 143 (74), 125 (11), 114 (61), 98 (13), 97 (39), 96 (21), 95 (17), 86 (10), 85 (44), 84 (16), 83 (29), 82 (13), 81 (20), 71 (23), 70 (28), 69 (40), 68 (16), 67 (26), 57 (78), 56 (20), 55 (100).

### 1.2.6.11. Síntese de (1*R*,5*R*,6*R*)-6-alkuil-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-dionas [11]

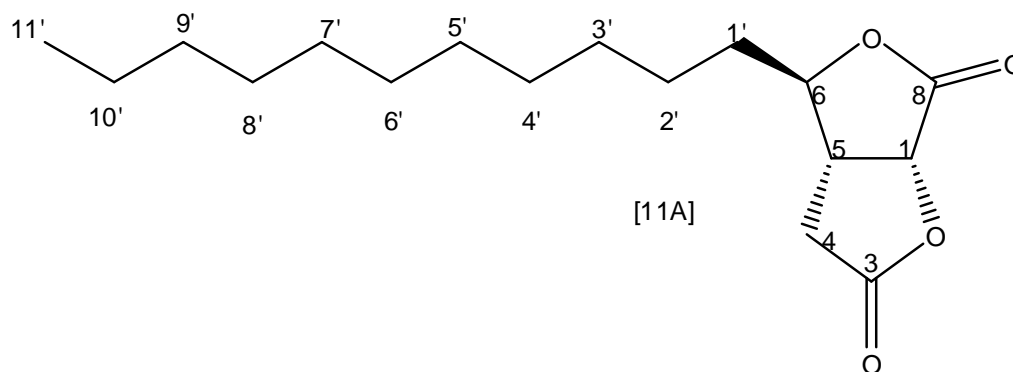


A um balão de fundo redondo, contendo a mistura de epímeros de **[10A]** ou **[10B]** foi adicionada acetona (VETEC) até a total solubilização do composto. Em seguida, com o auxílio de uma bureta de 25 mL, adicionou-se o reagente de Jones, preparado de acordo com o item 1.2.2.2, sob agitação magnética, gota-a-gota, até o aparecimento de uma coloração marrom. Após 5 minutos, adicionou-se a mesma quantidade anterior e deixou-se sob agitação por mais 5 minutos. Acrescentaram-se  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e água ao sistema. O sistema bifásico foi então transferido para um funil de separação. Foram realizadas cinco extrações com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Em seguida, as fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução aquosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , secadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Na Tabela 1.5 estão descritas as condições utilizadas para a obtenção de cada produto.

**Tabela 1.5.** Condições utilizadas na etapa de oxidação.

Composto g (mmol)	Acetona (mL)	Reagente de Jones (mL)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (mL)	Água (mL)	$\text{NaHCO}_{3(\text{aq})}$ (mL)
[10A] 0,33 (1)	25	1,2 + 1,2	25 + (2 x 25)	20	2 x 20
[10B] 0,39 (1)	35	0,6 + 0,6	50 + (4 x 30)	30	2 x 10

Os produtos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel, usando como eluente hexano/acetato de etila 2:1, obtendo-se 0,12g de **[11A]** e 0,33 g de **[11B]**, com rendimentos de 40% e 88%, respectivamente.



#### Produto [11A]

**FM:** C<sub>17</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>

**CCD: R<sub>f</sub>:** 0,47 (hexano/AcOEt 2:1).

**M:** 296,40 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Sólido branco

**T<sub>f</sub>:** 57,6 – 58,8 °C

**Análise elementar:** Calculado: C: 68,89%; H: 9,52%

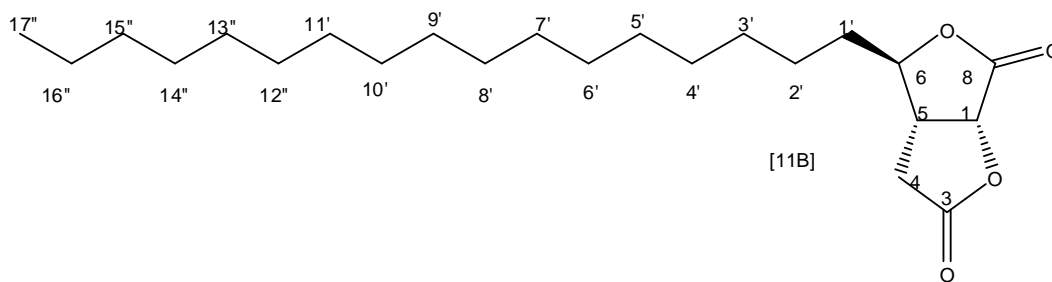
Experimental: 68,78%; H: 9,35%

**Infravermelho (Filme sobre CsI, ν<sub>max</sub>):** 2922, 2852, 1780, 1466, 1415, 1359, 1295, 1245, 1216, 1148, 1076, 1001, 969, 856, 722, 552, 474.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) δ:** 0,87 (pseudo t, 3H, J<sub>11',10'</sub> = 6,3, **H11'**); 1,26 (sl, 16H, **H3'-H10'**); 1,38 – 1,51 (m, 1H, **H2'**); 1,65 – 1,80 (m, 2H, **H1'**); 2,54 (dd, 1H, J<sub>4a,5</sub> = 3,9; J<sub>4a,4b</sub> = 18, **H4a**); 2,94 (dd, 1H, J<sub>4b,5</sub> = 9,3; J<sub>4b,4a</sub> = 18; **H4b**); 3,0 – 3,09 (m, 1H, **H5**); 4,34 (td, 1H, J<sub>6,1'a</sub> = J<sub>6,1'b</sub> = 5,4; J<sub>6,5</sub> = 7,5; **H6**); 5,00 (d, 1H, J<sub>1,5</sub> = 7,5; **H1**);

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz) δ:** 14,08 (**C11'**); 22,65 (**C10'**); 24,88 (**C2'**); 29,12 (**C8'**); 29,23 (**C6'**); 29,29 (**C7'**); 29,43 (**C4', C5'**); 29,55 (**C3'**); 31,87 (**C9'**); 32,80 (**C4**); 35,45 (**C1'**); 40,17 (**C5**); 77,0 (**C1**); 84,81 (**C6**); 169,82 (**C3**); 173,6 (**C8**).

**EM, m/z (%):** 296 (1), 113 (13), 111 (12), 109 (10), 98 (13), 97 (35), 96 (14), 95 (32), 85 (17), 84 (41), 83 (35), 81 (28), 79 (11), 71 (16), 70 (34), 69 (48), 68 (23), 67 (35), 57 (58), 56 (28), 55 (100), 54 (19).



**Produto [11B]**

**FM:** C<sub>23</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>

**CCD: R<sub>f</sub>:** 0,61 (hexano/AcOEt 2:1).

**M:** 380,56 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Sólido branco

**T<sub>f</sub>:** 81,5 – 82,6°C

**Análise elementar:** Calculado: C: 72,59%; H: 10,59%

Experimental: C: 72,59%; H:10,63%

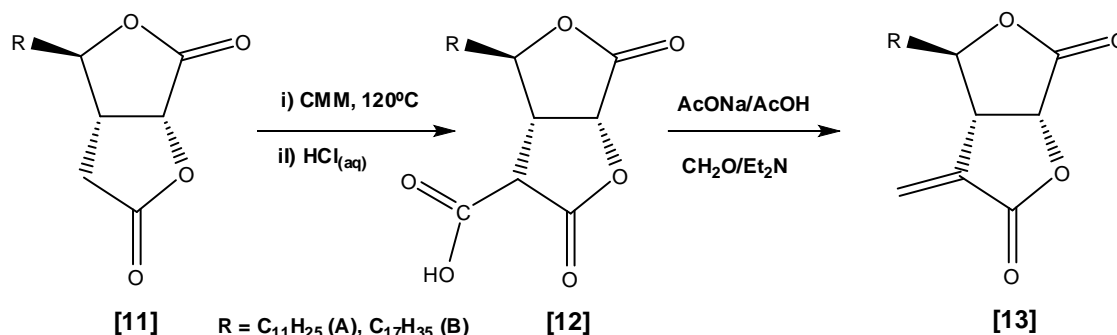
**Infravermelho (Filme sobre Csl, ν<sub>max</sub>):** 2919, 2848, 1783, 1560, 1465, 1352, 1288, 1248, 1217, 1144, 1127, 1079, 1047, 1005, 990, 971, 934, 900, 858, 790, 721, 691, 640, 548, 470.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) δ:** 0,87 (pseudo t, 3H, J<sub>16',17'</sub> = 6,3; **H17'**); 1,25 (m, 16H, **H3'-H16'**); 1,38 – 1,49 (m, 2H, **H2'**); 1,65 – 1,77 (m, 2H, **H1'**); 2,55 (dd, 1H, J<sub>4a,5</sub> = 3,9; J<sub>4a,4b</sub> = 18, **H4a**); 2,94 (dd, 1H, J<sub>4b,5</sub> = 9,3; J<sub>4b,4a</sub> = 18; **H4b**); 3,0 – 3,09 (m, 1H, **H5**); 4,34 (td, 1H, J<sub>6,1'a</sub> = J<sub>6,1'b</sub> = 5,7; J<sub>6,5</sub> = 7,2; **H6**); 5,01 (d, 1H, J<sub>1,5</sub> = 7,8; **H1**);

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz) δ:** 14,12 (**C17'**); 22,67 (**C16'**); 24,88 (**C2'**); 29,12 (**C14'**); 29,34 (**C12',C13'**); 29,44 (**C10', C11'**); 29,56 (**C7', C8', C9'**); 29,61 (**C5',C6'**); 29,67 (**C3',C4'**); 31,90 (**C15'**); 32,80 (**C4**); 35,45 (**C1'**); 40,16 (**C5**); 77,0 (**C1**); 84,79 (**C6**); 169,33 (**C3**); 173,63 (**C8**).

**EM, m/z (%):** 380 (1), 97 (27), 96 (12), 95 (24), 85 (14), 84 (23), 83 (34), 82 (15), 81 (24), 71 (19), 70 (19), 69 (40), 68 (17), 67 (28), 57 (67), 56 (23), 55 (100).

### 1.2.6.12. Síntese de (1*R*,5*R*,6*R*)-6-alkil-4-metilideno-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-dionas [13]



A um balão de duas vias de 100 mL contendo o composto **[11A]** (0,1 g; 0,3 mmol) ou **[11B]** (0,34 g; 0,9 mmol), sob atmosfera de nitrogênio, foi injetada uma solução de carbonato de metilmetoximagnésio a 2 mol.L<sup>-1</sup> em dimetilformamida (ALDRICH), sob agitação magnética a temperatura ambiente.

A mistura foi então aquecida a 112°C em banho de glicerina e mantida em refluxo por 6 horas. Após esse tempo, foi resfriada em banho de gelo, mantendo-se a agitação. Ao sistema foi adicionada uma solução aquosa gelada de HCl 6 mol.L<sup>-1</sup>. Em seguida adicionou-se éter dietílico por 3 vezes a cada 10 minutos e manteve-se a agitação por 40 minutos, até que se solubilizasse todo o precipitado. A mistura reacional foi então transferida para um funil de separação e extraída com éter dietílico. A fase orgânica foi retornada ao funil de separação, onde foi lavada com 10 mL de água destilada e duas vezes com solução aquosa saturada de NaCl e novamente com 10 mL de água destilada. Em seguida adicionou-se MgSO<sub>4</sub>, filtrou-se e evaporou-se a fase orgânica em evaporador rotatório, obtendo-se assim os ácidos **[12A]** e **[12B]**, que foram utilizados imediatamente na etapa seguinte, sem purificação. As condições utilizadas para a síntese dos compostos **[12]** estão descritas na Tabela 1.6.

**Tabela 1.6.** Condições adotadas para a reação de formação dos ácidos dilactônicos.

<b>Composto</b>	<b>CMM (mL)</b>	<b>HCl/Éter diet. (mL)</b>	<b>Éter diet. (mL)</b>	<b>NaCl<sub>(aq)</sub> (mL)</b>
[11A]	0,85	10/2+2+2	2 x 15	2 x 10
[11B]	5,00	30/10+5+5	2 x 40	2 x 30

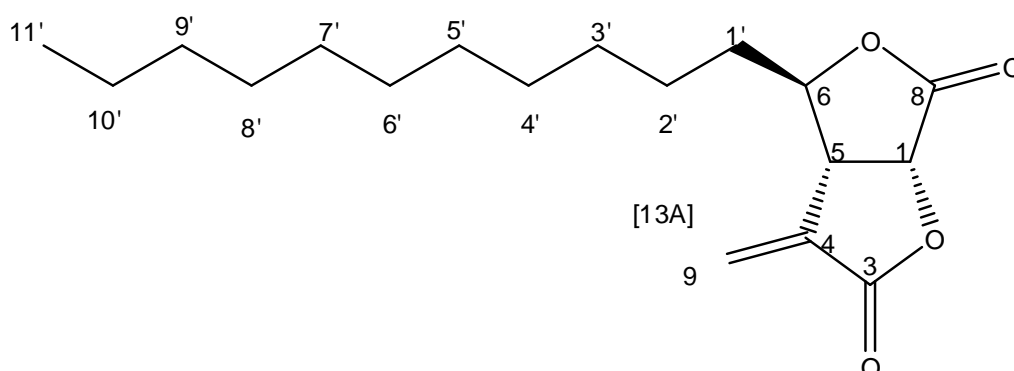
Preparou-se a solução-tampão pH 4, com 0,105 g de acetato de sódio (VETEC) e 4 mL de ácido acético (VETEC) e reservou-se. Em um outro béquer preparou-se uma mistura com 1 mL de dietilamina e 2,92 mL de formaldeído. Misturaram-se as duas soluções e retirou-se uma alíquota que foi adicionada ao balão contendo **[12A]** ou **[12B]** e promoveu-se uma agitação vigorosa por 5 minutos. Em seguida manteve-se o balão em banho-maria a 60°C com agitação constante por mais 5 minutos.

Aguardou-se resfriar o balão a temperatura ambiente e adicionou-se uma mistura de éter dietílico (SYNTH) e água destilada. Agitou-se o sistema e separou-se a fase orgânica. A fase orgânica foi lavada com água destilada e depois com solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub>, aguardando-se até que se cessassem as bolhas. A fase orgânica foi então secada com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em evaporador rotatório. Os produtos foram purificados por coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando como eluente hexano:acetato de etila 2:1, obtendo-se os compostos **[13A]** (0,061 g) e **[13B]** (0,13 g) com rendimentos de 61% e 36% respectivamente. Na Tabela 1.7 estão descritas as condições da reação.

**Tabela 1.7.** Condições de reação para a metilenação dos compostos [12].

Produto	Solução reagente*/mL	Éter + H <sub>2</sub> O (mL)	H <sub>2</sub> O (mL)	NaHCO <sub>3</sub> (aq) (mL)
[13A]	1	15 + 5	20	20
[13B]	3	30 + 10	30	30

\*Preparada a partir de AcONa, AcOH, Et<sub>2</sub>NH e HCOH



### Produto [13A]

**FM:** C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>

**CCD:** *R<sub>f</sub>*: 0,66 (hexano/AcOEt 2:1).

**M:** 308,41 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Sólido branco

**T<sub>f</sub>:** 64,4 – 64,9 °C

**Análise elementar:** Calculado: C: 70,10%; H: 9,15%

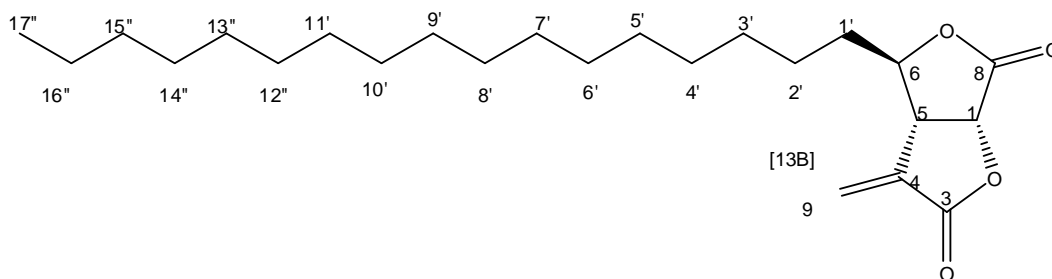
Experimental: C: 70,57%; H:9,27%

**Infravermelho (Filme sobre Csl, ν<sub>max</sub>):** 2918, 2848, 1784, 1761, 1663, 1465, 1454, 1350, 1302, 1287, 1270, 1239, 1223, 1201, 1122, 1084, 1063, 1036, 1021, 1007, 990, 967, 956, 936, 919, 821, 715, 665, 599, 549, 466, 443.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) δ:** 0,86 (t, 3H, *J*<sub>11',10'</sub> = 6,3; **H11'**); 1,26 (m, 16H, **H3'-H10'**); 1,40 – 1,50 (m, 2H, **H2'**); 1,76 – 1,84 (m, 2H, **H1'**); 3,53 – 3,58 (m, 1H, **H5**); 4,39-4,45 (m, 1H, **H6**); 5,05 (d, 1H, *J*<sub>1,5</sub> = 8,4;**H1**); 5,87 (dd, 1H, *J*<sub>9a,5</sub> = 0,3; *J*<sub>9a,9b</sub> = 2,4, **H9a**); 6,47 (d, 1H, *J*<sub>9b,9a</sub> = 2,4; **H9b**);

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz)  $\delta$ :** 14,12 (**C11'**); 22,90 (**C10'**); 24,05 (**C2'**); 29,53 (**C7'**, **C8'**); 29,58 (**C5'**); 29,58 (**C6'**); 29,67 (**C4'**); 29,79 (**C3'**); 32,11 (**C9'**); 36,30 (**C1'**); 44,40 (**C5**); 74,50 (**C1**); 85,37 (**C6**); 126,48 (**C9**); 134,84 (**C4**); 167,69 (**C3**); 169,94 (**C8**).

**EM, m/z (%):** 51(34), 52(18), 53(45), 54(14), 55(96), 56(28), 57(89), 65(11), 66(14), 67(67), 68(67), 69(62), 70(16), 71(17), 79(15), 81(39), 82(24), 83(22), 84(24), 93(18), 95(49), 96(100), 97(32), 98(21), 107(18), 109(56), 110(29), 11(16), 112(12), 121(13), 124(13), 125(20), 126(11), 149(16), 233(17), 308(1), 310(1).



### Produto [13B]

**FM:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4$

**CCD:**  $R_f$ : 0,45 (hexano/AcOEt 3:1 ).

**MM:** 392,57  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

**Aspecto:** Sólido branco

**T<sub>f</sub>:** 71,2 – 72,4 °C

**Análise elementar:** Calculado: C: 73,43%; H: 10,27%

Experimental: C: 63,99%; H: 9,08%

**Infravermelho (Filme sobre Csl,  $\nu_{\text{max}}$ ):** 2914, 2846, 1768, 1774, 1472, 1460, 1297, 1267, 1233, 1206, 1133, 1102, 1072, 1046, 1030, 1010, 962, 931, 909, 815, 729, 717, 620, 545, 434.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz)  $\delta$ :** 0,87 (t, 3H,  $J_{17',16'} = 6,3$ ; **H17'**); 1,26 (m, 16H, **H3'-H16'**); 1,41 – 1,49 (m, 2H, **H2'**); 1,76 – 1,84 (m, 2H, **H1''**); 3,54 – 3,59 (m, 1H, **H5**); 4,39-4,45 (m, 1H, **H6**); 5,05 (d, 1H,  $J_{1,5} = 8,4$ ; **H2**); 5,87 (d, 1H,  $J_{9a,9b} = 2,4$ , **H9a**); 6,47 (d, 1H,  $J_{9b,9a} = 2,4$ ; **H9b**);

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz)  $\delta$ :** 14,08 (**C17'**); 22,64 (**C16'**); 24,78 (**C2'**); 29,06 (**C14'**); 29,32 (**C13'**); 29,42 (**C12'**); 29,54 (**C9'**, **C10'**, **C11'**); 29,58 (**C6'**,**C7'**,**C8'**); 29,64 (**C3'**,**C4'**,**C5'**); 31,86 (**C15'**); 36,00 (**C1'**); 44,05 (**C5**); 74,26 (**C1**); 85,18 (**C6**); 126,50 (**C9**); 134,52 (**C4**); 167,51 (**C3**); 169,80 (**C8**).

**EM, m/z (%):** 50(16), 51(64), 60(15), 70(43), 73(22), 80(74), 85(42), 92(17), 96(32), 109(51), 115(19), 127(16), 128(13), 129(10), 145(19), 150(15), 157(15), 185(10), 364(11), 374(10), 392(6).

### 1.3. Discussão dos Resultados

#### 1.3.1 Síntese de 1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-glicofuranose [2]



**Figura 1. 4.** Proteção das hidroxilas dos carbonos 1,2 e 5,6 da  $\alpha$ -D-glicose (forma furanosídica).

Segundo Wyatt e Warren (2007), moléculas como hidróxi ácidos, amino álcoois, terpenos, carboidratos e alcalóides fazem parte do universo de materiais de partida para síntese assimétrica através da metodologia conhecida como *Chiral Pool*<sup>1</sup>. Dentro deste grupo de compostos baratos e enantiomericamente puros podem-se destacar os carboidratos, onde muitas substâncias foram sintetizados a partir da  $\alpha$ -D-glicose mais do que de qualquer outro membro do *Chiral pool*, sendo esta então uma escolha bastante acertada para a síntese assimétrica em questão.

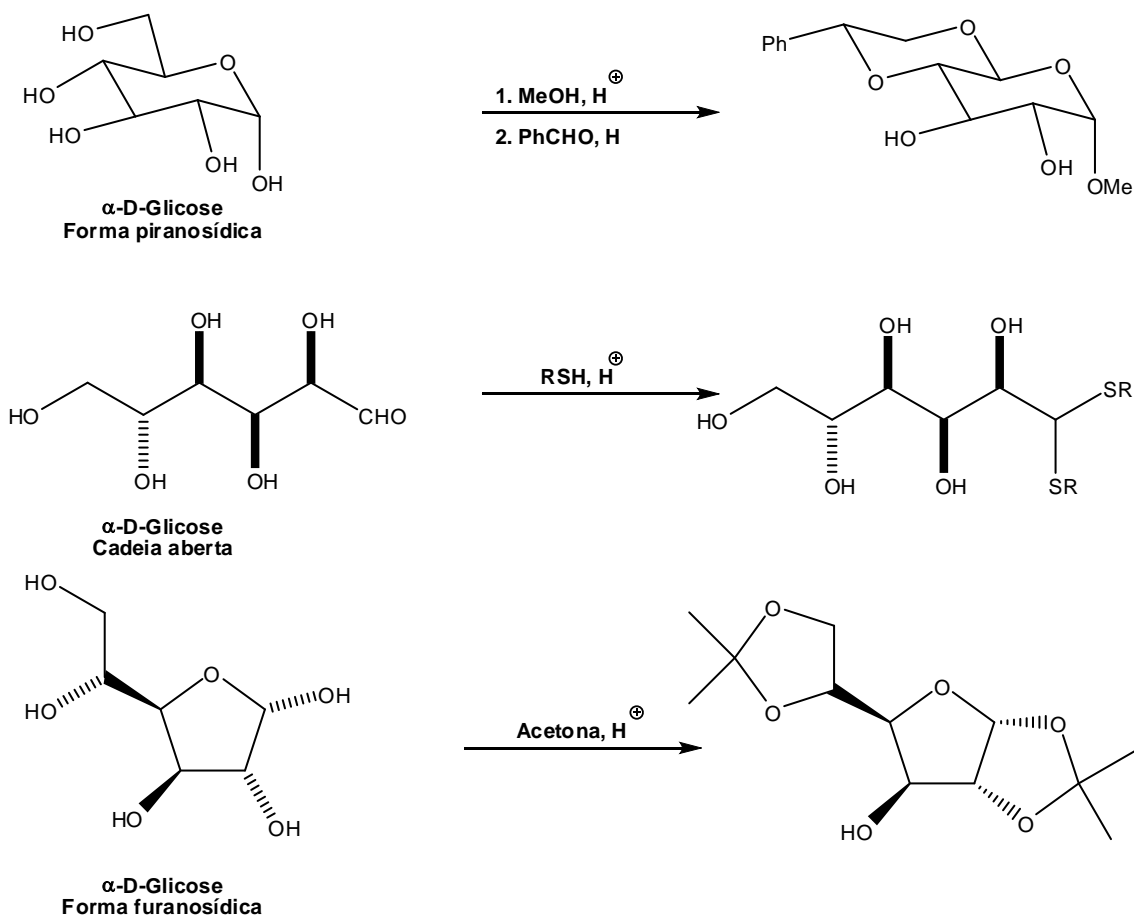
Nesta primeira etapa foi realizada a proteção da  $\alpha$ -D-glicose [1], seguindo metodologia descrita por SCHMIDT (1962), utilizando acetona em meio ácido ( $H_3PO_4$ ), na presença de catalisador ( $ZnCl_2$ ) dando origem ao dioxolano [2], com rendimento de 77%.

A proteção de 1,2 ou 1,3 dióis como derivados O-isopropilideno (acetonídeos) é muito importante para sínteses orgânicas em várias etapas (GREENE e WUTS, 1999; CLAYDEN, *et al.* 2001).

<sup>1</sup> O *Chiral Pool* é definido como sendo um processo de síntese assimétrica utilizando produtos naturais como materiais de partida desde que sejam enantiomericamente puros, tenham grande disponibilidade na natureza e sejam baratos (Wyatt, P. e Warren, S., 2007; Hanessian, 1997).

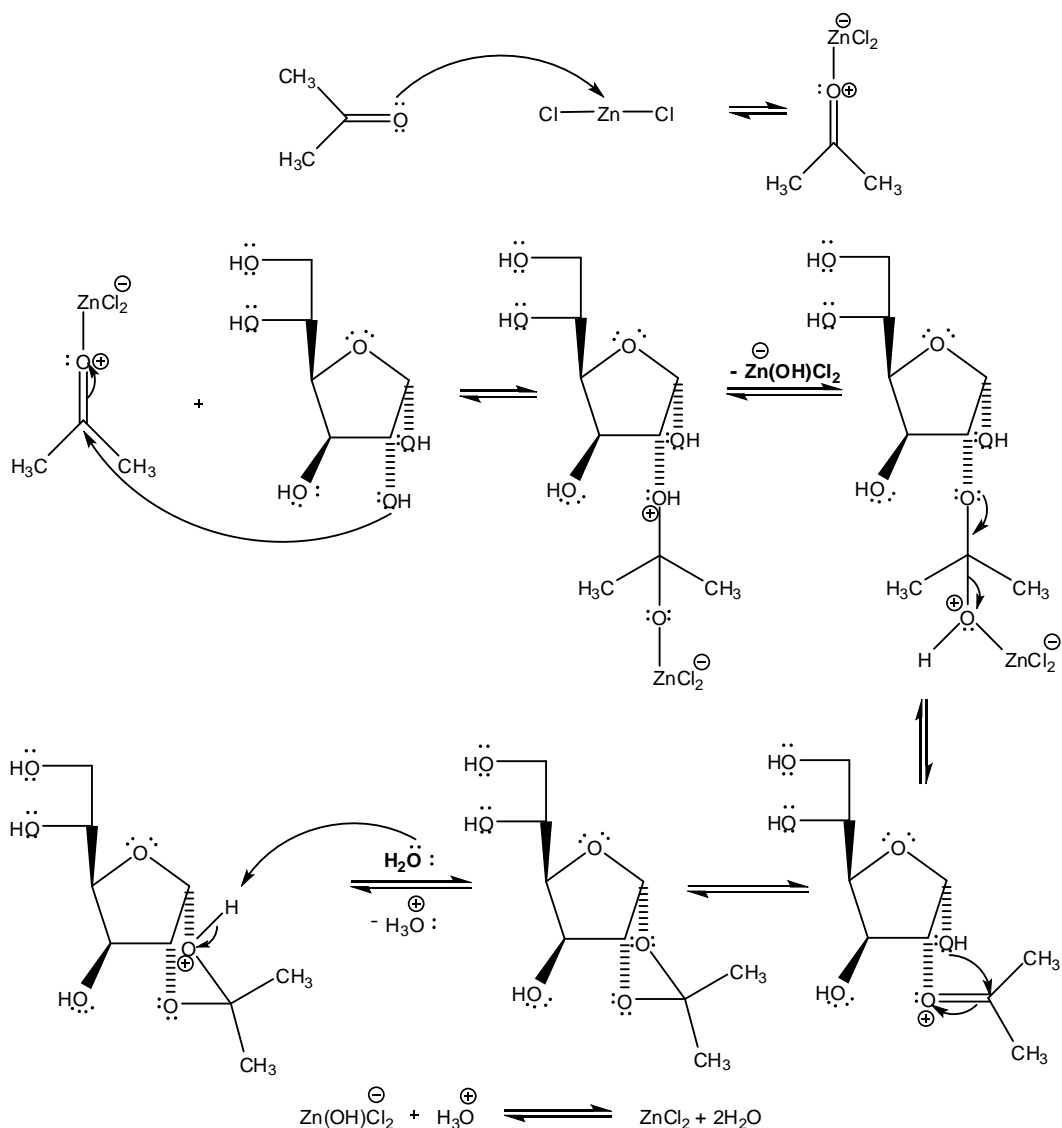
Como os acetais não sofrem hidrólise em meio neutro e básico, constituem proteção adequada para hidroxilas contra reações indesejáveis nessas condições.

A D-glicose, em solução, se apresenta em três formas (Figura 1.5): cadeia aberta, furanosídica e, sendo a mais comum, a forma piranosídica. Cada forma pode ser protegida pela formação satisfatória de diferentes acetais. O benzaldeído, por exemplo, reage preferencialmente com a forma piranosídica com todos os substituintes na posição equatorial. Um grupo tiol protege o grupo aldeído da conformação de cadeia aberta formando um bis-alquiltioacetal e a acetona forma acetais de cinco membros preferindo, então, a forma furanosídica com hidroxilas *cis* (WYATT e WARREN, 2007).



**Figura 1.5.** Formas isoméricas da  $\alpha$ -D-glicose e diferentes métodos de proteção de seus grupos funcionais.

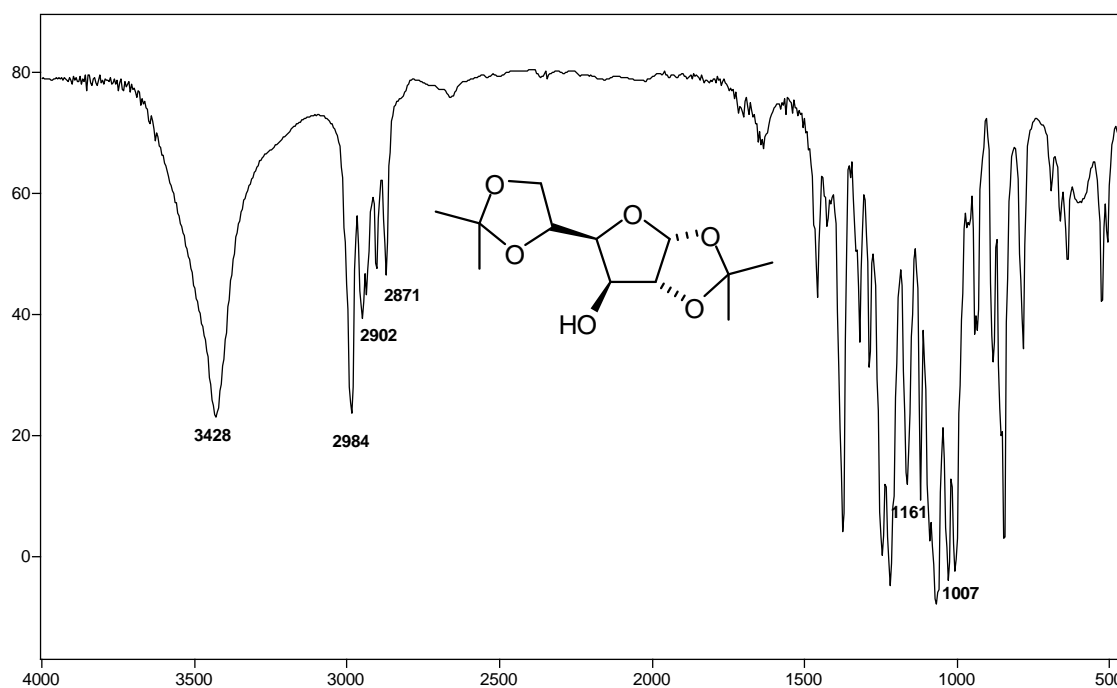
A formação do produto **[2]** ocorre através do ataque de uma das hidroxilas *cis*-vicinais à carbonila da acetona, catalisado pelo cloreto de zinco. Para que este ataque ocorra, a forma isomérica preferencial da D-glicose deve ser a furanosídica (anel de 5 membros) com a hidroxila anomérica na posição  $\alpha$ , como observado na proposta mecanística da Figura 1.6.



**Figura 1.6.** Mecanismo de proteção das hidroxilas 1 e 2 da  $\alpha$ -D-glicose [1].

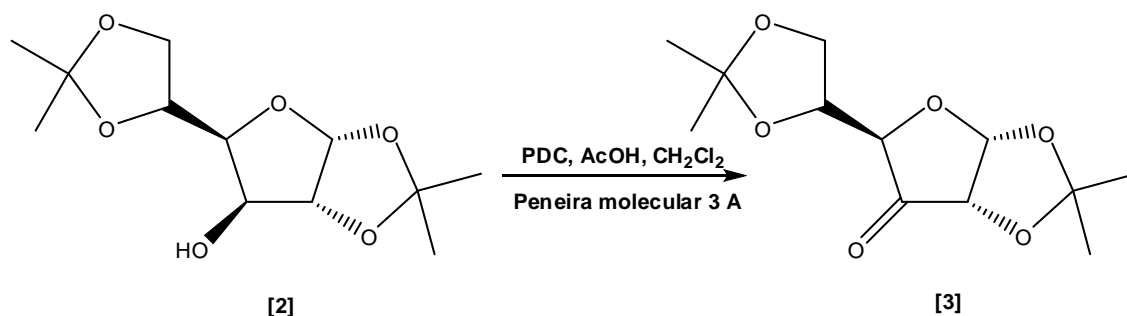
Sendo a  $\alpha$ -D-glicose insolúvel em acetona, após o estabelecimento do equilíbrio, foi facilmente removida da solução do dioxolano **[2]** formado através de filtração a vácuo. Posteriormente o produto foi purificado através de recristalização. A estreita faixa de temperatura de fusão do produto **[2]** (107,9 – 109,0 °C) indicou sua pureza.

O espectro no infravermelho de **[2]** (Figura 1.7) apresenta as bandas de estiramento O-H (3428  $\text{cm}^{-1}$ ), de estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-H (2984 a 2871  $\text{cm}^{-1}$ ) e de diversos estiramentos C-O-C de acetais (1161 a 1007  $\text{cm}^{-1}$ ).



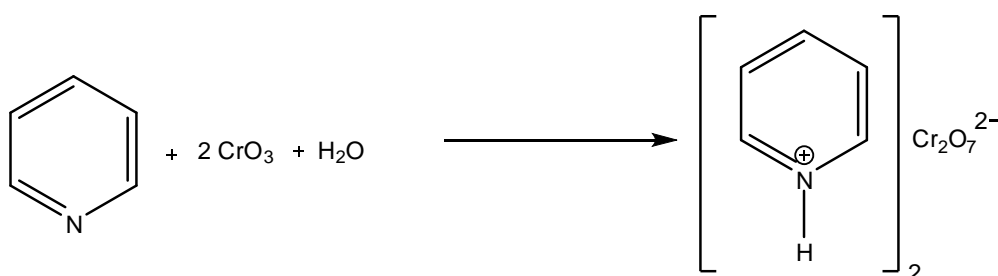
**Figura 1.7.** Espectro no infravermelho (KBr) do dioxolano **[2]**.

### 1.3.2. Síntese de 1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-ribo-exofuran-3-ulose [3]



**Figura 1.8.** Oxidação do dioxolano [2].

A reação de oxidação do dioxolano [2] foi realizada através da metodologia descrita por CZERNECKI, *et al.* (1985). Nesta etapa foi utilizado como agente oxidante o dicromato de piridínio (PDC), preparado através da reação entre piridina e anidrido crômico (Figura 1.9).



**Figura 1.9.** Síntese do dicromato de piridínio (PDC).

Várias metodologias para a preparação de [3] foram testadas por outros autores a fim de encontrar a melhor relação entre o tempo de reação e rendimento (PEREIRA, 2000), sendo a metodologia descrita por CZERNECKI *et al.* (1985) a mais indicada. Neste procedimento a oxidação da hidroxila de [2] ocorre sob condições brandas, utilizando-se o dicromato de piridínio preparado, finamente pulverizado, diclorometano seco, ácido acético seco e a peneira molecular 3Å finamente pulverizada e ativada a 300 °C em forno mufla por 5 horas e resfriada em dessecador.

O uso do PDC para a oxidação de álcoois a aldeídos e cetonas foi descrito pela primeira vez por Coates e Corrigan em 1969, mas toda atenção a esse reagente útil foi dada posteriormente através da publicação de Corey e Schmidt, em 1979, onde descreviam toda a utilidade e vantagens do uso deste reagente (TOJO e FERNÁNDEZ, 2006).

Outras formas de oxidação poderiam ser utilizadas, como a oxidação de Jones, Collins, Swern, etc, mas o PDC apresenta vantagens interessantes: Existe na forma de cristais alaranjados brilhantes que permanecem inalterados durante a sua manipulação ao ar, por não ser hidrofílico e possuir propriedades quase neutras (não possui características ácidas), permite a oxidação seletiva de álcoois na presença de grupos funcionais sensíveis (TOJO e FERNÁNDEZ, 2006), como no caso dos acetais presentes no dioxolano, sendo então útil para esta etapa de oxidação.

O PDC, assim como outros oxidantes a base de cromo, atua via um intermediário éster cromato que evolui a carbonila (Figuras 1.10 e 1.11, respectivamente) (TOJO e FERNÁNDEZ, 2006).

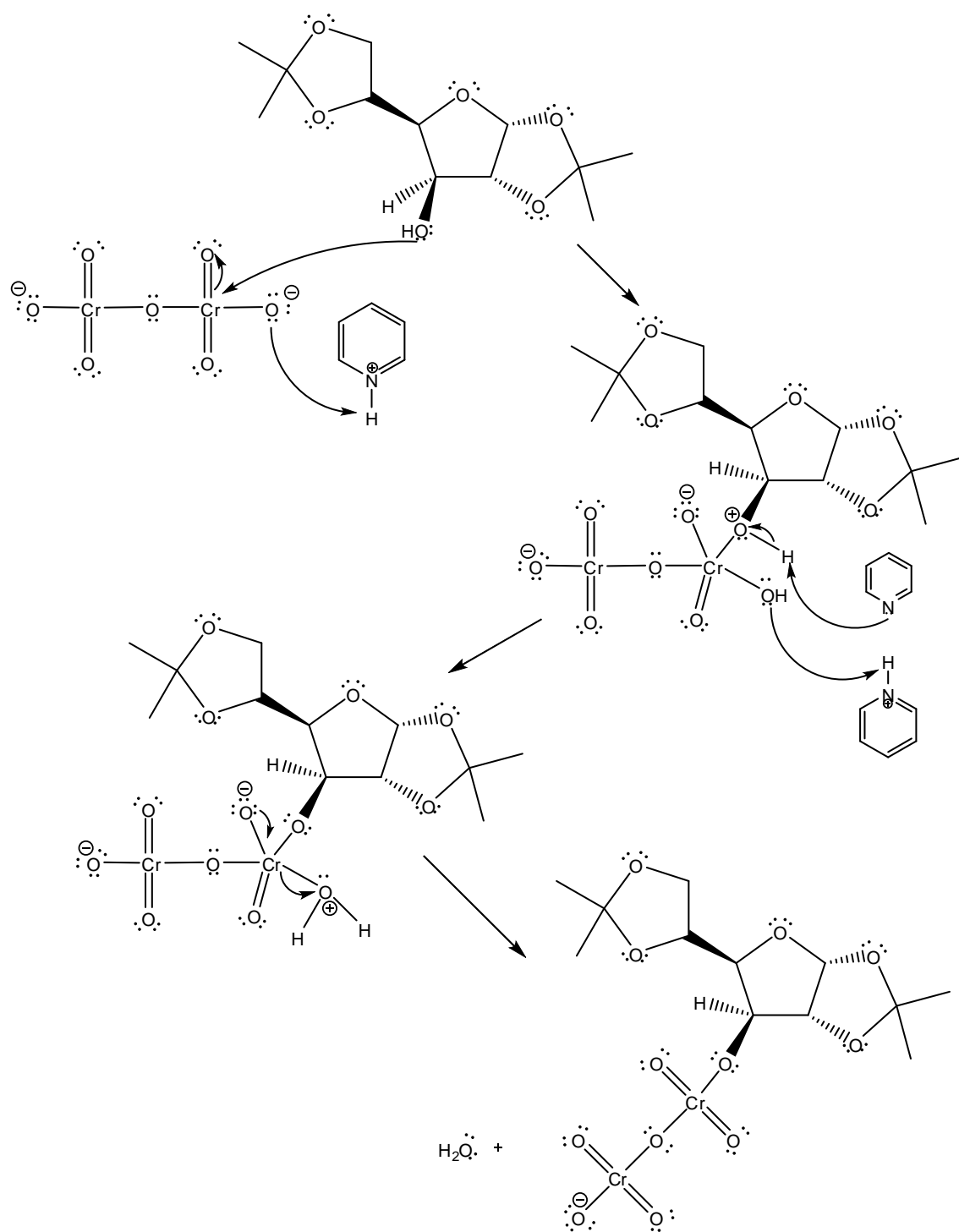
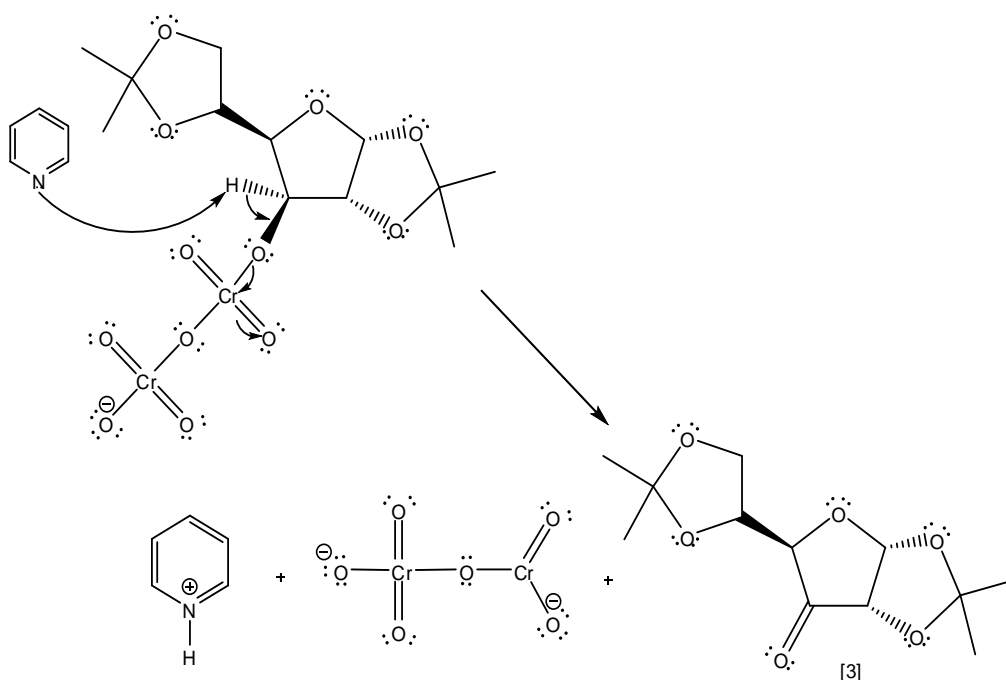
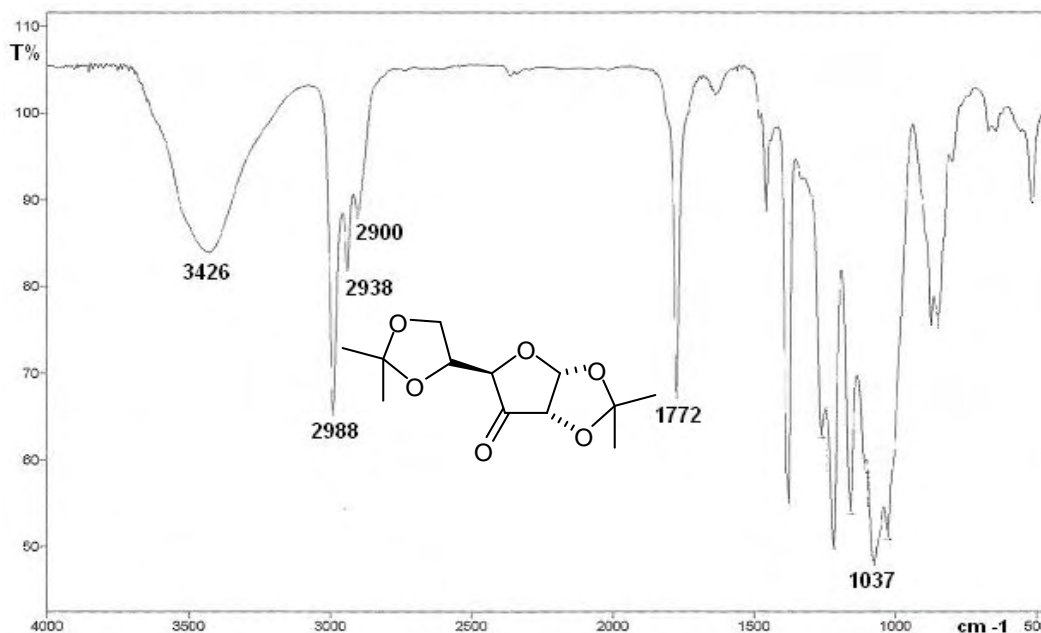


Figura 1.10. Proposta mecanística para a formação do éster cromato.



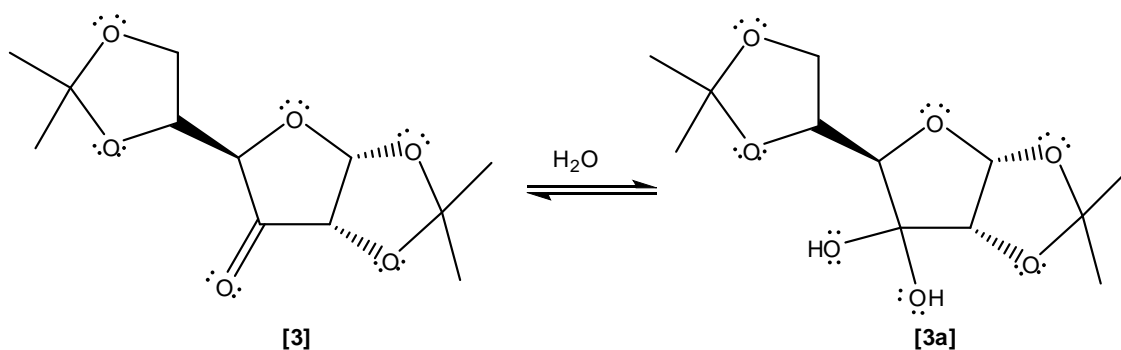
**Figura 1.11.** Etapa da oxidação do dioxolano na forma de éster cromato ao composto [3].

O espectro no infravermelho (Figura 1.12), obtido após 12 horas, confirma a formação do composto [3]. Observa-se uma banda em  $1772\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento da ligação C=O da carbonila. Nota-se também uma banda referente ao estiramento da ligação O-H em  $3428\text{ cm}^{-1}$ , indicando a formação de hidrato.



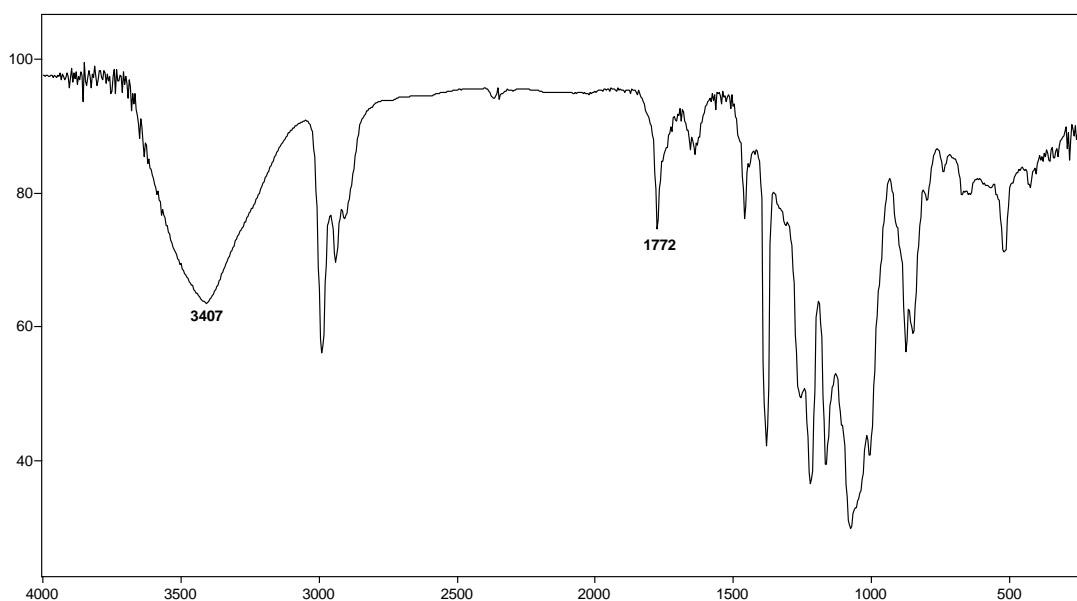
**Figura 1.12.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) pra o composto [3].

A formação de hidrato **[3a]** (Figura 1.13) pode ocorrer através da reação com H<sub>2</sub>O da atmosfera, que se liga ao átomo de carbono da carbonila do composto **[3]**.



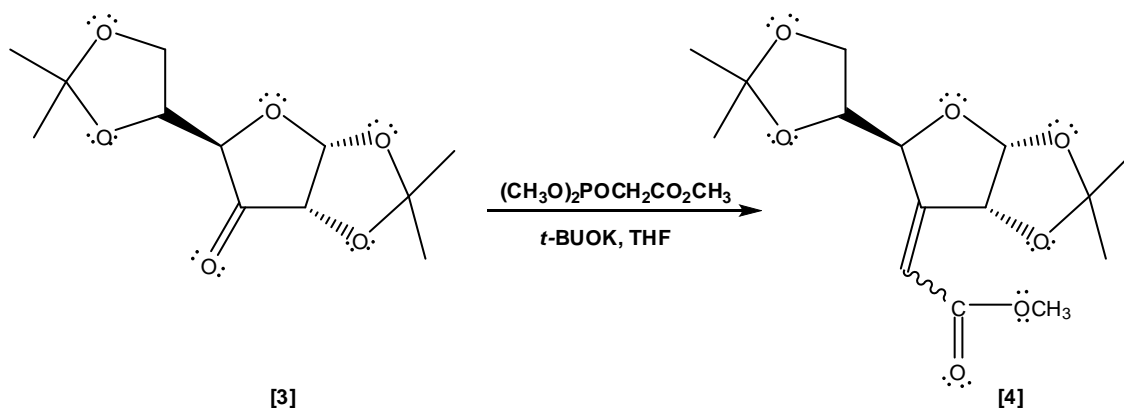
**Figura 1.13.** Formação do Hidrato **[3a]** através da reação com água.

Para confirmar a formação do composto **[3a]**, foi obtido um espectro no infravermelho após 24 horas da preparação de **[3]** (Figura 1.14) e pode-se notar uma considerável redução na intensidade da banda referente ao estiramento C=O da carbonila em 1772 cm<sup>-1</sup> e um acréscimo na intensidade da banda de estiramento de O-H em 3407 cm<sup>-1</sup>. Após avaliar esses parâmetros, o composto **[3]** foi sintetizado novamente e utilizado imediatamente após a sua caracterização.



**Figura 1.14.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) obtido após armazenamento do produto **[3]** por 24 hs na bancada de laboratório, indicando a formação do hidrato **[3a]**.

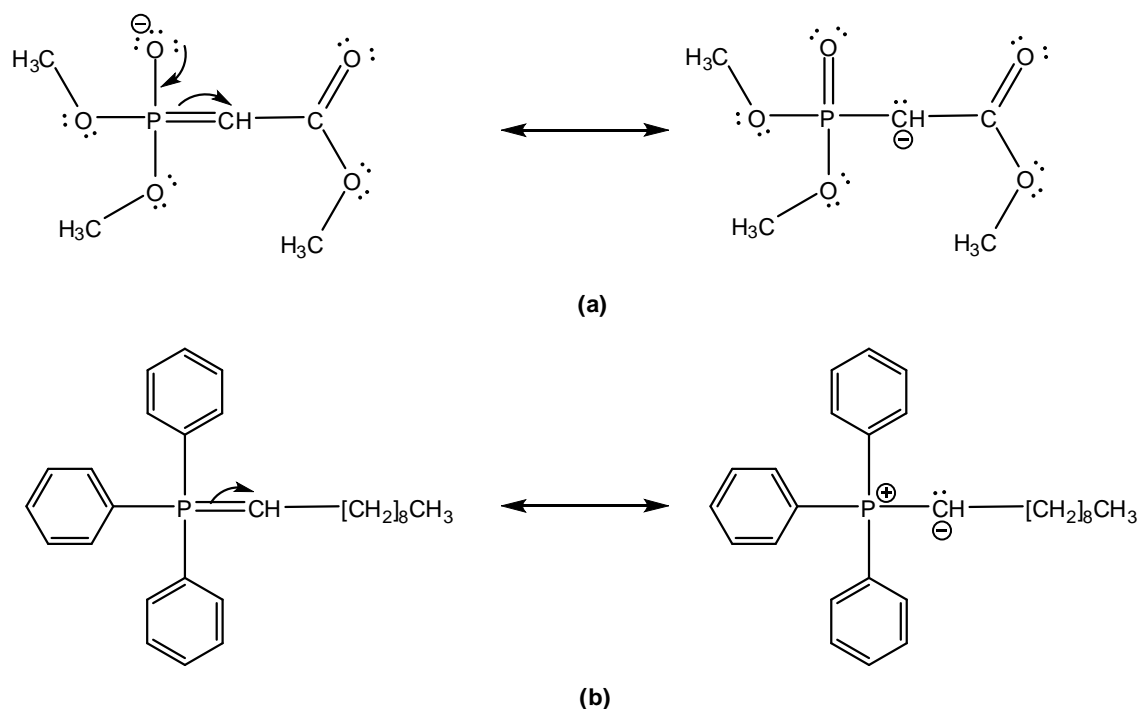
### 1.3.3. Síntese de 3-(*E,Z*)-C-(carbometoximetilideno)-3-desoxi-1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -*D*-alofuranoses [4]



**Figura 1.15.** Preparação da mistura de ésteres [4].

As reações de Wittig caracterizam-se pela formação de ligações duplas carbono-carbono entre compostos carbonílicos e fosforanos (ílideos de fósforo) e, desde e a sua descoberta, têm se tornado um dos mais importantes e efetivos meios para a síntese de alquenos (olefinação) (KURTI e CZAKO, 2005).

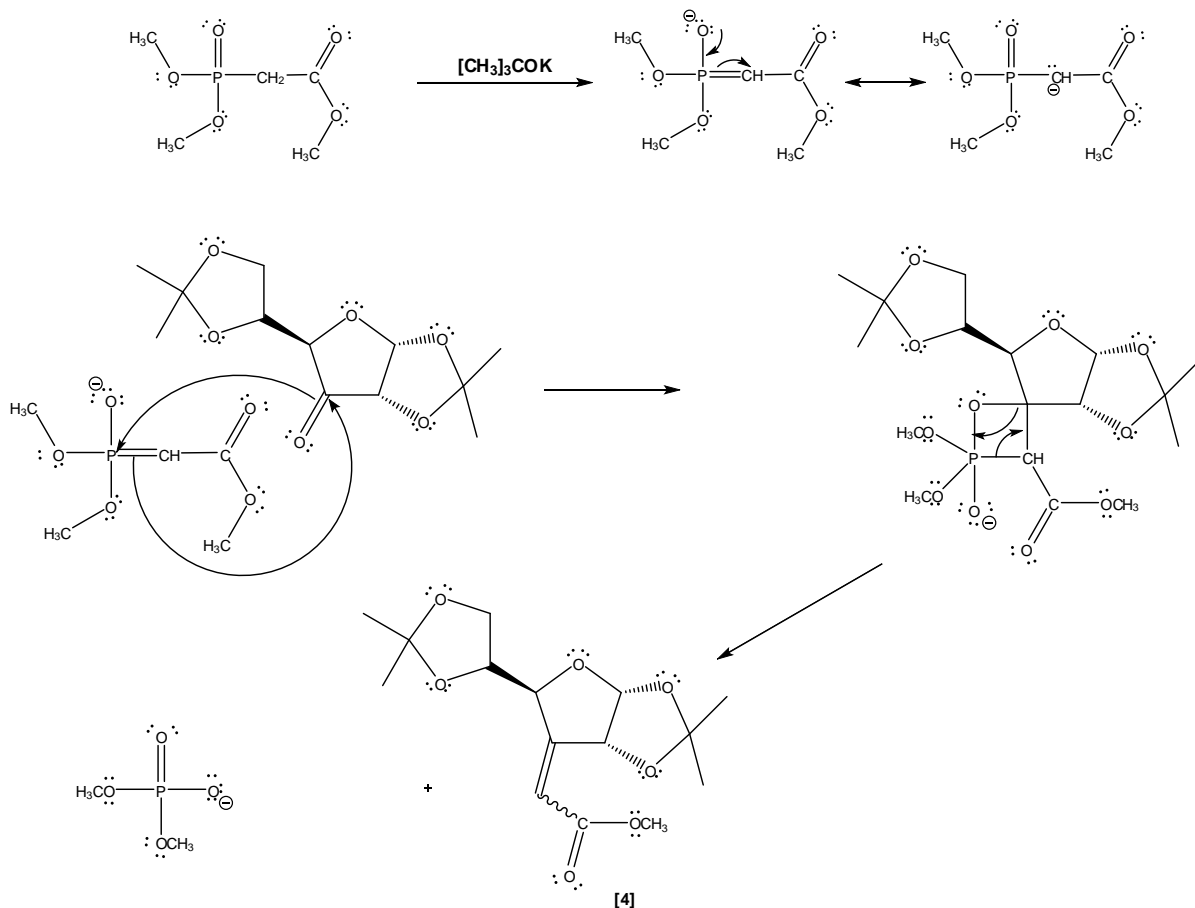
Uma importante variação do método de Wittig, conhecida como reação de Wittig-Horner ou Horner-Wadsworth-Emmons, foi introduzida no final da década 1950 por L. Horner e ratificada em princípios da década de 1960 por W.S. Wadsworth e W.D. Emmons. Esses autores revelaram em seus estudos uma significativa vantagem no uso de carbânions fosforados estabilizados no lugar dos tradicionais ílídios de trifenilfosforano (Figura 1.16) (KURTI e CZAKO, 2005). Neste contexto, o hidrogênio do átomo de carbono ligado ao fósforo se torna mais ácido, possibilitando o uso de uma base mais fraca, como o  $t\text{-BuOK}$ , sendo então o ílideo formado estabilizado por ressonância. O uso desses reagentes gera também um sal de fósforo que pode ser facilmente removido pela adição de água no momento da elaboração da reação (Figura 1.17).



**Figura 1.16.** Estruturas de ressonância para: (a) um carbânion fosforado estabilizado utilizado nas reações de Wittig-Horner e (b) um lídeo de fósforo não estabilizado.

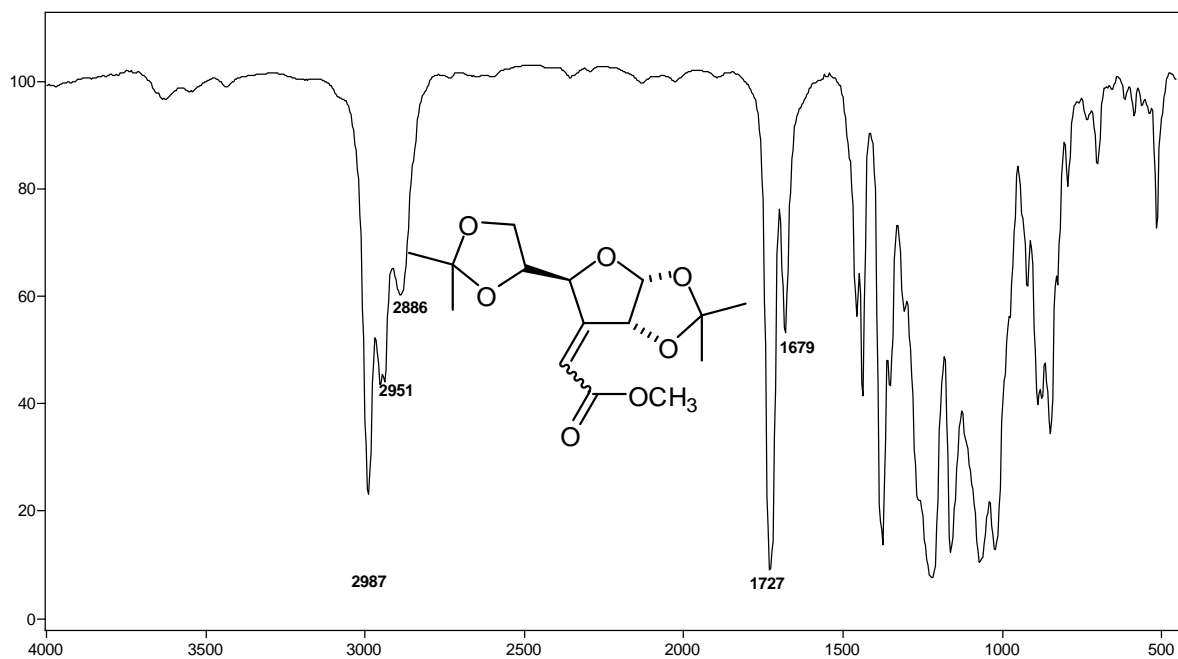
Nesta etapa de síntese, para a preparação dos ésteres **[4]** foi utilizada a metodologia de Wittig-Horner descrita por ROSENTHAL e NGUYEN (1969), utilizando o éster fosfonato 2,2-dimetoxifosforiletanoato de metila na presença de *tert*-butóxido de potássio em tetraidrofurano, para formar a espécie reativa (a) (Figura 1.16), que reagiu com o composto **[3]** formando a mistura de isômeros **[4]** (Figura 1.17). A escolha deste reagente e desta metodologia se baseia no fato de que esta cadeia lateral terminada em um grupo éster consiste exatamente em um grupo precursor de um dos anéis lactônicos do composto final.

A reação de Wittig-Horner caracteriza-se pela alta seletividade (*E*). No entanto, pequenas quantidades do isômero (*Z*) foram formadas, como mostrou a cromatografia em camada delgada sob revelação em câmara de luz UV ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ). No entanto, estes compostos não foram separados, uma vez que seriam hidrogenados dando origem ao mesmo produto.

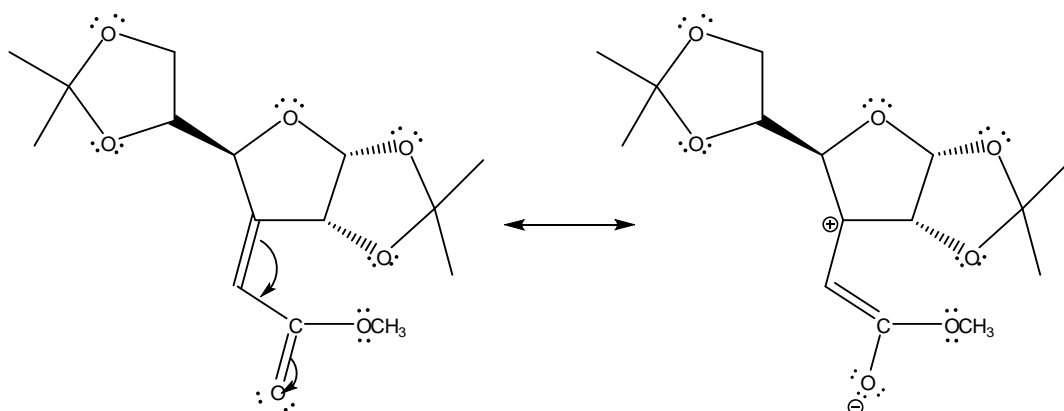


**Figura 1.17.** Proposta de mecanismo para a formação do composto [4].

O espectro no infravermelho dos produtos [4] (Figura 1.18), mostrou uma banda de estiramento C=C na região de  $1679\text{ cm}^{-1}$  e uma banda de estiramento da carbonila de éster em  $1727\text{ cm}^{-1}$ , em número de onda compatível com grupo éster  $\alpha,\beta$  insaturado, menor do que o estiramento apresentado por carbonilas de éster em  $1735\text{ cm}^{-1}$ . Isto ocorre devido ao efeito de ressonância apresentado pelas carbonilas de éster  $\alpha,\beta$  insaturadas (Figura 1.19).

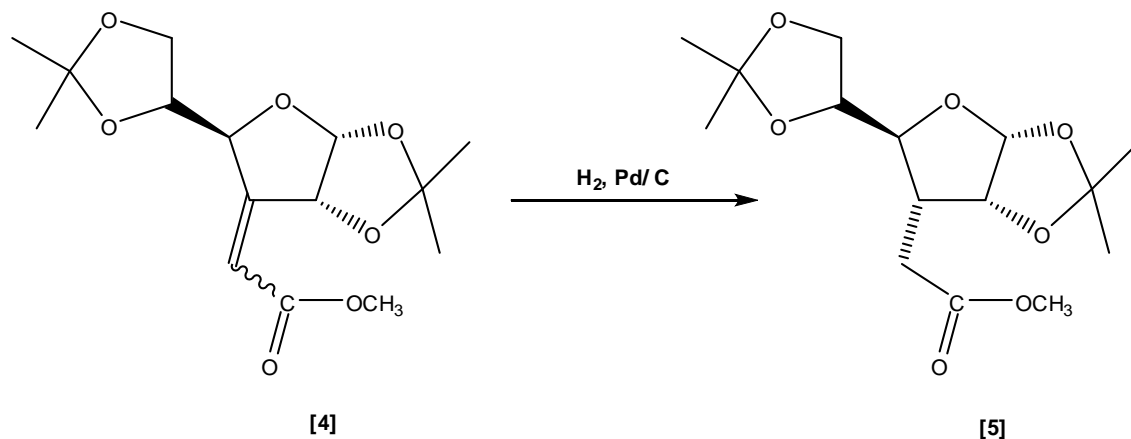


**Figura 1.18.** Espectro no infravermelho (Filme sobre Csl) para a mistura de isômeros [4].



**Figura 1.19.** Estruturas de ressonância para a carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada.

### 1.3.4. Síntese de 3-C-(carbometoximetil)-3-desoxi-1,2:5,6-di-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-alofuranose [5]

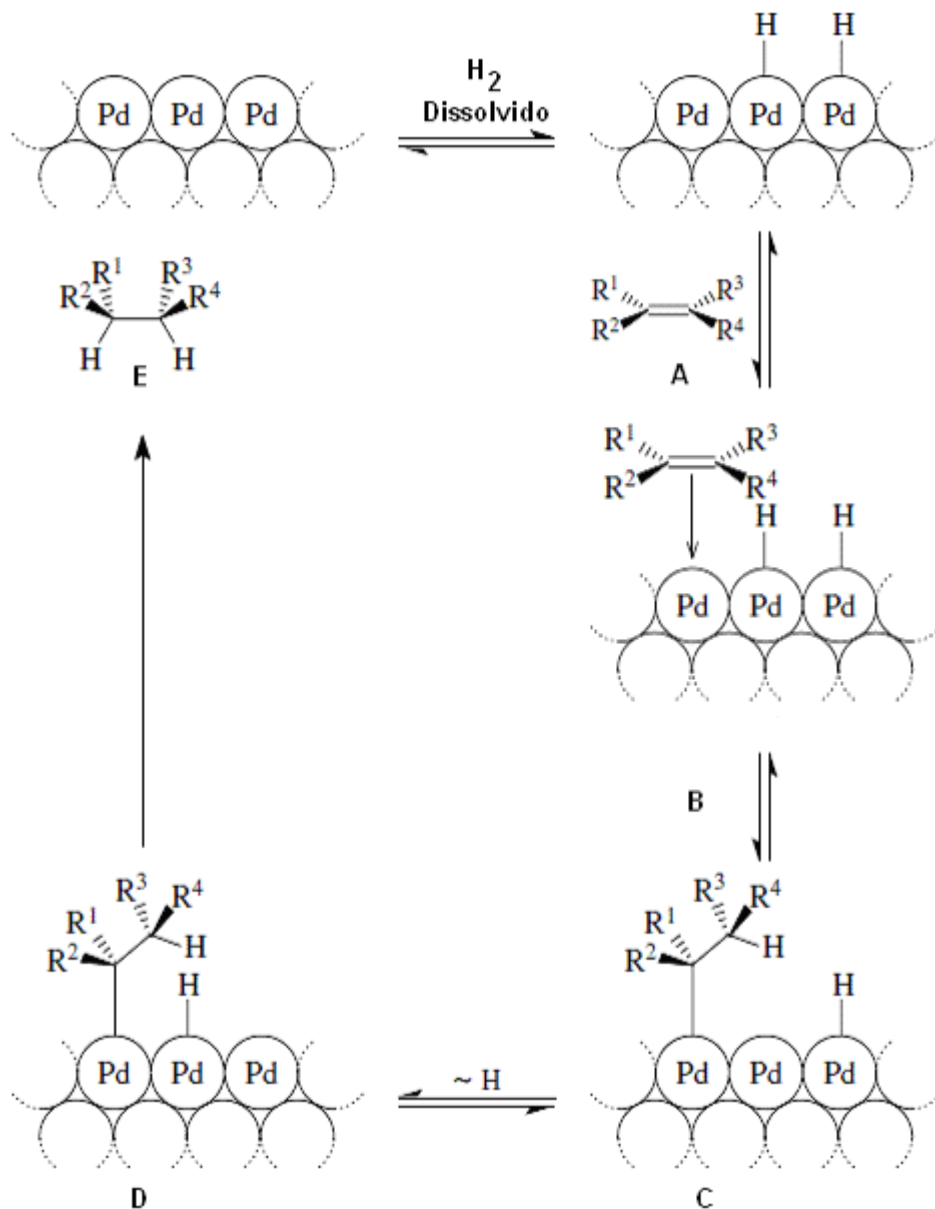


**Figura 1.20.** Hidrogenação catalítica dos carbonos olefínicos dos ésteres [4].

A adição de hidrogênios a olefinas é possível através da presença de catalisadores como Pd ou Pt, normalmente adsorvidos em carvão ativado ou óxido de alumínio. Esses catalisadores permitem um caminho de reação de vários passos e de baixa energia, sendo a taxa de conversão do alqueno em alcano maior quanto maior for a superfície do catalisador (BRUCKNER,2002).

Em uma hidrogenação heterogênea, uma molécula de  $H_2$  dissolvida na fase líquida se liga covalentemente à superfície do catalisador. O alqueno também se liga à superfície do catalisador próximo à ligação paládio-hidrogênio. Então, segue-se a hidropalatação *cis*-seletiva do alqueno. Neste momento, um átomo de paládio se liga a um dos átomos de carbono e um átomo de hidrogênio próximo a esse sítio se liga ao outro átomo de carbono. Ocorre então uma migração de outro átomo de hidrogênio através da difusão pela superfície do catalisador para próximo do produto da hidropalatação e este se liga ao composto, formando então o alqueno na forma *cis* (Figura 1.21) (BRUCKNER,2002).

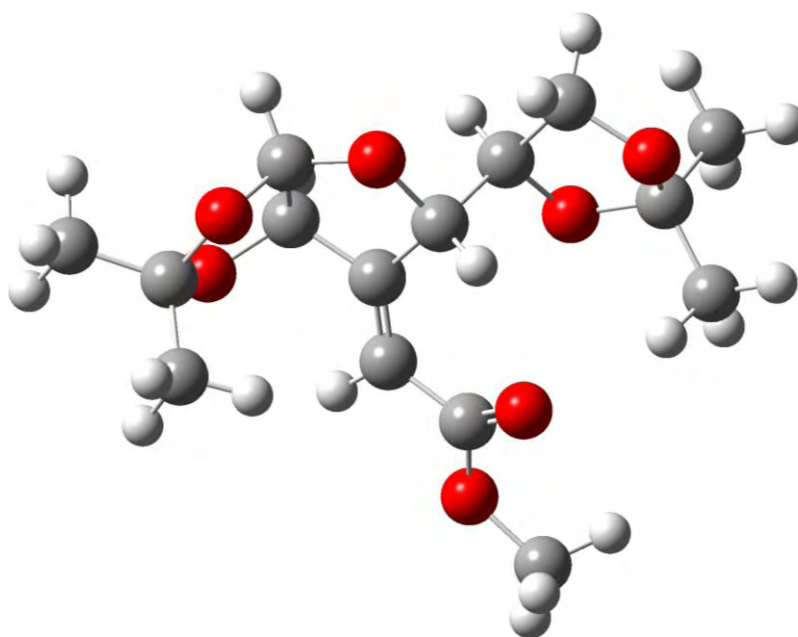
Nesta etapa os alquenos (*E*) e (*Z*) [4], foram hidrogenados através do processo de catálise heterogênea<sup>2</sup> utilizando Pd/C em acetato de etila, sob atmosfera de hidrogênio e agitação, com rendimento de 91%.



**Figura 1.21.** Esquema de mecanismo para a hidrogenação catalítica de alquenos.

<sup>2</sup> Entende-se por catálise heterogênea aquele processo onde a hidrogenação ocorre com os catalisadores sólidos não dissolvidos no meio reacional (Bruckner, 2002).

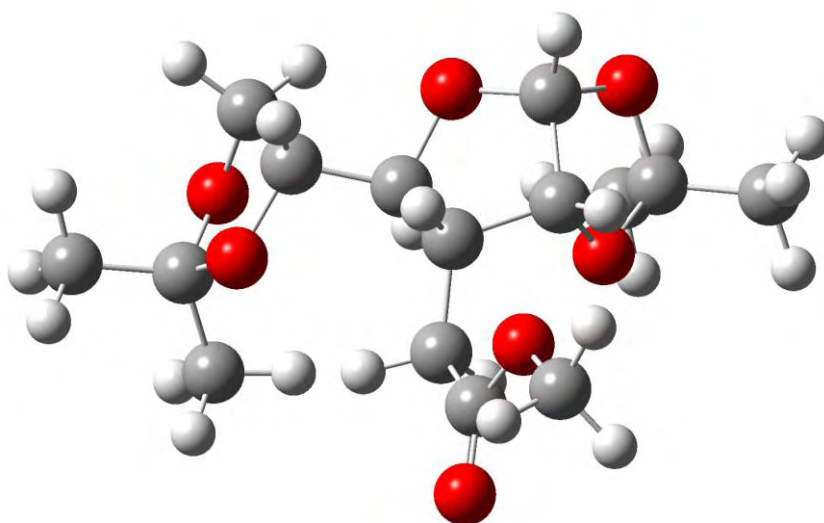
Cálculos computacionais utilizando o programa Gaussian 03 para a determinação da conformação mais estável para os compostos **[4]** (Figura 1.22) confirmam o impedimento espacial exercido pelo grupo dioxolano em um lado da molécula, indicando que a hidrogenação *cis*-seletiva de **[4]** ocorre somente por um lado da mesma (FRISCH, *et al.* 1998)



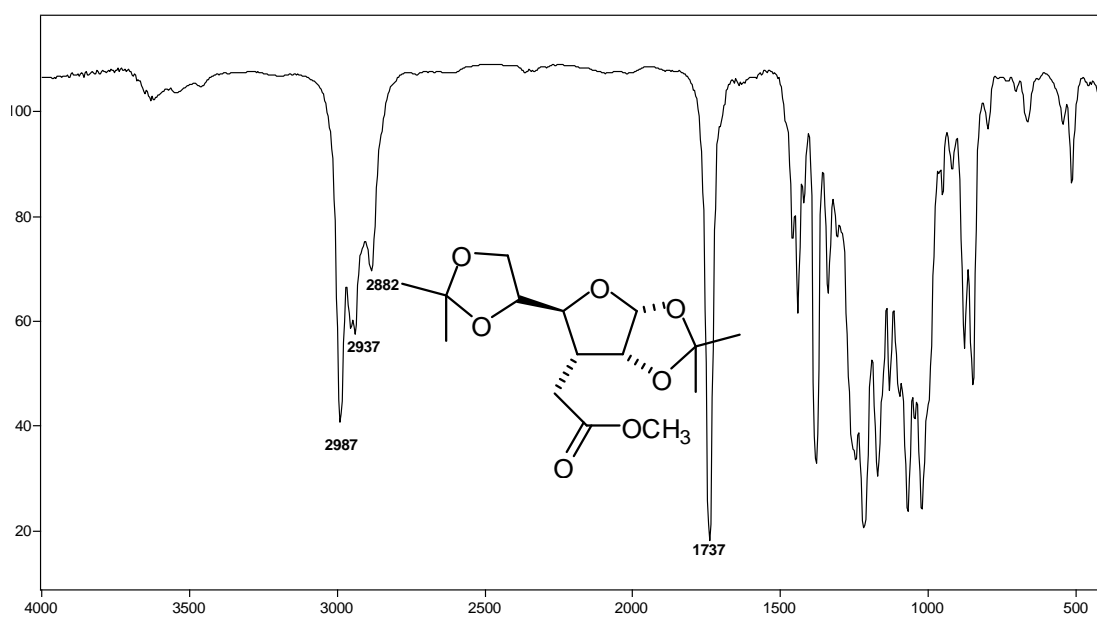
**Figura 1.22.** Conformação de menor energia para o isômero (*E*) **[4]**, demonstrando o impedimento espacial dos grupos dioxolano e metila à esquerda da ligação dupla, nesta perspectiva. Cálculo realizado utilizando a plataforma RHF/3-21g.

A hidrogenação de **[4]** é um ponto chave da rota sintética. Neste processo, a hidrogenação ocorre pela face da molécula que leva à configuração *R* do carbono 3', de forma que o grupo éster precursor de um dos anéis lactônicos adquira uma conformação favorável à formação do anel em etapas posteriores (Figura 1.23).

O espectro no infravermelho de **[5]** (Figura 1.24) confirma a sua formação através da ausência da banda referente ao estiramento C=C em  $1679\text{ cm}^{-1}$ , que era evidente no composto de partida (Figura 1.18, página 56), confirmando então a hidrogenação. Além disso, ocorreu o deslocamento esperado da banda referente ao estiramento da ligação C=O do éster de  $1727\text{ cm}^{-1}$  para  $1737\text{ cm}^{-1}$ , indicando que esta deixou de ser conjugada (BARBOSA, 2007).

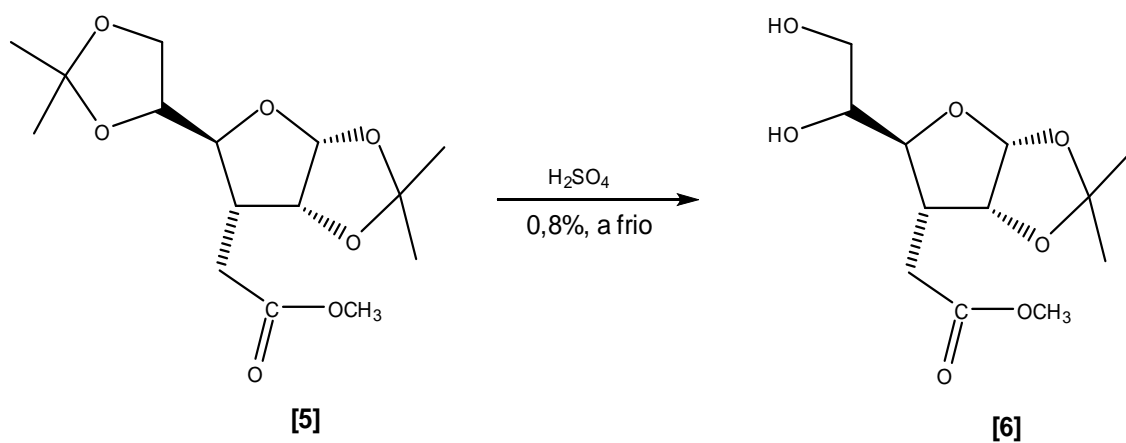


**Figura 1.23.** Conformação de menor energia para o composto hidrogenado **[5]**. Cálculo realizado utilizando o método RHF e plataforma 3-21g.



**Figura 1.24.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) para o composto hidrogenado [5].

### 1.3.5. Síntese de 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-alofuranose [6]



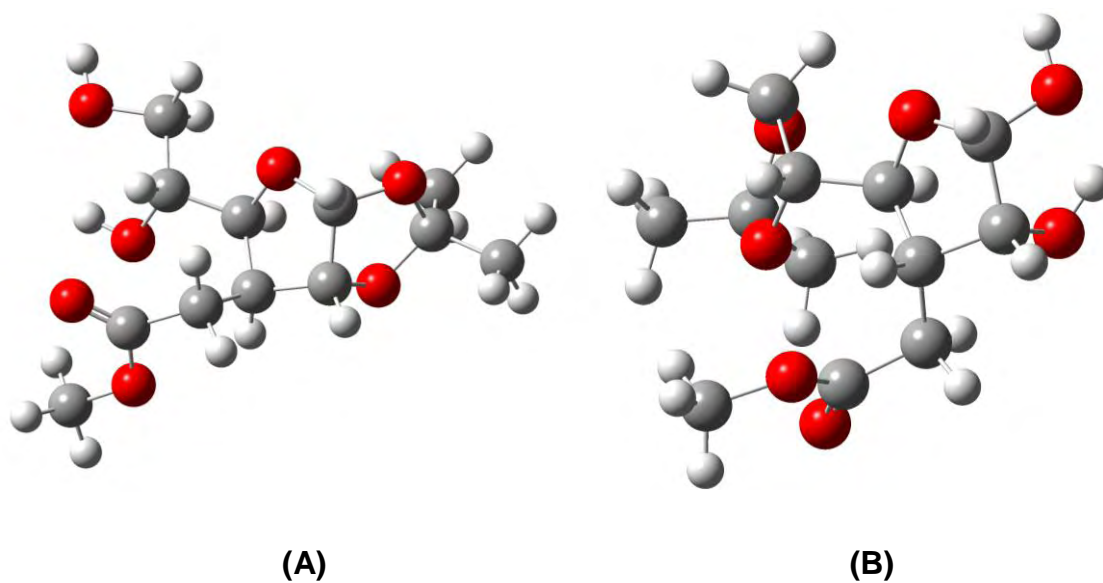
**Figura 1.25.** Hidrólise ácida do composto [5].

Para a desproteção seletiva dos acetais cíclicos de cinco membros (dioxolanos) a hidrólise seletiva em meio ácido é o método mais indicado, visto que esses dois grupos dioxolanos presentes na molécula sofrem hidrólise com velocidades diferentes (CLAYDEN *et al.*, 2001; SCHMIDT, 1962).

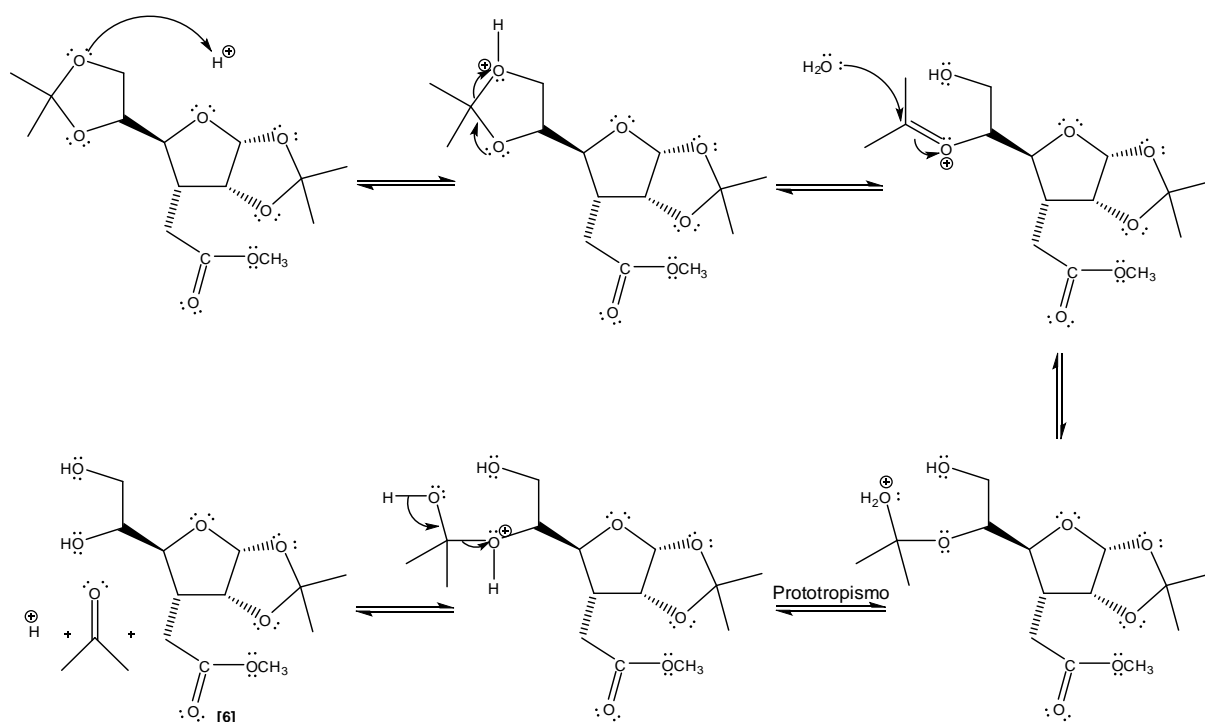
A maior estabilidade do anel de cinco membros fundido ao biciclo torna-o mais estável e menos susceptível à hidrólise, o que explica a preferência pela desproteção das hidroxilas 5 e 6. Cálculos computacionais confirmam que a formação do diol através da desproteção das hidroxilas 5 e 6 envolve uma menor energia de formação ( $\Delta H_f$ ) com uma diferença de 4,02 kcal/mol (Figura 1.26) (FRISCH, *et al.* 1998).

A reação (Figura 1.25) foi acompanhada por CCD, observando os Rf's dos compostos formados. O produto de partida **[5]** aparecia com Rf igual a 0,81 (hexano:acetato de etila 1:2), o produto **[6]**, mais polar, aparecia com um Rf igual a 0,37 enquanto o subproduto, relativo a hidrólise dos dois acetais, aparecia com um Rf igual a 0,17. Assim, toda a reação foi acompanhada por CCD até o momento em que a mancha relativa ao produto totalmente hidrolisado começasse a aparecer após 20 horas de reação.

Neste momento, a reação foi interrompida com adição de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 10% e o metanol foi eliminado em evaporador rotatório. O produto obtido foi utilizado diretamente na próxima etapa sem ser isolado e caracterizado. ROSENTHAL e NGUYEN (1969) descrevem o isolamento e a caracterização de **[6]**; no entanto, estudos posteriores demonstraram que a utilização direta do produto hidrolisado aumenta o rendimento global da transformação de **[5]** em **[7]**, como será mostrado a seguir (PEREIRA, 2000). Na Figura 1.27, (página 64) observa-se a proposta para o mecanismo da reação de desproteção das hidroxilas dos carbonos 5 e 6.

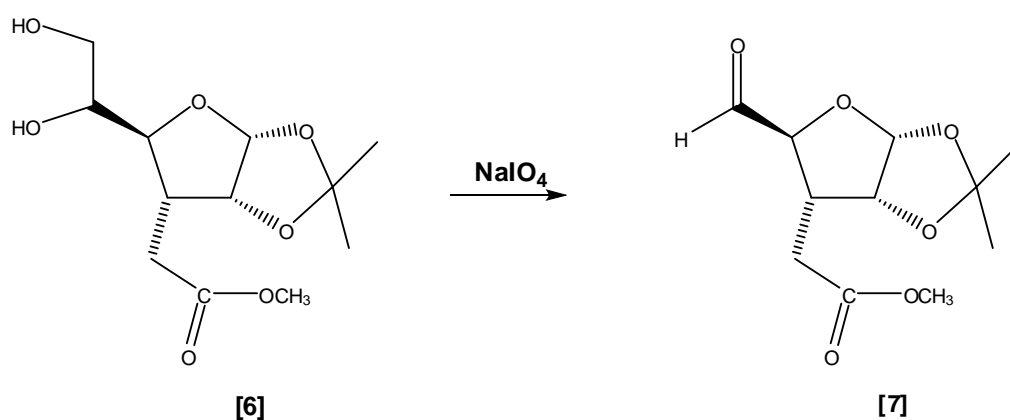


**Figura 1.26.** (A) produto da hidrólise dos acetais das hidroxilas em C5 e C6. (B) produto da hidrólise dos acetais das hidroxilas em C1 e C2.



**Figura 1.27.** Mecanismo para a hidrólise ácida do composto [5].

### 1.3.6. Síntese de 3-desoxi-3-C-(carbometoximetil)-1,2-O-isopropilideno- $\alpha$ -D-ribofuranose [7]



**Figura 1.28.** Clivagem oxidativa do composto [6].

O grupo diol, formado na etapa anterior, foi submetido a uma clivagem oxidativa pelo íon periodato em condições brandas (CAREY e SUNDBERG, 2007). A oxidação com periodato de sódio em solução aquosa ocorreu com rendimento de 81% a partir do composto [5]. ROSENTHAL e NGUYEN (1969) obtiveram um rendimento global a partir do composto [5] de 53%, passando pela etapa de isolamento do composto [6]. Isto corrobora a proposta metodológica de PEREIRA (2000), onde a obtenção de [7] sem o isolamento de [6] levava a sua obtenção com maiores rendimentos.

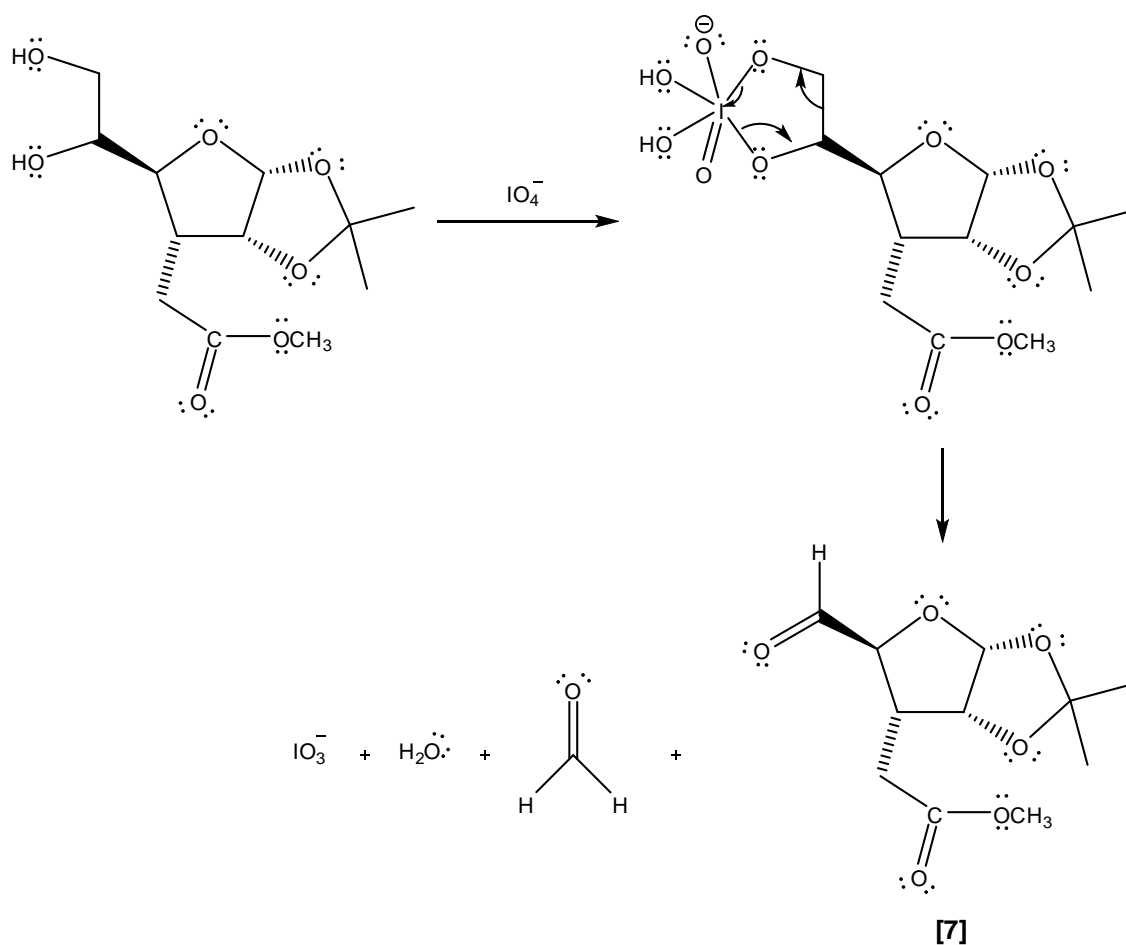
A clivagem pode ocorrer via um aduto cíclico do diol e do oxidante, seguido da liberação do aldeído (Figura 1.29) (CAREY e SUNDBERG, 2007).

A reação ocorreu por três horas e o pH foi mantido em torno de 7 através da adição de solução de NaOH 0,25 mol.L<sup>-1</sup> para neutralizar o ácido metanóico formado como subproduto da reação paralela de oxidação do metanal, assim evitando a hidrólise do grupo dioxolano.

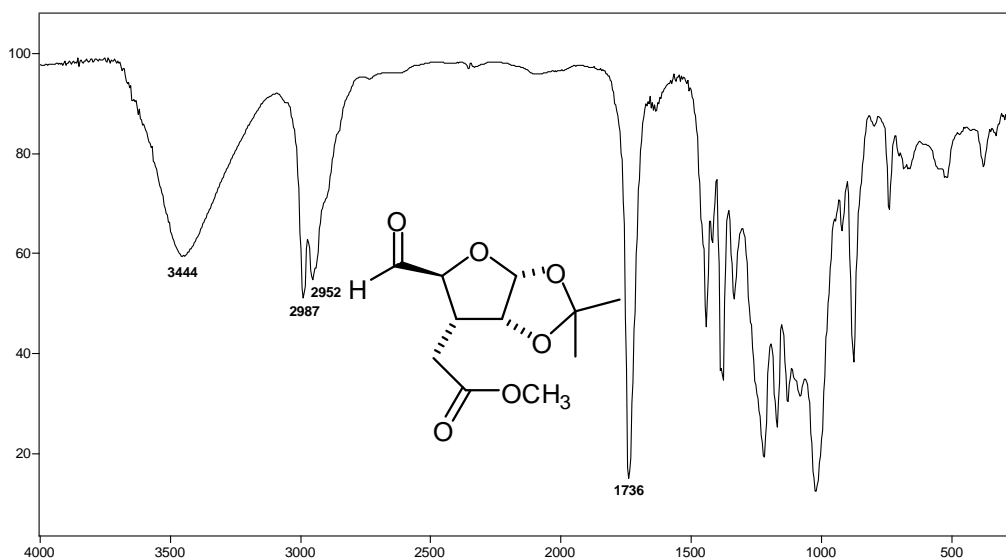
O espectro no infravermelho do composto [7] (Figura 1.30), mostra uma banda em 1738 cm<sup>-1</sup>, característica de estiramento C=O de carbonilas e, neste caso, indica a sobreposição das carbonilas do éster e do aldeído.

Outro fato relevante foi o aparecimento da banda em  $3454\text{ cm}^{-1}$ , relativa ao estiramento da ligação O-H de álcoois, o que pode indicar que o produto estava contaminado pelo material de partida **[6]** e, portanto a oxidação não havia sido completada quando foi interrompida.

Considerando este fato e a variação de pH indicativa do consumo de oxidante pelo metanol, supõe-se que melhor rendimento teria sido alcançado com o uso de dois equivalentes de periodato.



**Figura 1.29.** Proposta de mecanismo para a clivagem oxidativa do diol **[6]** para a formação do composto **[7]**.

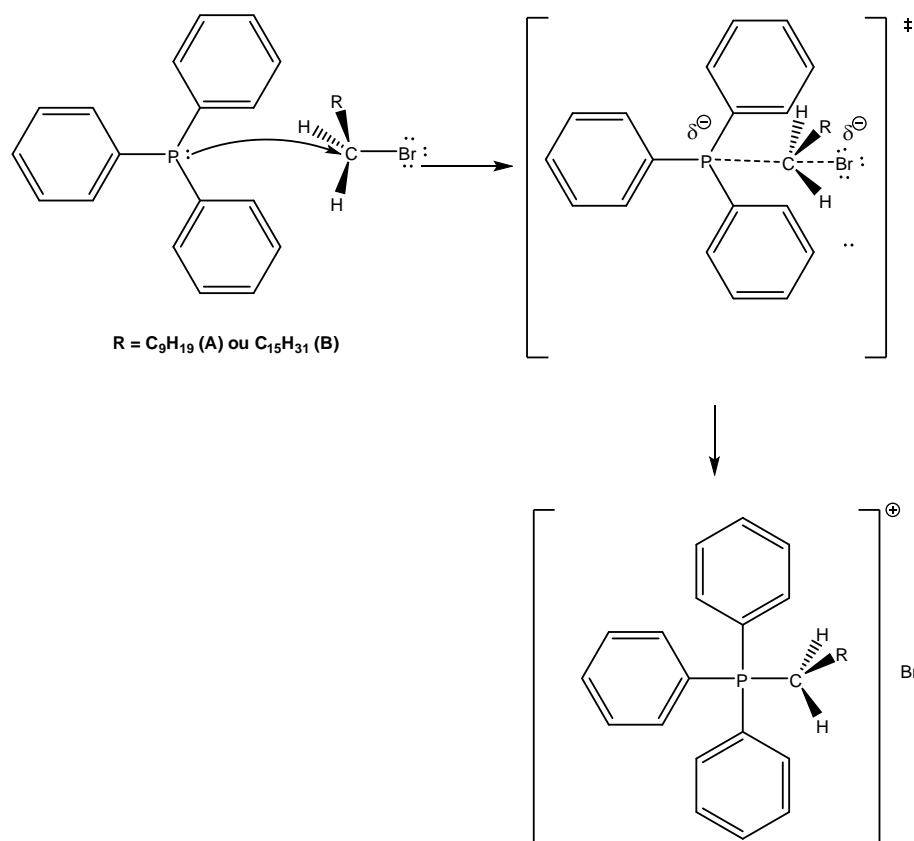


**Figura 1.30.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) do produto [7].

### 1.3.7. Preparo dos Sais de Wittig

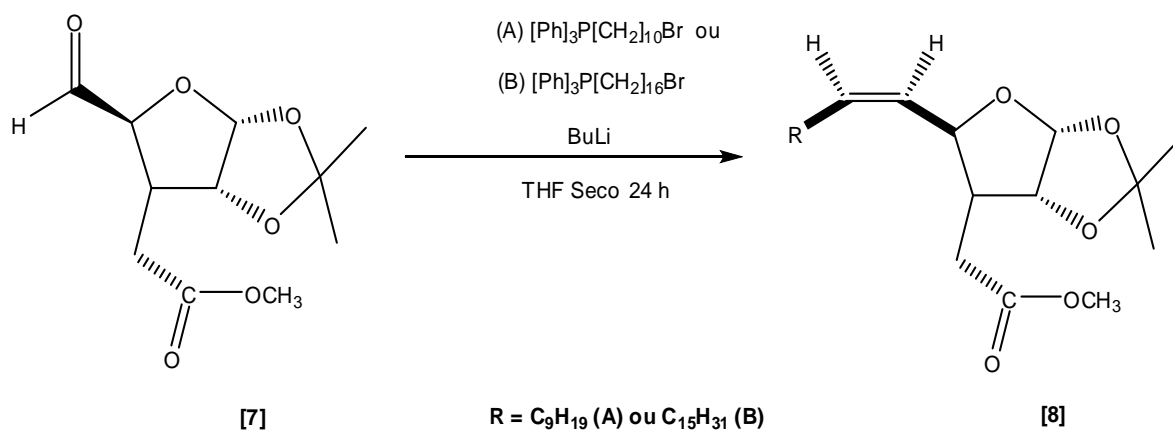
Os sais de Wittig foram preparados através de uma reação do tipo  $A_nD_n$  (Figura 1.31) entre a trifenilfosfina e um haleto de alquila (brometo de decila ou brometo de hexadecila) sob refluxo a uma temperatura de 120°C.

Após o término da reação, os compostos foram resfriados a temperatura ambiente e armazenados a -10°C por 30 horas para que se elevasse a taxa de precipitação. Em seguida, os sais foram mantidos sob vácuo, no dessecador. No entanto, pode-se observar uma rápida mudança na coloração e no aspecto do brometo de deciltrifenilfosfônio, passando de branco para amarelo-palha e apresentando um aspecto gelatinoso em razão da sua instabilidade (KOUMBIS *et al*, 2003) e alta higroscopicidade. Por esse motivo, não foi possível determinar a temperatura de fusão do mesmo e assim os sais foram utilizados logo após a sua síntese.



**Figura 1.31.** Poposta de mecanismo para a formação dos sais de Wittig, (A) brometo de deciltrifenilfosfônio e (B) brometo de hexadeciltrifenilfosfônio.

### 1.3.8. Síntese de (2'*R*,3'*R*,4'*R*,5'*R*)-2'-{1''-[(*Z*)-alquênil]-4',5'-isopropilidenedioxitetraidrofurano-3'-il} acetatos de metila [8]



**Figura 1.32.** Reações de olefinação do composto [7].

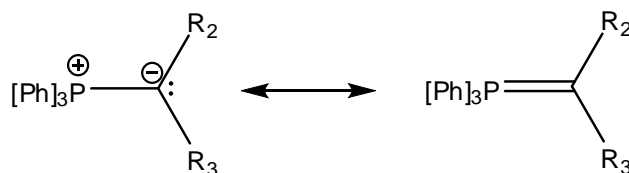
Nesta etapa, a cadeia lateral que diferencia os análogos do avenaciólídeo é introduzida a partir de uma reação de Wittig (Figura 1.32), sendo então uma etapa chave dentro da estratégia de síntese escolhida.

Todos os produtos obtidos a partir de [7] neste trabalho constituem substâncias inéditas.

Os sais de Wittig A e B preparados conforme descrito no ítem 1.3.7 reagiram então com butillítio sob atmosfera de nitrogênio para a formação do ílideo correspondente. Após a formação do ílideo, constatada pela alteração do sistema de incolor para vermelho, o composto [7] foi então introduzido no meio reacional levando a formação dos compostos olefínicos [8A] e [8B], com rendimentos de 31% e 35%, respectivamente. Os baixos rendimentos podem ser explicados através da alta higroscopicidade e instabilidade (KOUMBIS *et al.*, 2003) do brometo de deciltrifenilfosfônio e, principalmente, por uma provável contaminação do material de partida [7] pelo composto [6], como discutido anteriormente.

A reatividade dos ílideos de fósforo depende da natureza dos grupos substituintes. Se os substituintes do carbânion são grupos retiradores de elétrons, como por exemplo, uma carbonila, a carga negativa do ílideo fica deslocalizada no substituinte e então o caráter nucleofílico e a reatividade em direção ao grupo carbonila de aldeídos e cetonas é reduzida (CARRUTHERS e COLDHAM, 2005).

Os ílideos podem ser divididos em três grupos (Figura 1.33), de acordo com a sua reatividade em função dos seus grupos substituintes.

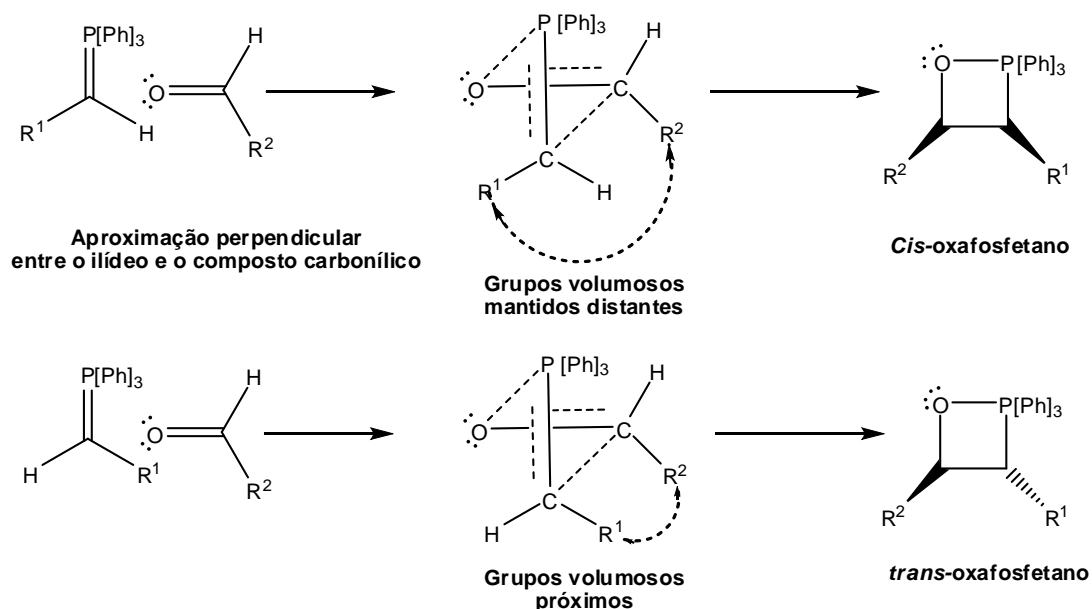


$R_1, R_2, R_3 =$  alquila, H. Ílideo não estabilizado.  
 $R_2, R_3 =$  arila, alquenila, benzila, alila, H. Ílideo semiestabilizado.  
 $R_2, R_3 = -CO_2R, -SO_2R, -CN, -COR.$  Ílideo estabilizado.

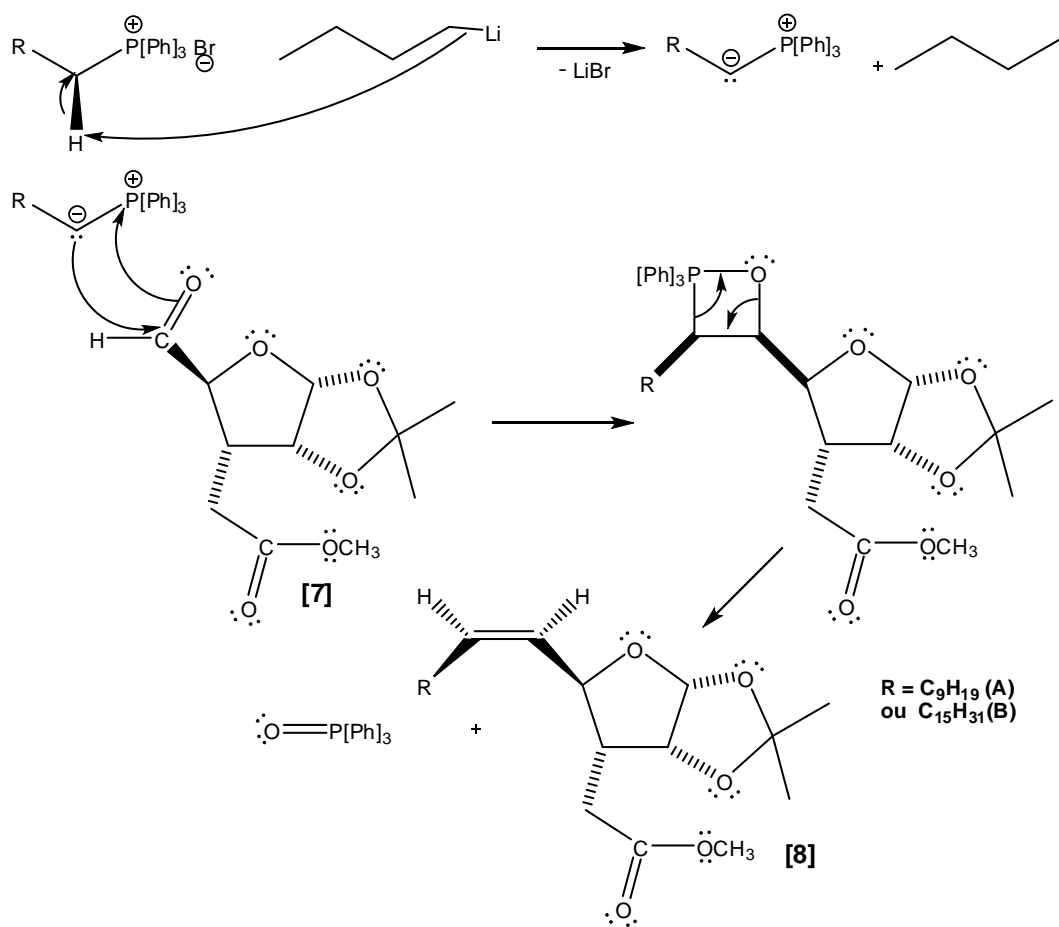
**Figura 1.33.** Estruturas de ressonância para os ílideos de fósforo (KÜRTI e CZAKÓ, 2005).

Segundo a literatura (CARRUTHERS e COLDHAM, 2005, KÜRTI e CZAKÓ, 2005), Ilídeos não estabilizados, como os utilizados neste trabalho, formam produtos com estereoquímica preferencial (*Z*) e isso foi observado para os dois compostos preparados **[8A]** e **[8B]**. Através da análise das placas de CCD, reveladas em U.V., foi possível identificar a presença de apenas uma mancha para composto **[8B]** e duas manchas para o composto **[8A]**. No entanto, para este último composto, a segunda mancha apresentou-se com baixa intensidade o que indicou a formação de uma quantidade muito pequena do outro estereoisômero.

A estereoquímica (*Z*) predominante nos produtos **[8A]** e **[8B]** surge da formação preferencial do *cis*-oxafosfetano. Isto ocorre devido a minimização das interações espaciais durante a formação do estado de transição do oxafosfetano, onde os grupos estão alinhados ortogonalmente (Figura 1.34). Dessa maneira este produto passa por um estado de transição de mais baixa energia e conseqüentemente isto leva a um controle cinético desta etapa (CARRUTHERS e COLDHAN, 2005; CLAYDEN *et al.*, 2001), o que corrobora com a proposta mecanística para a formação dos produtos **[8A]** e **[8B]** (Figura 1.35, página 71).



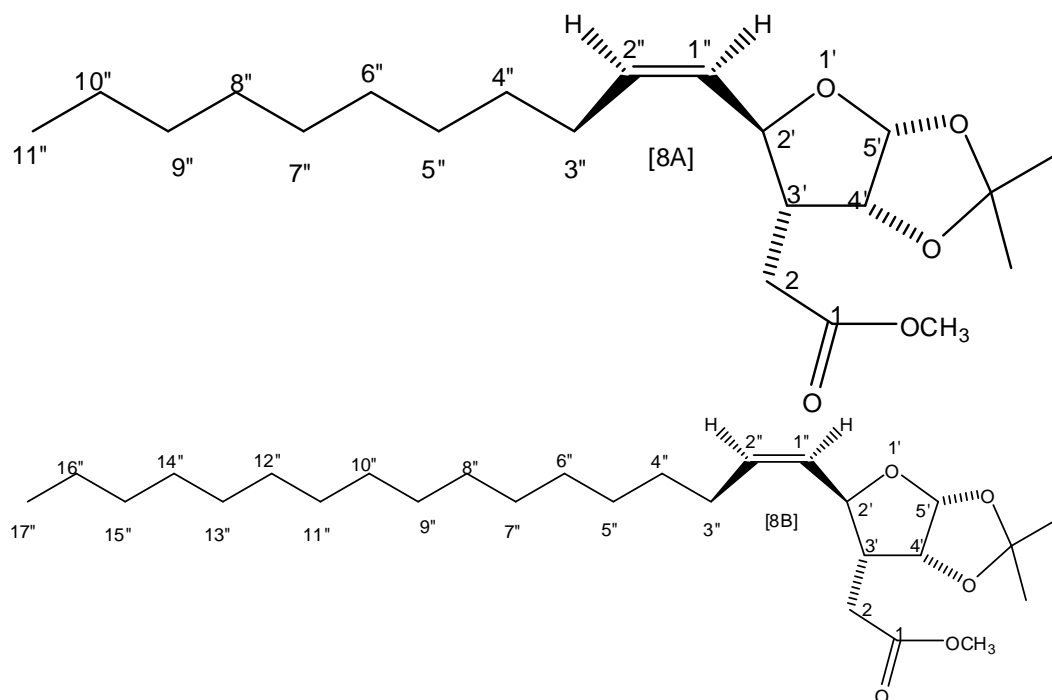
**Figura 1.34.** Etapa de formação do *cis* e *trans* oxafosfetano, passando pelo alinhamento ortogonal dos grupos no estado de transição do oxafosfetano.



**Figura 1.35.** Proposta de mecanismo para a formação dos produtos **[8A]** e **[8B]**.

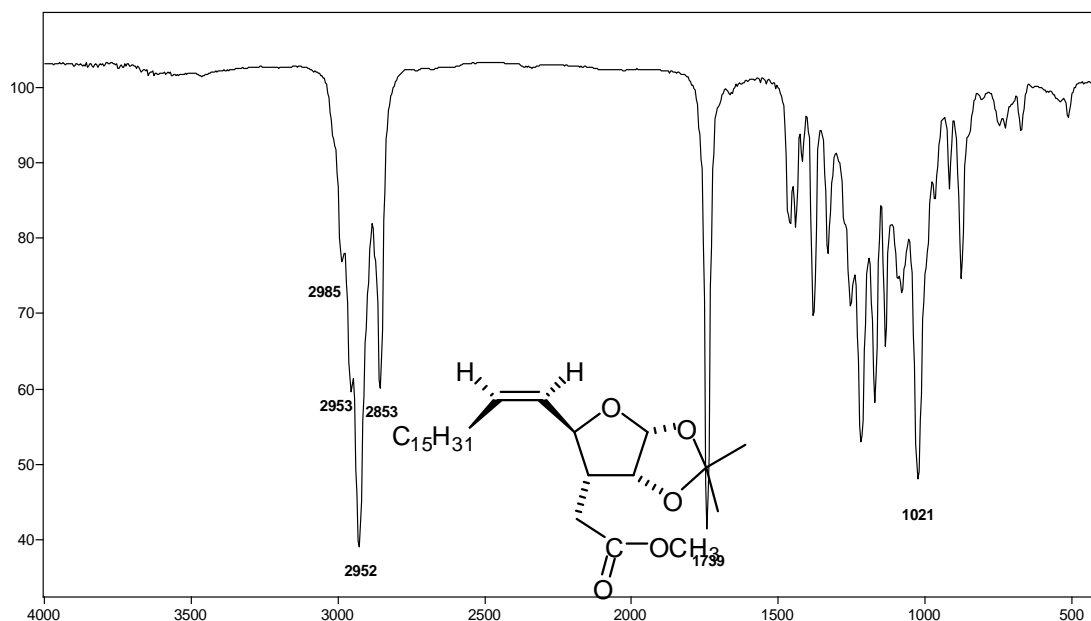
Nesta proposta, o ílideo formado reage com a carbonila através de uma reação de cicloadição [2 + 2], formando então o intermediário oxafosfetano. Este intermediário pode em princípio formar dois diastereoisômeros, mas neste caso, forma preferencialmente o diastereoisômero *cis*, como explicado anteriormente. Seguindo o curso mecanístico, ocorre então a eliminação do óxido de trifenilfosfina e a formação do produto **[8A]** ou **[8B]**.

A Figura 1.36 mostra os produtos obtidos e a numeração atribuída aos seus átomos de carbono. Esta numeração não coincide com a nomenclatura oficial e foi utilizada apenas para facilitar a interpretação dos dados referentes à espectroscopia de ressonância magnética nuclear.



**Figura 1.36.** Produtos obtidos através das reações de Wittig.

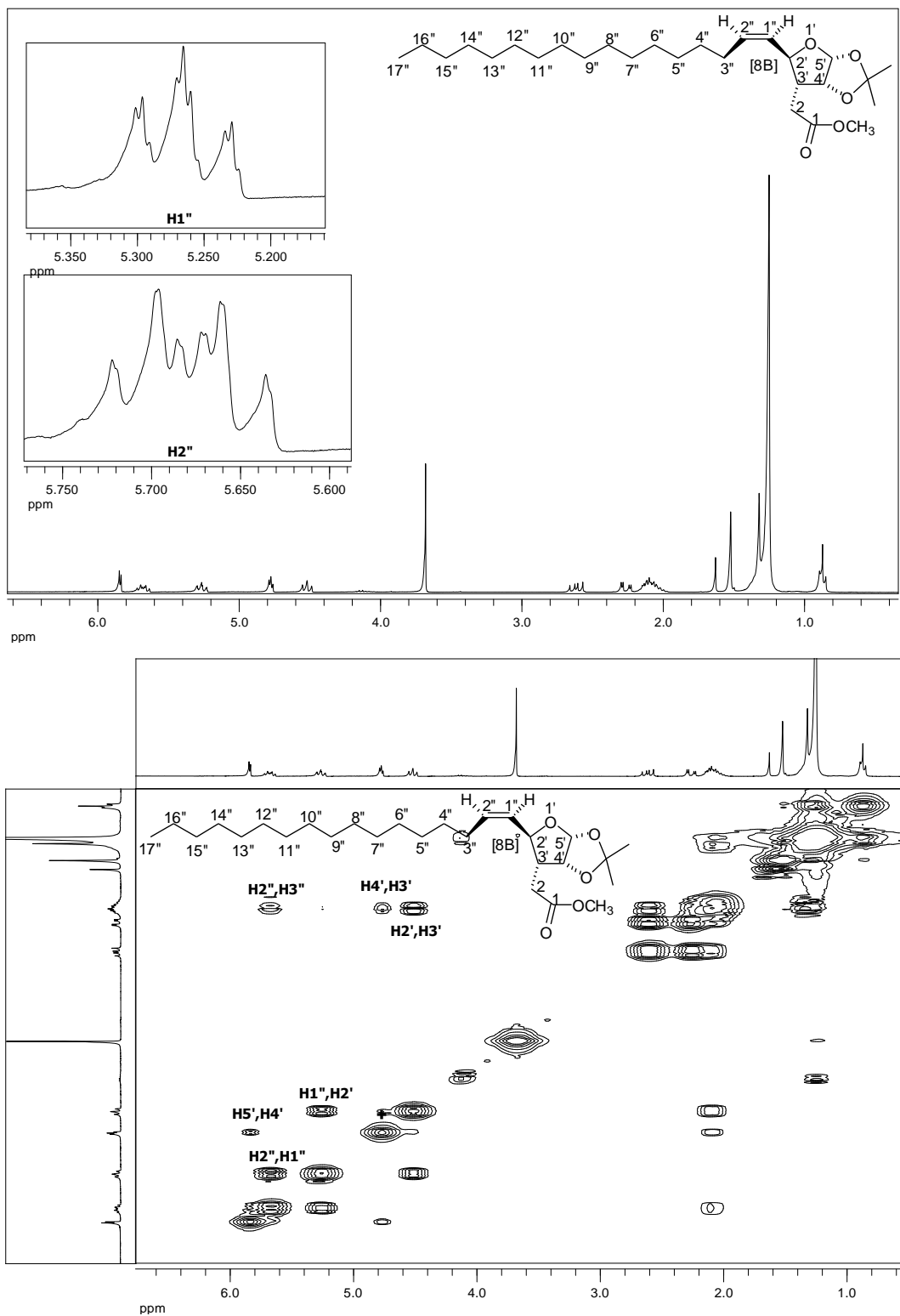
Os espectros no infravermelho dos compostos **[8A]** e **[8B]** não foram conclusivos para a elucidação e confirmação da estrutura da molécula. Não foi possível observar a banda de estiramento  $C_{sp^2}-H$  acima de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , que deve estar sobreposta pelas bandas de estiramentos  $C_{sp^3}-H$  da grande cadeia alifática presente nesses compostos. Tampouco as bandas de estiramento  $C=C$  em torno de  $1600\text{ cm}^{-1}$  (Figura 1.37) não foram observadas, como também ocorreu no trabalho descrito por MAGATON (2003), que sintetizou moléculas semelhantes, com cadeia lateral alifática.



**Figura 1.37** Espectro no infravermelho (Filme sobre Csl) para o composto **[8B]**.

Os dados referentes aos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram conclusivos para a caracterização das substâncias formadas. Em ambos compostos **[8]**, os sinais referentes aos hidrogênios H1" aparecem com deslocamento químico em  $\delta$  5,26, enquanto os hidrogênios H2" aparecem com deslocamento químico em  $\delta$  5,67, dentro da faixa esperada para hidrogênios de olefinas (CREWS, *et al.*1998).

Como exemplo, pode-se observar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o composto **[8B]** representado na Figura 1.38 (página 74). Nele, aparece um sinal em  $\delta$  5,26, referente ao H1", como um duplo duplo tripleto com constantes de acoplamento  $J_{1'',2''}= 11$  Hz,  $J_{1'',2''}= 9,3$  Hz e  $J_{1'',3''}= 1,5$  Hz. E um sinal em  $\delta$  5,67 referente ao H2" como um duplo tripleto com constantes de acoplamento  $J_{2'',1''}=11$  Hz,  $J_{2'',3''} = 7,8$  Hz e  $J_{2'',2''}= 0,9$  Hz. O valor da constante de acoplamento,  $J = 11$  Hz, entre os hidrogênios 1" e 2", confirma a formação do composto com estereoquímica (*Z*) (CREWS, 1998). Os demais sinais de RMN de  $^1\text{H}$  estão listados na Tabela 1.8.



**Figura 1.38.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) e Mapa de contornos COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto **[8B]**.

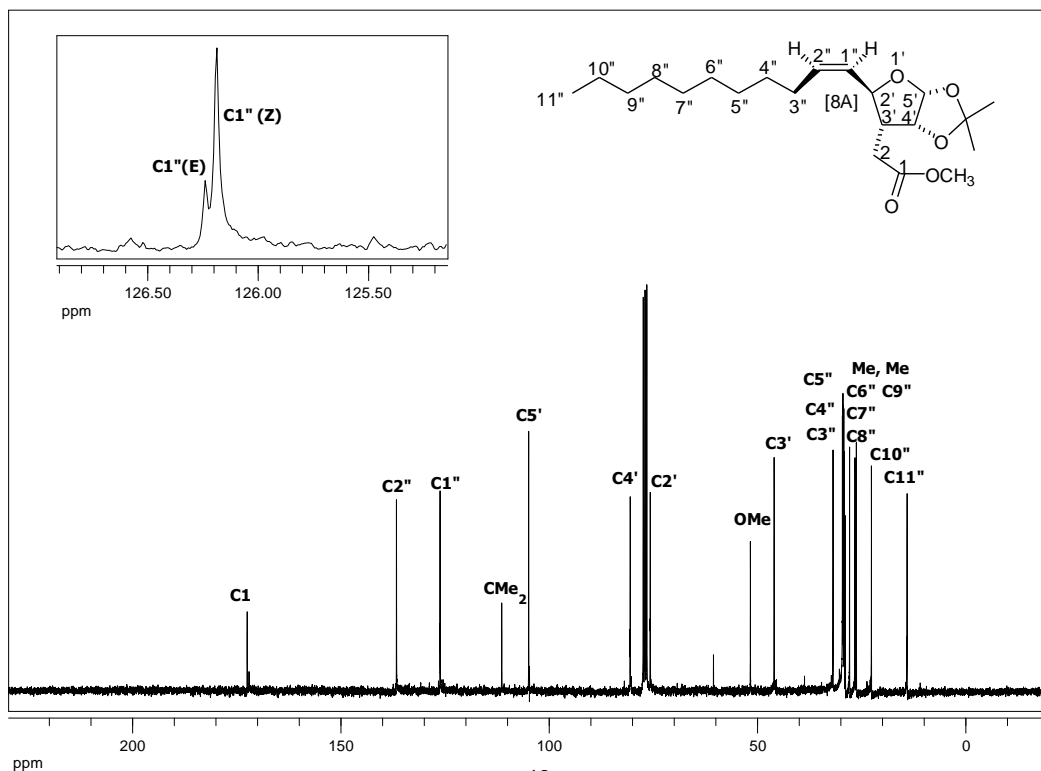
Apesar da maior proximidade entre o hidrogênio H1" e o oxigênio O1', o sinal de H2" aparece em campo mais baixo. Essas atribuições foram confirmadas pela análise dos mapas de contornos COSY e HETCOR das substâncias **[8]**. Na Figura 1.38, através do mapa de contornos COSY pode-se observar o acoplamento entre H1" e H2' para o composto **[8B]**.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **[8A]** (Figura 1.39) mostra a duplicação do sinal de C1", indicando então a presença do isômero (*E*), sendo este fato não observado tão claramente para o composto **[8B]** (Figura 1.40). Os sinais referentes ao espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  estão listados na Tabela 1.9.

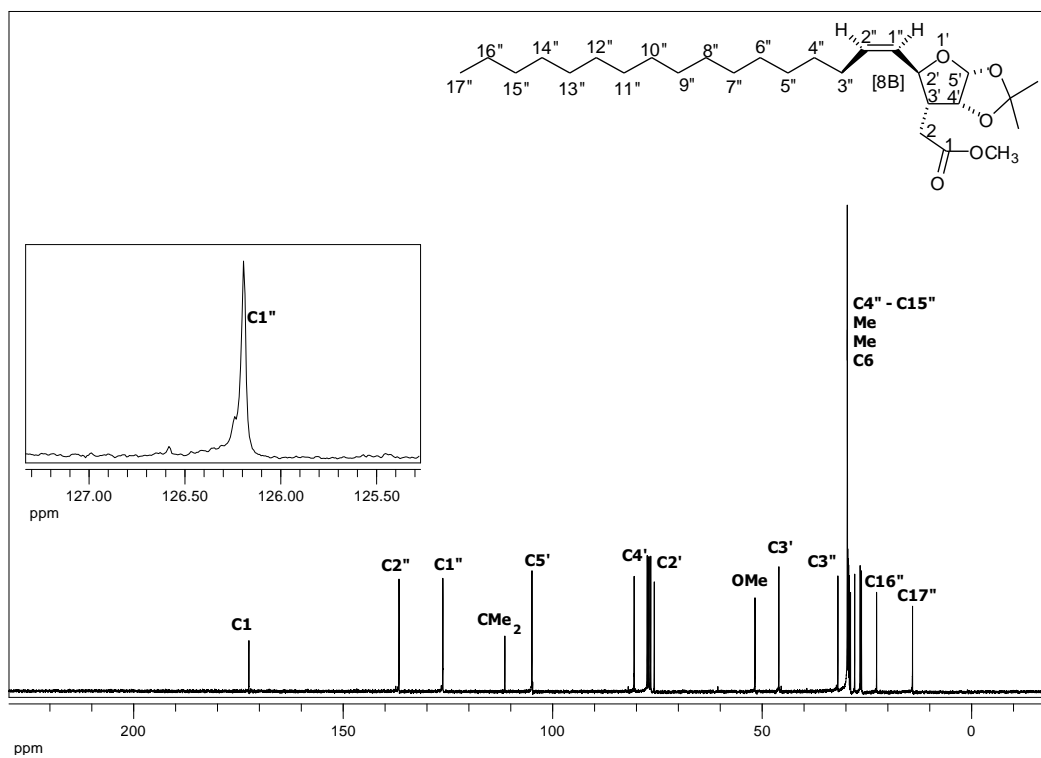
Pelo fato do composto **[8B]** apresentar maior número de átomos em sua cadeia lateral, em comparação com **[8A]**, esperava-se que este apresentasse uma maior razão *Z:E*. Esta hipótese foi confirmada após a análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , onde foi possível notar sinais duplicados de menor intensidade em relação aos sinais duplicados de **[8A]**.

A atribuição dos sinais dos carbonos e hidrogênios 1" e 2" presentes na cadeia lateral dos compostos **[8]** pode ser resolvida com o auxílio do mapa de contornos HETCOR. A partir da correlação com os sinais de hidrogênio previamente atribuídos, foi possível determinar os deslocamentos químicos dos carbonos 1" e 2". Como exemplo, pode-se observar o mapa de contornos HETCOR para o composto **[8B]** (Figura 1.41).

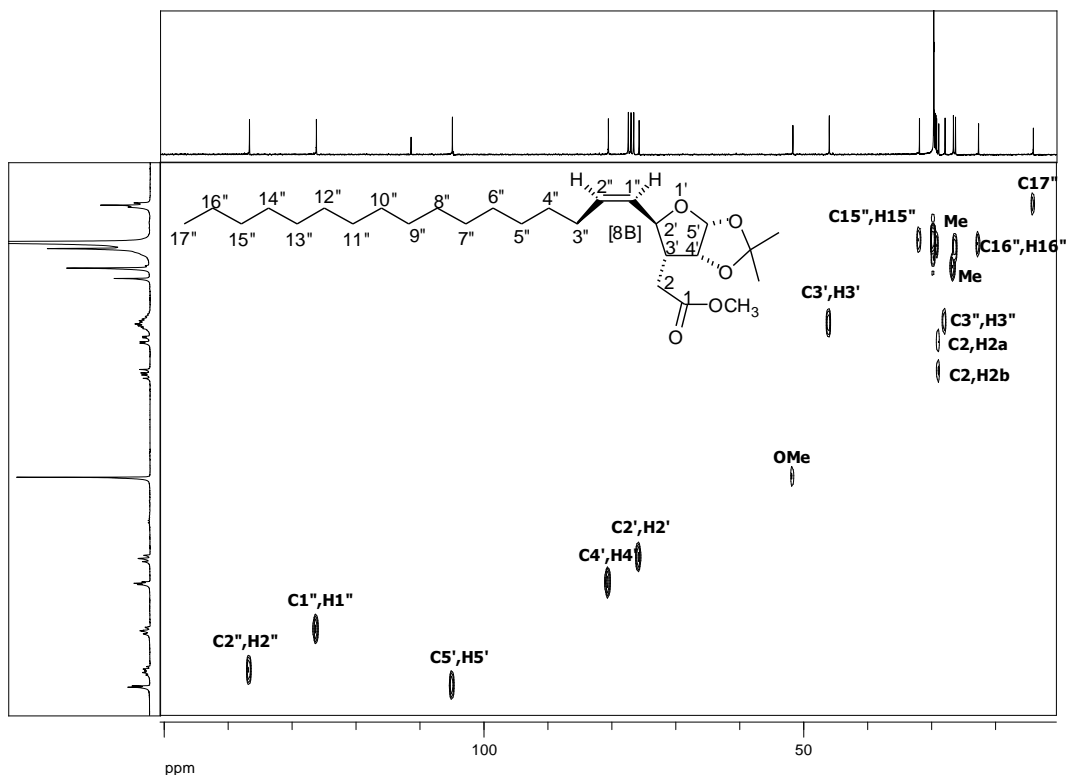
Os compostos minoritários (*E*) não foram separados, pois ambos isômeros seriam hidrogenados na próxima etapa e formariam o mesmo produto.



**Figura 1.39.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) para o produto [8A].



**Figura 1.40.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) para o produto [8B].



**Figura 1.41.** Mapa de contornos HETCOR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o produto e [8B].

**Tabela 1.8.** Deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento  $J$  (Hz) para os sinais observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos **[8A]** e **[8B]** em  $\text{CDCl}_3$  a 300 MHz.

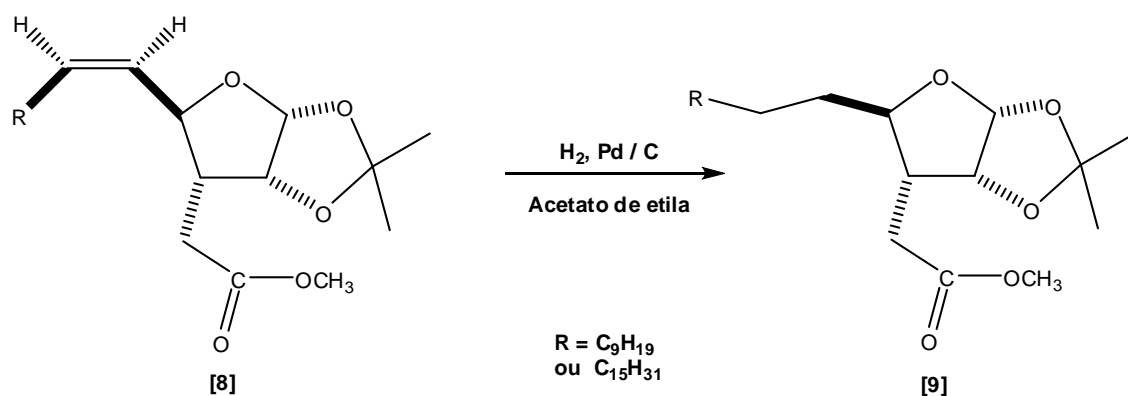
Atribuição	$\delta$ $^1\text{H}$ [8A]	$\delta$ $^1\text{H}$ [8B]
H3''	2,00 – 2,16 (m)	1,99 – 2,15 (m)
H4'	4,77 (t)	4,77 (t)
	$J_{4',3',5'} = 3,9$	$J_{4',3',5'} = 4,2$
H5'	5,84 (d)	5,84 (d)
	$J_{5',4'} = 3,9$	$J_{5',4'} = 3,9$
H2'	4,52 (t)	4,52 (t)
	$J_{2',3',1''} = 9,9$	$J_{2',3',1''} = 9,9$
H2a	2,26 (dd)	2,26 (dd)
	$J_{2a,3'} = 4,2$	$J_{2a,3'} = 4,8$
	$J_{2a,2b} = 17$	$J_{2a,2b} = 17$
H2b	2,61 (dd)	2,61 (dd)
	$J_{2b,3'} = 10,8$	$J_{2b,3'} = 10,5$
	$J_{2b,2a} = 17$	$J_{2b,2a} = 17$
H1''	5,26 (dtd)	5,26 (dtd)
	$J_{1'',3''} = 1,5$	$J_{1'',3''} = 1,5$
	$J_{1'',2'} = 9,3$	$J_{1'',2'} = 9,3$
	$J_{1'',2''} = 11$	$J_{1'',2''} = 11$
H2''	5,67 (tdd)	5,67 (tdd)
	$J_{2'',2'} = 0,5$	$J_{2'',2'} = 0,5$
	$J_{2'',3''} = 7,8$	$J_{2'',3''} = 7,8$
H3''-H10''	$J_{2'',1''} = 11$	$J_{2'',1''} = 11$
	1,23 – 1,29 (m)	-
H3'' – H16''	-	1,52 (sl)
H11''	0,87 (pseudo t)	-
	$J \sim 6,6$	-
H17''	-	0,87 (pseudo t)
		$J \sim 6,6$
Me	1,52 (s)	1,52 (s)
Me	1,32 (s)	1,32 (s)
OMe	3,68 (s)	3,70 (s)

**Tabela 1.9.** Dados obtidos dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) dos compostos **[8A]** e **[8B]**.

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$ [8A]	$\delta^{13}\text{C}$ [8B]
C3'	46,0	46,0
C4'	80,6	80,5
C5'	104,9	104,9
C2'	75,7	75,7
C2	27,9	29,2
$\text{CMe}_2$	111,4	111,4
Me	26,3	26,3
Me	26,6	26,6
OMe	51,7	51,7
C1	172,5	172,5
C1''	126,2	126,2
C1''	136,7	1136,7
C3''	28,9	27,9
C4''	29,5	29,7
C5''	29,4	29,7
C6''	29,3	29,6
C7''	29,2	29,6
C8''	29,1	29,5
C9''	31,9	29,5
C10''	27,9	29,4
C11''	14,1	29,4
C12''	-	29,4
C13''	-	29,3
C14''	-	28,9
C15''	-	31,9
C16''	-	22,7
C17''	-	14,1

Os espectros de massas para os compostos **[8A]** e **[8B]** apresentaram os picos referentes aos íons moleculares em  $m/z$  368 e 452, com intensidades de 0,6 e 1%, respectivamente.

### 1.3.9. Síntese de (2'R,3'R,4'R,5'R)-2'-(alquil-4',5'-isopropilidenodioxitetraidrofuran-3'-il) acetatos de metila **[9]**

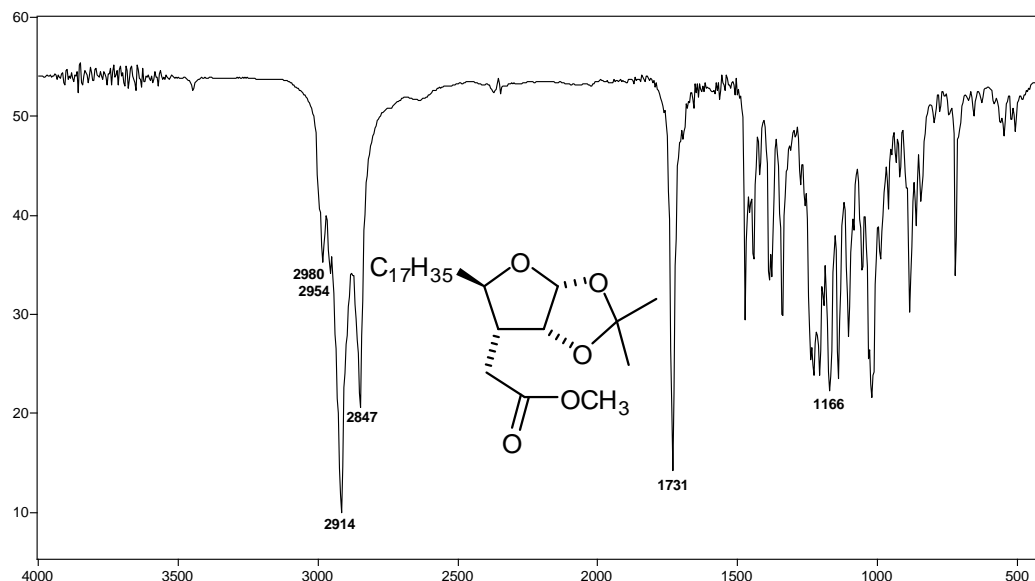


**Figura 1.42.** Hidrogenação dos carbonos olefínicos dos compostos **[8A]** e **[8B]**.

Através da hidrogenação da ligação dupla, introduzida conforme discutido no item 1.3.8 através de reações de Wittig, tem-se então a cadeia lateral alifática que, ao final do processo de síntese, diferenciará os compostos sintetizados do avenaciólídeo.

Os compostos **[8A]** e **[8B]** foram hidrogenados sob atmosfera de hidrogênio na presença de Pd/C 10% em acetato de etila, obtendo-se os produtos **[9A]** e **[9B]** com rendimentos de 77% e 99%, respectivamente.

Os espectros no infravermelho dos compostos **[9A]** e **[9B]** não foram conclusivos para a elucidação das suas estruturas, uma vez que quando comparados com os espectros dos compostos de partida, estes não apresentaram mudanças significativas (Figura 1.37). Como exemplo, podemos observar o espectro do composto **[9B]** (Figura 1.43). Nele, podem-se observar os estiramentos simétrico e assimétrico de  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$  em 2980, 2964, 2914, 2847  $\text{cm}^{-1}$ , referentes à cadeia lateral hidrogenada.

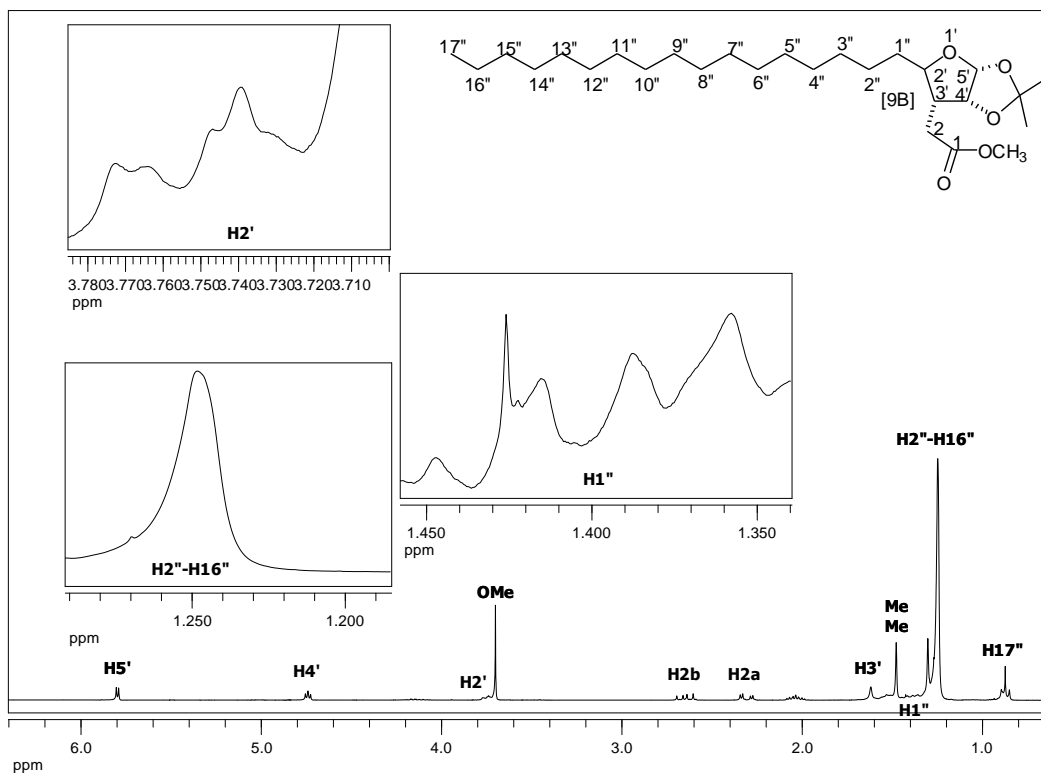


**Figura 1.43.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) para o produto **[9B]**.

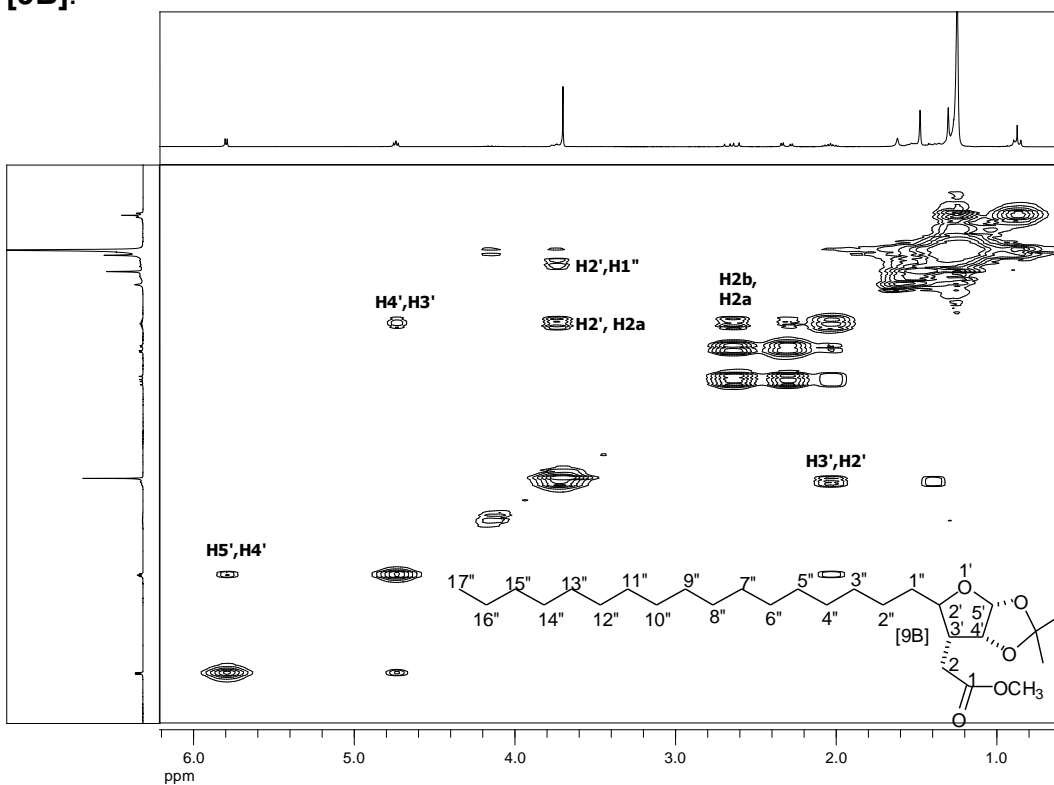
Com os dados obtidos através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e de correlação (COSY), foi obtida a confirmação da formação dos produtos **[9A]** e **[9B]**.

Uma comparação entre os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos **[8]** e **[9]** mostra uma alteração na multiplicidade e nos deslocamentos químicos dos hidrogênios dos carbonos 1'' e 2''. Enquanto para os compostos **[8]** os sinais desses hidrogênios apareciam em  $\delta$  5,26 e em  $\delta$  5,67, respectivamente, essa região não apresentou sinais nos espectros de **[9A]** e **[9B]**, como exemplifica a Figura 1.44 (página 82). Os sinais dos hidrogênios 1'' e 2'' foram deslocados para região de campo alto, junto aos sinais dos demais metilenos de suas cadeias alifáticas. No mapa de contornos COSY (Figura 1.45) observa-se um acoplamento entre o sinal dos hidrogênios 1'' com o do hidrogênio 2' e também com o multiplete que contém o sinal referente ao H2''.

A atribuição completa dos sinais dos hidrogênios de **[9A]** e **[9B]** está descrita na Tabela 1.10.



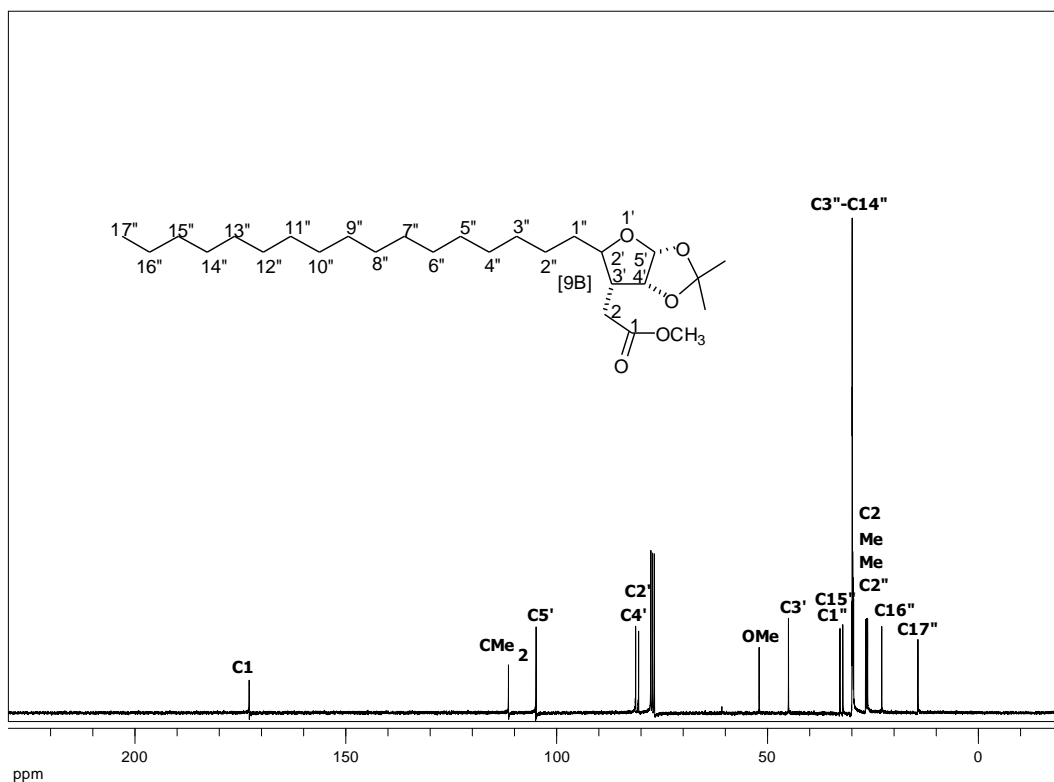
**Figura 1.44.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [9B].



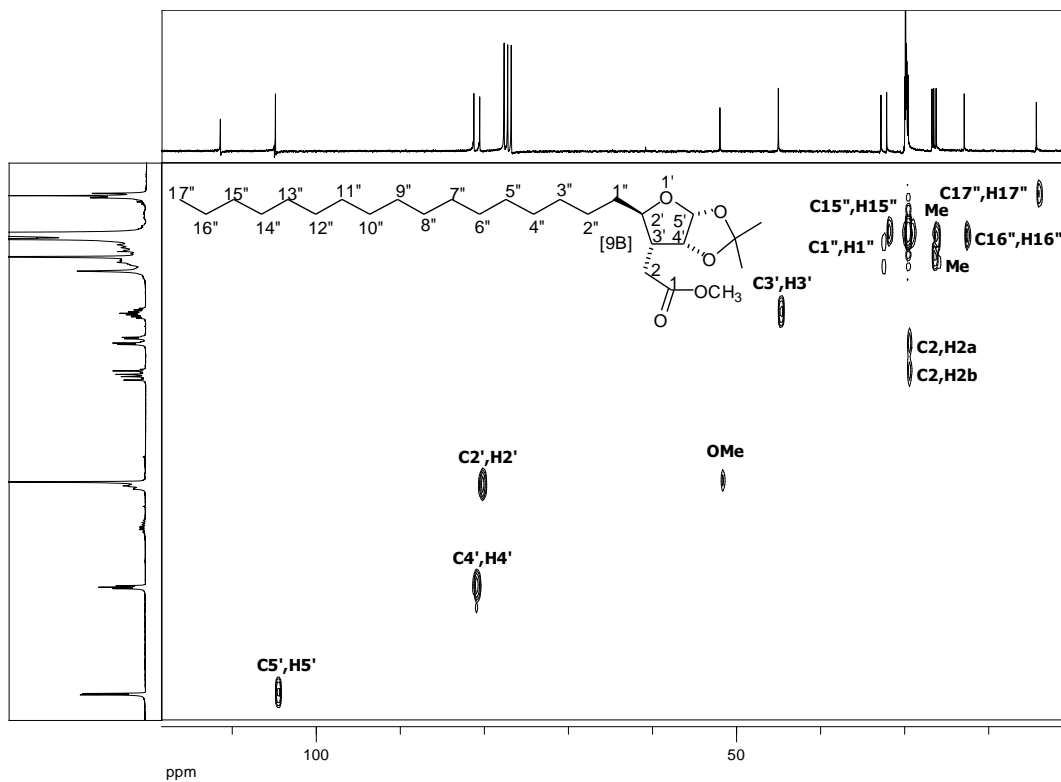
**Figura 1.45.** Mapa de contornos COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [9B].

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **[9B]** (Figura 1.46), além da ausência dos sinais na região de olefinas ( $\delta$  110 - 150), observam-se dois novos sinais na região de metilenos saturados ( $\delta$  26,2 e 32,8), ausentes nos espectro dos precursores insaturados (Figura 1.40).

Com o auxílio do mapa de contornos HETCOR (Figura 1.47), foi possível fazer a atribuição de quase todos os sinais dos compostos **[9A]** e **[9B]**. No entanto, os sinais dos carbonos C4"-C12", de **[9B]** aparecem sobrepostos no mapa de contornos HETCOR (Figura 1.47) e no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . A atribuição completa para os sinais de carbono está descrita na Tabela 1.11.



**Figura 1.46.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do composto **[9B]**.



**Figura 1.47.** Mapa de contornos HETCOR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [9B].

**Tabela 1.10.** Deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento  $J$  (Hz) para os sinais observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos [9A] e [9B] em  $\text{CDCl}_3$  a 300 MHz.

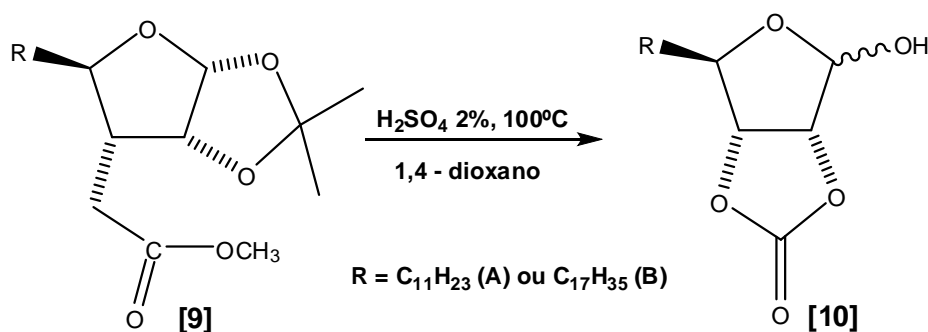
Atribuição	$\delta$ $^1\text{H}$ [9A]	$\delta$ $^1\text{H}$ [9B]
H2'	1,98 – 2,08 (m)	1,99 – 2,10 (m)
H4'	4,74 (t)	4,74 (t)
	$J_{4',2'} = 4,2$	$J_{4',2'} = 4,2$
H5'	5,80 (d)	5,80 (d)
	$J_{5',4'} = 3,9$	$J_{5',4'} = 3,9$
H2'	3,73 – 3,77 (m)	3,74 – 3,77 (m)
	2,31 (dd)	2,31 (dd)
H2a	$J_{2a,2'} = 4,2$	$J_{2a,2'} = 3,9$
	$J_{2a,2b} = 17$	$J_{2a,2b} = 17$
	2,64 (dd)	2,61 (dd)
H2b	$J_{2b,2'} = 10,8$	$J_{6b,2'} = 10,5$
	$J_{2b,2a} = 17$	$J_{2b,2a} = 17$
H1''	1,38 – 1,42 (m)	1,36 – 1,42 (m)
H2''-H10''	1,24 (sl)	-
H2'' – H16''	-	1,25 (sl)
H11''	0,87 (pseudo t)	-
	$J \sim 6,6$	-
H17''	-	0,87 (pseudo t)
	-	$J \sim 6,6$
Me	1,47 (s)	1,48 (s)
Me	1,30 (s)	1,30 (s)
OMe	3,70 (s)	3,70 (s)

**Tabela 1.11.** Dados obtidos dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) dos compostos **[9A]** e **[9B]**.

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$ [9A]	$\delta^{13}\text{C}$ [9B]
C3'	45,0	45,0
C4'	81,2	81,3
C5'	104,9	104,9
C2'	80,6	80,6
C2	29,5	29,6
C1''	32,8	32,8
C2''	26,2	26,2
C3''	29,9	29,9
C4''	29,9	29,9
C5''	29,8	29,9
C6''	29,8	29,9
C7''	29,7	29,8
C8''	29,6	29,8
C9''	32,1	29,8
C10''	22,9	29,8
C11''	14,3	29,8
C12''	-	29,8
C13''	-	29,79
C14''	-	29,74
C15''	-	32,1
C16''	-	22,9
C17''	-	14,3
OMe	51,9	51,9
<u>C</u> Me <sub>2</sub>	111,4	111,4
Me	26,7	26,7
Me	26,5	26,5
C1	172,9	172,9

No espectro de massas de **[9A]** observou-se o pico do íon molecular em  $m/z$  370 (4% de intensidade relativa). No espectro de **[9B]** o pico do íon molecular aparece em  $m/z$  454 (2% de intensidade relativa).

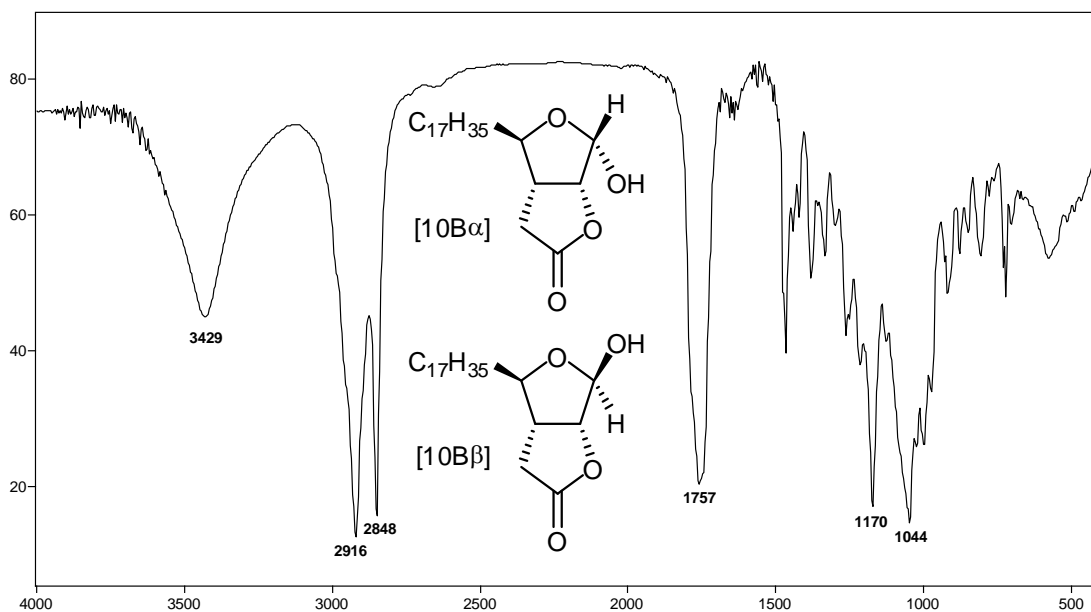
**1.3.10. Síntese de (3*R*,5*R*,6*R*,8*S*)-6-alkuil-8-hidroxi-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-3-onas [10 $\alpha$ ] e (3*R*,5*R*,6*R*,8*R*)-6-alkuil-8-hidroxi-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan-3-onas [10 $\beta$ ]**



**Figura 1.48.** Hidrólise ácida dos compostos **[9]**.

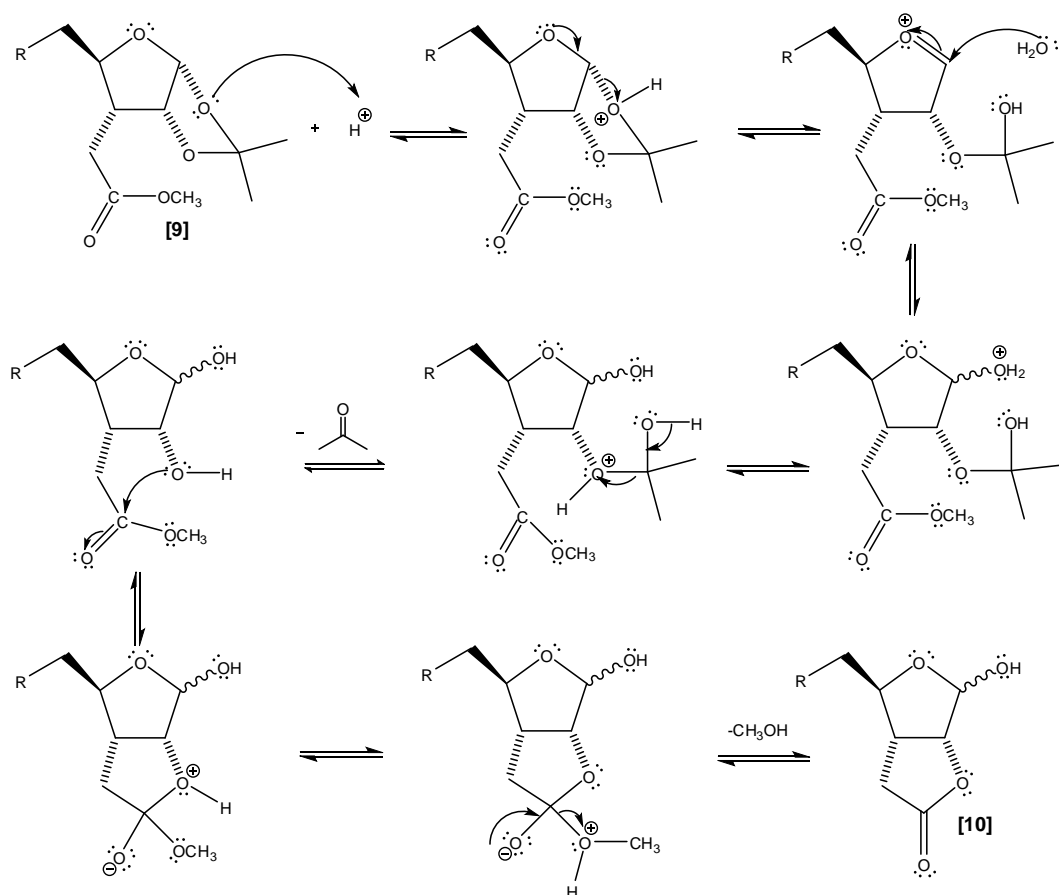
Como o acetal presente nos compostos **[9]** é estável, para realizar a hidrólise foi necessário utilizar uma solução ácida mais concentrada do que a utilizada no item 1.3.5, a uma temperatura de 100°C. Dessa forma o tempo de reação foi reduzido para 3 horas em comparação com tempo de reação para a hidrólise do acetal no item 1.3.5. Este procedimento foi baseado naquele descrito por ANDERSON e FRASIER-REID (1985).

O espectro no infravermelho (Figura 1.49), da mistura de epímeros **[10B]** apresenta uma banda em 3429 cm<sup>-1</sup>, referente ao estiramento da ligação O-H, confirmando a presença deste grupo na molécula. Outra banda importante para a caracterização de **[10B]** observada foi a de estiramento de C=O em 1757 cm<sup>-1</sup>, indicando a formação do anel de lactona de 5 membros.



**Figura 1.49.** Espectro no infravermelho (KBr) para os compostos [10B].

A proposta de mecanismo descrita na Figura 1.50 se baseia na formação de um cátion oxônio. Essa proposta permite a reação de uma molécula de água pelas duas faces da molécula, o que possibilita a formação dos compostos [10A] e [10B] com a hidroxila na posição  $\alpha$  e  $\beta$ .



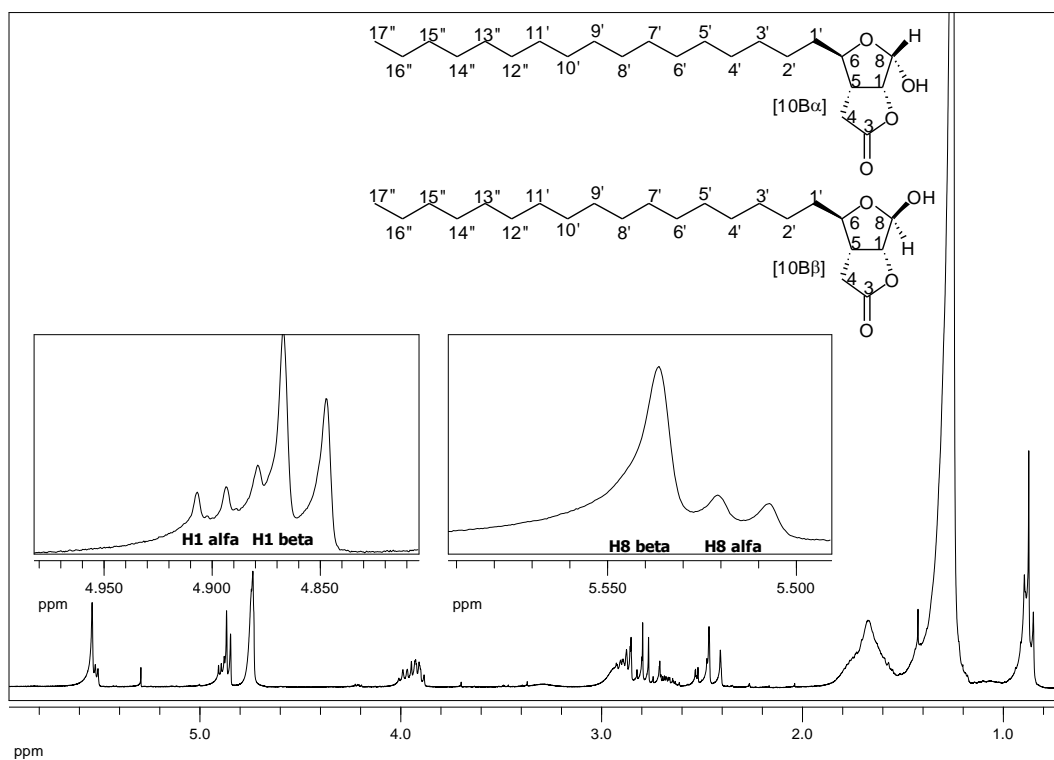
**Figura 1.50.** Proposta de mecanismo para a hidrólise ácida dos compostos [9A] e [9B], para a formação do anel lactônico.

Foi obtida uma mistura de epímeros com as hidroxilas em  $\alpha$  e  $\beta$ , na proporção de 2:10 para os compostos [10A] e 3:10 para os compostos [10B], com rendimentos de 70% e 90%, respectivamente. Esta proporção foi observada através dos espectros de RMN de  $^1H$  pela integração dos sinais de H8, que aparecem em torno de  $\delta$  5,54, como exemplifica a Figura 1.51.

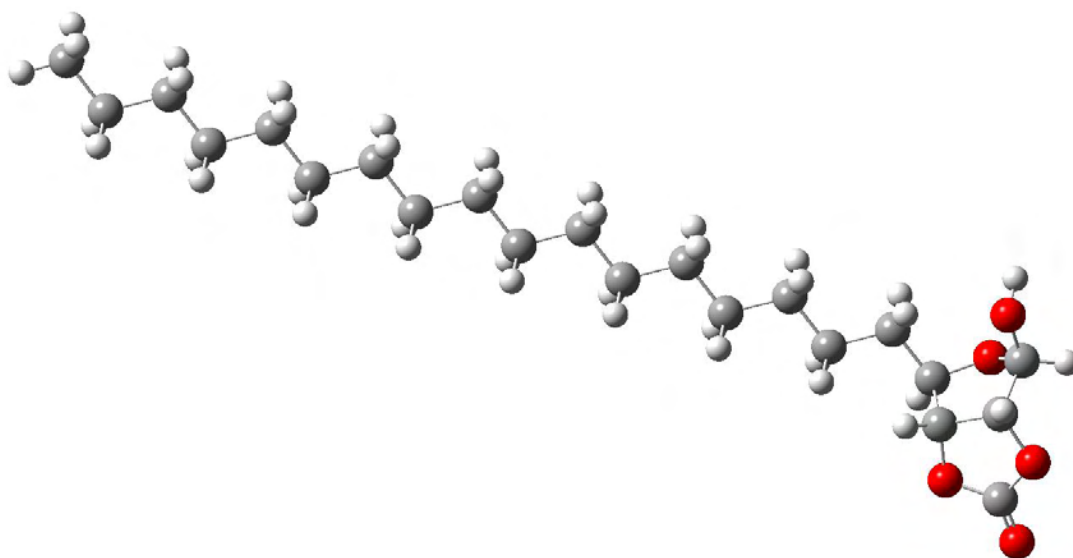
Os sinais dos hidrogênios 1 e 8 dos compostos [10] permitiram a identificação dos isômeros [10 $\alpha$ ] e [10 $\beta$ ]. Uma vez que, com a hidroxila em  $\beta$ , os ângulos entre H1 e H8 se aproximam de  $90^\circ$  (Figura 1.52), o sinal de H8 aparece como um simpleto e o de H1 como um duplete ( $J_{1,5} = 6$  Hz).

Já os componentes minoritários, com hidroxilas em  $\alpha$  (Figura 1.53), geraram sinais de maior multiplicidade para esses hidrogênios, pois há acoplamento entre H8 e H1 ( $J_{8,1} = 4$  Hz), observando-se um duplete para o primeiro e um duplete duplo para o segundo. A Figura 1.51 exemplifica esses resultados.

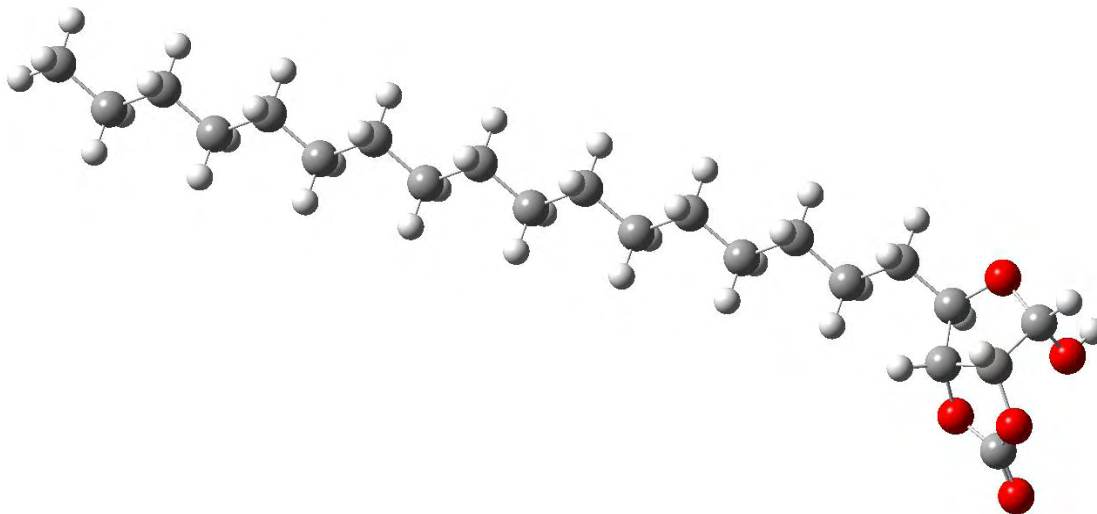
A análise dos mapas de contornos COSY (Figura 1.54), possibilitou uma melhor atribuição dos sinais de hidrogênios através da visualização dos acoplamentos entre H8 $\alpha$  e H1 $\alpha$ , H1 $\alpha$  e H5 $\alpha$  e também entre H1 $\beta$  e H5 $\beta$ . As atribuições de todos os sinais de hidrogênio para os compostos [10] estão descritas na Tabela 1.12.



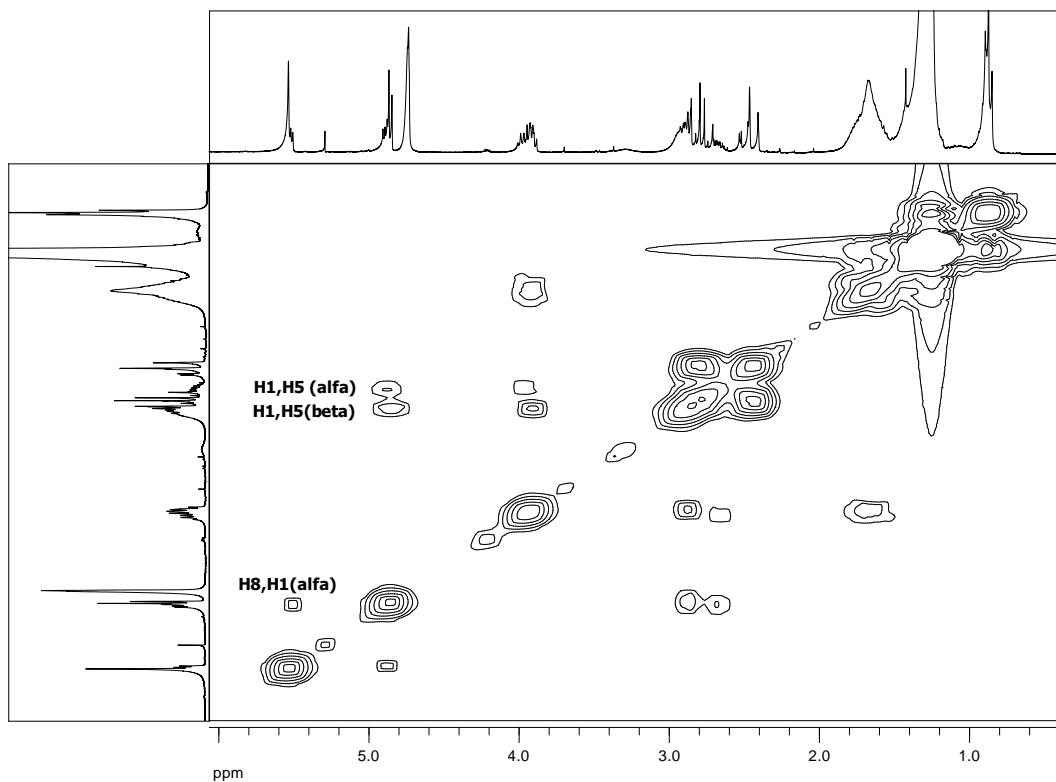
**Figura 1.51.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para a mistura de compostos [10B].



**Figura 1.52.** Conformação de menor energia para o composto [10B $\beta$ ], indicando um ângulo diedro próximo de 90° entre H2 e H3. Cálculo realizado utilizando o método HF e plataforma 3-21g.



**Figura 1.53.** Conformação de menor energia para o composto [10B $\alpha$ ]. Cálculo realizado utilizando o método HF e plataforma 3-21g.

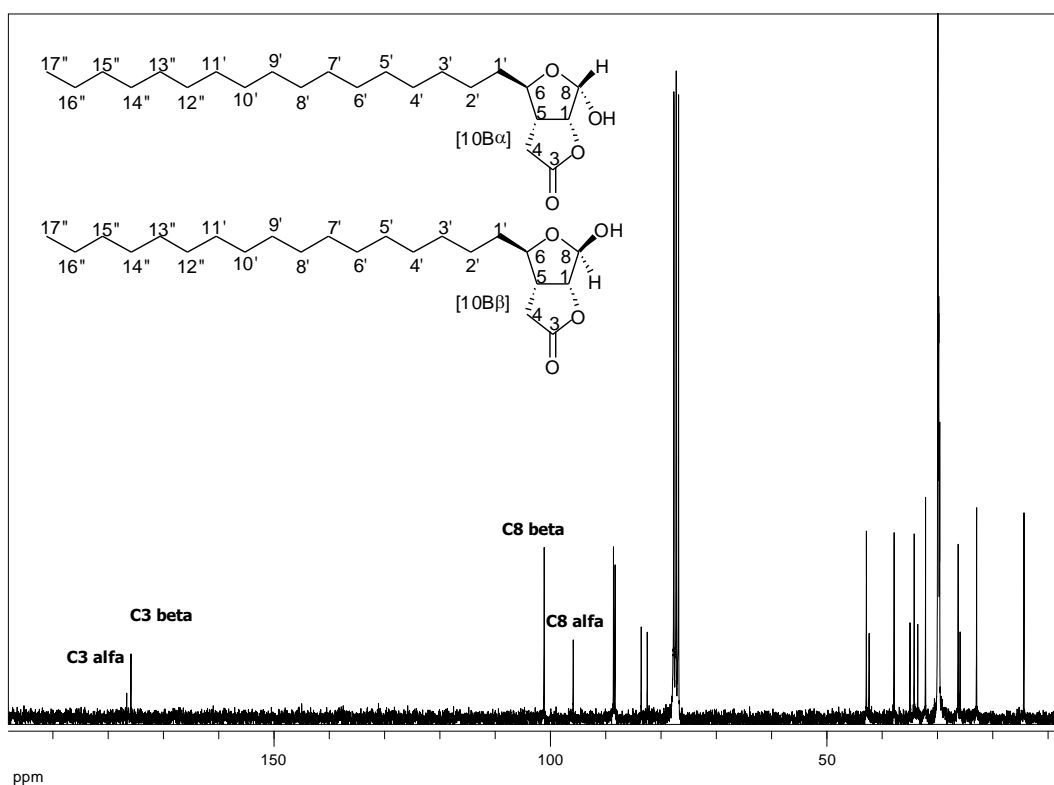


**Figura 1.54.** Mapa de contornos COSY (  $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para a mistura de isômeros **[10B]**.

**Tabela 1.12.** Deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento  $J$  (Hz) para os compostos [10A] e [10B].

Atribuição	$\delta$ $^1\text{H}$ [10A $\alpha$ ]	$\delta$ $^1\text{H}$ [10A $\beta$ ]	$\delta$ $^1\text{H}$ [10B $\alpha$ ]	$\delta$ $^1\text{H}$ [10B $\beta$ ]
H5	2,65 – 2,90 (m)	2,65 – 2,90 (m)	2,63 – 2,94 (m)	2,63 – 2,94 (m)
	4,9 (dd)	4,86 (d)	4,9 (dd)	4,86 (d)
H1	$J_{1,8} = 4,2$	$J_{1,5} = 6,0$	$J_{1,8} = 3,9$	$J_{1,5} = 6,0$
	$J_{1,5} = 8,7$		$J_{1,5} = 8,1$	
H8	5,50 (d)	5,53 (s)	5,51 (d)	5,54 (s)
	$J_{8,1} = 4,5$		$J_{8,1} = 3,9$	
H6	3,88 – 4,01 (m)	3,88 – 4,01 (m)	3,9 – 4,0 (m)	3,9 – 4,0 (m)
H4a	2,40 – 2,53 (m)	2,40 – 2,53 (m)	2,41 – 2,53 (m)	2,41 – 2,53 (m)
H4b	2,65 – 2,90 (m)	2,65 – 2,90 (m)	2,63 – 2,94 (m)	2,63 – 2,94 (m)
H1'	1,39-1,43 (m)	1,39-1,43 (m)	1,41-1,44 (m)	1,41-1,44 (m)
H1'-H10'	1,25 (sl)	1,25 (sl)	1,25 (sl)	1,25 (sl)
H11' – H16'	-	-	1,25 (sl)	1,25 (sl)
H11'	0,87 (t)	0,87 (t)	-	-
	$J_{11',10'} = 6,6$	$J_{11',10'} = 6,6$		
H17'			0,87 (t)	0,87 (t)
			$J_{17',16'} = 6,6$	$J_{17',16'} = 6,6$
OH	1,55 – 1,63 (m)	1,55 – 1,63 (m)	1,57 – 1,75 (m)	1,57 – 1,75 (m)

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos **[10A]** e **[10B]** mostraram duplicação de sinais, assim como ocorreu no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , o que evidencia formação dos epímeros de ambos os compostos. Os sinais referentes às carbonilas e aos carbonos anoméricos dos epímeros do composto **[10B]** estão indicados na Figura 1.55 e a atribuição para todos os sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos **[10]** está descrita na Tabela 1.13.



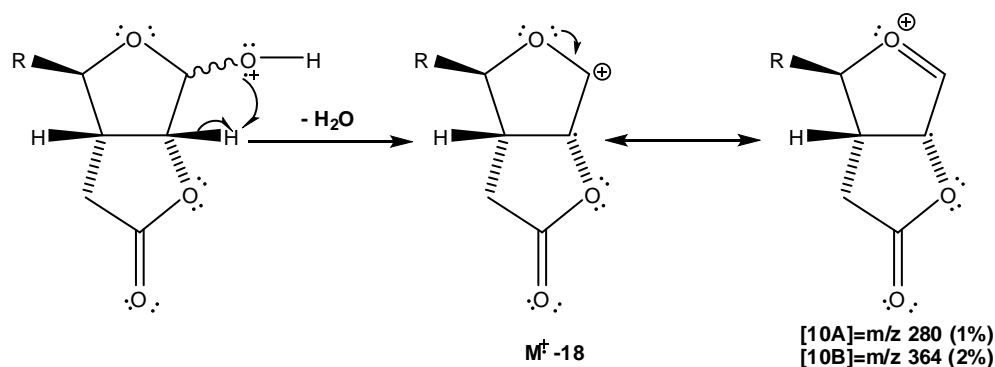
**Figura 1.55.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) da mistura de epímeros **[10B $\alpha,\beta$ ]**.

**Tabela 1.13.** Dados obtidos dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) dos compostos [10].

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$ [10A $\alpha$ ]	$\delta^{13}\text{C}$ [10A $\beta$ ]	$\delta^{13}\text{C}$ [10B $\alpha$ ]	$\delta^{13}\text{C}$ [10B $\beta$ ]
C5	42,07	42,59	42,1	42,6
C1	83,34	88,38	83,33	88,35
C8	95,59	100,86	95,63	100,88
C6	82,24	87,99	82,24	88,06
C4	33,32	33,32	33,31	33,95
C1'	34,70	37,54	34,71	37,58
C2'	25,63	25,98	25,7	26,0
C3'	29,59	29,59	29,70	29,70
C4'	29,59	29,59	29,70	29,70
C5'	29,50	29,50	29,70	29,70
C6'	29,50	29,50	29,70	29,70
C7'	29,38	29,38	29,70	29,70
C8'	29,30	29,30	29,70	29,70
C9'	31,88	31,88	29,70	29,70
C10'	22,65	22,65	29,70	29,70
C11'	14,07	14,07	29,54	29,54
C12'	-	-	29,52	29,52
C13'	-	-	29,40	29,40
C14'	-	-	29,33	29,33
C15'	-	-	31,9	31,9
C16'	-	-	22,66	22,66
C17'	-	-	14,09	14,09
C3	176,53	175,69	176,40	175,63

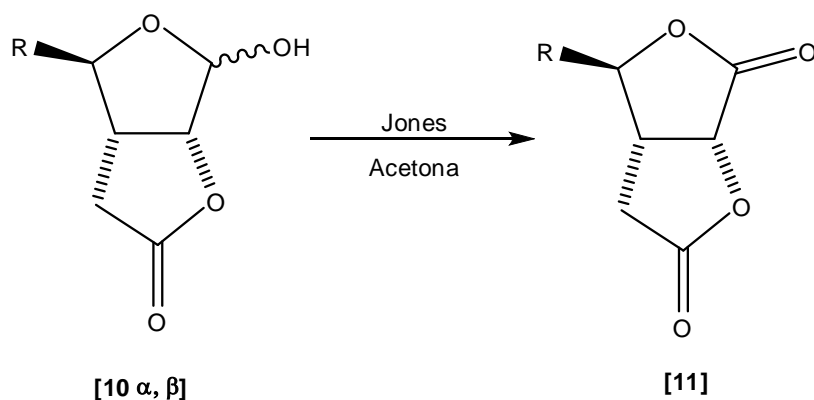
Dados dos espectros de massas mostram o pico do íon molecular em  $m/z$  382 para a mistura de epímeros **[10B]**, com intensidade de 0,3 %. Para os epímeros **[10A]**, esse pico foi observado em  $m/z$  298, com intensidade de 0,1%. Segundo CREWS (1998), a perda de uma molécula de água na fragmentação de álcoois é muito comum. Isto foi observado para ambos os compostos, sendo possível notar os picos em  $m/z$  280 (1%), para os compostos **[10A]**, e  $m/z$  364 (4%) para os compostos **[10B]** (Figura 1.56).

Os isômeros **[10  $\alpha$  e  $\beta$ ]**, não foram separados, pois seriam oxidados na próxima etapa para formar o mesmo produto.



**Figura 1.56.** Proposta de mecanismo para a perda de uma molécula de água durante a obtenção do espectro de massas dos compostos **[10]**.

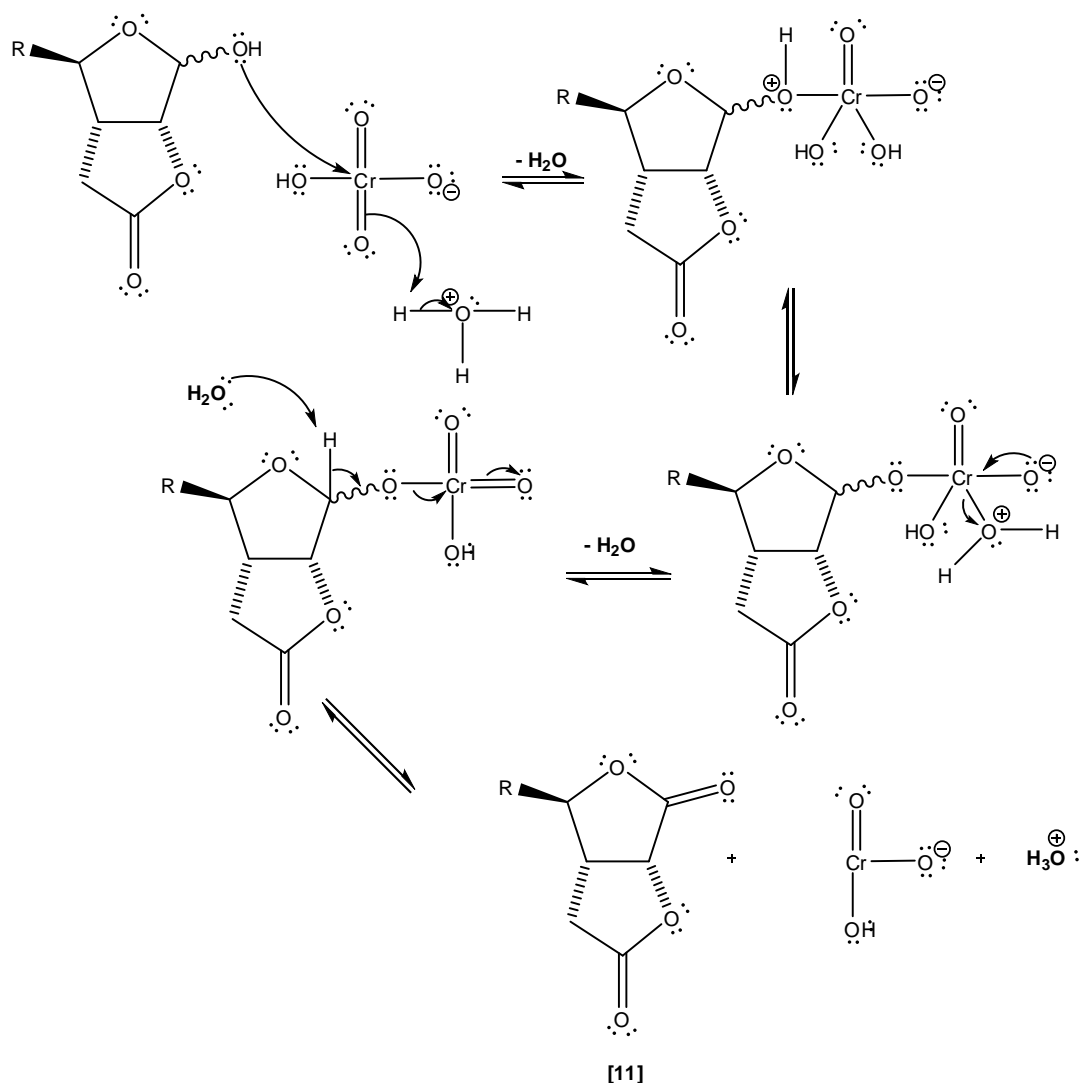
### 1.3.11. Síntese de (1*R*,5*R*,6*R*)-6-alkuil-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-diona [11]



**Figura 1.57.** Formação das bis- $\gamma$ -lactonas por oxidação dos compostos [10].

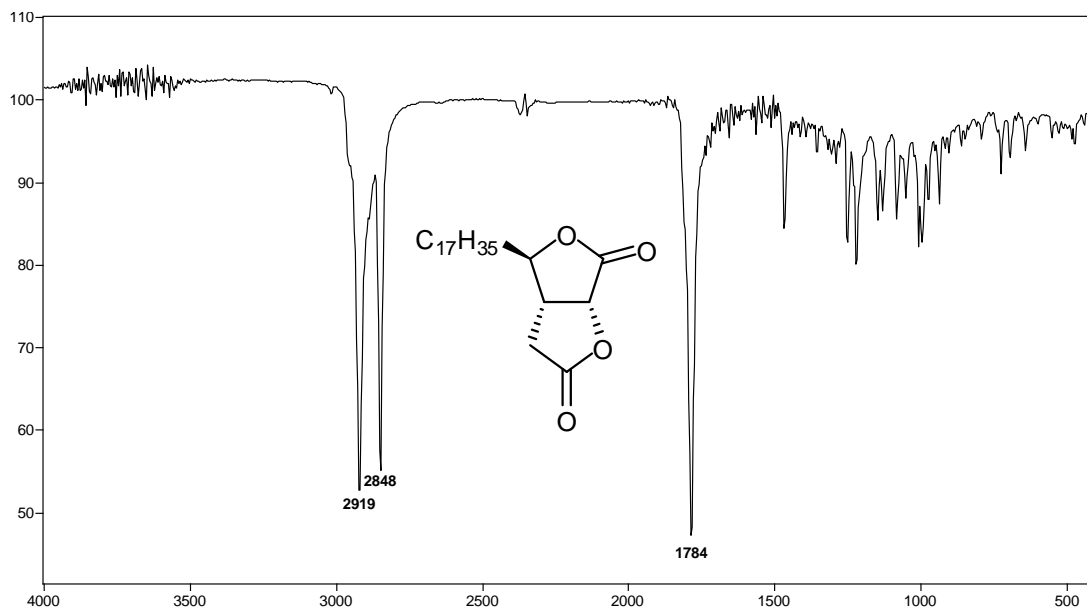
A oxidação de Jones é conduzida em condições relativamente fáceis de reação, onde não há a necessidade de empregar atmosfera inerte ou um ambiente seco, sendo muito útil para a oxidação de álcoois secundários. Particularmente a reação tem a limitação de ocorrer em meio ácido, impedindo a utilização deste método na oxidação de compostos que possuem grupos sensíveis (TOJO e FERNÁNDEZ, 2006). Em contraste com o item 1.3.2, onde os grupos acetonídeos sensíveis ao meio ácido não permitiam a utilização deste tipo de reagente, nesta etapa foi possível o emprego desta metodologia, que levou à oxidação dos compostos [10  $\alpha$  e  $\beta$ ], formando então o segundo anel  $\gamma$ -lactônico com rendimentos de 69% e 88% para os compostos [11A] e [11B], respectivamente.

A proposta de mecanismo para esta reação (Figura 1.58) se baseia na formação de um éster cromato intermediário que usualmente ocorre nas oxidações de Jones. Quando uma molécula de H<sub>2</sub>O abstrai o átomo de hidrogênio ligado ao carbono anomérico, ocorre a formação da ligação dupla entre carbono e oxigênio, liberando o composto de crômio na forma reduzida. O intermediário HCrO<sub>3</sub><sup>-</sup> é ainda um agente oxidante, e a reação prossegue até a formação de íons Cr<sup>3+</sup>, o que é visualizado por uma mudança da cor do sistema de alaranjado para esverdeado, indicando o final da reação.



**Figura 1.58.** Proposta de mecanismo para a oxidação de Jones dos compostos [10] às bis-lactonas [11].

Os espectros no infravermelho dos compostos [11] apresentam uma banda característica de estiramento de carbonilas de lactonas na região de  $1780\text{ cm}^{-1}$ . Observa-se, também, no espectro a ausência da banda referente ao estiramento da ligação O-H na região de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , que era referente às misturas de epímeros [10], indicando a completa oxidação desses compostos. A (Figura 1.59) mostra, como exemplo o espectro de [11B], onde apenas uma banda intensa na região de estiramento de carbonilas é observada, devido à sobreposição das duas bandas de carbonilas presentes na estrutura do composto.



**Figura 1.59.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) do composto **[11B]**.

Através da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para os compostos **[11A]** e **[11B]** foi possível confirmar as estruturas propostas. Observa-se o desaparecimento do sinal relativo ao H8 presente nos espectros dos precursores **[10A]** e **[10B]** (Figura 1.51) e a presença de um duplete resultante do acoplamento entre H1 e H5 na região de  $\delta$  5,0, com uma constante de acoplamento  $J_{1,5} = 7,8$  Hz para o composto **[11A]** e  $J_{1,5} = 7,5$  Hz para o composto **[11B]**.

Como exemplifica o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **[11B]** (Figura 1.60), podem-se observar também os sinais relativos ao H6, um tripto duplete em  $\delta$  4,34,  $J_{6,1'a} = J_{6,1'b} = 5,7$  e  $J_{6,5} = 7,2$  resultante do acoplamento entre H6 e H1'a,1'b e entre H6 e H5.

Os sinais relativos aos hidrogênios 4a e 4b apresentaram-se como duplo dupletos em razão do acoplamento geminal, sendo esse sinal desdobrado ainda pelo acoplamento com o hidrogênio H5 com  $J_{4a,4b} = J_{4b,4a} = 18$  Hz,  $J_{4a,5} = 3,6$  Hz e  $J_{4b,5} = 9,3$  Hz. Através do mapa de contornos COSY (Figura 1.61), foi possível identificar os acoplamentos entre esses hidrogênios e atribuir os demais sinais presentes no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . Na Tabela 1.14 estão descritas as atribuições para os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de **[11A]** e **[11B]**.

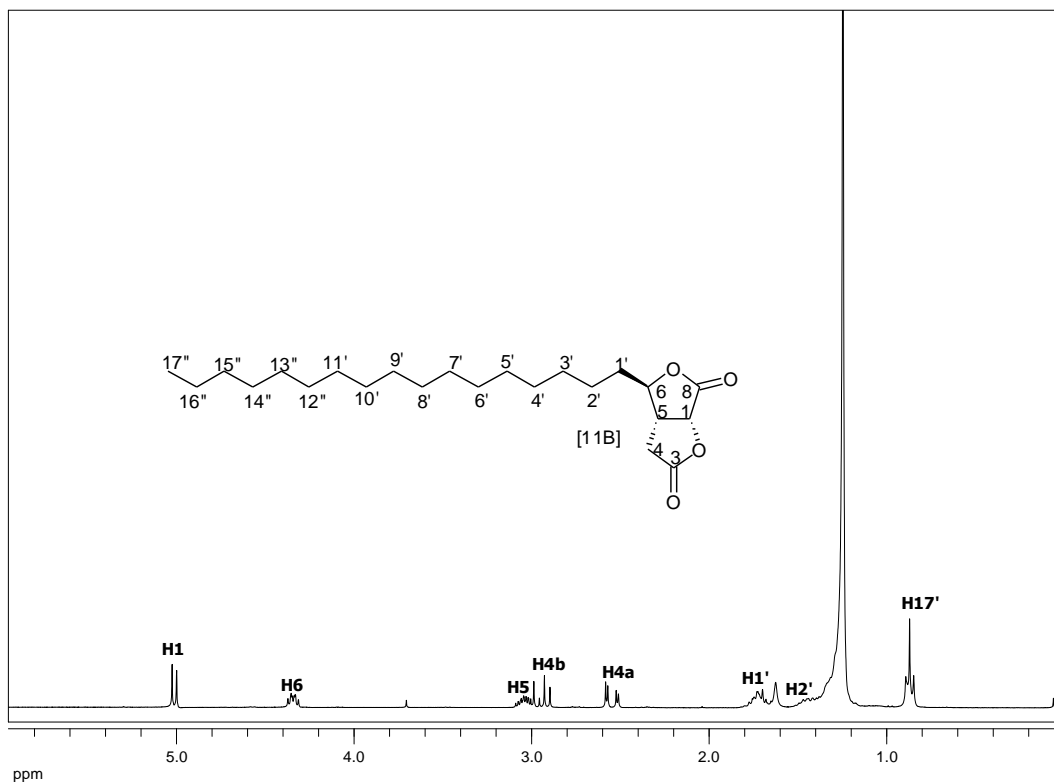


Figura 1.60. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto [11B].

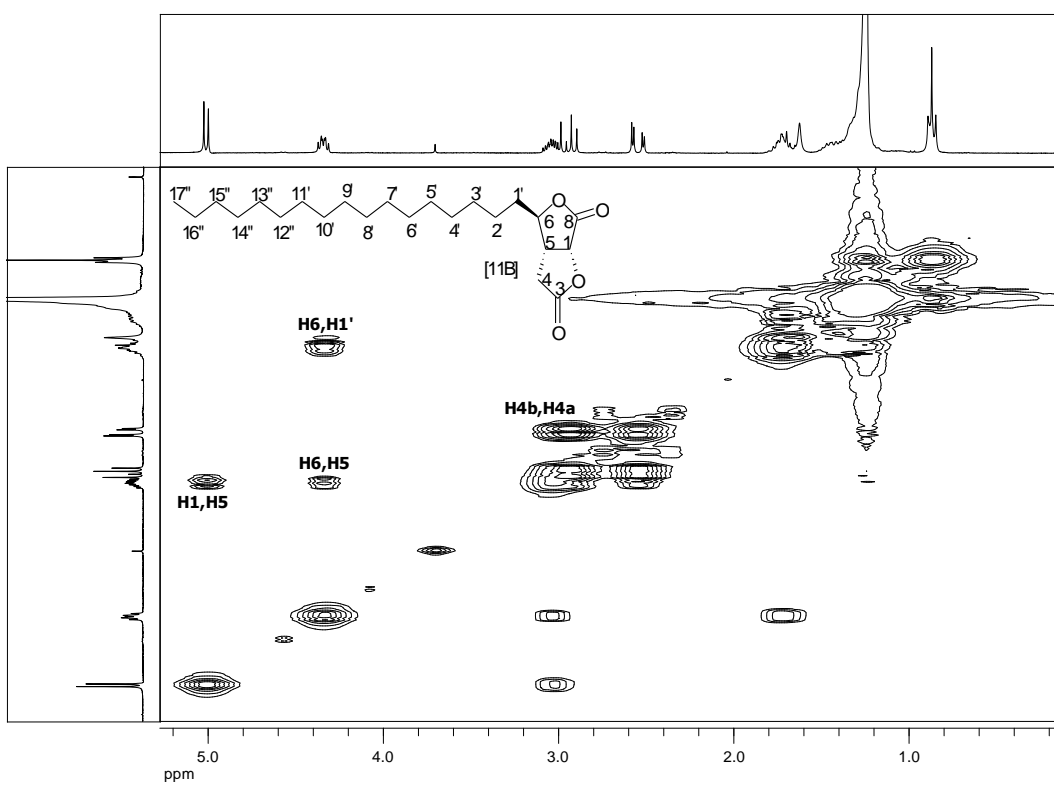
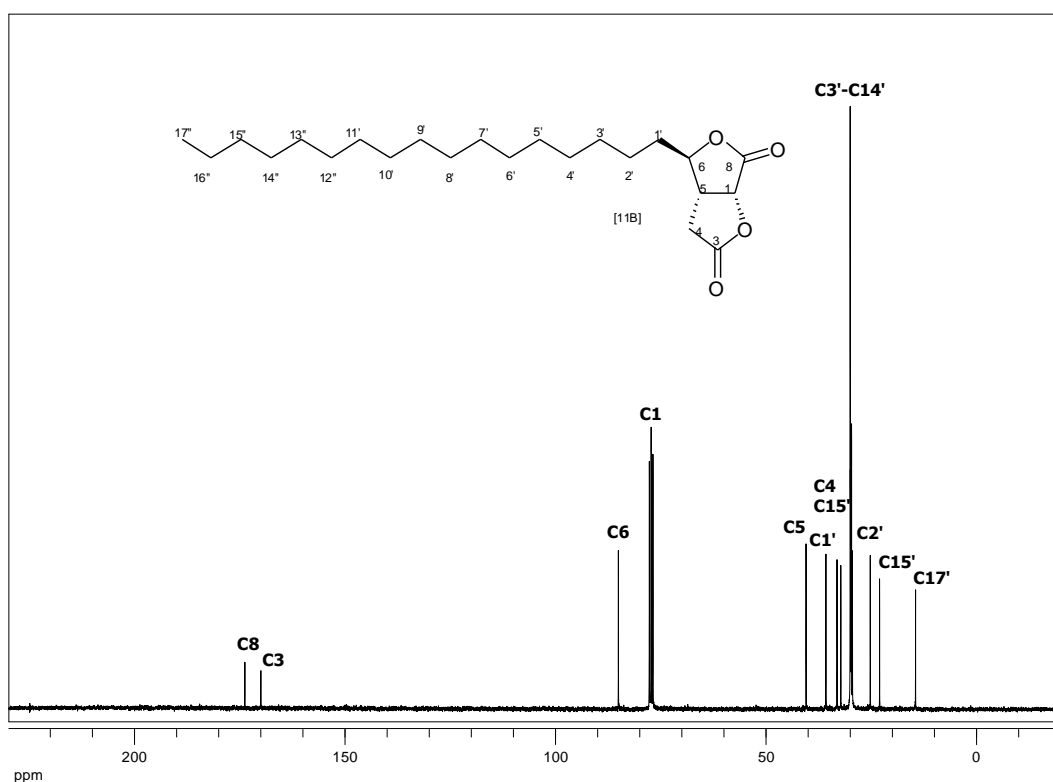


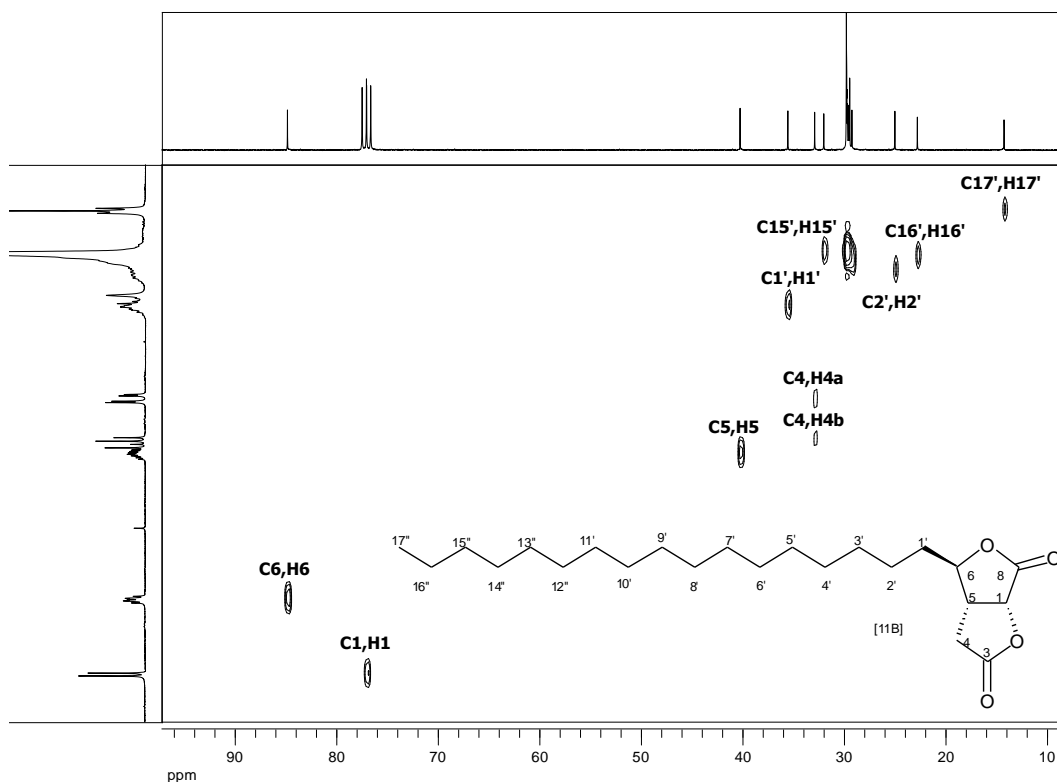
Figura 1.61. Mapa de contornos COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [11B].

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dos compostos [11], também auxiliaram na comprovação das estruturas propostas. Para o composto [11B] (Figura 1.62), por exemplo, observam-se dois sinais referentes a carbonilas, um em  $\delta$  173,6 relativo ao carbono 8 e o outro em  $\delta$  169,8 relativo ao carbono 3.

Para o composto [11B] (Figura 1.63), o sinal de C1 estava sobreposto pelo sinal de clorofórmio deuterado. Através do mapa de contornos HETCOR foi possível correlacionar o átomo de carbono (C1) ao seu respectivo hidrogênio e assim resolver este problema de atribuição. Na Tabela 1.15 estão descritas as atribuições para os demais átomos de carbono.



**Figura 1.62.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do composto [11B].



**Figura 1.63.** Mapa de contornos HETCOR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [11B].

**Tabela 1.14.** Deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento  $J$  (Hz) para os compostos [11A] e [11B] em  $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz.

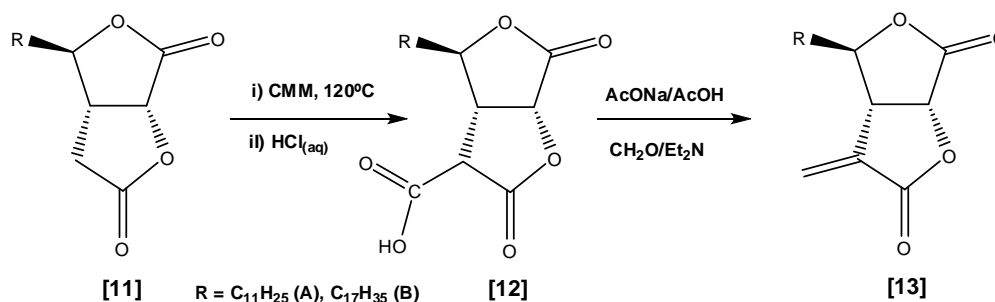
Atribuição	$\delta$ $^1\text{H}$ [11A]	$\delta$ $^1\text{H}$ [11B]
H5	3,0 – 3,09 (m)	3,0 – 3,09 (m)
H1	5,0 (d) $J_{1,5} = 7,5$	5,01 (d) $J_{1,5} = 7,8$
H6	4,34 (td) $J_{6,1'a} = J_{6,1'b} = 5,4$ $J_{6,5} = 7,5$	4,34 (td) $J_{6,1'a} = J_{6,1'b} = 5,7$ $J_{6,5} = 7,2$
H4a	2,54 (dd) $J_{4a,5} = 3,9$ $J_{4a,4b} = 18$	2,55 (dd) $J_{4a,5} = 3,6$ $J_{4a,4b} = 18$
H4b	2,94 (dd) $J_{4b,5} = 9,3$ $J_{4b,4a} = 18$	2,94 (dd) $J_{4b,5} = 9,3$ $J_{4b,4a} = 18$
H1'	1,65 – 1,80 (m)	1,65 – 1,77 (m)
H2'	1,38 – 1,51 (m)	1,38 – 1,49 (m)
H3'-H10'	1,26 (sl)	-
H11'	0,87 (pseudo t) $J_{11',10'} = 6,3$	-
H3' – H16'	-	1,25 (sl)
H17'	-	0,87 (pseudo t) $J_{17',16'} = 6,3$

**Tabela 1.15.** Dados obtidos dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75MHz) dos compostos [11A] e [11B].

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$ [8A]	$\delta^{13}\text{C}$ [8B]
C5	40,17	40,16
C1	77,0	77,0
C8	173,60	173,63
C6	84,81	84,79
C4	32,80	32,80
C3	169,82	169,83
C1'	35,45	35,45
C2'	24,88	24,88
C3'	29,55	29,67
C4'	29,43	29,67
C5'	29,43	29,61
C6'	29,33	29,61
C7'	29,29	29,56
C8'	29,12	29,56
C9'	31,87	29,56
C10'	22,65	29,44
C11'	14,08	29,44
C12'	-	29,34
C13'	-	29,34
C14'	-	29,12
C15'	-	31,90
C16'	-	22,67
C17'	-	14,12

Para os compostos [11], os espectros de massas apresentaram picos dos íons moleculares em  $m/z = 296$  (1%) para o composto [11A] e  $m/z = 380$  (1%) para [11B].

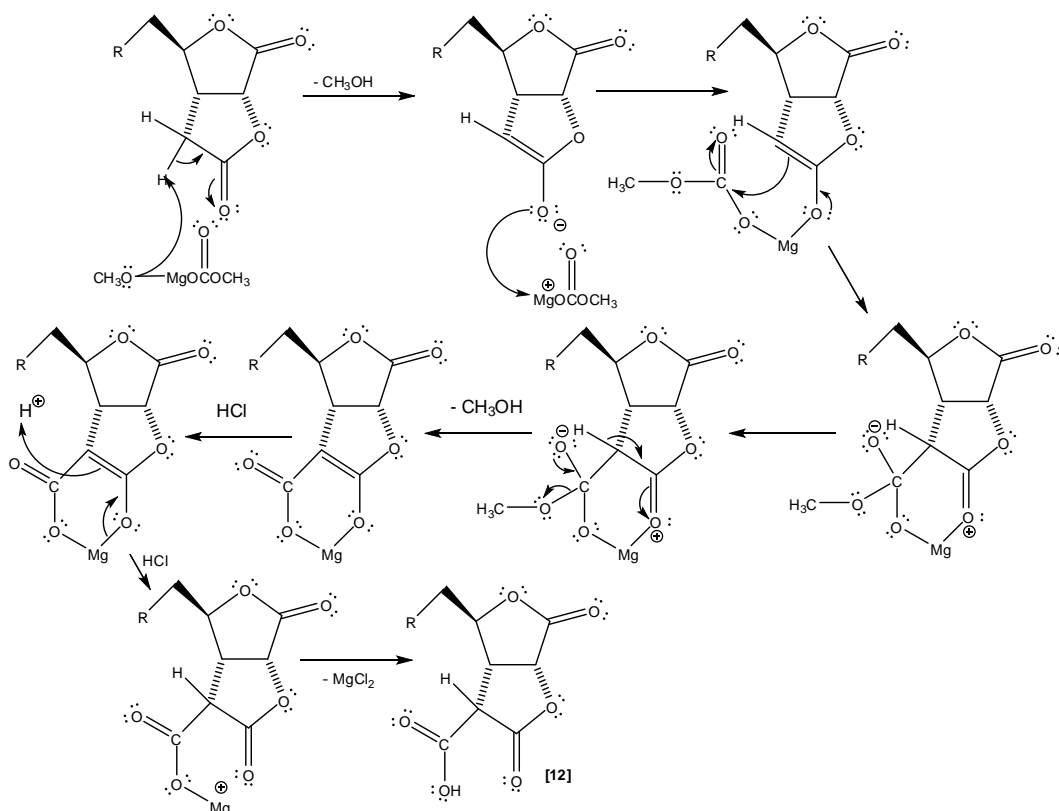
### 1.3.12. Síntese de (1*R*,5*R*,6*R*)-6-alkuil-4-metilideno-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-dionas [13]



**Figura 1.64.** Metilenação dos compostos [11].

As reações de metilenação das bis- $\gamma$ -lactonas foram conduzidas segundo o procedimento descrito por PARKER e JOHNSON (1973) e ocorreram em duas etapas, sendo a primeira a carboxilação dos compostos [11], seguida pela metilenação dos compostos [12] para formar as bis- $\gamma$ -lactonas com a dupla exocíclica [13].

A formação dos ácidos dilactônicos ocorre através da reação dos compostos [11] com carbonato de metilmetoximagnésio a  $120^\circ\text{C}$ , sob refluxo e atmosfera de nitrogênio por 6 horas. O sistema foi resfriado e a ele, adicionada uma mistura de éter dietílico e HCl (aq), sendo os ácidos dilactônicos [12] extraídos na fase orgânica. A proposta de mecanismo para a reação está ilustrada na Figura 1.65.



**Figura 1.65.** Reação de carboxilação dos compostos [11] para a formação dos produtos [12].

Os ácidos dilactônicos [12] não foram isolados; a eles foi adicionada uma solução de metanal e dietilamina contendo acetato de sódio e ácido acético para a formação do cátion imínio (Figura 1.66) e tamponar o meio em pH 4. Os produtos [13] foram obtidos após o aquecimento do sistema em banho-maria e extração com éter dietílico, obtendo-se os compostos [13A] e [13B] com rendimentos de 60% e 36%, respectivamente. A proposta de mecanismo para esta reação está ilustrada na Figura 1.67.

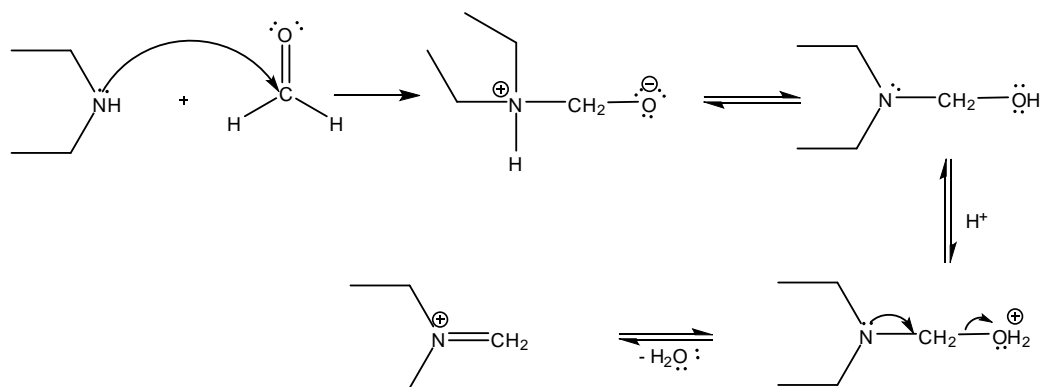


Figura 1.66. Formação do cátion imínio.

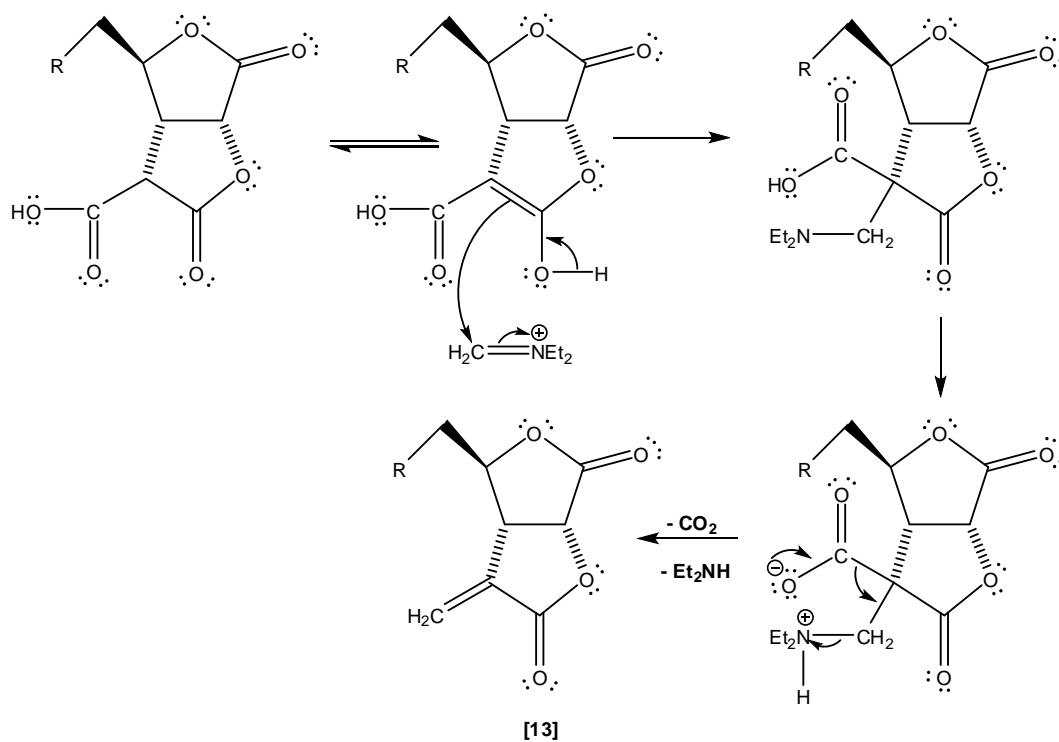
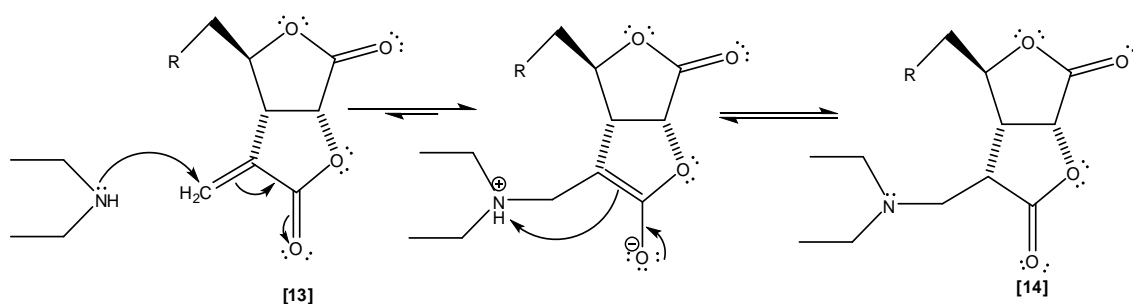


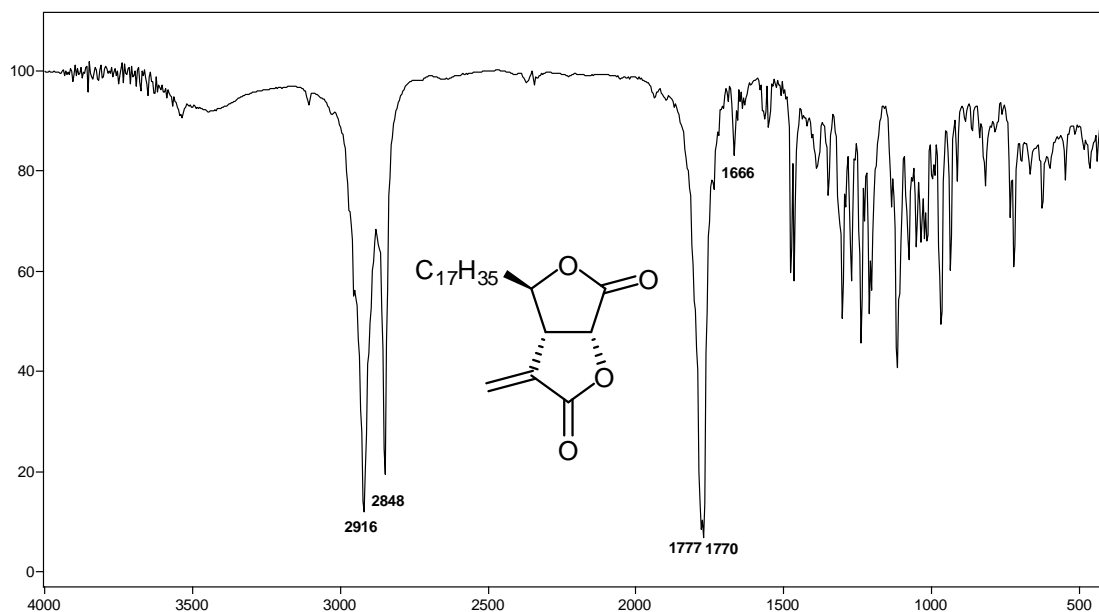
Figura 1.67. Proposta de mecanismo para adição da dupla exocíclica aos ácidos bis- $\gamma$ -lactônicos [12].

PARKER e JOHNSON (1973), sugerem que condições levemente ácidas favorecem a formação da dupla exocíclica nas bis- $\gamma$ -lactonas. De acordo com as investigações de DALTON e ELMES (1973), fica evidente o uso de uma solução tamponada em pH 4. Neste trabalho os autores relatam, através de estudos por RMN de  $^1\text{H}$ , que ocorre uma adição de Michael entre a dietilamina e a dupla exocíclica das bis- $\gamma$ -lactonas em condições neutras ou levemente básicas, formando um aduto de Michael [14] (Figura 1.68).



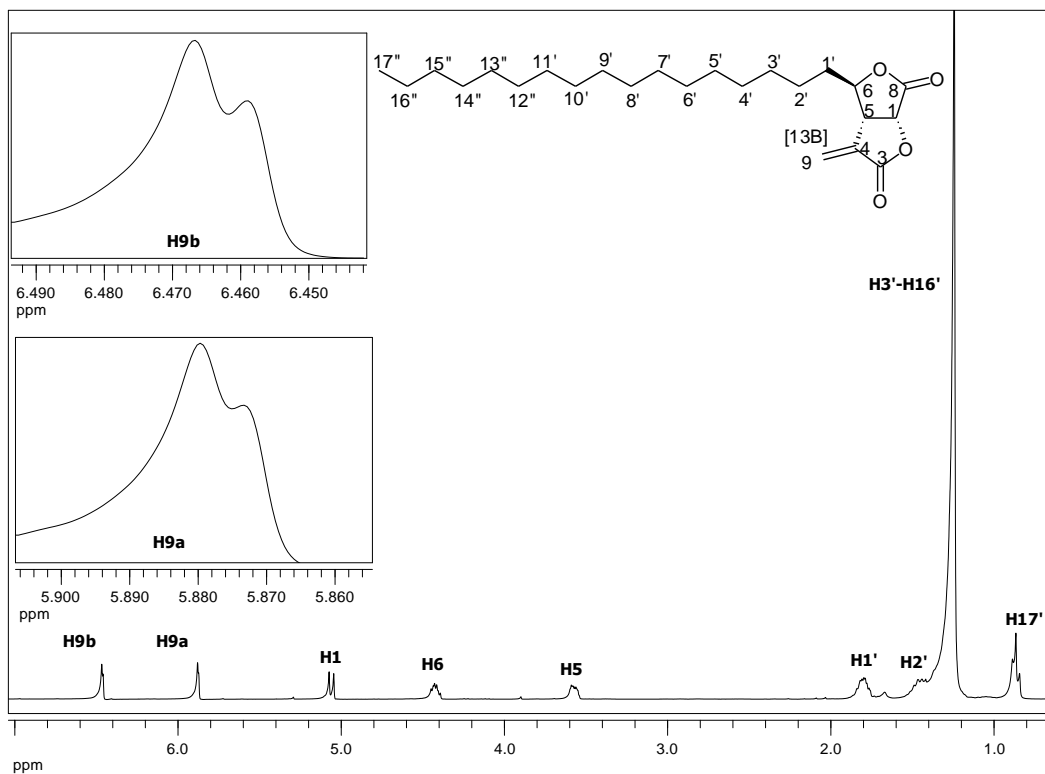
**Figura 1.68.** Adição de Michael ao produto [13].

A presença da ligação dupla nas moléculas de [13A] e [13B] foi inicialmente observada através da espectroscopia no infravermelho, onde foi possível notar uma banda referente ao estiramento  $\text{C}=\text{C}$  em  $1666\text{ cm}^{-1}$  nos espectros de ambos compostos. Como exemplo, pode-se observar essa banda no espectro no infravermelho do produto [13B], bem como as bandas sobrepostas em  $1777$  e  $1770\text{ cm}^{-1}$ , referentes aos estiramentos  $\text{C}=\text{O}$  das lactonas (Figura 1.69).

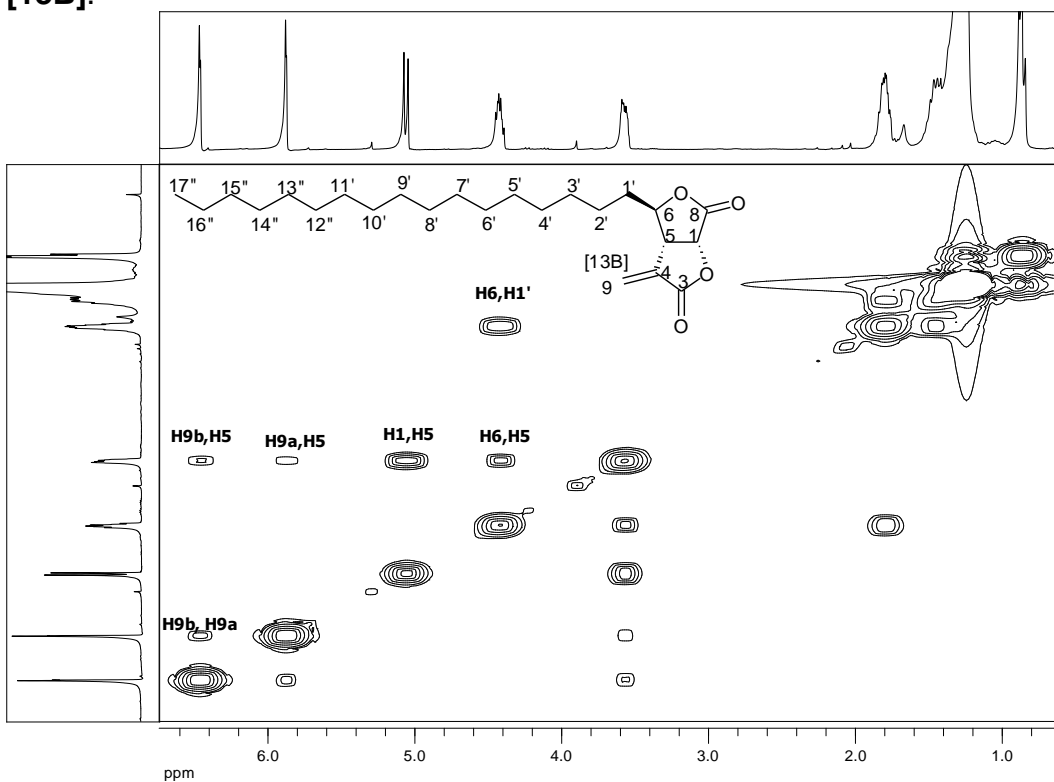


**Figura 1.69.** Espectro no infravermelho (KBr) para o composto **[13B]**.

Após esta análise inicial, foram obtidos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para os compostos **[13]**. Neles, observam-se os sinais dos hidrogênios olefínicos 9a e 9b na região de  $\delta$  5,9 e 6,4. Estes hidrogênios apresentam além do acoplamento geminal, outro com H1. Através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 1.70) foi possível observar apenas o acoplamento entre H9a e H9b para o composto **[13B]**. O acoplamento com H5 apenas causou alargamento dos sinais de H9a e b. A questão do acoplamento entre H9a e H9b com H5, para os dois compostos, foi resolvida após a análise do mapa de contornos COSY, onde se vê claramente o acoplamento entre os hidrogênios olefínicos e H5 (Figura 1.71). Todos os sinais observados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  estão descritos na Tabela 1.16.



**Figura 1.70.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [13B].

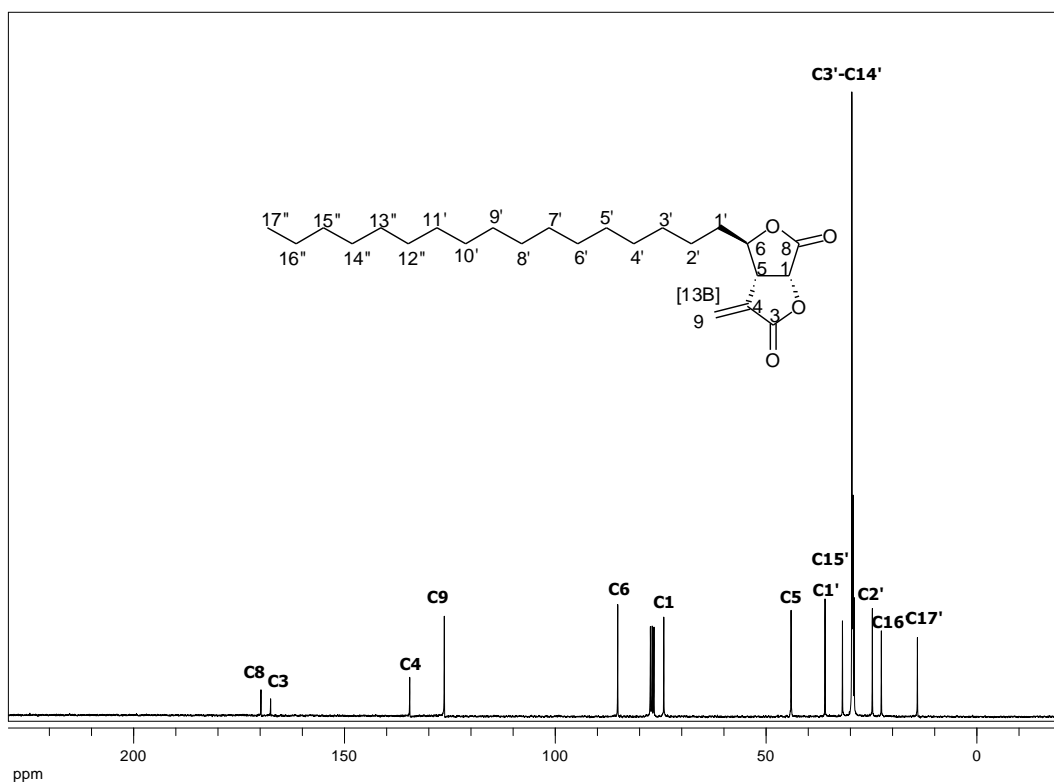


**Figura 1.71.** Mapa de contornos COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) para o composto [13B].

**Tabela 1.16.** Deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento  $J$  (Hz) para os compostos [13A] e [13B] em  $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz.

Atribuição	$\delta$ $^1\text{H}$ [13A]	$\delta$ $^1\text{H}$ [13B]
H5	3,53 – 3,58 (m)	3,54 – 3, 59 (m)
H1	5,05 (d)	5,05 (d)
	$J_{2,1} = 8,4$	$J_{2,1} = 8,4$
H6	4,39 – 4,45 (m)	4,39 – 4,45 (m)
H9a	5,87(d)	5,87(d)
	$J_{9a,9b} = 2,4$	$J_{9a,9b} = 2,4$
H9b	6,47 (d)	6,46 (d)
	$J_{9b,9a} = 2,4$	$J_{9b,9a} = 2,4$
H1'	1,76 – 1,84 (m)	1,76 – 1,84 (m)
H2'	1,40 – 1,50 (m)	1,41 – 1,49 (m)
H3'-H10'	1,26 (sl)	-
H11'	0,86 (pseudo t)	-
	$J_{11',10'} = 6,3$	
H3' – H16'	-	1,24 (sl)
H17'	-	0,87 (pseudo t)
		$J_{17',16'} = 6,6$

A análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , confirma a presença da dupla exocíclica através da observação dos sinais na região de  $\delta$  134 (C4) e  $\delta$  126 (C9), referentes a carbonos olefínicos. Como exemplo, podem-se observar esses sinais e outros mais na Figura 1.72 para o produto **[13B]**. Todos os sinais observados nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  estão listados na Tabela 1.17 e confirmam as estruturas propostas.



**Figura 1.72.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) para o composto **[13B]**.

**Tabela 1.17.** Dados obtidos dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75MHz) dos compostos [13A] e [13B].

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$ [13A]	$\delta^{13}\text{C}$ [13B]
C5	44,40	44,05
C1	74,50	74,26
C8	169,94	169,80
C6	85,37	85,18
C4	134,84	134,52
C3	167,69	167,51
C1'	36,30	36,00
C9	126,48	126,31
C2'	24,05	24,78
C3'	29,79	29,64
C4'	29,67	29,64
C5'	29,58	29,64
C6'	29,58	29,58
C7'	29,53	29,58
C8'	29,33	29,58
C9'	32,11	29,54
C10'	22,90	29,54
C11'	14,33	29,54
C12'	-	29,42
C13'	-	29,32
C14'	-	29,06
C15'	-	31,86
C16'	-	22,64
C17'	-	14,08

A análise do espectro de massas para o composto **[13A]** mostrou o pico do íon molecular em m/z 308 com intensidade de 0,3%. Para o composto **[13B]** foi obtido o pico do íon molecular em m/z 392 com intensidade de 1%.

Segundo os trabalhos de BROOKES *et al.* (1963) e ANDERSON e FRASER-REID (1985), o avenaciolídeo apresenta rotação específica de  $[\alpha]^{26,5}_D = -41,6^\circ$  (1,20 g/100 mL de EtOH) e  $[\alpha]^{29,5}_D = -41,0^\circ$  (0,274 g/100 mL de EtOH). As rotações específicas dos compostos **[13A]** e **[13B]** obtidas neste trabalho foram de  $[\alpha]^{25}_D = -53,2^\circ$  e  $-75,0^\circ$  respectivamente, em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Isto indica que os compostos sintetizados são quirais e, como foi utilizada a mesma metodologia de síntese publicada por ANDERSON e FRASER-REID (1985) para o avenaciolídeo, os novos análogos devem apresentar a mesma estereoquímica do produto natural.

A atividade antifúngica dos compostos **[13A]** e **[13B]** foi avaliada contra *Colletotrichum gloesporioides*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium solani* e está descrita no capítulo 2 deste trabalho.

#### 1.4. Conclusões

O *chiral pool*, adotado como estratégia de síntese, utilizando a D-glicose como material de partida, permitiu a síntese dos compostos **[13A]** e **[13B]** em quantidades suficientes para serem realizados os ensaios biológicos.

Foram sintetizadas neste trabalho 17 substâncias, sendo 10 inéditas, que tiveram suas estruturas comprovadas através de espectroscopias no infravermelho e de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , de espectrometria de massas, análises elementares e temperaturas de fusão.

Ao final foram obtidas 109,9 mg do produto (1*R*,5*R*,6*R*)-4-metilideno-6-undecil-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-diona **[13A]**, com rendimento global de 1%, e 185,9 mg do produto (1*R*,5*R*,6*R*)-6-heptadecil-4-metilideno-2,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-3,8-diona **[13B]**, com rendimento global de 3,5%.

## CAPÍTULO 2

### AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO AVENACIOLÍDEO E DAS SUBSTÂNCIAS ANÁLOGAS.

#### 2.1. INTRODUÇÃO

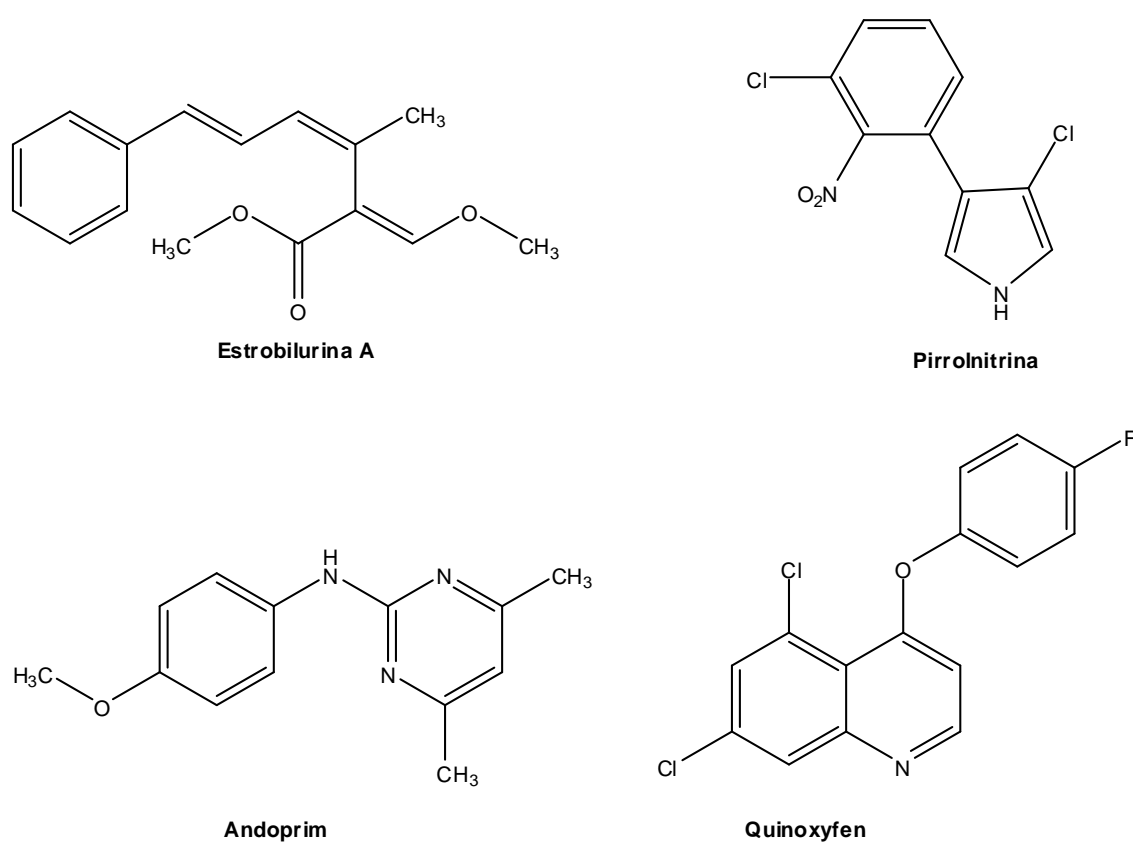
Os fungos são organismos eucariontes, multi ou unicelulares, pertencentes ao reino *Fungi*. Eles se alimentam através da secreção de enzimas sobre a fonte de alimento e então absorvem as pequenas moléculas que são liberadas. Por essa característica são classificados como organismos heterotróficos. Juntamente com as bactérias heterotróficas, os fungos são os principais decompositores da biosfera, quebrando a matéria orgânica e reciclando o carbono, o nitrogênio e outros componentes que são liberados no solo e no ar (CARLILE,2006). Mais de 70.000 espécies de fungos já foram identificadas até agora, e cerca de 1.700 novas espécies são descobertas a cada ano. O número total de espécies foi estimado por RAVEN *et al.* (2001) em um milhão e quinhentos mil, colocando os fungos como o segundo maior reino, suplantado apenas pelos insetos.

Como são organismos decompositores, a maioria dos fungos é sapróbia, ou seja, vivem sobre a matéria orgânica em decomposição. Por esse motivo os fungos entram em conflito direto com o interesse do Homem, atacando seus alimentos e os próprios seres humanos, sendo os principais agentes causadores de doenças em plantas. Estima-se que mais de 5.000 espécies de fungos atacam culturas de alto valor econômico, bem como plantas ornamentais e nativas (RAVEN *et al.* 2001).

A importância relativa de patógenos, insetos e plantas daninhas nas perdas da produção depende de vários fatores, dentre eles a própria cultura e a região geográfica. Na América do Sul, por exemplo, os patógenos são 1,5 vezes mais importantes que os insetos e 2,5 vezes mais importantes que as plantas daninhas (KIMATI, *et al.*1995). Os dados apresentados na Tabela 2.1 mostram a importância relativa de alguns

patógenos na safra nacional, e lista as principais doenças causadas e suas culturas – alvo.

Dentro deste contexto, os fungicidas são essenciais para o controle efetivo de doenças de plantas. Novas classes de fungicidas com variados modos de ação estão sendo desenvolvidas. Exemplos de classes de compostos orgânicos com diferentes modos ação antifúngica são: estrobilurinas, fenilpirróis, anilino pirimidinas, fenoxiquinolinas (Figura 2.1) (KNIGHT, *et al.* 1997; ZAMBOLIM *et al.* 2008).



**Figura 2.1.** Exemplos de algumas classes de fungicidas Estrobilurina A (estrobilurinas), Pirrolnitrina (fenilpirróis), Andoprim (anilino pirimidinas), Quinoxifen (fenoxiquinolinas).

**Tabela 2.1.** Alguns dos principais patógenos de plantas encontrados no Brasil, suas doenças, sintomas e perdas na produção. (BAIBI-PEÑA *et al.* 2006; OLIVEIRA, 2007; POZZA, *et al.* 2001; KIMATI, *et al.* 2005; GRIFFITHS, *et al.* 1971, MARIN, *et al.* 2003; COSTA, 2002; ALVES e DEL PONTE, 2009; FUGUEIRA, *et al.* 2003; TATAGIBA *et al.* 2002, ZAMBOLIM *et al.* 2007, ROBERTSON, 2005, KRCMERY, *et al.* 1997).

<b>Fungo</b>	<b>Doença</b>	<b>Cultura</b>	<b>Sintomas</b>	<b>Perdas</b>
<i>Alternaria Solani</i>	Pinta preta	Tomate e batata	Redução da área foliar, queda do vigor, depreciação dos frutos ou tubérculos. Incide sobre folhas, hastes, pecíolos e frutos.	Até 50%
<i>Cercospora coffeicola</i>	Cercosporiose	Café	Intensa desfolha da planta.	Até 30%
<i>Colletotrichum kawahae</i>	Antracnose	Café	Nas flores: mancha marrom escura sobre o tecido branco da pétala. Nos frutos verdes manchas necróticas, escuras, ligeiramente deprimidas em qualquer região do fruto. Nas folhas manchas necróticas cinzas.	Até 75%
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Antracnose	Feijão	Leve descoloração até lesões nos tecidos dos Cotilédones.	Até 100%
<i>Fusarium moniliforme</i>	Podridão rosada	Sementes do milho	Uma massa cotonosa avermelhada recobre os grãos infectados ou a palha atingida. Pode haver o aparecimento de estrias brancas no pericarpo dos grãos. É possível observar a presença de um micélio branco em estágios avançados da doença. Muitos grãos, aparentemente saudáveis, podem conter o patógeno em seu interior.	*
<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Antracnose	Mamão, banana, melancia, uva e manga	Lesões nos frutos e manchas escuras nas folhas	Até 91%
<i>Hemileia vastatrix</i>	Ferrugem do cafeeiro	Café	Manchas na face inferior das folhas de coloração amarela, formação de pústulas com posterior desfolha.	Até 35%
<i>Fusarium solani</i>	Morte súbita	Batata, soja	Clorose e necrose das folhas afetadas	Não determinado
<i>Aspergillus Falvus</i>	Podridão	Milho, amendoim, algodão	Apodrecimento e formação de massa cotonosa verde sobre os grãos	*

\*Não determinado. Mas produz efeitos deletérios à saúde humana e animal se ingerido.

É importante observar que nas últimas décadas, vários casos de resistência aos agroquímicos comerciais por fungos fitopatogênicos têm ocorrido, levando a perdas agrícolas importantes e à retirada do mercado de muitos desses produtos pela drástica redução de sua eficiência (Tabela 2.2). Assim, há uma constante demanda pelo desenvolvimento de novos agroquímicos (DEISING *et al.*, 2008, ZAMBOLIM *et al.*, 2007; ZAMBOLIM *et al.*, 2008).

**Tabela 2.2.** Ocorrência de resistência contra fungicidas.

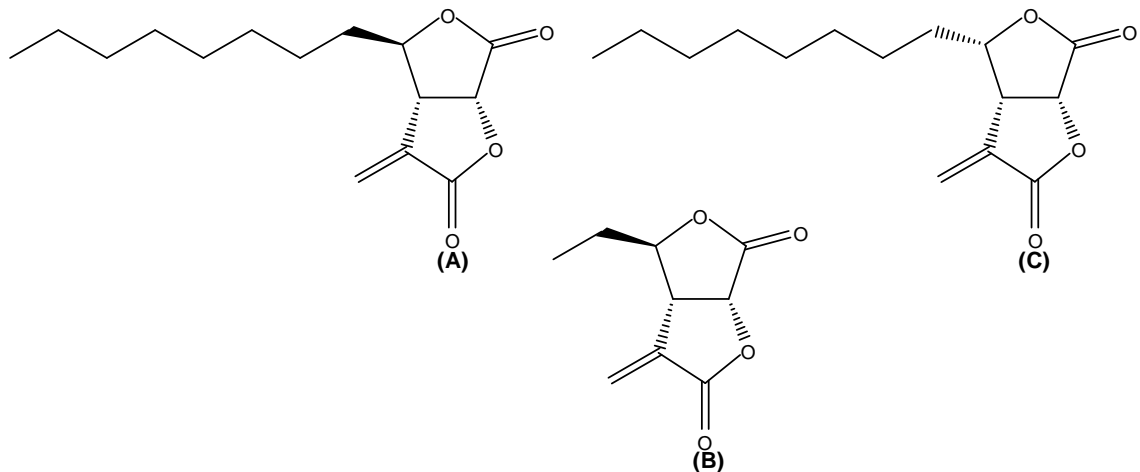
<b>Classe Fungicida</b>	<b>Número de sítios alvo</b>	<b>Ano de resistência</b>	<b>Anos até resistência</b>	<b>Patógeno resistente</b>
Organomercuriais	Muitos	1964	40	<i>Pyrenophora avenae</i>
Benzimidazois	1	1970	2	<i>Venturia inaequalis</i> <i>Botrytis cinerea</i>
Fenilamidas	1	1980	2	<i>Phytophthora infestans</i> <i>Plasmophora viticola</i>
Dicarboximidas	1	1982	5	<i>Botrytis cinerea</i>
DMIs	1	1982	4	<i>Blumeria graminis</i>
Carboxanilideos	1	1986	14	<i>Ustilago nuda</i>
Morfolinos	2	1994	34	<i>Botrytis cinerea</i>
Estrobilurinas	1	1998	2	<i>Botrytis cinerea</i>

De acordo com dados do SINDAG (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola) (Tabela 2.3), mesmo dentro do difícil momento da atual economia, o mercado NACIONAL de fungicidas apresentou aumento em 2009, enquanto outros agroquímicos acumularam retrações em suas vendas (SINDAG, 2009). Estes dados mostram a importância dos fungicidas para a agricultura.

**Tabela 2.3.** Estimativa do mercado de agroquímicos. Acumulado no ano (janeiro - fevereiro) - 2008 x 2009 em milhões de reais.

<b>Segmentos</b>	<b>Mercado (Estimativa – milhões de R\$)</b>		
	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>% variação</b>
<b>Herbicidas</b>	616	543	-12
<b>Fungicidas</b>	299	307	3
<b>Inseticidas</b>	624	473	-24
<b>Acaricidas</b>	19	16	-16
<b>Outros</b>	52	65	24
<b>Total</b>	1.609	1.403	-13

A atividade do avenaciolídeo (Figura 2.2) como potencial agente antifúngico foi descrita inicialmente por BROOKES, TIDD e TURNER em 1963, que o isolaram do fungo *Aspergillus avenaceus*. Desde então vários autores vêm procurando uma forma de estudar e potencializar a atividade antifúngica deste composto (MAGATON *et al.*, 2007; CASTELO-BRANCO *et al.*, 2007; CASTELO-BRANCO *et al.*, 2009).



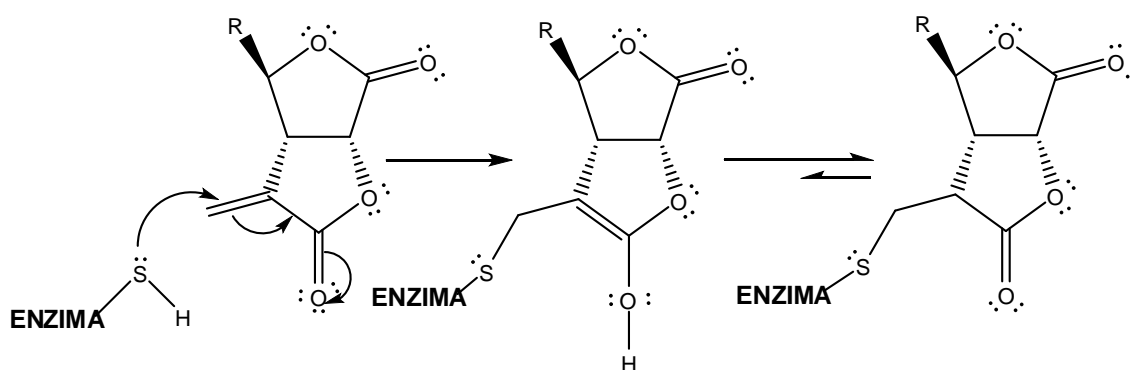
**Figura 2.2.** Avenaciólídeo (A), Etisolídeo (B) e 4-Isoavenaciólídeo (C).

MEYER e VIGNAIS (1973) relatam que o avenaciólídeo atua como um inibidor do transporte de glutamato em mitocôndrias de fígado de ratos através da ligação irreversível a grupos  $-SH$  da enzima transportadora de glutamato na parte hidrofóbica da membrana, por reação de adição de Michael (Figura 2.3). A cadeia lateral exerce uma grande importância neste processo. Em comparação com o etisolídeo (Figura 2.2, B) o avenaciólídeo (Figura 2.2, A) se mostrou cinco vezes mais eficaz enquanto o 4-isoavenaciólídeo (Figura 2.2, C) não exibiu nenhuma atividade. Isto sugere que a cadeia lateral do avenaciólídeo auxilia a molécula a se ligar na parte lipofílica da membrana, colocando o grupo metileno em uma posição favorável à reação deste grupo com os grupos tióis da enzima. Supõe-se que este modo de ação também ocorra com enzimas presentes nas membranas dos fungos.

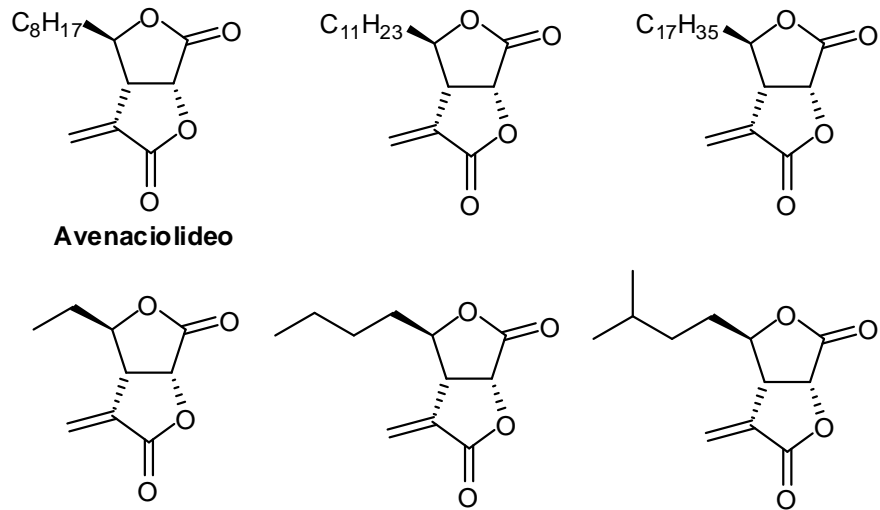
MAGATON e colaboradores (2007) testaram a atividade antifúngica de três análogos ao avenaciólídeo, com cadeias laterais contendo cinco, seis e sete átomos de carbono. Os autores concluíram que com esse aumento da cadeia lateral foram observadas atividades antifúngicas mais intensas contra *Colletotrichum gloeosporioides*.

Um dos objetivos deste trabalho foi verificar a atividade fungicida de bis- $\gamma$ -lactonas com cadeias laterais mais longas do que as testadas anteriormente. Pretendeu-se ainda estender a avaliação da atividade do avenaciólídeo e análogos a outros fungos de importância econômica. Assim, este capítulo descreve ensaios biológicos *in vitro* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium solani* por diferentes metodologias. Inicialmente foi feito um ensaio preliminar pelo método de disco-difusão contra esses três fungos, com os compostos listados na Figura 2.4. A preparação dos compostos [13A] e [13B] está descrita no capítulo 1 desta dissertação. As demais bis- $\gamma$ -lactonas foram preparadas de maneira análoga por BARROS (2007) e LIBERTO (2010).

Deste grupo de substâncias, o AVN e os novos compostos [13A] e [13B] também foram submetidos a estudos contra *C. gloeosporioides* e *A. flavus* pelo método *Poisoned food*.



**Figura 2.3.** Adição de Michael a enzimas.

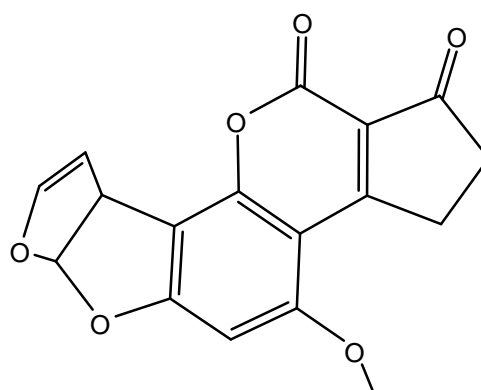


**Figura 2.4.** Avenaciolídeo e bis- $\gamma$ -lactonas análogas testadas contra *C. gloeosporioides*, *A. flavus* e *F. solani* através do método de disco-difusão.

## 2.2. Revisão de Literatura Sobre os Fungos Seleccionados Para Estudo

### 2.2.1. *Aspergillus flavus*

Os fungos filamentosos produzem uma grande diversidade de metabólitos secundários que incluem pigmentos, antibióticos, fitotoxinas e compostos tóxicos aos animais. Estes metabólitos tóxicos associados aos alimentos, rações de animais e forragens quando ingeridos causam problemas de saúde ao Homem e aos animais domésticos e são conhecidos como micotoxinas (MOSS, 1996). MAJUMDER, NARASIMHAN e PARPIA, já em 1965, relataram cerca de 64 micotoxinas presentes em fungos do gênero *Aspergillus*. Dentro deste gênero, podem-se destacar duas espécies que são produtoras de uma micotoxina conhecida como aflatoxina<sup>3</sup>, (Figura 2.5) (SWEENEY e DOBSON, 1998), o *Aspergillus flavus* Link (Figura 2.6) que produz aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> e *Aspergillus parasiticus* Speare que produz aflatoxinas G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e M<sub>1</sub> (DIENER, *et al.*, 1987). Segundo estes mesmos autores a aflatoxina B<sub>1</sub> é o agente carcinogênico de ocorrência natural mais potente de que se tem conhecimento.

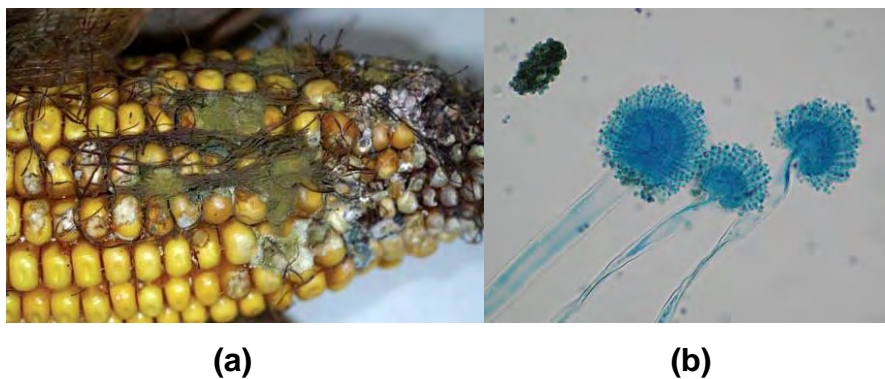


**Aflatoxina B<sub>1</sub>**

**Figura 2.5.** Aflatoxina B<sub>1</sub>.

<sup>3</sup> Composto pertencente à classe das furanocumarinas.

O *Aspergillus flavus* Link, um fungo filamentoso pertencente ao Filo Ascomycota e à classe dos Deutorimicetos (YU *et al.*, 2005; RAVEN *et al.*, 2001), é um importante patógeno de milho, amendoim, algodão, amêndoas entre outras. Também podem causar doenças em animais e seres humanos, atacando os pulmões e causando a aspergilose (YU *et al.*, 2005; HATZIAGOROU *et al.*, 2009).



**Figura 2.6. (a)** Podridão da espiga de milho causada por *Aspergillus flavus* (ROBERTSON, 2005). **(b)** Células conidiogênicas de *Aspergillus flavus* com os conídios agrupados em cadeias longas. Fonte: McDonald, W. 2000. [http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung\\_morph/fungal\\_site/asperpage.html](http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/asperpage.html)

### 2.2.2. *Colletotrichum gloeosporioides*

Fungos filamentosos do gênero *Colletotrichum* são considerados os maiores patógenos de plantas em todo o mundo. Eles causam significantes perdas econômicas a culturas tropicais, subtropicais e em regiões temperadas (BAILEY e JEGER, 1992). No mamoeiro, por exemplo, o complexo antracnose, podridão peduncular e mancha chocolate, causado por *C. gloeosporioides* nas épocas chuvosas, pode reduzir a produção em até 80% (ZAMBOLIM et al., 2008).

Várias culturas de frutas são infectadas por *Colletotrichum* em seu estado maduro. No entanto, as perdas mais significativas ocorrem quando a infecção acontece no estágio de crescimento do fruto. Os sintomas da antracnose, doença causada por *Colletotrichum*, são caracterizados por uma necrose dos tecidos, em forma de cratera, onde são produzidos conídios alaranjados do fungo (Figura 2.7a). Em geral os conídios de *C. gloeosporioides* são retangulares com as extremidades obtusas (Figura 2.7b) (FREEMAN, KATAN e SHABI, 1998).



**Figura 2.7. (a)** Sintoma típico de antracnose em abacate (FREEMAN, KATAN e SHABI, 1998). **(b)** Conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte: [www.botany.hawaii.edu/faculty/gardner/biocontrol/Miconia/miconia.htm](http://www.botany.hawaii.edu/faculty/gardner/biocontrol/Miconia/miconia.htm)

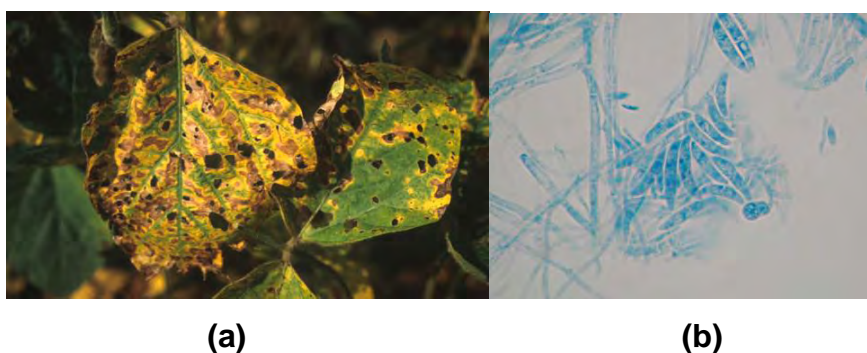
### 2.2.3. *Fusarium solani*

O gênero *Fusarium* compreende um largo e heterogêneo grupo de fungos importantes para a indústria farmacêutica, alimentícia, na medicina e agricultura (ZACCARDELLI *et al.* 2008).

O *Fusarium solani* (Figura 2.8b) é ubíquo no solo, em plantas e folhas mortas onde agem como decompositores. É um patógeno específico em várias culturas agrícolas, como pepino, ervilha e batata (KRCMERY, *et al.* 1997). É responsável pela síndrome da morte súbita em soja e também da podridão de feijão e podridão seca da batata durante seu armazenamento (ZACCARDELLI *et al.* 2008).

No feijoeiro, por exemplo, a incidência desse fungo ocorre tanto na Europa quanto na América onde já foram constatadas perdas de até 86% na produção (BIANCHINI *et al.* 1997).

Já foram relatados casos de infecções invasivas em seres humanos causados pela contaminação por *Fusarium solani*, caracterizando-se por febre alta, gangrena, lesões na pele e mialgia (VENDITTI, *et al.* 1988).



**Figura 2.8. (a)** Morte súbita em soja causada por *Fusarium solani* (ORTIZ-RIBBING, 2006). **(b)** Macroconídios de *Fusarium*. Fonte: McDonald, W. 2000.

[http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung\\_morph/fungal\\_site/clusterpage.html](http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/clusterpage.html)

### **2.3. Materiais e Métodos**

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Proteção de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Foram aplicadas duas metodologias para a avaliação do potencial antifúngico das bis- $\gamma$ -lactonas. A primeira metodologia descreve um *screening* para a atividade antifúngica dos compostos e é conhecida como teste de disco-difusão e foi realizada contra *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium solani* (DIKBAS, *et al.* 2008).

A segunda metodologia aplicada é conhecida como método *Poisoned Food* (CHUTIA *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2006; SRIDHAR *et al.*, 2003) e avaliou a atividade dos compostos contra *Aspergillus flavus* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

#### **2.3.1. Meio de Cultura e Outros Materiais**

O meio de cultura utilizado foi o BDA (Batata, Dextrose, Ágar) da Difco. Utilizou-se ainda o antibiótico sulfato de estreptomicina (Sigma-Aldrich), dimetilsulfóxido (Vetec), formaldeído (Merck) e etanol comercial (70%). Como controle foi utilizado o fungicida comercial Folicur 200 CE<sup>®</sup> (Bayer), cujo princípio ativo é o tebuconazol (20% m/v).

#### **2.3.2. Esterilização e Desinfecção dos Materiais e Meios de Cultura**

A esterilização por vapor úmido dos materiais e meios de cultura foi realizada em autoclave vertical (Fanem MOD. 415). O manuseio do material biológico foi feito em câmara de fluxo laminar equipada com luz ultravioleta (Veco). Foram utilizados ainda forno de microondas (Brastemp), câmara incubadora B.O.D (Nova Etica) e microscópio (Olympus CX-41).

A desinfecção da sala foi realizada com solução de Hipoclorito de sódio e a câmara de fluxo foi desinfetada com álcool 70° GL.

### **2.3.3. Preparo do Meio de Cultura**

O meio de cultura foi preparado através da adição de 39 g de BDA (Batata-Dextrose-Ágar) a 1000 mL de água destilada. Para o ensaio de disco-difusão, a mistura foi aquecida em microondas por 20 segundos, sendo posteriormente agitada vigorosamente e levada ao forno de microondas novamente. Esta etapa foi repetida por mais duas vezes. O meio foi dividido igualmente em 13 erlenmeyers de 125 mL, sendo 75 mL de meio para cada um. Vedaram-se os erlenmeyers com bucha de algodão e papel alumínio.

Para o teste *Poisoned Food*, anteriormente à etapa de aquecimento por microondas, o meio foi agitado vigorosamente por 3 minutos e em seguida dividido igualmente, com o auxílio de uma proveta, para 20 erlenmeyeres de 125 mL, sendo 48 mL de meio para cada um. Os erlenmeyeres foram vedados com bucha de algodão e papel alumínio.

Após esse processo, os erlenmeyers contendo os meios de cultura foram esterilizados por vapor úmido, a 121°C e pressão de 1,2 kgf.cm<sup>-2</sup> durante 20 minutos. Os meios de cultura assim preparados foram armazenados em local limpo e seco no laboratório.

### **2.3.4. Repicagem dos Fungos**

O meio de cultura BDA preparado como descrito no item 2.3.3 foi fundido em forno microondas. Após o aquecimento, foi agitado até que a temperatura do sistema estivesse próxima de 45°C.

Em uma capela de fluxo laminar, as buchas de algodão foram removidas e adicionaram-se cerca de 30 mg de sulfato de estreptomicina para cada erlenmeyer contendo 75 mL de meio. Aproximadamente 15 mL de meio foram transferidos para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, preparando-se um total de 5 placas.

Após a solidificação do BDA, isolados de fungos de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz e Sacc.), *Aspergillus flavus* (Link) ou *Fusarium solani* (Link e Grey) foram repicados sobre as placas. As placas contendo os fungos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz e Sacc.) e *Fusarium solani* (Link e Grey) foram vedadas com papel filme e transferidas para uma câmara incubadora B.O.D. à temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  por 10 dias, sob um regime diário de oito horas de luz. As placas contendo *Aspergillus flavus* (Link) foram mantidas a temperatura ambiente (aproximadamente  $28^{\circ}\text{C}$ ) por 7 dias.

### **2.3.5. Montagem dos Ensaio Biológicos**

#### **2.3.5.1. Teste disco-difusão**

Foram preparadas soluções (10 mL) dos compostos **[13A]**, **[13B]**, avenaciólídeo e demais (Figura 2.4) a 1000 e 3000 ppm em diclorometano. As soluções foram transferidas para um frasco de vidro com tampa e os discos estéreis de papel (6 mm) foram inseridos no frasco por um período de 5 minutos. Em seguida, os discos foram retirados com o auxílio de um pinça e secados com o auxílio de um secador, que foi mantido a uma distância de aproximadamente 50 cm dos mesmos. Os discos foram então transferidos para frascos pequenos e levados ao dessecador por uma hora. Posteriormente os frascos contendo os discos foram tampados e lacrados com filme plástico. Esta metodologia foi usada para a preparação do controle positivo, discos contendo tebuconazol a 1000 e 3000 ppm e outros componentes presentes na formulação do fungicida comercial Folicur. O branco foi preparado da mesma forma, utilizando somente diclorometano.

As espécies de fungos foram confirmadas por análise visual e posteriormente foi preparada uma lâmina com cada fungo, sendo estas analisadas em microscópio.

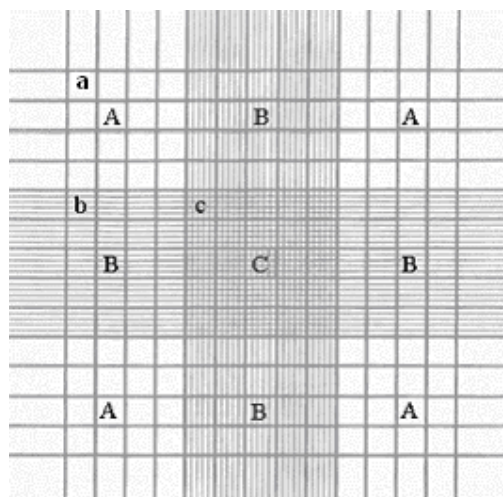
Às placas contendo os fungos no estágio de esporulação foram levadas à câmara de fluxo laminar. A cada placa foram adicionados aproximadamente 8 mL de água estéril contendo 50 mg do antibiótico sulfato de estreptomicina (ALDRICH).

Em seguida a superfície do meio de cultura contendo o fungo foi levemente raspada com o auxílio de um bastão de vidro e a suspensão foi então filtrada para um béquer por um filtro de gase estéril.

Da suspensão contendo os esporos dos fungos foi retirada uma alíquota para ser realizada a sua contagem. A contagem foi realizada colocando-se uma gota da suspensão sobre o hemacitômetro (Figura 2.9) e em seguida levando-se ao microscópio.

O hemacitômetro é dividido em 3 regiões “A”, “B” e “C”, sendo as regiões “A” localizadas nos quatro cantos do hemacitômetro, subdivididas em outras 16 regiões “a”. Nos quatro cantos “A” foram contados os esporos presentes nas regiões “a”. A concentração de esporos por mL de suspensão foi determinada multiplicando-se o número médio de conídios presentes em “a” por  $1,6 \times 10^6$ . O número médio de esporos/mL para cada fungo está descrito na Tabela 2.4.

Foi então retirada uma alíquota da suspensão de esporos e adicionada a 75 mL de meio de cultura fundido a uma temperatura de aproximadamente 45 °C. Foram acrescentados, ainda, cerca de 8 mg de sulfato de estreptomicina (antibiótico) (ALDRICH) e 7 gotas de cloranfenicol (antibiótico) (NEO-QUÍMICA) a cada erlenmeyer contendo o meio fundido e os esporos de fungos.



**Figura 2.9.** Esquema de hemacitômetro visto através de um microscópio.

**Tabela 2.4.** Concentrações de esporos encontradas após a contagem no hemacitômetro, alíquota retirada e concentração final em 75 mL de meio de cultura.

Fungo	Esporos/mL	Alíquota (mL)	Concentração Final
<i>Aspergillus flavus</i>	$4,9 \times 10^8$	0,1	$5 \times 10^5$
<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	$2,25 \times 10^7$	1,0	$3 \times 10^5$
<i>Fusarium solani</i>	$2,1 \times 10^7$	1,1	$3 \times 10^5$

Do erlenemeyer contendo a suspensão de esporos e os antibióticos (bactericidas) foram vertidos cerca de 15 mL para cada placa de petri, totalizando 5 placas. Após a solidificação do meio, foi colocado no centro de cada placa um disco de papel de 6 mm de diâmetro contendo um composto a ser testado ou um disco para controle negativo (branco) ou disco contendo o controle positivo (tebuconazol).

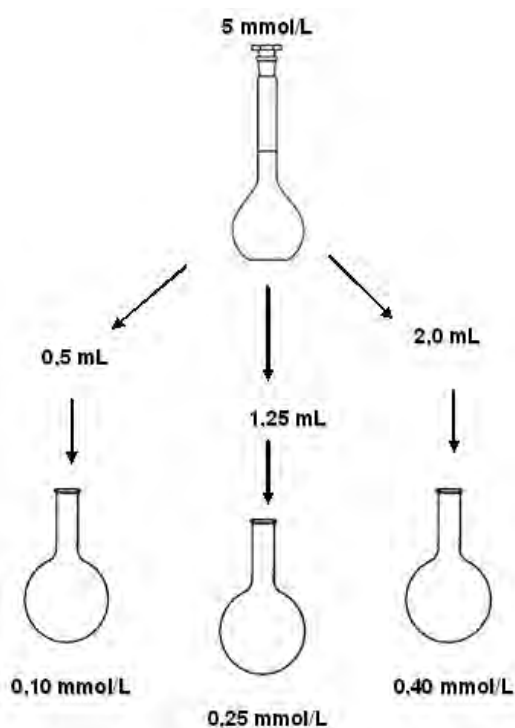
As placas foram então vedadas com filme plástico e incubadas em câmara incubadora a  $25 \pm 2,5^\circ\text{C}$  para os fungos *Colletotrichum gloesporioides* e *Fusarium solani*, ou a temperatura ambiente para o fungo *Aspergillus flavus*.

Foram realizadas medidas dos diâmetros dos halos de inibição ao redor do disco a cada 24 horas por 3 dias.

### 2.3.5.2. Teste *Poisoned Food*

Foi preparada uma solução-mãe dos compostos [13A], [13B] e avenaciolídeo cada composto em diclorometano com concentração de 5 mmol/L. Três alíquotas de cada solução foram transferidas para três balões de fundo redondo. O Esquema 2.1 ilustra o preparo das amostras para o teste *Poisoned food*.

Em seguida evaporou-se o solvente sob pressão reduzida e os balões contendo os compostos secos foram colocados em dessecador por uma hora e depois lacrados com filme plástico. Procedimento semelhante foi realizado para a preparação do branco, porém somente com o solvente diclorometano.



**Esquema 2.1.** Preparo da solução-mãe e diluição para obtenção das concentrações desejadas.

A cada balão contendo uma substância teste ou o branco foi adicionado 1 mL de dimetilsulfóxido (VETEC) e agitou-se até dissolver toda a amostra. Os meios de cultura foram fundidos e resfriados até uma

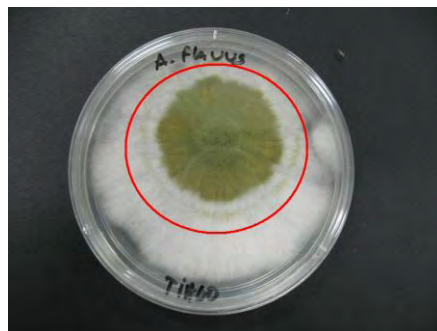
temperatura de aproximadamente 45°C. Em seguida foram adicionados cerca de 10 mg de sulfato de estreptomicina e sete gotas cloranfenicol, o meio de cultura (48 mL), sob agitação, foi transferido para o balão contendo o composto a ser testado em dimetilsulfóxido.

Após agitação transferiram-se cerca de 6 mL do meio de cultura assim preparado para cada placa, medidos com o auxílio de uma seringa, totalizando 4 placas por amostra (ou branco).

Para a preparação do controle positivo não foi utilizado tebuconazol puro, mas o produto comercial Folicur que consiste em uma suspensão líquida contendo 20 % m/v de tebuconazol e outros componentes. Para a preparação das amostras deste fungicida foram medidas alíquotas de 0,08 mL; 0,2 mL e 0,3 mL de Folicur, contendo respectivamente 0,1 mmol; 0,25 mmol e 0,40 mmol de tebuconazol. Cada alíquota foi transferida para um erlenmeyer contendo 48 mL de meio de cultura fundido, 1 mL de dimetilsulfóxido, 10 mg de sulfato de estreptomicina e 5 gotas de cloranfenicol. As placas foram preparadas com essa suspensão, do mesmo modo que as demais.

O fungo *Aspergillus flavus* foi repicado de acordo com o procedimento descrito no item 1.4.1. Após sete dias foram retirados discos de micélio de 5 mm de diâmetro, com a mesma idade, cortados no mesmo raio de crescimento (Figura 2.10) e inseridos no centro das placas contendo os compostos **[13A]**, **[13B]**, avenaciolídeo o controle negativo (branco) e o controle positivo (Folicur).

Foram medidos por um período de cinco dias os halos de crescimento do fungo *Aspergillus flavus* nas quatro repetições preparadas para cada amostra e cada concentração.



**Figura 2.10.** Placa contendo *Aspergillus flavus* com 7 dias de incubação. Em destaque, sobre a região em vermelho, observam-se os locais de onde foram cortados os discos de micélio.

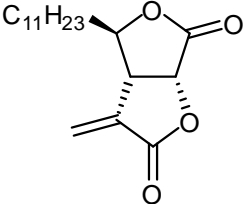
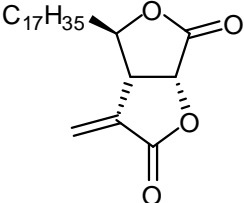
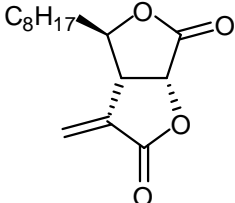
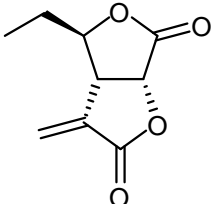
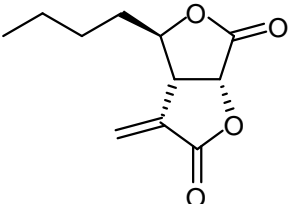
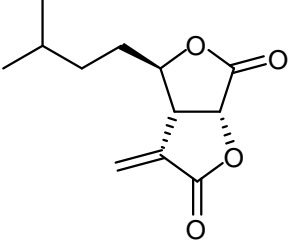
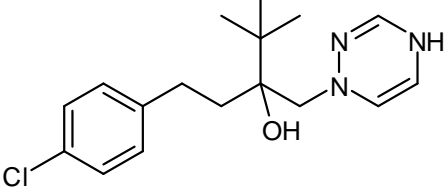
## 2.4. Discussão dos Resultados

### 2.4.1. Teste Disco-Difusão

Além dos compostos [13A] e [13B], cuja preparação está descrita no primeiro capítulo desta dissertação, foram incluídos nos ensaios de atividade antifúngica o avenaciólídeo (AVN) e mais três substâncias análogas contendo cadeias laterais com três ou quatro átomos de carbono (PRP, BUT, MBU conforme mostrado na Tabela 2.4)

O fungicida comercial Folicur® (BAYER) foi escolhido como controle positivo por ser um dos mais eficientes agentes antifúngicos utilizados na agricultura. Seu princípio ativo tebuconazol (Tabela 2.4) tem grande capacidade sistêmica e ação preventiva e curativa no combate a várias doenças de plantas causadas por fungos (VALE e ZAMBOLIM, 1997). O Folicur em sua formulação comercial contém o tebuconazol como uma emulsão de óleo em água, a 20%.

**Tabela 2.4.** Compostos avaliados pelo método Disco-Difusão e seus respectivos códigos.

Composto	Cadeia lateral	Código
 $C_{11}H_{23}$	Undecila	13A
 $C_{17}H_{35}$	Heptadecila	13B
 $C_8H_{17}$	Octila	AVN
	Etila	PRP
	Butila	BUT
	3-metilbutila	MBU
	Tebuconazol	TBL

Os halos de inibição do crescimento fúngico são avaliados medindo-se os halos em quatro direções e obtendo-se o valor médio do diâmetro deste halo (Figura 2.11).



**Figura 2.11.** Representação das medidas do halo de inibição do crescimento fúngico.

Nas Tabelas 2.5 a 2.7 encontram-se os resultados obtidos pela avaliação da atividade antifúngica dos compostos **13A**, **13B**, **AVN**, **PRP**, **BUT** e **MBU** nas concentrações de 1000 e 3000 ppm contra *Colletotrichum gloesporioides*, *Fusarium solani* e *Aspergillus flavus*.

**Tabela 2.5.** Médias dos halos de inibição (mm) da colônia de *Colletotrichum gloesporioides* e porcentagem (%) em relação ao avenaciolídeo após 48 horas de observação.

Compostos	1000 ppm *	%	3000 ppm *	%
<b>AVN</b>	16,8 ± 0,4 Bb	100	18,8 ± 0,3 Ab	100
<b>13A</b>	6,7 ± 0,6 Bde	40	7,4 ± 0,1 Ae	40
<b>13B</b>	6,0 ± 0 Ae	36	6,0 ± 0 Af	31
<b>PRP</b>	6,0 ± 0 Be	36	8,7 ± 0,3 Ad	46
<b>BUT</b>	7,2 ± 0,4 Ad	43	7,9 ± 0,3 Ade	42
<b>MBU</b>	10,0 ± 0,4 Bc	60	11,4 ± 0,4 Ac	61
<b>TBL</b>	40,5 ± 0,7 Ba	-	43,6 ± 0,3 Aa	-
<b>Branco</b>	0	0	0	0

\*Médias de três repetições; medidas seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 2.6.** Médias do halo de inibição (mm) da colônia de *Fusarium solani* e porcentagem (%) em relação ao avenaciolídeo após 48 horas de observação.

Compostos	1000 ppm*	%	3000 ppm*	%
AVN	9,9 ± 0,4 Bb	100	11,3 ± 0,3 Ab	100
13A	6,0 ± 0 Ae	60	6,0 ± 0 Ae	53
13B	6,0 ± 0 Ae	60	6,0 ± 0 Ae	53
PRP	6,0 ± 0 Ae	60	6,0 ± 0 Ad	53
BUT	6,0 ± 0 Be	60	7,4 ± 0,2 Ad	65
MBU	8,4 ± 0,4 Bc	84	9,1 ± 0,2 Ac	81
TBL	34,1 ± 0,4 Ba	-	38,0 ± 0,5 Aa	-
Branco	0,0 ± 0 Af	0	0,0 ± 0Af	0

\*Médias de três repetições; medidas seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 2.7.** Médias do halo de inibição (mm) da colônia de *Aspergillus flavus* e porcentagem (%) em relação ao avenaciolídeo após 48 horas de observação.

Compostos	1000 ppm*	%	3000 ppm*	%
AVN	14,6 ± 0,5B	100	16,9 ± 0,4A	100
13A	7,7 ± 0,6Bd	53	8,5 ± 0,1Ad	50
13B	6,0 ± 0,0Ae	41	6,0 ± 0,4Af	35
PRP	6,0 ± 0,0Ae	41	6,0 ± 0,0Af	35
BUT	7,0 ± 0,1Bd	48	7,7 ± 0,6Ae	45
MBU	9,5 ± 0,1Ac	65	9,9 ± 0,02Ac	59
TBL	21,3 ± 0,8Ba	-	38,2 ± 0,3Aa	-
Branco	0,0 ± 0,0	0	0,0 ± 0,0	0

\*Médias de três repetições; medidas seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Por esta metodologia de teste e nas doses utilizadas o tebuconazol foi mais ativo que as bis- $\gamma$ -lactonas, sendo esta diferença menor para *A. flavus* e maior para *F. solani*.

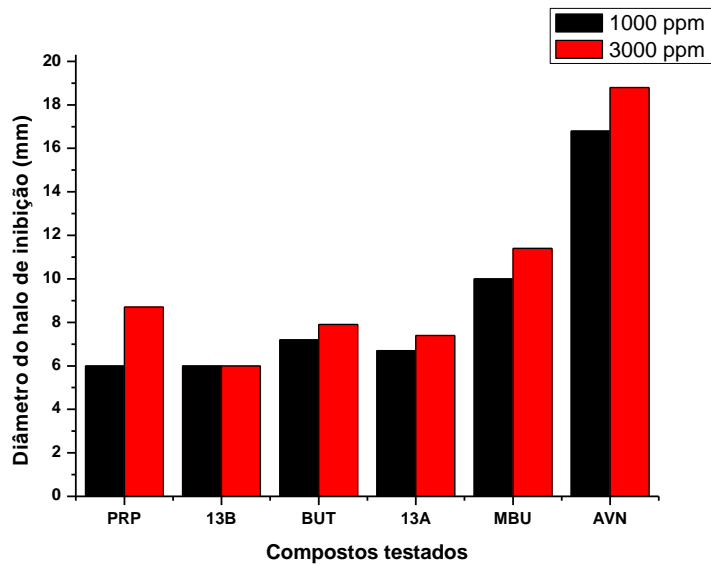
Observa-se, de um modo geral, que houve maior inibição do crescimento fúngico com o aumento das doses (1000 para 3000 ppm), exceto para o composto [13B], que foi inativo nas concentrações testadas. Isto se explica em parte à menor dose utilizada deste composto, uma vez que sua

massa molar é bastante maior que a dos demais compostos e as comparações foram feitas em massas (ppm).

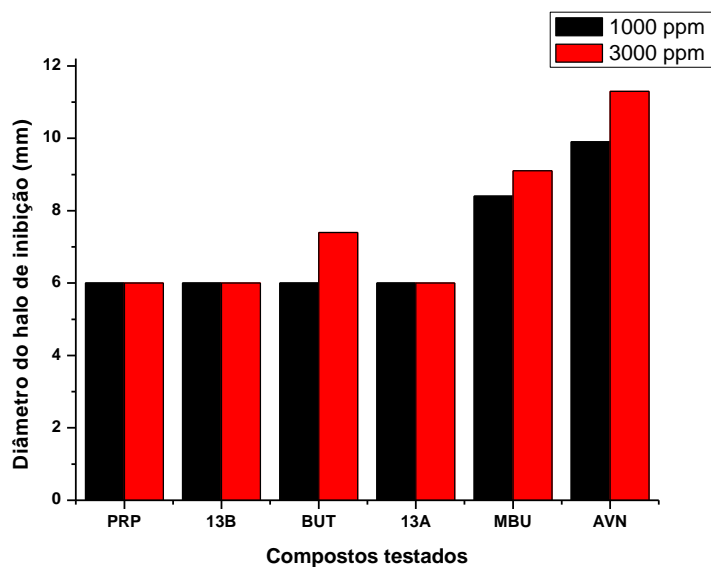
Esta metodologia foi utilizada por requisitar quantidades muito pequenas das amostras e por permitir em curto espaço de tempo (48 horas) uma avaliação preliminar do potencial antifúngico de um conjunto de substâncias (GOULD, 2000). Assim, verificou-se que o avenaciolídeo foi mais ativo que as demais bis- $\gamma$ -lactonas contra os três fungos nas doses testadas.

A pequena variação de massa molar não dificultou a visualização da variação da atividade com o aumento da cadeia em relação aos compostos PRP, BUT, MBU e AVN, confirmando para o *Colletotrichum gloeosporioides* (MAGATON *et al.*, 2007) que a atividade aumenta com a extensão da cadeia. Estas conclusões foram expandidas, sendo verdadeiras também para *Fusarium solani* e *Aspergillus flavus*. Entretanto, para os três fungos testados, parece haver um tamanho máximo da cadeia a partir do qual qualquer aumento leva à redução da atividade. Este fato pode ser devido à menor difusão no meio aquoso dos compostos **[13A]** e **[13B]** devido às extensas cadeias carbônicas. Para confirmar estas hipóteses foram realizados estudos pelo método *Poisoned food*, como será discutido mais adiante. As Figuras 2.12, 2.13 e 2.14 mostram uma comparação das atividades das bis- $\gamma$ -lactonas nas duas doses testadas.

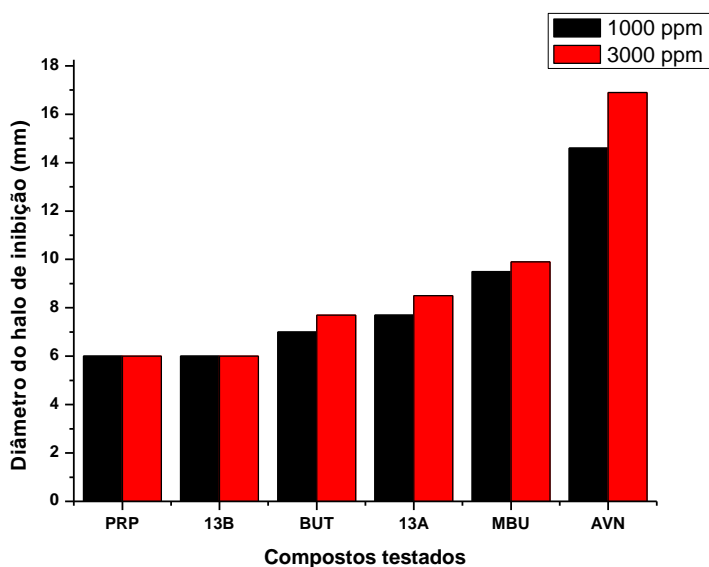
Os ensaios pelo método de disco-difusão mostraram, ainda, que as bis- $\gamma$ -lactonas são mais ativas contra *Colletotrichum gloeosporioides* e menos ativas contra *Fusarium solani*, apresentando valores de inibição intermediários para *Aspergillus flavus* (Figura 2.15)



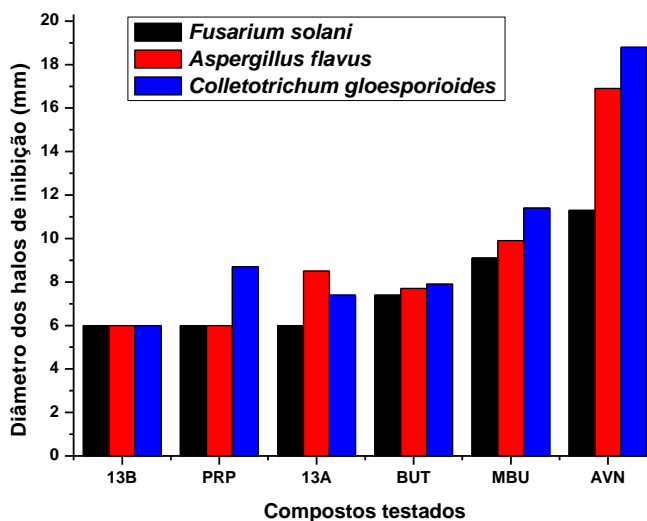
**Figura 2.12.** Halo de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloesporioides* pelos compostos testados (mm) em 48 horas de incubação nas concentrações de 1000 e 3000 ppm.



**Figura 2.13.** Halo de inibição do crescimento de *Fusarium solani* pelos compostos testados (mm) em 48 horas de incubação nas concentrações de 1000 e 3000 ppm.



**Figura 2.14.** Halo de inibição do crescimento (mm) de *Aspergillus flavus* pelos compostos testados em relação em 48 horas de incubação nas concentrações de 1000 e 3000 ppm.

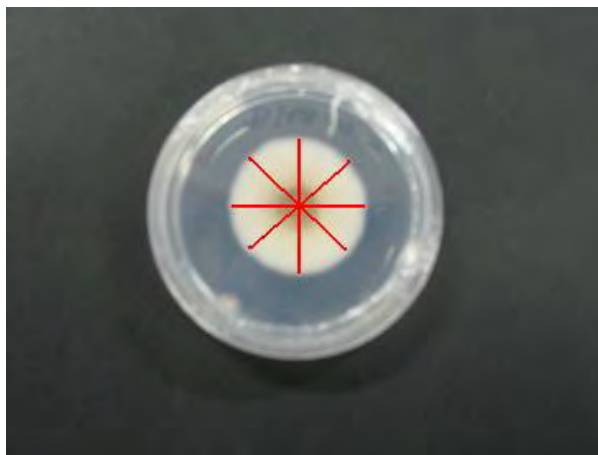


**Figura 2.15.** Comparativo entre os halos de inibição dos compostos em relação aos três fungos testados em 48 horas de incubação, amostras preparadas a partir de soluções de 3000 ppm.

#### 2.4.2. Teste *Poisoned Food*

De acordo com SINGH, *et al.* 2006, o método *Poison Food* ou *Poisoned Food* (CHUTIA *et al.* 2009), desempenha um papel importante para se avaliar a atividade biológica de um determinado composto. Ao contrário do método de Disco-Difusão, este avalia o crescimento do fungo sobre meio de cultura contendo o composto a ser testado. Dessa forma os resultados aparecem como halos de inibição de crescimento, comparados ao crescimento do controle negativo (branco), que não contém a substância em teste.

Para se determinar o halo de crescimento fúngico foram realizadas medidas de diâmetro em quatro direções, obtendo-se o valor médio. Essas medidas foram realizadas a cada 24 horas, por cinco dias (Figura 2.16).



**Figura 2.16.** Medidas do halo de crescimento fúngico em quatro direções.

Os testes foram realizados colocando-se discos de micélio do fungo sobre o centro das placas de Petri estéreis e descartáveis de 60 x 15 mm, contendo os compostos a serem testados homogeneamente misturados ao meio de cultura. Foram realizadas quatro repetições para cada composto e para cada concentração, sendo ao final escolhidas as três com menor desvio padrão em relação à média.

Foram testados os compostos **[13A]**, **[13B]**, **AVN** e **tebuconazol** (controle positivo) nas concentrações de 0,1; 0,25 e 0,4 mmol/L. As demais substâncias não foram testadas por insuficiência de amostras.

Os gráficos da Figura 2.17 mostram o crescimento normal dos fungos nas condições testadas (branco) em comparação com os diversos tratamentos.

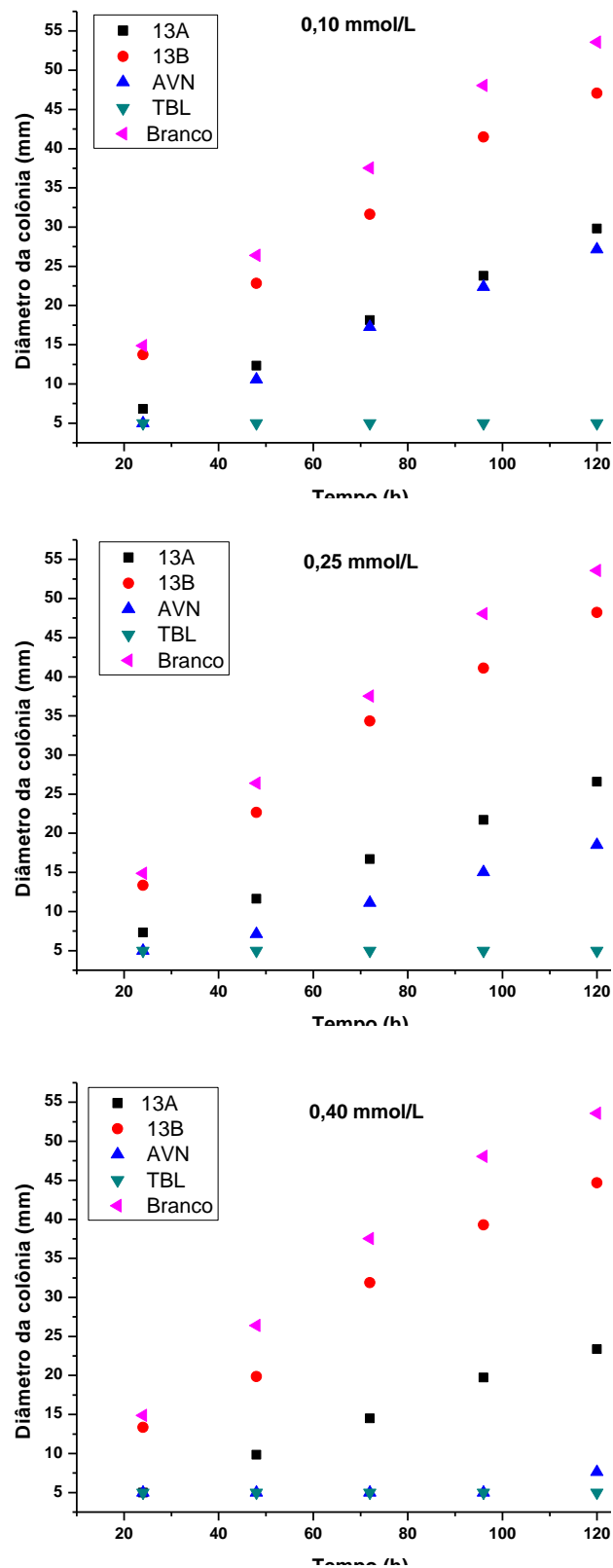
Através da análise desses gráficos, observa-se que a taxa de inibição dos compostos ao longo de 120 horas (5 dias) foi praticamente linear nas três concentrações testadas. Como não houve crescimento no tratamento dado com tebuconazol, considerou-se que este inibiu completamente o crescimento fúngico nas três concentrações.

O composto **[13B]** foi o menos ativo dentre os compostos testados. Este resultado vai de encontro com a teoria de MEYER e VIGNAIS, 1973, que sugerem que a cadeia lateral pode ajudar a molécula a se ligar na parte lipofílica da membrana e assim deixar o grupo metileno em posição favorável para reagir com os grupos –SH da enzima transportadora de glutamato. O fator solubilidade no meio aquoso também deve ter importante contribuição para este resultado.

Os resultados obtidos para o composto **[13A]** indicam que em relação ao teste de Disco-Difusão sua atividade aumentou consideravelmente, mas ainda foi menor do que a do avenaciólídeo, o que corrobora com a teoria descrita acima. Isto indica que talvez a cadeia lateral de oito átomos de carbono do avenaciólídeo tenha uma distribuição espacial mais eficaz, de modo a favorecer a interação do grupo metileno com a enzima, não sendo longa demais ao ponto de dificultar sua difusão em meio aquoso do teste.

Outra observação importante é que na concentração de 0,40 mmol/L o avenaciólídeo foi bastante ativo contra *Aspergillus flavus*, o que leva a uma interessante relação de inibição entre fungos do mesmo gênero. Em comparação com o controle positivo, nesta concentração, o avenaciólídeo obteve praticamente a mesma taxa de inibição, não sendo totalmente ativo apenas no quinto dia.

Como o controle positivo (tebuconazol) foi testado em sua formulação comercial (Folicur<sup>®</sup>), que dispõe de aditivos que tornam sua ação ainda mais eficaz, isto indica que a ação inibitória do crescimento de *Aspergillus flavus* pelo avenaciolídeo, pode ser potencializada também através de aditivos, como é feito com as formulações comerciais.



**Figura 2.17.** Gráficos das médias do diâmetro da colônia de *A. flavus* (branco) (mm) durante 120 horas de incubação à temperatura ambiente em comparação com os diversos tratamentos.

As porcentagens de inibição foram calculadas através da Equação 1.1, onde  $C_b$  é a média do crescimento do controle negativo (branco) e  $C_t$  é a média do crescimento fúngico em contato com as substâncias em teste.

$$\% \text{Inibição} = \frac{(C_b - C_t)}{C_b} 100\% \quad \text{Equação 1.1.}$$

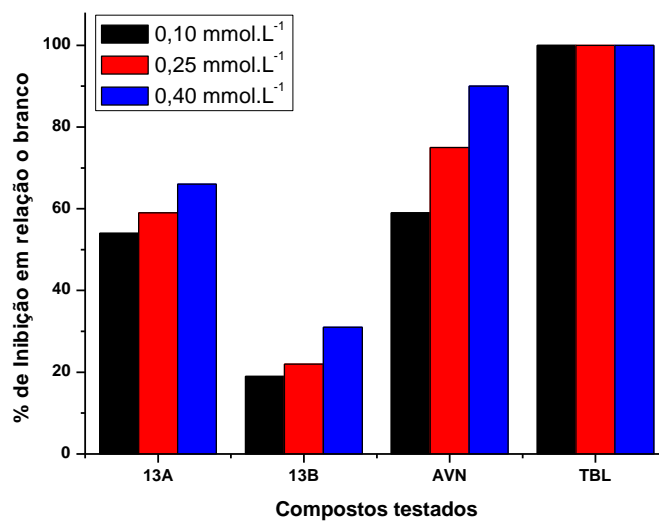
Na Tabela 2.8 observam-se as porcentagens de inibição calculadas para o último dia de incubação (120 horas). Esses resultados podem ser melhor observados na Figura 2.18, onde foram traçados gráficos com as porcentagens de inibição do crescimento fúngico na presença dos três compostos testados. Para efeito de ilustração a Figura 2.19 mostra placas representativas do quinto dia de ensaio com *A. flavus*.

**Tabela 2.8.** Crescimento fúngico (mm)<sup>\*#</sup> e inibição (%) em relação ao crescimento do branco nas concentrações 0,10; 0,25 e 0,40 mmol/L.

Composto	0,10 mmol/L		0,25 mmol/L		0,40 mmol/L	
	(mm)*	%	(mm)*	%	(mm)*	%
<b>13A</b>	24,8 ± 0,77 Ac	54	21,7 ± 0,10 Bc	59	18,4 ± 0,79 Cc	66
<b>13B</b>	43,2 ± 0,54 Ab	19	42,0 ± 0,86 Bb	22	39,7 ± 0,67 Cb	31
<b>AVN</b>	22,2 ± 0,69 Ad	59	13,5 ± 0,32 Bd	75	5,6 ± 0,76 Cd	90
<b>TBL</b>	5,0 ± 0,0 Ae	100	5,0 ± 0,0 Ae	100	5,0 ± 0,0 Ae	100
<b>Branco</b>	53,6 ± 0,10 Aa	-	53,6 ± 0,10 Aa	-	53,6 ± 0,10 Aa	-

\*Médias de três repetições seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

# Foi considerado crescimento fúngico quando o diâmetro foi maior do que 5 mm de diâmetro.

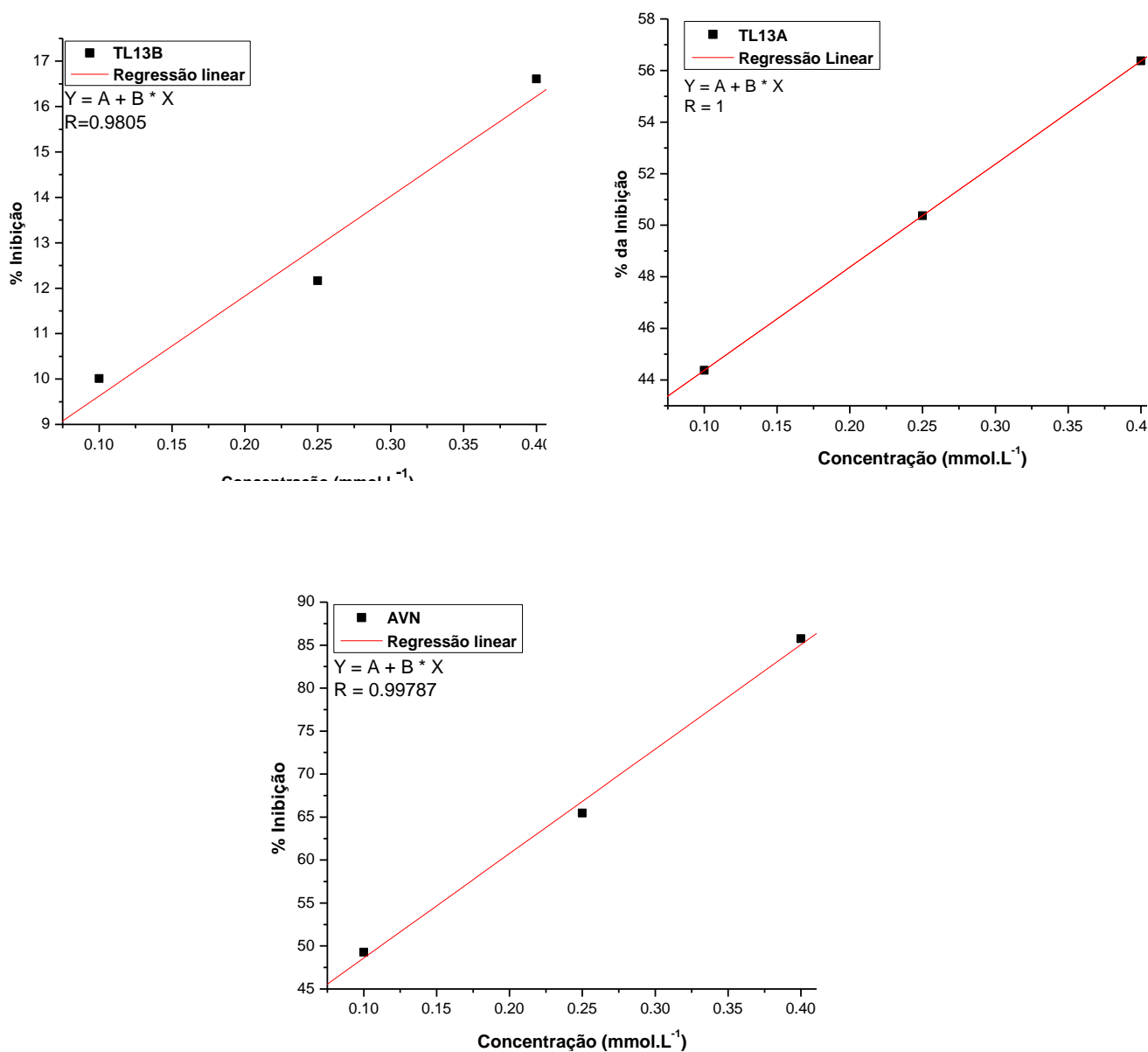


**Figura 2.18.** Gráfico da inibição dos compostos (%) em relação ao crescimento do controle negativo (branco).



**Figura 2.19.** Halos de crescimento de *Aspergillus flavus* após 5 dias de teste (branco) e na presença dos compostos [13A], [13B], AVN e TBL nas concentrações de 0,10; 0,25 e 0,40 mmol/L.

A partir dos dados coletados, foi possível construir curvas de dose x inibição. Das equações das retas foram obtidos os coeficientes de correlação de cada curva (Figura 2.23) e o  $IC_{50}^4$  para cada composto testado.



**Figura 2.23.** Curvas de dose X inibição obtidas para os compostos [13A], [13B] e AVN.

<sup>4</sup> O  $IC_{50}$  é definido como a concentração mínima de um composto para inibir 50% do crescimento do fungo. (ALVES, *et al.* 2009).

Os valores de IC<sub>50</sub> calculados (Tabela 2.9) confirmam que o avenaciólídeo foi duas vezes mais ativo do que o composto **[13A]** e dezoito vezes mais ativo do que o composto **[13B]** contra *Aspergillus flavus*. O que sugere mais uma vez que cadeias laterais mais extensas do que a do avenaciólídeo reduzem a atividade dessas bis- $\gamma$ -lactonas.

**Tabela 2.9.** Valores de IC<sub>50</sub> para os compostos testados contra *Aspergillus flavus*.

<b>Compostos testados</b>	<b>IC<sub>50</sub> (mmol/L)</b>
<b>AVN</b>	<b>0,11</b>
<b>13A</b>	<b>0,24</b>
<b>13B</b>	<b>1,93</b>

## 2.5. Conclusões

Neste trabalho foi avaliada a atividade antifúngica dos compostos análogos ao avenaciólídeo [13A], [13B], PRP, BUT, MBU e do próprio avenaciólídeo pelo método de Disco-Difusão contra *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium solani*. Por esta metodologia foi constatado que o avenaciólídeo é o mais ativo entre os compostos testados. Isto indica que a extensão da cadeia lateral interfere na atividade fungicida das bis- $\gamma$ -lactonas e que deve haver um tamanho ótimo de cadeia para o qual a atividade seja máxima. Este teste não foi conclusivo para a avaliação da atividade dos compostos de cadeia longa [13A] e [13B] devido à baixa difusão desses compostos no meio de cultura. Conclui-se ainda que o avenaciólídeo é mais ativo contra *C. gloeosporioides* e menos ativo contra *F. solani*, apresentando atividade intermediária contra *A. flavus*.

Avaliou-se também a atividade antifúngica dos compostos [13A], [13B] e do avenaciólídeo contra *Aspergillus flavus* através do teste *Poisoned Food*. Neste teste o avenaciólídeo foi duas vezes mais ativo do que o composto [13A] e cerca de 18 vezes mais ativo do que o composto [13B], apresentando atividade comparável com a do controle positivo (tebuconazol) na concentração de 0,4 mmol.L<sup>-1</sup>.

Para melhor comparar a ação antifúngica do avenaciólídeo com a de fungicidas comerciais, seria interessante a repetição dos testes pelo método *Poisoned food* utilizando-se os princípios ativos puros desses fungicidas.

Com este trabalho pode-se concluir que o avenaciólídeo tem bom potencial para ser utilizado como fungicida, especialmente contra fungos do gênero *Colletotrichum* e *Aspergillus*. Seria interessante o aprofundamento de estudos com ensaios *in vivo* e o desenvolvimento de formulações que potencializem o uso do avenaciólídeo como agroquímico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L.C.; RUBINGER, M. M. M.; LINDEMANN, R. H.; PERPÉTUO, G. J. JANCZAK, J. MIRANDA, L. D. L., ZAMBOLIM, L.; OLIVEIRA, M.R.L. Synthesis, Crystal Structure, Spectroscopic Characterization and Antifungal Activity of New N-R-Sulfonyldithiocarbamate Metal Complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 103, p. 1045-1053, 2009.

ALVES, R. C.; DEL PONTE, E. M. (Ed.) Fitopatologia.net - herbário virtual. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível na Internet:<http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/fitopatologia/ficha.php?id=256>. Acesso em: 16 de maio 2009.

ANDERSON, R. C.; FRASER -REID, B. Synthesis of Bis- $\gamma$ -lactones from "Diacetone D-glucose" - Optically Active Avenaciolide and Isoavenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**. V. 50, n. 24, p. 4781-4786, 1985.

ANDERSON, R. C.; FRASER -REID, B. 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.

BAILEY, J. A.; JEGER, M. J.; **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. Wallingford: CAB Int. 1992. In: FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 596-605, 1998.

BALBI-PEÑA, M.I.; STANGARLIN, J.R.; BECKER, A.; FRANZENER, G.; LOPES, M.C.;SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; Controle de *Alternaria Solani* em Tomateiro por Extratos de *Curcuma Longa* e Curcumina - II. Avaliação in Vivo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n.4, p. 401-404, 2006.

BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**, 1.ed., Viçosa: Editora UFV, 2004, 215 p.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na Caracterização de Compostos Orgânicos**. Viçosa-MG: Editora UFV, 2007, 189p.

BARROS, P. M. **Síntese e Estudo da Atividade Fungicida do Avenaciólídeo e de Novas Bis-Lactonas Análogas**. 2008. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) 144f. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2008.

BERGAMIN, A. F.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**, São Paulo (São Paulo), Ed. Ceres, v.1, 919p., 1995.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do Feijoeiro. In: Kimati, H., Amorin, L., Bergamin, F.A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**. 3 ed. 2v. Ceres. 1997. p.376-405.

BROOKES, D.; TIDD, B.K.; TURNER, W.B. Avenaciolide, an Antifungal Lactone from *Aspergillus Avenaceus*. **Journal of Chemical Society**, 5385, 1963.

BRUCKNER, R. **Advanced Organic Chemistry: Reaction Mechanisms**. San Diego: Academic Press, 2002, 642p.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J.; **Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis**. New York: Springer, 1323p.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C.; GOODAY, G. W. **The fungi**, London: Academic Press, 2<sup>nd</sup> ed., 588p., 2006.

CARRUTHERS, W.; COLDHAM, I. **Modern Methods of Organic Synthesis**. Cambridge: Cambridge University Press, 4th ed., 2005, 493p.

CASTELO BRANCO, P.A. **Síntese e Avaliação da Atividade Biológica de Derivados Esterificados de Furanoditerpenos de Pterodon Plygalaeflorus Benth e de Análogos ao Avenaciólídeo**. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

CASTELO BRANCO, P.A.; RUBINGER, M.M.M.; GARCIA-PEREIRA, S.; ALVES, L.C.; BARROS, P.M.; MELO, V.J.; PILÓ-VELOSO, D.; ZAMBOLIM, L. Synthesis and Antifungal Activity of Aromatic Bis- $\gamma$ -lactones Analogous to Avenaciolide. **Chemistry & Biodiversity**, v.4, p.2745-2754, 2007.

CASTELO BRANCO, P.A.; RUBINGER, M.M.M.; GUILARDI, S.; LEITE, V. M.; dos SANTOS, A. R.; ALVES, L.C.; LARIUCCI, C; VENCANTO, I.; PILÓ-VELOSO, D.; ZAMBOLIM, L. Synthesis, Characterization, Absolute Structural Determination and Antifungal Activity of a New Chlorinated Aromatic Avenaciolide Analogue. **Pest Management Science**, v. 65, p. 34-40, 2009.

CHUTIA, M.; BHUYAN, D.; PATHAK, M. G.; SARMA, T. C.; BORUAH, P. Antifungal Activity and Chemical Composition of *Citrus reticulata* Blanco Essential Oil Against Phytopathogens from North East India. **LWT-Food Science Technology**, v. 42, p. 777-780, 2009.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. New York: Oxford University Press, 2001, 1512p.

COREY, E. J.; SCHMIDT, G. Usefull Oxidations Involving Pyridinium Dichromate in Aprotic Media. **Tetrahedron Letters**, v.20, n.5, p. 399-402, 1979.

COSTA, J.L. da S. Aplicação de Fungicidas via Tratamento de Sementes para o Controle da Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), **EMBRAPA**, Aracajú, SE, p. 14, 2002. Disponível em <http://www.cpatc.embrapa.br>

CREWS, P.; RODRIGUÉZ, J.; JASPARS, M. **Organic Structure Analysis**. New York: Oxford Press, 1998, 552p.

CZERNECKI, S.; GEORGOULIS, C.; STEVENS, C. L.; VIJAYAKUMARAN, K. Pyridinium Dichromate Oxidation, Modifications Enhancing its synthetic Utility. **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 14, p. 1699-1702, 1985.

DALTON, L. K.; ELMES, B. C. Monoaril Derivatives. **Australian Journal of Chemistry**. v. 25, p. 625-632, 1972.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural Products in Crop Protection. **Bioinorganic & Medicinal Chemistry**, in press, 2009.

DEISING, H.B.; REIMANN, S.; PASCHOLATI, S.F. Mechanisms And Significance of Fungicide Resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 289 - 295, 2008.

DEISING, H.B.; REIMANN, S.; PASCHOLATI, S.F. Mechanisms And Significance of Fungicide Resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 289 - 295, 2008.

DIENER, U.L.; COLE, R. J.; SANDERS, T.H.; PAYNE, G.A.; LEE, L. S., KLICH, M.A. Epidemiology of Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus*. **Annual Reviews of Phytopathology**, v. 25, p. 249-270, 1987.

DIKBAS, N.; RECEP, K.; DADASOGLU, F.; SAHIN, F. Control of Aspergillus With Essencial Oil and Methanol Extract of Satureja Hortensis. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, p.179-182, 2008.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterizatin of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 596-605, 1998.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; ZAKRZEWSKI, V. G.; MONTGOMERY, J. A.; STRATMANN, R. E.; BURANT, J. C.; DAPPRICH, S.; MILLAM, J. M.; DANIELS, A. D.; KUDIN, K. N.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; TOMASI, J.; BARONE, V.; COSSI, M.; CAMMI, R.; MENNUCI, B.; POMELLI, C.; ADAMO, C.; CLIFFORD, S.; OCHTERSKI, J.; PETERSON, G. A.; AYALA, P. Y.; CUI, Q.; MOROKUMA, K.; MALICK, D. K.; RABUCK, A. D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J. B.; CIOSLOWSKI, J.; ORTIZ, J. V.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; GOMPERTS, R.; MARTIN, R. L.; FOX, D. J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; GONZALES, C.; CHALLACOMBE, M.; GIL, P. M. W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M. W.; ANDRES, J. L.; HEADGORDON, M.; REPLOGLE, E. S.; POPLE, J. A. *GAUSSIAN98 program*. Pittsburgh, PA: Gaussian Inc., 1998.

FUGUEIRA, E.L.Z.; COELHO, A.R. ONO, E.Y.S.;HYROOKA, E.Y.; Milho: Riscos Associados à Contaminação por Fusarium Verticillioides e Fumonisinias. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n.2, p.359-378, 2003.

GREENE, T. W.; WUTS, P. G. M. **Protective Groups in Organic Synthesis**. New York:John Wiley & Sons, 1999. 779p.

GRIECO, P. A. Methods for the Synthesis of  $\alpha$ -Methylene Lactones. **Synthesis**. v. 1975, n. 2, p. 67-72.

GRIFFITHS, E.; GIBBS, J. N.; WALLER, J. M. Control of coffee berry disease. **Annals of Applied Biology**, V.67, p. 45-74, 1971.

HANESSIAN, S. **Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach**. Oxford: Pergamon Press, 1988. 291p.

HANSON, J.R. **The Chemistry of Fungi**. 1<sup>a</sup> ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008. 220p.

HATZIAGOROU, E.; WALSH, T. J.; TSANAKAS, J. N.; ROILIDES, E. *Aspergillus* and the Paediatric Lung. *Paediatric Respiratory Reviews*, n.10, p. 178-185, 2009.

HOFFMANN, H. M. R.; RABE, J. Synthesis and Biological Activity of  $\alpha$ -Methylene- $\alpha$ -butirolactones. **Angewandte Chemie International**, v. 24, n. 2, p.94-110, 1985.

HON, Y. S.; HSIEH, C. H. Dibromomethane as One-carbon Source in Organic Synthesis: Total Synthesis of ( $\pm$ )-canadensiolide. **Tetrahedron**, v. 62, p. 9713-9717, 2006.

KARUNAKARAN, C.; VENKATARAMANAN, R.; KAMALAM, R. Evidence of a Common Mechanism in the Oxidation by Chromium (VI) Complexes: Kinetics of Oxidation of Diphenyl Sulfide. **Monatshefte Für Chemie**, v.130, p. 1461-1464, 1999.

KIMATI, H., AMORIN, L., BERGAMIN, A.; CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. *Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos*. 3<sup>a</sup>ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, 1995, 919p.

KIMATI, H., AMORIN, L., BERGAMIN, A.; CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia - Doenças de plantas Cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 663p., 2005.

KNIGHT, S.C.; ANTHONY, A.M.; BRADY, A.M.; GREENLAND, A.J.; HEANEY, S.P.; MURRAY, D.C.; POWELL, K.A.; SCHULZ, M.A.; SPINKS, C.A.; WORTHINGTON, P.A.; YOULE, D. Rationale and Perspectives on the Development of Fungicides. **Annu. Rev. Phytopathology**, v. 35, p. 349-372, 1997.

KOUMBIS, A. E.; DIETI, K. M.; MYROFORA, G. V.; GALLOS, J. K. D- and L-Erythrose as sources of Chiral Quaternary Carbon Centers. Total Synthesis of (-)-malyngolide and (+)-tanikolide. **Tetrahedron Letters**, v. 44, p.2513-1516, 2003.

KRCMERY, V.; JESENSKA, Z.; SPANIK, S.; GYARFAS, J.; NOGOVA, J.; BOTEK, R.; MARDIAK, J.; SUFLIARSKY, J.; SISOLAKOVA, J.; VANICKOVA, M.; KUNOVA, A.; STUDENA, M.; TRUPL, J. Fungaemia due to *Fusarium spp.* In Cancer Patients. **The Journal of Hospital Infections**, v.36, p. 223-228, 1997.

KURTI, L.; CZAKO, B. **Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis**. Burlington: Elsevier, 2005, 758p.

LIBERTO, N. A. 2010. **Síntese do Avenaciólídeo e Novos Análogos Aromáticos Frente a Fungos Fitopatogênicos**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) 127f. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.2010.

MAGATON, A.S. **Síntese e Avaliação da Atividade Fungicida de Bis- $\gamma$ -lactonas Análogas ao Avenaciólídeo**.2003. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)130f. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2003.

MAGATON, A.S.; RUBINGER, M.M.M.; MACEDO-JÚNIOR, F.C.ZAMBOLIM,L. Synthesis and Antifungal Activity of New Bis- $\gamma$ -Lactones Analogous to Avenaciolide. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v.18 (2), p. 284, 2007.

MARIN, A.L.A.; COSTA, M.R.; MENARIM, H.; MOREIRA, A.M.; EVERALDO, E.G. Herança da Resistência à Antracnose na Cultivar de Feijoeiro Comum Cornell 49-242. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 302-306, 2003.

MARTÍN, V. S.; RODRIGUES, C. M.; MARTÍNS, T. Synthesis of Avenaciolide na Related bisLactones. A Review. **Organic Preparations and Procedures**, v.30, n. 3, p. 291-324, 1998.

MEYER, J.; VIGNAIS, P. M. Kinectic Study of Glutamate Transport in Rat Liver Mithochondria. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 325, p. 375-384, 1973.

MOSS, M. O. Mycotoxins. **Micologycal Research**, v.100, n. 5, p. 513-523, 1996.

OLIVEIRA, M.S. **Diversidade Entre Isolados de Alternaria Solani: Avaliação Morfológica, Fisiológica e Molecular**. 2003.110f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2007.

ORTIZ-RIBBING, L. Sudden Death Syndrome-Wath's up This Year? **The Bulletin**, n.18, article 6, 2006. Disponível em: <http://ipm.illinois.edu/bulletin/print.php?id=601>> Acesso em: 16/11/2009.

PARKER, W. L.; JOHNSON, F. The Total Synthesis of (dl) - Avenaciolide. **Journal of Organic Chemistry**, v.38, n.14, p.2489-2496, 1973.

PEREIRA, S. G. **Síntese e Avaliação da Atividade Fungicida de Compostos Aromáticos Análogos ao Avenaciolídeo**. 2000. 153f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of Laboratory Chemicals**. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing, 1996.

PINHEIRO, S.; FERREIRA, V.F. Abordagens em Síntese Assimétrica. **Química Nova**. V. 21, n.3, p. 312-318, 1998.

POZZA, A. A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; CAIXETA, S. L.; CARDOSO, A. A.; ZAMBOLIM, L.; POZZA, E. A. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n. 1, p. 53-60, 2001.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 6<sup>a</sup> ed., 2001, 906p.

ROBERTSON, A.; Risk of aflatoxin contamination increases with hot and dry growing conditions. **Integrated Crop Management**, v.494, n. 23, September 19, 2005. Disponível em: <http://www.ipm.iastate.edu/ipm/icm//ipm/icm/2005/9-19/aflatoxin.html>> Acesso em: 16/11/2009.

ROSENTHAL, A.; NGUYEN, L. B. Branched Chain Sugar Nucleosides. I. 9-[3-Deoxy-3-C-(2'-hydroxyethyl)- $\beta$ -D-allofuranosyl]adenine and 9-[3-Deoxy-3-C-(2'-hydroxyethyl)- $\beta$ -D-ribofuranosyl]adenine. **The Journal of Organic Chemistry**, v.34, n. 4, p.1029-1034,1969.

SCHEIDEGGER, K. A.; PAYNE, G. A. Unlocking the Secrets Behind Secondary Metabolism: A Review of *Aspergillus flavus* from Pathogenicity to Functional Genomics, **Toxin Reviews**, v. 22, n. 2, p. 423-459. 2003.

SCHIMIDT, O. T. **Methods in Carbohydrate Chemistry: Isopropylidene Derivatives.** v. 2, 1962. p. 318-325.

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.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 6ª ed. 2000.

Sindicato Nacional da Industria de Produtos para a Defesa Agrícola, 2009. Disponível em <<http://www.sindag.com.br/conexao/15/>>. Acesso em: 16 de maio de 2009.

SINGH, G.; MARIMUTHU, P.; DE HELUANI, C. S.; CATALAN, C. A. N. Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 174-181, 2006.

SRIDHAR, S. R.; RAJAGOPAL R. V.; RAJAVEL, R.; MASILAMANI, S.; NARASIMHAN, S. Antifungal activity of some essential oils, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7596-7599, 2003.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, Mycotoxin Production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, v. 43, p. 141-158, 1998.

TATAGIBA, J.S., LIBERATO, J.R., ZAMBOLIM,L., VENTURA, J.A. & COSTA, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.186-192, 2002.

TEIXEIRA, S. C. G.; MATHIAS, L.; CANELA, M.C. Recuperação de Sílica-Gel Utilizando Processos Oxidativos Avançados: Uma Alternativa Simples e de Baixo Custo. **Química Nova**, v.26, n. 6, p. 932-933, 2003.

TOJO, G.; FERNÁNDEZ, M. **Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones: A Guide to Current Common Practice**. New York: Springer, 2006, 351p.

VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. **Controle de Doenças de Plantas: Grandes Culturas**. v. 1, Viçosa: Editora UFV, 1997, 548 p.

VENDITTI, M.; MICOZZI, A.; GENTILE, G.; POLONELLI, L.; MORACE, G.; BIANCO, P.; AVVISATI, G.; PAPA, G.; MARTINO, P. Invasive *Fusarium solani* Infections in Patients with Acute Leukemia. **Reviews of Infectious Diseases**, v.10, n.3, p. 653-660,1988.

WYATT, P.; WARREN, S. **Organic Synthesis: Strategy and Control**. Chichester: John Wiley & Sons, 2007. 909p.

YU, J.; CLEVELAND, T.; NIERMAN, W.C.; BENNET, J.W. *Aspergillus flavus* Genomics: Gatheway to Human and Animal Health, Food Safety, and Crop Resistance Diseases. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 22, p. 194-202.

ZACCARDELLI, M.; VITALE, S.; LUONGO, L.; MERIGHI, M.; CORAZZA, L. Morphological and Molecular Characterization of *Fusarium solani* Isolates. **Journal of Phytopathology**, v. 156, p. 534-541, 2008.

ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A. **Produtos fitossanitários (fungicidas, inseticidas, acaricidas e herbicidas)**, Viçosa: DFP, 625p., 2008.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de Doenças de Plantas Fruteiras**, Viçosa:DFP, 674p., 2002.

ZAMBOLIM, L.; VENANCIO, W.S.; OLIVEIRA, S.H.F. **Manejo da resistencia de fungos a fungicidas**. Viçosa, MG; UFV, DFP, 2007. 168 p.

ZAMBOLIM, L. **Resistencia de fungos a fungicidas**. In: Produtos fitossanitários (Fungicidas, Inseticidas, Acaricidas e Herbicidas, cap. 6. (Eds.Zambolim, L. et al., 2008). Viçosa, MG; UFV, DFP, 2008. p. 213-262.

## ANEXOS

Os espectros dos compostos [B] estão mostrados na discussão dos resultados, capítulo 1. Aqui são apresentados os espectros correspondentes aos análogos [A].

### Espectros no infravermelho para os produtos [A]

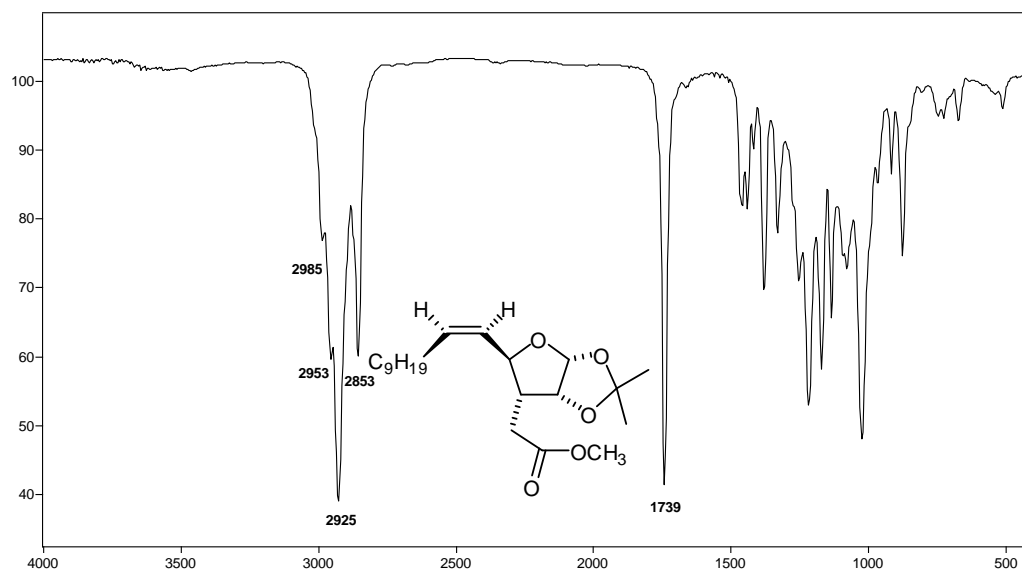


Figura 1. Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) do produto [9A].

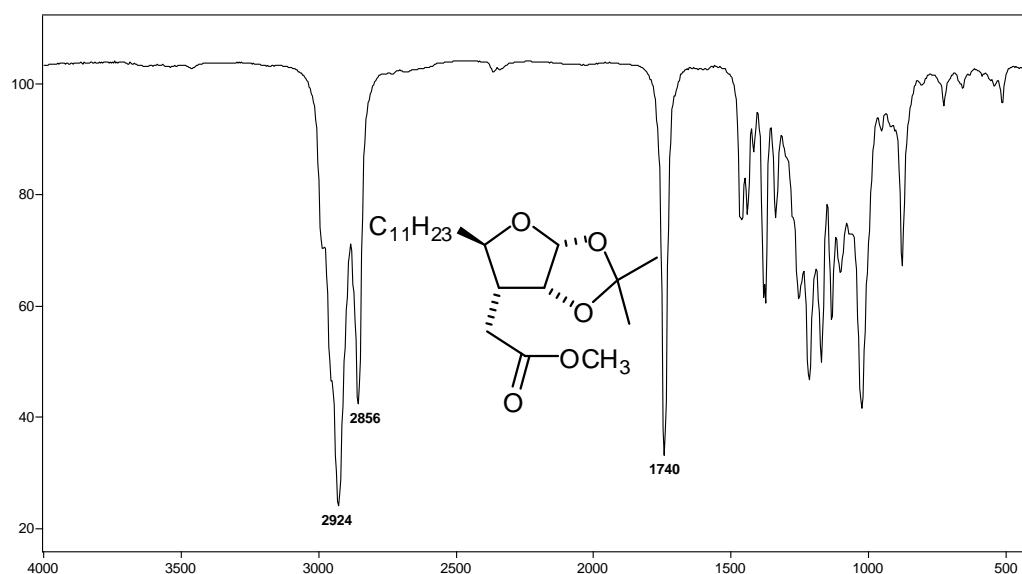
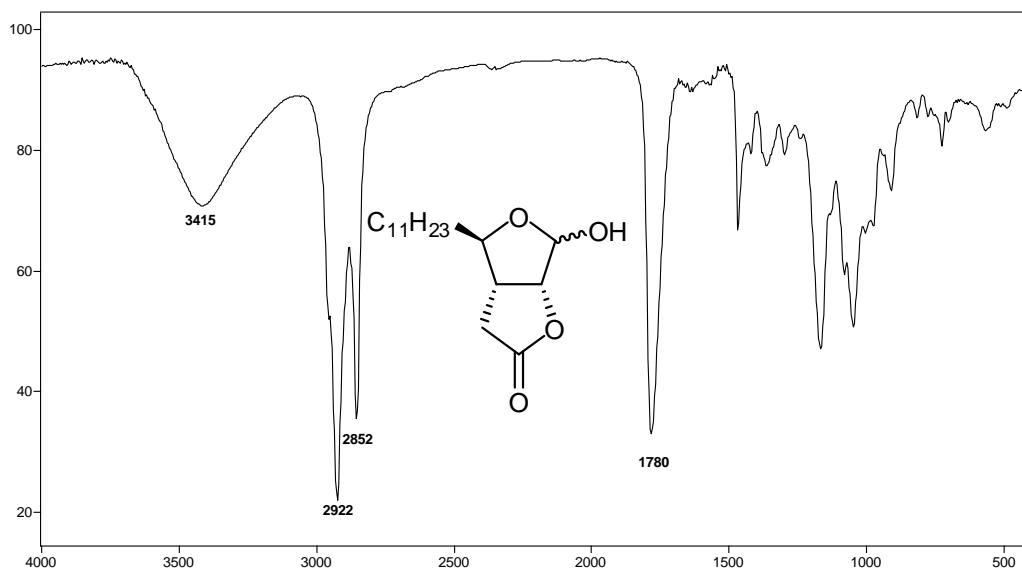
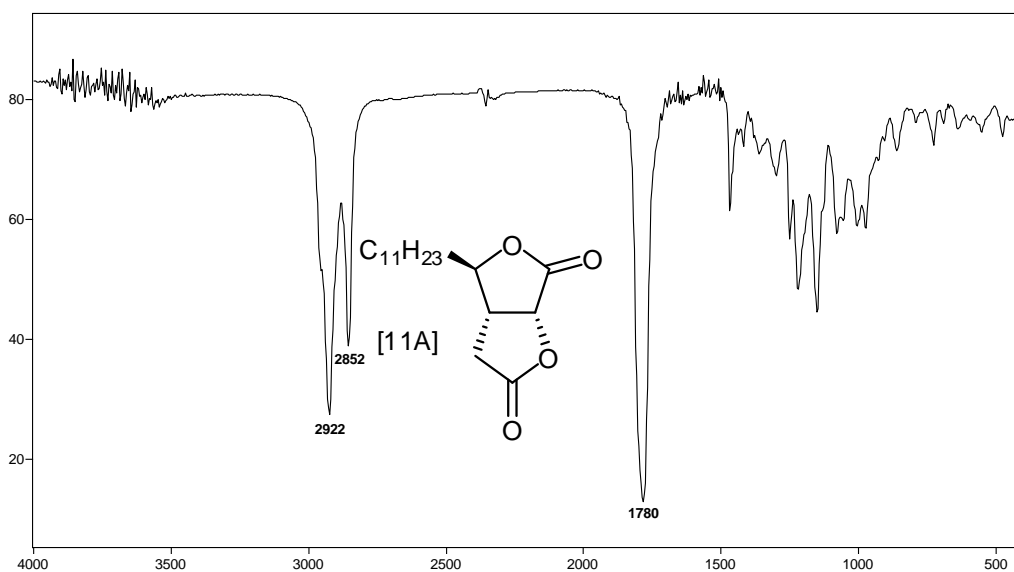


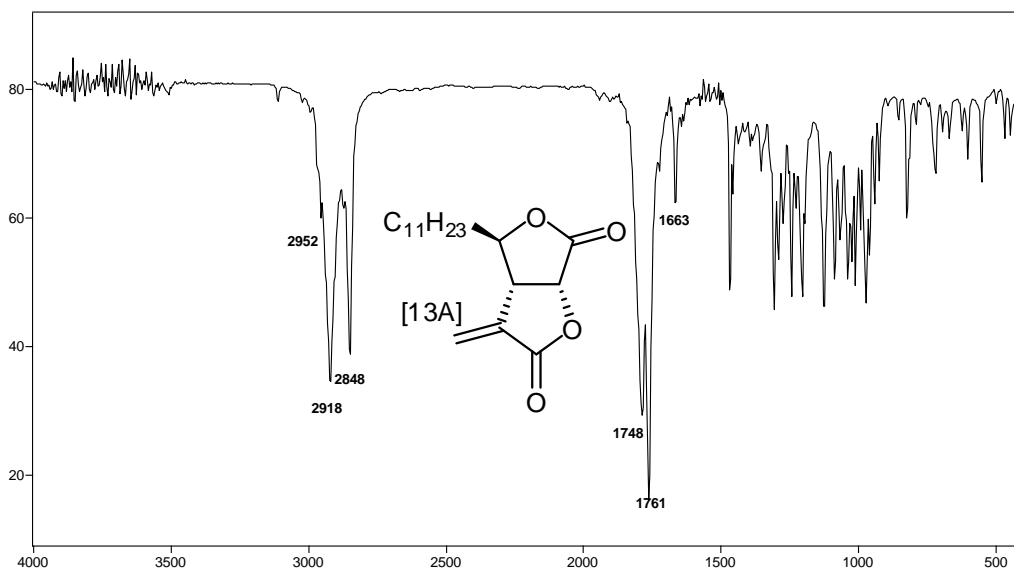
Figura 2. Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) do produto [9A].



**Figura 3.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) da mistura de epímeros [10A].

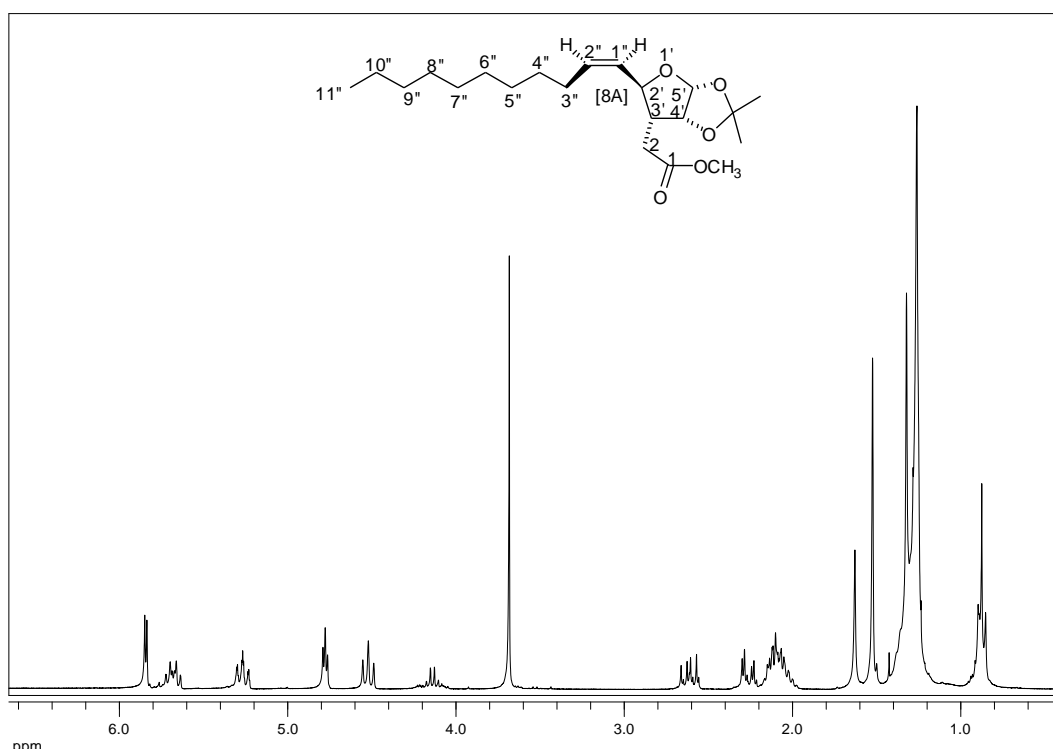


**Figura 4.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) do produto [11A].

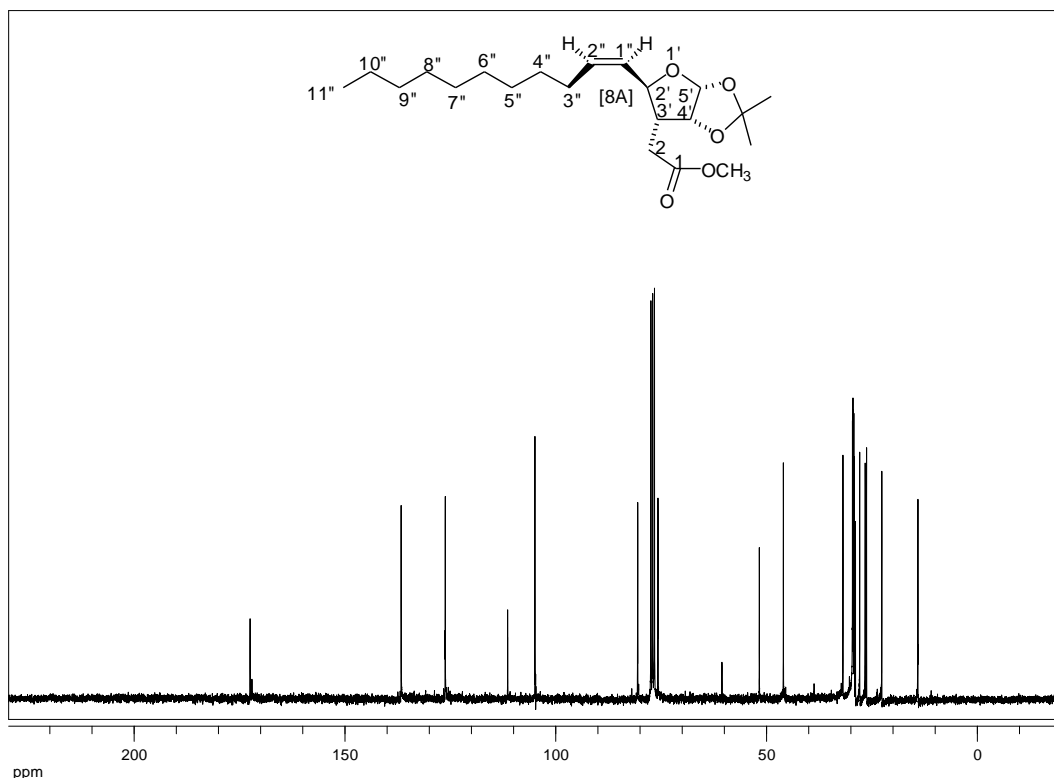


**Figura 5.** Espectro no infravermelho (Filme sobre CsI) do composto [13A].

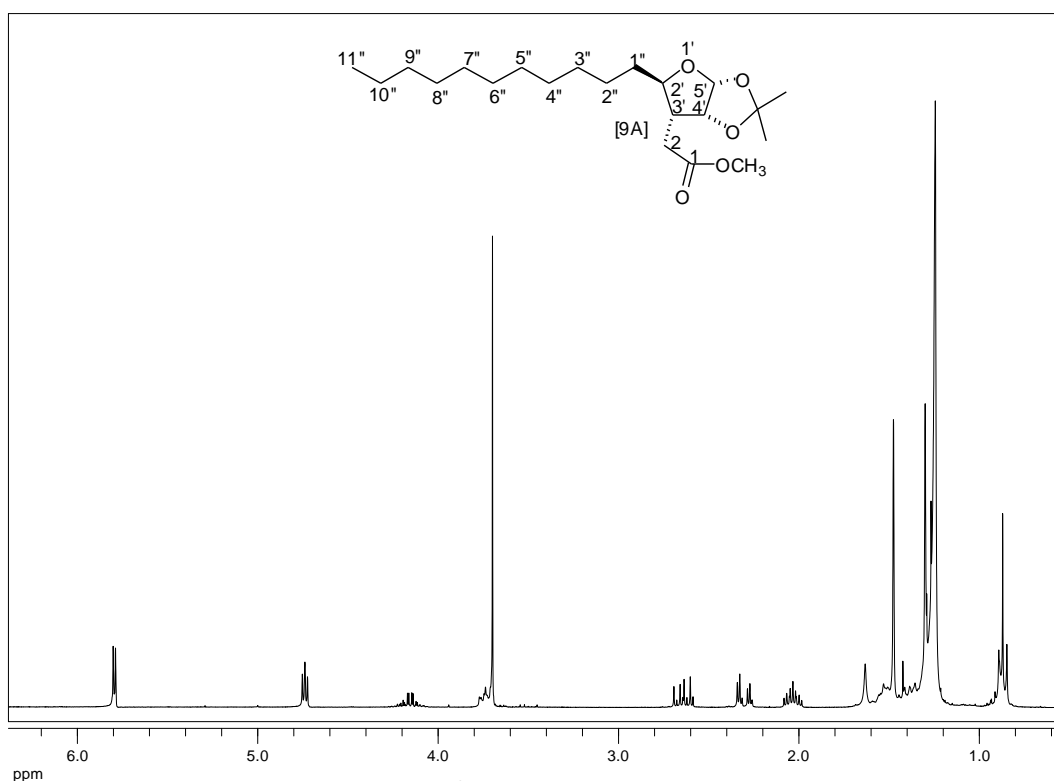
**Espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C para os produtos [A]**



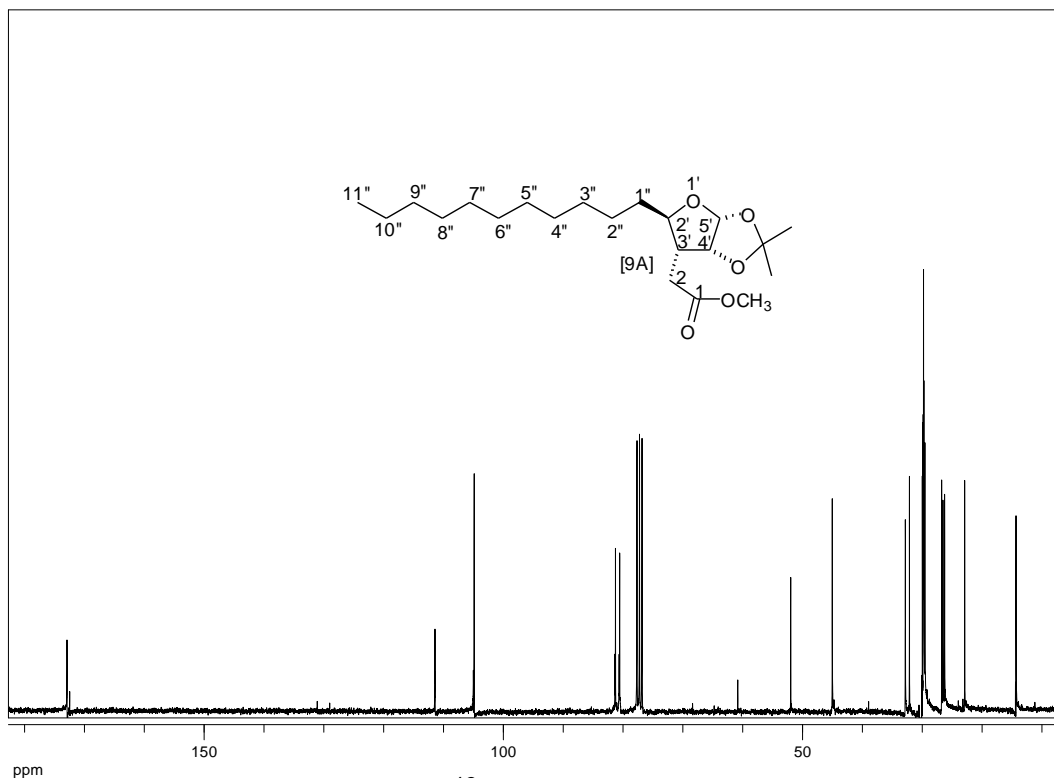
**Figura 6.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) do produto [8A].



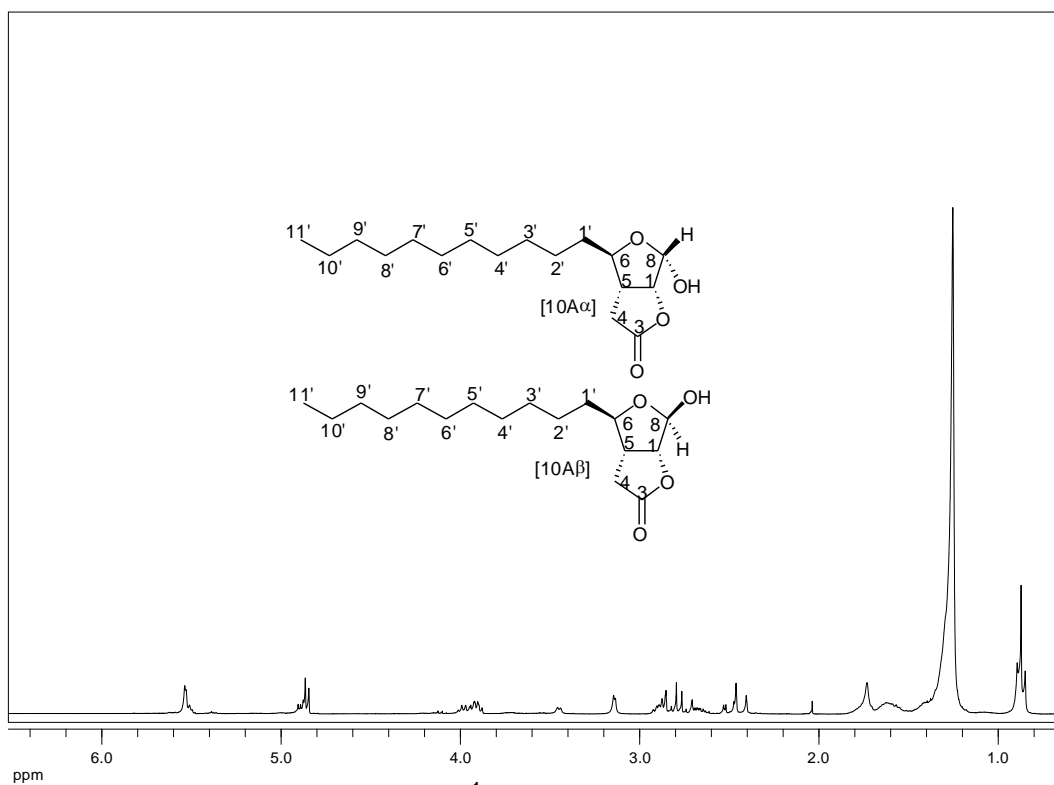
**Figura 7.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do produto **[8A]**.



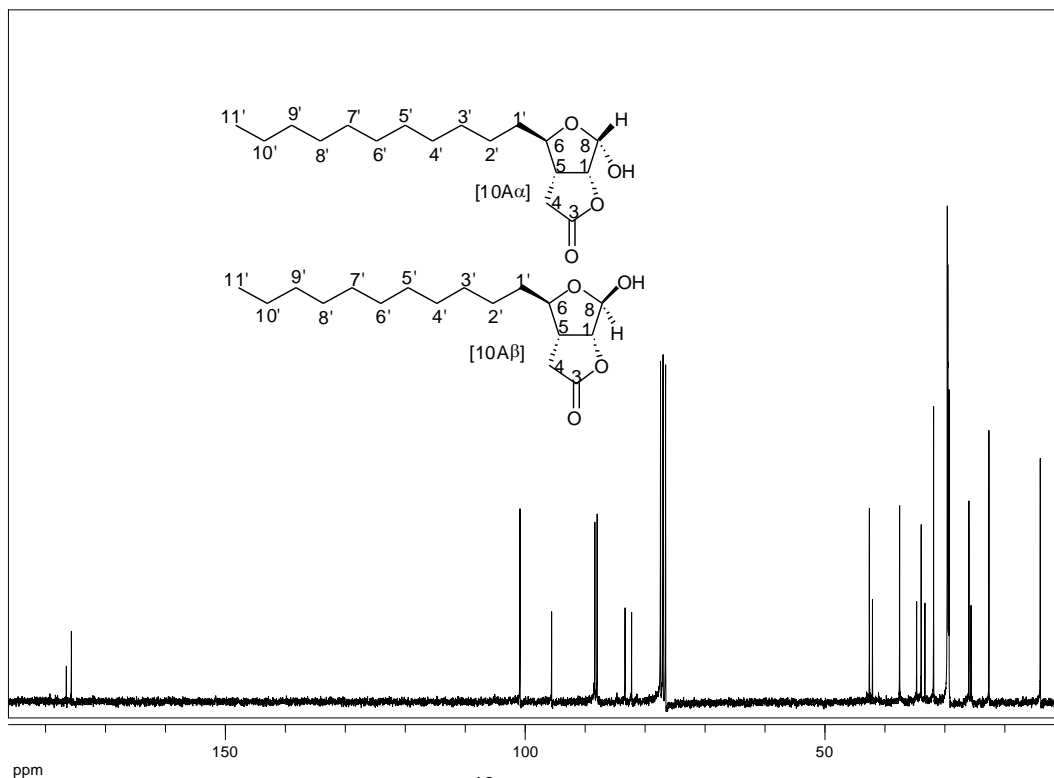
**Figura 8.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do produto **[9A]**.



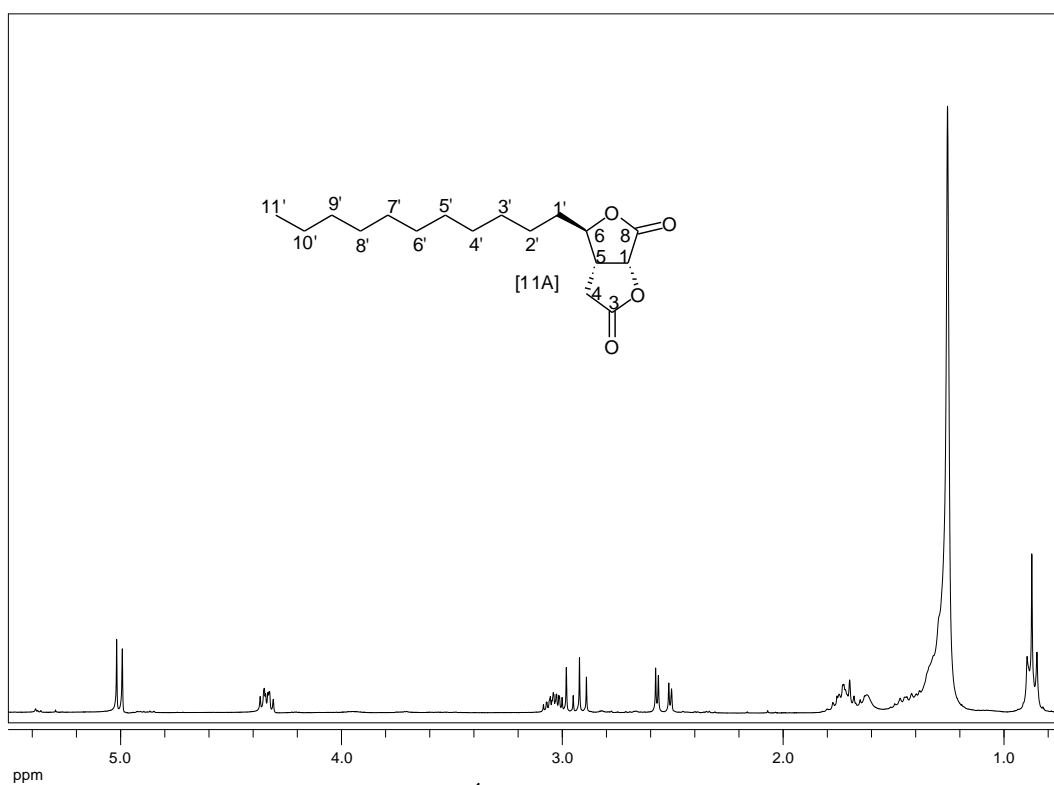
**Figura 9.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do produto **[9A]**.



**Figura 10.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) da mistura de epímeros **[10A]**.



**Figura 11.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) da mistura de epimeros [10A].



**Figura 12.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do produto [11A].

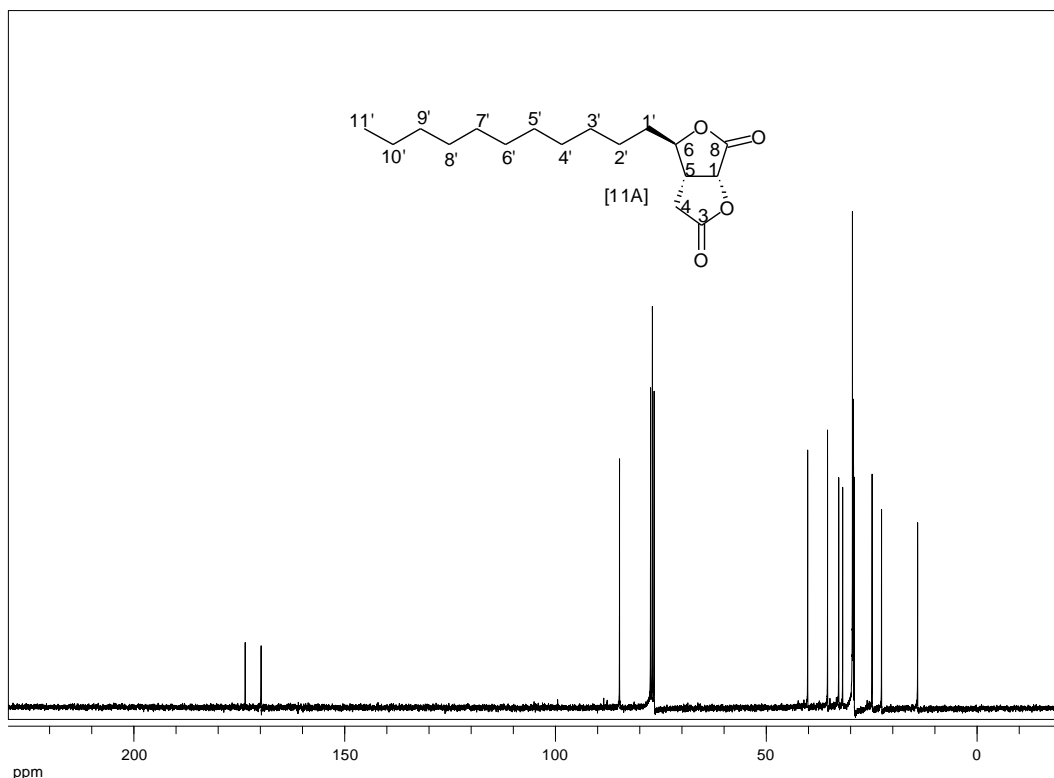


Figura 13. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) do produto [11A].

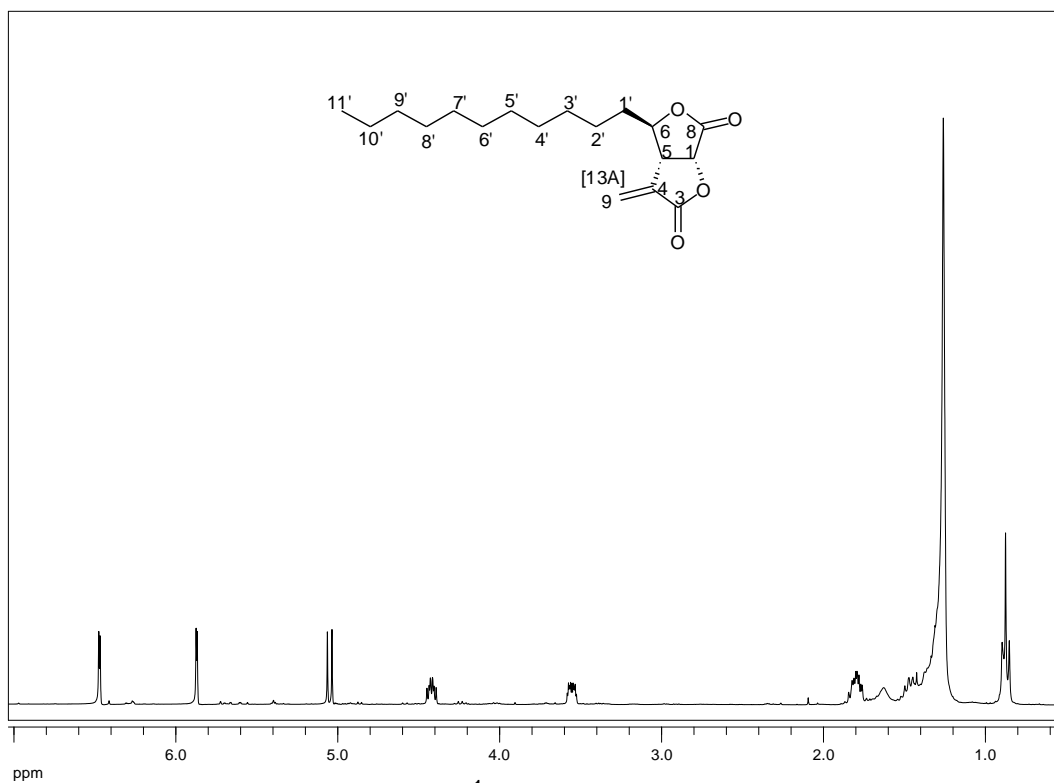
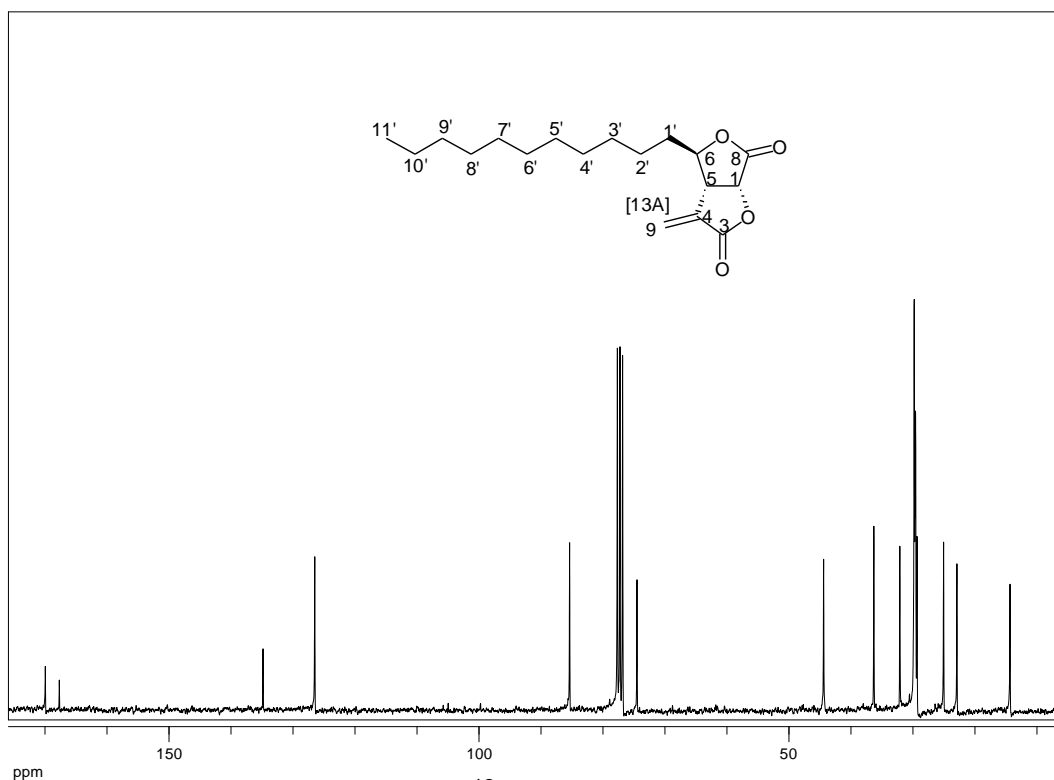


Figura 14. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do produto [13A].



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