

BRUNA NUNES MONT’MOR

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES NEMATICIDA E FITOTÓXICA  
DE DERIVADOS DE L-DOPA ISOLADA DE *Mucuna* spp.**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2017

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

T

Mont' Mor, Bruna Nunes, 1993-  
M757s            Síntese e avaliação das atividades nematocida e fitotóxica de  
2017            derivados de *L*-dopa isolada de *Mucuna* spp. / Bruna Nunes  
Mont' Mor. – Viçosa, MG, 2017.  
                  xv, 102f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Antônio Jacinto Demuner.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.66-73.

1. Nematoda. 2. *L*-3,4-diidroxifenilalanina. 3. *Mucuna* spp.  
Herbicida. 4. Fitotoxicidade. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em  
Agroquímica. II. Título.

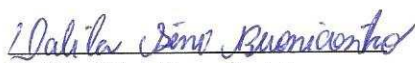
CDD 22 ed. 632.6257

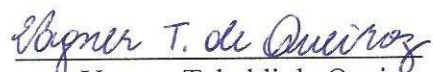
BRUNA NUNES MONT'MOR

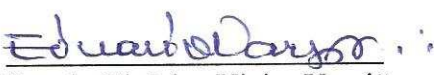
**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES NEMATICIDA E FITOTÓXICA  
DE DERIVADOS DA L-DOPA ISOLADA DE *Mucuna* spp.**

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

APROVADA: 19 de julho de 2017.

  
Dalila Sêni Buonicontro

  
Vagner Tebaldi de Queiroz

  
Eduardo Vinícius Vieira Varejão  
(Coorientador)

  
Antônio Jacinto Demuner  
(Orientador)

*Dedico e ofereço esse trabalho a Deus  
que sempre esteve comigo iluminando e  
abençoando meus passos. Aos meus pais  
e à minha irmã.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela vida, por guiar meus passos com seu imenso amor.

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

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

Ao professor Antônio Jacinto Demuner pela orientação, confiança e amizade.

Ao professor Eduardo Vinícius Vieira Varejão e Marcelo Henrique dos Santos pela coorientação e conselhos.

Aos professores Vagner Tebaldi de Queiroz e Dalila Sêni Buonicontro por aceitarem participar da banca examinadora.

Aos técnicos do Departamento de Química, em especial Cristiane, José Luiz, pela amizade e realização dos espectros.

À todos os professores, funcionários, amigos e colegas que contribuíram para a minha formação pessoal e profissional.

À Gabi por toda a ajuda no desenvolvimento desse trabalho, amizade e carinho, tornando os dias no laboratório muito mais alegres.

As minhas amigas de república Lara e Jaíne pelo carinho, amizade, risadas e por diversas vezes tornarem os meus dias mais leves.

À Sandra pelas inúmeras contribuições, amizade e carinho.

Aos amigos Ueveton e Karol pela amizade de longa data, por sempre torcerem por mim.

Aos amigos Anni, Ana Flávia, Renata e Lindervam, por toda ajuda na realização desse trabalho.

À todos os colegas do LASA da UFV, pela atenção, carinho, amizade e contribuições no desenvolvimento de meu trabalho, em especial aos amigos, Dayane, Fernanda, Alex, Bryan, Lisete, Lorena.

Aos amigos Dayana e Gustavo por toda ajuda, atenção e contribuições.

Ao laboratório de Nematologia do Departamento de Fitopatologia pela disponibilidade dos equipamentos.

Aos meus pais Josino e Lisete por todo amor, carinho e apoio incondicional, por serem minha fortaleza e estarem sempre presente mesmo na distância.

À minha irmã Joyce e seu esposo José Thiago por todo carinho apoio, amizade e estarem sempre presente.

Ao meu namorado Romennigh, por todo apoio, amor e carinho.

Aos demais familiares e amigos pelo apoio e carinho, que de forma direta e indireta, contribuíram para a realização deste.

## SUMÁRIO

LISTA DE ESQUEMAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS .....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. <i>Mucuna</i> spp. ....	5
2.2. Reações de esterificação .....	6
2.3. Atividade nematocida .....	7
2.4. Plantas daninhas.....	8
3. Objetivos .....	10
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
4.1. Obtenção dos extratos .....	11
4.1.1. Extratos de sementes .....	11
4.1.2. Extratos de exsudados radiculares .....	12
4.1.3. Extratos das sementes germinadas .....	13
4.2. Preparo das soluções para quantificação da <i>L</i> -dopa nos extratos das sementes.....	14
4.4.1. Técnicas Experimentais e espectroscópicas .....	15
4.5. Tratamento do tetraidrofurano (THF).....	16
4.6. Procedimento geral para a obtenção de ésteres derivados da <i>L</i> -dopa.....	16
4.7. Dados referentes aos compostos [2-10].....	20
( <i>S</i> )-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de metila [2].....	20
( <i>S</i> )-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de benzila [3] .....	20

<i>(S)</i> -2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de propila [4] .....	21
<i>(S)</i> -2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila [5] .....	22
<i>(S)</i> -2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de octila [6] .....	22
<i>(S)</i> -2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de isopropila [7] .....	23
<i>(S)</i> -2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de 2-nitrofenila [8] .....	24
<i>(S)</i> -2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de etila [9] .....	25
2,3,7,8,12,13-hexametoxi-10,15-diidro-5 <i>H</i> -tribenzo[ <i>a,d,g</i> ][9]annuleno [10] ...	26
<b>4.8. Ensaio Biológicos.....</b>	<b>26</b>
4.8.1. Avaliação da atividade nematicida .....	26
4.8.2. Ensaio Herbicida .....	27
<b>5.1. Isolamento e quantificação da <i>L</i>-dopa.....</b>	<b>29</b>
<b>5.2. Síntese dos compostos [2-9] .....</b>	<b>38</b>
<b>5.3 Síntese do (<i>S</i>)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila [5] .....</b>	<b>40</b>
<b>5.3. Ensaio de atividade nematicida.....</b>	<b>53</b>
<b>5.4. Ensaio de atividade alelopática .....</b>	<b>56</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>64</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>66</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>74</b>

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Proposta de formação da dopamina. ....	2
<b>Esquema 2:</b> Proposta de formação da melanina a partir da <i>L</i> -dopa.....	3
<b>Esquema 3:</b> Reação de esterificação de Fisher. ....	7
<b>Esquema 4:</b> Extratos obtidos por maceração das sementes de <i>M. cinerea</i> e <i>M. pruriens</i> . .....	12
<b>Esquema 5:</b> Extratos obtidos por maceração das raízes de <i>M. cinerea</i> e <i>M. pruriens</i> ...13	
<b>Esquema 6:</b> Extratos obtidos por maceração das sementes germinadas de <i>M. cinerea</i> e <i>M. pruriens</i> . ....	14
<b>Esquema 7:</b> Esquema reacional da síntese dos ésteres. ....	16
<b>Esquema 8:</b> Esquema reacional da síntese dos ésteres que não foram isolados. ....	18
<b>Esquema 9:</b> Principais fragmentações sofridas pelo composto sililado da amostra AM4 (IE, 70 eV).....	35
<b>Esquema 10:</b> Mecanismo da reação de formação do cloreto de acila. ....	39
<b>Esquema 11:</b> Mecanismo geral de formação dos ésteres a partir do cloreto de acila. ...	39
<b>Esquema 12:</b> Esquema da reação de obtenção do ( <i>S</i> )-2-amino-3-(3,4- diidroxifenil)propanoato de butila [5]. ....	40
<b>Esquema 13:</b> Proposta de fragmentação para o composto [5] no espectro de massas (IE, 70 eV).....	43
<b>Esquema 14:</b> Mecanismo da reação de formação do cloreto de alquila. ....	48
<b>Esquema 15:</b> Proposta do mecanismo de formação do composto [10].....	49

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura representativa da melanina .....	3
<b>Figura 2:</b> Curva padrão da <i>L</i> -dopa. ....	30
<b>Figura 3:</b> Espectro no IV (ATR) da amostra AM4. ....	33
<b>Figura 4:</b> Espectro no IV (ATR) da <i>L</i> -dopa. ....	33
<b>Figura 5:</b> Cromatograma da amostra AM4. ....	34
<b>Figura 6:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) da amostra (AM4) sililada. ....	34
<b>Figura 7:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{D}_2\text{O} + \text{Na}$ $\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 4,79$ ) da AM4. ....	36
<b>Figura 8:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{D}_2\text{O} + \text{Na}$ $\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 4,79$ ) da <i>L</i> -dopa. ....	37
<b>Figura 9:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{D}_2\text{O} + \text{Na}$ ) da <i>L</i> -dopa. ....	38
<b>Figura 10:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [5]. ....	41
<b>Figura 11:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [5]. ....	42
<b>Figura 12:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ) do composto [5]. ....	44
<b>Figura 13:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [5]. ....	45
<b>Figura 14:</b> Espectro no IV (ATR) do composto [10]. ....	49
<b>Figura 15:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [10]. ....	50
<b>Figura 16:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta_{\text{CDCl}_3} = 7,27$ ppm) do composto [10]. ....	52
<b>Figura 17:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,00$ ppm) do composto [10]. ....	53
<b>Figura 18:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes das sementes de pepino. ....	58
<b>Figura 19:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento dos caules das sementes de pepino. ....	58
<b>Figura 20:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes das sementes de sorgo. ....	60
<b>Figura 21:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento dos caules das sementes de sorgo. ....	60
<b>Figura 22:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes das sementes de corda de viola. ....	62
<b>Figura 23:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento dos caules das sementes de corda de viola. ....	62
<b>Figura 24:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [2]. ....	75
<b>Figura 25:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [2]. ....	76
<b>Figura 26:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [2]. ....	77
<b>Figura 27:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [2]. ....	78
<b>Figura 28:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [3]. ....	79
<b>Figura 29:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [3]. ....	80
<b>Figura 30:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [3]. ....	81
<b>Figura 31:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [3]. ....	82
<b>Figura 32:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [4]. ....	83
<b>Figura 33:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [4]. ....	84
<b>Figura 34:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [4]. ....	85

<b>Figura 35:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [4].	86
<b>Figura 36:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [6].	87
<b>Figura 37:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [6].	88
<b>Figura 38:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [6].	89
<b>Figura 39:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [6].	90
<b>Figura 40:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [7].	91
<b>Figura 41:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [7].	92
<b>Figura 42:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [7].	93
<b>Figura 43:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [7].	94
<b>Figura 44:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [8].	95
<b>Figura 45:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [8].	96
<b>Figura 46:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [8].	97
<b>Figura 47:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [8].	98
<b>Figura 48:</b> Espectro no infravermelho (ATR) do composto [9].	99
<b>Figura 49:</b> Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [9].	100
<b>Figura 50:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$ e $3,31$ ppm) do composto [9].	101
<b>Figura 51:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$ ppm) do composto [9].	102

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Dados dos rendimentos reacionais obtidos para a síntese dos compostos [2-10].	19
<b>Tabela 2:</b> Dados das concentrações e áreas dos picos obtidos para os padrões de <i>L</i> -dopa.	29
<b>Tabela 3:</b> Dados de concentração e massa total de <i>L</i> -dopa nos extratos de <i>Mucuna</i> analisados.	31
<b>Tabela 4:</b> Dados da porcentagem e massa de <i>L</i> -dopa presente nos extratos.	31
<b>Tabela 5:</b> Tabela de atribuição dos hidrogênios, deslocamento químico e multiplicidades dos compostos [2] a [4], [6] a [9] do RMN de $^1\text{H}$ .	46
<b>Tabela 6:</b> Tabela de atribuição dos carbonos e deslocamento químico dos compostos de [2] a [4], [6] a [9] do RMN de $^{13}\text{C}$ .	47
<b>Tabela 7:</b> Porcentagem de mortalidade de <i>M. incognita</i> , induzida por extratos de <i>M. pruriens</i> e <i>M. cinerea</i> .	54
<b>Tabela 8:</b> Porcentagem de mortalidade de <i>M. incognita</i> , induzida por compostos sintetizados.	55
<b>Tabela 9:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes e caules das sementes de pepino.	57
<b>Tabela 10:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes e caules das sementes de sorgo.	59
<b>Tabela 11:</b> Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes e caules das sementes de corda de viola.	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATR	Reflectância total atenuada
B.O.D.	Biological oxygen demand
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
CD <sub>3</sub> OD	Metanol deuterado
CG	Cromatografia gasosa
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de massas
IE	Impacto eletrônico
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
m	Multipleto
q	Quarteto
R <sub>f</sub>	Fator de retenção
RMN de <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
T <sub>f</sub>	Temperatura de fusão
t	Tripleto
THF	Tetraidrofurano
UV	Ultravioleta
$\lambda$	Comprimento de onda
$\delta$	Deslocamento químico
$\bar{\nu}$	Número de onda

## RESUMO

MONT’MOR, Bruna Nunes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2017. **Síntese e avaliação das atividades nematicida e fitotóxica de derivados de L-dopa isolada de *Mucuna* spp.** Orientador: Antônio Jacinto Demuner. Coorientadores: Marcelo Henrique dos Santos e Eduardo Vinícius Vieira Varejão.

Em função de suas diferentes propriedades biológicas, a L-dopa tem sido muito utilizada na Química Medicinal, particularmente para o tratamento de doenças neurológicas. No presente trabalho objetivou-se, o isolamento e a quantificação de L-dopa presente em extratos obtidos de sementes das espécies de *Mucuna pruriens* e *Mucuna cinerea* e avaliação do efeito nematicida e fitotóxico dos derivados da L-dopa. A partir da L-dopa, isolada, foram obtidos 8 derivados semissintéticos com rendimentos que variaram de 19 a 95%, e um produto secundário formado durante a reação da L-dopa com o álcool 3,4-dimetoxibenzílico. Os produtos obtidos foram caracterizados pelas técnicas de IV, CG-MS e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os derivados e os extratos obtidos foram avaliados quanto à atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita* e os resultados foram expressos em porcentagem de mortalidade dos nematoides. A L-dopa produziu maior porcentagem de mortalidade tanto no ensaio preliminar (45,57%), quando comparada aos extratos, quanto nos ensaios posteriores (51,18%), nos quais foram também avaliadas as atividades de seus derivados. O extrato etanólico das sementes de *M. pruriens* (AM4) apresentou taxa de mortalidade de 28,53% e o potencial de mortalidade dos derivados variou entre 18,68 a 50,61%. Avaliou-se também a atividade alelopática dos compostos sintetizados com sementes de pepino (*Cucumis sativus*), corda de viola (*Ipomoea grandifolia*) e sorgo (*Sorghum bicolor*). Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição do crescimento da raiz e da parte aérea das plantas, em relação ao controle. Todos os compostos, na concentração de 200 ppm, inibiram acima de 60% o crescimento de raízes e partes aéreas do sorgo. Nos ensaios realizado com as sementes de pepino, os compostos (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de metila [2], (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de propila [4] e (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila [5] apresentaram os melhores resultados, provocando inibição do crescimento de raízes igual ou superior a 60%. A maior porcentagem de inibição do crescimento de caule das plantas (82,41%) foi produzida pelo composto (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de isopropila [7]. No ensaio com as sementes de corda de viola, apenas a L-dopa apresentou resultado considerável (42,22%) de inibição do crescimento da raiz na concentração de 200 ppm.

Com os resultados obtidos espera-se que possa contribuir em diferentes áreas, com relevância na agropecuária, visto que as atividades obtidas com os ensaios realizados com os ésteres viabiliza a utilização desses produtos em programas de manejo integrados de nematoides e plantas daninhas.

## ABSTRACT

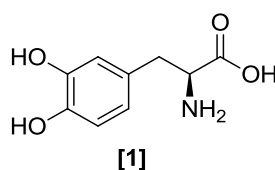
MONT’MOR, Bruna Nunes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2017. **Synthesis and evaluation of the nematicide and phytotoxic activities of L-dopa derivatives isolated *Mucuna* sp.** Adviser: Antônio Jacinto Demuner. Co-advisers: Marcelo Henrique dos Santos and Eduardo Vinícius Vieira Varejão.

Due to its different biological properties, *L*-dopa has been widely used in Medicinal Chemistry, particularly for the treatment of neurological diseases. The objective of this work was the isolation and quantification of *L*-dopa present in extracts obtained from seeds of the species *Mucuna pruriens* and *Mucuna cinerea* and evaluation of the nematicidal and phytotoxic effects of *L*-dopa derivatives. From the isolated *L*-dopa, 8 semi-synthetic derivatives were obtained in yields ranging from 19 to 95%, and a by-product formed during the reaction of *L*-dopa with the 3,4-dimethoxybenzyl alcohol. The products obtained were characterized by the techniques of IR, GC-MS and <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR. Derivatives and extracts obtained were evaluated for nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* and the results were expressed as percentage of nematode mortality. *L*-dopa produced a higher percentage of mortality in both the preliminary test (45.57%), compared to the extracts, and in the later tests (51.18%), in which the activities of its derivatives were also evaluated. The ethanolic extract of the seeds of *M. pruriens* (AM4) presented a mortality rate of 28.53% and the mortality potential of the derivatives ranged from 18.68 to 50.61%. The allelopathic activity of the compounds synthesized with cucumber seeds (*Cucumis sativus*), viola cord (*Ipomoea grandifolia*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) were also evaluated. The results were expressed as percentage of inhibition of root and shoot growth in relation to the control. All compounds, at the concentration of 200 ppm, inhibited above 60% growth of roots and aerial parts of sorghum. In the tests carried out with cucumber seeds, the methyl (*S*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl) propanoate [2], (*S*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl) propanoate [4] and butyl (*S*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl) propanoate compounds [5] showed the best results, causing inhibition of root growth equal to or greater than 60%. The highest percentage of stem-growth inhibition (82.41%) was produced by the isopropyl (*S*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl) propanoate compound [7]. In the test with the viola string seeds, only *L*-dopa showed a significant (42.22%) root growth inhibition at the concentration of 200 ppm. With the results obtained it is expected that it can contribute in different areas, with relevance in

agriculture, since the activities obtained with the tests carried out with the esters make possible the use of these products in integrated management programs of nematodes and weeds.

## 1. INTRODUÇÃO

A levodopa (*L*-3,4-diidroxifenilalanina) (*L*-dopa) [1] é um aminoácido que desempenha um papel importante em bioquímica e em química medicinal, atuando como um importante neurotransmissor e precursor biológico das catecolaminas. Medicamentos com essas características foram muito utilizados no tratamento de asma, hipertensão, doença de Parkinson e infarto do miocárdio (KAWDE *et al.*, 1995; NAGAJARA *et al.*, 1998).



A *L*-dopa está presente em várias espécies de plantas da família Leguminosae, entre as quais se destacam as do gênero *Mucuna* spp., nas quais é encontrada em altos níveis. A *L*-dopa é eficazmente absorvida pelas raízes e é oxidada em diferentes quinonas (por exemplo, dopaquinona, dopaminoquinona, entre outros) pela polifenol oxidase ou por auto oxidação. As quinonas são altamente reativas e podem formar ligações covalentes com as proteínas auxiliando no desenvolvimento das plantas (MUSHTAQ *et al.*, 2013).

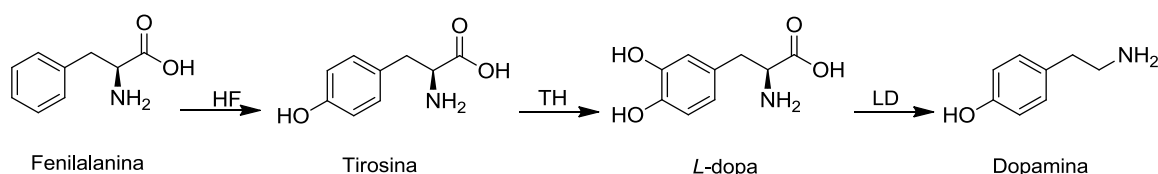
Os minerais desempenham importante função no metabolismo das plantas, tendo influência tanto no crescimento das plantas, quanto no aumento ou redução da resistência sobre determinados patógenos. O nitrogênio está presente em diferentes funções, tais como, aminoácidos, proteínas, aminas, amidas, amino-açúcares, purinas, e pirimidinas, alcaloides, coenzimas, vitaminas e pigmentos. Nas plantas, está relacionado com a fotossíntese, respiração, desenvolvimento e atividade das raízes, absorção iônica de outros nutrientes, crescimento e diferenciação celular, alterando o desenvolvimento da mesma (MARSCHNER, 1995; MLAVOLTA *et al.*, 1997; PURQUERIO & CECÍLIO FILHO, 2005).

A *L*-dopa é um substrato de relevância para a formação de dopamina, que, devido à sua facilidade de oxidação, forma a melanina. Melaninas são um grupo de pigmentos naturais encontrados na maioria dos organismos e tem sido amplamente utilizados na indústria alimentícia, fabricação de cosméticos e medicamentos. Neste processo, a *L*-tirosina é primeiro convertida em *L*-dopa, depois em dopaquinona e, finalmente, no pigmento melanina (SUN *et al.*, 2016).

No organismo, a *L*-dopa é facilmente convertida em dopamina pela dopa-decarboxilase, aumentando o nível de dopamina no cérebro. A dopamina é uma catecolamina, um neurotransmissor sintetizado por células nervosas que age em regiões do cérebro, promovendo, entre outros efeitos, a sensação de prazer e de motivação (RODRIGUES & CAMPOS, 2006).

A dopamina não pode ser administrada oralmente porque não atinge a corrente sanguínea. A solução encontrada foi utilizar a *L*-dopa, precursor da dopamina capaz de penetrar, facilmente a barreira da corrente sanguínea. Desta forma, tornou-se uma das drogas mais utilizadas para o tratamento da doença de Parkinson, que é ocasionada pela degeneração progressiva de neurônios dopaminérgicos, intimamente relacionados ao sistema motor que controla a atividade muscular. Alguns dos principais sintomas são tremor em repouso, lentidão e escassez de movimentos. Alguns efeitos adversos ocasionados pelo seu uso são os gastrintestinais e os cardiovasculares (COLZI *et al.*, 1998; ANDREU *et al.*, 1999; BERGAMINE *et al.*, 2005).

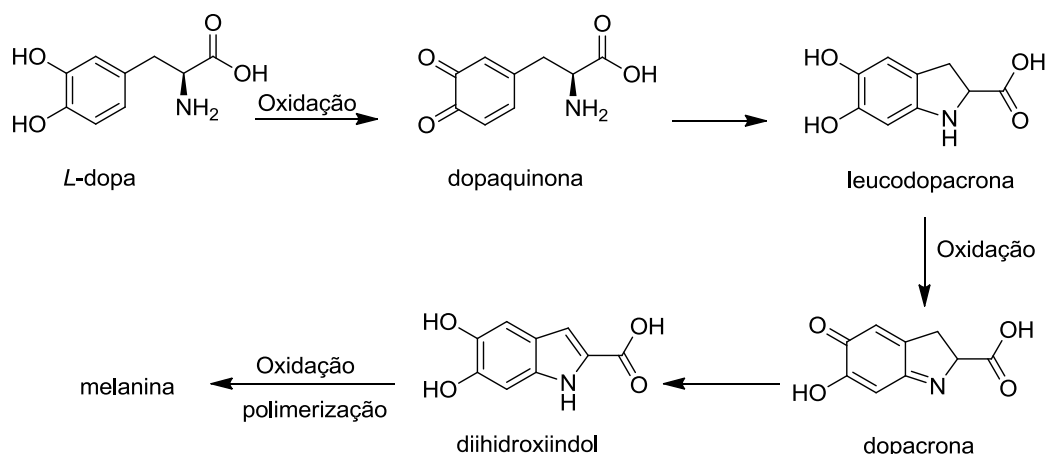
Em mamíferos, a dopamina é sintetizada em terminais nervosos *via* intermediários em algumas etapas. É sintetizada a partir da fenilalanina, que dá origem a *L*-tirosina após sofrer ação da enzima fenilalanina hidroxilase (FH). A *L*-tirosina é hidroxilada pela tirosina hidroxilase (TH) e, posteriormente, a *L*-dopa é rapidamente descarboxilada pela enzima *L*-dopa descarboxilase (LD), formando assim a dopamina (**Esquema 1**) (HALBIG & KOLLER, 2007).



**Esquema 1:** Proposta de formação da dopamina.

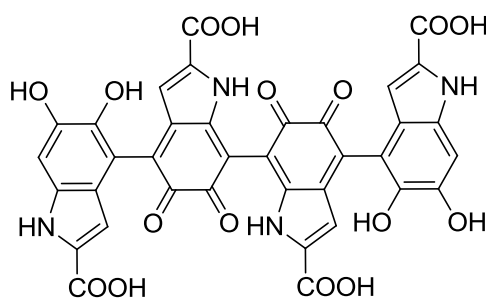
Outro aspecto interessante é a produção de melanina a partir da *L*-dopa. A melanina é produzida pela oxidação da *L*-dopa, formando assim, diidroxiindólicos que são então polimerizados. No passo inicial da melanogênese (**Esquema 2**, p. 3), a *L*-dopa é oxidada pela enzima dopa oxidase, formando assim a *L*-dopaquinona, que reage com o grupo amino sofrendo uma ciclização intramolecular espontânea, sendo convertida em *L*-leucodopacromo por um ataque nucleofílico do seu grupo amino. Seguindo essa *via*, a *L*-leucodopacromo sofre uma reação redox produzindo a *L*-dopacrona que, após descarboxilação, dá origem ao diidroxiindol. Reações subsequentes do diidroxiindol

prosseguem com a descarboxilação e polimerização, gerando o pigmento melanina de coloração escura (GALVÁN & SOLANO, 2016).



**Esquema 2:** Proposta de formação da melanina a partir da *L*-dopa.

Apesar dos avanços nas técnicas estruturais de ponta como a ressonância magnética nuclear e Raio X, até os dias atuais nenhum polímero de melanina teve sua organização estrutural completamente determinada, devido ao tamanho do polímero, insolubilidade, natureza amorfa e organização não cristalina continuando como sendo um pigmento indescritível (ALMEIDA-PAES *et al.*, 2017). É importante enfatizar que as melaninas não são verdadeiros polímeros ou macromoléculas, utilizando-se o termo “poli” apenas para denotar propriedades semelhantes aos polímeros. As estruturas e propriedades físico-químicas das melaninas implicam vários níveis de desordem química. As propriedades estruturais gerais das melaninas estão ilustradas na **Figura 1** (D’ISCHIA *et al.*, 2014).



**Figura 1:** Estrutura representativa da melanina

Devido à grande importância da *L*-dopa, sua procura está constantemente em aumento, sendo de suma importância pesquisar diversas fontes eficientes desta droga.

Mais de 1000 espécies de 135 famílias de plantas foram estudadas como uma fonte alternativa para o isolamento da *L*-dopa, dentre as quais pode-se destacar a *Mucuna* ssp. (DALIBOR *et al.*, 2016).

A *Mucuna* é uma planta que apresenta atividade nematicida conhecida, que vem sendo, utilizadas há algum tempo, em programas de adubação verde ou na redução de nematoides (SANTOS & RUANO, 1987). Em um ensaio realizado com a parte aérea e raízes da *Mucuna* preta contra *M. icognita*, cinco substancias que foram isoladas apresentaram atividade nematicida (NOGUEIRA *et al.*, 1996). Na busca de compostos que apresentem atividades biológicas eficientes, neste trabalho, a *L*-dopa isolada de *M. pruriens* e *M. cinerea* foi utilizada como substrato inicial na produção ésteres.

Os aminoácidos, contribui para o aumento da produtividade, das mais diversas culturas e da qualidade dos produtos agrícolas. Ao analisar o efeito de doses de aminoácidos sobre as características agrônômicas e desenvolvimento de raízes tuberosas, de duas variedades de mandioca observou-se que os aminoácidos proporcionaram diferenças para altura de plantas, massa fresca de colmo, volume de raízes adventícias, massa seca de colmo e de raízes adventícias. O uso de aminoácidos também diminuiu o diâmetro do colmo e aumentou o número de ramificações para a Baianinha, e a aplicação de aminoácidos não aumentou a produção de raízes tuberosas (GAZOLA *et al.*, 2016).

Alguns compostos que possuem a função orgânica éster em sua estrutura, apresentam atividade biológica, como por exemplo, o éster 2-metil benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (acybenzolar-*s*-methyl), que propicia as plantas resistência contra, pragas e doenças (KESSMANN *et al.*, 1994).

Ao avaliar a atividade deste composto sobre *Aphis gossypii* (Glover) e *Ramularia areola* (Atkinson) em algodoeiro, os resultados mostraram que a aplicação de acybenzolar-*s*-methyl, isolada ou em conjunto com fungicidas, na dose de 20 g i.a. ha<sup>-1</sup>, reduziu a população de *A. gossypii*. O acybenzolar-*s*-methyl (20 g i.a. ha<sup>-1</sup>) proporcionou menor incidência de *R. aréola* (MARTINS *et al.*, 2015).

Alguns ésteres derivados da *L*-dopa já foram isolados, porem a avaliação das atividades nematicida e herbicida, ainda não foram testadas. O controle de pragas e doenças em plantas é uma estratégia que vem sendo cada vez mais estudada.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

## 2.1. *Mucuna* spp.

As espécies do gênero *Mucuna* são leguminosas, que apresentam em sua constituição alcaloides, triterpenos e esteroides presentes na raízes e sementes. As sementes também contêm proteínas e aminoácidos, tais como *L*-dopa, metionina, tirosina, lisina, glicina, ácido aspártico, ácido glutâmico, leucina e serina. Diferentes espécies de *Mucuna* (*M. andreana*, *M. birdwoodiana*, *M. pruriens*, *M. urens*, *M. cinerea*) apresentam níveis altos de *L*-dopa (SURESH *et al.*, 2013).

As espécies *M. holtoniie* e *M. pruriens* apresentaram 6,5% e 5,2% (m/m) em peso seco, respectivamente, de conteúdo de *L*-dopa em suas sementes. *M. pruriens* exsuda a *L*-dopa na rizosfera em concentração suficiente para inibir o crescimento de outras espécies de plantas. Porém, o modo de ação fitotóxica da *L*-dopa não está bem esclarecido (PHOLSHETTIWAR & VARMA, 2008; JANARTHANAM & SUMATHI, 2015).

A *Mucuna* é uma planta utilizada na medicina tradicional indiana, para melhorar a fertilidade e transtornos relacionados. No entanto, nenhuma validação científica foi realizada até o momento. As sementes dessa espécie apresentam propriedades anti-inflamatórias e têm sido empregada no tratamento de doenças de Parkinson, em que os efeitos podem ser atribuídos à presença da *L*-dopa em suas sementes. (PULIKKALPURA *et al.*, 2015; ABUSHOUKA *et al.*, 2017).

Antioxidantes e flavonoides em alimentos têm recebido muita atenção devido à sua relevância para a saúde humana. *Mucuna sempervirens* é usada na medicina tradicional chinesa e suas atividades incluem anti-reumática e reguladora da menstruação. Muitos estudos sobre os componentes ativos dessa planta foi realizado. O extrato etanólico das folhas de *M. sempervirens* mostrou-se ricos em compostos antioxidantes. No entanto, os compostos ativos e sua contribuição para a atividade antioxidante precisam ser mais estudados (DU e LI, 2012).

A espécie *M. pruriens* apresenta componentes tóxicos ou que podem interferir na absorção de minerais ou nutrientes quando consumidos diariamente. Essas substâncias, que incluem oxalatos, tiocianatos e ácido fítico, são conhecidas como anti-nutricionais (FILIPIAK-SZOK; KURZAWA; SZYK, 2016).

As *Mucunas* são muito utilizadas como adubo verde e no controle natural de nematoides pelo fato de ter propriedades que beneficiam o solo, pode auxiliar no manejo sendo resistentes a esse parasita de solo. O uso da matéria orgânica no controle

de fitonematoides é uma alternativa que favorece a sustentabilidade do agroecossistema (RITZINGER & FANCELLI, 2006).

Os compostos que conferem atividade nematicida às plantas do gênero *Mucuna* ainda não foram caracterizados, apesar da reconhecida atividade e de sua vasta utilização como planta antagonista a nematoides e helmínticos, sendo bastante utilizadas no controle de nematoides dos gêneros *Meloidogyne* e *Heterodera* (HUISDEN *et al.*, 2010; CASTAÑEDA, 2015).

Demuner *et al.* (2003) isolaram isoflavonoides, prunetina, genisteína, medicarpina e asperglaucídeo, da parte aérea e raízes de *M. cinerea*. Estes compostos apresentaram atividades nematicida contra *M. incognita* e *H. glycines*, sendo que a prunetina foi a mais eficiente causando 70% de mortalidade de *M. incognita* na concentração de 50 µg mL<sup>-1</sup>.

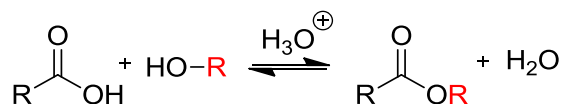
Estudos sobre a atividade alelopática da *Mucuna*, também tem sido realizados, e demonstram que além de diminuir a população de plantas daninhas, controla também a erosão e auxilia na fixação de nitrogênio, aumentando a produtividade das culturas. Isto se deve ao conteúdo de metabólitos secundários como a *L*-dopa, ácido fítico, taninos e saponinas, entre outros (INAMDAR *et al.*, 2014).

O potencial alelopático do extrato aquoso e detritos (incorporados ao solo) de folhas e sementes de *M. bracteata* sobre o crescimento de *Eleusine indica* foi analisado (HALIMSHAH *et al.*, 2015). No experimento, foram utilizadas três concentrações de extrato aquoso de folhas e sementes (16,7, 33,3 e 66,7 g L<sup>-1</sup>) e detritos (2,5, 5,0 e 10,0 g/500 g de solo) de *M. bracteata*. Os resultados demonstraram que os extratos de folhas e de sementes de *M. bracteata* apresentaram maior efeito de supressão no crescimento e germinação de *E. indica* à medida que a concentração aumentou.

## 2.2. Reações de esterificação

Os ésteres são importantes intermediários na indústria química e farmacêutica. De modo geral, o método mais comum para a obtenção de ésteres é a reação reversível entre um ácido carboxílico e um álcool (**Esquema 3** p. 7). Essa reação é conhecida como esterificação de Fisher, em homenagem ao químico Emil Fisher que a descobriu em 1855. Essas reações geram água e são facilitadas através do aumento da temperatura e na presença de um catalisador para ativação do grupo carboxila, que pode ser obtido por conversão em grupos funcionais mais reativos, tais como haletos de acila, anidrido

ou por ativação *in situ* por reagentes de acoplamento. Sem catalisador, em condições normais de temperatura e pressão, essas reações ocorrem lentamente, devido à sua reversibilidade (BALALAIIE *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2014).



**Esquema 3:** Reação de esterificação de Fisher.

Alguns ésteres derivados da *L*-dopa já foram sintetizados, transformando o seu grupo ácido em um haleto de acila utilizando cloreto de tionila e posteriormente submetidos à reação com álcoois fornecendo os ésteres desejados. Esses compostos foram substratos utilizados na formação de outros compostos, que foram avaliados no controle da doença de Parkinson (ZHOU *et al.*, 2013).

A literatura apresenta uma variedade de testes realizados com ésteres que aprestam resultados positivos para diferentes pragas da agricultura. Os resultados do ensaio alelopático realizado com ésteres metílicos, de ácidos graxos, obtidos a partir de óleos vegetais pela reação de transesterificação, demonstrou que, o óleo de milho e seu respectivo éster, na concentração de 1000 microg/mL apresentou inibição maior que 80% para radícula de *Allium cepa* (cebola) (PINTO *et al.*, 2013).

Tanto ésteres naturais, como sintéticos apresentam efeito tóxico, ocasionando morte rápida de artrópodes com o exoesqueleto delicado como o ácaro, agindo na suspensão da alimentação e oviposição de minadores de folhas (HAWTHORNE *et al.*, 1992; MICHAUD & MCKENZIE, 2004). Trurston & Webster (1962), sugerem que o modo de ação dos ésteres, ocorre sobre a cutícula dos organismos, causando a morte por dessecação.

### 2.3. Atividade nematicida

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., podem alterar a função da raiz e atuam como dissipadores de nutrientes, reduzindo assim o rendimento da cultura. O controle de fitonematoides em sistemas de produção de culturas atualmente conta com poucos nematicidas químicos disponíveis no mercado. Os temores sobre os riscos ambientais à saúde além da alta toxicidade aos homens e animais têm levado a retirada de

vários nematicidas do mercado (BARROS, 2006). Com isso torna-se crucial o desenvolvimento de meios alternativos para o controle de fitonematoides no campo (SHARMA *et al.*, 2014).

As espécies mais importantes em termos de danos agrônômicos pertencem ao gênero *Meloidogyne* spp., comumente chamado de nematoides de galhas (*Heterodera* spp., *Globodera* spp. e *Pratylenchus* spp.). Nematoides endoparasitas sedentários induzem estruturas de alimentação *in vivo* dentro da planta, as quais fornecem alimentos para que estes nematoides completem seu ciclo de vida. Já, aqueles nematoides endoparasitas migratórios se movimentam intracelular nos tecidos da planta, e absorvem o conteúdo celular levando à morte da célula e do tecido (HUMPHREYS-PEREIRA & ELLING, 2014).

Os nematoides atacam a maioria das espécies vegetais cultivadas, comprometendo sua capacidade de absorver água e nutrientes. Os principais sintomas apresentados pelas plantas infectadas são o subdesenvolvimento, amarelecimento, murcha e manchas nas folhas, conhecida popularmente como folha-carijó (ASMUS, 2001). Estima-se que os nematoides do gênero *Meloidogyne*, podem causar perdas de até 10%, para os sojicultores brasileiros (ASMUS, 2001).

Aproximadamente, já foram descritos mais de 100 espécies de *Meloidogyne*, das quais merecem destaque *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* que são as espécies mais frequentemente encontradas nas regiões agrícolas no mundo (KAYANI *et al.*, 2013).

O uso de cultivares resistente a nematoides é uma das alternativas, porque são meios para controlar nematoides ambientalmente benignos, seguros e economicamente viáveis. Culturas resistentes também podem ser usadas como um componente de manejo integrado de nematoides associado a outras estratégias de controle, como aditivos orgânicos no solo, controle biológico, solarização do solo, tratamento térmico e rotação de culturas (MUKHTAR *et al.*, 2014).

Portanto a utilização de compostos derivados da *L*-dopa, como sistemas de redução de nematoides pode evitar o uso excessivo de pesticidas. A atividade da *L*-dopa contra nematoides foi testada para o *M. incognita*, apresentando resultados positivos na concentração de 20 mg mL<sup>-1</sup> (BARBOSA *et al.*, 1999).

#### **2.4. Plantas daninhas**

As plantas daninhas representam um dos maiores problemas da agricultura mundial. Competem com as plantações por luz, água e nutrientes, causando grandes perdas na produção agrícola (GREEN, 2014).

As plantas daninhas são definidas como espécies que prejudicam determinada atividade humana, reduzindo a qualidade do produto. Uma prática comum na agricultura o controle de plantas daninhas é o uso de herbicida. Porém, o uso não-racional propiciou a algumas espécies de plantas adquirir resistências a tais compostos (SILVA & SILVA, 2007).

De acordo com a variabilidade genética natural de cada espécie, a planta pode apresentar sensibilidade ou tolerância ao herbicida. A planta é sensível ao herbicida quando seu crescimento e desenvolvimento são alterados pela ação do produto, podendo levar a morte. Já a tolerância é a capacidade de algumas espécies em sobreviver e se reproduzir após o tratamento com herbicida, mesmo sofrendo injúrias. Entre uma população de plantas existem aquelas que são mais ou menos tolerantes ao herbicida. Quando uma espécie de planta torna-se mais tolerante a determinada dose do produto, pode dizer que ela possui maior resistência que as demais (VARGAS & ROMAN, 2006).

O manejo de plantas daninhas quando não realizado ou realizado de forma inadequada pode onerar o custo de produção, levando a perdas tanto qualitativas quanto quantitativas no rendimento da cultura (CIUBERKINS *et al.*, 2007). Uma das maneiras de controlar as perdas e danos causados por essas plantas é o uso de controle biológico e natural. Entre os métodos de controle estão o preventivo, cultural, mecânico, químico e biológico. O controle químico consiste no uso de produtos com ação herbicida registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). É o método de controle mais utilizado (SILVA & COSTA, 2012; SILVA *et al.*, 2014)

Os herbicidas são definidos como que tem a finalidade de eliminar ou impedir o crescimento de plantas daninhas (SILVA & COSTA, 2012). O manejo de plantas daninhas é um fator importante, no entanto tem sido dificultado pela falta de herbicida seletivo por isso torna-se importante a busca por novas fontes de compostos que desempenhem essa função. O uso de herbicidas no Brasil foi estimulado pelo aumento populacional urbano, ocasionando a falta de mão de obra no campo (GIANESSI, 2013).

Aproximadamente, mais de duzentos herbicidas encontram-se disponíveis, e apresentando-se com modos de ação diferenciados. Os herbicidas sintéticos foram descobertos em 1945, e revolucionaram o tratamento de ervas daninhas, sendo a

maneira mais eficaz e econômica. Assim com o aumento das plantas daninhas resistentes aos herbicidas conhecidos, surge a necessidade da busca por novos compostos com atividade herbicida (AMARANTE *et al.*, 2002).

O uso potencial da *L*-dopa como herbicida ainda é desconhecido, desta forma, um dos objetivos desse trabalho foi avaliar sua atividade.

### 3. Objetivos

- O objetivo do presente trabalho foi realizar o isolamento e quantificação da *L*-dopa a partir de sementes de *Mucuna pruriens* e *Mucuna cinerea*.
- Sintetizar ésteres derivados da *L*-dopa tentando melhorar a atividade descrita para a *L*-dopa.
- Testar a atividade nematicida dos extratos e ésteres produzidos sobre *Meloidogyne incognita*.
- Avaliar a atividade alelopática dos compostos em plantas de pepino (*Cucumis sativus*), corda de viola (*Ipomoea grandifolia*) e sorgo (*Sorghum bicolor*).

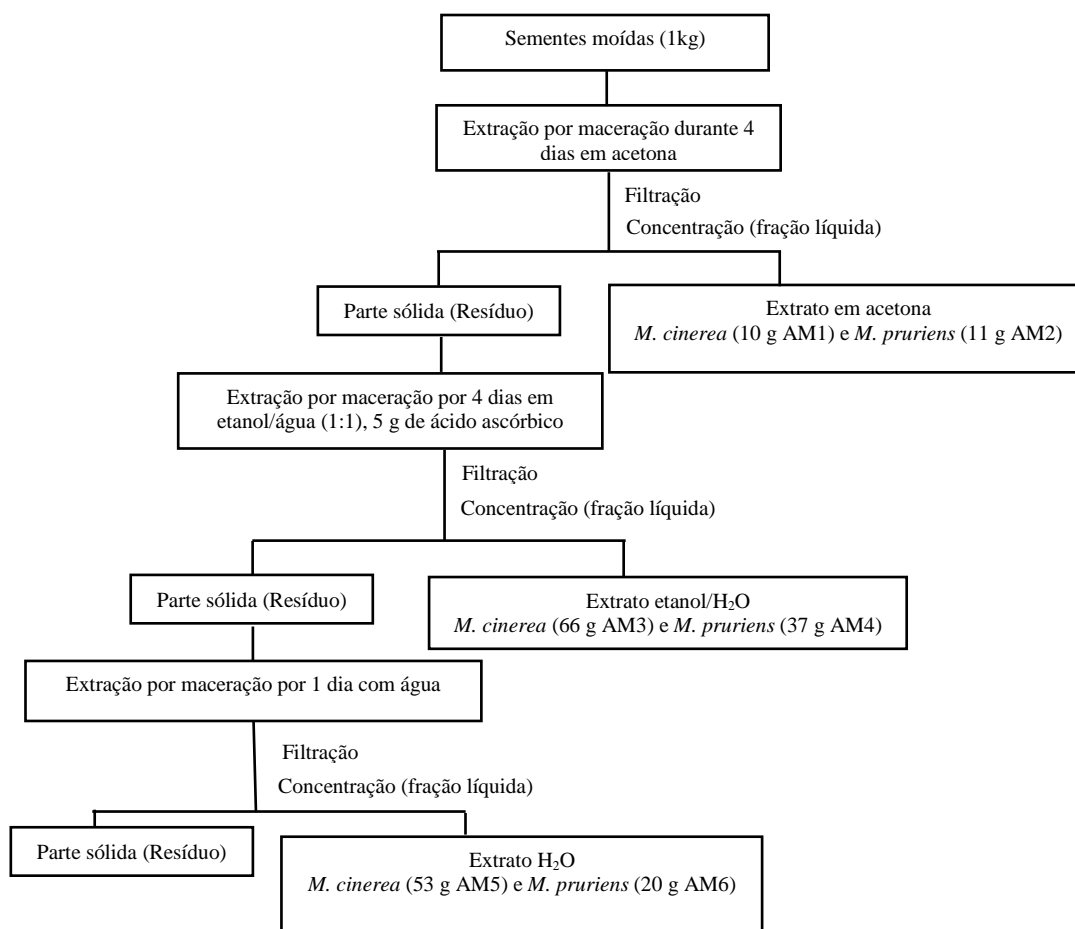
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Obtenção dos extratos

#### 4.1.1. Extratos de sementes

As sementes de *Mucuna cinerea* e *Mucuna pruriens* var. *utilis* utilizadas foram adquiridas da empresa BRseeds. 1 kg de cada espécie das sementes foram moídas e submetidos à extração por acetona por um período de 4 dias. Após esse tempo, o material foi filtrado e a solução foi concentrada sob pressão reduzida para obtenção do extrato em acetona de *M. cinerea* (AM1) e *M. pruriens* (AM2).

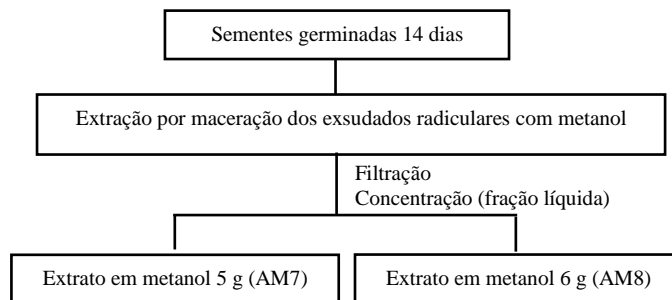
O material sólido obtido na etapa anterior foi submetido à extração com 2 L de mistura etanol/água na proporção de 1:1 (v/v) contendo 5 g de ácido ascórbico. A mistura permaneceu em repouso por 4 dias. Após esse período, o material foi filtrado e a solução em etanol/água foi liofilizada para obtenção do extrato de *M. cinerea* (AM3) e *M. pruriens* (AM4) que, posteriormente, foi recristalizado em água quente. Em seguida, à parte sólida (resíduo) foi acrescentado 2 L de água destilada à parte sólida (resíduo) e a solução permaneceu em repouso por 1 dia para a obtenção do extrato aquoso de *M. cinerea* (AM5) e *M. pruriens* (AM6). Posteriormente a solução foi filtrada e o resíduo sólido descartado, obtendo-se os extratos desejados conforme representado no **Esquema 4** (p.12) (MISRA & WAGNER, 2007).



**Esquema 4:** Extratos obtidos por maceração das sementes de *M. cinerea* e *M. pruriens*.

#### 4.1.2. Extratos de exsudados radiculares

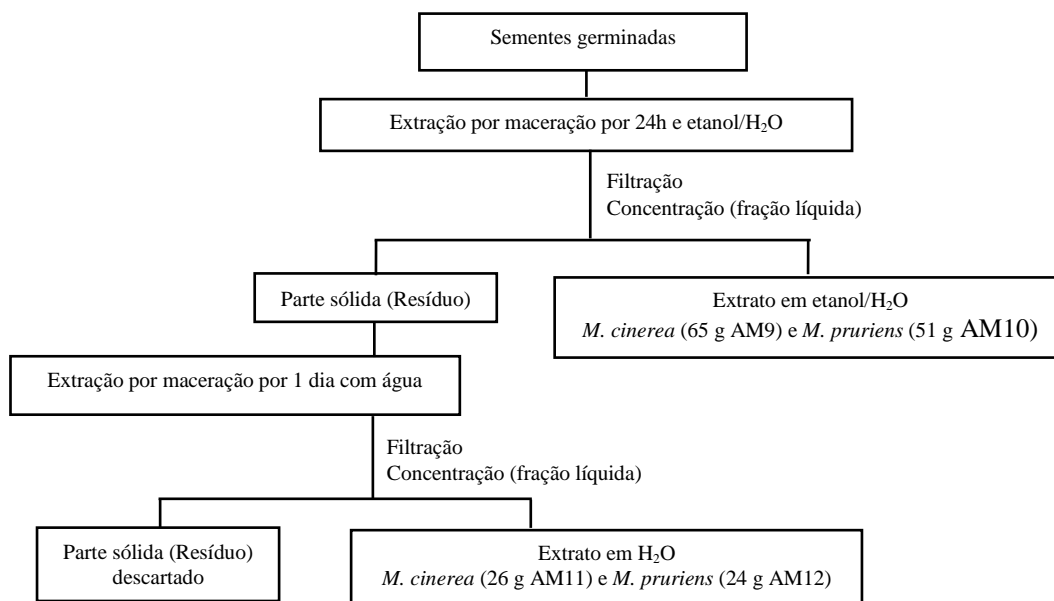
Pesou-se 1 kg das sementes de cada espécie (*M. pruriens* e *M. cinerea*) que foram colocadas para germinar em câmara de germinação (B.O.D.) a 25 °C por um período de 14 dias, sendo molhadas quando necessário. Após esse tempo, as raízes foram retiradas e submergidas em metanol por 1 minuto para obtenção dos extratos de exsudados radiculares de *M. cinerea* (AM7) e *M. pruriens* (AM8) (**Esquema 5**, p.13). O extrato em metanol obtido foi concentrado sob pressão reduzida. As raízes foram armazenadas e posteriormente foram utilizadas junto com as sementes.



**Esquema 5:** Extratos obtidos por maceração das raízes de *M. cinerea* e *M. pruriens*.

#### 4.1.3. Extratos das sementes germinadas

As sementes germinadas após extração dos exsudados radiculares de *M. pruriens* e *M. cinerea* foram transferidas para liquidificador. Adicionou-se 1 L de solução etanol/água destilada 1:1 (v/v). Em seguida as sementes, foram trituradas e a mistura foi transferida para um erlenmeyer de 4 L. A essa mistura foram adicionados 5 g de ácido ascórbico e a mesma permaneceu sob repouso por 24 horas. Após esse período, a solução foi filtrada e repetiu-se o procedimento acima usando à parte sólida. O material foi filtrado por mais duas vezes e a solução foi liofilizada para obtenção dos extratos de *M. cinerea* (AM9) e *M. pruriens* (AM10) que, posteriormente, foi recristalizado em água quente. Por último, foram adicionados 2 L de água destilada à parte sólida e a mistura permaneceu em repouso por mais um dia, obtendo-se os extratos de *M. cinerea* (AM11) e *M. pruriens* (AM12) desejados (**Esquema 6**, p. 14).



**Esquema 6:** Extratos obtidos por maceração das sementes germinadas de *M. cinerea* e *M. pruriens*.

#### 4.2. Preparo das soluções para quantificação da *L*-dopa nos extratos das sementes

Para a realização da quantificação de *L*-dopa presente nos extratos, inicialmente foi determinado a melhor fase móvel para separação dos compostos presentes nos mesmos. Para isso, a amostra AM4 foi injetada no equipamento HPLC e foram realizadas diferentes corridas cromatográficas, empregando diferentes misturas de eluentes. Por meio desse método verificou-se que a melhor separação dos constituintes da amostra foi obtida quando empregada uma mistura de água destilada e 1 % (v/v) de ácido acético como fase móvel.

Para a realização da curva padrão, utilizou-se a *L*-dopa com 98 % de pureza adquirido da empresa Sigma Aldrich®. As soluções padrões utilizadas foram preparadas a partir de uma solução estoque de 118,7 ppm, nas concentrações de 90,8 , 77,1 , 61,8 , 33,7 , 18,3 , 15,7 , 10,2 e 5,1 ppm.

#### 4.3. Técnica de derivatização (sililação)

Para análise cromatográfica a amostra AM4 foi submetida à técnica de derivatização (sililação). Para tal, 3,0 mg da amostra foram pesadas em frasco internamente cônico próprio para a reação de sililação. Adicionou-se 60 µL de piridina anidra, 100 µL de *N,O*-bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) com 1% de

trimetilclorosilano (TCL), agitando-se até completa solubilização. Posteriormente, o frasco contendo a mistura reacional foi colocado em banho de glicerina a 70 °C por 30 minutos e o produto foi injetado no cromatógrafo (CG-MS).

#### **4.4. Caracterização da substância**

##### **4.4.1. Técnicas Experimentais e espectroscópicas**

As separações dos compostos presentes nas amostras dos extratos foram quantificadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência empregando equipamento da SHIMADZU modelo LC10AD (25 cm x 4,6 mm) com detector UV-VIS, utilizando como fase estacionária coluna C18 e como fase móvel solução aquosa 1% ácido acético (v/v). O equipamento foi operado em fluxo de 0,7 mL por minuto, com pressão de 97 kgf, comprimento de onda de 284 nm e temperatura de aproximadamente 23 °C. Para o isolamento do composto utilizou-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Preparativa empregando equipamento SUPERCOSIL, coluna semi-preparativa modelo LC18 (25 cm x 10 mm) com detector UV-VIS, tendo como fase móvel água destilada em 1% (v/v) de ácido acético. As condições utilizadas foram de fluxo de 0,5 mL por minuto, uma pressão de 56 kgf, comprimento de onda de 284 nm e temperatura de 23 °C.

As separações cromatográficas em coluna foram realizadas utilizando como fase estacionária sílica-gel (70-230 ou 230-400, SIGMA-ALDRICH) e eluentes apropriados como fases móveis. As amostras foram inicialmente incorporadas à sílica com o eluente a ser usado em cada separação. As frações coletadas foram analisadas por cromatografia em camada delgada CCD, utilizando-se placas WHATMAN AL/SIL G/UV254. Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta ( $\lambda = 254$  nm) (ALVARENGA *et al.*, 2005) e reveladas utilizando solução de ácido fosfomolibdico (12 g de  $H_2PO_4 \cdot 2MoO_3 \cdot 48H_2O$  em 250 mL de etanol) (PERRIN & ARMAREGO, 1994).

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1H$ , 300 MHz) e de carbono (RMN de  $^{13}C$ , 75 MHz) foram obtidos em aparelho VARIAN MERCURY 300 MHz (Departamento de Química-UFV). Foram utilizados como solventes clorofórmio ( $CDCl_3$ ), metanol ( $CD_3OD$ ) e água ( $D_2O$ ) com sódio metálico. As constantes de acoplamento escalar ( $J$ ) foram expressas em Hertz (Hz).

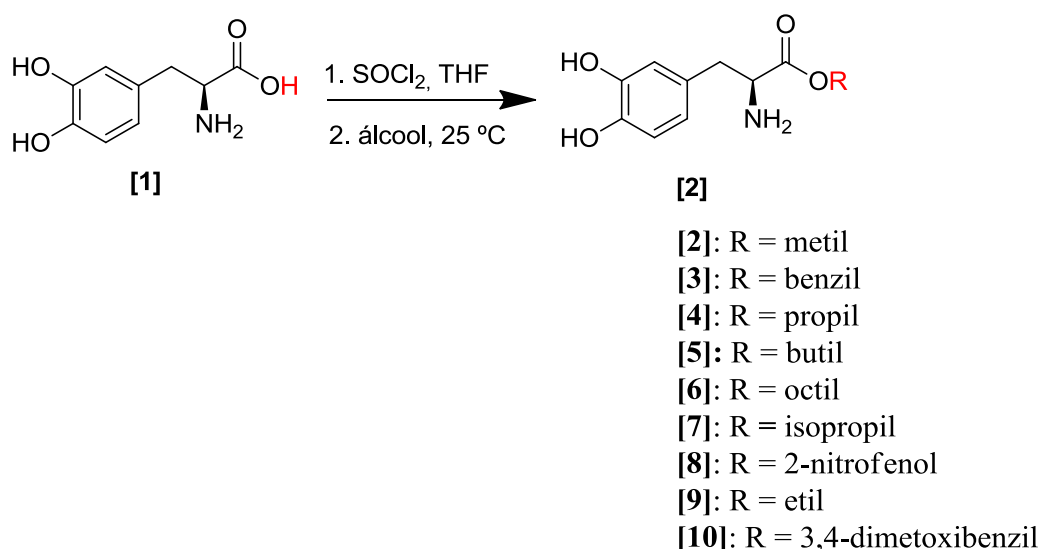
Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento SHIMIDAZU GC/MS-QP2010. As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302. As análises de espectroscopia no infravermelho foram realizadas em espectrofotômetro FT-IR VARIAN 660 equipado com GladiATR (Departamento de Química-UFV).

#### 4.5. Tratamento do tetraidrofurano (THF)

A um balão volumétrico (500 mL) foram adicionados 300 mL de THF e 12 g de hidreto de cálcio. Deixou-se o sistema em refluxo durante 20 horas. Em seguida, destilou-se o THF, transferindo-o para outro balão de 500 mL contendo sódio metálico. Deixou-se a mistura sob refluxo durante uma hora. A seguir, adicionou-se benzofenona ao balão contendo THF deixando o sistema sob refluxo até que a mistura reacional adquirisse coloração azul. Após a mudança na coloração, destilou-se o THF anidro que foi armazenado sob peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN e AMAREGO, 1994).

#### 4.6. Procedimento geral para a obtenção de ésteres derivados da *L*-dopa

Os ésteres [2-10] foram sintetizados conforme representado no esquema reacional abaixo (Esquema 7).



Esquema 7: Esquema reacional da síntese dos ésteres.

Em um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados a *L*-dopa [1] (197,0 mg, 1 mmol), 20 mL de THF anidro sob atmosfera de nitrogênio. Adicionou-se cloreto de tionila (0,363 mL, 5 mmol) e 5 mmol do álcool correspondente (**Esquema 7**, p.16). O sistema foi mantido em banho de gelo por 2 horas e, em seguida, sob agitação magnética à temperatura ambiente por 24 horas. O término da reação foi evidenciado por CCD. Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e elaborada utilizando acetato de etila e solução aquosa de HCl 1 mol L<sup>-1</sup>. A fase aquosa obtida na separação teve pH ajustado para 9 com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Em seguida, a solução aquosa foi extraída novamente com acetato de etila (3x15 mL), ocorrendo a separação entre as fases. A fase orgânica foi concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Posteriormente, os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel para a obtenção dos ésteres [2-9] desejados (YOSHIDA *et al.*, 2015).

O mesmo procedimento foi utilizado para a síntese dos demais compostos utilizando os álcoois e fenóis correspondentes: álcool metílico, álcool benzílico, álcool propílico, álcool butílico, álcool octílico, álcool isopropílico, 2-nitrofenol, álcool etílico e o álcool 3,4-dimetoxibenzílico. Com o álcool 3,4-dimetoxibenzílico não houve formação do éster desejado e sim o composto cíclico [10].

Os ésteres sintetizados por meio desse procedimento foram:

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de metila [2],

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de benzila[3],

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de propila [4],

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila[5],

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de octila[6],

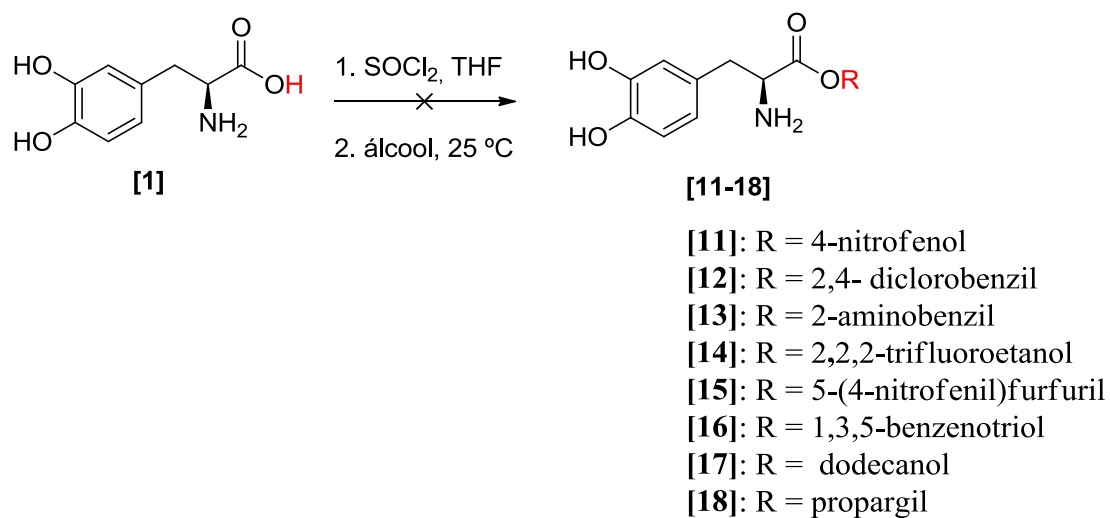
(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de isopropila[7],

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de 2-nitrofenila [8],

(*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de etila [9],

2,3,7,8,12,13-hexametoxi-10,15-diidro-5*H*-tribenzo[a,d,g][9]annuleno [10].

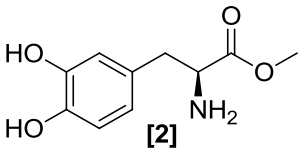
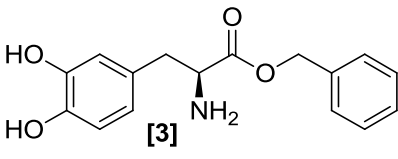
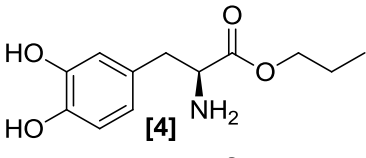
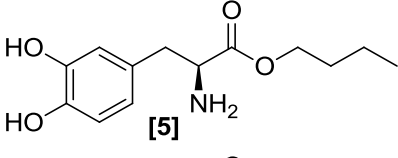
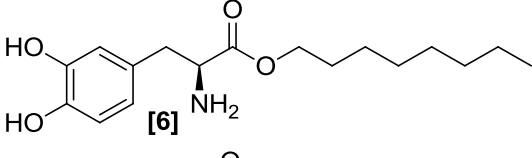
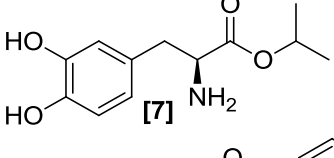
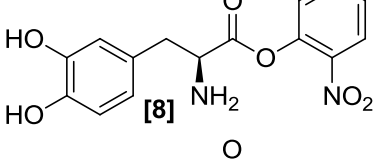
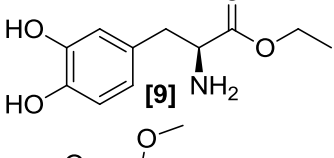
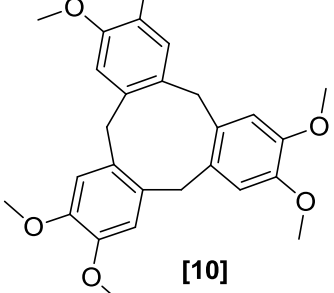
Outros álcoois e fenóis foram utilizados para a obtenção de seus respectivos ésteres utilizando a mesma metodologia descrita acima, porém, não sendo possível o seu isolamento (**Esquema 8**, p. 18).



**Esquema 8:** Esquema reacional da síntese dos ésteres que não foram isolados.

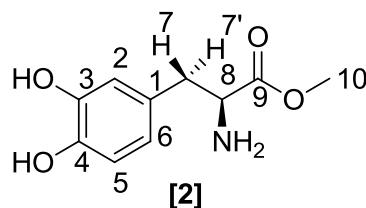
A estrutura dos ésteres sintetizados pode ser visualizada na **Tabela 1** (p. 19).

**Tabela 1:** Dados dos rendimentos reacionais obtidos para a síntese dos compostos [2-10].

Compostos	Rendimento%
 [2]	94
 [3]	65
 [4]	95
 [5]	21
 [6]	29,5
 [7]	19
 [8]	25
 [9]	27
 [10]	18

#### 4.7. Dados referentes aos compostos [2-10]

##### *(S)*-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de metila [2]



**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub> (MM = 211 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** Sólido verde.

**Temperatura de fusão:** 126,8–129,0 °C.

**Rendimento:** 94% (198,0 mg, 0,94 mmol).

**CCD:** R<sub>f</sub> = 0,3 [Acetato de etila/ metanol, 4:1 (v/v)].

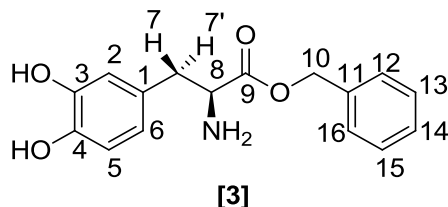
**IV (ATR, ν /cm<sup>-1</sup>):** 2954, 1736, 1603, 1517,1441, 1236, 1200, 1154.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 4,87 e 3,31 ppm):** δ 3,20-3,07 (m, 2H, H7/H7'); 3,89 (s, 3H, H10); 4,28 (sl, 1H, H8); 6,62 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H6); 6,73 (s, 1H, H2); 6,81 (d, 1H, J = 7,5 Hz, H5).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 49,0 ppm):** δ 35,4 (C7); 52,2 (C10); 54,0 (C8); 14,8 (C5); 145,5 (C2); 120,2 (C1); 124,7 (C6); 115,4 (C4); 115,8 (C3); 169,1 (C9).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 211 (M<sup>+</sup>), 152 (18), 123 (100), 77 (25), 88 (50), 57 (17).

##### *(S)*-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de benzila [3]



**Fórmula molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub> (MM = 287,0 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** líquido viscoso verde musgo.

**Temperatura de fusão:** 126,5–127,8 °C.

**Rendimento:** 65% (22,64 mg, 0,078 mmol).

**CCD:** Rf = 0,3 [Acetato de etila/ metanol, 9,5:0,5 (v/v)].

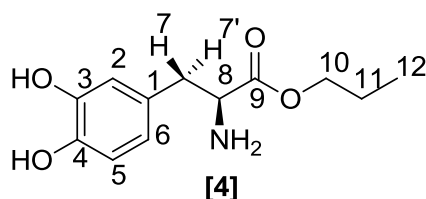
**IV (ATR,  $\nu$  / $\text{cm}^{-1}$ ):** 3517, 3064, 3030, 1742, 1453, 1206, 1009, 695.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}}$  = 4,87 e 3,31 ppm):**  $\delta$  3,01-3,03 (m, 2H, H7/H7'); 4,08-4,14 (m, 1H, H8); 4,59 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 5,19 (s, 2H, H10); 6,51 (dd, 1H,  $J_{6,5}$  = 9 Hz,  $J_{6,2}$  = 9 Hz, H6); 6,67-6,76 (m, 2H, H2/H5); 7,33 (m, H12/ H13/H14/H15/H16).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}}$  = 49,0 ppm):**  $\delta$  36,2 (C7); 54,2 (C8); 67,5 (C10); 115,2 (C5); 115,9 (C2); 120,3 (C6); 125,3 (C14); 126,6 (C12); 126,9 (C16); 127,9 (C1); 128,2 (C15); 128,3 (C13); 134,9 (C11); 144,4 (C4); 145,6 (C3); 169,6 (C9).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 287 ( $\text{M}^+$ ), 152 (16), 123 (46), 91 (100), 74 (20), 65 (16).

**(S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de propila [4]**



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_4$  (MM = 239  $\text{g mol}^{-1}$ ).

**Aspecto:** Sólido verde.

**Temperatura de fusão:** 99,7-102,2  $^{\circ}\text{C}$ .

**Rendimento:** 95% (227,0 mg, 0,95 mmol).

**CCD:** Rf = 0,5 [Acetato de etila/metanol, 9,5:0,5 (v/v)].

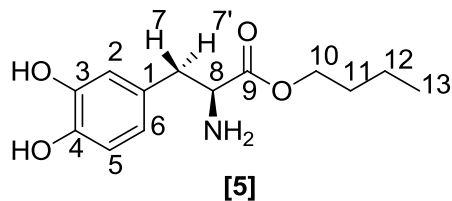
**IV (ATR,  $\nu$  / $\text{cm}^{-1}$ ):** 2968, 1732, 1517, 1227, 1115.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}}$  = 4,87 e 3,31 ppm):**  $\delta$  0,9 (t, 3H,  $J$  = 7,5 Hz, H12); 1,58-1,68 (m, 2H, H11); 3,01-3,03 (m, 2H, H-7/H-7'); 4,08-4,14 (m, 3H, H8/H10); 6,57 (d, 1H,  $J$  = 9 Hz, H6); 6,68 (s, 1H, H2); 6,74 (d, 1H,  $J$  = 9 Hz, H5).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}}$  = 49,0 ppm):**  $\delta$  9,0 (C12), 21,4 (C11) 36,3 (C7); 54,2 (8); 67,2 (C10); 115,3 (C5); 115,6 (C2); 120,1 (C6); 125,4 (C1); 144,4 (C4); 145,4 (C3); 169,8 (C9).

EM (IE, 70 eV), m/z (%): 239 (M<sup>+</sup>), 152 (53), 123 (90), 117 (68), 74 (100).

*(S)*-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila [5]



**Fórmula molecular:** C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> (MM = 253 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** Sólido marrom.

**Temperatura de fusão:** 102,7-104,2 °C.

**Rendimento:** 21% (53,13 mg, 0,21 mmol).

**CCD:** R<sub>f</sub> = 0,3 [Acetato de etila/metanol, 9,5:0,5 (v/v)].

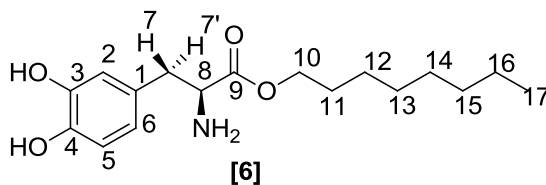
IV (ATR, ν /cm<sup>-1</sup>): 3516, 3159, 2957, 2901, 1741, 1641, 1478, 1204, 1043, 701.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 4,87 e 3,31 ppm):** δ 0,90 (t, 3H, J = 7,5 Hz, H13); 1,27-1,35 (m, 2H, H12); 1,48-1,58 (m, 2H, H11) 2,84-2,85 (m, 2H, H7/H7'); 3,69-3,71 (m, 2H, H8); 4,078 (t, 1H, J = 6,0 Hz, H10); 6,49 (d, 1H, J = 9 Hz, H6); 6,62 (s, 1H, H2); 6,69 (d, 1H, J = 9 Hz, H5).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 49,0 ppm):** δ 12,6 (C13); 18,6 (C12); 30,1 (C11); 35,6 (C7); 54,0 (C8); 65,7 (C10); 115,3 (C5); 115,9 (C2); 120,4 (C6); 124,9 (C1); 144,8 (C4); 145,4 (C3); 168,8 (C9).

EM (IE, 70eV), m/z (%): 253 (M<sup>+</sup>), 152 (20), 123 (54), 91 (100), 74 (25).

*(S)*-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de octila [6]



**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub> (MM = 309 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** Sólido marrom.

**Temperatura de fusão:** 115,8–117,8 °C.

**Rendimento:** 29,5% (91,15 mg, 0,295 mmol).

**CCD:** Rf = 0,4 [Acetato de etila/metanol, 9,5:0,1 (v/v)].

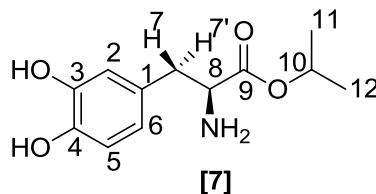
**IV (ATR,  $\nu$  /cm<sup>-1</sup>):** 3400, 2957, 2926, 1730, 1641, 1202, 1107, 796.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_{CD_3OD}$  = 4,87 e 3,31 ppm):**  $\delta$  0,88-0,91 (m, 5H, H16/H17); 1,27-1,33 (m, H12/H13/H14/H15); 1,95 (s, 2H, H11); 2,96-2,98 (m, 2H, H7/H7'); 4,04-4,10 (m, 3H, H8/H10); 6,52 (d, 1H,  $J$  = 7,5 Hz, H6); 6,65 (s, 1H, H2); 6,72 (d, 1H,  $J$  = 7,5 Hz, H5).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_{CD_3OD}$  = 49,0 ppm):**  $\delta$  13,0 (C17); 20,8 (C16); 22,5 (C12); 23,2 (C11); 28,6 (C14); 29,9 (C13); 37,0 (C15); 38,3 (C7); 54,4 (C8); 67,7 (C10); 115,2 (C5); 115,8 (C2); 120,2 (C6); 125,8 (C1); 144,6 (C4); 145,3 (C3); 170,8 (C9).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 309 (M<sup>+</sup>), 187 (23), 152 (43), 123 (52), 75 (100), 57 (44).

**(S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de isopropila [7]**



**Fórmula molecular:** C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub> (MM = 239 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** Sólido marrom.

**Temperatura de fusão:** 104–105 °C.

**Rendimento:** 19% (45,41 mg, 0,19 mmol).

**CCD:** Rf = 0,45 [Acetato de etila/metanol, 9,5:0,5 (v/v)].

**IV (ATR,  $\nu$  /cm<sup>-1</sup>):** 3150, 2903, 2704, 1728, 1601, 1198, 1111, 790.

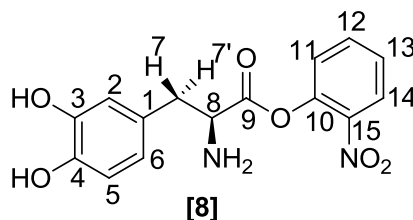
**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_{CD_3OD}$  = 4,87 e 3,31 ppm):** 1,21 (d, 3H,  $J$  = 6 Hz, H12); 1,26 (d, 3H,  $J$  = 6 Hz, H11); 3,04-3,06 (m, 2H, H7/H7'); 4,13 (sl, 1H, H8); 5,00-

5,11 (m, 1H, H10); 6,59 (t, 1H,  $J = 7,5$  Hz, H6); 6,7 (s, 1H, H2) 6,75 (d, 1H,  $J = 7,5$  Hz, H5).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$  ppm):**  $\delta$  20,6 (C11/C12); 35,7 (C7); 53,9 (C8); 70,5 (C10); 115,3 (C5); 115,9 (C2); 120,4 (C6); 124,9 (C1); 144,7 (C4); 145,2 (C3); 168,3 (C9).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 239 ( $\text{M}^+$ ), 152 (59), 123 (87), 117 (43), 74 (100).

**(S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de 2-nitrofenila [8]**



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$  (MM =  $318 \text{ g mol}^{-1}$ ).

**Aspecto:** Sólido marrom.

**Temperatura de fusão:** 97,0–98,8 °C.

**Rendimento:** 25% (79,5 mg, 0,25 mmol).

**CCD:** Rf = 0,4 [Acetato de etila/metanol, 4:1 (v/v)].

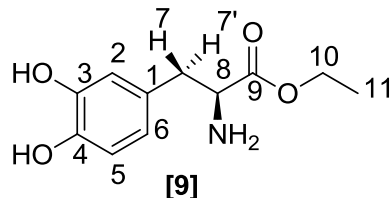
**IV (ATR,  $\nu / \text{cm}^{-1}$ ):** 2947, 1731, 1595, 1290, 1111, 767.

**RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$  e  $3,31$  ppm):**  $\delta$  4,35–4,48 (m, 2H, H7/H7'); 4,89 (d, 2H,  $J = 6$  Hz,  $\text{NH}_2$ ); 5,13 (m, 2H,  $\text{OH}$ ); 5,56 (sl, 1H, H8); 7,9 (d, 1H,  $J = 7,5$  Hz, H6); 8,05 (s, 1H, H2); 8,13 (d, 1H,  $J = 7,5$  Hz, H5); 10,02 (s, 3H, H11/H12/H13), 10,45 (d, 1H,  $J = 9$  Hz, H14).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$  ppm):**  $\delta$  18,6 (C7); 35,9(C8); 53,0 (C5); 53,9 (C2); 56,5 (C6); 116,2 (C14); 117,1 (C13); 120,6 (C1); 125,3 (C11/C12); 145,0 (C15); 145,7 (C3/C10/C4); 169,8 (C9).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 318 ( $M^+$ ), 224 (39), 137 (100), 123 (33), 109 (29), 91 (24), 71 (28), 55 (53).

**(S)-2-amino-3-(3,4-dihydroxifenil)propanoato de etila [9]**



**Fórmula molecular:**  $C_{11}H_{15}NO_4$  (MM = 225 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** Sólido marron.

**Temperatura de fusão:** 92,0–93,8 °C.

**Rendimento:** 27% (60,75 mg, 0,27 mmol).

**CCD:** Rf = 0,33 [Acetato de etila/metanol, 4:1 (v/v)].

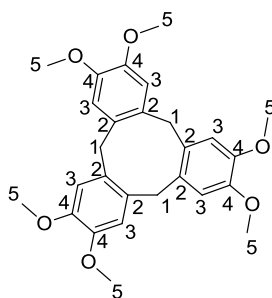
**IV (ATR,  $\nu$  /cm<sup>-1</sup>):** 2881, 1730, 1605, 1518, 1200, 1114, 778.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_{CD_3OD}$  = 4,87 e 3,31 ppm):**  $\delta$  1,25 (t, 3H,  $J$  = 7,5 Hz, H11), 2,93–3,05 (m, 2H, H7/H7'), 4,05 (t, 2H,  $J$  = 6 Hz, H8), 4,22 (q, 2H,  $J$  = 7,5 Hz, H10), 6,57 (dd, 1H,  $J_{6,5}$  = 9 Hz,  $J_{6,2}$  = 9 Hz, H6), 6,66 (s, 1H, H2), 6,73 (d, 1H,  $J$  = 9 Hz, H5).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_{CD_3OD}$  = 49,0 ppm):**  $\delta$  12,9 (C11), 36,4 (C7), 54,3 (C8), 61,8 (C10), 115,3 (C5), 116,0 (C2), 120,4 (C6), 125,6 (C1), 144,6 (C4), 145,3 (C3), 170,0 (C9).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 225 ( $M^+$ ), 152 (42), 123 (64), 103 (64), 74 (82).

**2,3,7,8,12,13-hexametoxi-10,15-diidro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annuleno [10].**



**Fórmula molecular:** C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> (MM = 450 g mol<sup>-1</sup>).

**Aspecto:** Sólido branco.

**Temperatura de fusão:** 223,2–224 °C.

**Rendimento:** 18% (55 mg, 0,122 mmol).

**CCD:** R<sub>f</sub> = 0,8 [Acetato de etila/ metanol, 4:1 (v/v)].

**IV (ATR, ν /cm<sup>-1</sup>):** 2988, 2930, 2825, 1606, 1509, 1258.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>CHCl<sub>3</sub></sub> = 7,27 ppm):** δ 3,54 (d, 3H, J = 15 Hz, H1'), 3,84 (s, 18H, H5), 4,75 (d, 3H, J = 15 Hz, H1), 6,83 (S, 6H, H3).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>CHCl<sub>3</sub></sub> = 77,0 ppm):** δ 36,2 (C1), 46,0 (C5), 113,0 (C3), 131,5 (C2), 147,7 (C4).

**EM (IE, 70 eV), m/z (%):** 450 ( M<sup>+</sup>,16), 435 (29), 419 (100), 314 (19), 299 (92), 268 (48), 151 (50).

## 4.8. Ensaio Biológicos

### 4.8.1. Avaliação da atividade nematocida

Para a realização do ensaio, os inóculos obtidos a partir de populações puras de *M. incognita*, multiplicadas isoladamente em plantas de tomateiros e mantidos em casa de vegetação. Para a extração dos ovos de nematoides, retiraram-se as raízes do tomateiro através de corte perineal das galhas. As raízes foram lavadas e picadas em pedaços e, em seguida, transferidas para o liquidificador com solução de hipoclorito de sódio 0,5%, sendo trituradas por 20 segundos em baixa rotação (BONETTI &

FERRAZ, 1981). Seguiu-se o peneiramento da suspensão triturada utilizando uma peneira com abertura de 0,074 mm acoplada a outra peneira de abertura de 0,025 mm. Após a lavagem e retirada dos resíduos, os ovos foram recuperados em um béquer com auxílio de uma pisseta com água.

A suspensão de ovos foi então utilizada para obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2) pela montagem de câmara de eclosão (MACHADO *et al.*, 2010). Os J2 obtidos após 24 h foram descartados e coletados aqueles produzidos após 48 h. A suspensão de J2 foi calibrada em câmara de Peters para 1000 J2/mL. O teste foi realizado em dois experimentos nas concentrações de 20 e 200 ppm (20% de DMSO) sendo os ensaios realizados em delineamento inteiramente casualizado em 5 repetições.

Os extratos de *M. pruriens* e *M. cinerea* (AM1, AM2, AM3, AM4, AM5, AM6, AM7, AM8) e a *L-dopa* foram avaliados quanto à mortalidade dos nematoides J2 de *Meloidogyne incognita* colocando-se 100 µL de cada solução preparada nas concentrações de 20 e 200 ppm em célula de placa de Elisa (capacidade de 300 µL/célula) e 100 µL da suspensão de J2 (concentração de 63 nematoides por µL). Após 48 h adicionou-se a cada célula da placa de Elisa duas gotas de NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> e imediatamente foi realizada a contagem dos nematoides. Foram caracterizados como mortos aqueles que apresentavam o corpo reto e inerte, e aqueles com o corpo retorcido como vivos (SEO *et al.*, 2013). O mesmo procedimento foi realizado para os ésteres sintetizados de [2] a [7].

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando SOFTWARE ASSISTAT.

#### **4.8.2. Ensaio Herbicida**

Os ésteres sintetizados foram avaliados quanto a sua atividade fitotóxica sobre a germinação de sementes de pepino (*Cucumis sativus*), corda de viola (*Ipomoea grandifolia*) e sorgo (*Sorghum bicolor*).

O estudo do potencial fitotóxico dos compostos foi realizado em experimentos separados para cada espécie em estudo. O delineamento adotado em cada experimento foi inteiramente casualizado, com três repetições, arranjados em esquema fatorial 2 x 12, sendo o primeiro fator composto por duas soluções com diferentes concentrações (100 e 200 ppm de cada composto) e o segundo fator pelo seguintes tratamentos:

Controle (H<sub>2</sub>O), controle (H<sub>2</sub>O + HCl), Dual Gold, Glifosato, a *L*-dopa e os compostos sintetizados 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10.

Como controle positivo, utilizou-se o herbicida comercial Dual Gold (s-metoclóro) comercializado pela empresa Syngenta®, e Glifosato comercializado pela empresa Roundup® empregando soluções aquosas com as mesmas concentrações citadas anteriormente.

Utilizou-se placa de Petri de 90 mm de diâmetro na qual foram adicionados, papel de germinação e 20 sementes de pepino e em seguida adicionado 5,0 mL da solução preparada. As mesmas foram identificadas, lacradas com plástico filme e levadas à câmara de germinação (B.O.D.) a 25 °C, na ausência de luz por 120 horas (5 dias). O mesmo procedimento foi realizado com semente de sorgo e corda de viola.

As soluções foram preparadas de maneira a se obter concentrações de 100 e 200 ppm contendo 0,3% de DMSO.

Após o período 5 dias, as placas foram congeladas a 0 °C por 24 h para facilitar o manuseio das plântulas na próxima etapa. Em seguida, as mesmas foram colocadas em placa escura e fotografadas. O comprimento da parte aérea e radicular das plântulas foi medido utilizando programa PHOTOMED 1.0. As sementes das plantas empregadas foram obtidas comercialmente.

Os resultados obtidos foram transformados em percentagem, considerando-se como 100% de crescimento observado no tratamento com água. A partir desses valores, calculou-se a percentagem de inibição da germinação das sementes para cada composto testado. Em seguida, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando SOFTWARE ASSISTAT.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

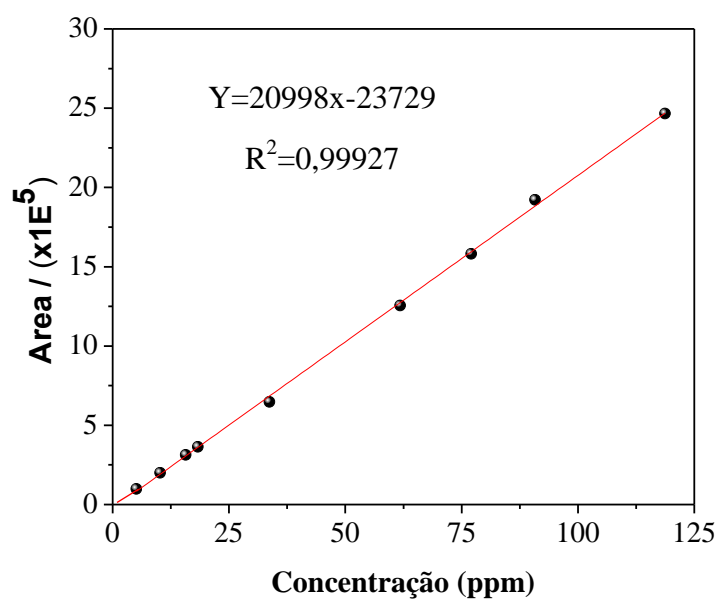
### 5.1. Isolamento e quantificação da *L*-dopa

Inicialmente as sementes moídas foram submetidas à extração em acetona com o intuito de retirar a parte graxa. Após este procedimento as sementes foram submetidas à extração com solução de etanol/água (1:1) por um período de 4 dias. O sólido foi eliminado e a solução concentrada sob pressão reduzida, obtendo-se um sólido amarelado que foi recristalizado em água quente obtendo-se a *L*-dopa pura a partir dos extratos AM1, AM2, AM7 e AM8. O rendimento de *L*-dopa extraída foi de 0,36 %, totalizando 14,5 g. A *L*-dopa pura foi utilizada nas reações para a obtenção dos ésteres.

Para a quantificação da *L*-dopa, as soluções padrão preparadas foram injetadas no HPLC e as áreas correspondentes a cada pico, em cada concentração, foram utilizadas para obtenção de uma curva padrão (**Tabela 2 e Figura 3**, p. 29 e 30).

**Tabela 2:** Dados das concentrações e áreas dos picos obtidos para os padrões de *L*-dopa.

Padrões	Concentrações (ppm)	Área
P0	0	0
P1	5,1	97725
P2	10,2	199371
P3	15,7	312880
P4	18,3	364414
P5	33,7	647221
P6	61,8	1255351
P7	77,1	1580861
P8	90,8	1921627
P9	118,7	2465813



**Figura 2:** Curva padrão da *L*-dopa.

A linearização dos dados da curva forneceu a equação linear  $Y = 20998x - 23729$  e  $R^2 = 0,99927$ . Dessa forma, foi possível obter a concentração de *L*-dopa presente nos extratos radiculares, parte aérea, sementes e folhas de *M. pruriens* e *M. cinerea*.

Foram preparadas soluções com as amostras dos extratos e injetadas nas mesmas condições que o padrão, obtendo-se assim os valores de área referente aos picos que apresentaram tempo de retenção igual ao padrão. Posteriormente, os valores das áreas obtidas foram substituídos na equação linear da curva padrão para a obtenção da concentração de *L*-dopa. Os dados são apresentados na (**Tabela 3**, p. 31).

**Tabela 3:** Dados de concentração e massa total de *L*-dopa nos extratos de *Mucuna* analisados.

Amostras*	Massa das amostras pesadas (g)	Massa das amostras mais fase móvel (g)	Área	Concentração (ppm)
AM4	0,0023	2,0297	1406045	68,09
AM3	0,0026	2,4635	1215617	51,74
AM12	0,0017	2,0623	968832	41,31
AM11	0,0016	2,0466	1047860	44,65
AM7	0,0009	2,0074	1346749	57,28
AM8	0,0009	2,0204	1930485	81,96
AM10	0,0015	2,0009	1311116	55,78
AM9	0,0017	2,0556	1967426	83,52

\* AM4 (*M. pruriens*) e AM3 (*M. cinerea*)= Extrato água/etanol, AM12 (*M. pruriens*) e AM11 (*M. cinerea*)= Extrato aquoso, AM7 (*M. pruriens*) e AM8 (*M. cinerea*)= Exsudatos radiculares, AM10 (*M. pruriens*) e AM9 (*M. cinerea*)= Extrato água/etanol

Considerando a massa das amostras pesadas de extrato como 100%, foi possível determinar a porcentagem de *L*-dopa nas amostras. Por fim, considerando a massa total do extrato como 100% e sabendo-se a porcentagem de *L*-dopa nas amostras, determinou-se a quantidade da mesma em cada extrato. Os dados estão apresentados na

**Tabela 4.**

**Tabela 4:** Dados da porcentagem e massa de *L*-dopa presente nos extratos.

Amostra	Massa de <i>L</i> -dopa nas amostra (g)	Teor de <i>L</i> -dopa nas amostras (%)	Massa total do extrato (g)	Massa de <i>L</i> -dopa nos extrato (g)
AM4	0,138	6,0	37,586	2,258
AM3	0,127	4,1	66,166	3,244
AM12	0,085	5,0	24,165	1,211
AM11	0,091	5,7	26,131	1,492
AM7	0,115	12,8	4,739	0,605
AM8	0,166	18,4	5,704	1,049
AM10	0,112	7,4	50,624	3,767
AM9	0,172	10,1	64,798	6,544

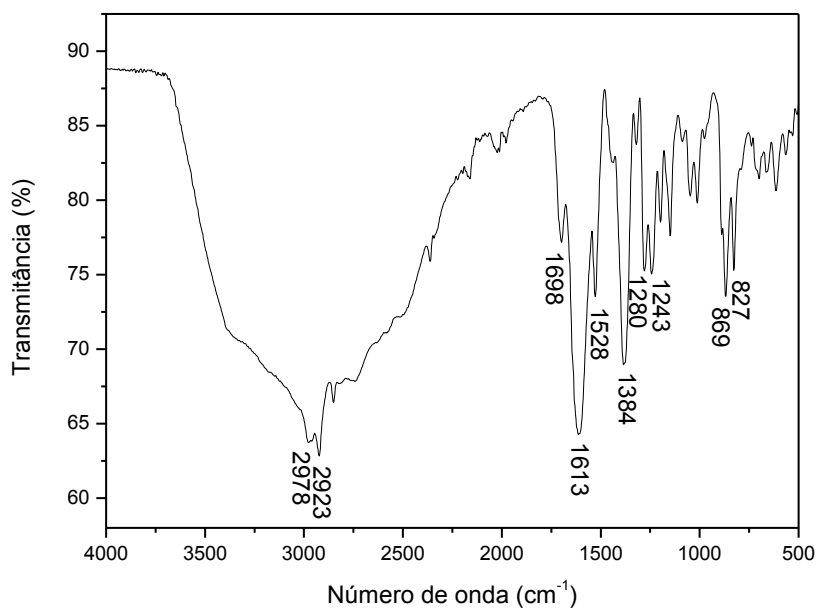
\* AM4 (*M. pruriens*) e AM3 (*M. cinerea*)= Extrato água/etanol, AM12 (*M. pruriens*) e AM11 (*M. cinerea*)= Extrato aquoso, AM7 (*M. pruriens*) e AM8 (*M. cinerea*)= Exsudatos radiculares, AM10 (*M. pruriens*) e AM9 (*M. cinerea*)= Extrato água/etanol

Verifica-se na tabela 4 que o extrato que apresentou maior porcentagem de *L*-dopa foi obtido dos exsudatos radiculares da *M. cinerea* (AM8) (18,4%) e *M. pruriens* (AM7) (12,8%). Os extratos obtidos utilizando a mistura de solvente água e etanol 1:1

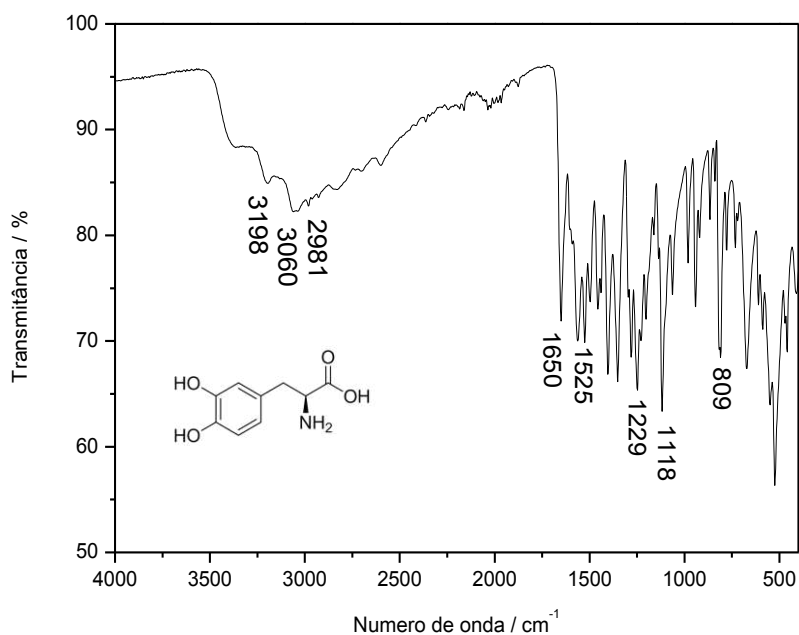
(v/v), (AM4, AM3, AM10 e AM9) apresentaram variação na porcentagem de *L*-dopa entre 4,1 e 10,1%. Já os extratos aquosos AM12 e AM11 obtidos das duas espécies *M. pruriens* e *M. cinerea* apresentaram 5,0 e 5,7% de *L*-dopa, respectivamente.

Também foi realizada uma injeção da amostra AM4 nas mesmas condições da solução padrão de *L*-dopa P1, no qual foi verificado o mesmo tempo de retenção (6,9 minutos).

A fim de confirmar a obtenção da *L*-dopa a partir da amostra (AM4), a mesma foi isolada por HPLC semi-preparativa para confirmação da molécula. Foram realizados espectros no infravermelho da mesma e do padrão para fins de comparação (**Figuras 3 e 4**, p. 33). Assim, foi possível verificar a presença de uma banda larga e intensa na região de 3600-2500  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos de ligação do O-H e N-H da *L*-dopa. Ambos os espectros obtidos apresentaram bandas semelhantes. Entretanto, no espectro da amostra AM4 foi possível verificar maior intensidade da banda O-H, devido a possível presença de moléculas de água no extrato que realizam ligação de hidrogênio com a molécula de *L*-dopa. As bandas N-H e O-H apresentam-se sobrepostas, pois, os aminoácidos são substâncias que possuem em suas estruturas um grupo carboxila (COOH) e um grupo amino (NH<sub>2</sub>). Além dessas bandas, foi possível verificar a presença de uma banda em 1613 e 1650  $\text{cm}^{-1}$  para as duas amostras analisadas, sendo característica de estiramento da ligação C=O de ácido carboxílico. As bandas em 1525 (padrão) e 1528  $\text{cm}^{-1}$  (AM4) correspondem aos estiramentos das ligações C=C do anel aromático.



**Figura 3:** Espectro no IV (ATR) da amostra AM4.



**Figura 4:** Espectro no IV (ATR) da *L*-dopa.

Outra técnica experimental utilizada para confirmação da estrutura de *L*-dopa foi a espectrometria de massas. A obtenção do espectro de massas foi possível a partir da técnica de derivatização (silação) da amostra, uma vez que a *L*-dopa, sendo muito polar, apresenta dificuldade de volatilização, ocasionado pelas ligações de hidrogênio

intramolecular o que aumenta a temperatura de ebulição da mesma. Na primeira etapa da reação de sililação, a *L*-dopa foi desprotonada pela molécula de piridina e, em seguida, foi realizada a reação com o BSTFA para a formação do derivado sililado. O cromatograma obtido da *L*-dopa sililada apresenta porcentagem relativa de 84% no tempo de retenção de 38,153 (Figura 5). O espectro de massas desse produto está representado na Figura 6.

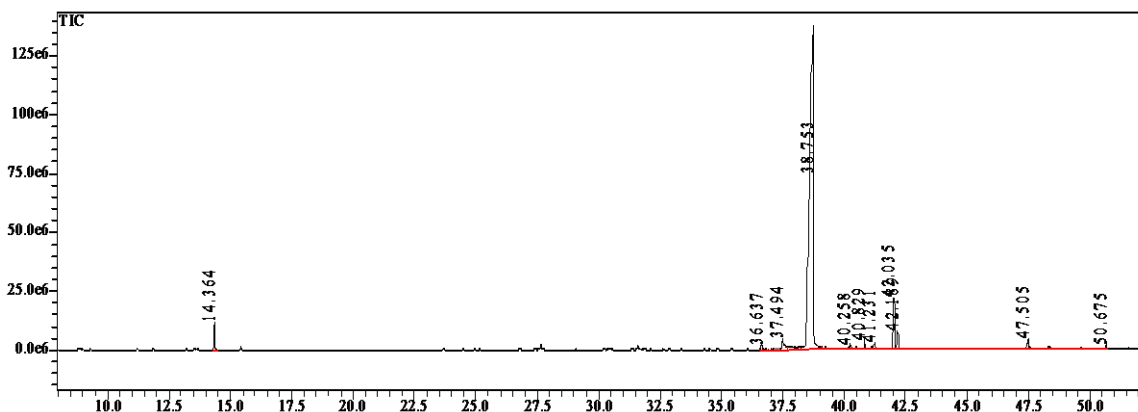


Figura 5: Cromatograma da amostra AM4.

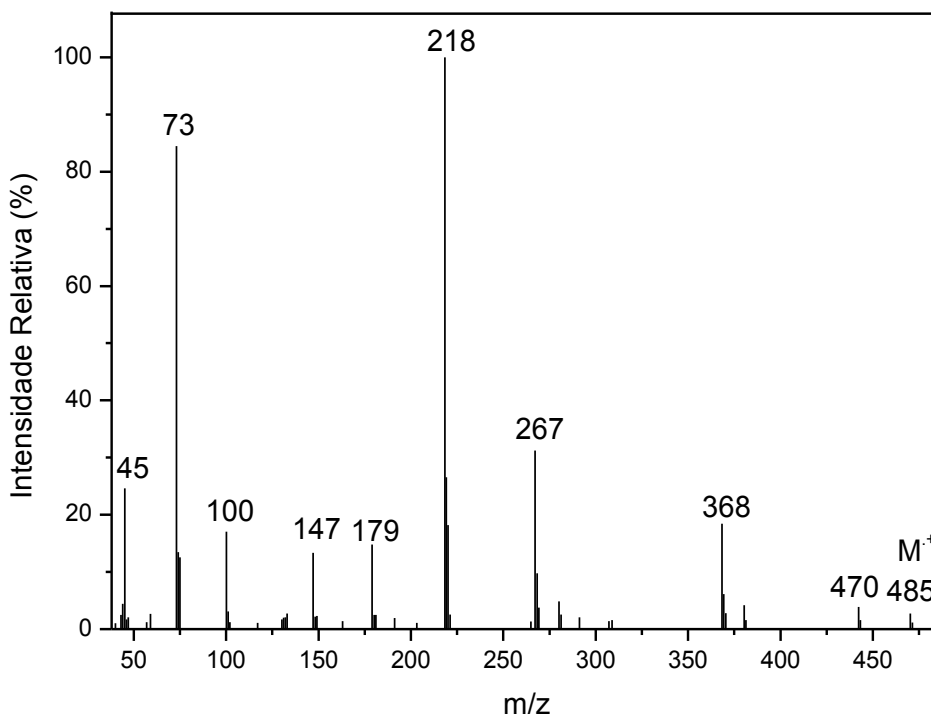
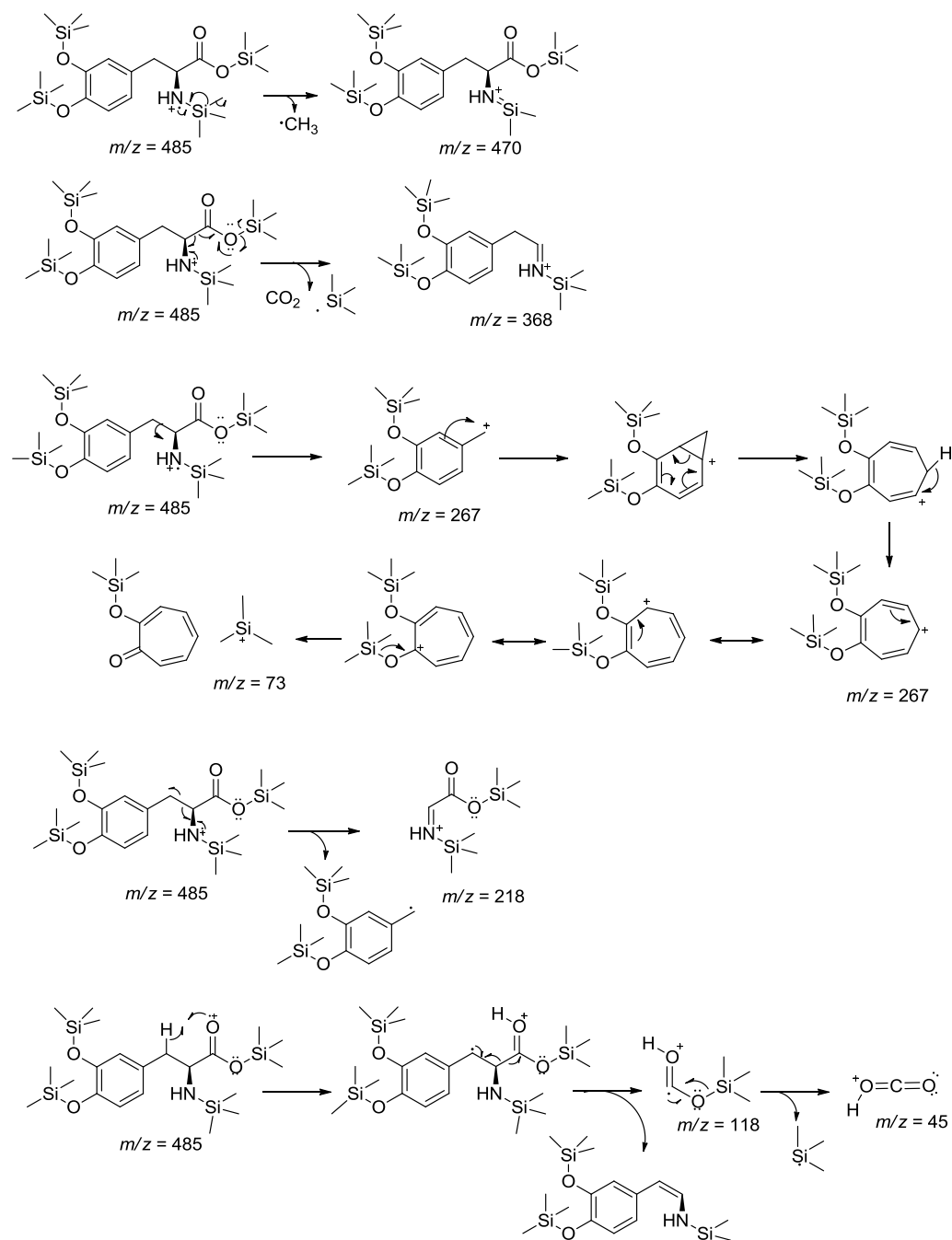


Figura 6: Espectro de massas (IE, 70 eV) da amostra (AM4) sililada.

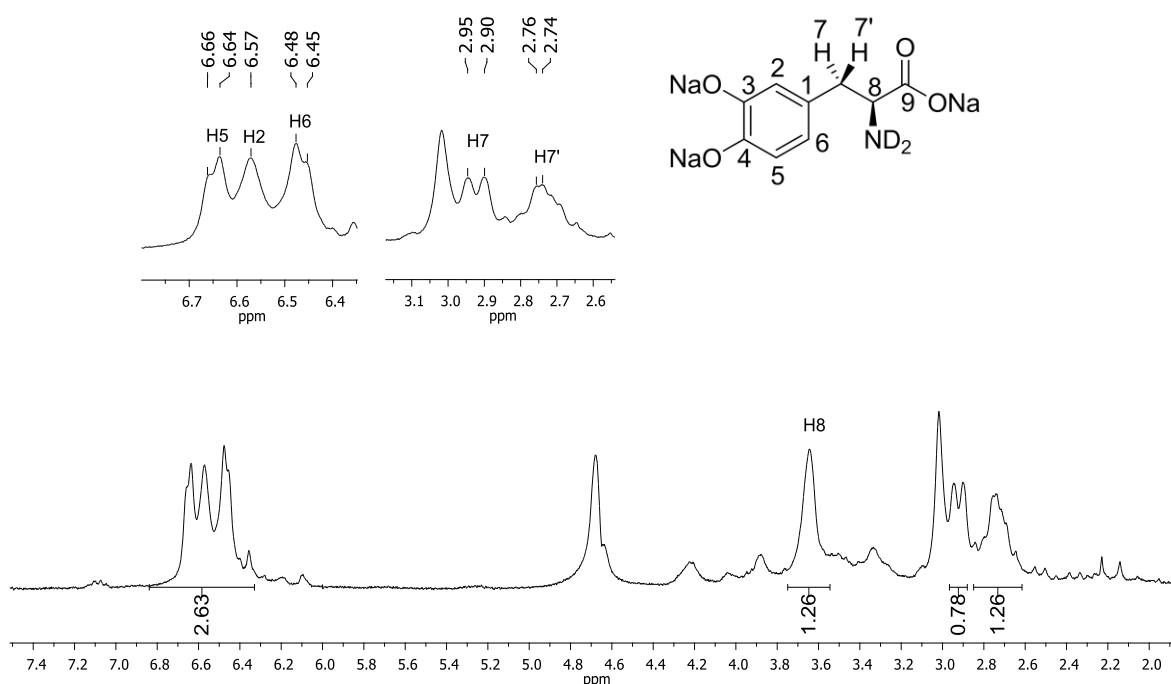
As principais fragmentações do produto sililado estão representadas no **Esquema 9** e confirma a estrutura da *L*-dopa quantificada.



**Esquema 9:** Principais fragmentações sofridas pelo composto sililado da amostra AM4 (IE, 70 eV).

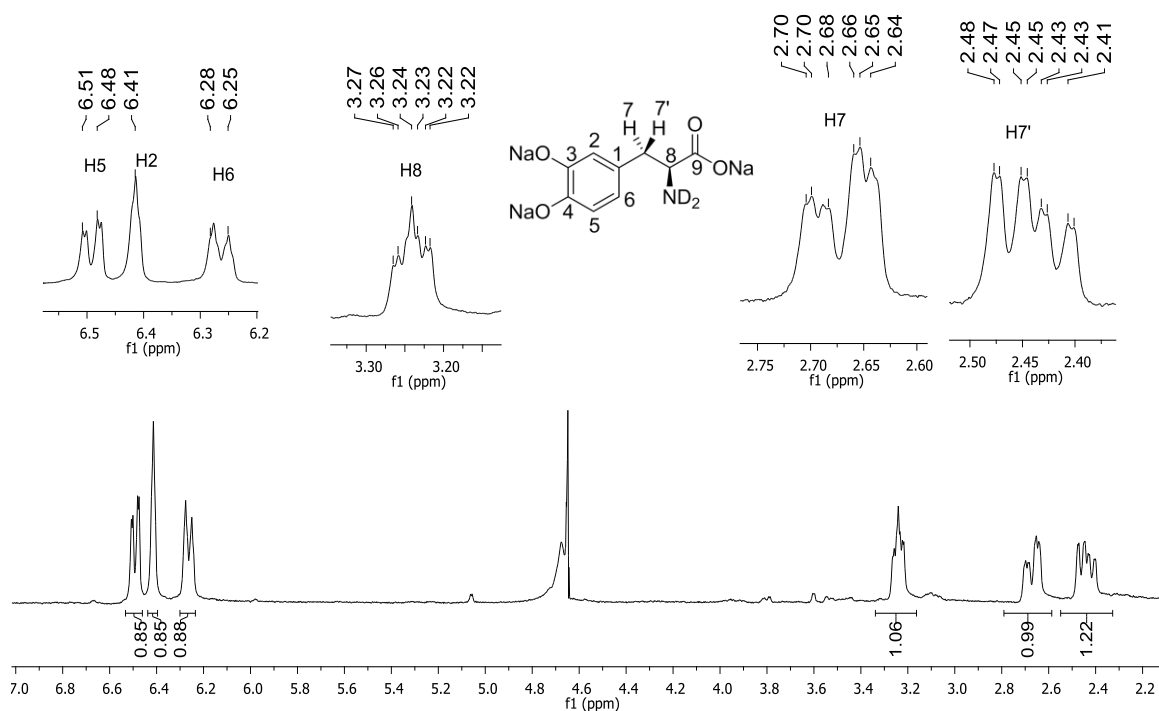
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da amostra AM4 (**Figura 7**, p. 36) observa-se um multipletto entre  $\delta$  2,74 e 2,95, integrado para um hidrogênio atribuído a H7' e o dupletto em  $\delta$  2,95 e  $J = 15$  Hz atribuído ao H7. O fato desses hidrogênios serem diastereotópicos

faz com que apresentem deslocamentos químicos diferentes. Os sinais dos hidrogênios ligados ao nitrogênio não aparecem no espectro, devido ao efeito de troca química do átomo de deutério do solvente com os hidrogênios do NH<sub>2</sub>. Já na região de hidrogênios aromáticos, o simpleto em  $\delta$  6,57 foi atribuído a H2 e os dupletos em  $\delta$  6,47 ( $J = 9$  Hz) e 6,65 ( $J = 9$  Hz), integrados para um hidrogênio cada foram atribuídos a H6 e H5, respectivamente (PAVIA, 2012).



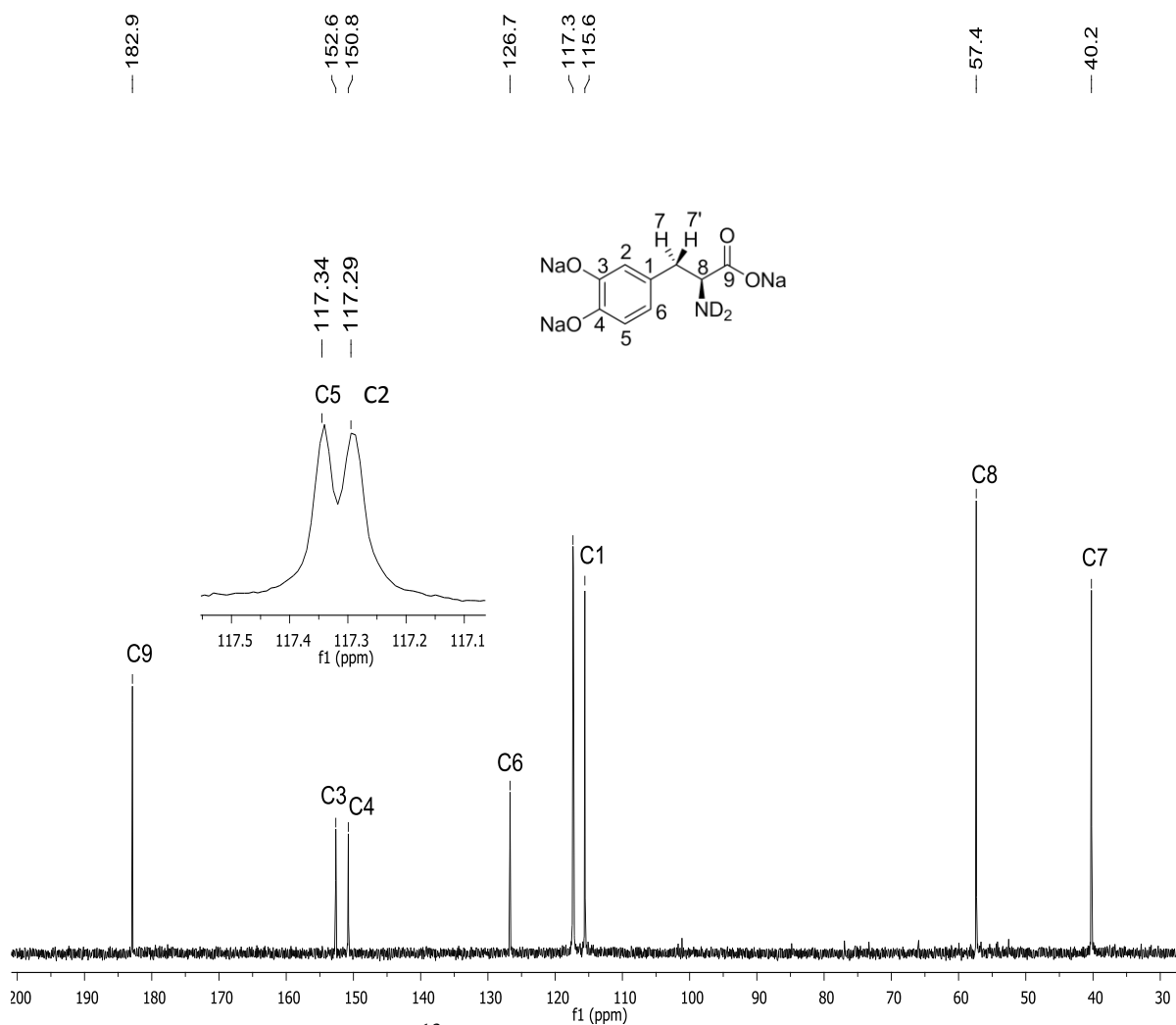
**Figura 7:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O + Na  $\delta_{D_2O} = 4,79$ ) da AM4.

Realizou-se o espectro de RMN de <sup>1</sup>H do padrão de *L*-dopa (**Figura 8**, p. 37) a fim de comparar com o da amostra. Na região de menor deslocamento químico, foi observado o multiplete integrado para um hidrogênio entre  $\delta$  2,41-2,48 e o multiplete em  $\delta$  2,64-2,70 que foram atribuídos a H7' e H7. Já o multiplete em  $\delta$  3,33-3,27 foi atribuído a H8. O duplete em  $\delta$  6,26 foi atribuído a H6 ( $J = 9$  Hz) que representa um dos hidrogênios do anel aromático, e o duplete em  $\delta$  6,49 foi atribuído a H5 ( $J = 9$  Hz) e por fim, o simpleto em  $\delta$  6,41 foi atribuído ao H2.



**Figura 8:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + \text{Na}$   $\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 4,79$ ) da *L*-dopa.

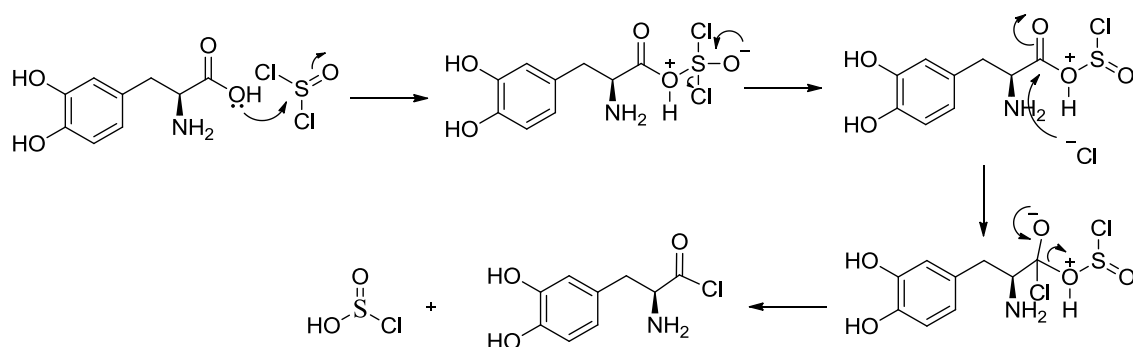
No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da *L*-dopa (**Figura 9**, p. 38) são observados 9 sinais. O sinal em  $\delta$  182,9 foi atribuído ao carbono carbonílico (C9), uma vez que o átomo de carbono possui hibridização  $\text{sp}^2$  e está ligado ao oxigênio. O sinal em  $\delta$  117,34 e 117,29 foi atribuído a C5 e C2, respectivamente. Já os sinais em  $\delta$  152,6 e 150,8 foram atribuídos a C3 e C4, respectivamente, pois esses átomos de carbono estão ligados diretamente ao átomo de oxigênio sendo, portanto, encontrados em maiores deslocamentos químicos. O sinal em  $\delta$  126,7 foi atribuído a C6, o sinal em  $\delta$  115,6 a C1 e os sinais em  $\delta$  57,4 e  $\delta$  40,4 foram atribuídos a C8 e C7, respectivamente.



**Figura 9:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + \text{Na}$ ) da *L*-dopa.

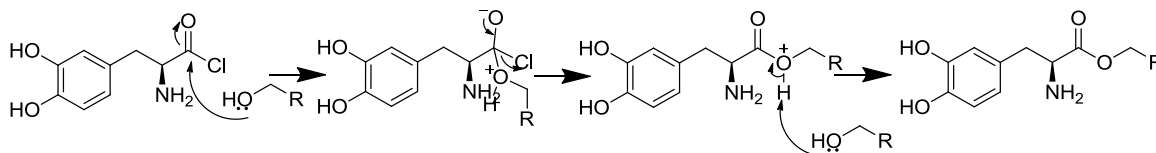
## 5.2. Síntese dos compostos [2-9]

Na reação de síntese dos compostos [2-9], primeiramente o grupo carboxílico da *L*-dopa reagiu com o cloreto de tionila por meio do ataque nucleofílico. Após restituição da carbonila e liberação do íon cloreto, o átomo de cloro o carbono da carbonila e após, rearranjo interno e ruptura de ligação, está foi convertida no respectivo cloreto de acila (cloreto de ácido) conforme proposta mecanística apresentada no **Esquema 10** (p. 39). Na segunda etapa, o cloreto de (*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoíla formado foi submetido a reação com álcoois para a obtenção dos ésteres desejados [2-9] com rendimentos que variaram de 19 a 95%.



**Esquema 10:** Mecanismo da reação de formação do cloreto de acila.

A síntese dos ésteres ocorre por meio de ataque nucleofílico do par de elétrons do oxigênio do álcool ao carbono eletrofílico (carbono da carbonila) do cloreto de (*S*)-2-amino-3-(3,4-dihidroxifenil)propanoíla, levando a formação do intermediário tetraédrico, que após restituição da carbonila e liberação do cloreto, tem-se a formação do respectivo éster protonado. Em seguida, hidroxila do álcool, presente na reação, remove o próton levando assim a formação dos ésteres em sua forma neutra. O mecanismo dessa reação está representado no **Esquema 11**.



**Esquema 11:** Mecanismo geral de formação dos ésteres a partir do cloreto de acila.

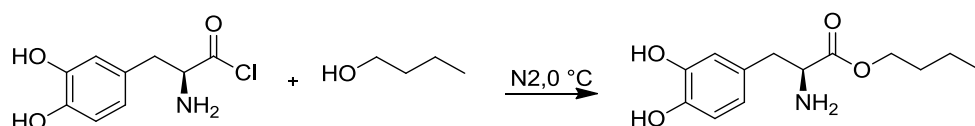
As reações de obtenção dos ésteres [2-9] duraram em média 24 horas e os produtos foram purificados e isolados por coluna cromatográfica de sílica gel. Apenas o (*S*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de metila foi obtido sem purificação.

A síntese dos ésteres foi confirmada por meio da análise dos espectros de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e espectros de massa.

Devido à alta similaridade dos compostos sintetizados optou-se por discutir apenas os dados espectroscópicos (IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e espectrométricos (massas) referentes à molécula [5]. Os espectros do IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e de massas obtidos para as demais substâncias [2 a 3 e 5 a 10] encontram-se no apêndice p. 66. Os dados espectrométricos dos mesmos encontram-se descritos nos procedimentos sintéticos (P. 18 a 24).

### 5.3 Síntese do (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila [5]

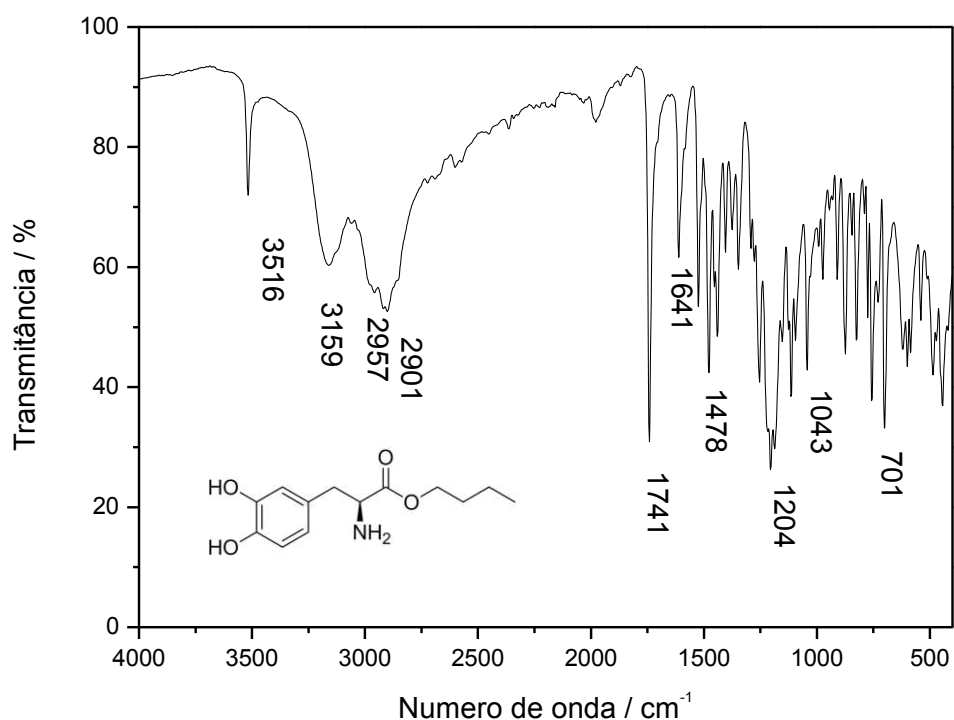
A síntese do (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila ocorreu por meio de reação de substituição nucleofílica entre o cloreto de (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoila formado *in situ* e o álcool butílico, ocorrendo a substituição do átomo de cloro pela hidroxila do álcool (**Esquema 12**).



**Esquema 12:** Esquema da reação de obtenção do (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila [5].

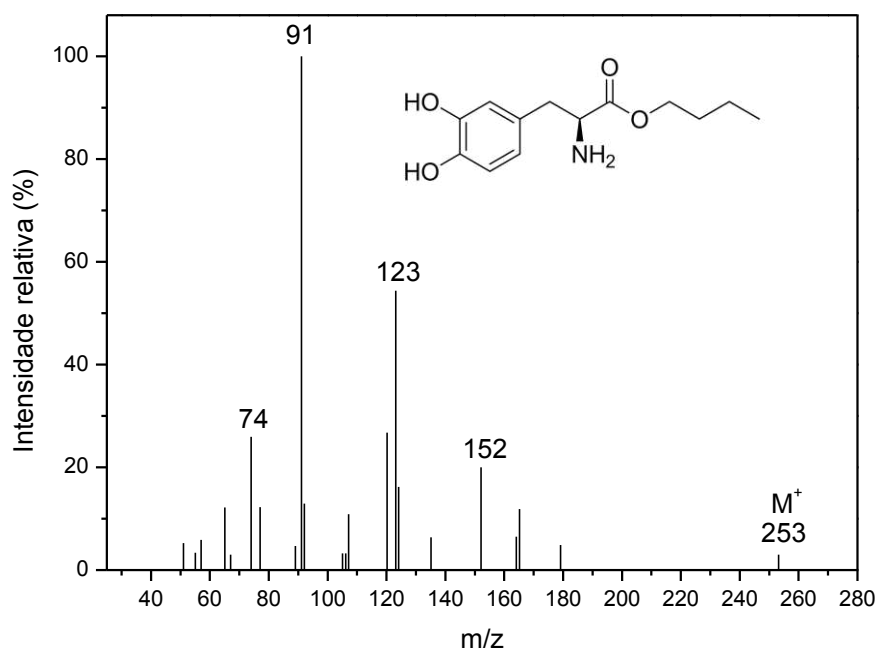
Analisando o espectro no infravermelho do composto [5] (**Figura 10**, p. 41) observa-se a presença de bandas na região de 3516 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento N-H, e em 2901 cm<sup>-1</sup> referente aos estiramentos de ligação do O-H. Desta forma a principal diferença observada entre os espectros do composto 5 com o da L-dopa (**Figura 4**, p. 33) é a presença de uma banda forte em 1742 cm<sup>-1</sup> característica do estiramento da ligação C=O comprovando a formação do éster (BARBOSA, 2013).

A presença de algumas bandas é característica para a L-dopa assim como para os compostos obtidos, como por exemplo: as bandas em 1118 cm<sup>-1</sup> no espectro da L-dopa e em 1204 cm<sup>-1</sup> do (S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de butila, referente ao estiramento da ligação C-O, também foi observado os estiramentos em 1650 e 1611 cm<sup>-1</sup> atribuídos ao estiramentos N-H e os estiramentos em 1525 e 1478 cm<sup>-1</sup>, referentes a ligação de C=C de compostos aromáticos, respectivamente (BARBOSA, 2013).

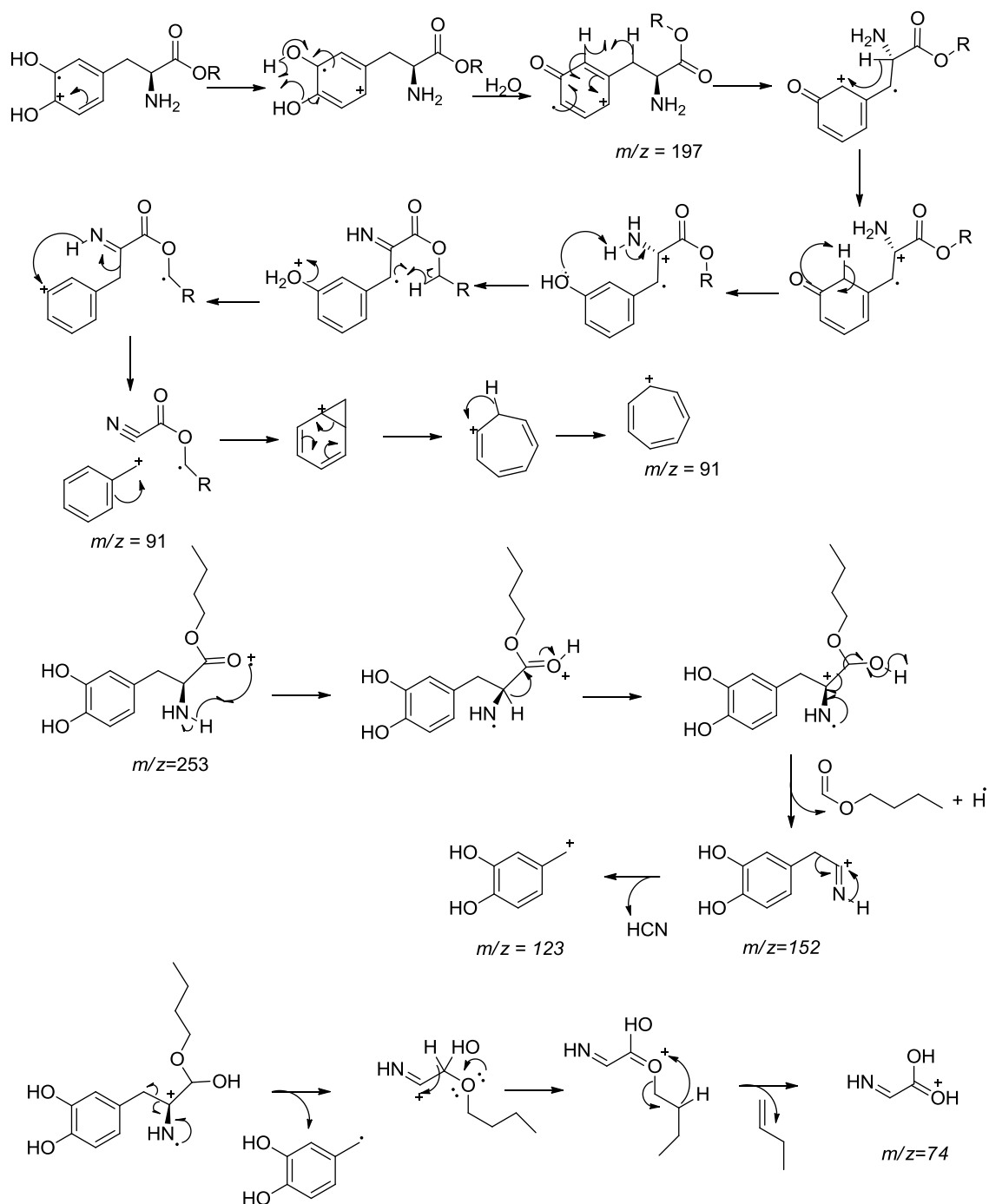


**Figura 10:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [5].

Ao analisarmos o espectro de massas (**Figura 11**, p. 42), foi possível observar o pico correspondente ao íon molecular ( $M^+$ ) com  $m/z = 253$  e também o pico base com  $m/z = 91$ . Alguns dos principais picos observados no espectro de massas do composto [5] são originados a partir da clivagem da ligação C-C do carbono  $\beta$ -carbonílico dando origem ao pico com  $m/z = 123$ , que posteriormente sofre rearranjo formado o íon tropílico. Outra fragmentação observada ocorre da clivagem da ligação  $\alpha$ -carbonílico, formando um pico de  $m/z = 152$ , que após alguns rearranjos formaram o pico de  $m/z = 74$ . As fragmentações para formação desses picos podem ser observadas no **Esquema 13** (p. 43).



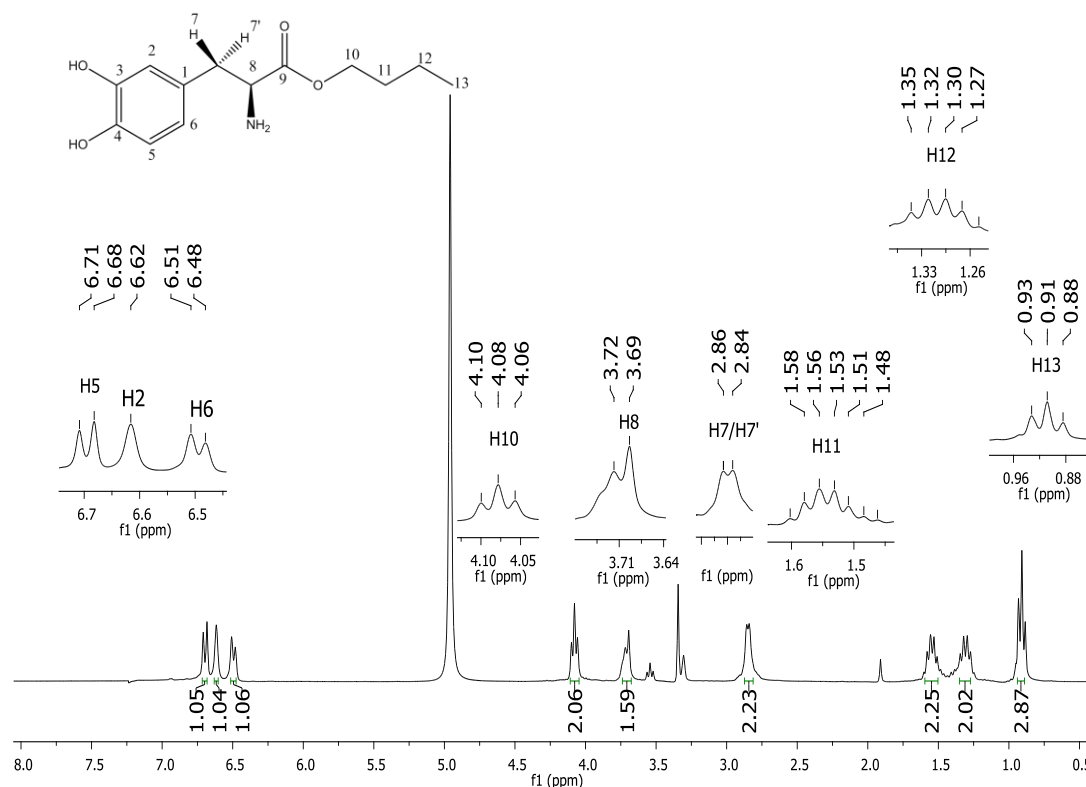
**Figura 11:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [5].



**Esquema 13:** Proposta de fragmentação para o composto [5] no espectro de massas (IE, 70 eV).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto [5] (Figura 12, p. 44), os sinais mais desblindados são referentes aos hidrogênios aromáticos. Esses sinais correspondem a um duplete em  $\delta$  6,70 (H5), simpleto em  $\delta$  6,62 atribuído a H2 e duplete em  $\delta$  6,50 (H6). O tripleto em  $\delta$  4,08, que está próximo ao grupamento éster é referente à H10. O

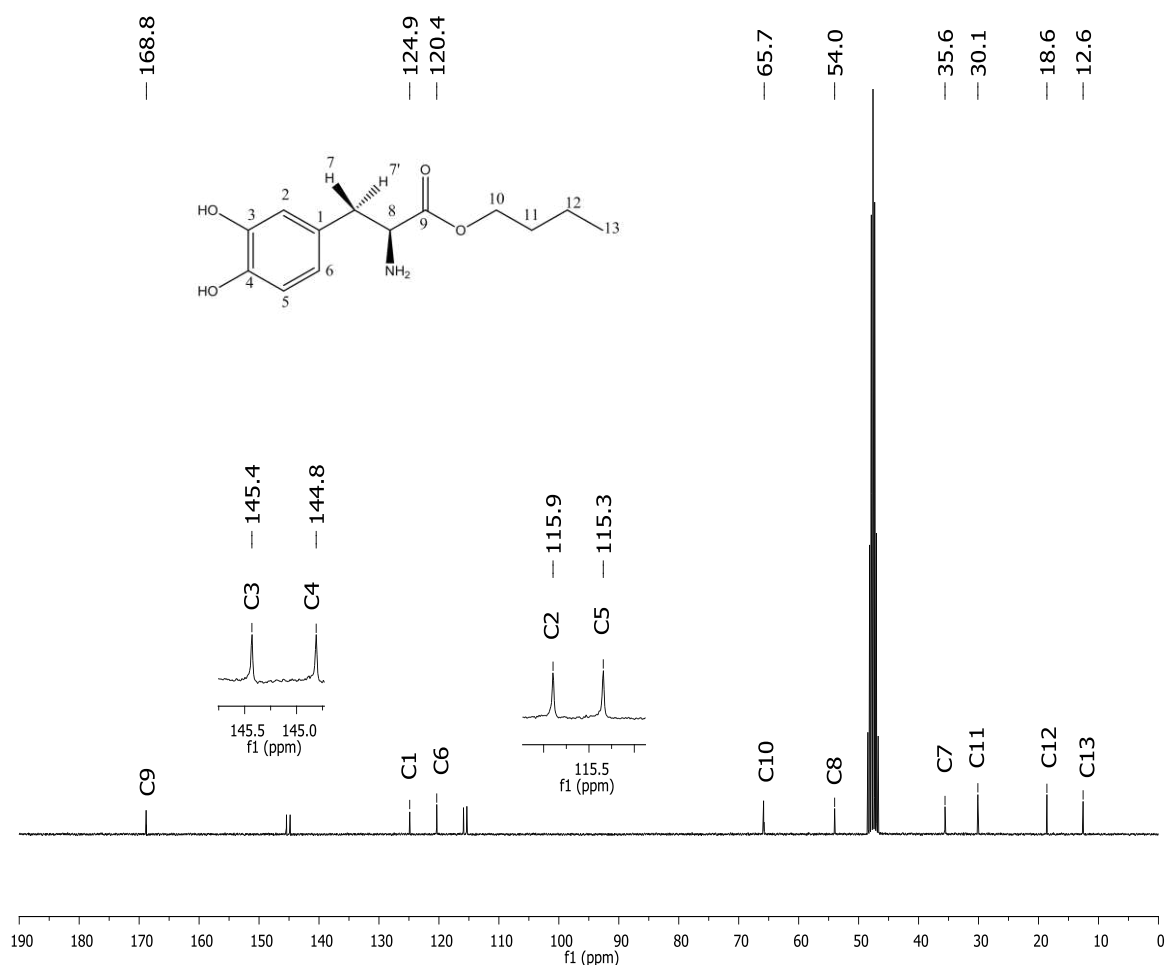
sinal entre  $\delta$  3,69-3,72, observado como multipletto, foi atribuído a H8. Já o multipletto em  $\delta$  2,84-2,86 foi atribuído aos hidrogênios diastereotópicos H7 e H7'. Os dois multiplettos em  $\delta$  1,48-1,58 e  $\delta$  1,27-1,35 correspondem aos sinais dos hidrogênios metilênicos H11 e H12, respectivamente. Por fim, tem-se um tripletto referente aos hidrogênios da metila em  $\delta$  0,90 correspondente a H13.



**Figura 12:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$  e  $3,31$ ) do composto [5].

Pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 13, p. 45), foi observado o sinal em  $\delta$  168,8 que foi atribuído ao carbono carbonílico C9 que esta dentro da faixa descrita na literatura (165-175 ppm), confirmando a presença da função orgânica éster. A maior desblindagem de C3 ( $\delta$  145,4) e C4 ( $\delta$  144,8) é ocasionada pela presença das hidroxilas (grupo retirador de elétrons) nas posições *meta* e *para* do anel benzênico. O sinal em  $\delta$  65,7 foi atribuído ao carbono ligado ao oxigênio (C10) e o sinal em  $\delta$  54,0 foi atribuído ao carbono C8 ligado ao grupo amino. Os demais sinais em  $\delta$  35,6, 30,1, 18,6 e 12,5 foram atribuídos aos carbonos C7, C11, C12 e C13, respectivamente.

Os dados referentes aos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e dos demais compostos sintetizados estão listados na **Tabela 5** (p. 44).



**Figura 13:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$  ppm) do composto [5].

Alguns sinais das moléculas sintetizadas foram comuns para todos os ésteres sintetizados. A diferença entre eles está relacionada com a estrutura dos álcoois utilizados na síntese. Os álcoois lineares deram origem a ésteres lineares [4], [6], [7] e [9] que apresentaram sinais nas regiões de  $\delta$  0,88-0,21 referentes aos hidrogênios dos grupos metila ( $\text{CH}_3$ ) que está de acordo com o descrito na literatura ( $\delta$  0,70-1,30 ppm), bem como o multipletto em  $\delta$  1,2-1,4 ppm referente aos hidrogênios metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) que se encontram dentro dessa faixa segundo a literatura ( $\delta$  1,27-1,68). Já os ésteres aromáticos obtidos [3] e [8], apresentaram sinais entre  $\delta$  7,43-10,45. Estes hidrogênios encontram-se em maiores deslocamentos químicos devido ao efeito anisotrópico do anel, gerado pelos elétrons do sistema  $\pi$  (PAVIA *et al.*, 2012). Os valores de

deslocamento químicos e multiplicidades dos compostos encontram-se descritos na **tabela 5**.

**Tabela 5:** Tabela de atribuição dos hidrogênios, deslocamento químico e multiplicidades dos compostos [2] a [4], [6] a [9] do RMN de  $^1\text{H}$ .

Compostos							
$\delta$ (ppm), multiplicidade							
H	[2]	[3]	[4]	[6]	[7]	[8]	[9]
<b>H2</b>	6,73, s	6,67-6,76, m	6,68, s	6,65, s	6,7, s	8,05, s	6,66, s
<b>3,4-OH</b>	-	-	-	-	-	5,13, s	-
<b>H5</b>	6,81, d	6,67-6,76, m	6,74, d	6,72, d	6,75, d	8,13, d	6,73, d
<b>H6</b>	6,62, d	6,51, dd	6,57, d	6,52, d	6,59, t	7,9, d	6,57, dd
<b>H7/H7'</b>	3,20-307, m	3,01-3,03, m	3,01-3,03, m	2,96-2,98, m	3,04-3,06, m	4,35-4,48 m	2,93-3,05, m
<b>H8</b>	4,28, sl	4,08-4,14, m	4,08-4,14, m	4,04-4,10, m	4,13, sl	5,56, sl	4,05, t
<b>H10</b>	3,89, s	5,19, s	4,08-4,14, m	4,04-4,10, m	5,00-5,11, m	-	4,22, q
<b>H11</b>	-	-	1,58-1,68, m	1,95, s	1,26, d	10,02, s	1,25, t
<b>H12</b>	-	7,33, s	0,90, t	1,27-1,33, m	1,21, d	10,02, s	-
<b>H13</b>	-	7,33, s	-	1,27-1,33, m	-	10,02, s	-
<b>H14</b>	-	7,33, s	-	1,27-1,33, m	-	10,45, d	-
<b>H15</b>	-	7,33, s	-	1,27-1,33, m	-	-	-
<b>H16</b>	-	7,33, s	-	0,88-0,91, m	-	-	-
<b>H17</b>	-	-	-	0,88-0,91, m	-	-	-
<b>NH<sub>2</sub></b>	-	4,59, s	-	-	-	4,89, d	-

Os dados referentes aos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos sintetizados também foram listados na **Tabela 6** (p. 47). Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ésteres também apresentaram alguns sinais em comum, os carbonos dos compostos diferem entre si de acordo com o álcool utilizado, os ésteres lineares [4], [5], [6], [7] e [9] apresentam sinais de carbonos com  $\delta$  9-13 referentes a carbono metila ( $\text{CH}_3$ ), esses valores de deslocamento químico estão dentro da faixa esperada  $\delta$  8-30, bem como os  $\delta$  20,8-37,0 referentes às absorções de metileno ( $\text{CH}_2$ ) que também estão dentro da faixa descrita na literatura ( $\delta$  15-55). Carbonos ligados diretamente ao átomo de oxigênio do grupamento éster apresentaram deslocamentos químicos maiores  $\delta$  52,2–70,5 devido à

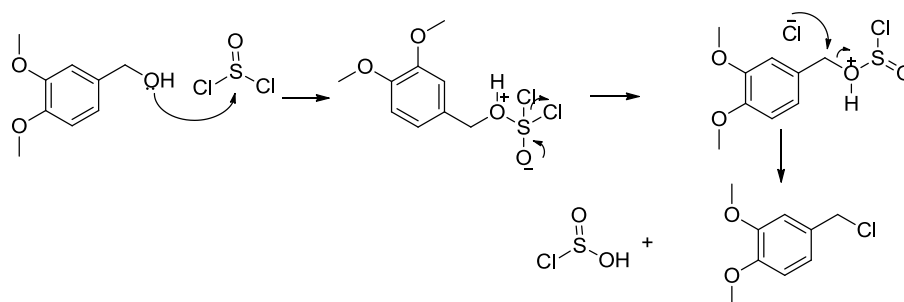
eletronegatividade do oxigênio, esses valores de deslocamento químico estão de acordo com a literatura ( $\delta$  40-80). Já os ésteres aromáticos [3] e [8] obtidos, apresentaram de  $\delta$  116,2-145,7, pois, os carbonos benzílicos apresentam  $\delta$ 110-175, os valores maiores de deslocamento químico são devido ao campo anisotrópico do anel gerado pelos elétrons do sistema  $\pi$  (PAVIA, 2012).

**Tabela 6:** Tabela de atribuição dos carbonos e deslocamento químico dos compostos de [2] a [4], [6] a [9] do RMN de  $^{13}\text{C}$ .

	Compostos						
	[2]	[3]	[4]	[6]	[7]	[8]	[9]
<b>C1</b>	120,2	127,9	125,4	125,8	124,9	120,6	125,6
<b>C2</b>	145,5	115,9	115,6	115,8	115,9	53,9	116,0
<b>C3</b>	115,8	145,6	145,5	145,3	145,2	145,7	145,3
<b>C4</b>	115,4	144,4	144,4	144,6	144,7	145,7	144,6
<b>C5</b>	144,8	115,2	115,3	115,2	115,4	53,0	115,3
<b>C6</b>	124,7	120,3	120,1	120,2	120,4	56,5	120,4
<b>C7</b>	35,4	36,2	36,3	38,3	35,7	18,6	36,4
<b>C8</b>	54,0	54,2	54,2	54,4	53,9	35,9	54,3
<b>C9</b>	169,1	169,6	169,8	170,8	168,3	169,9	170,0
<b>C10</b>	52,2	67,5	67,2	67,7	70,5	145,7	61,8
<b>C11</b>	-	134,9	21,4	23,2	20,6	125,3	12,9
<b>C12</b>	-	126,6	9,0	22,5	20,6	125,3	-
<b>C13</b>	-	128,3	-	29,9	-	117,1	-
<b>C14</b>	-	125,3	-	28,6	-	116,2	-
<b>C15</b>	-	128,2	-	37,0	-	145,0	-
<b>C16</b>	-	126,9	-	20,8	-	-	-
<b>C17</b>	-	-	-	13,0	-	-	-

A reação da *L*-dopa com o álcool 3,4-dimetoxibenzílico não formou o éster esperado, porém deu origem a um produto secundário [10]. Esse composto foi formado através de uma reação de substituição nucleofílica do álcool com cloreto de tionila, formado assim o cloreto de alquila (**Esquema 14**, p. 48). O par de elétrons do álcool ataca o enxofre polarizado e após rearranjo interno, um átomo de cloro é liberado. O íon

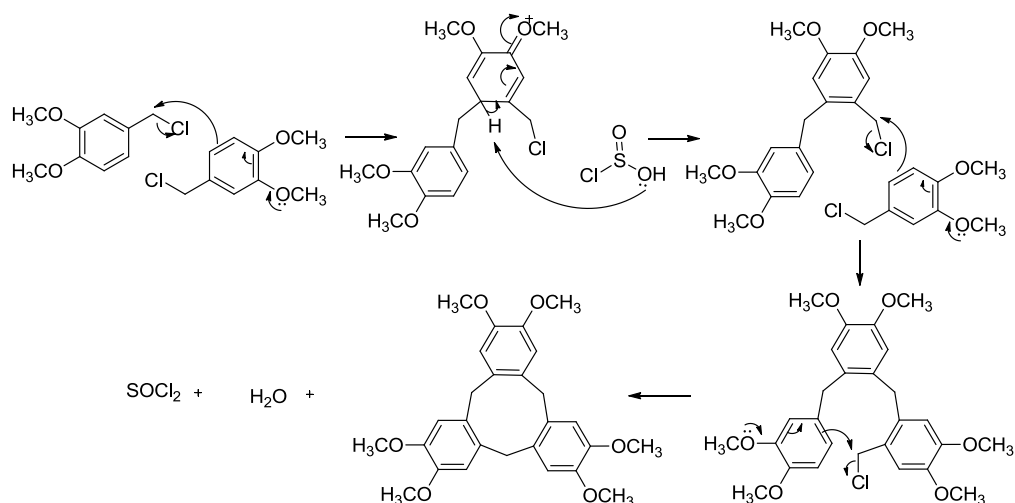
cloreto ataca o oxigênio eletrofílico promovendo a ruptura da ligação, formando o respectivo cloreto.



**Esquema 14:** Mecanismo da reação de formação do cloreto de alquila.

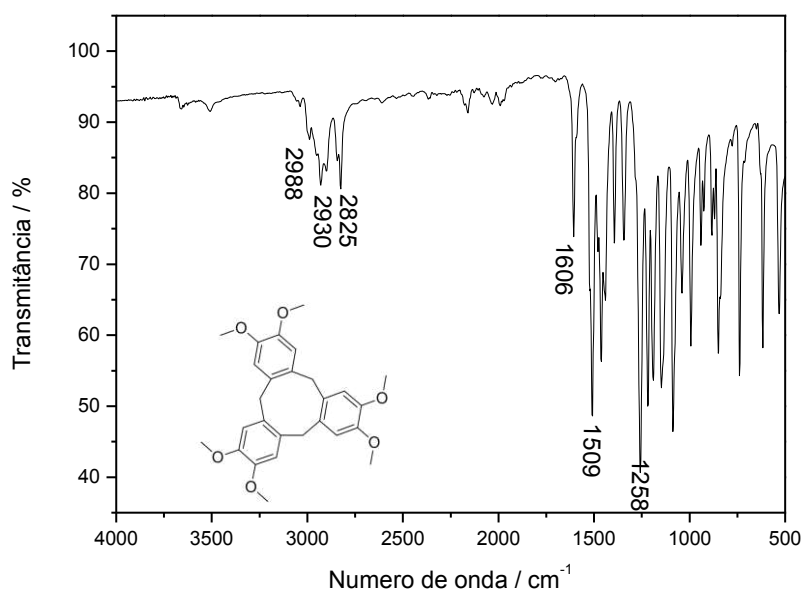
Na segunda etapa, duas moléculas do cloreto de 3,4-dimetoxibenzílico formado reagiram entre si levando à formação da molécula 2,3,7,8,12,13-hexametoxi-10,15-diidro-5*H*-tribenzo[*a,d,g*][9]annuleno **[10]** (**Esquema15**, p. 49).

A síntese do composto **[10]** ocorreu por meio de substituição eletrofílica aromática. O anel aromático age como nucleófilo atacando o carbono eletrofílico da molécula. O mecanismo ocorreu em duas etapas: na primeira etapa ocorre o ataque nucleofílico (adição do eletrófilo) originando um intermediário catiônico. Essa etapa é lenta, pois, ocorre interrupção da aromaticidade. Na segunda etapa, ocorre desprotonação e restauração da eletrofilicidade. O intermediário catiônico apesar de ser menos estável que o material de partida, é consideravelmente estável para ser formado devido à deslocalização eletrônica que ocorre através do anel aromático. A carga positiva formada pode ser deslocalizada com o oxigênio do grupo metoxila na posição *para*, que “ativa” o anel aromático, tornando-o mais reativo.



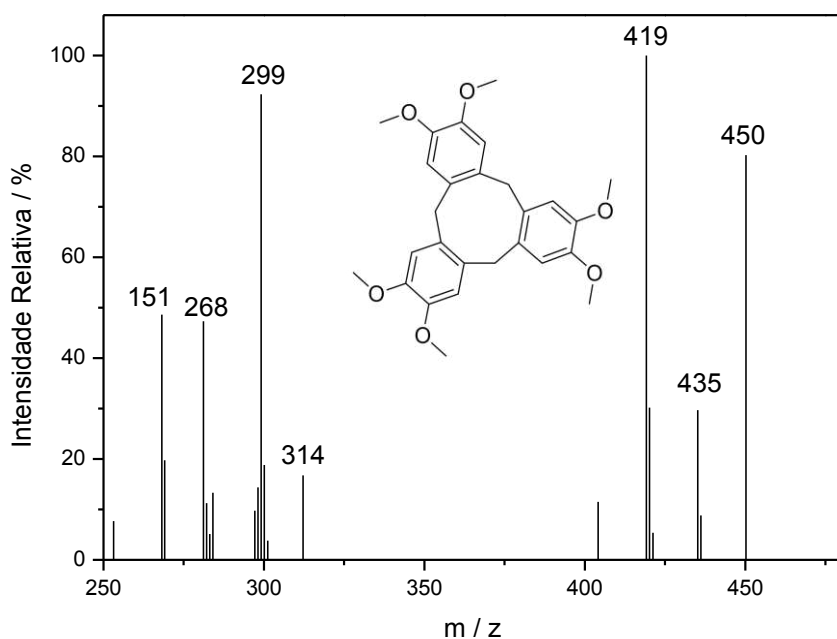
**Esquema 15:** Proposta do mecanismo de formação do composto [10].

A fim de confirmar a estrutura do composto foram feitas análises por IV, CG-MS, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Analisando o espectro de infravermelho do composto [10] (**Figura 14**), observa-se a presença de bandas em 2988, 2930 e 2825  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento  $\text{R-O-CH}_3$  de éter, bem como a banda 1606  $\text{cm}^{-1}$  de  $\text{C}=\text{C}$  de aromático. Outra banda característica dessa estrutura é a em 1509  $\text{cm}^{-1}$  referente a ligação  $\text{C-O}$  de éter, e também a banda em 1258  $\text{cm}^{-1}$  de estiramento assimétrico  $=\text{C-O-C}$  de alquil aril éter (BARBOSA, 2013).

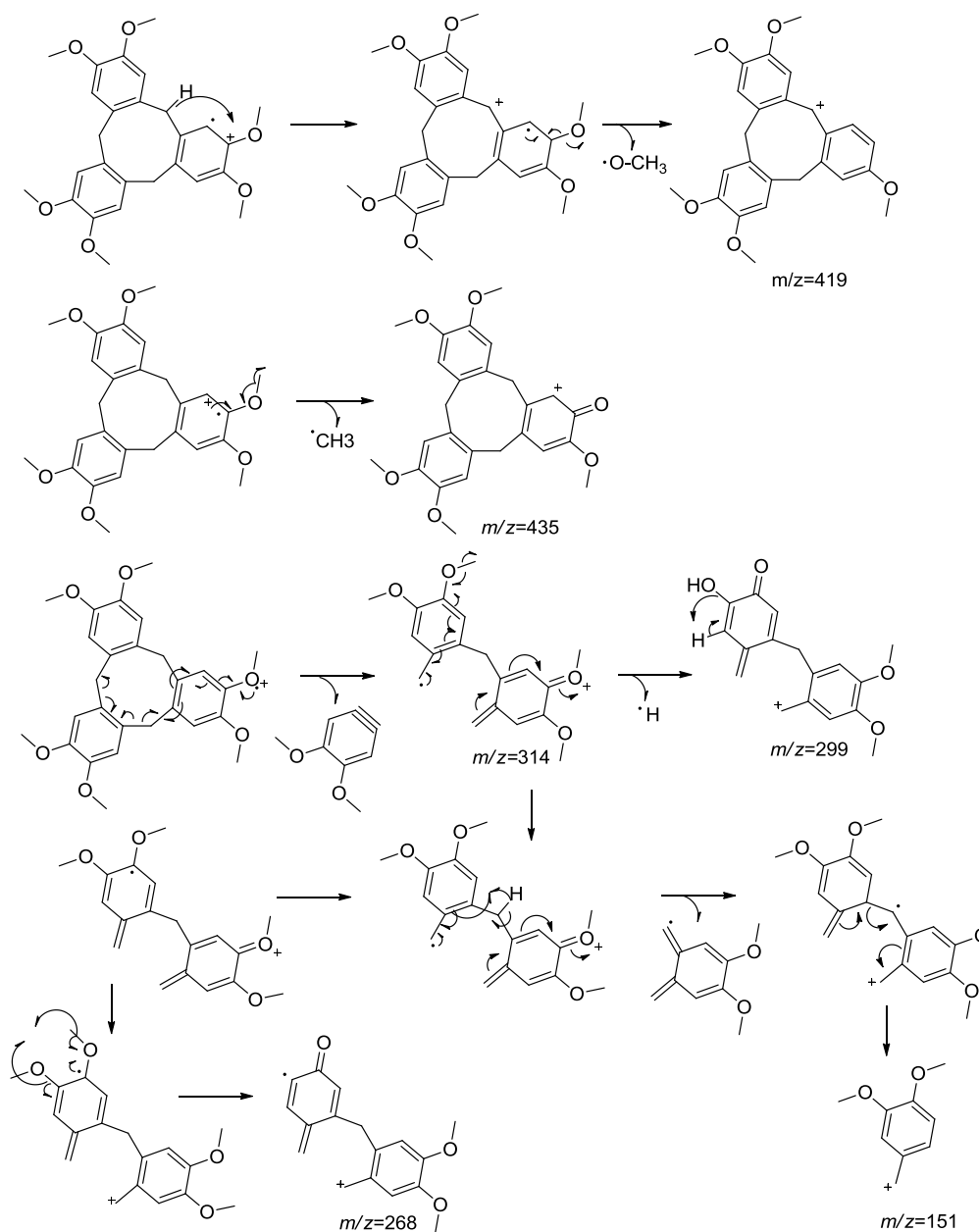


**Figura 14:** Espectro no IV (ATR) do composto [10].

Ao analisarmos o espectro de massas (**Figura 15**), foi possível observar o pico correspondente ao íon molecular ( $M^+$ ) com  $m/z = 450$  e também o pico base com  $m/z = 419$  formado da clivagem da ligação C-O, ocasionado pela perda do radical metoxi. Outro pico comum em éter é a perda do radical metil com  $m/z = 435$ . Outras fragmentações também foram observadas como a formação  $m/z = 314$ , que posteriormente sofre rearranjo formado outras fragmentações observadas em  $m/z = 299$ ,  $m/z = 268$  e  $m/z = 151$ . As fragmentações para os picos descritos podem ser observadas no **Esquema 16** (p. 51).



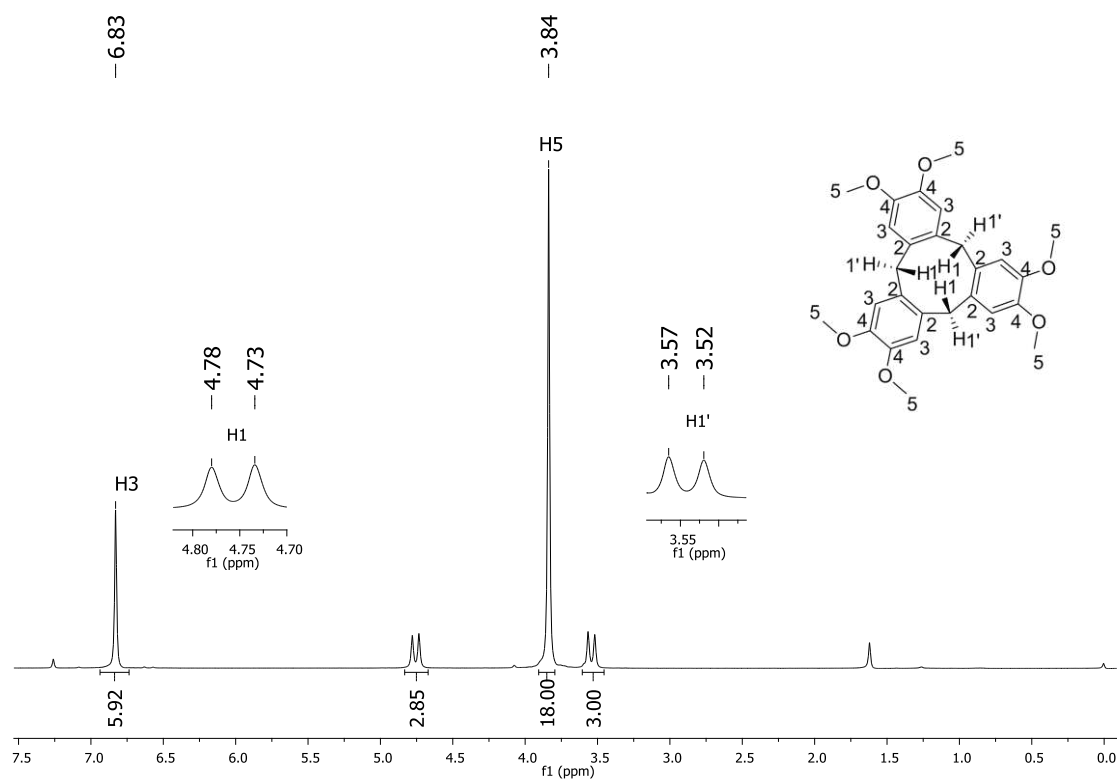
**Figura 15:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [10].



**Esquema 16:** Proposta de fragmentação para o composto [10] no espectro de massas (IE, 70 eV).

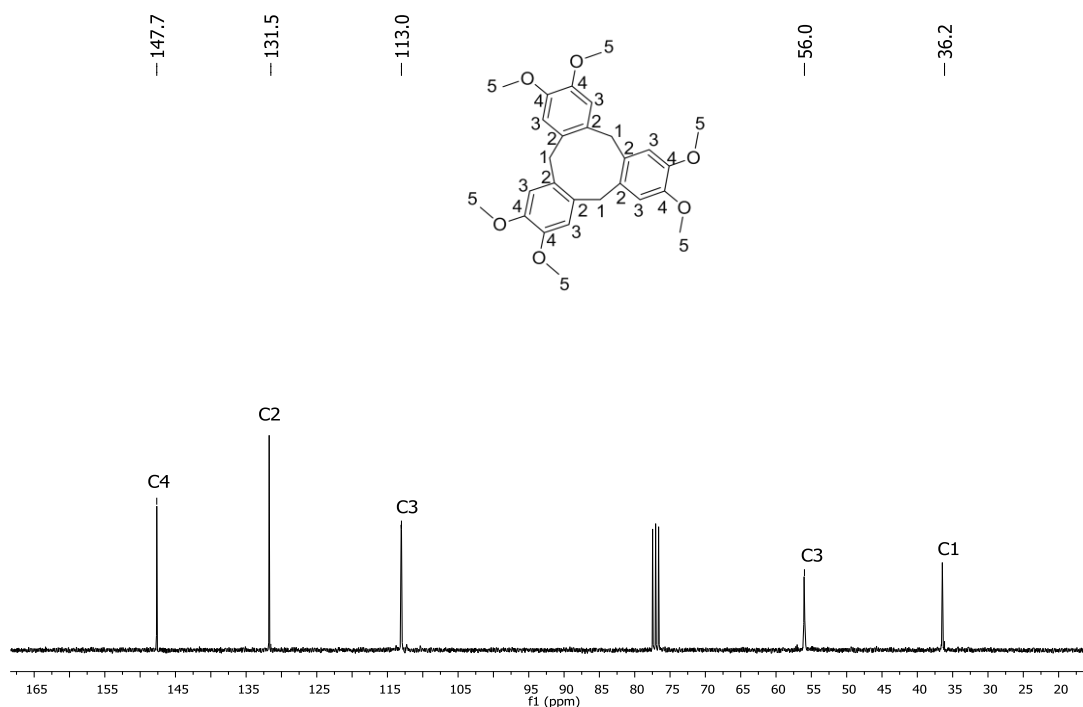
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto [10] (Figura 16, p. 52), observa-se apenas 5 sinais, pois, a molécula é simétrica. O simpleto com maior intensidade em  $\delta$  3,84 é referente ao hidrogênio H5. Já o simpleto em  $\delta$  6,83 é atribuído ao H3, visto que o mesmo está ligado a carbono aromático, e por fim, observa-se dupletos em  $\delta$  3,54 e 4,75 referentes aos H1'(axial) e H1(equatorial) respectivamente. Esses hidrogênios apresentam deslocamentos químicos diferentes, o que está relacionado com a conformação da molécula, pois em sistemas rígidos os hidrogênios equatoriais

absorvem em frequências maiores do que os hidrogênios axiais (CONSTANTINO *et al.*, 2006)



**Figura 16:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{CDCl}_3} = 7,27$  ppm) do composto [10].

Pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 17**, p. 53), foi observado o sinal em  $\delta$  147,7 que foi atribuído ao carbono C4. Esse sinal encontra-se em número maior de deslocamento químico do que os demais, pois, está ligada diretamente ao oxigênio, que é um átomo eletronegativo. Também foi observado os sinais dos carbonos C2  $\delta$  135,1, C3  $\delta$  113,0. O sinal em  $\delta$  56,0 foi atribuído ao carbono ligado ao oxigênio C5, por isso, encontra-se em um deslocamento químico maior que o C13 com  $\delta$  36,2.



**Figura 17:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,00$  ppm) do composto [10].

O isolamento dos ésteres [11] a [18] não foi possível, o que pode ser atribuído à formação de muitos subprodutos durante a reação, devido a grande facilidade de oxidação da *L*-dopa, outro aspecto que pode ter interferido, na formação de muitos subprodutos, é o fato dos grupos substituintes apresentarem anel aromático, visto que quase todos os ésteres obtidos nesse trabalho apresentam estrutura linear.

### 5.3. Ensaio de atividade nematocida

Os resultados obtidos no ensaio realizado com os extratos das duas espécies de *Mucuna* nas concentrações 20 e 200 ppm, sobre a mortalidade dos juvenis de *M. incognita* do segundo estágio estão representados na **tabela 7** (p.54).

Todos os tratamentos analisados deferiram do controle (água e DMSO 20%) em ambas concentrações. Na concentração de 200 ppm a *L*-dopa apresentou maior inibição 45,57% de mortalidade da espécie de nematoide. Com relação aos extratos, os melhores resultados obtidos foram para o extrato AM4 inibindo 9,27% e 28,52% de mortalidade de *M. incognita* nas concentrações de 20 e 200 ppm, respectivamente. Este fato pode

estar relacionado à presença de compostos mais polares visto que o extrato de *M. pruriens* foi extraído com água e etanol.

**Tabela 7:** Porcentagem de mortalidade de *M. incógnita*, induzida por extratos de *M. pruriens* e *M. cinerea*.

Extratos	% mortalidade*	
	20 ppm	200 ppm
Controle	0,71d ± 0,30	0,71h ± 0,30
AM4	9,27a ± 1,56	28,52b ± 1,02
AM3	5,42b ± 1,21	14,82d ± 0,98
AM12	4,81bc ± 0,84	8,02fg ± 1,24
AM11	4,41bc ± 0,80	14,01d ± 1,37
AM7	4,52bc ± 0,90	20,92c ± 1,31
AM8	4,47bc ± 1,23	10,47ef ± 1,35
AM10	5,94b ± 1,15	13,14de ± 1,30
AM9	2,38cd ± 0,83	6,78g ± 1,02
L-dopa	5,17b ± 1,01	45,57a ± 1,27

\*As médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. AM4 (*M. pruriens*) e AM3 (*M. cinerea*)= Extrato água/etanol, AM12 (*M. pruriens*) e AM11 (*M. cinerea*)= Extrato aquoso, AM7 (*M. pruriens*) e AM8 (*M. cinerea*)= Exsudatos radiculares, AM10 (*M. pruriens*) e AM9 (*M. cinerea*)= Extrato água/etanol

Analisando os demais extratos percebe-se que houve um aumento de inibição com o aumento da concentração. Na maior concentração testada, observa-se que nenhuma amostra foi estatisticamente igual, pode-se dizer que o extrato AM7 apresentou inibição intermediária de 20,92% na maior concentração testada. A variação da inibição entre os extratos pode ser atribuída aos compostos presentes no mesmo, pois, quanto mais polares forem os compostos mais facilmente atravessarão a membrana do nematoide.

Em ensaios realizados pelo nosso grupo de pesquisa para avaliar o potencial nematicida de compostos isolados de *M. cinerea* contra *M. incógnita* observaram-se percentagem de mortalidade de 7,5 a 70% quando foram empregado-se isoflavonoides prunetina e genisteína nas concentrações de 5 e 50 µg mL<sup>-1</sup> (DEMUNER *et al.*, 2003).

Os resultados do teste nematicida realizado com a L-dopa e seus ésteres derivados também foram realizados.

Analisando os dados da **Tabela 8**, verifica-se que os ésteres testados apresentaram mortalidade sobre os nematoides da espécie *M. incognita*. Verificou-se que a concentração de 200 ppm apresentou-se mais efetiva, com maior porcentagem de mortalidade dos J<sub>2</sub>. Observa-se que o controle negativo (água e DMSO 20%) não apresentou influência sobre parasitas analisadas.

**Tabela 8:** Porcentagem de mortalidade de *M. incognita*, induzida por compostos sintetizados.

Substâncias	% mortalidade*	
	20 ppm	200 ppm
Controle (-)	0,00f	0,00e
2	4,83e ± 0,81	46,38b ± 2,86
3	31,99a ± 2,95	50,61a ± 1,86
4	13,76b ± 1,61	46,58b ± 0,96
5	7,68de ± 0,68	18,68c ± 1,23
6	9,13cd ± 1,23	14,67d ± 1,24
7	12,2bc ± 1,26	47,34ab ± 2,39
<i>L</i> -dopa	7,43de ± 0,70	51,18a ± 1,75

\*As médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com base na **Tabela 8**, percebe-se que existem cinco (5) grupos estatisticamente diferentes, sendo que o composto em destaque é a molécula 3, o éster derivado da *L*-dopa com grupamento benzílico. O mesmo apresentou mortalidade de 31,99% na concentração de 20 ppm e 50,61% na maior concentração testada, isso pode ser atribuído ao fato de ser uma molécula bastante polar comparada com as demais. O aumento da polaridade facilita a permeabilidade através da membrana do nematoide. Na literatura consultada não foi encontrada nenhum estudo avaliando o efeito de ésteres derivados da *L*-dopa sobre nematoides.

O composto 6 (éster derivado da *L*-dopa com um grupamento octila) apresentou a menor atividade no teste biológico sendo de 14,67% na concentração de 200 ppm. A diminuição da atividade biológica encontrada pode ser atribuída à menor polaridade da molécula e possível dificuldade de atravessar a membrana do nematoide.

Na concentração de 200 ppm os ésteres 2 e 4 apresentaram mortalidade dos J<sub>2</sub> estatisticamente iguais, 46,38 e 46,58% , respectivamente. Provavelmente, isso se deve a similaridade química das moléculas, pois, as mesmas possuem os grupos metila,

propila e isopropila ligadas a *L*-dopa apresentando assim uma atividade intermediária comparada com as demais.

Como visto, tanto no teste realizado com extratos quanto no teste nematicida realizado com os compostos sintetizados, a *L*-dopa apresentou porcentagem de mortalidade significativa (45,57% e 51,18%) sobre *M. incognita*. A atividade dessa molécula pode estar relacionada com a sua estrutura química, a presença de grupos ácidos, amino e hidroxilas fenólicas que podem ter contribuído para essa atividade. O teste nematicida realizado em um ensaio utilizando-se o ácido 3,4-diidroxibenzoico contra nematoides da espécie *M. incognita* apresentou mortalidade dos J<sub>2</sub> de 33,3, 47,5, 72,5, 94,2% nas concentrações de 0,125, 0,25, 0,5 e 1 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente após 12 horas de incubação (SEO *et al.*, 2013).

#### 5.4. Ensaio de atividade alelopática

Nesta etapa do trabalho, objetivou-se avaliar o potencial herbicida ou fitotóxico dos ésteres sintetizados de [2] a [7] e do composto [10] nas concentrações de 100 e 200 ppm sobre as sementes de pepino (*Cucumis sativus*), corda de viola (*Ipomoea grandifolia*) e sorgo (*Sorghum bicolor*).

Analisando os efeitos dos ésteres sobre a germinação das sementes de pepino (Tabela 9, p. 57 e Figuras 18 e 19, p. 58), verifica-se que em praticamente todos os tratamentos houve aumento da porcentagem de inibição com aumento da concentração. Na concentração de 200 ppm observa-se que os compostos que apresentaram maior porcentagem de inibição em relação ao crescimento da raiz foram os [2], [4] e [5] inibindo 72,15%, 69,62% e 81,32%, respectivamente, com inibição estatisticamente igual ao herbicida Dual (82,91%) utilizado. A *L*-dopa teve porcentagem de inibição de 73,10% e 75,31% nas concentrações de 100 e 200 ppm respectivamente, apresentando inibição estatisticamente igual ao Dual. Os compostos [3], [6] e [7] também apresentaram porcentagem de inibição de 46,20%, 38,29% e 60,12% respectivamente na concentração de 200 ppm, tendo inibição estatisticamente igual ao glifosato que foi de 48,73% e 39,55% nas concentrações de 200 e 100 ppm sendo também igual ao Dual com 65,18% na concentração de 100 ppm.

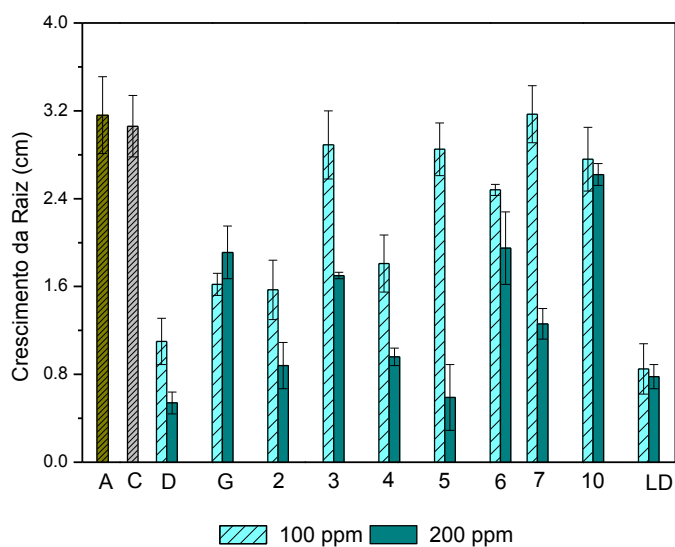
Em relação ao crescimento do caule observa-se que quase todos os resultados não apresentaram variação significativa nas diferentes concentrações testadas, tendo

porcentagem de inibição estatisticamente igual aos herbicidas Dual e Glifosato utilizados.

**Tabela 9:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes e caules das sementes de pepino.

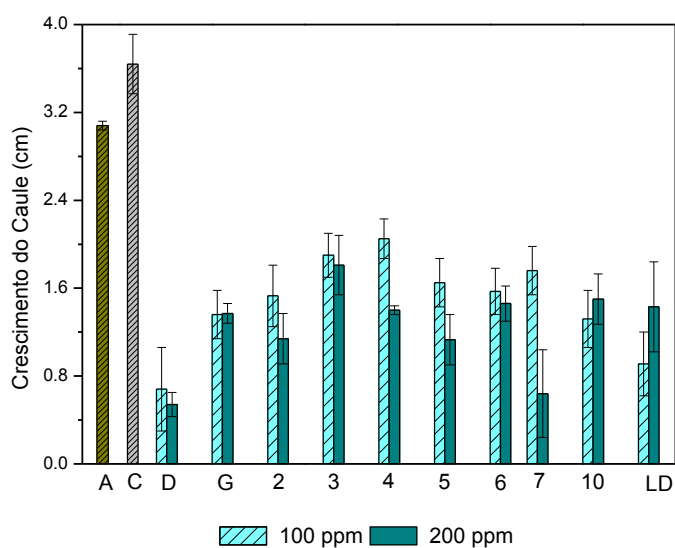
Tratamentos	Conc. (ppm)	Crescimento Raiz (cm)	% inibição*	Crescimento Caule (cm)	% inibição*
H <sub>2</sub> O	-	3,16a ± 0,35	0	3,08a ± 0,04	0
Controle	-	3,06a ± 0,28	0	3,64a ± 0,27	0
Dual	100	1,10cd ± 0,21	65,18	0,68c ± 0,38	81,31
	200	0,54d ± 0,01	82,91	0,54c ± 0,04	85,16
Glifosato	100	1,62bc ± 0,10	39,55	1,36b ± 0,22	62,63
	200	1,91b ± 0,24	48,73	1,37b ± 0,09	62,36
2	100	1,57b ± 0,27	50,31	1,53b ± 0,28	57,96
	200	0,88d ± 0,21	72,15	1,14bc ± 0,23	68,68
3	100	2,89a ± 0,31	8,54	1,90b ± 0,20	47,80
	200	1,70b ± 0,30	46,20	1,81b ± 0,27	50,27
4	100	1,81b ± 0,26	42,72	2,05ab ± 0,18	43,68
	200	0,96d ± 0,08	69,62	1,40bc ± 0,04	61,53
5	100	2,85a ± 0,24	9,81	1,65b ± 0,22	54,94
	200	0,59d ± 0,30	81,32	1,13bc ± 0,23	68,95
6	100	2,48a ± 0,05	21,51	1,57b ± 0,21	56,86
	200	1,95bc ± 0,33	38,29	1,46b ± 0,16	57,80
7	100	3,17a ± 0,26	-0,31	1,76b ± 0,22	51,64
	200	1,26b ± 0,14	60,12	0,64c ± 0,40	82,41
10	100	2,76a ± 0,29	12,65	1,32b ± 0,26	63,73
	200	2,62a ± 0,01	17,08	1,50b ± 0,23	58,79
L-dopa	100	0,85d ± 0,23	73,10	0,91bc ± 0,29	75,00
	200	0,78d ± 0,11	75,31	1,43b ± 0,41	60,71

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, em relação ao controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)].



\*A=água, C=controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)], D=Dual, G=glifosato, 2,3,4,5,6,7,10=compostos, LD=L-dopa.

**Figura 18:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes das sementes de pepino.



\*A=água, C=controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)], D=Dual, G=glifosato, 2,3,4,5,6,7,10=compostos, LD=L-dopa.

**Figura 19:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento dos caules das sementes de pepino.

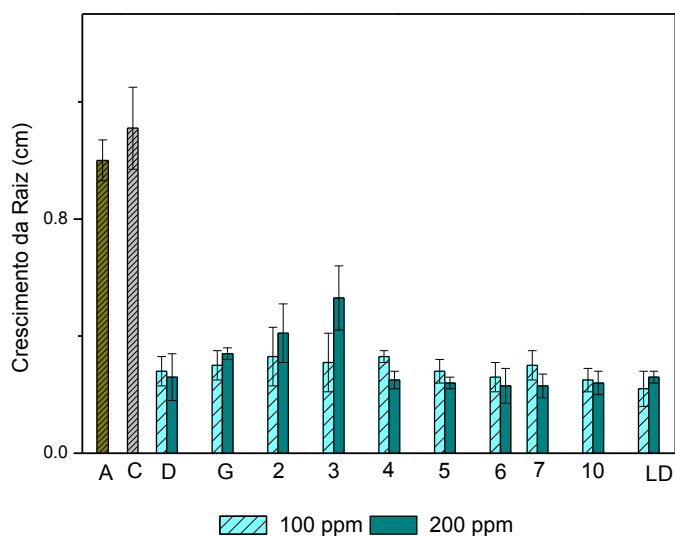
Na **Tabela 10** (p. 59) e **Figuras 20 e 21** (p.60), estão listados os resultados do teste herbicida utilizando a semente de sorgo. Observa-se que não houve variação entre as concentrações de 100 e 200 ppm testadas em relação ao crescimento da raiz. Todos os tratamentos apresentaram resultados positivos, sendo estatisticamente iguais aos

controles negativos Dual e Glifosato, porém, diferentes dos controles positivos utilizados. Já em relação ao crescimento do caule pode-se dizer com exceção do composto [2] que todos os tratamentos apresentaram porcentagem de inibição em ambas concentrações sendo estatisticamente iguais aos herbicidas Dual e glifosato, diferindo-se do controle positivo.

**Tabela 10:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes e caules das sementes de sorgo.

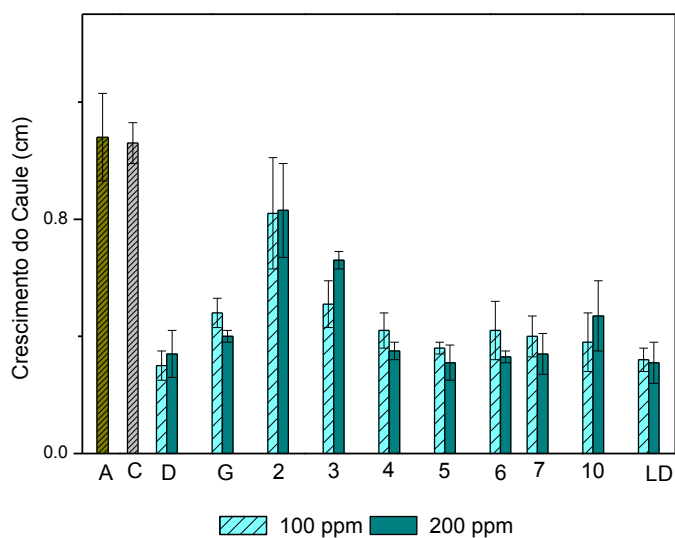
Tratamentos	Conc. (ppm)	Crescimento Raiz (cm)	% inibição*	Crescimento Caule (cm)	% inibição*
H <sub>2</sub> O	-	1,0 a ± 0,07	0	1,08a ± 0,15	0
Controle	-	1,11a ± 0,14	0	1,06a ± 0,07	1,85
Dual	100	0,28b ± 0,05	74,77	0,30c ± 0,05	71,69
	200	0,26b ± 0,08	76,57	0,34c ± 0,08	67,92
Glifosato	100	0,30b ± 0,05	72,97	0,48bc ± 0,05	54,71
	200	0,34b ± 0,02	69,36	0,40c ± 0,02	62,26
2	100	0,33b ± 0,10	70,27	0,82ab ± 0,19	22,64
	200	0,41b ± 0,09	63,06	0,83ab ± 0,16	21,69
3	100	0,31b ± 0,10	72,07	0,51bc ± 0,08	51,88
	200	0,53b ± 0,11	52,25	0,66b ± 0,03	37,73
4	100	0,33b ± 0,02	70,27	0,42bc ± 0,06	60,37
	200	0,25b ± 0,03	77,47	0,35c ± 0,03	66,98
5	100	0,28b ± 0,04	74,77	0,36c ± 0,02	66,03
	200	0,24b ± 0,02	78,37	0,31c ± 0,06	70,75
6	100	0,26b ± 0,05	76,57	0,42c ± 0,10	60,37
	200	0,23b ± 0,06	79,27	0,33c ± 0,02	68,86
7	100	0,30b ± 0,05	72,97	0,40c ± 0,07	62,26
	200	0,23b ± 0,04	79,27	0,34c ± 0,07	67,92
10	100	0,25b ± 0,04	77,47	0,38c ± 0,10	64,15
	200	0,24b ± 0,04	78,37	0,47bc ± 0,12	55,66
L-dopa	100	0,22b ± 0,06	80,18	0,32c ± 0,04	69,81
	200	0,26b ± 0,02	76,57	0,31c ± 0,07	70,75

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, em relação ao controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)].



\*A=água, C=controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)], D=Dual, G=glifosato, 2,3,4,5,6,7,10=compostos, LD=L-dopa.

**Figura 20:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes das sementes de sorgo.



\*A=água, C=controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)], D=Dual, G=glifosato, 2,3,4,5,6,7,10=compostos, LD=L-dopa.

**Figura 21:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento dos caules das sementes de sorgo.

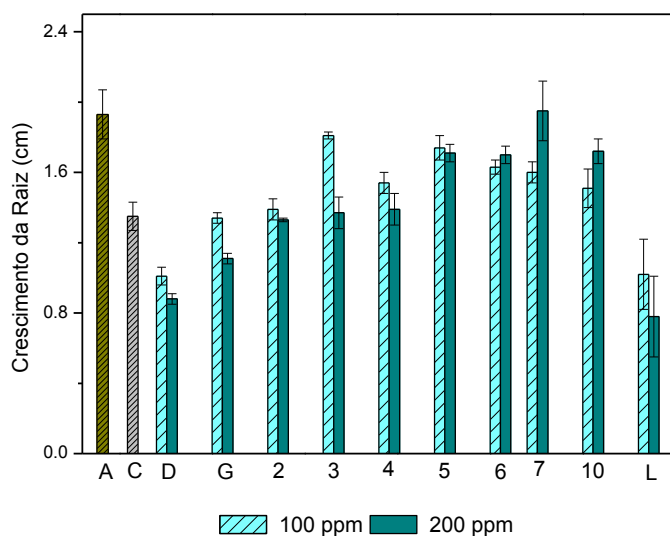
Os resultados obtidos com os bioensaios de corda de viola estão listados na **Tabela 11** (p. 61) e **Figuras 22 e 23** (p.62). Foi observado que houve uma diferença estatística entre a água e o controle (água, DMSO e HCl) utilizados. Neste caso, a

porcentagem de inibição foi calculada em relação ao controle. O melhor resultado para esta planta em relação ao crescimento da raiz foi atribuída a *L*-dopa que apresentou inibição de 24,44% e 42,22% nas concentrações de 100 e 200 ppm, respectivamente. Em relação aos demais compostos nenhum apresentou inibição satisfatória, pois, não diferiram estatisticamente do controle. Os resultados em relação desenvolvimento do caule também não foram promissores, pois, todos os tratamentos analisados não diferiram estatisticamente dos controles.

**Tabela 11:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes e caules das sementes de corda de viola.

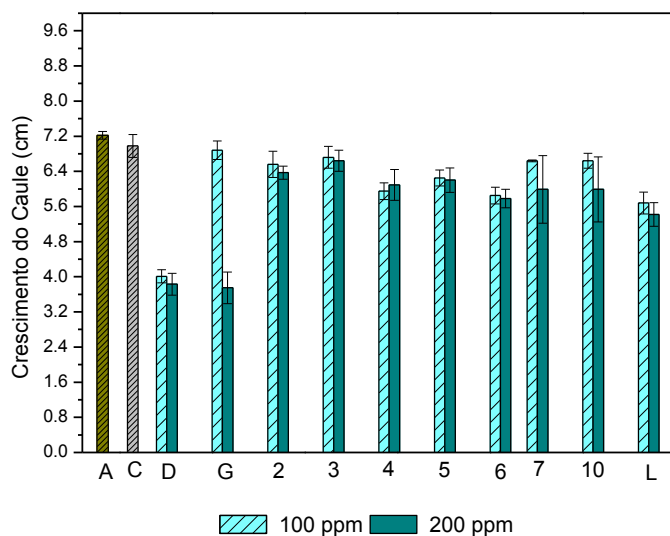
Tratamentos	Conct. (ppm)	Crescimento Raiz (cm)	% inibição*	Crescimento Caule (cm)	% inibição*
H <sub>2</sub> O	-	1,93a ± 0,14	0	7,22a ± 0,09	0
Controle	-	1,35b ± 0,08	30,05	6,98ab ± 0,26	3,32
Duol	100	1,01cd ± 0,05	25,18	4,01c ± 0,15	42,55
	200	0,88d ± 0,03	34,81	3,83c ± 0,25	45,12
Glifosato	100	1,34b ± 0,03	0,74	6,88ab ± 0,21	1,43
	200	1,11bcd ± 0,03	17,77	3,75c ± 0,36	46,27
2	100	1,39b ± 0,06	-2,96	6,56ab ± 0,30	6,02
	200	1,33bc ± 0,01	1,48	6,37b ± 0,15	8,73
3	100	1,81a ± 0,02	-34,07	6,72ab ± 0,25	3,72
	200	1,37b ± 0,09	-1,48	6,64a ± 0,24	4,87
4	100	1,54b ± 0,06	-14,07	5,95b ± 0,19	14,75
	200	1,39b ± 0,09	-2,96	6,09b ± 0,35	12,75
5	100	1,74ab ± 0,07	-28,88	6,25b ± 0,18	10,45
	200	1,71ab ± 0,05	-26,66	6,20b ± 0,28	11,17
6	100	1,63b ± 0,04	-20,74	5,85b ± 0,19	16,18
	200	1,70ab ± 0,05	-25,92	5,78b ± 0,21	17,20
7	100	1,60b ± 0,06	-18,51	6,64ab ± 0,02	4,87
	200	1,95a ± 0,17	-44,44	5,99b ± 0,77	14,18
10	100	1,51bc ± 0,11	-11,85	6,64ab ± 0,17	0,59
	200	1,72ab ± 0,07	-26,66	5,99b ± 0,74	14,18
<i>L</i> -dopa	100	1,02bc ± 0,20	24,44	5,68b ± 0,25	18,62
	200	0,78c ± 0,23	42,22	5,42b ± 0,27	22,34

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, em relação ao controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)].



\*A=água, C=controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)], D=Dual, G=glifosato, 2,3,4,5,6,7,10=compostos, LD=L-dopa.

**Figura 22:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento das raízes das sementes de corda de viola.



\*A=água, C=controle [solução aquosa de DMSO 0,3%, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( 3 gotas) (v/v)], D=Dual, G=glifosato, 2,3,4,5,6,7,10=compostos, LD=L-dopa.

**Figura 23:** Efeito dos ésteres sobre o crescimento dos caules das sementes de corda de viola.

Comparando os resultados obtidos com as três espécies de sementes testadas pode-se dizer que a *L-dopa* teve os melhores resultados de porcentagem de inibição ou inibição igual aos seus derivados, isso pode estar relacionado à presença de seu grupo

ácido. Logo, os resultados apresentados indicam que tanto a *L*-dopa quanto seus ésteres derivados obtiveram atividade herbicida para as sementes de sorgo e de pepino. Utilizou-se como controle negativo os herbicidas dual e glifosato, sendo estes disponíveis comercialmente e possuindo atividade conhecida.

## 6. CONCLUSÕES

Pelo presente trabalho foi possível isolar a presente nas sementes das espécies de *M. pruriens* e *M. cinerea*, e quantificar utilizando HPLC. Os teores obtidos de nos extratos através da quantificação encontram-se dentro da faixa de 4,55 a 33,8%.

Das 18 reações de esterificação, apenas oito (8) ésteres foram sintetizados, os rendimentos entre os compostos apresentou grande variação (19 a 95%), onde apenas o éster (*s*)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoato de 2-nitrofenila [8] é inédito. Já as reações da *L*-dopa com os compostos, 4-nitrofenol, 2,4-diclorobenzil, 2-aminobenzil, 2,2,2-trifluoroetanol, 5-(4-nitrofenil)furfuril, 1,3,5-benzenotriol, dodecanol e propargil não formaram os produtos esperados. A reação da *L*-dopa com o álcool 3,4-dimetoxibenzílico deu origem a um produto secundário, 2,3,7,8,12,13-hexametoxi-10,15-diidro-5h-tribenzo[a,d,g][9]annuleno [10].

O melhor resultado obtido com o ensaio nematocida, realizado com os extratos, com porcentagem de mortalidade dos J2 de 28,52%, é referente à amostra AM4 na concentração de 200 ppm. O ensaio nematocida, realizado com os ésteres sintetizados de [2] a [7] e a *L*-dopa, demonstraram que os compostos [2], [3], [4] e [7] apresentaram atividade nematocida significativa na concentração de 200 ppm. Nos dois ensaios realizados nota-se uma atividade de mortalidade relevante para a, superior a 46%.

Com os ensaios fitotóxicos, realizados utilizando as sementes de pepino, sorgo e corda de viola indicaram que tanto a *L*-dopa, quanto seus derivados, apresentaram atividade herbicida, para as sementes de sorgo e pepino. No ensaio com as sementes de pepino os melhores resultados de inibição da raiz das plantas foram dos compostos [2], [5] e [7] com inibição igual ou superior a 60% bem como para o composto [4] e a *L*-dopa, que teve inibição igual ao Dual. Em relação à parte aérea das plantas, o composto que melhor apresentou inibição foi o [6], tendo atividade igual ao herbicida Dual. Já os compostos [2], [4], [5], [7], [8] e *L*-dopa apresentaram inibição igual ou superior a 60%.

Para os bioensaios com as sementes de sorgo todos os compostos apresentaram inibição do crescimento da raiz e caule comparado aos herbicidas Dual e glifosato, exceto o composto [1]. No ensaio com as sementes de corda de viola o único que apresentou resultado considerável de inibição do crescimento da raiz foi a *L*-dopa.

Os resultados obtidos neste trabalho incentivam o desenvolvimento da pesquisa com produtos naturais e semissíntese na obtenção de compostos mais ativos contribuindo assim em diferentes áreas, pois nos dois ensaios realizados, nematocida e

herbicida os resultados obtidos foram satisfatórios para alguns compostos. A *L*-dopa e seus ésteres podem ser empregados no manejo de nematoides e plantas daninhas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUSHOUK, A. I.; NEGIDA, A.; AHMED, H.; ABDEL-DAIM, M. M. Neuroprotective mechanisms of plant extracts against MPTP induced neurotoxicity: Future applications in Parkinson's disease. **Biomedicine Pharmacotherapy**, v. 85, p. 635–645, 2017.

ALMEIDA-PAES, R.; BORBA-SANTOS, L. P.; ROZENTAL, S., MARCO, S.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M.; CUNHA, M. M. L. Melanin biosynthesis in pathogenic species of *Sporothrix*. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, p. 50-59, 2017.

ALVARENGA, E. S.; SALIBA, W. A.; MILAGRES, B. G. Montagem de câmera com lâmpada de ultravioleta de baixo custo. **Química Nova**, V.28, n. 5, p. 927-928, 2005.

AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ANDREU, N.; CHALÉ, J. J.; SENARD, J. M.; THALAMAS, C.; MONTASTRUC, J. L.; RASCOL, O. *L*-dopa-induced sedation: a double-blind cross-over controlled study versus triazolam and placebo in healthy volunteers. **Clinical Neuropharmacol**, v. 22, n. 1, p. 15-23, 1999.

ASMUS, G. L. danos causados à cultura de soja por nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V. (Org). *Relações parasito-hospedeiro na meloidoginose da soja*. Londrina: Embrapa Soja/**Sociedade brasileira de nematologia**, p. 39-62, 2001.

BALALAIE, S.; MAHDIDOUST, M.; ESHAGHI-NAJAFABADI, R. 2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-Tetramethyluronium Tetrafluoro Borate (TBTU) as an Efficient Coupling Reagent for the Esterification of Carboxylic acids with Alcohols and Phenols at Room Temperature. **Chinese Journal of Chemistry** , v.26, n. 6, p 1141-1144, 2008.

BARBOSA, L. C. A.; BARCELOS, F. F.; DEMUNER, A. J.; SANTOS, M. A. Chemical constituents from *Mucuna aterrima* white activit against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Nematropica** , v. 29, n. 1, p. 81-88, 1999.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infarvermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 189 p, 2013.

BARROS, D. C. Exposição ocupacional aos carbamatos e organofosforados. In: **Exposição ocupacional aos carbamatos e organofosforados**. UFF, 2006.

BERGAMINI, M. F.; SANTOS, A. L.; STRADIOTTO, N. R.; ZANONI, M. V. B. A disposable electrochemical sensor for the rapid determination of levodopa. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 54-59, 2005.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 2, p. 553, 1981.

CASTAÑEDA, S. M. B. Caracterização e avaliação da atividade nematicida de constituintes químicos da parte aérea de *Mucuna pruriens* var. *utilis*. Dissertação de Mestrado - Agroquímica - Viçosa Minas Gerais, UFV. **2015**. 78 p.

CIUBERKIS, S.; BERNOTAS, S.; RAUDONIUS, S.; FELIX, J. Effect of weed emergence time and intervals of weed and crop competition on potato yield. **Weed Technology**, v.21, p. 612-217, 2007.

COLZI, A.; TURNER, K; LEES, A. J. Continuous subcutaneous waking day apomorphine in the long term treatment of levodopa induced interdose dyskinesias in Parkinson's disease. **Journal Neurol Neurisurg Psychiatry**, v. 64, p. 573-576, 1998.

CONSTANTINO, M. G. **Química orgânica: curso básico universitário**: volume 3. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

DALIBOR, M.; STANKOVI, D.M.; SAMPHAO, A.; DOJCINOVI, B.; KALCHER, K. Rapid Electrochemical Method for the Determination of *L*-DOPA in Extract From the Seeds of *Mucuna prurita*. **Acta Chimica Slovenica**, v. 63, p. 220-226, 2016.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. D. A.; NASCIMENTO, J. C. D.; VIEIRA, J. J.; SANTOS, M. A. D. Isolation and nematocidal activity evaluation of chemical constituents from *Mucuna cinerea* against *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. **Quimica Nova**, v. 26, n. 3, p. 335-339, 2003.

D'ISCHIA, M.; NAPOLITANO, A.; BALL, V.; CHEN, C. T.; BUEHLER, M. J. Polydopamine and eumelanin: from structure–property relationships to a unified tailoring strategy. **Accounts of chemical research**, v. 47, n. 12, p. 3541-3550, 2014.

DU, Q.; LI, B. Identification of antioxidant compounds of *Mucuna sempervirens* by high-speed counter-current chromatographic separation–DPPH radical scavenging detection and their oestrogenic activity. **Food Chemistry**, v.131, n.4, p. 1181-1186, 2012.

FILIPIAK-SZOK, A.; KURZAWA, M.; SZYK, E. Simultaneous determination of selected anti-nutritional components in Asiatic plants using ion chromatography. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 9, p. 1515–1521, 2016.

GALVÁN, I.; SOLANO, F. Bird integumentary melanins: Biosynthesis, forms, function and evolution. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 4, p. 520, 2016.

GAZOLA, D.; ZUCARELI, C.; FURQUIM, C. M. P.; MARINHO, J. L. Aminoácidos no desenvolvimento de duas cultivares de mandioca. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 1, p. 88-93, 2016.

GREEN, J. M. Current state of herbicides in herbicide-resistant crops. **Pest Management Science**, v.70, p.1351–1357, 2014.

GIANESSI, L. P. The increasing importance of herbicides in worldwide crop production. **Journal Pest Management Science**, v. 69, p.1099–1105,2013.

HALBIG, T. D.; KOLLER, W. C. Levodopa. **Handbook of clinical neurology**, v. 84, p. 47–83, 2007.

HALIMSHAH, S.; AHMAD, W. J. W. Allelopathic potential of leaf and seed of *Mucuna bracteata* DC. ex Kurz on *Eleusine indica* (L.) Gaertn. In: AHMAD, Asmat et al. (Ed.). **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing, 2015. p. 020034.

HAWTHORNE, D.J.; SHAPIRO, J. A.; TINGEY, W.M. MUTSCHLER, M.A. Trichome – borne and artificially applied acylsugars of wild tomato deter feeding and oviposition of the leafminer *Liriomyza trifolii*. **Entomology Experimentalis et Applicata**, v. 65, n. 1, p. 65-73, 1992.

HUISDEN, C. M.; ADESOGAN, A. T.; GASKIN, J. M.; COURTNEY, C. H.; RAJI, A. M.; KANG, T. Effect of feeding *Mucuna pruriens* on helminth parasite infestation in lambs. **Journal of Ethnopharmacology**, v.127, n.3, p. 669-673, 2010.

HUMPHREYS-PEREIRA, D. A.; ELLING, A. A. Mitochondrial genomes of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. incognita* (Nematoda: *Tylenchina*): Comparative analysis, gene order and phylogenetic relationships with other nematodes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 194, n. 2, p. 20-32, 2014.

INAMDAR, S.; JOSHI, S.; BAPAT, V.; JADHAV, J. Innovative use of *Mucuna monosperma* (Wight) callus cultures for continuous production of melanin by using statistically optimized biotransformation medium. **Journal of Biotechnology**, v. 170, p. 28-34, 2014.

JANARTHANAM, B.; SUMATHI, E. Optimization of biomass culture yield and L-dopa compound in the callus culture from cotyledonary leaves of *Mucuna pruriens*. **Asian, Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 8, n. 4, p. 282-286, 2015.

KAYANI, M. Z.; MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A.; UL-HAQUE, M. I. Infestation assessment of root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) associated with cucumber in the

Pothowar region of Pakistan. **Crop Protection**, v. 47, p. 49-54, 2013.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

MACHADO, J.C.; VIEIRA, B. S.; LOPES E. A.; CANEDO, E. J. *Paecilomyces lilacinus* e esterco bovino para o controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro e alface. **Nematologia Brasileira Piracicaba** (SP) Brasil, 2010.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.

MARTINS, G. L. M.; TOMQUELSKI, G. V.; PAPA, G. Aplicação de acybenzolar-s-methyl em algodoeiro para controle de *Aphis gossypii* (Glover) e *Ramularia areola* (Atkinson). **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 1, p. 53-59, 2015.

MICHAUD, J. P.; MACKENZIE, C. L. Safety of a Novel Insecticide, Sucrose octanoate, to Beneficial Insects in Florida Citrus. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 1, p. 6-9, 2004.

MISRA, L.; WAGNER, H. Extraction of bioactive principles from *Mucuna pruriens* seeds. **Journal of Biochemistry & Biophysics**, v. 44, p. 56-60, 2007.

MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A.; KAYANI, M. Z.; ASLAM, M. N. Evaluation of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in okra cultivars. **Crop Protection**, v. 56, p. 25-30, 2014.

MUSHTAQ, M. N.; SUNOHARA, Y.; MATSUMOTO, H. Allelochemical *L*-dopa induces quinoprotein adducts and inhibits NADH dehydrogenase activity and root

growth of cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, p. 374-378, 2013.

NAGARAJA, P.; MURTHY, K. S.; RANGAPPA, K. S.; GOWDA, N. M. Spectrophometric methods for the determination of certain catecholamine derivatives in pharmaceutical preparations. **Talanta**, v. 46, p. 39-44, 1998.

NOGUEIRA, M. A.; OLIVEIRA, J. S.; FERRAZ, S. Nematicidal hydrocarbons from *Mucuna aterrima*. **Phytochemistry**, 42, p. 997-998, 1996.

OLIVEIRA, C. A.; SOUZA, A. C.; SANTOS, A. P. B.; SILVA, B. V.; LACHTER, E. R.; PINTO, A. C. Síntese de ésteres de aromas de frutas: um experimento para cursos de graduação dentro de um dos princípios da química verde. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 1, p. 152p, 2014.

PAVIA, D. L. **Introdução à espectroscopia**. Tradução Pedro Barros. Ed. Cengage Learning, São Paulo, 4ª ed., 770p, 2012.

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

PHOLSHETTIWAR, V.; VARMA, R. S. Greener and expeditious synthesis of bioactive heterocycles using microwave irradiation. **Pure and Applied Chemistry**, v. 80, p. 777-790, 2008.

PINTO, M. E. A.; SILVA, N. L.; DE SIQUEIRA, E. P.; DOS SANTOS, F. J. L.; DOS SANTOS LIMA, L. A. R. Efeito alelopático dos ésteres metílicos dos ácidos graxos obtidos de óleos de milho e girassol. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 1, p. 44-48, 2013.

PULIKKALPURA, H.; KURUP, R., MATHEW, P. J.; BABY, S. Levodopa in *Mucuna pruriens* and its Degradation. **Scientific reports**, v. 5, p. 1–9, 2015.

PURQUERIO, L. F. V.; CECÍLIO FILHO, A. B. Concentração de nitrogênio na solução nutritiva e número de frutos sobre a qualidade de frutos de melão. **Horticultura**

**Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 831-836, 2005.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.

RODRIGUES, M.; CAMPOS, L. C. Estratégia para o tratamento com levodopa na doença de Parkinson. **Revista Analytica**, V. 23, p. 44-51, 2006.

SANTOS, M. A.; RUANO, O. Reação de plantas usadas como adubos verdes a *Meloidogyne icognita* raça 3 e *M. javanica*. **Nematolgia Brasileira**, v. 1, p. 184-197, 1987.

SEO, D. J.; KIM, K. Y.; PARK, R. D.; KIM, D. H.; HAN, Y. S.; KIM, T. H.; JUNG, W. J. Nematicidal activity of 3,4-dihydroxybenzoic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Meloidogyne incognita*. **Microbial pathogenesis**, v. 59, p. 52-59, 2013.

SHARMA, A.; SHARMA, S.; DALELA, M. Nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* 6029 cultured on Karanja cake medium. **Microbial Pathogenesis**, v. 75, p. 16-20, 2014.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Ed. UFV, Viçosa-MG, 367 p., 2007.

SILVA, C.; SILVA, A.; VALE, W.; GALON, L.; PETTER, F. A.; MAY, A.; KARAM, D. Interferência de plantas daninhas na cultura do sorgo sacarino. **Revista Bragantia**, Campinas, v. 73, p. 438-445, 2014.

SILVA, M. F. O.; COSTA, L. M. A indústria de defensivos agrícolas. **BNDS Setorial**, V. 33, p. 233-276, 2012.

SUN, S.; ZHANG, X.; CHEN, W.; ZHANG, L.; ZHU, H. Production of natural edible melanin by *Auricularia auricula* and its physicochemical properties. **Food chemistry**, v. 196, p. 486-492, 2016.

SURESH, S.; PRITHIVIRAJ, E.; LAKSHMI, N. V.; GANESH, M. K.; GANESH, L.; PRAKASH, S. Effect of *Mucuna pruriens* (Linn.) on mitochondrial dysfunction and DNA damage in epididymal sperm of streptozotocin induced diabetic rat. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 32-41, 2013.

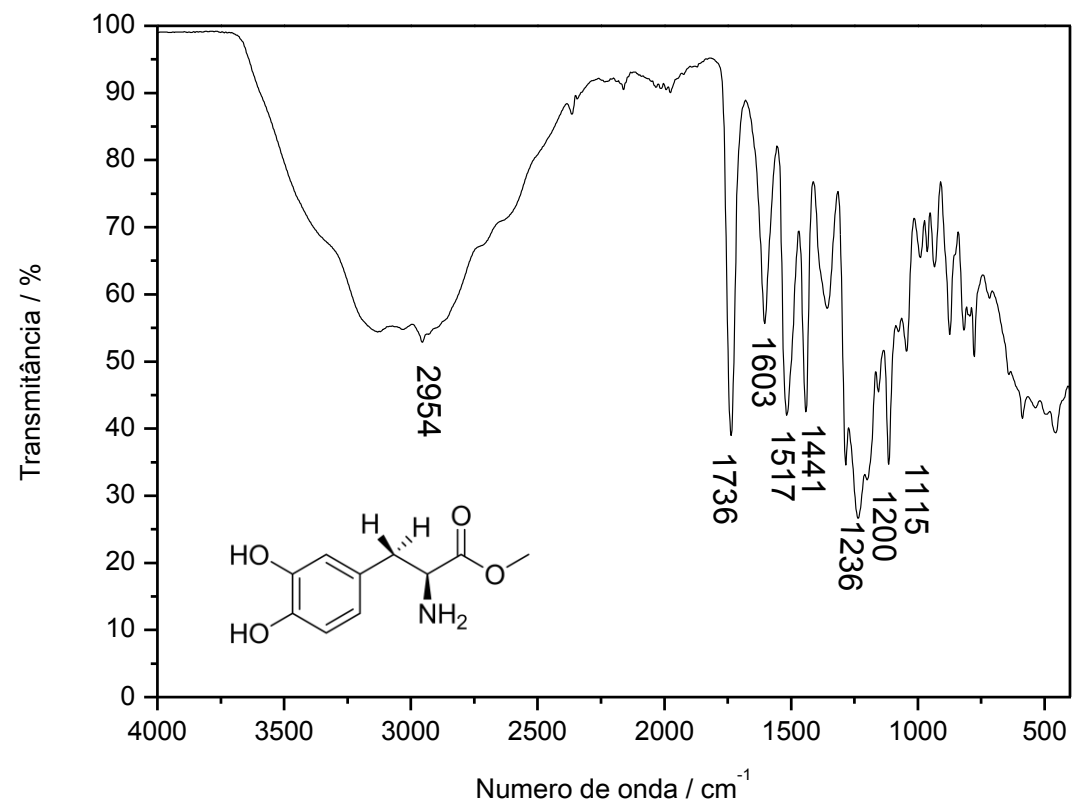
THURSTON, R.; & J.A. WEBSTER. Toxicity of *Nicotiana gossei* Domin to *Myzus persicae* (Sulzer). **Entomology Experimentalis et Applicata**, v.5, p. 233-238,1962

VARGAS, L; ROMAN, E. S. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução**. Embrapa Trigo, 2006.

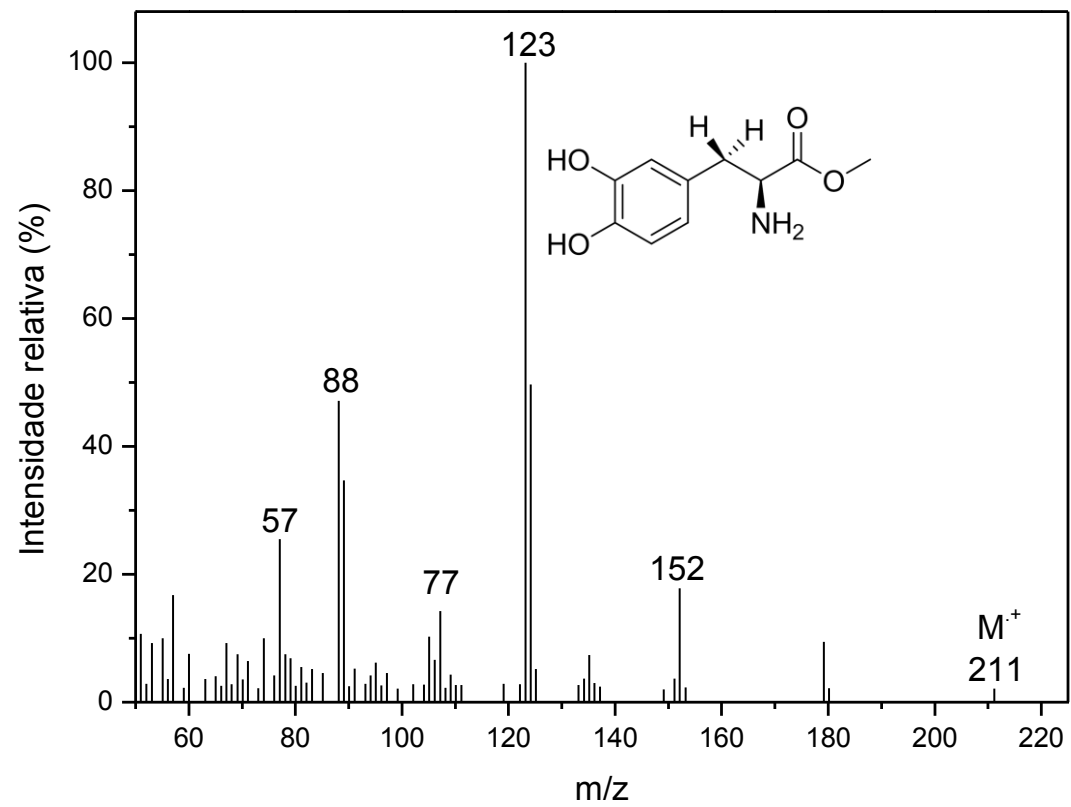
YOSHIDA, T.; WANG, L.; NAKAGAWA, S.; PUTERI TACHRIM, Z.; SAKIHAMA, Y.; HASHIDOKO, Y.; HASHIMOTO, M. Synthesis of Cross-linkable 2, 5-Diketopiperazine Derivatives. **Letters in organic chemistry**, v. 12, n. 8, p. 544-548, 2015.

ZHOU, T.; HIDER, R. C.; JENNER, P.; CAMPBELL, B.; HOBBS, C. J.; ROSE, S.; SYME, A. Design, synthesis and biological evaluation of peptide derivatives of *L*-dopa as anti-parkinsonian agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 19, p. 5279-5282, 2013.

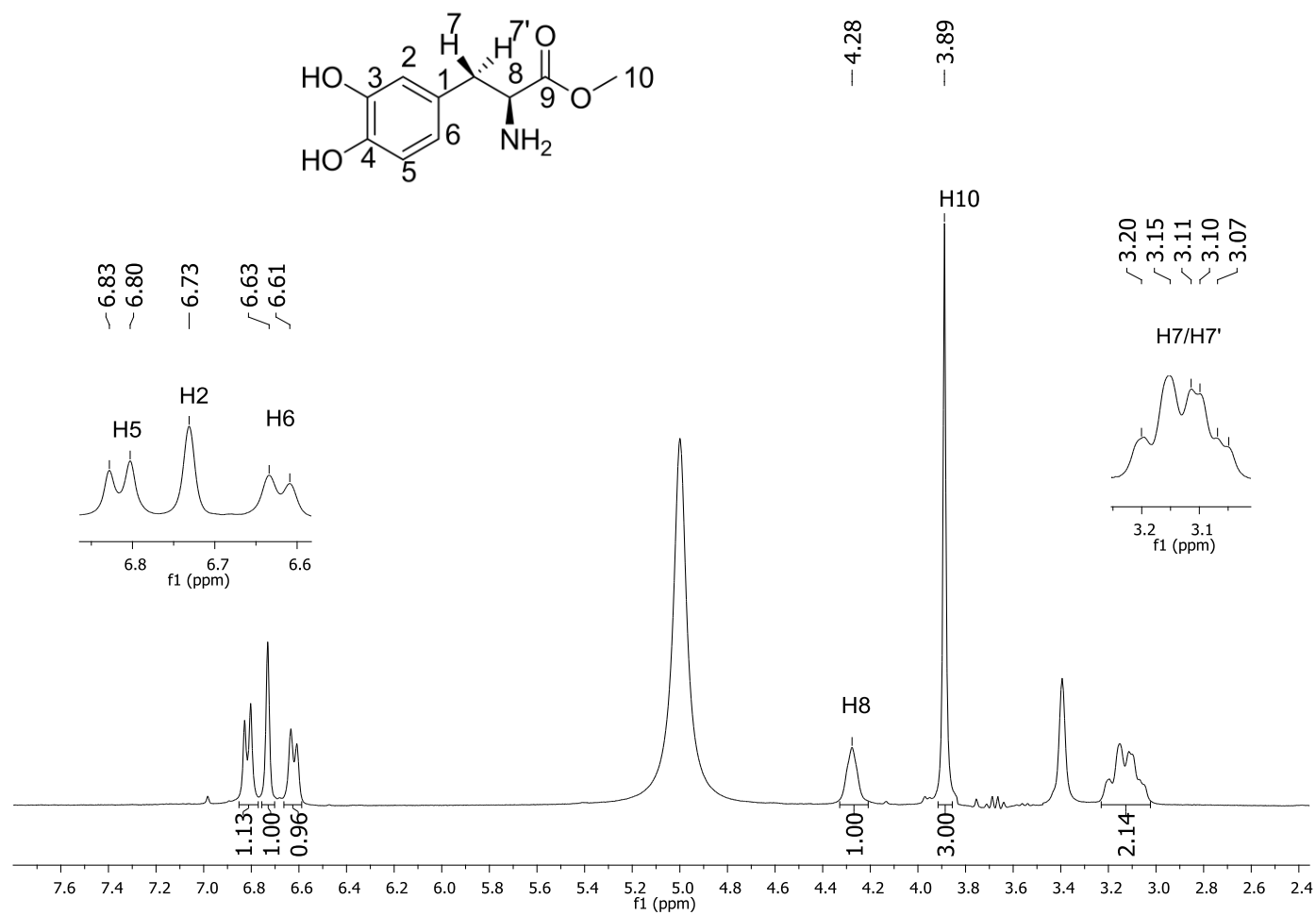
# APÊNDICE



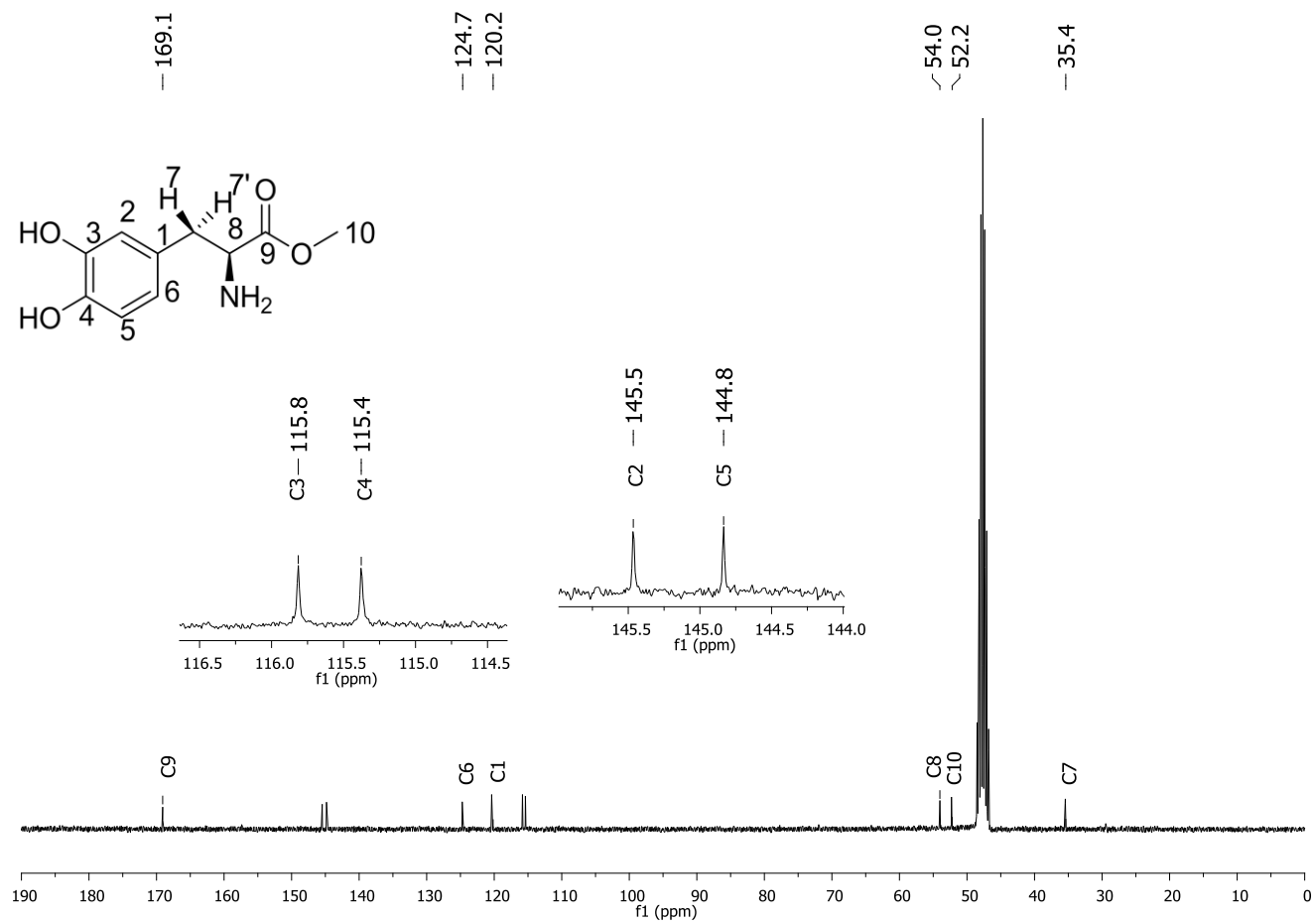
**Figura 24:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [2].



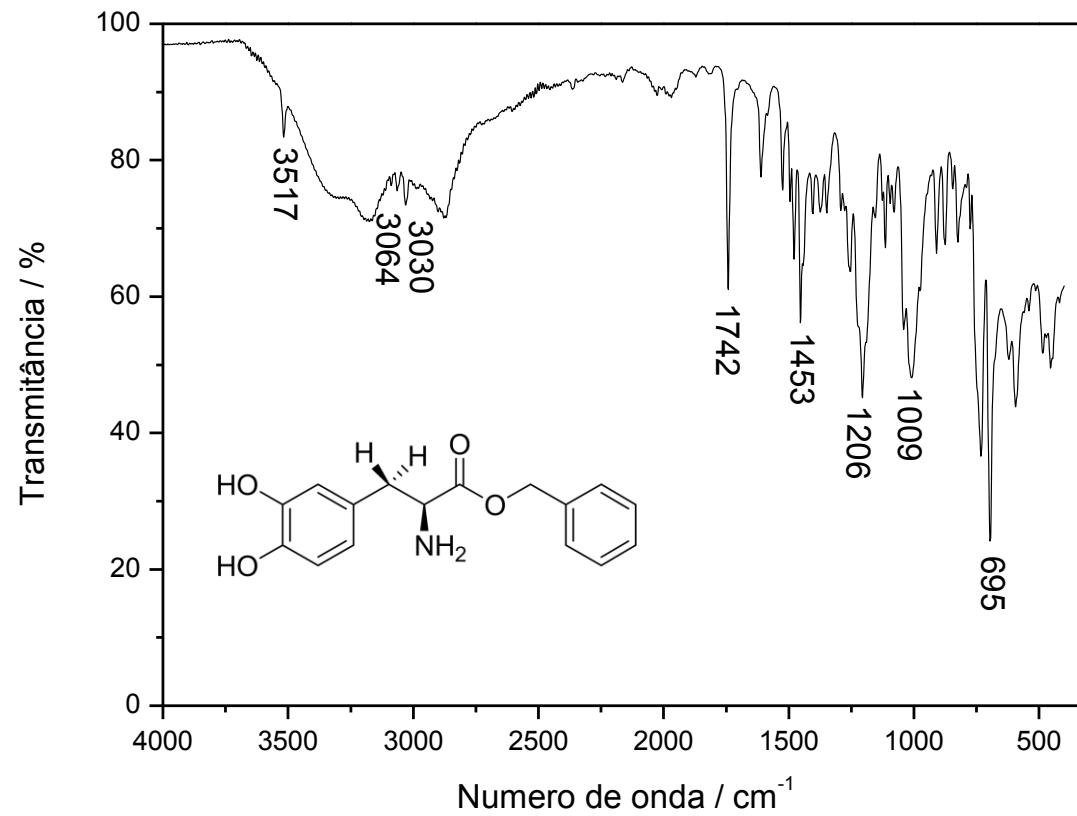
**Figura 25:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [2].



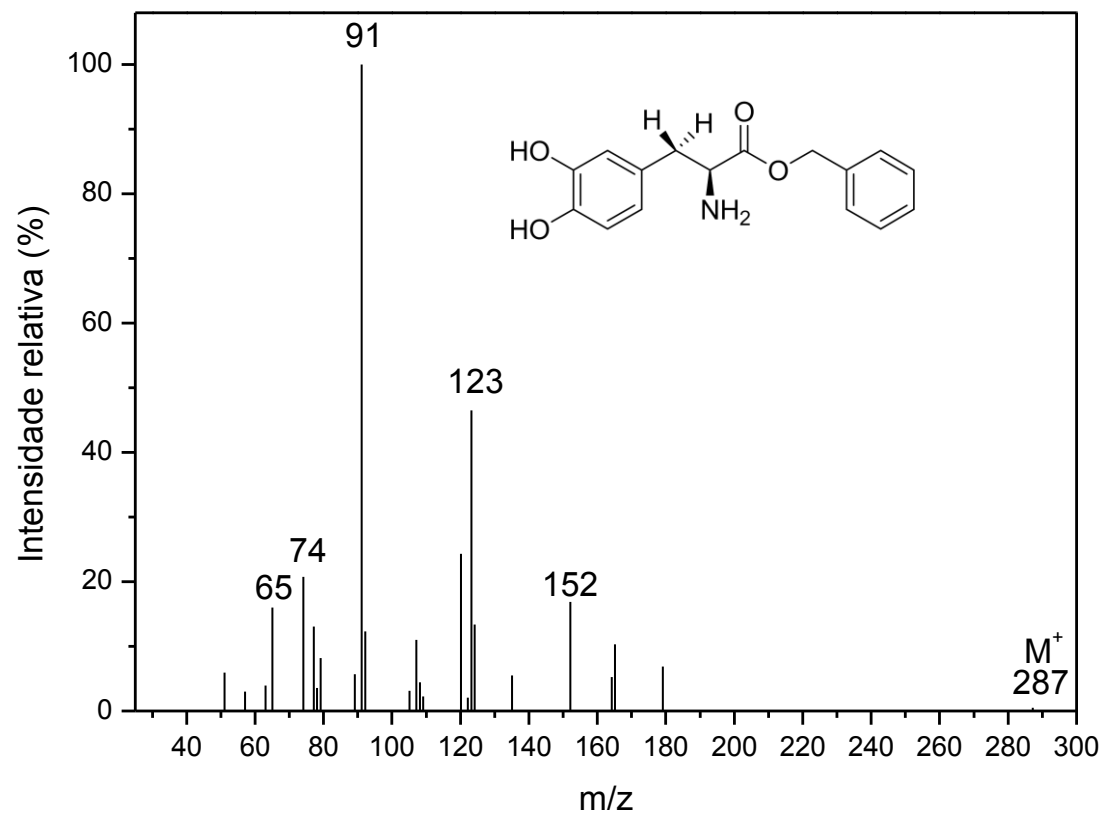
**Figura 26:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 4,87 e 3,31 ppm) do composto [2].



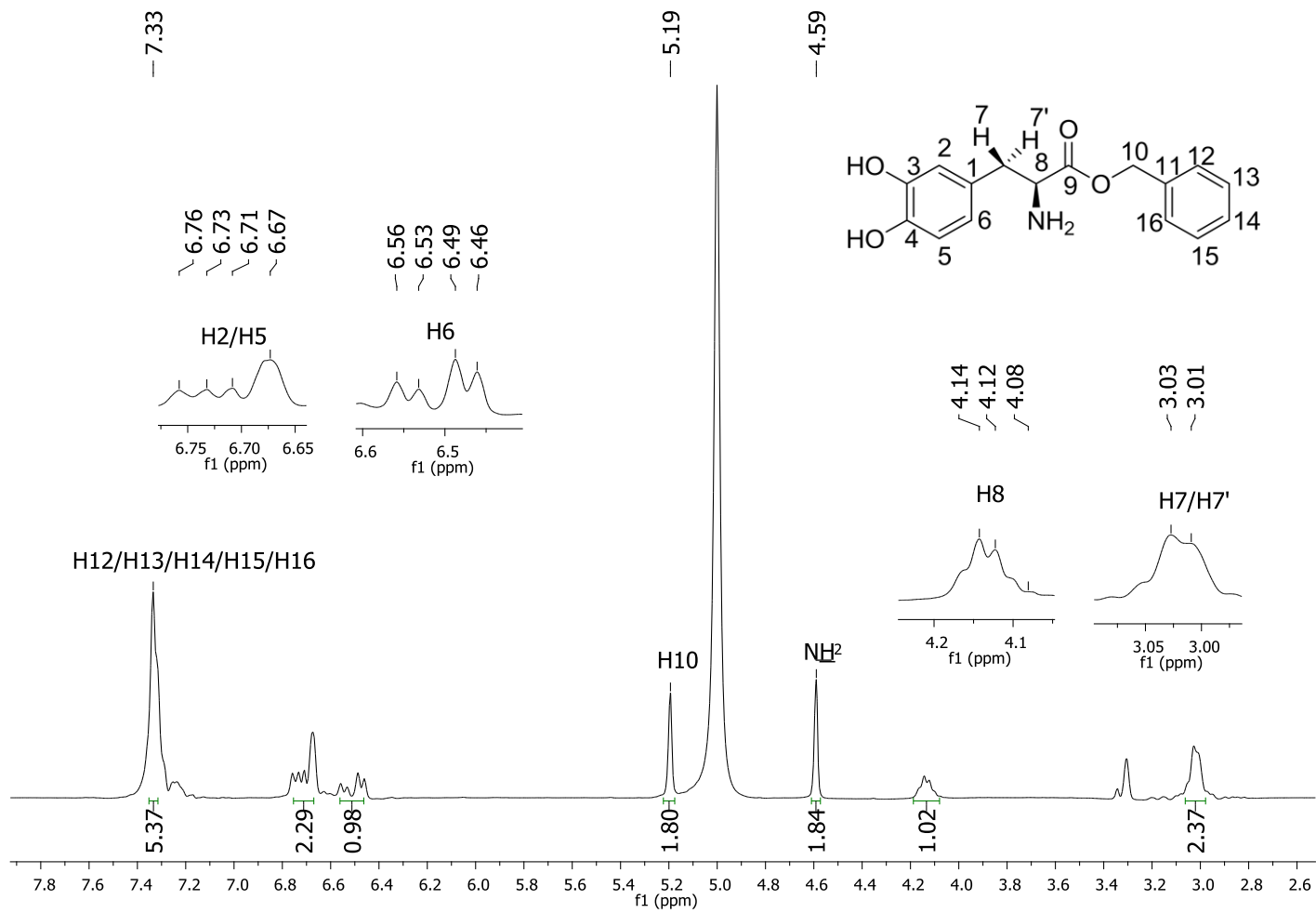
**Figura 27:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 49,0 ppm) do composto [2].



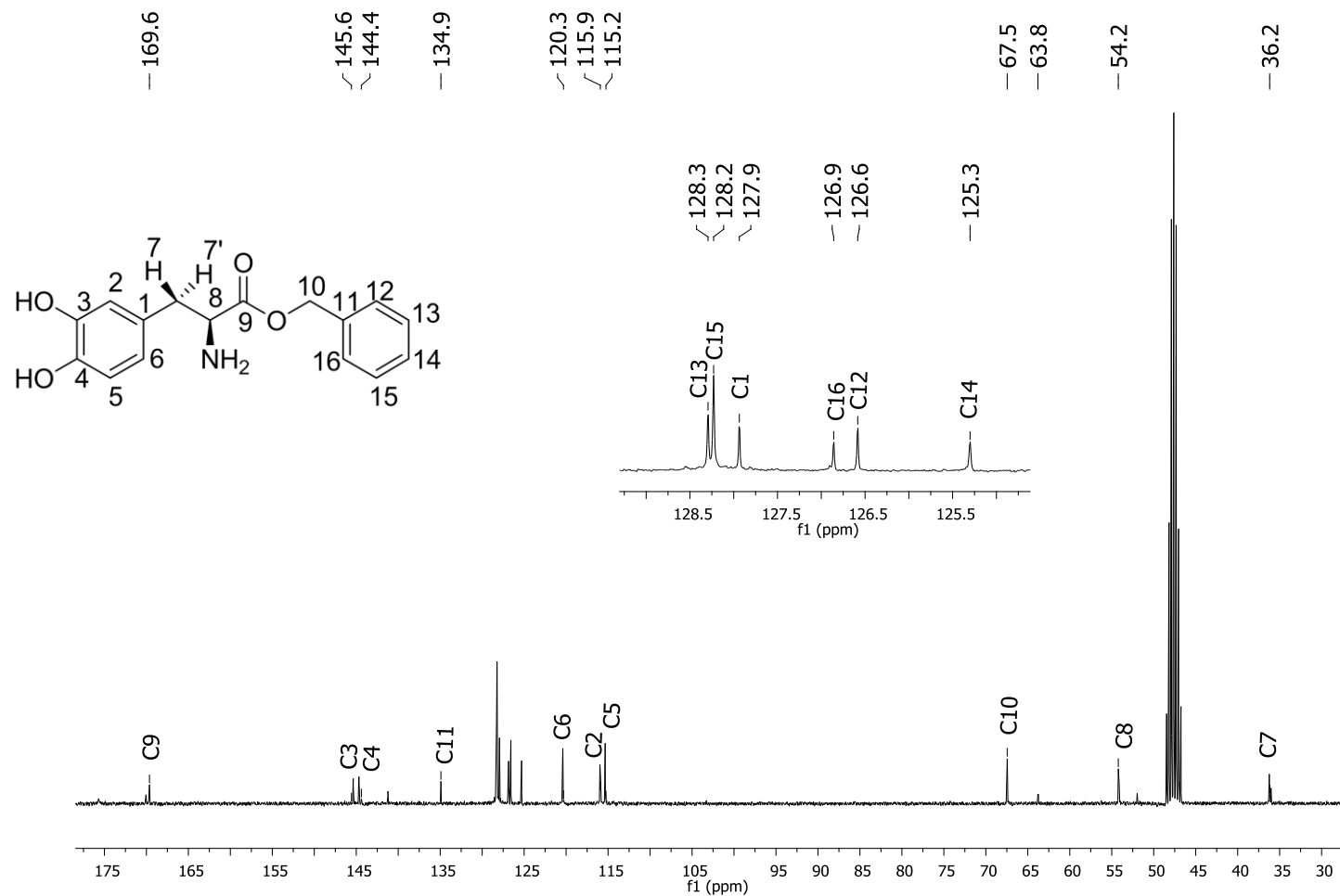
**Figura 28:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [3].



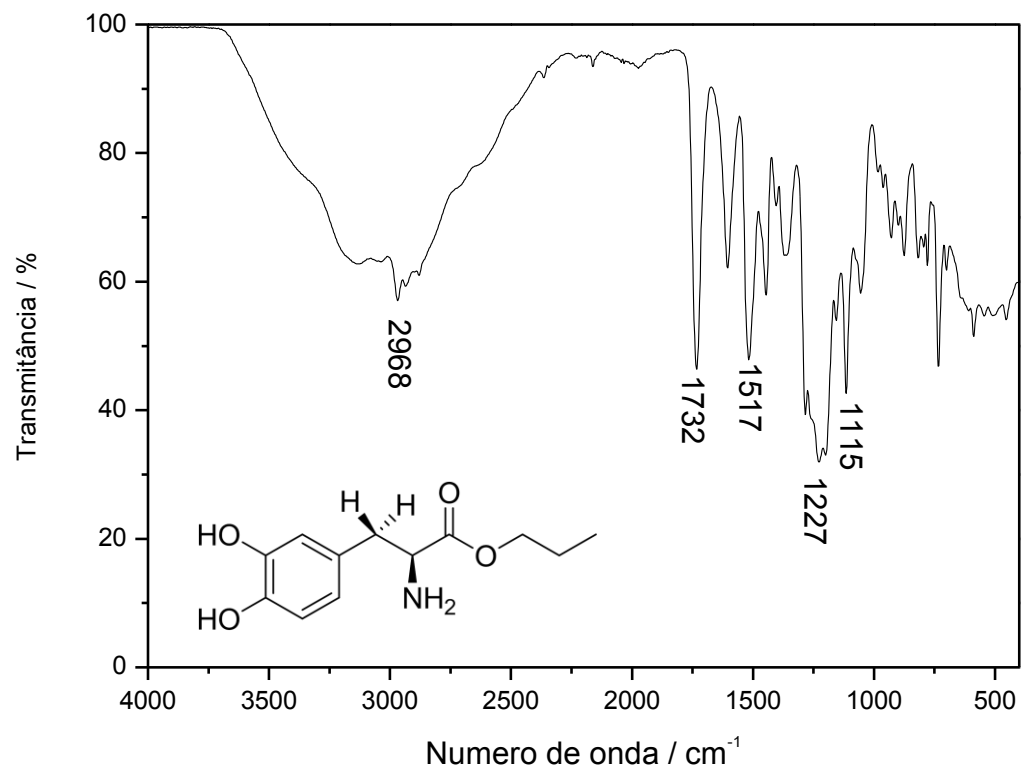
**Figura 29:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [3].



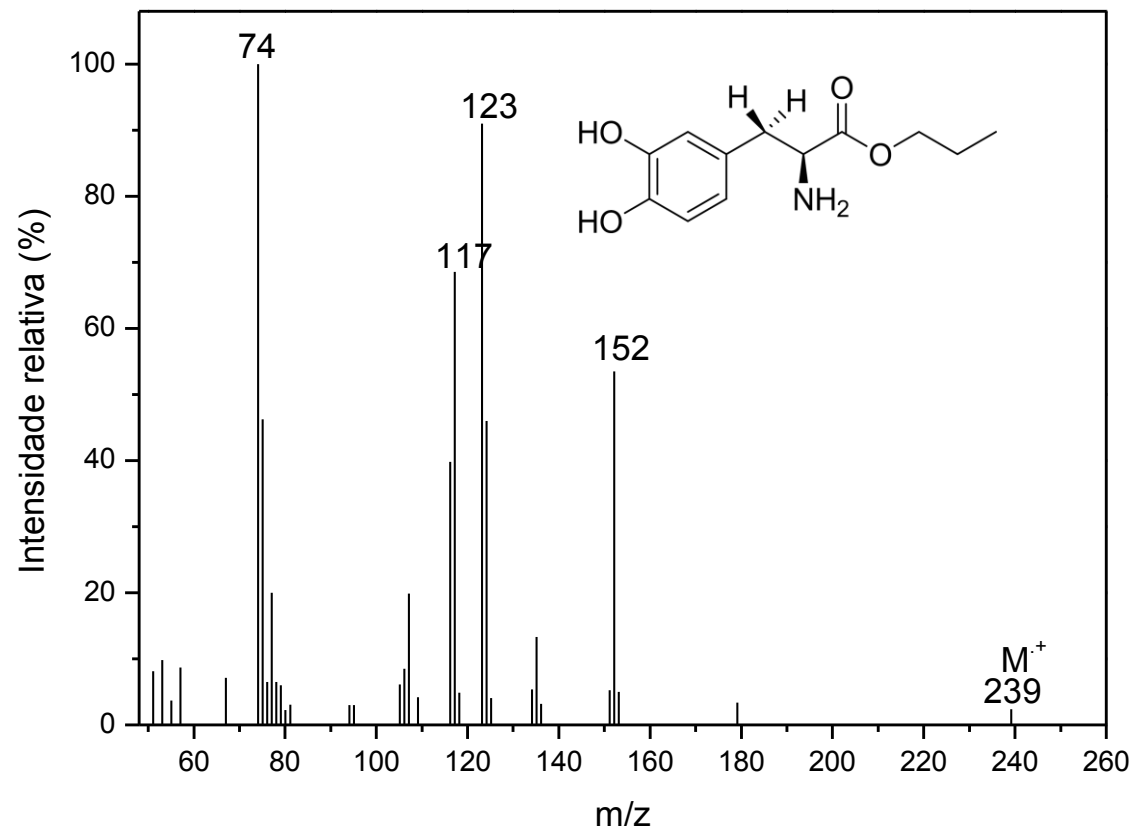
**Figura 30:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$  e  $3,31$  ppm) do composto [3].



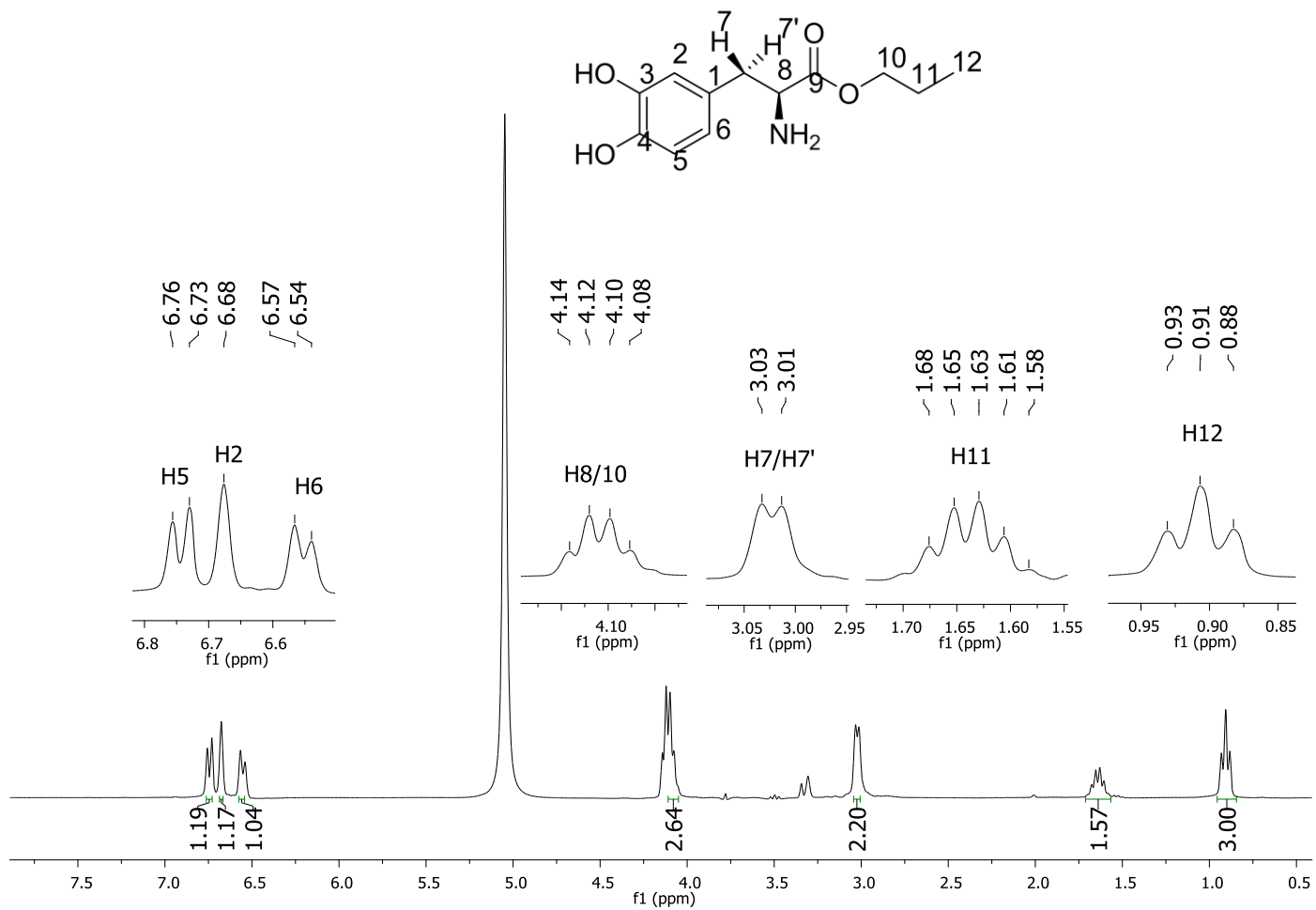
**Figura 31:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 49,0 ppm) do composto [3].



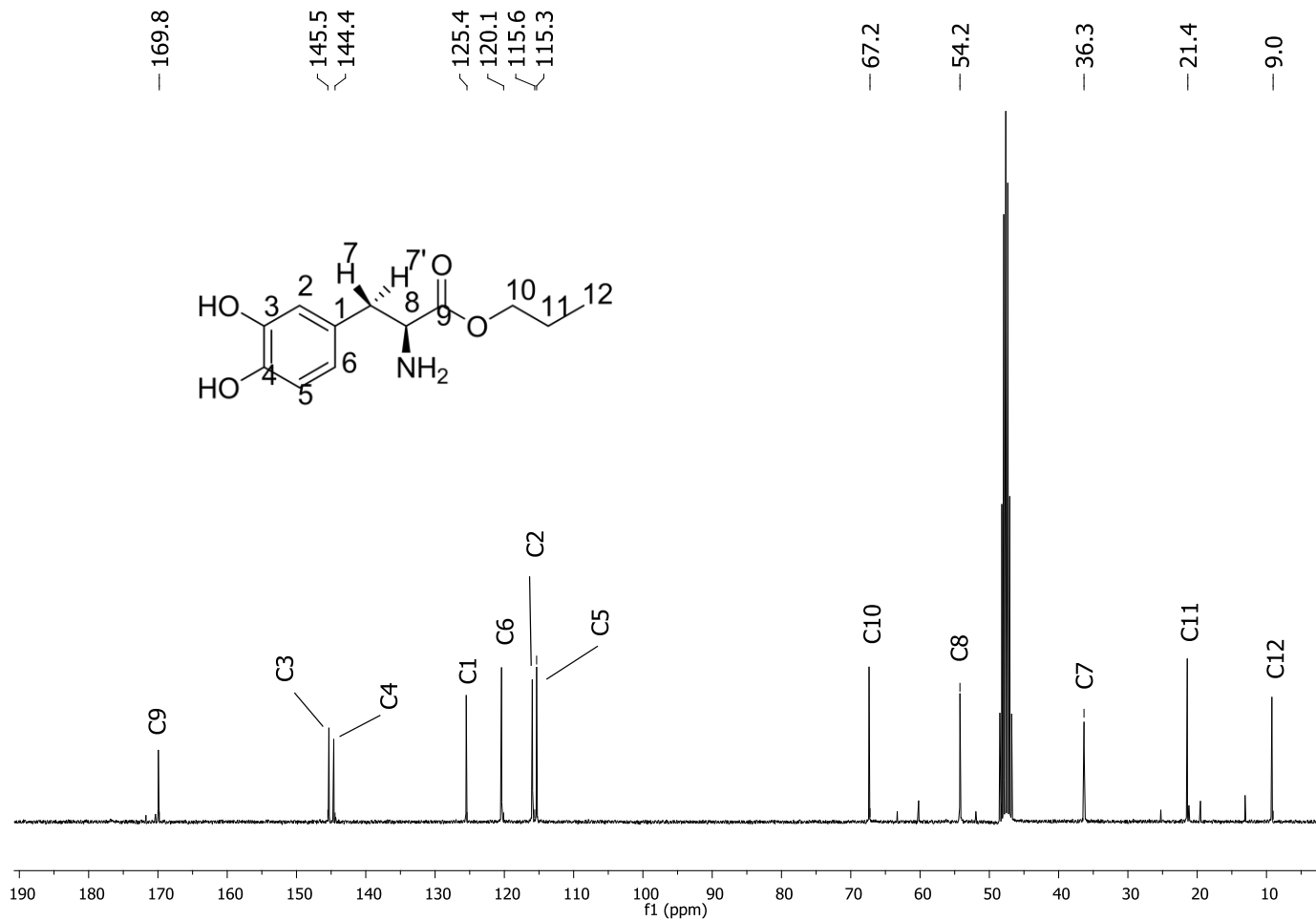
**Figura 32:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [4].



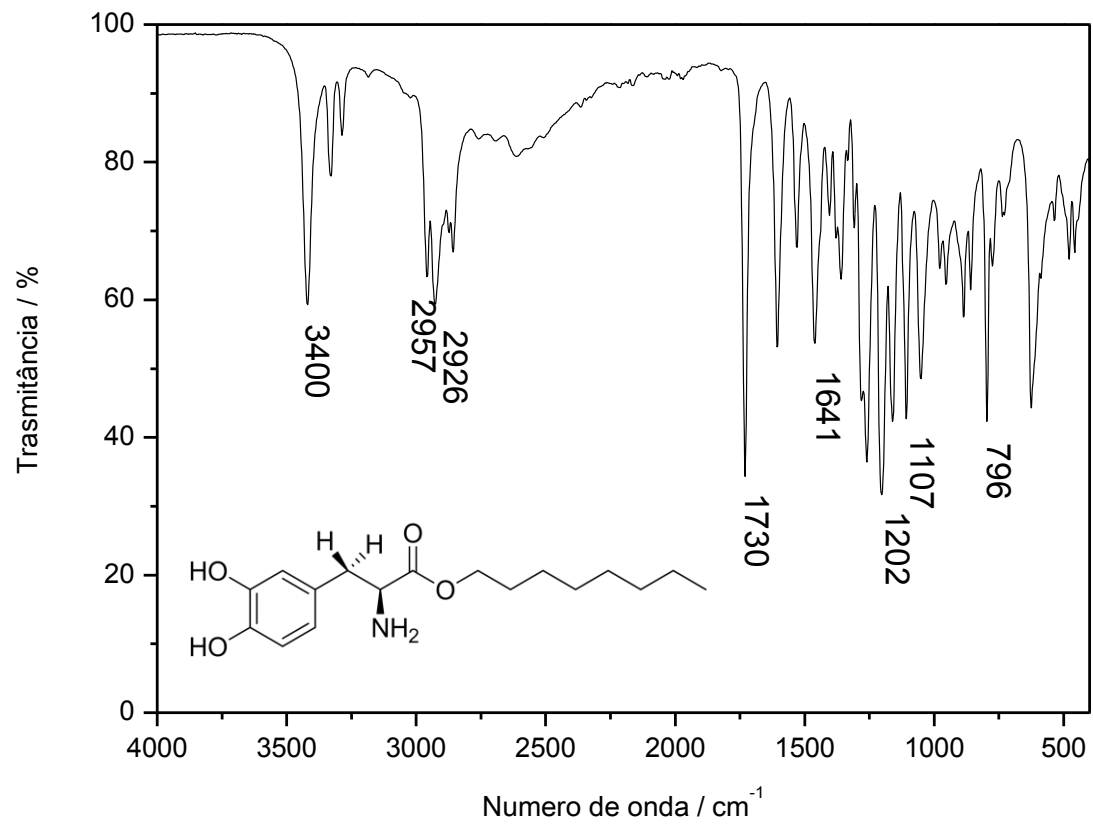
**Figura 33:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [4].



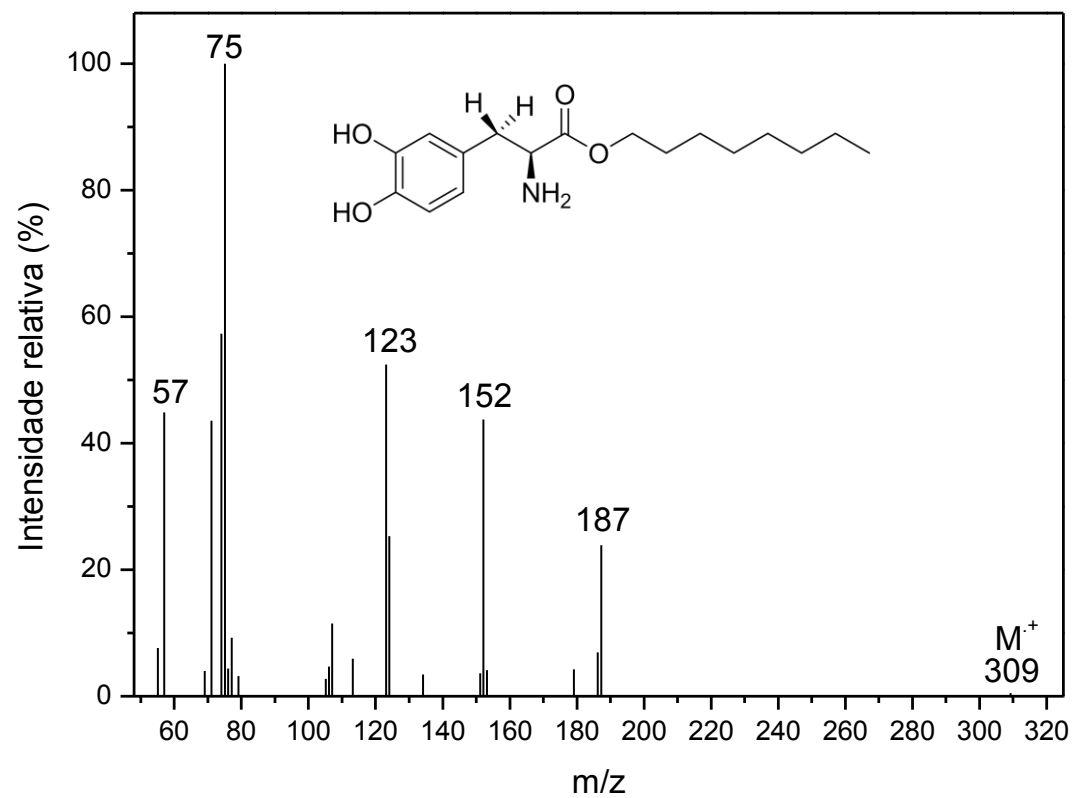
**Figura 34:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 4,87 e 3,31 ppm) do composto [4].



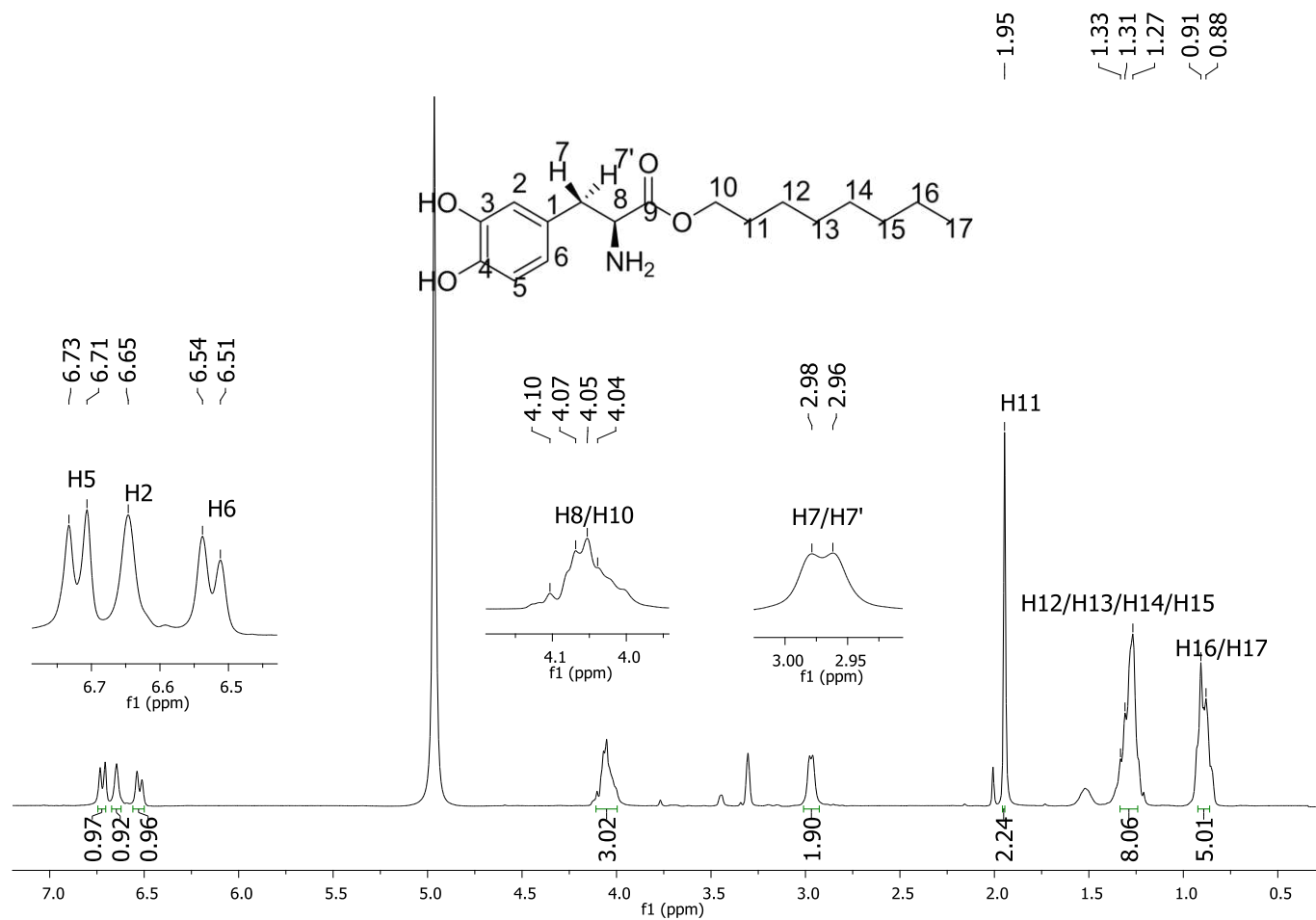
**Figura 35:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$  ppm) do composto [4].



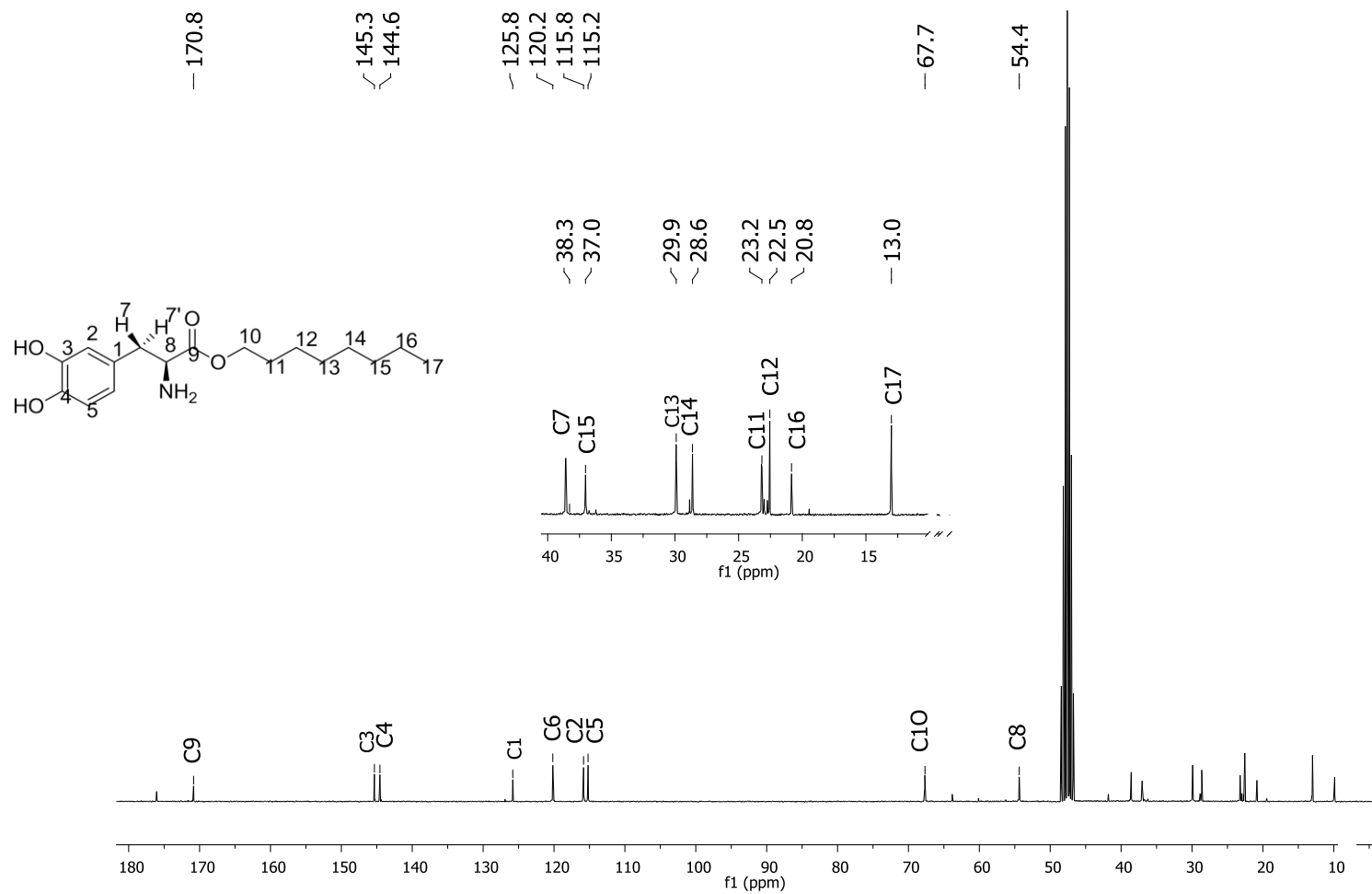
**Figura 36:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [6].



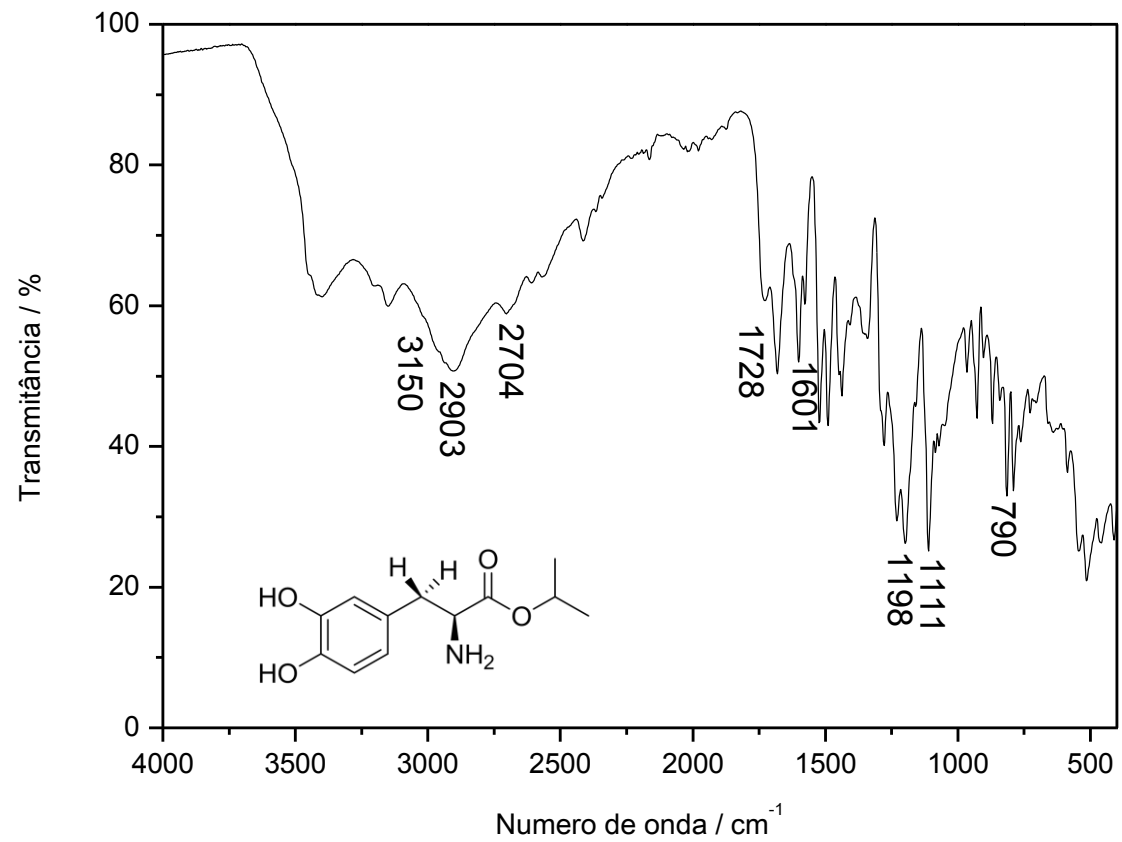
**Figura 37:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [6].



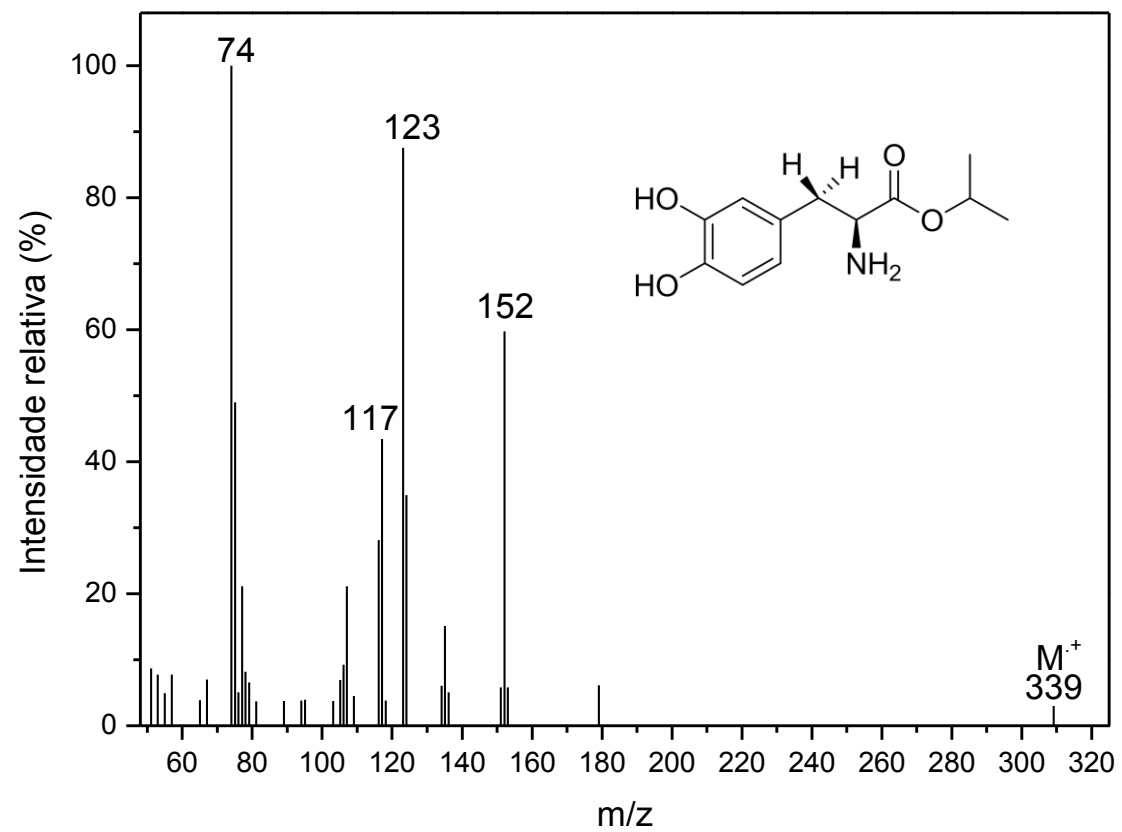
**Figura 38:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$  e  $3,31$  ppm) do composto [6].



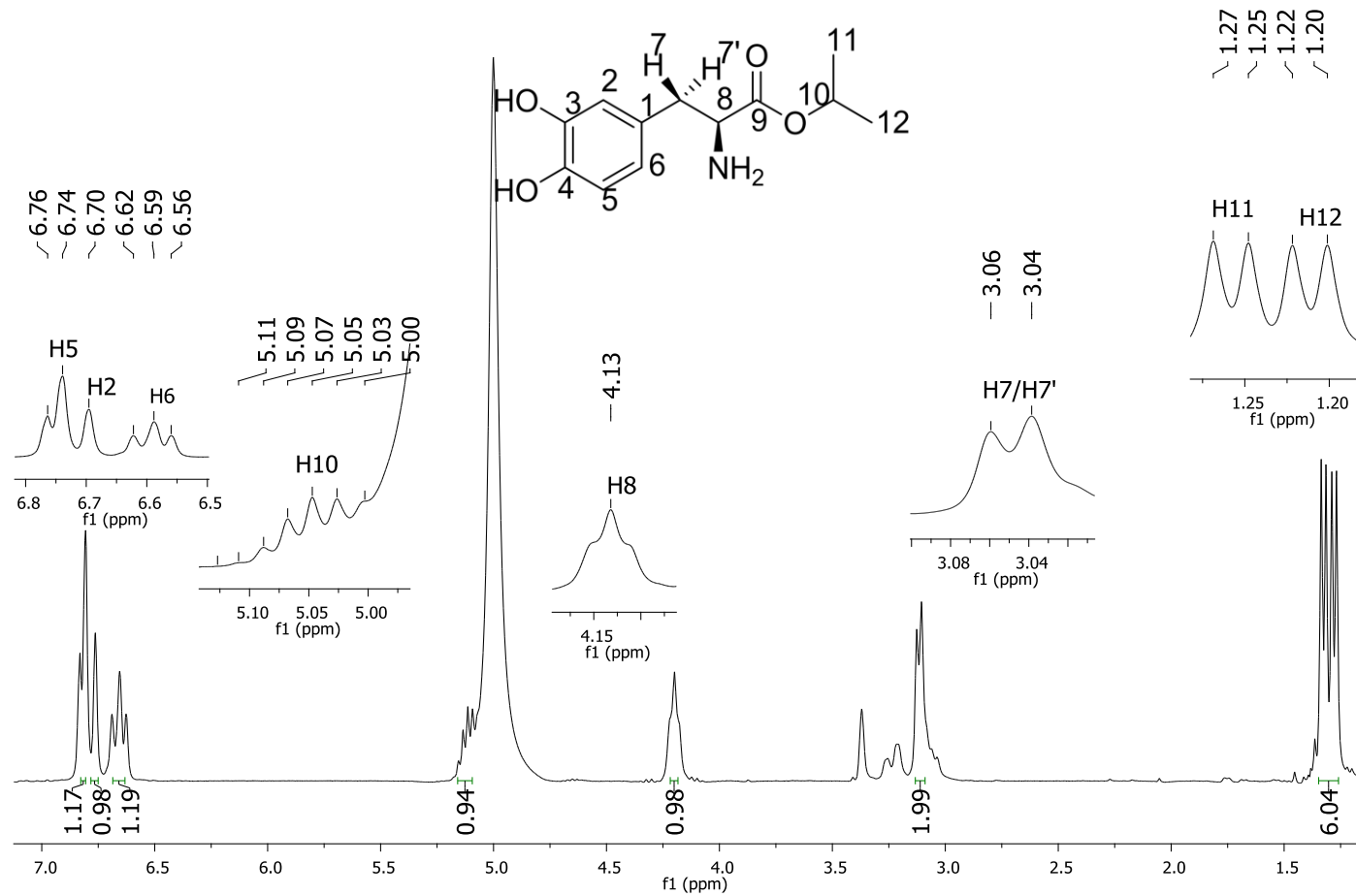
**Figura 39:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 49,0 ppm) do composto [6].



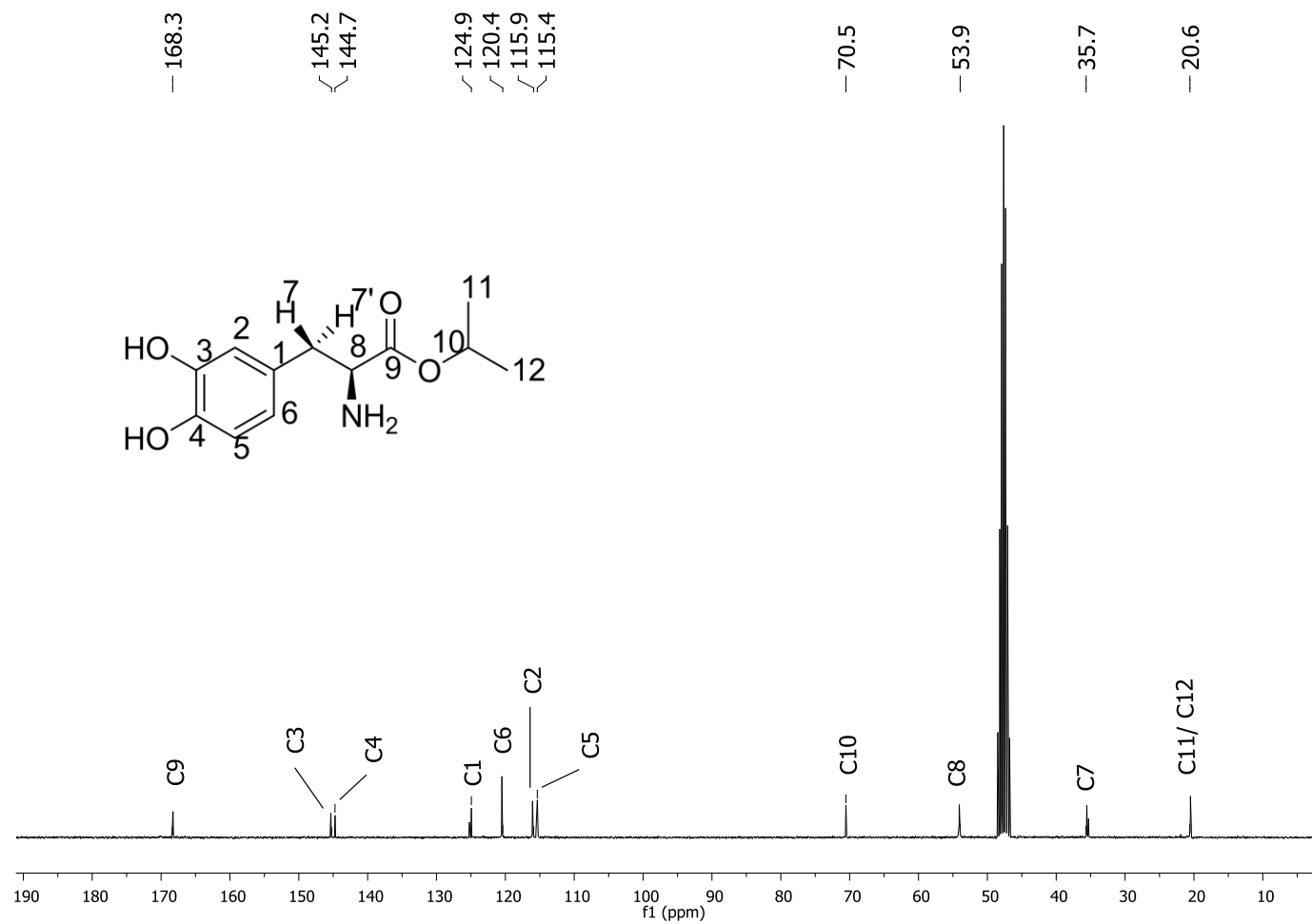
**Figura 40:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [7].



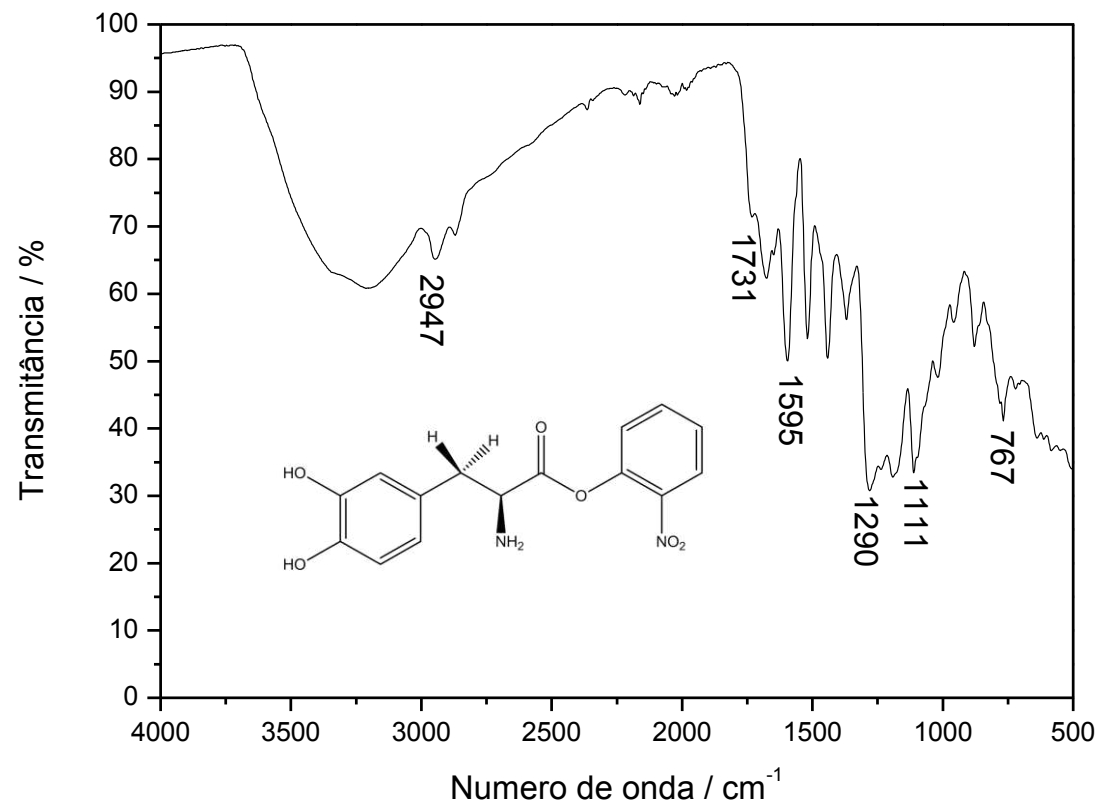
**Figura 41:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [7].



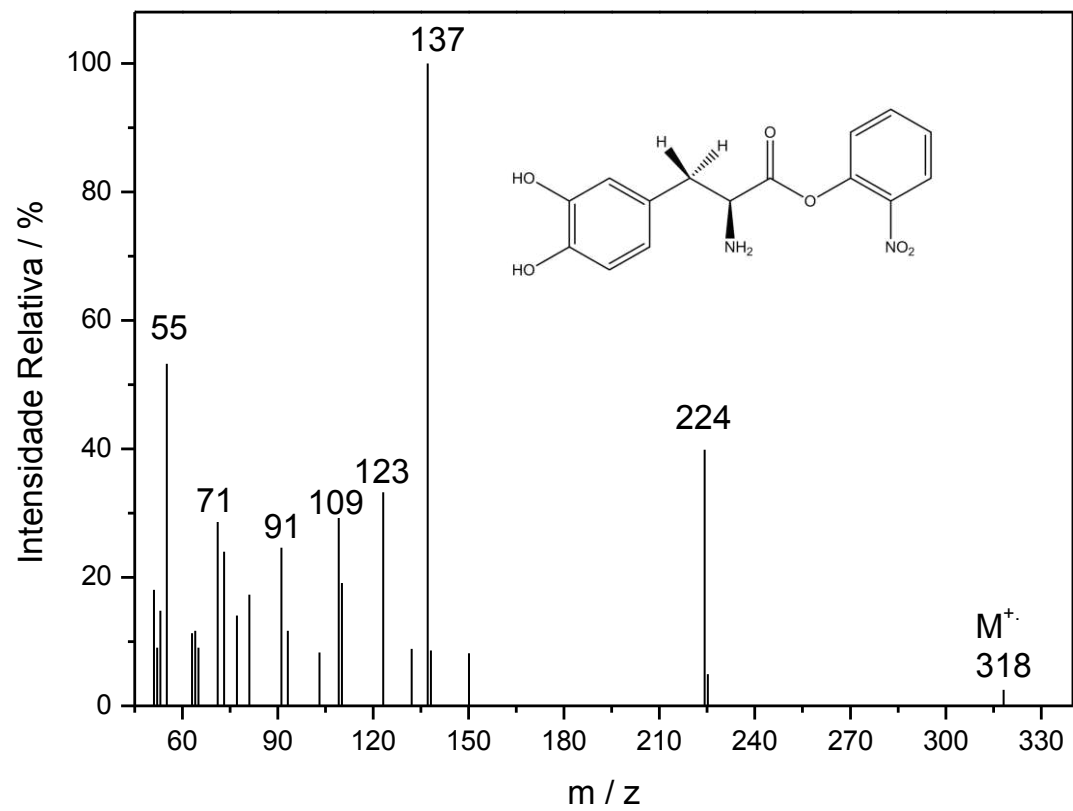
**Figura 42:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 4,87$  e  $3,31$  ppm) do composto [7].



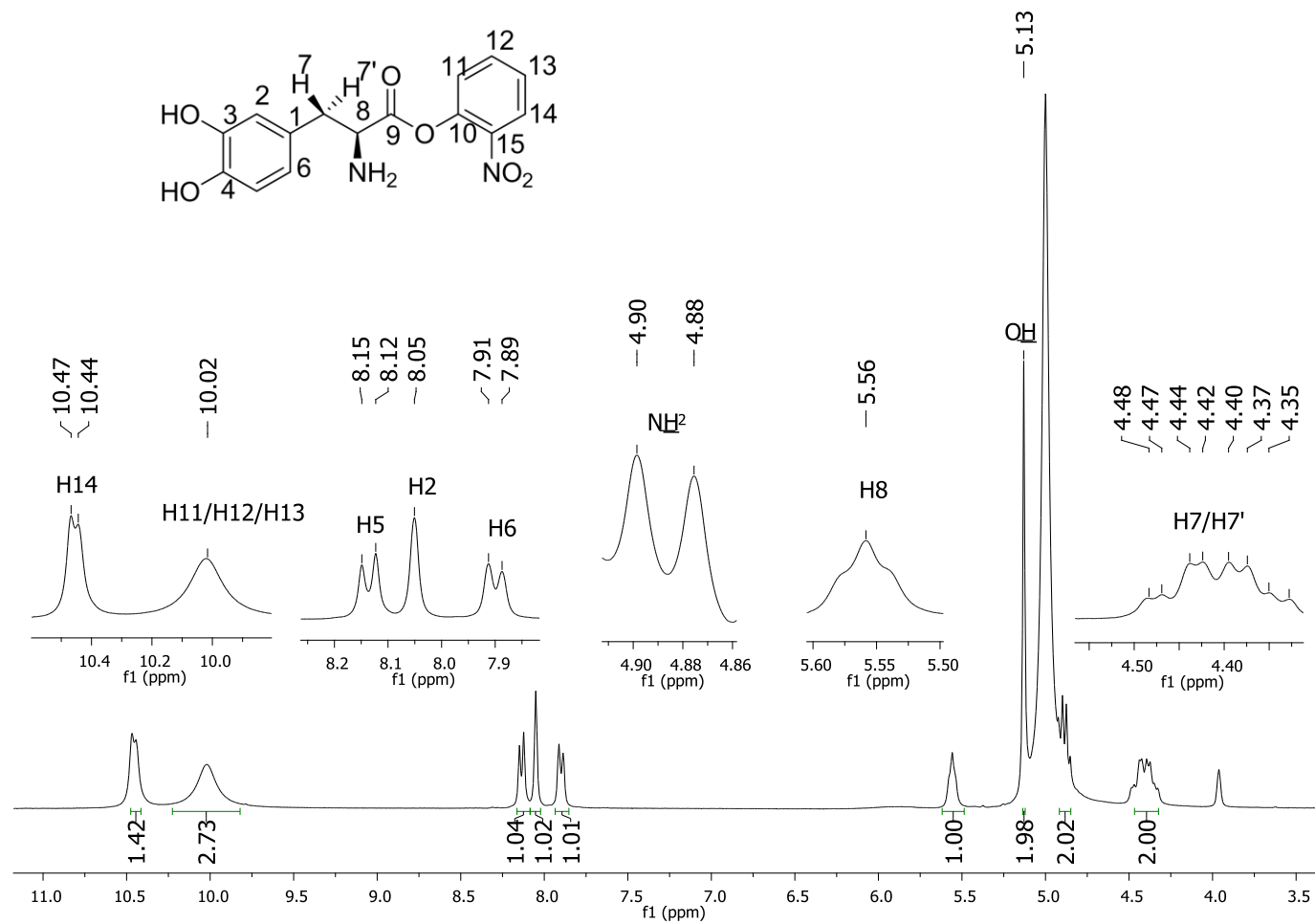
**Figura 43:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 49,0 ppm) do composto [7].



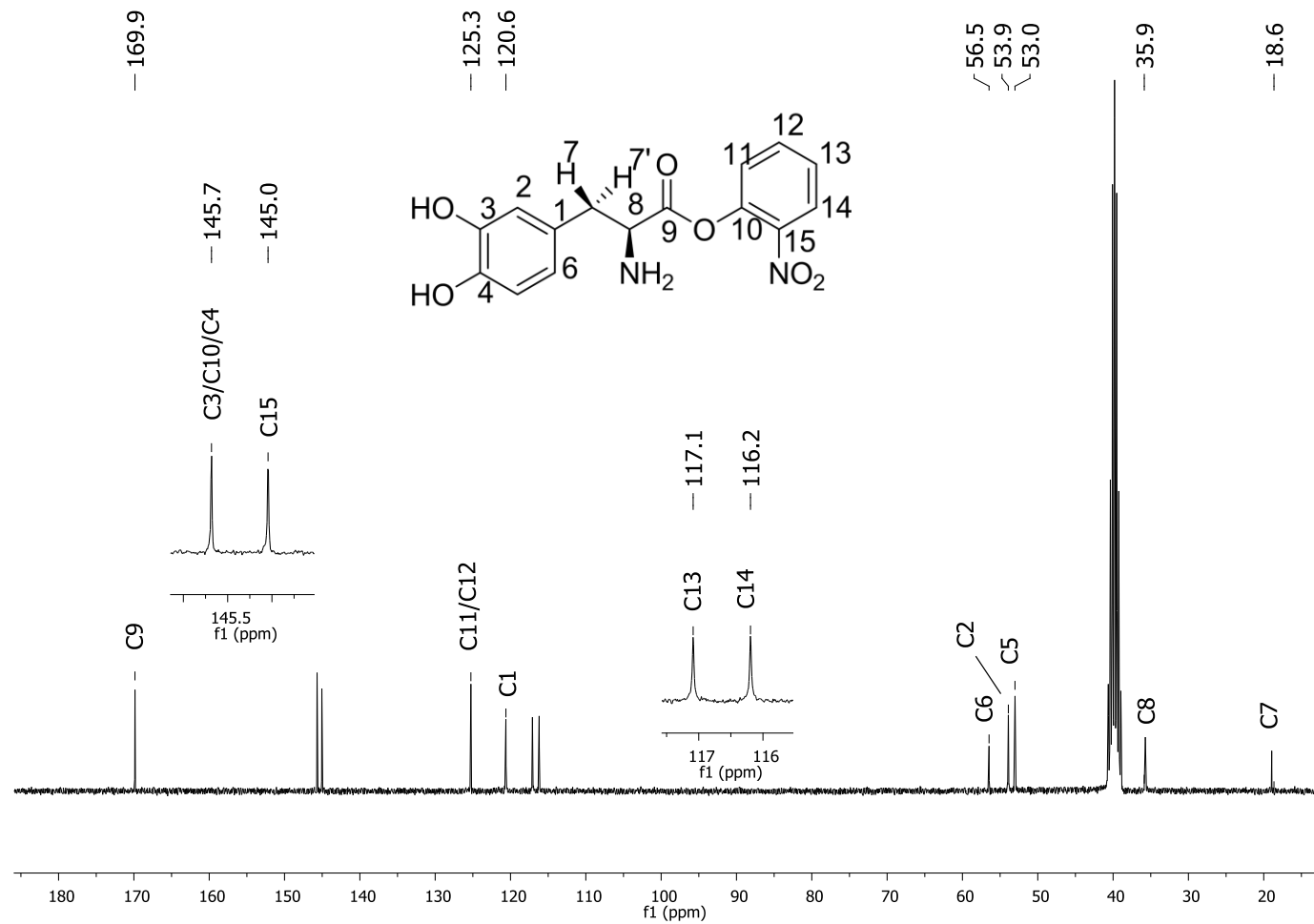
**Figura 44:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [8].



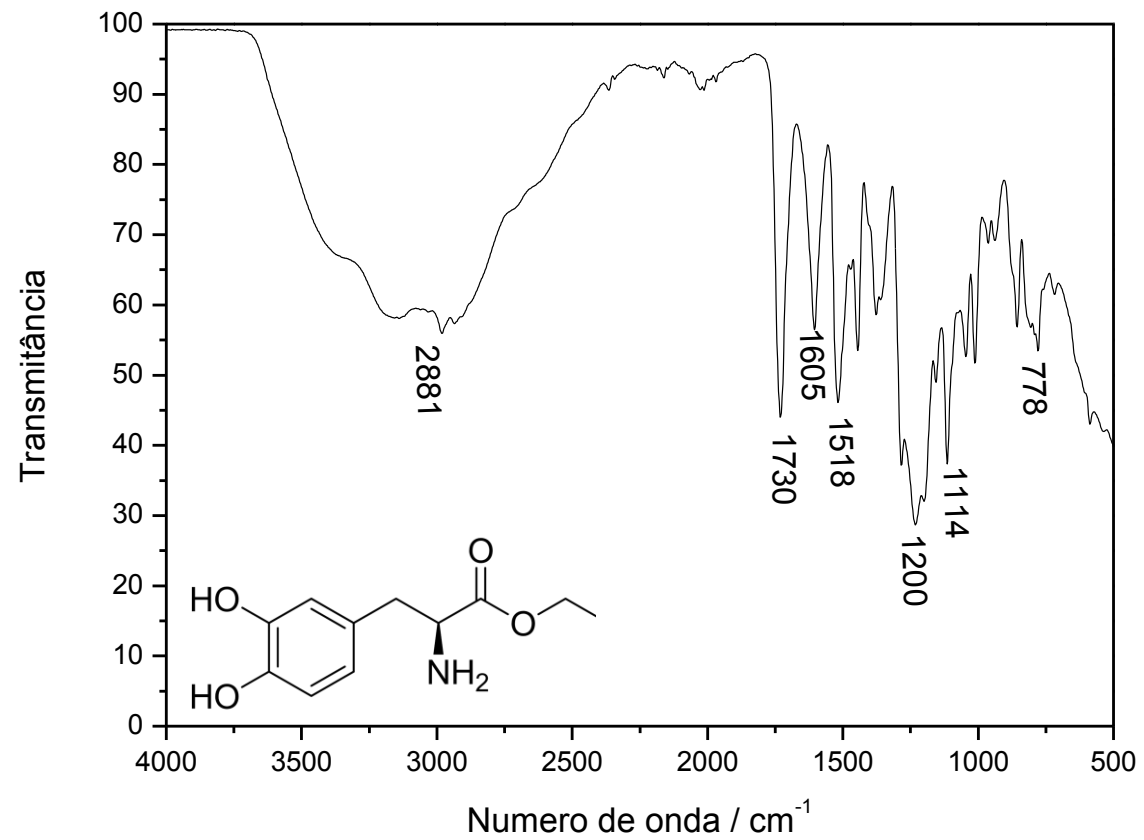
**Figura 45:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [8].



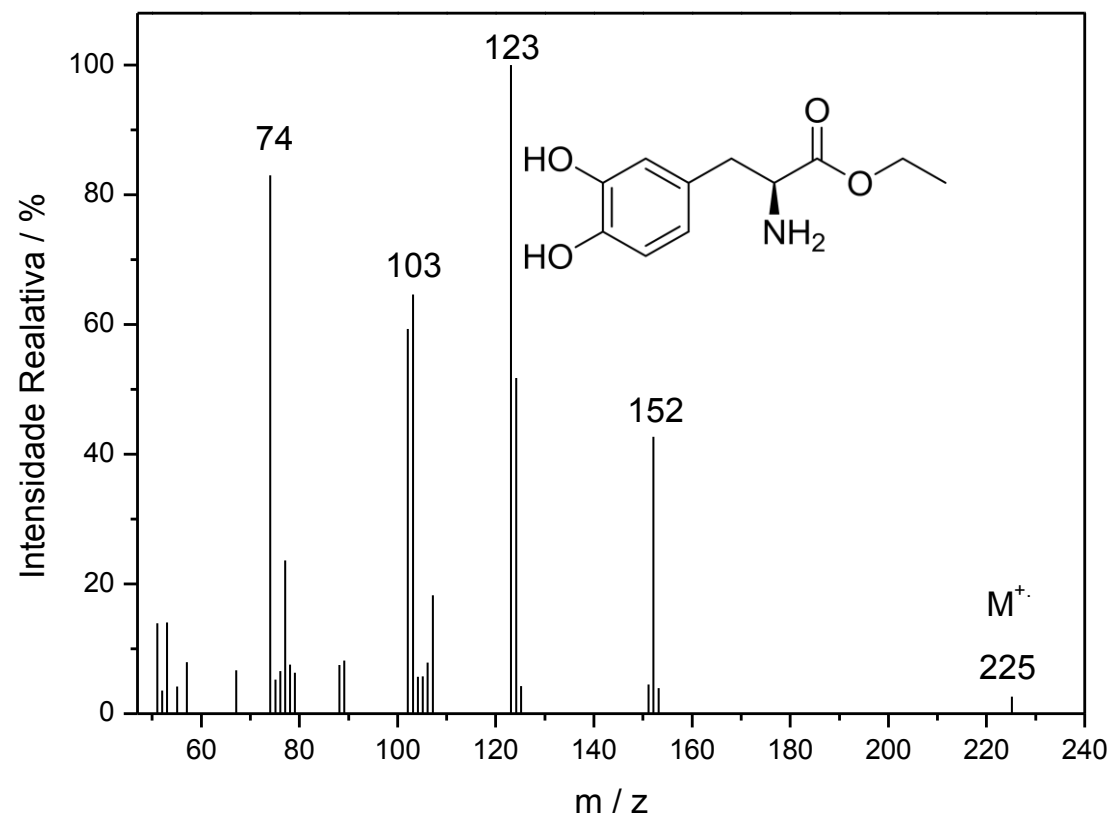
**Figura 46:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 4,87 e 3,31 ppm) do composto [8].



**Figura 47:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$  ppm) do composto [8].



**Figura 48:** Espectro no infravermelho (ATR) do composto [9].



**Figura 49:** Espectro de massas (IE, 70 eV) do composto [9].

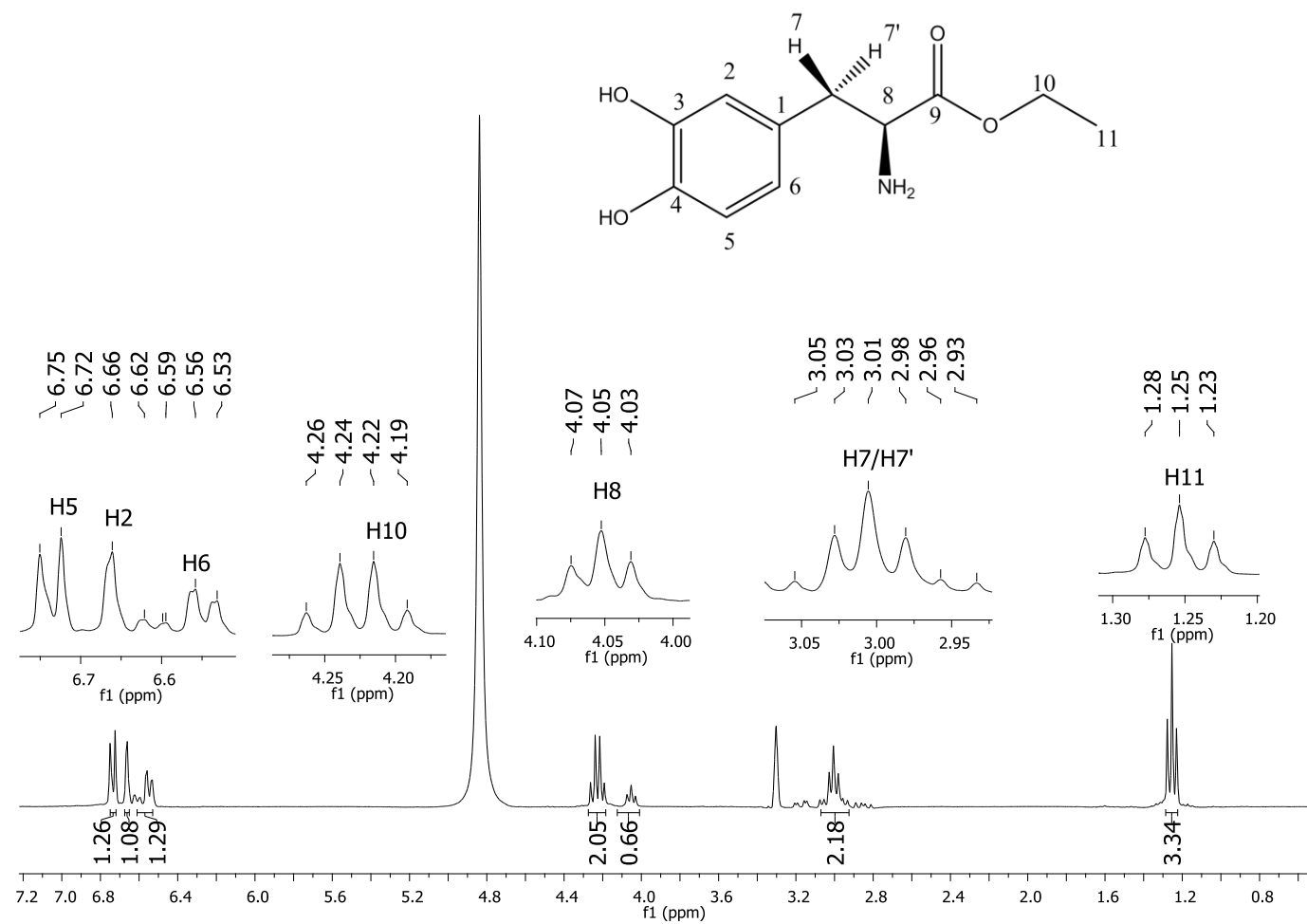


Figura 50: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>CD<sub>3</sub>OD</sub> = 4,87 e 3,31 ppm) do composto [9].

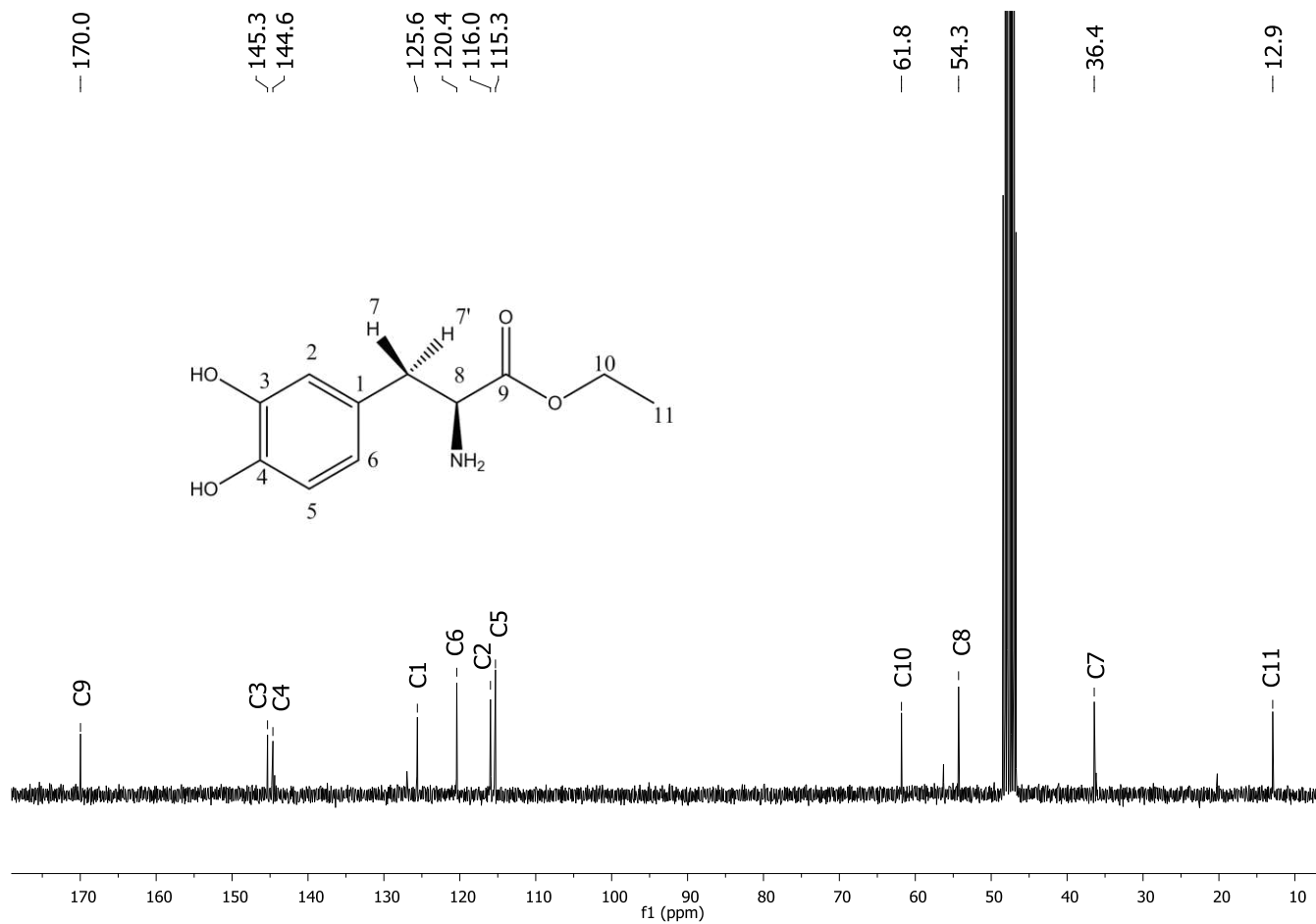


Figura 51: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49,0$  ppm) do composto [9].