

VÂNIA MARIA MOREIRA VALENTE

**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE PIRONAS E PIRIDINONAS
DERIVADAS DO ÁCIDO DESIDROACÉTICO**

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


**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010**


VÂNIA MARIA MOREIRA VALENTE

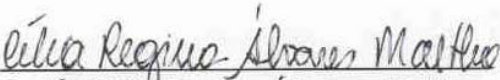
**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE PIRONAS E PIRIDINONAS
DERIVADAS DO ÁCIDO DESIDROACÉTICO**

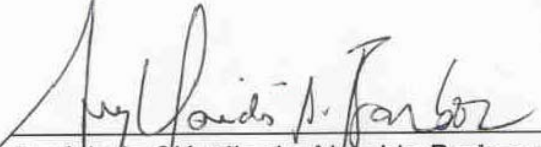
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 31 de agosto de 2010.


Prof. Antônio Flávio de Carvalho Alcântara


Prof. Sergio Antonio Fernandes
(Coorientador)


Prof.ª Célia Regina Álvares Maltha


Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Coorientador)


Prof. Antônio Jacinto Demuner
(Orientador)

A Deus.

À minha adorável filha, Patrícia.

Aos meus irmãos e minha querida mãe.

Ao meu esposo, Antônio.

“Concedei-nos, Senhor, a serenidade necessária para aceitar as coisas que não podemos modificar, coragem para modificar aquelas que podemos, e sabedoria para distinguir umas das outras”.

(Reinhold Niebuhr)

AGRADECIMENTOS

A Deus, presença constante em minha vida, por ter iluminado meu caminho nesta árdua jornada.

Aos meus queridos pais Zilda Dias Moreira e Arlindo Dias Moreira (*in memoriam*). Especialmente à minha mãe, que venceu obstáculos monumentais para que tivéssemos uma educação exemplar. Aos meus irmãos Sônia, Rosângela, José, Milza e Ademir e a toda minha família, pelo amor incondicional, pelo incentivo em todos os momentos.

Ao marido e companheiro Antônio Valente, pelo amor, incentivo, carinho, paciência, apoio e compreensão.

A Patrícia Moreira Valente, mais que filha, um presente divino, razão de alegria perene. A sua existência foi determinante para o meu crescimento pessoal e profissional.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial aos Departamentos de Química, de Engenharia Florestal, de Fitotecnia, de Tecnologia de Alimentos e de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realização deste treinamento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Prof. Antônio Jacinto Demuner, pela orientação, amizade, incentivo e confiança em mim depositada durante todo o período de realização deste trabalho e também pela síntese e caracterização das enaminopirran-2,4-dionas.

Ao Coorientador, Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pelas sugestões decisivas e valiosas no momento certo, pela aquisição dos valores de massa exata e dos dados de difração de raios X, juntamente com o Prof. Akshat Rathi, da Universidade de Oxford, Inglaterra. Agradeço também pelas sábias palavras, que me fizeram refletir e acreditar que eu poderia ser uma Professora Universitária.

Ao Coorientador, Prof. Sergio Antonio Fernandes, pela valiosa contribuição, pronta disponibilidade, especialmente pelo treinamento no aparelho de Ressonância Magnética Nuclear, indispensável ao desenvolvimento de meu projeto, bem como para o meu crescimento profissional.

Ao Prof. Elson Santiago de Alvarenga, sempre disponível e paciente, pelo incentivo e pela ajuda com as dúvidas pertinentes à operação do aparelho de Ressonância Magnética Nuclear.

Aos Professores Antônio Alberto da Silva, do Departamento de Fitotecnia, e Eduardo Euclides, do Departamento de Engenharia Florestal, pela disponibilização da infraestrutura utilizada nos ensaios de fitotoxicidade.

Ao Prof. Nélio, do Departamento de Tecnologia de Alimentos, e aos biólogos Cléber José da Silva (doutorando em Botânica) e Ricardo Montanari (doutorando em Agroquímica), pela colaboração nos ensaios de atividade antibacteriana.

Aos Professores Sebastião Tavares, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, e Reinaldo Cantarutti, do Departamento de Solos, e ao químico Fabrício Marques (doutorando em Agroquímica), pelos ensaios de atividade da urease.

Aos Professores Giuseppe Furlani (Universidade de Ferrara – Itália) e Blaz Lotina (Universidade Nacional Autónoma do México, México), pelos ensaios relacionados à reação de Hill.

À Coordenação da Pós-Graduação em Agroquímica, na pessoa do Prof. Cláudio Ferreira Lima, e aos demais professores, pelos valiosos ensinamentos que contribuíram para a minha formação.

À secretária da Pós-Graduação em Agroquímica, Marisa, pelo pronto atendimento, disponibilidade, dedicação e alegria contagiante em todos os momentos. Em especial, pelo incentivo, antes mesmo da seleção para o curso.

Ao técnico José Luiz Pereira, do Departamento de Química, pela aquisição dos espectros de massas, pelo apoio e incentivo constantes, pela disponibilidade, amizade e, especialmente, pelo bom humor.

Ao técnico Márcio, do Departamento de Química, pela aquisição dos espectros no infravermelho e pelo treinamento desde o preparo da amostra até a operação do espectrômetro.

Aos técnicos Leacir (Departamento de Engenharia Florestal), Luiz Henrique e Leonardo D'Antonino (Departamento de Fitotecnia), pela disponibilidade e paciência nos ensinamentos pertinentes aos ensaios de fitotoxicidade.

Ao Paulo Roberto Ribeiro, doutorando em Fitotecnia, pela coleta das sementes de *Amaranthus hybridus* e testes de germinação.

Aos colegas funcionários da Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba, pelo apoio, especialmente pelo incentivo das técnicas Carla e Vivian e do secretário executivo Luciano.

Aos colegas professores da Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba, pelo incentivo. Em especial, às professoras Jaqueline Dias e Gevany Pinho, pelo apoio recebido na ocasião de minha transferência para a Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba.

Aos Professores Luciano Baião, diretor da Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba, e Luís César Drumond, vice-diretor, pelo apoio, fundamental na conclusão deste projeto.

Aos colegas e amigos do Lasa, Cássia, Cléber, Cleiton, Eduardo, Fabrício, Filipe, Flaviano, Guilherme, Izabel, Jodieh, Juliana, Karla, Kamilla, Katalin, Keylla, Larisse, Léo, Maria Miranda, Montanari, Patrícia, Raphael, Róbson, Rosimeire, Rubens e Ulisses, pela agradável convivência e ajuda, especialmente com as milhares de raízes medidas durante o desenvolvimento do trabalho.

A Patrícia Pinheiro, pela amizade, apoio e incentivo nos momentos difíceis do mestrado ao doutorado.

À grande amiga Rosimeire Barcelos, pela valiosa contribuição, apoio, opinião e companheirismo em todos os momentos.

Enfim, a todos que de algum modo contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

VÂNIA MARIA MOREIRA VALENTE, filha de Arlindo Dias Moreira e Zilda Dias Moreira, nasceu em Vinte Alqueires, distrito de Porto Firme, Minas Gerais, em 31 de Agosto de 1976.

Em março de 1999, iniciou o curso de Química na Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se Licenciada em março de 2003 e Bacharela em agosto do mesmo ano.

Durante este período, foi bolsista de iniciação científica do Programa de Bolsas da FAPEMIG, quando desenvolveu pesquisas na área de Química de Produtos Naturais.

Em agosto de 2003, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de mestrado, bolsista da CAPES, na Universidade Federal de Viçosa.

Aprovada em concurso público, assumiu os cargos de Técnico em Laboratório da Universidade Federal de Viçosa em junho de 2004, e de Professora de Química no ensino médio da rede Estadual, em março de 2005.

Submeteu-se à defesa de dissertação de mestrado, conquistando o título de Mestre em Agroquímica em setembro de 2005.

Exonerada a pedido de ambos os cargos, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica em outubro de 2006, área de concentração Química Orgânica, em nível de doutorado, bolsista FAPEMIG, na Universidade Federal de Viçosa.

Aprovada em concurso público, assumiu o cargo de Químico da Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba em fevereiro de 2009. Tal cargo ocupou por apenas seis meses, já que pediu vacância para assumir o cargo de Professora Assistente de Química Orgânica, do recém-criado curso de Química da mesma Instituição.

Submeteu-se à defesa de tese de doutorado em agosto de 2010.

Durante a vida acadêmica universitária, participou e/ou apresentou trabalhos em congressos regionais, nacionais e internacionais.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO	1
1.1. A agricultura e os defensivos agrícolas	1
1.2. O uso de herbicidas e o impacto ambiental	3
1.3. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas	5
1.4. A necessidade de novos herbicidas	7
1.5. Produtos naturais como protótipos de novos herbicidas	8
1.6. Enaminopirranonas e piridinonas	9
1.7. Justificativa do trabalho	11
1.8. Características das plantas utilizadas nos ensaios de atividade fitotóxica	12
1.9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
CAPÍTULO 2	29
PREPARATION OF ACHIRAL AND CHIRAL <i>E</i> -ENAMINO-PYRAN-2,4-DIONES AND THEIR PHYTOTOXIC ACTIVITY	29

2.1. INTRODUCTION	30
2.2. MATERIALS AND METHODS	31
2.2.1. General Experimental Procedures	31
2.2.2. General procedure for the synthesis of <i>E</i> -enaminopyran-2,4-dione derivatives (2a-k , 3a-b and 4a-c)	32
2.2.3. X-Ray analysis	38
2.2.4. Plant growth inhibition assays	41
2.2.4.1. Radicle elongation assay on filter paper	41
2.2.4.2. Greenhouse trials	41
2.3. RESULTS AND DISCUSSION	42
2.3.1. Synthesis of <i>E</i> -enaminopyran-2,4-diones	42
2.3.2. X-Ray analysis	44
2.3.3. Phytotoxic assay	45
2.4. CONCLUSIONS	52
2.5. ACKNOWLEDGMENT	52
2.6. LITERATURE CITED	53
2.7. SUPPORTING INFORMATION AVAILABLE	59
2.7.1. X-Ray analysis. Results and Discussion	59
2.7.2 References	66
2.8. ¹ H NMR AND ¹³ C NMR SPECTRA FOR SELECTED COMPOUNDS	67

CAPÍTULO 3	70
SÍNTESE E ATIVIDADE FITOTÓXICA DE COMPOSTOS AROMÁTICOS DERIVADOS DE 3,5-DIOXOEXANOATO DE METILA	70
3.1. INTRODUÇÃO	71
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS	74
3.2.1. Técnicas experimentais	74
3.2.2. Procedimento sintético	76
3.2.3. Ensaio biológico	81
3.2.3.1. Avaliação da atividade fitotóxica dos compostos 6 , 7 e 8 sobre a germinação e o desenvolvimento radicular de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) e de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	81
3.2.3.2. Avaliação da atividade fitotóxica do composto 6 e Diuron sobre a produção de biomassa de corda-de-viola (<i>Ipomoea grandifolia</i>) e de braquiária (<i>Brachiaria decumbens</i>)	82
3.2.3.3. Avaliação da atividade do composto (6) sobre o transporte de elétrons (Reação de Hill)	83
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
3.3.1. Síntese dos derivados policetídeos (3 , 6 , 7 e 8)	85
3.3.2. Ensaio biológico	100
3.4. CONCLUSÕES	103
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
	106

CAPÍTULO 4

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIÓLOGICA DE BIS(PIRIDIL)METANOS DERIVADOS DA 4-HIDROXI-6-METILPIRIDIN-2-ONA	106
4.1. INTRODUÇÃO	107
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS	111
4.2.1. Técnicas experimentais	111
4.2.2. Procedimento de síntese	113
4.2.2.1. Procedimento para a síntese da 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6)	113
4.2.2.2. Procedimento para a síntese da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7)	114
4.2.2.3. Procedimento para a síntese dos derivados bis(piridil)metanos (8-40)	115
4.2.3. Ensaio Biológicos	149
4.2.3.1. Ensaio de atividade fitotóxica	149
4.2.3.2. Ensaio de atividade antibacteriana	150
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	151
4.3.1. Síntese dos Bis(piridil)metanos	151
4.3.2. Ensaio de fitotoxicidade - efeito na germinação e no crescimento radicular de <i>C. sativus</i> e <i>S. bicolor</i>	165
4.3.3. Ensaio de fitotoxicidade - efeito na produção de biomassa de <i>I. grandifolia</i> , <i>C. sativus</i> , <i>A. hybridus</i> , <i>E. indica</i> , <i>B. decumbens</i> e <i>S. bicolor</i>	167

4.3.4. Ensaio de atividade antibacteriana	179
4.4. CONCLUSÕES	180
4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	181
4.6. ESPECTROS DE IV E RMN DE ^1H E ^{13}C DA 3,3'-((4-NITROFENIL)METILENO)BIS(4-HIDROXI-6-METILPIRIDIN-2(1H)-ONA) (16)	189
CAPÍTULO 5	194
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBIDORA DE UREASE DE BIS(PIRIDIL)METANOS DERIVADOS DO ÁCIDO DESIDROACÉTICO	194
5.1. INTRODUÇÃO	195
5.2. MATERIAIS E MÉTODOS	197
5.2.1. Tampão fosfato de sódio a $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 7,4	198
5.2.2. Solução de fenol (A)	198
5.2.3. Solução de hipoclorito (B)	198
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	200
5.4. CONCLUSÕES	205
5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	206
CONCLUSÕES GERAIS	208

LISTA DE ABREVIATURAS

2,4-D	ácido 2,4-diclorofenoxiacético
ACCase	Acetilcoenzima A carboxilase
ALS	Acetolactato sintase
ATP	Adenosinatrifosfato
BHI	Brain Heart Infusion
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de massas
COSY	Correlated spectroscopy
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
dl	Dupleto largo
DL ₅₀	Dose letal, quantidade de uma determinada substância necessária ingerir ou administrar para provocar a morte de pelo menos 50% da população
DMSO – d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNOC	2-metil-4,6-dinitrofenol
dt	Duplo tripleto
EPSPS	5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase
HETCOR	Heteronuclear correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HRMS (ESI TOF-MS)	High-resolution electrospray ionisation time-of-flight mass

IV	Infravermelho
m	Multiplete
<i>m/z</i>	Relação massa/carga dos fragmentos do EM
MCPA	Ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butillítio
noe	Efeito nuclear de Overhauser
P.A.	Puro para análise
Ph	Fenil
pH	Potencial Hidrogeniônico
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de ¹³ C
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de ¹ H
s	Simpleto
SINDAG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola
sl	Simpleto largo
T _f	Temperatura de fusão
THF	Tetraidrofurano
U	Unidade de enzima, 1 U é a quantidade da enzima que libera 1 μmol de NH ₃ da uréia por minuto, a pH 7 e a 25 °C
UFC	Unidade Formadora de Colônia
v/v	Volume/volume

RESUMO

VALENTE, Vânia Maria Moreira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2010. **Síntese e atividade biológica de pironas e piridinonas derivadas do ácido desidroacético**. Orientador: Antônio Jacinto Demuner. Coorientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Sergio Antonio Fernandes.

Um grande número de compostos contendo o anel piran-2-ona ou piridin-2-ona apresenta atividade antibacteriana, antifúngica, antimalárica, cardiotônica, analgésica, anti-inflamatória, citotóxica, neurotóxica, inseticida, anti-HIV, antioxidante e fitotóxica. O presente trabalho teve como objetivos sintetizar enaminopiranonas contendo o anel piran-2-ona e bis(piridil)metanos apresentando o anel piridin-2-ona e, posteriormente, avaliar suas atividades fitotóxicas. Buscou-se ainda a avaliação do potencial antibacteriano dos bis(piridil)metanos. Para a síntese destes compostos foi utilizado o ácido desidroacético como material de partida. A síntese das dezesseis enaminopiranonas foi realizada em única etapa, pela reação do ácido desidroacético com diferentes aminas (alquilaminas, arilaminas e aminometilésteres), com os rendimentos que variaram de 49% a 97%. A síntese dos trinta e três bis(piridil)metanos foi realizada por uma rota sintética com três etapas, em que os rendimentos totais variaram de 20% a 95%. As enaminopiranonas e os bis(piridil)metanos foram avaliados quanto ao potencial fitotóxico sobre a germinação e o crescimento radicular de *Sorghum bicolor* L. (sorgo) e *Cucumis sativus* L. (pepino), bem como sobre a produção de biomassa em sorgo, pepino, *Ipomoea grandifolia* (corda-de-violão), *Brachiaria decumbens* (braquiária), *Amaranthus hybridus* (caruru) e

Eleusine indica (capim pé-de-galinha). Dentre as enaminopiranonas, a substância mais fitotóxica foi a (S,E)-3-(1-(sec-butilamino)etilideno)-6-metil-3H-piran-2,4-diona, que inibiu, em média, 83% a produção de biomassa em corda-de-viola e 65% em braquiária, a uma concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A braquiária (monocotiledônea) foi a espécie menos susceptível diante das enaminopiranonas avaliadas. Dentre os bis(piridil)metanos, o composto com maior potencial fitotóxico médio foi 3,3'-((2-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona), cujo menor valor de inibição foi 31,6% sobre o sistema radicular de sorgo, e o maior valor foi 80,3% sobre o sistema radicular de braquiária. Assim como para as enaminopiranonas, foi observada uma menor susceptibilidade das monocotiledôneas aos bis(piridil)metanos. Apesar de ter sido reduzida a produção de biomassa, a espécie em que esta redução foi a menos intensa foi a braquiária. Os bis(piridil)metanos foram avaliados também quanto ao potencial antibacteriano contra *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Entretanto, nenhum composto inibiu o crescimento destas bactérias. Diversos bis(piridil)metanos inibiram a atividade da urease, sendo que a presença de um anel aromático, fenil ou furil, não substituído, garantiu maior atividade. Foi observado que alguns compostos induziram o crescimento de *B. decumbens* e inibiram a atividade da urease. Tais compostos podem ser considerados candidatos a aditivos de fertilizantes à base de ureia destinados à formação de pastagens, podendo aumentar a produção de biomassa e, simultaneamente, diminuir as perdas de nitrogênio causadas pela atividade da urease.

ABSTRACT

VALENTE, Vânia Maria Moreira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August of 2010. **Synthesis and biological activities of pyrones and pyridinones derived from dehydroacetic acid.** Adviser: Antônio Jacinto Demuner. Co-advisers: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Sergio Antonio Fernandes.

A large number of compounds containing the pyran-2-one or pyridine-2-one ring have antibacterial, antifungal, antimalarial, cardiotoxic, analgesic, anti-inflammatory, cytotoxic, neurotoxic, insecticide, anti-HIV, anti-oxidant and phytotoxic activity. The present work aimed at synthesis of enamino pyranones containing the pyran-2-one ring and bis(pyridyl)methanes presenting the pyridin-2-one ring and, later, evaluating its phytotoxic activities. The antibacterial potential of bis(pyridyl)methanes was also evaluated. Dehydroacetic acid was used as starting material for the synthesis of these compounds. The synthesis of the sixteen enamino pyranones was carried out in a single stage, by the reaction of dehydroacetic acid with different amines (alkylamines, arylamines and amino methyl esters), with yields ranging from 49% to 97%. The syntheses of the thirty-three bis(pyridyl)methanes were carried out through a three-step synthetic route, in which the total yields ranged from 20% to 95%. The enamino pyranones and bis(pyridyl)methanes were evaluated as for their phytotoxic potential on the germination and root growth of *Sorghum bicolor* L. (sorghum) and *Cucumis sativus* L. (cucumber), and on the biomass production in sorghum, cucumber, *Ipomoea grandifolia*, *Brachiaria decumbens*, *Amaranthus hybridus* and *Eleusine indica*. Among the enamino pyranones, the most phytotoxic

substance was (*S,E*)-3-(1-(*sec*-butylamine)ethylidene)-6-methyl-3H-pyran-2,4-dione, which inhibited, in average, 83% of the production of biomass in *I. grandifolia* and 65% in *B. decumbens*, at the concentration of 5.0×10^{-4} mol L⁻¹. *B. decumbens* (monocot) was the species with the least susceptibility to the enaminopyranones evaluated. Among the bis(pyridyl)methanes, the compound with the highest phytotoxic potential was 3,3'-((2-nitrophenyl)methylene)bis(4-hydroxy-6-methylpyridine-2(1H)-one), whose lowest inhibition value was 31.6% on the root system of sorghum and the highest value was 80.3% on the root system of brachiaria. Similarly to enaminopirranonas, it was observed lower susceptibility of monocots to bis(pyridyl)methanes. Although biomass production has been reduced, such reduction was less intense in the *B. decumbens* specie. The bis(pyridyl)methanes were also evaluated as for their antibacterial potential against *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. However, no compound inhibited the growth of these bacteria. Several bis(pyridyl)methanes inhibited the urease activity. The presence of a non-replaced aromatic ring, phenyl or furyl, ensured higher activity. It was observed that some compounds led to the growth of *B. decumbens* and inhibited urease activity. Such compounds can be considered candidates to be used as additives to urea-based fertilizers for pasture formation, since it can increase biomass production and, at the same time, decrease nitrogen losses caused by urease activity

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1. A agricultura e os defensivos agrícolas

O homem primitivo era dependente do que a terra lhe oferecia para viver, alimentava-se de produtos extraídos da natureza através da coleta, da caça e da pesca. Aos poucos, aprendeu a cultivar a terra para produzir seu alimento, dessa forma, foi se tornando menos dependente e começou a exercer domínio sobre as condições naturais de sobrevivência. O desenvolvimento da agricultura levou o homem a se fixar no solo e apropriar-se da terra. Com isso, surgiram as divisões social do trabalho e da sociedade em classes, os conflitos de interesse e o poder político do Estado. Criaram-se, assim, as bases materiais, sociais e políticas das primeiras civilizações agrícolas (CORAZZA e MARTINELLI Jr, 2002)

A agricultura é uma das mais tradicionais fontes de recursos para a subsistência do homem (KIRCHMANN e THORVALDSSON, 2000). Ao longo dos anos, o crescimento demográfico aumentou a demanda por alimentos (CABRERA *et al.*, 2008), o que resultou no crescimento da agricultura mundial, tanto em produtividade quanto em área cultivada. A esses fatores somou-se o uso intenso de defensivos agrícolas (ARMAS *et al.*, 2005), cuja finalidade é evitar perdas geradas por pragas nas colheitas (CABRERA *et al.*, 2008). Por serem economicamente viáveis, eles se tornaram parte integrante da agricultura moderna (RAJ *et al.*, 2003).

O controle baseado no uso de substâncias químicas, no controle ou eliminação de problemas nas colheitas, começou na Antiguidade Clássica com a aplicação de arsênico e enxofre elementar. A era de agroquímicos sintéticos se iniciou na década de 1940 com a descoberta de dois herbicidas auxínicos: o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), Figura 1.1, e o ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético (MCPA), Figura 1.1. A introdução desses herbicidas seletivos no mercado de agroquímicos revolucionou o controle de espécies daninhas de folha larga em cereais, proporcionando um aumento de produtividade com redução da mão de obra nas fazendas (KUDSK e STREIBIG, 2003; DELANEY *et al.*, 2006; BARBOSA, 2004; SILVA e SILVA, 2007).

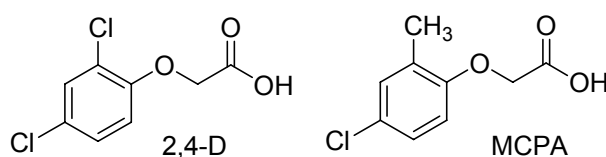


Figura 1.1. Estrutura química dos herbicidas ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético (MCPA).

No Brasil, a utilização dos agroquímicos em larga escala iniciou-se a partir da década de 1970 (ARAÚJO *et al.*, 2007), sendo que sua demanda crescente confere ao País destaque como um dos maiores consumidores mundiais (CABRERA *et al.*, 2008). Em 1998, o volume de insumos fitossanitários consumidos colocou o País no 2º lugar mundial. Em 2003, movimentou cifras da ordem de 3,1 bilhões de dólares, sendo o Estado de São Paulo o maior consumidor de defensivos agrícolas no Brasil (ARMAS *et al.*, 2005). Recentemente, o número de herbicidas comerciais disponíveis no mercado brasileiro aproximava-se de 200 marcas (SILVA e SILVA, 2007).

Segundo dados do Sindicato Nacional das Indústrias de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), as vendas de defensivos agrícolas de janeiro a outubro de 2008, comparadas ao mesmo período de 2007, apresentaram um crescimento acumulado de 31%, totalizando um mercado de R\$ 10,2 milhões. Desse montante, os herbicidas representaram 45%, os inseticidas 29%, os fungicidas 21%, os acaricidas 2% e outros produtos 3% (SINDAG, 2009)

1.2. O uso de herbicidas e o impacto ambiental

Embora propiciem aumento na produtividade agrícola, os principais herbicidas usados são compostos orgânicos sintéticos com alta atividade biológica, geralmente tóxicos, podendo causar câncer e mutações. Esses compostos são aplicados em quantidades elevadas em extensas áreas, tendo como principal destino o meio ambiente (CABRERA *et al.*, 2008).

Nas últimas décadas, a utilização indiscriminada de herbicidas na agricultura tem acarretado sérios problemas ambientais e causado intoxicações, preocupando as autoridades. Esses produtos contaminam a água, solo, atmosfera e os alimentos, colocando em risco o meio ambiente e a saúde dos produtores e consumidores (KIRCHMANN e THORVALDSSON, 2000; KUDSK e STREIBIG, 2003; GIARDI *et al.*, 2005; CORBI *et al.*, 2006; ARAÚJO *et al.*, 2007).

Frequentemente, a concentração residual de herbicidas em água destinada ao consumo humano é encontrada acima dos níveis permitidos (GIARDI *et al.*, 2005). Em países em desenvolvimento, o envenenamento

por agroquímicos causa mais mortes que certas doenças infecciosas (EDDLESTON *et al.*, 2002).

O estudo do impacto ambiental provocado pelos agroquímicos despertou a atenção de pesquisadores, a partir de 1979, com a descoberta de nematicidas em aquíferos norte-americanos. Amostras de água subterrânea de países como Grã-Bretanha, Alemanha, Estados Unidos, Grécia, Bulgária, Espanha, Portugal e Brasil, mesmo que em baixas concentrações, têm apresentado resíduo de agroquímicos (RIBEIRO *et al.*, 2007).

A introdução do N-(fosfometil)glicina (glifosato) Figura 1.2, como herbicida em 1970 foi um grande avanço. Tal herbicida é classificado como não-seletivo (elimina tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas) de ação sistêmica (transloca-se na planta), sendo altamente eficaz e extensamente utilizado no mundo inteiro (APPLEBY *et al.*, 2005). É também o herbicida mais vendido no mercado mundial (KUDSK e STREIBIG, 2003). Aplicado em pós-emergência, torna-se rapidamente inativo em contato com a terra. Apesar de citado como pouco tóxico a mamíferos (APPLEBY *et al.*, 2005), dentre os efeitos agudos e crônicos relatados para este herbicida em seres humanos encontram-se: dermatite de contato, síndrome tóxica após ingestão de altas doses, epigastria (ulceração ou lesão de mucosa gástrica), hipertermia, hipotensão, conjuntivite, edema orbital, choque cardiogênico, arritmias cardíacas, edema pulmonar não-cardiogênico, pneumonite, necrose tubular aguda, elevação de enzimas hepáticas, acidose metabólica e hipercalemia (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002).

Deve-se considerar que as plantas daninhas causam problemas não apenas na agricultura. Plantas aquáticas também geram grandes perdas econômicas. Um dos produtos mais utilizados no controle destas plantas em diversos países é a fluridona (Figura 1.2). Descoberto em meados dos anos 1970, esse composto foi registrado nos Estados Unidos em 1986 para emprego no controle de plantas aquáticas em tanques, lagos, reservatórios, rios e canais de drenagem e de irrigação (MACDONALD *et al.*, 2008).

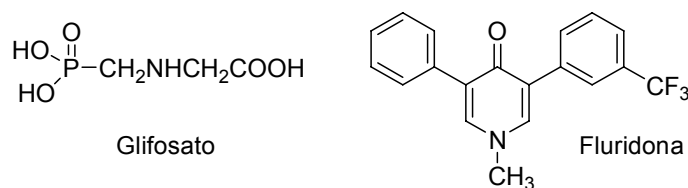


Figura 1.2. Estrutura química dos compostos glifosato e fluridona.

No Brasil, apenas o ingrediente ativo fluridona tem autorização de uso para controle de plantas aquáticas (MAXIMIANO *et al.*, 2005). A eficácia da fluridona é dependente do tempo de exposição e da concentração do produto na água (NETHERLAND *et al.*, 1993).

1.3. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas

Outro problema oriundo do uso indiscriminado de defensivos agrícolas é a indução de resistência nas pragas (EDDLESTON *et al.*, 2002). Embora a utilização de herbicidas tenha se tornado uma ferramenta indispensável ao manejo de plantas daninhas, a utilização frequente de um herbicida ou grupo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação leva ao surgimento de populações daninhas resistentes àquele herbicida ou grupo de herbicidas utilizados (TRANEL e WRIGHT, 2002).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas assume grande importância, especialmente quando faltam herbicidas alternativos para o controle dos biótipos resistentes. Diversos biótipos de grande ocorrência em diversas partes do mundo têm adquirido resistência, o que torna cada vez mais difícil e oneroso o controle desses biótipos (SILVA e SILVA, 2007).

Os herbicidas classificados como inibidores da acetolactato sintase (ALS) têm causado um crescente surgimento de plantas daninhas resistentes nos últimos anos (Figura 1.3). É importante ressaltar que o primeiro herbicida desta classe começou a ser comercializado em 1982 e, em 1998, esta classe de herbicidas atingiu o nível de maior causador de resistência (TRANEL e WRIGHT, 2002).

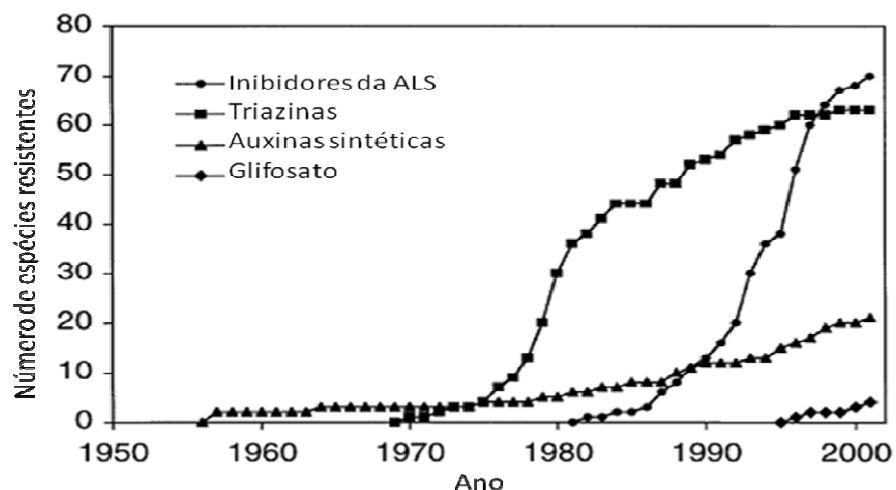


Figura 1.3. Surgimento de espécies daninhas resistentes a herbicidas ao longo dos anos por grupo de herbicidas.

Há evidências de que o uso prolongado do glifosato levou algumas espécies de ervas daninhas a adquirir resistência (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002). Recentemente, foram documentados biótipos de *Hydrilla verticillata* com níveis variados de resistência à fluridona na Flórida. Ressalta-se que esta espécie é um dos mais sérios problemas de planta

daninha aquática nos Estados Unidos, sendo a fluridona o único herbicida aprovado pela Agência norte-americana de Proteção ao Ambiente (PURI *et al.*, 2007).

A constatação da resistência de plantas daninhas a herbicidas começou em 1957 com biótipos de *Commelina difusa* nos Estados Unidos e *Daucus carota* no Canadá. Em menos de 30 anos, havia mais de 100 espécies reconhecidamente resistentes em aproximadamente 40 países (SILVA e SILVA, 2007). Até o presente momento, foram identificados 323 biótipos entre 187 espécies de plantas daninhas resistentes a algum herbicida no mundo inteiro, sendo 112 dicotiledôneas e 75 monocotiledôneas. Os Estados Unidos, com 123 casos, é o país com o maior número de registros de resistência a algum herbicida. No Brasil, o primeiro registro aconteceu em 1992 e o último, em 2006, contabilizando 19 casos de resistência (HEAP, 2009).

1.4. A necessidade de novos herbicidas

Embora tenham ocorrido mudanças e inovações no mercado de agroquímicos, por exemplo, novas moléculas com grandes alterações nos perfis toxicológicos e ecotoxicológicos foram descobertas (ARMAS *et al.*, 2005). O uso de herbicidas se mantém necessário, visto que a maioria destas inovações não impede o surgimento de ervas daninhas no campo (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002). Entretanto, preocupações relacionadas à saúde humana e ao meio ambiente e associadas ao surgimento de espécies daninhas resistentes a determinados herbicidas indicam uma necessidade

de desenvolvimento de novas substâncias. O desafio é no sentido de essas substâncias serem capazes de sustentar a produtividade agrícola e, ao mesmo tempo, não causar prejuízos à saúde e ao meio ambiente (RAJ *et al.*, 2003; VILA-AIUB *et al.*, 2005).

1.5. Produtos naturais como protótipos de novos herbicidas

Os recursos naturais têm beneficiado a humanidade há milhares de anos com alimentos, vestuário, cosméticos, medicamentos e agentes de proteção das culturas, dentre outros. Muitos compostos derivados de organismos vivos são utilizados na proteção das culturas, bem como modelos em programas de síntese, permitindo o estudo do seu modo de ação (COPPING e DUKE, 2007).

Produtos naturais fitotóxicos são, em geral, estruturalmente mais complexos que herbicidas sintéticos e não são obtidos por metodologias sintéticas tradicionais que tendem a ser limitadas pelo alto custo da síntese da molécula final. A diversidade encontrada em produtos naturais está sendo lentamente explorada para gerar novas classes de compostos em programas sintéticos tradicionais (DUKE *et al.*, 2000).

O grande desafio dos químicos orgânicos sintéticos é desenvolver novos herbicidas através de rotas sintéticas curtas e eficientes, possibilitando a síntese de produtos de fontes naturais, bem como o estudo de compostos bioativos. Os métodos de construção de novos esqueletos moleculares devem permitir a criação de uma extensa gama de compostos análogos com as mesmas propriedades biológicas daqueles isolados de

fontes naturais (SUNAZUKA *et al.*, 2008) e com baixo risco ambiental (KIRCHMANN e THORVALDSSON, 2000).

1.6. Enaminopirranonas e piridinonas

O anel piran-2-ona (**1**), Figura 1.4, consiste num éster cíclico de seis átomos com propriedades físicas remanescentes de alquenos e aromáticos. Este composto é um intermediário-chave na biossíntese de metabólitos, o mesmo se relaciona ao sistema de defesa contra outros organismos, sendo largamente encontrado em bactérias, plantas, insetos e animais. A piran-2-ona (**1**), o ácido triacético lactônico (**2**), e o ácido tetracético lactônico (**3**), Figura 1.4, são utilizados como precursores na síntese de compostos biologicamente importantes, como feromônios (MCGLACKEN e FAIRLAMB, 2005).

A piran-2-ona (**1**) está presente em um grande número de compostos com atividade biológica, como antibióticos, antifúngicos, citotóxicos, neurotóxicos, inseticida, antiinflamatórios, anti-HIV, antioxidante e, também, fitotóxica, como as pirenocinas A (**4**) e B (**5**), Figura 1.4 (DICKINSON, 1993; MCGLACKEN e FAIRLAMB, 2005; MORI *et al.*, 2007; APPENDINO *et al.*, 2007; ROSA *et al.*, 2007). O anel piran-2-ona (**1**) é encontrado também em compostos isolados de microorganismos fitopatogênicos que exibem a mesma fitotoxicidade atribuída ao microorganismo (DICKINSON, 1993; FAIRLAMB *et al.*, 2004), como a colletopirona (**6**), Figura 1.4, isolada do fungo *Colletotrichum nicotianae*, causador de antracnose em tabaco. Quando aplicada em folhas jovens de tabaco, a solução de colletopirona

causa os mesmos sintomas de necrose que o fungo patogênico (DICKINSON, 1993; GARCÍA-PAJÓN e COLLADO, 2003).

Diversas piridinonas apresentam atividade antibacteriana, antifúngica, antimalárica, cardiotônico, analgésica, anti-inflamatória (ÖZTÜRK *et al.*, 2001; ÖZTÜRK *et al.*, 2002) e fitotóxica, tais como a fluridona (**7**), Figura 1.4, um dos herbicidas mais utilizados no controle de plantas aquáticas, (MACDONALD *et al.*, 2008) e a gostatina (**8**), Figura 1.4, isolada de *Streptomyces sumanensis* (WAKABAYASHI e BÖGER, 2004).

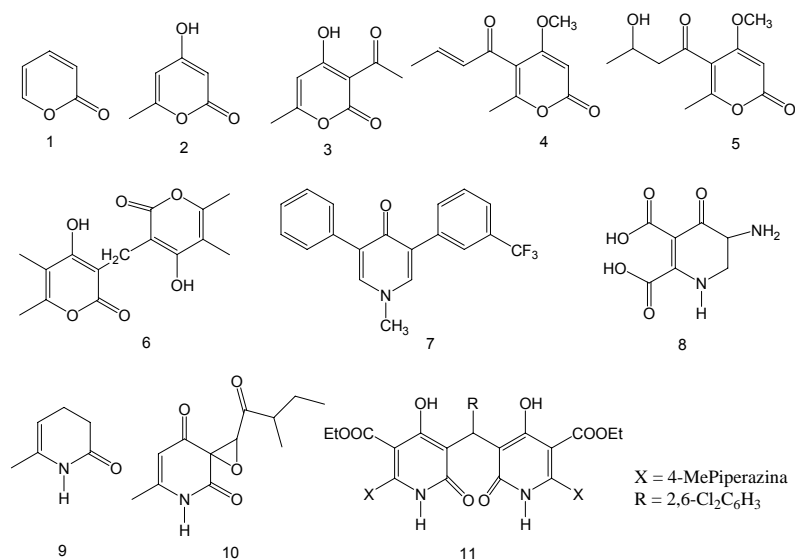


Figura 1.4. Estrutura química de piran-2-ona (**1**), ácido triacético lactônico (**2**), ácido tetracético lactônico (**3**), Pirenocina A (**4**), Pirenocina B (**5**), colletopirona (**6**), fluridona (**7**), gostatina (**8**), 6-metilpiridin-2-ona (**9**), sapinopiridiona (**10**) e bis(piridil)metano (**11**).

O anel 6-metilpiridin-2-ona (**9**), Figura 1.4, está presente na estrutura de diversos compostos de interesse farmacológico, tais como anticancerígenos, antibióticos, cardiotônicos, anti-HIV (FINDLAY *et al.*, 1978; ABADI *et al.*, 1999; STORCK *et al.*, 2005), na sapinopiridiona (**10**), Figura 1.4, composto fitotóxico isolado de *Sphaeropsis sapinea* (EVIDENTE *et al.*,

2006), bem como em bis(piridil)metanos (**11**), Figura 1.4, que apresentam atividade antitumoral (COCCO *et al.*, 2000; COCCO *et al.*, 2003).

1.7. Justificativa do trabalho

Compostos com atividade aleloquímica têm sido utilizados como modelo na busca por novos compostos fitotóxicos, uma vez que podem fornecer outros com potencial uso como herbicida e que sejam menos agressivos ao ser humano e ao meio ambiente. Neste contexto, destaca-se a piran-2-ona, presente em um grande número de compostos naturais com atividade biológica. Além disso, algumas piridinonas apresentam atividade antibacteriana, antifúngica e fitotóxica, dentre outras (MACDONALD *et al.*, 2008; EVIDENTE *et al.*, 2006).

Dentre os inúmeros produtos naturais com atividade biológica, especialmente herbicida, as pirenocinas A e B, bem como a colletopirona e a sapinopiridiona foram escolhidas como modelo para o desenvolvimento de novos compostos com potencial atividade fitotóxica. Apesar de haver relatos na literatura da síntese de enamino-piranonas (MANIVANNAN e DHANUSKODI, 2004) e bis(piridil)metanos (FINDLAY *et al.*, 1976), observa-se uma escassez de informações sobre seu potencial herbicida.

Assim sendo, este trabalho teve como objetivos sintetizar compostos heterocíclicos contendo o anel 6-metilpirano-2,4-diona (Capítulo 2) e 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (Capítulo 4), bem como avaliar sua atividade fitotóxica em busca de novas moléculas biologicamente ativas. Dessa forma, foram escolhidas plantas daninhas e culturas de interesse comercial, listadas

a seguir, para avaliação do potencial fitotóxico dos compostos sintetizados. Para o grupo de compostos contendo o anel 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona, foram feitos também ensaios para investigar possíveis atividades antibacterianas e inibidoras de urease.

1.8. Características das plantas utilizadas nos ensaios de atividade fitotóxica

As plantas descritas a seguir foram escolhidas pela importância econômica e pela aquisição das sementes, que foram obtidas de fonte comercial ou coletadas no *Campus* Universitário (apenas *A. hybridus*). Foram utilizadas seis espécies, sendo três dicotiledônea (*Amaranthus hybridus*, *Cucumis sativus* e *Ipomoea grandifolia*) e três monocotiledôneas (*Brachiaria decumbens*, *Eleusine indica* e *Sorghum bicolor*).

Amaranthus hybridus L. ou caruru roxo

O gênero *Amaranthus* possui cerca de 60 espécies; algumas são invasoras competindo com as culturas, como *Amaranthus hybridus* (Figura 1.5). Esta espécie é conhecida como caruru ou caruru-roxo, uma planta daninha, cujo centro de origem é o continente americano, do Canadá até a Argentina, com presença também na África, Ásia e Oceania. No Brasil, ocorre em todos os Estados, com maior concentração em regiões agrícolas (ZANATTA *et al.*, 2008).

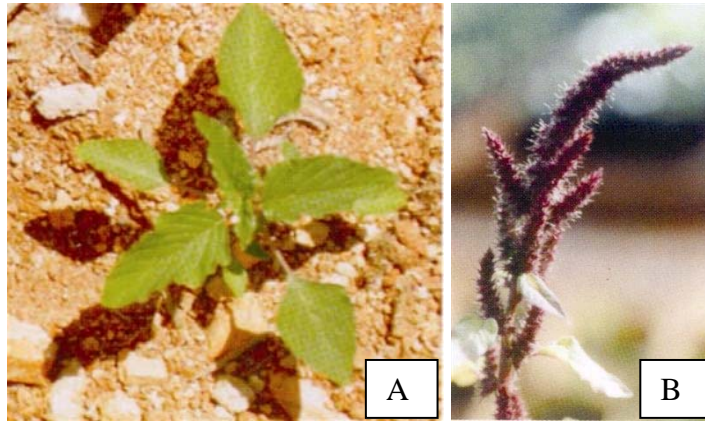


Figura 1.5. *Amaranthus hybridus*, plântula (A) e inflorescência (B).

Várias espécies no gênero *Amaranthus* são ervas daninhas em culturas de todo o mundo e alguns biótipos desenvolveram resistência a herbicidas. *Amaranthus palmeri* é um exemplar que desenvolveu resistência ao glifosato e foi identificado na Geórgia (ORTIZ-RIBBING e WILLIAMS, 2006).

Cucumis sativus ou pepino

O *Cucumis sativus* L., Figura 1.6, pertence à família das curcubitáceas. O seu centro de origem é a Índia, sendo posteriormente levado para a China, Filipinas e Ilhas Formosas (REIS *et al.*, 2006).



Figura 1.6. Planta de *Cucumis sativus* com inflorescência e fruto.

É uma hortaliça de clima tropical, cuja importância na comercialização de hortaliças tem aumentado, sendo muito apreciado e consumido em todo o Brasil, destacando-se o Estado de Santa Catarina como maior produtor nacional (RESENDE *et al.*, 2003; CANIZARES *et al.*, 2004; CARDOSO, 2006).

Ipomoea sp. ou corda-de-viola

As espécies *Ipomoea grandifolia* (Figura 1.7) *I. hederifolia*, *I. quamoclit* e *I. nil* pertencem à família Convolvulaceae, popularmente conhecidas como corda-de-viola e campainha. Essas plantas são apreciadas como ornamentais por apresentarem flores vistosas e intensamente coloridas. Entretanto, essas plantas tornaram-se importantes infestantes em diferentes culturas (AZANIA *et al.*, 2003).

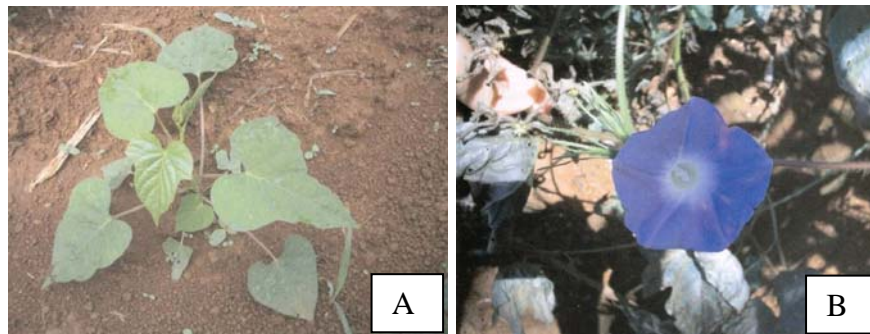


Figura 1.7. *Ipomoea* sp, plântula (A) e inflorescência (B).

Planta anual da família Convolvulaceae, originária do Continente americano, herbácea, trepadeira, podendo atingir até 3 m de comprimento. Adapta-se a qualquer tipo de solo, com ou sem insolação. Encontrada em todas as regiões do Brasil, com mais de 140 espécies distribuídas por todo país. Forte competidora com culturas anuais, é extremamente agressiva, seu

ciclo biológico é longo, terminando após a maturação das culturas, o que tende a criar problemas na colheita, pois seus ramos se fixam aos colmos da cultura, causam o embuchamento das colhedoras, dificultando a colheita. (LABONIA *et al.*, 2009; EMBRAPA MILHO E SORGO, 2010a).

As plantas da família Convolvulaceae destacam-se por produzir um número considerável de sementes, cerca de 50 a 300 por planta. Sementes de plantas de *Ipomoea* apresentam dormência característica que promove a emergência em diferentes fluxos, dificultando o controle das diferentes espécies. Após serem liberadas pelas plantas, as sementes entram em contato com o solo e somente um percentual delas germina prontamente; as demais vão germinando aleatoriamente ao longo do tempo (AZANIA *et al.*, 2009).

Brachiaria decumbens ou braquiária

As gramíneas do gênero *Brachiaria* envolvem as principais espécies forrageiras cultivadas no Cerrado brasileiro, onde predominam solos arenosos, de baixa fertilidade e, muitas vezes, pouco recomendados para culturas, por exigirem pesadas adubações química ou orgânica. Estas espécies possuem grande capacidade de produção de matéria seca, com bom crescimento durante a maior parte do ano, inclusive, no período seco, apresentam poucos problemas de doenças, adaptabilidade a vários tipos de solos. A *Brachiaria decumbens* (Figura 1.8) é originária do Continente Africano, destaca-se entre as demais pelo elevado valor nutritivo e aceitabilidade pelo gado (CASTRO *et al.*, 1996).



Figura 1.8. *Brachiaria decumbens*, planta (A) e inflorescência (B).

B. decumbens é a mais rústicas de todas as braquiárias, adaptando-se a todos os tipos de solo e regiões do Brasil. Com alta resistência à seca, tolera também terrenos cascalhados, com boa adaptação desde solos de cerrados até os litorâneos. Possui bom poder de rebrota, sendo muito agressiva na época de maior vegetação. Foi a primeira braquiária a entrar no Brasil, cuja primeira importação se deu por volta de 1970, sendo considerada a rainha das braquiárias por ter alavancado o sucesso da pecuária brasileira (ARAUCÁRIA SEMENTES, 2010a).

O setor florestal tem se expandido em áreas de cerrado, as quais eram anteriormente ocupadas por pastagens, especialmente de *B. decumbens*. Essa planta, devido à sua elevada agressividade e difícil controle, vem-se tornando uma das infestantes mais problemáticas nos plantios comerciais de *Eucalyptus* sp. e *Pinus* sp. O manejo dessas plantas daninhas em reflorestamentos, nas diversas etapas do seu processo produtivo, é realizado, basicamente, pelo emprego de métodos mecânicos e químicos (TOLEDO *et al.*, 1999; TOLEDO *et al.*, 2003).

Eleusine indica ou capim pé-de-galinha

Eleusine indica, Figura 1.9, é uma planta anual da família Gramineae, esta espécie introduzida na América, de origem indefinida, provavelmente a Ásia, de onde foi distribuída pelo mundo, herbácea, com altura variando de 30 a 70 cm, reprodução por semente. Possui capacidade de se desenvolver em qualquer tipo de solo, de preferência, em locais com elevadas temperaturas e umidade (EMBRAPA MILHO E SORGO, 2010b).

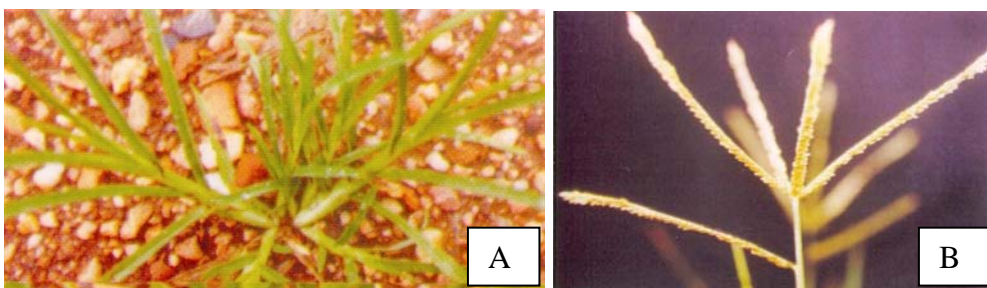


Figura 1.9. *Eleusine indica*, plântula (A) e inflorescência (B).

E. indica destaca-se em relação às demais espécies em condições de solo compactado, com baixa fertilidade e elevada acidez. Pode ser encontrada em quase todas as regiões do país, é uma espécie daninha comum no Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. Controla a erosão em solos não cultivados, pode ser usada para a alimentação de animais, mas é hospedeira de agentes patogênicos que atacam diversas cultivares (VIDAL *et al.*, 2006; EMBRAPA MILHO E SORGO, 2010b).

Já foram detectados, no mundo, biótipos de *E. indica* resistentes aos herbicidas com os seguintes mecanismos de ação: inibidores de mitose, inibidores de ALS, inibidores de ACCase, inibidores do fotossistema I e inibidores de EPSPS (VIDAL *et al.*, 2006).

Sorghum bicolor ou sorgo forrageiro

O *Sorghum bicolor*, Figura 1.10, é uma planta adaptada ao processo de ensilagem, devido às suas características fenotípicas que determinam facilidade de plantio, manejo, colheita e armazenamento (NEUMANN *et al.*, 2002). Planta típica de clima quente, de características xerófilas que, além da sua baixa exigência em termos de riqueza mineral do solo, apresenta tolerância/resistência aos fatores abióticos, tais como estresse hídrico, salinidade e encharcamento. A lavoura de sorgo vem ganhando destaque nos últimos anos, principalmente em regiões onde os períodos de estiagem ocorrem com frequência, limitando a produção de forragens (SOUZA *et al.*, 2007).

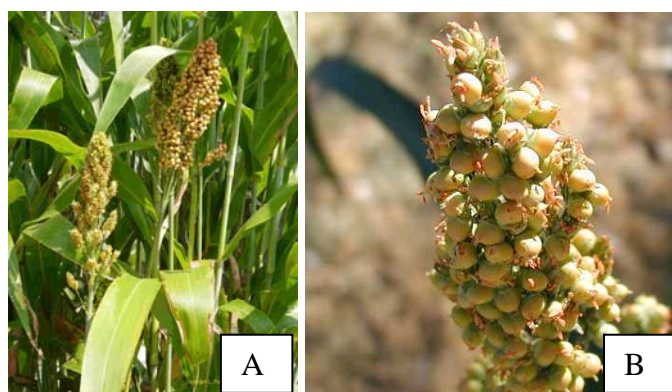


Figura 1.10. *Sorghum bicolor*, planta (A) e inflorescência (B).

O sorgo forrageiro é uma gramínea rústica, resistente à seca e ao acamamento, de rápido crescimento, suporta seca prolongada, é uma opção de forrageira com possibilidade de rebrotas (2 ou mais), podendo ainda ser usado como planta de cobertura na entressafra e empregado em pastejo direto pelos animais. Para manejo e posterior implantação de cultivos comerciais, é recomendável dessecá-lo com herbicidas (ARAUCÁRIA SEMENTES, 2010b).

1.9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, A.; AL-DEEB, O.; AL-AFIFY, A.; EL-KASHEF, H. Synthesis of 4-alkyl (aryl)-6-aryl-3-cyano-2(1H)-pyridinones and their 2-imino isosteres as nonsteroidal cardiotoxic agents. *IL Farmaco*, v. 54, p. 195-201, 1999.

AMARANTE JÚNIOR, 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.

APPENDINO, G.; OTTINO, M.; MARQUEZ, N.; BIANCHI, F.; GIANA, A.; BALLERO, M.; STERNER, O.; FIEBICH, B. L.; MUNOZ, E. Arzanol, an Anti-inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol α -Pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *Microphyllum*. *Journal of Natural Products*, v. 70, p. 608-612, 2007.

APPLEBY, A. P. A history of weed control in the United States and Canada - a sequel. *Weed Science*, v. 53, p. 762-768, 2005.

ARAÚJO, A. J.; LIMA, J. S.; MOREIRA, J. C.; JACOB, S. C.; SOARES, M. O.; MONTEIRO, M. C. M.; AMARAL A. M.; KUBOTA, A.; MEYER, A.; COSENZA, C. A. N.; NEVES C.; MARKOWITZ, S. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, n.1, p. 115-130, 2007.

ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R.; AMÂNCIO, A. V.; CORREA; R. M. L.; GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio

Corumbataí e o risco de Poluição hídrica. *Química Nova*, v. 28, n. 6, p. 975-982, 2005.

AZANIA, A. A. P. M.; AZANIA, C. A. M.; PAVANI, M. C. M. D.; CUNHA, M. C. S. Métodos de superação de dormência de *Ipomoea* e *Merremia*. *Planta Daninha*, v. 21, n. 2, p. 203-209, 2003.

AZANIA, C. A. M.; MARQUES, R. P.; AZANIA, A. A. P. M.; ROLIM, J. C. Superação da dormência de sementes de corda-de-viola (*Ipomoea quamoclit* e *I. hederifolia*). *Planta Daninha*, v. 27, n. 1, p. 23-27, 2009.

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

CABRERA, L.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 1982-1986, 2008.

CANIZARES, K. A. L.; RODRIGUES, J. D.; GOTO, R. Crescimento e índices de troca gasosa em plantas de pepino irrigadas com água enriquecida com CO₂. *Horticultura Brasileira*, v. 22, n. 4, p. 706-711, 2004.

CARDOSO A. I. I. Dialelo entre linhagens de uma população de pepino do tipo 'Caipira'. *Hort. Bras.*, v. 24, p. 259-263. 2006.

CASTRO, C. R. T.; CARVALHO, W. L.; REIS, F. P.; BRAGA FILHO, J. M. Superação da dormência tegumentar em sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. *Rev. Ceres*, v. 43, n. 245, p. 65-75, 1996.

COCCO, M. T.; CONGIU, C.; ONNIS, V. New bis(pyridyl)methane derivatives from 4-hydroxy-2-pyridones: synthesis and antitumoral activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 38, p. 37-47, 2003.

COCCO, M. T.; CONGIU, C.; ONNIS, V. Synthesis and antitumour activity of 4-hydroxy-2-pyridone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 35, p. 545-552, 2000.

COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, v. 63, p. 524-554, 2007.

CORAZZA, G.; MARTINELLI Jr, O. Agricultura e questão agrária na história do pensamento econômico. *Teoria e Evidência Econômica*, v. 10, n. 19, p. 9-36, 2002.

CORBI, J. J.; STRIXINO, S. T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*, v. 29, n. 1, p. 61-65, 2006.

DELANEY, J.; CLARKE, E.; HUGHES, D.; RICE, M. Modern agrochemical research: a missed opportunity for drug discovery? *Drug Discovery Today*, v. 11, n. 17/18, p. 838-845, 2006.

DICKINSON, J. M. Microbial Pyran-2-ones and Dihydropyran-2-ones. *Natural Product Reports*, v. 10, p. 71-98, 1993.

DUKE, S. O.; ROMAGNI, J. G.; DAYAN, F. E. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action. *Crop Protection*, v. 19, p. 583-589, 2000.

EDDLESTON, M.; KARALLIEDDE, L.; BUCKLEY, N.; FERNANDO, R.; HUTCHINSON, G.; ISBISTER, G.; KONRADSEN, F.; MURRAY, D.; PIOLA, J. C.; SENANAYAKE, N.; SHERIFF, R.; SINGH, S.; SIWACH, S. B.; SMIT, L. Pesticide poisoning in the developing world - a minimum pesticides list. *The Lancet*, v. 360, p. 1163-1167, 2002.

EVIDENTE, A.; FIORE, M.; BRUNO, G.; SPARAPANO, L.; MOTTA, A. Chemical and biological characterisation of sapinopyridione, a phytotoxic 3,3,6-trisubstituted-2,4-pyridione produced by *Sphaeropsis sapinea*, a toxigenic pathogen of native and exotic conifers, and its derivatives. *Phytochemistry*, v. 67, p. 1019-1028, 2006.

FAIRLAMB, I. J. S.; MARRISON, L. R.; DICKINSON, J. M.; LUA, F.; SCHMIDT, J. P. 2-Pyrones possessing antimicrobial and cytotoxic activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 12, p. 4285-4299, 2004.

FINDLAY, J. A.; KREPINSKY, J.; SHUM, F. Y.; TAM, W. H. J. Reactions of 4-hydroxy-6-methyl-2-pyridone with aldehydes. *Canadian Journal of Chemistry*, v. 54, p. 270-274, 1976.

FINDLAY, J. A.; TAM, W. H. J.; KREPINSKY, J. The chemistry of some 6-methyl-4-hydroxy-2-pyridones. *Canadian Journal of Chemistry*, v. 56, p. 613-616, 1978.

GARCÍA-PAJÓN, C. M.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites isolated from *Colletotrichum* species. *Natural Product Reports*, v. 20, p. 426-431, 2003.

GIARDI, M. T.; GUZZELLA, L.; REEUZET, P.; ROUILLON, R.; ESPOSITO, D. Detection of herbicide subclasses by an optical multibiosensor based on an array of photosystem II mutants. *Environmental Science & Technology*, v. 39, n. 14, p. 5378-5384, 2005.

HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. **January 05, 2009**. Disponível em www.weedscience.com.

KIRCHMANN, H.; THORVALDSSON, G. Challenging targets for future agriculture. *European Journal of Agronomy*, v.12, p. 145-161, 2000.

KUDSK, P.; STREIBIG, J. C. Herbicides - a two-edged sword. *Weed Research*, v. 43, p. 90-102, 2003.

LABONIA, V. D. S; CARVALHO, S. J. P., MONDO, V. H. V., CHIOVATO, M. G.; VICTORIA FILHO, R. Emergência de plantas da família *Convolvulaceae* influenciada pela profundidade da semente no solo e cobertura com palha de cana-de-açúcar. *Planta daninha*, v. 27, p. 921-929, 2009.

MACDONALD, G. E.; PURI, A.; SHILLINGET, D. G. Interactive Effect of Photoperiod and Fluridone on Growth, Reproduction, and Biochemistry of Dioecious Hydrilla (*Hydrilla verticillata*). *Weed Science*, v. 56, p. 189-195, 2008.

MANIVANNAN, S.; DHANUSKODI, S. Synthesis, crystal growth, structural and optical properties of an organic NLO material. *Journal of Crystal Growth*, v. 262, p. 473-478, 2004.

MAXIMIANO, A. A.; FERNANDES, R. O.; NUNES, F. P.; ASSIS, M. P.; MATOS, R. V.; BARBOSA, C. G. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 10, n. 2, p. 483-491, 2005.

MCGLACKEN, G. P.; FAIRLAMB, I. J. S. 2-Pyrone natural products and mimetics: isolation, characterization and biological activity. *Natural Product Reports*, v. 22, p. 369-385, 2005.

MORI, T.; UJIHARA, K.; MATSUMOTO, O.; YANAGI, K.; MATSUO, N. Synthetic studies of fluorine-containing compounds for household insecticides. *Journal of Fluorine Chemistry*, v. 128, p. 1174-1181, 2007.

NETHERLAND, M. D.; GETSINGER, K. D.; TURNER, E. G. Fluridone concentration and exposure time requirements for control of Eurasian watermilfoil and hydrilla. *Journal of Aquatic Plant Management*, v. 31, p. 189-194, 1993.

NEUMANN, M.; RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C.; BERNARDES, R. A. C.; ARBOITE, M. Z.; CERDÓTES, L.; PEIXOTO, L. A. O. Avaliação de diferentes híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) quanto aos

componentes da planta e silagens produzidas. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 31, n.1, suppl., p. 302-312, 2002.

ORTIZ-RIBBING, L.; WILLIAMS II, M. M. Conidial germination and germ tube elongation of *Phomopsis amaranthicola* and *Microsphaeropsis amaranthi* on leaf surfaces of seven *Amaranthus* species: Implications for biological control. *Biological Control*, v. 38, p. 356-362, 2006.

ÖZTÜRK, G.; EROL, D. D.; AYTEMIR, M. D.; UZBAY, T. New analgesic and antiinflammatory agents 4(1H)-pyridinone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 37, p. 829-834, 2002.

ÖZTÜRK, G.; EROL, D. D.; UZBAY, T.; AYTEMIR, M. D. Synthesis of 4(1H)-pyridinone derivatives and investigation of analgesic and antiinflammatory activities. *IL Farmaco*, v. 56, p. 251-256, 2001.

PURI, A.; MACDONALD, G. E.; HALLER, W. T. Ploidy Variations in Floridone-Susceptible and -Resistant Hydrilla (*Hydrilla verticillata*) Biotypes. *Weed Science*, v. 55, p. 578-583, 2007.

RAJ, S. N.; DEEPAK, S. A.; BASAVARAJU, P.; SHETTY, H. S.; REDDYB, M. S.; KLOEPPER, J. W. Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection*, v. 22, p. 579-588, 2003.

REIS; K. C.; ELIAS, H. H. S.; LIMA, L. C. O.; SILVA, J. D.; PEREIRA, J. Pepino japonês (*Cucumis sativus* L.) submetido ao tratamento com fécula de mandioca. *Ciênc. agrotec.* v. 30, n. 3, 2006.

RESENDE, G. M.; FLORI, J. E.; COSTA, N. D. Produção de pepino para conserva no vale do São Francisco. *Ciênc. agrotec.*, v. 27, n. 5, p. 1183-1188, 2003.

RIBEIRO, M. L.; LOURENCETTI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, M. R. R. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

ROSA, A.; DEIANA, M.; ATZERI, A.; CORONA, G.; INCANI, A.; MELIS, M. P.; APPENDINO, G.; DESSÌ, M. A. Evaluation of the antioxidant and cytotoxic activity of arzanol, a prenylated α -pyrone–phloroglucinol etherodimer from *Helichrysum italicum* subsp. *Microphyllum*. *Chemico-Biological Interactions*, v.165, p. 117-126, 2007.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Viçosa: Editora UFV, 2007. 365p.

SOUZA, M.; SOUZA JUNIOR, I.; BONFIN, F. GOMES, P. Avaliação do crescimento de variedades crioulas e comerciais de sorgo (*Sorghum bicolor*) cultivadas no Norte de Minas Gerais. *Rev. Bras. de Agroecologia*. v. 2, n. 2, p. 795-798, 2007.

STORCK, P.; AUBERTIN, A.; GRIERSON, D. S. Tosylation/mesylation of 4-hydroxy-3-nitro-2-pyridinones as an activation step in the construction of dihydropyrido[3,4-*b*]benzo[*f*][1,4]thiazepin-1-one based anti-HIV agents. *Tetrahedron Letters*, v. 46, p. 2919-2922, 2005.

SUNAZUKA, T.; HIROSE, T.; OMURA, S. Efficient Total Synthesis of Novel Bioactive Microbial Metabolites. *Accounts of Chemical Research*, v. 41, p. 302-314, 2008.

TOLEDO, R. E. B.; ALVES, P. L. C. A.; VALLE, C. F.; ALVARENGA, S. F. Manejo de *Brachiaria decumbens* e seu reflexo no desenvolvimento de *Eucalyptus grandis*. *Scientia forestalis*, n. 55, p. 129-141, 1999.

TOLEDO, R. E. B.; VICTORIA FILHO, R.; BEZUTTE, A. J.; PITELLI, R. A.; ALVES, P. L. C. A.; VALLE, C. F.; ALVARENGA, S. F. Períodos de controle de *Brachiaria* sp e seus reflexos na produtividade de *Eucalyptus grandis*. *Scientia forestalis*, n. 63, p. 221-232, 2003.

TRANEL, P. J.; WRIGHT, T. R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science*, v. 50, p.700-712, 2002.

VIDAL, R. A.; PORTES, E. S.; LAMEGO, F. P.; TREZZI, M. M. Resistência de *Eleusine indica* aos inibidores de ACCase. *Planta Daninha*, v. 24, n. 1, p. 163-171, 2006.

VILA-AIUB, M. M.; GHERSA, C. M. Building up resistance by recurrently exposing target plants to sublethal doses of herbicide. *European Journal of Agronomy*, v. 22, p. 195-207, 2005.

WAKABAYASHI, K.; BÖGER, P. Phytotoxic sites of action for molecular design of modern herbicides (Part 2): Amino acid, lipid and cell wall biosynthesis, and other targets for future herbicides. *Weed Biology and Management*, v. 4, p. 59-70, 2004.

ZANATTA, J. F.; PROCÓPIO, S. O.; MANICA, R.; PAULETTO, E. A.; CARGNELUTTI FILHO, A.; VARGAS, L.; SGANZERLA, D. C.; ROSENTHAL, M. D' A.; PINTO, J. J. O. Teores de água no solo e eficácia do herbicida fomesafen no controle de *Amaranthus hybridus*. *Planta daninha*, v. 26. n.1, p. 143-155, 2008.

ARAUCÁRIA SEMENTES, 2010a. Disponível em <http://www.sementesaraucaria.com.br/decumbens.php> (Acesso em 11/02/2010)

ARAUCÁRIA SEMENTES, 2010b. Disponível em http://www.sementesaraucaria.com.br/sorgo_forrageiro.php (Acesso em 11/02/2010)

EMBRAPA MILHO E SORGO, 2010a. Disponível em <http://panorama.cnpms.embrapa.br/plantas-daninhas/plantas-daninhas/identificacao/folhas-largas> (Acesso em 10/02/2010)

EMBRAPA MILHO E SORGO, 2010b. Disponível em <http://panorama.cnpms.embrapa.br/plantas-daninhas/plantas-daninhas/identificacao/folhas-estreitas> (Acesso em 10/02/2010)

SINDAG, 2009. Disponível em http://www.sindag.com.br/dados_mercado.php (Acesso em 01/02/2009).

1

CAPÍTULO 2

2

Preparation of achiral and chiral *E*-

3

enamino-pyran-2,4-diones and their

4

phytotoxic activity¹

5

LUIZ C. DIAS^A, ANTÔNIO J. DEMUNER^{B,*}, VÂNIA M. M. VALENTE^B, LUIZ C.

6

A. BARBOSA^B, FELIPE T. MARTINS^C, ANTÔNIO C. DORIGUETTO^D, AND

7

JAVIER ELLENA^C.

8

^A Institute of Chemistry, University of Campinas, UNICAMP, P.O. Box 6154,

9

13084-971, Campinas, SP, Brazil;

10

^B Department of Chemistry, Federal University of Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n,

11

36570-000, Viçosa, MG, Brazil;

12

^C Physics Institute of São Carlos, University of São Paulo, C.P. 369, 13560-

13

970, São Carlos, SP, Brazil;

14

^D Department of Exact Science, Federal University of Alfenas, 37130-000,

15

Alfenas, MG, Brazil

16

17

¹ Artigo publicado: *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 1399-1405.

18 **2.1. INTRODUCTION**

19 In modern agriculture, organic synthetic pesticides are largely used to
20 reduce crop loss, as they are cost-effective and generally increase
21 productivity. Concerns related to environmental problems and human health
22 associated with the use of hazardous chemicals, has stimulated
23 agrochemical companies to search for eco-friendly alternatives (1). One of
24 the major problems associated with crop production is the decrease in
25 productivity due to the presence of weeds. Since the 1940s the use of
26 organic herbicides has become the most reliable and least expensive tool for
27 weed control throughout the world. During recent decades important
28 advances have been achieved in the chemical control of weeds, but the
29 identification of novel herbicides is still highly desirable especially to
30 overcome weed resistance, rapidly raised as a result of severe selective
31 pressure imposed by continuous application of products with the same
32 mechanism of action (2). In this context, the development of herbicides with
33 new modes of action is a constant challenge. Among the several strategies
34 used by the chemical companies to search for compounds with new modes
35 of action is the use of phytotoxic natural products as herbicides or to lead to
36 the discovery of new herbicides (3,4).

37 Biologically active natural products are incredibly diverse in terms of
38 structural formulas. Among such compounds, many presenting the pyran-2,4-
39 dione ring as a structural unit have pharmacological (5,6) or phytotoxic
40 activities (7). Several approaches have been described for the synthesis of
41 functionalized pyran-2,4-diones (8-10) resulting in production of a wide
42 variety of nitrogen-containing heterocycles with important pharmacological

43 activities (11). In addition, several enaminones have been prepared for
44 pharmacological uses (12-15). Derivatives of dehydroacetic acid **1** are very
45 important due to the wide spectrum of their chemical properties and
46 biological activities (16-20). Dehydroacetic acid is known to react with amines
47 yielding the corresponding enamino derivatives at the acetyl carbonyl group
48 (20, 21-25).

49 As part of our continuous efforts to develop new compounds with
50 potential use as herbicides (26-31), we decided to investigate the potential
51 phytotoxicity of new pyran-2,4-dione derivatives. In this context, we describe
52 in this paper the synthesis of a series of chiral and achiral functionalized *E*-
53 enamino-pyran-2,4-diones, some of them synthesized for the first time, starting
54 with commercially available dehydroacetic acid (32) and their inhibitory
55 potential against either crops (*Sorghum bicolor* and *Cucumis sativus*) or
56 weeds (*Brachiaria decumbens* and *Ipomoea grandifolia*).

57 **2.2. MATERIALS AND METHODS**

58 **2.2.1. General Experimental Procedures.** Ethyl acetate, hexane,
59 1,4-dioxane, and amines were purified as described by Armarego and Chai
60 (33). The ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE
61 DPX 250 spectrometer at 250 and 62.5 MHz using CDCl₃ or DMSO-d₆ as
62 solvent and TMS as internal standard. Mass spectra were recorded using a
63 high-resolution hybrid quadrupole (Q) and orthogonal time-of-flight (TOF).
64 Infrared spectra were recorded on a Perkin Elmer Paragon 1000 FTIR
65 spectrophotometer, with the samples prepared as a thin film on a NaCl plate,

66 scanning from 635 to 4000 cm^{-1} . Optical rotation $[\alpha]$ was obtained using
67 cubets of 1 cm at 20 °C. Analytical thin layer chromatography analyses were
68 conducted on aluminum-packed precoated silica gel plates. Flash
69 chromatography was performed over silica gel (0.035-0.070 mm).

70 **2.2.2. General procedure for the synthesis of *E*-enaminopyran-**
71 **2,4-dione derivatives (2a-k, 3a-b and 4a-c).** These compounds were
72 prepared by stirring a mixture of **1** (84 mg, 0.5 mmol), alkylamine or
73 arylamine or amino acid methyl ester hydrochloride (0.6 mmol), triethylamine
74 (2 mL) and 1,4-dioxane (8 mL) under reflux for 16 h. The solvent was
75 removed under reduced pressure and the products were purified by silica gel
76 flash column chromatography, eluting with a mixture of hexane and ethyl
77 acetate.

78 *(E)*-3-(1-(benzylamino)ethylidene)-6-methyl-3H-pyran-2,4-dione (**2a**):

79 Yellow solid; yield: 87%; mp 79-81 °C; IR (NaCl, cm^{-1}), $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3686, 3621,
80 3454, 3018, 1695, 1643, 1577, 1481, 1394, 1328, 1215, 1062, 1000, 930,
81 771, 669; ^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6): δ 2.04 (d, 3H, J = 0.5 Hz, CH_3),
82 2.60 (s, 3H, CH_3), 4.77 (d, 2H, J = 5.2 Hz, CH_2), 5.67 (br s, 1H, H5), 7.30-
83 7.44 (m, 5H, Ph), 14.10 (br s, 1H, NH); ^{13}C NMR (62.5 MHz, DMSO- d_6): δ
84 18.4 (C7), 19.6 (C9), 47.6 (C10), 96.2 (C3), 107.4 (C5), 128.0 (C2' and C6'),
85 128.3 (C4'), 129.4 (C3' and C5'), 136.5 (C1'), 162.8 (C6) 163.3 (C2), 176.2
86 (C4), 183.8 (C8).

87 *(S,E)*-3-(1-(*sec*-butylamino)ethylidene)-6-methyl-3H-pyran-2,4-dione (**2b**):

88 White solid; yield: 91%; mp 51-53 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +2 (c = 0.36 g/100 mL); IR
89 (NaCl, cm^{-1}), $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3446, 3018, 2987, 1695, 1640, 1577, 1477, 1394, 1217,
90 1062, 999, 772, 669; ^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6): δ 0.87 (t, 3H, J = 7.3 Hz,

91 CH₃), 1.19 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz, CH₃), 1.58 (quint, 2H, *J* = 7.3 Hz, CH₂), 2.05 (s,
92 3H, CH₃), 2.55 (s, 3H, CH₃), 3.95 (sextet, 1H, *J* = 6.5 Hz, CH), 5.64 (s, 1H,
93 H5), 11.92 (br s, 1H, NH); ¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 12.2 (C13),
94 18.3 (C7), 19.6 (C9), 20.5 (C10), 29.4 (C12), 51.2 (C11), 95.7 (C5), 107.4
95 (C3), 162.6 (C6), 163.3 (C2), 174.4 (C4), 183.9 (C8); HRMS (ESI TOF-MS):
96 Calcd for C₁₂H₁₈NO₃ 224.1287; found: 224.1338.

97 *(E)*-6-methyl-3-(1-(propylamino)ethylidene)-3H-pyran-2,4-dione **(2c)**:

98 Yellow solid; yield: 90%; mp 74-75 °C; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3448, 3013,
99 2964, 2956, 2882, 1699, 1640, 1579, 1473, 1392, 1338, 1216, 1058, 906,
100 831, 771; ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 0.93 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, CH₃), 1.61
101 (sextet, 2H, *J* = 7.3 Hz, CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.53 (s, 3H, CH₃), 3.46 (q,
102 2H, *J* = 7.3 Hz, CH₂), 5.67 (d, 1H, *J* = 0.5 Hz, H5), 13.80 (br s, 1H, NH); ¹³C
103 NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 11.5 (C12), 18.1 (C7), 19.6 (C9), 22.2 (C11),
104 45.5 (C10), 95.9 (C5), 107.4 (C3), 162.6 (C6), 163.4 (C2), 175.9 (C4), 183.8
105 (C8); HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for C₁₁H₁₆NO₃ 210.1130; found: 210.1192.

106 *(E)*-6-methyl-3-(1-(phenylamino)ethylidene)-3H-pyran-2,4-dione **(2d)**:

107 White solid; yield: 79%; mp 127-128 °C; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3454, 3055,
108 2987, 1714, 1699, 1574, 1471, 1392, 1362, 1267, 1190, 1161, 1064, 999,
109 952, 839, 742; ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 2.11 (d, 3H, *J* = 0.8 Hz,
110 CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃), 5.82 (q, 1H, *J* = 0.8 Hz, H5), 7.30-7.56 (m, 5H, Ph),
111 15.66 (br s, 1H, NH); ¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 19.9 (C7), 20.4 (C9),
112 97.3 (C5), 107.2 (C3), 125.6 (C3' and C5'), 128.3 (C4'), 129.6 (C2' and C6'),
113 136.4 (C1'), 163.5 (C6), 163.8 (C2), 175.4 (C4), 184.6 (C8).

114 *(E)*-3-(1-(2-hydroxyphenylamino)ethylidene)-6-methyl-2H-pyran-2,4-dione
115 **(2f)**:

116 Yellow solid; yield: 74%; mp 171-172 °C; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3478,
117 3055, 2988, 1685, 1655, 1574, 1473, 1364, 1267, 1066, 1001, 897, 748; ¹H
118 NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 2.10 (br s, 3H, CH₃), 2.45 (s, 3H, CH₃), 5.67 (s,
119 1H, H5), 6.88 (dt, 1H, *J* = 7.7, 1.2 Hz, H3'), 7.01 (dd, 1H, *J* = 8.2, 1.2 Hz,
120 H6'), 7.22 (dt, 2H, *J* = 8.2, 7.7, 1.2 Hz, H4' and H5'), 10.27 (br s, 1H, OH),
121 15.36 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 19.7 (C7), 20.3 (C9),
122 96.9 (C5), 108.1 (C3), 116.9 (C4'), 119.8 (C5'), 123.7 (C6'), 127.2 (C3'),
123 129.7 (C1'), 151.9 (C2'), 163.5 (C6) 168.5 (C2), 175.7 (C4), 183.0 (C8);
124 HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for C₁₄H₁₄NO₄ 260.0923; found: 260.1182.

125 (*E*)-3-(1-(2-hydroxy-5-nitrophenylamino)ethylidene)-6-methyl-2H-pyran-
126 2,4(3H)-dione (**2g**): White solid; yield: 76%; mp 196-197 °C; IR (NaCl, cm⁻¹),
127 $\bar{\nu}_{\max}$ 3429, 2987, 2884, 1687, 1637, 1419, 1275, 897, 850; ¹H NMR (250
128 MHz, DMSO-d₆): δ 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.45 (s, 3H, CH₃), 5.79 (s, 1H, H5),
129 6.87 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H3'), 7.00 (dd, 1H, *J* = 8.2, 1.2 Hz, H4'), 7.22 (d, 1H,
130 *J* = 1.2 Hz, H6'), 10.27 (br s, 1H, OH), 15.33 (br s, 1H, NH); ¹³C NMR (62.5
131 MHz, DMSO-d₆): δ 20.4 (C7), 20.6 (C9), 97.4 (C3), 106.0 (C6), 107.4 (C5),
132 116.9 (C3'), 124.3 (C4'), 139.3 (C1'), 158.7 (C2), 145.4 (C2'), 148.6 (C5')
133 163.4 (6), 172.1 (C8), 176.0 (C4). HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for
134 C₁₄H₁₃N₂O₆ 305.0774; found: 305.0770.

135 (*E*)-3-(1-(5-chloro-2-hydroxy-4-nitrophenylamino)ethylidene)-6-methyl-2H-
136 pyran-2,4(3H)-dione (**2h**): Red solid; yield: 83%; mp 230-232 °C; IR (NaCl,
137 cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3483, 3371, 3020, 1637, 1531, 1473, 1321, 1216, 873, 771, 669;
138 ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 2.24 (d, 3H, *J* = 0.8 Hz, CH₃), 2.53 (s, 3H,
139 CH₃), 6.24 (br s, 1H, H5), 6.68 (s, 1H, PhH), 7.46 (s, 1H, PhH), 8.57 (br s,
140 1H, OH), 10.28 (br s, 1H, NH); ¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 14.9 (C7),

141 20.6 (C9), 99.9 (C3), 101.4 (C5), 113.7 (C3'), 120.8 (C6'), 121.6 (C5'), 133.2
142 (C4'), 142.1 (C2'), 145.4 (C1'), 148.6 (C2) 160.9 (6), 170.6 (C8), 180.9 (C4).

143 *Methyl* *2E-(1-(6-methyl-2,4-dioxopyridin-(2H)-pyran-3(4H)-*
144 *ylidene)ethylamino)acetate (2j)*: White solid; yield: 86%; mp 145-146 °C; IR
145 (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3454, 3018, 1720, 1699, 1642, 1581, 1475, 1394, 1363,
146 1218, 1064, 1000, 929, 771, 669; ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 2.06 (d,
147 3H, *J* = 0.5 Hz, CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.54 (d, 2H, *J* =
148 5.0 Hz, CH₂), 5.72 (d, 1H, *J* = 0.5 Hz, H5), 14.02 (br s, 1H, NH); ¹³C NMR
149 (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 18.7 (C7), 19.6 (C9), 45.7 (C1'), 52.9 (OCH₃), 96.4
150 (C5), 107.2 (C3), 162.4 (C6) 169.1 (C2 and C2'), 175.6 (C4), 183.2 (C8).
151 HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for C₁₁H₁₄NO₅ 240.0872; found: 240.0870.

152 *(E)-3-(1-(4-methoxyphenylamino)ethylidene)-6-methyl-3H-pyran-2,4-dione*
153 *(2j)*: Yellow solid; yield: 66%; mp 180-182 °C; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3055,
154 2987, 2941, 2887, 1699, 1645, 1627, 1573, 1530, 1475, 1321, 1265, 1031,
155 999, 897, 840, 746; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ 2.14 (s, 3H, CH₃), 2.56 (s,
156 3H, CH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 5.74 (s, 1H, H5), 6.93 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, H2'
157 and H6'), 7.08 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, H3' and H5'), 15.44 (br s, 1H, NH); ¹³C
158 NMR (62.5 MHz, CDCl₃): δ 20.0 (C7), 20.5 (C9), 55.6 (OCH₃), 97.1 (C3),
159 107.0 (C5), 114.8 (C3' and C5'), 126.7 (C2' and C6'), 128.8 (C1'), 159.3
160 (C4'), 163.7 (C6) 163.9 (C2), 175.6 (C4), 184.3 (C8).

161 *(E)-3-(1-(butylamino)ethylidene)-6-methyl-3H-pyran-2,4-dione* *(2k)*:
162 Yellow oil; yield: 92%; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3479, 3055, 2961, 2924, 2869,
163 1695, 1655, 1581, 1479, 1392, 1361, 1338, 1257, 1163, 1061, 999, 926, 837,
164 735; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ 0.95 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, H4'), 1.44 (sextet,
165 2H, *J* = 7.3 Hz, H3'), 1.68 (m, 2H, H2'), 2.10 (d, 3H, *J* = 0.5 Hz, CH₃), 2.52 (s,

166 3H, CH₃), 3.46 (m, 2H, H1'), 5.68 (br d, 1H, *J* = 0.5 Hz, H5), 13.98 (br s, 1H,
167 NH); ¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 13.6 (C4'), 18.1 (C3'), 19.7 (C9),
168 20.0 (C2'), 30.9 (C1'), 43.9 (C7), 96.4 (C5), 107.0 (C4), 162.0 (C2), 175.0
169 (C4), 182.0 (C8).

170 *(E)*-6-methyl-3-(1-(2-phenylhydrazinyl)ethylidene)-2H-pyran-2,4(3H)-dione
171 (**3a**):

172 Red oil; yield: 62%; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3460, 3055, 2987, 1743, 1610,
173 1552, 1421, 1265, 1103, 897, 750; ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 2.25 (d,
174 3H, *J* = 0.8 Hz, CH₃), 2.42 (s, 3H, CH₃), 5.90 (br s, 1H, H5), 7.37 (t, 1H, *J* =
175 7.8 Hz, H4'), 7.56 (m, 2H, H3' and H5'), 7.73 (d, 2H, *J* = 7.8 Hz, H2' and H6');
176 ¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 14.7 (C9), 19.6 (C7), 102.4 (C3), 104.9
177 (C5), 120.9 (C2' and C6'), 127.6 (C4'), 129.9 (C3' and C5'), 136.9 (C1'), 144.9
178 (C2), 150.3 (C8), 154.5 (C4), 159.3 (C6). HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for
179 C₁₄H₁₅N₂O₃ 259.1083; found: 259.1101.

180 *(E)*-3-(1-(2-(2,4-dinitrophenyl)hydrazinyl)ethylidene)-6-methyl-2H-pyran-
181 2,4(3H)-dione (**3b**): Red oil; yield: 58%; IR (NaCl, cm⁻¹), $\bar{\nu}_{\max}$ 3445, 3055,
182 2987, 1740, 1700, 1645, 1625, 1549, 1421, 1344, 1261, 1039, 897, 748; ¹H
183 NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 2.24 (d, 3H, *J* = 0.8 Hz, CH₃), 2.45 (s, 1H, NH),
184 2.54 (s, 3H, CH₃), 6.27 (br s, 1H, H5), 8.18 (dd, 1H, *J* = 9.0, 0.3 Hz, H6'),
185 8.72 (dd, 1H, *J* = 9.0, 2.5 Hz, H5'), 8.88 (dd, 1H, *J* = 2.5, 0.3 Hz, H3'); ¹³C
186 NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆): δ 14.7 (C9), 20.6 (C7), 99.9 (C3), 101.5 (C5),
187 105.8 (C6'), 122.0 (C3'), 132.9 (C5'), 146.8 (C2'), 147.8 (C4'), 151.5 (C1'),
188 154.7 (C6) 161.0 (C2), 170.7 (C8), 180.9 (C4). HRMS (ESI TOF-MS): Calcd
189 for C₁₄H₁₃N₄O₇ 349.0784; found: 349.0781.

190 (S,E)-Methyl-3-methyl-2-(1-(6-methyl-2,4-dioxo-2H-pyran-3(4H)-
191 ylidene)ethyl amino)propanoate (**4a**): White solid; yield: 78%); mp 121-122
192 °C; $[\alpha]_D^{20} = -7$ ($c = 0.29$ g/100 mL); IR (NaCl, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3456, 3057, 2986,
193 2957, 1725, 1699, 1670, 1583, 1477, 1361, 1251, 1223, 1151, 1059, 1000,
194 895, 737; ^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6): δ 1.47 (d, 3H, $J = 7.3$ Hz, CH_3),
195 2.06 (d, 3H, $J = 0.8$ Hz, CH_3), 2.52 (s, CH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.88
196 (quintet, 1H, $J = 7.3$ Hz, CH), 5.71 (br s, 1H, H5), 14.23 (br s, 1H, NH); ^{13}C
197 NMR (62.5 MHz, DMSO- d_6): δ 18.6 (C7), 18.8 (C9), 19.6 (C12), 52.2 (C11),
198 53.3 (OCH_3), 96.4 (C5), 107.4 (C3), 163.0 (C2 and C6), 171.5 (C10), 175.9
199 (C4), 184.0 (C8); HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_5$ 254.1028;
200 found: 254.1186.

201 (S,E)-methyl-2-(1-(6-methyl-2,4-dioxo-2H-pyran-3(4H)-
202 ylidene)ethylamino)-3-phenylpropanoate (**4b**): White solid; yield: 97%; mp
203 91-92 °C; $[\alpha]_D^{20} = -202$ ($c = 0.21$ g/100 mL); IR (NaCl, cm^{-1}), $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3454,
204 3055, 2988, 2956, 1730, 1701, 1670, 1578, 1477, 1362, 1265, 1065, 999,
205 896, 746; ^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6): δ 2.05 (d, 3H, $J = 0.5$ Hz, CH_3),
206 2.34 (s, 3H, CH_3), 3.11 (dd, 1H, $J = 14.0, 7.7$ Hz, CH_2), 3.26 (dd, 1H, $J =$
207 14.0, 7.7 Hz, CH_2), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 5.15 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz, CH), 5.70 (br
208 s, 1H, H5), 7.10-7.32 (m, 5H, Ph), 14.40 (br s, 1H, NH); ^{13}C NMR (62.5 MHz,
209 DMSO- d_6): δ 18.4 (C7), 19.6 (C9), 35.7 (C12), 53.2 (OCH_3), 57.9 (C11), 96.4
210 (C5), 107.8 (C3), 127.6 (C4'), 128.9 (C2' and C6'), 129.9 (C3' and C5'), 135.7
211 (C1'), 163.8 (C2), 170.2 (C10), 176.3 (C4), 185.2 (C8). HRMS (ESI TOF-
212 MS): Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_5$ 330.1341; found: 330.1362.

213 (S,E)-Methyl-3-methyl-2-(1-(6-methyl-2,4-dioxo-2H-pyran-3(4H)-
214 ylidene)ethylamino)butanoate (**4c**): Yellow oil; yield: 82%; $[\alpha]_D^{20} = +4$ ($c =$

215 1.18 g/100 mL); IR (NaCl, cm^{-1}), $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3448, 3020, 2971, 1705, 1697, 1650,
216 1577, 1479, 1394, 1363, 1216, 927, 777, 669; ^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6):
217 δ 0.92 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CH_3), 0.94 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CH_3), 2.07 (d, 3H, $J =$
218 0.5 Hz, CH_3), 2.28 (m, 1H, H3'), 2.50 (s, 3H, CH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.77
219 (dd, 1H, $J = 8.2, 6.5$ Hz, H2'), 5.73 (br s, 1H, H5), 14.30 (br s, 1H, NH); ^{13}C
220 NMR (62.5 MHz, DMSO- d_6): δ 17.7 (C7), 18.6 (C4'), 18.8 (C5'), 19.6 (C3'),
221 31.4 (C9), 53.1 (OCH_3), 61.7 (C2'), 96.6 (C5), 108.0 (C3), 163.2 (C2 and C6),
222 170.3 (C1'), 176.8 (C4), 198.0 (C8); HRMS (ESI TOF-MS): Calcd for
223 $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_5$ 282.1342; found: 282.1308.

224

225 **2.2.3. X-Ray analysis.** A well-shaped single crystal of (*E*)-3-(1-
226 (propylamino)ethylidene)-6-methyl-3H-pyran-2,4-dione (**2c**) was selected for
227 the X-ray diffraction experiment. This crystal was mounted on a glass fiber
228 and afterwards positioned on the goniometer head. Intensity data were
229 collected at low temperature (150(2) K) provided by a cryogenic device
230 (Oxford Cryosystem) and with graphite monochromated $\text{MoK}\alpha$ radiation ($\lambda =$
231 0.71073 Å), using a Enraf-Nonius Kappa-CCD diffractometer. The cell
232 refinements were performed using the software Collect (34) and Scalepack
233 (35), and the final cell parameters were obtained on all reflections. Data for
234 compound **2c** were measured up to 27.4° in θ , totaling 4497 Bragg
235 reflections. Data reduction was carried out using the software Denzo-SMN
236 and Scalepack (35) with XdisplayF for visual representation of data. An
237 absorption coefficient of 0.096 mm^{-1} was observed. Thus, absorption
238 correction was not done.

239 The structure was solved using the software SHELXS-97 (36) and refined
240 using the software SHELXL-97 (37), where the C, N and O atoms were
241 clearly solved and full-matrix least-squares refinement of these atoms with
242 anisotropic thermal parameters was carried out. The amine hydrogen atom
243 was located by difference Fourier analysis and was set as isotropic. On the
244 other hand, the C-H hydrogens were positioned stereochemically and were
245 refined with fixed individual displacement parameters [$U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2U_{\text{eq}}(\text{C}_{\text{sp}^2})$
246 or $1.5U_{\text{eq}}(\text{C}_{\text{sp}^3})$] using a riding model with C—H bond lengths ranging
247 between 0.93 Å and 0.97 Å. Table 1 was prepared using WinGX (version
248 1.70.01) (38) and presents a summary of the X-ray diffraction experiment.
249 ORTEP-3 (39) and MERCURY (40) were also used in order to publish the
250 crystal data, as well as MOGUL (41), a useful program to evaluate the
251 molecular conformation and geometry by matching the values of bond
252 distances, torsional and valence angles for a query compound with the
253 corresponding ones of similar structures that are deposited at the Cambridge
254 Structure Database (CSD) (42) (Table 1).

255 The crystallographic information file leading to the data sets (except the
256 structure factors) for compound **2c** has been deposited with the Cambridge
257 Structural Data Base under deposit code CCDC 694825 (copies of these
258 data may be obtained free of charge from The Director, CCDC, 12 Union
259 Road, Cambridge, CB2 1EZ, UK, fax: +44123-336-033; e-mail:
260 deposit@ccdc.cam.ac.uk or <http://www.ccdc.ac.uk>).

261

262

Table 1. Crystal data and structure refinement for compound **2c**

Empirical formula	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃
Formula weight	209.24
Temperature [K]	150(2)
Wavelength [Å]	0.71073
Crystal system	Monoclinic
Space group	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>
Unit cell dimensions	<i>a</i> = 4.6727(2) Å <i>b</i> = 20.8465(8) Å <i>c</i> = 10.8060(4) Å β = 94.325(2)°
Volume [Å ³]	1049.61(7)
Z	4
Density (calculated) [Mg/m ³]	1.324
Absorption coefficient [mm ⁻¹]	0.096
<i>F</i> (000)	448
Crystal size [mm]	0.22 x 0.11 x 0.05
θ -Range for data collection [°]	3.8-27.4
Index ranges	-5 ≤ <i>h</i> ≤ 5, -26 ≤ <i>k</i> ≤ 26, -13 ≤ <i>l</i> ≤ 13
Reflections collected	4497
Independent reflections	2308 [R(int) = 0.0351]
Completeness to $\theta = 27.4^\circ$	97.7%
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Data / restraints / parameters	2308 / 0 / 143
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.025
Final <i>R</i> for <i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)	<i>R</i> 1 = 0.0504
<i>R</i> for all data	<i>wR</i> 2 = 0.1393
Largest diff. peak and hole [e.Å ⁻³]	0.235 and -0.212

265 **2.2.4. Plant growth inhibition assays.** In order to evaluate the growth
266 regulatory potential of the synthesized *E*-enamino-pyran-2,4-diones (**1**, **2a-k**,
267 **3a-b**, **4a-c**), two different bioassays were carried out.

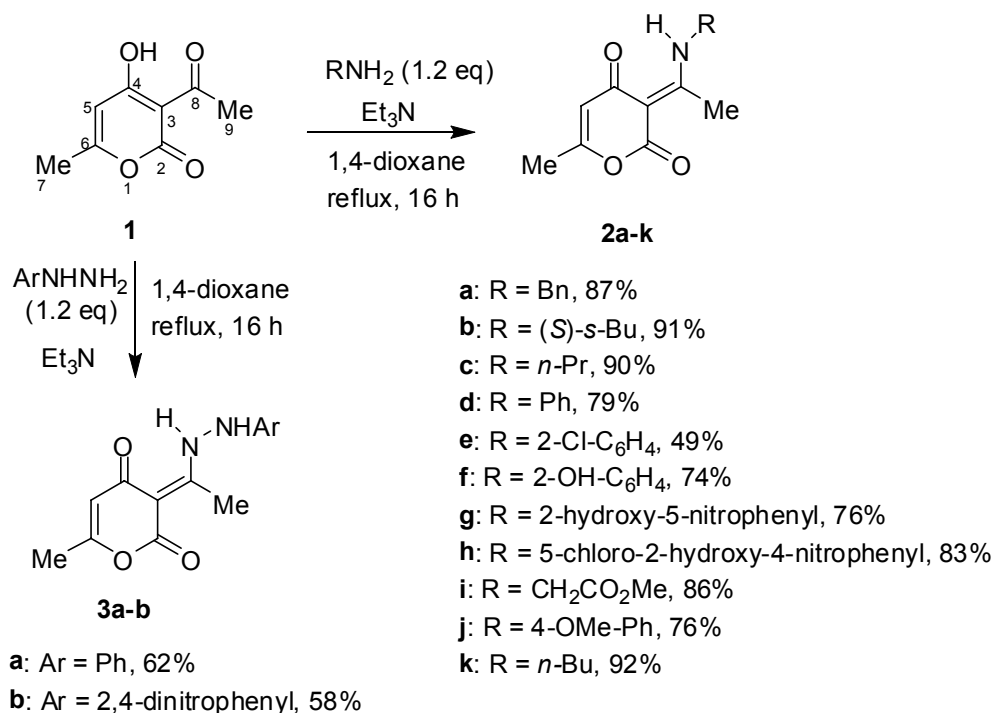
268 **2.2.4.1. Radicle elongation assay on filter paper.** The solutions of *E*-
269 enamino-pyran-2,4-diones were prepared by dissolving a proper amount in
270 xylene (48 μL) and pentan-3-one (24 μL) (31). After addition of the surfactant
271 Tween 80 (72 μL), the resulting suspension was transferred to a volumetric
272 flask and diluted with water to 50 mL, so as to obtain final concentrations of $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
273 and $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. These suspensions were sonicated for 5
274 min, and then 4 mL aliquots were used to imbibe two sheets of filter paper
275 (Whatman n° 1) placed in 100 x 15 mm glass Petri dishes. To each dish were
276 added 20 seeds of *Sorghum bicolor* L. Moench (Geneze Company, Paracatu,
277 Minas Gerais State, Brazil) or *Cucumis sativus* L. (purchased from a local
278 market). The plates were incubated at 25 °C under fluorescent light (8 x 40
279 W) for 72 h. Radicle length was then measured, and total germination
280 recorded. Seeds were considered to have germinated if a radicle protruded
281 at least 1 mm. Treatments were carried out in a completely randomized
282 design with five replications. The data, expressed as percentage of radical
283 growth inhibition with respect to untreated controls, were analyzed using
284 Tukey's test at 0.05 probability level.

285 **2.2.4.2. Greenhouse trials.** Plastic pots (0.13 L) were filled with acid-
286 washed sand, which was saturated with the solution of the test compound
287 (60 mL/450 g of sand, corresponding to $5.9 \times 10^{-5} \text{ mmol a.i./g}$ substrate).
288 Four seeds of *I. grandifolia* or *B. decumbens* were placed in each pot.
289 Seedlings were grown in a greenhouse, and watered as required with tap
290 water or, twice a week, with half-strength Hoagland solution, to maintain the

291 humidity at 13.3% w/w. Twenty-one days after sowing, plants were
292 harvested, and the roots and aerial parts were separated and weighted.
293 Tissues were then dried at 60 °C until constant weight, and the
294 corresponding dry mass was determined. The percentage of root and aerial
295 part growth inhibition was calculated in relation to the mass of the respective
296 control. Data were expressed and analyzed as previously indicated.

297 **2.3. RESULTS AND DISCUSSION**

298 **2.3.1. Synthesis of *E*-enaminopyran-2,4-diones.** Treatment of
299 dehydroacetic acid **1** with the corresponding primary alkyl or aryl amines
300 proceeded smoothly in the presence of triethylamine in refluxing 1,4-dioxane
301 to give the corresponding functionalized *E*-enaminopyran-2,4-diones **2a-k** in
302 excellent yields (Scheme 1). The use of (*S*)-*sec*-butylamine gave chiral
303 enamino-2,4-dione **2b** in 91% isolated yield. Usually, the reaction with alkyl
304 amines led to better yields when compared with aryl amines.

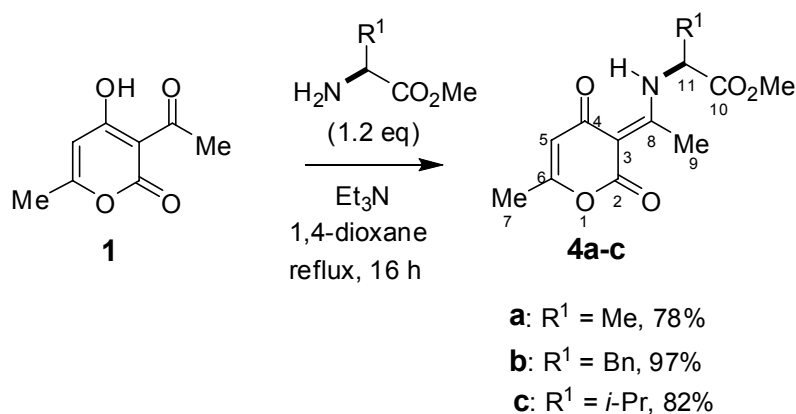


305

306 **Scheme 1.** Preparation of *E*-enaminopyran-2,4-diones **2a-k** and **3a,b**.

307 The next step involved the reactions of dehydroacetic acid **1** with
 308 phenylhydrazines to give the *E*-enaminopyran-2,4-diones **3a** and **3b** in good
 309 yields (Scheme 1).

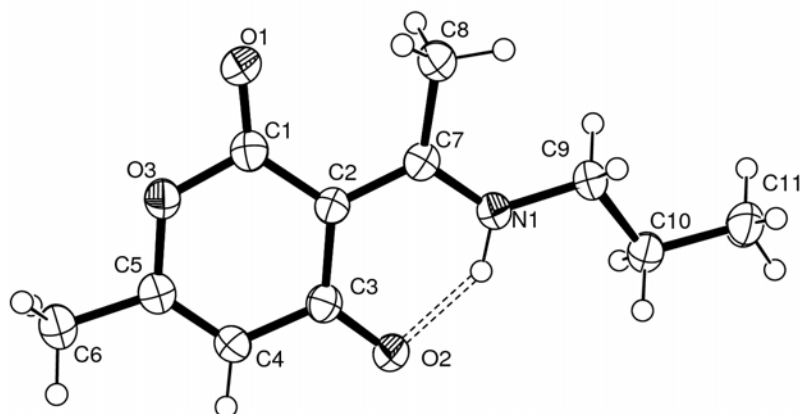
310 We next moved to the reactions of dehydroacetic acid **1** with the
 311 corresponding chiral α -amino esters (Scheme 2). We were able to get
 312 excellent yields by reacting **1** with the α -amino esters derived from *L*-alanine,
 313 *L*-phenylalanine and *L*-valine, affording the desired *E*-enaminopyran-2,4-
 314 diones **4a-c**.



315

316 **Scheme 2.** Preparation of chiral *E*-enaminopyran-2,4-diones **4a-c**.

317 **2.3.2. X-Ray analysis.** The structures of the products were confirmed
 318 by X-ray analysis of compounds **2a**, **2b** and **2c** (Figure 1). Of the two
 319 possible isomers, the *E*-enaminone is formed preferentially as hydrogen
 320 bonding occurs with the more electron rich oxygen. In Figure 1, an ORTEP-3
 321 representation (38) of compound **2c** is shown. This compound crystallizes in
 322 the centrosymmetric monoclinic space group P2₁/c with one entire molecule
 323 in the asymmetric unit. In the solid state, the X-ray diffraction analyses have
 324 revealed that the major tautomer is the form presenting the nitrogen atom
 325 covalently hydrogen bonded, whereas the two exocyclic oxygen atoms are
 326 either carbonyl or carboxyl (Figure 1). An interesting intramolecular feature in
 327 the **2c** structure is the occurrence of a chelating six-membered system
 328 closed by the classical non-covalent hydrogen bond N1-H1...O2 in which the
 329 nitrogen atom of the propylamino moiety is the hydrogen donor and the
 330 carbonyl oxygen of the δ -lactone ring is the acceptor.



331

332 **Figure 1.** ORTEP-3 representation of compound **2c**

333

334 **2.3.3. Phytotoxic assay.** Compounds **1**, **2a-k**, **3a,b** and **4a-c** were
 335 then submitted to a plant growth bioassay to evaluate their effect on the
 336 radicle growth of *Cucumis sativus* and *Sorghum bicolor*. The experiments
 337 were carried out at two concentrations (10^{-4} and 10^{-3} mol L⁻¹) of each
 338 compound and the results are shown in Figure 2.

339 None of the compounds caused a significant effect on the germination
 340 rate for *C. sativus* at the two concentrations tested. However, at 10^{-4} mol L⁻¹
 341 several different effects were observed: stimulating effects (**2c**, **2d**, **2g**, **2i**, **2k**,
 342 and **4c**), lesser inhibitory effects (**2a**, 20%; **2h** and **3b**, 23%) and moderate
 343 inhibitory effects (**3a**, 29%; **1**, 37%; and **2e**, 54%). At 10^{-3} mol L⁻¹ all
 344 compounds showed inhibitory effects, ranging from 19% to 88%, on the
 345 radicle growth of *C. sativus*. The six most active compounds (**1**, **2b**, **2d**, **2e**,
 346 **2h** and **4c**) caused more than 80% inhibition of radicle growth. It is interesting
 347 to note that compound **2b**, which presents a (*S*)-*s*-butyl group attached to the
 348 nitrogen, is much more active (88% inhibition) than compound **2k** (44%
 349 inhibition), bearing a butyl group. This result could in principle suggest that
 350 chirality could have some effect on the activity. This hypothesis was

351 disproved since it was observed that chiral *E*-enaminopyran-2,4-diones (**4a-**
352 **c**) were as active as (63-81% of inhibition) the achiral compound (**2i**) (69%) in
353 inhibiting the radicle development of *C. sativus*.

354 The aromatic enamine **2d** bearing an unsubstituted phenyl ring caused
355 the best result of inhibition against *C. sativus*, compared with the aromatic
356 enamines with substitutions in the ring. Despite a stimulating effect on radicle
357 growth at 10^{-4} mol L⁻¹, at the higher concentration **2d** inhibits (81 % inhibition)
358 as much as **2e** (88%) and **2h** (81%). These data and others presented in
359 Figure 2 suggest that the presence of substitution on the aromatic ring of
360 these enamines is not a requisite for herbicide activity against *C. sativus*.

361 For the hydrazines (**3a** and **3b**) it was observed that the presence of
362 two nitro groups on the aromatic ring had a significant impact on the activity.
363 Compound **3b** caused 78% inhibition of radicle growth, while **3a** was four
364 times less active, causing only 19% inhibition.

365 For *S. bicolor*, none of the compounds caused a significant effect on
366 the germination rate at 10^{-4} mol L⁻¹. However, at 10^{-3} mol L⁻¹ were observed
367 inhibitions with **2a** (16%), **2f** and **2k** (18%), **2d** (22%), **2h** (25%), **1** (73%) and
368 **2e** (76%).

369 Only **3a** and **4b** showed a stimulating effect at 10^{-4} mol L⁻¹ (26% and
370 11%, respectively). A small inhibitory effect (less than 10%) was noted for
371 compounds **2d**, **2g**, **2h**, **2i**, and **3b**, while approximately 46% inhibition was
372 observed for compounds **2a**, **2b**, and **2k**. At 10^{-3} mol L⁻¹ compounds **3a** and
373 **4b** showed lower inhibitory effects (27% and 24%, respectively), while
374 moderate inhibitory effects (**2i**, 59% and **2j**, 48%) and high inhibitions were
375 found for compounds **2c** and **3b** (76%), **2b** and **2k** (80%), **1** (83%) and **2e**
376 (85%).

377 The chiral (**4a-c**) and achiral (**2i**) enamine methyl esters showed
378 large differences over the radicle development of *S. bicolor*. The aromatic
379 compound **4b** showed a small inhibitory effect (11% and 24%, at 10^{-4} and 10^{-3}
380 mol L^{-1} , respectively) on radicle growth, while for the others high inhibitory
381 activities (**2i**, 7% and 59%; **4c**, 17% and 70%; **4a**, 22% and 72%) were
382 registered. Since the observed inhibitory activities for **2i**, **4c** and **4a** are quite
383 similar, it seems that for these compounds the chirality is not a requirement
384 for inhibitory activity. Moreover, since the aromatic compound **4b** displayed a
385 small inhibitory effect, it is apparent that the presence of an alkyl group
386 attached to the chiral carbon may contribute to the activity of compounds (**4a-**
387 **c**) against *S. bicolor*.

388 At 10^{-3} mol L^{-1} hydrazine **3b** caused higher inhibition (76%) on the
389 radicle development of *S. bicolor* than **3a** (27% inhibition). These results are
390 consistent with those reported for *C. sativus*, confirming the strong influence
391 of the nitro groups on the activity of these compounds.

392 Compound **2e**, an aromatic enamine with a chlorine in the ring,
393 presented the best result of inhibition (85% at 10^{-3} mol L^{-1}) against *S. bicolor*
394 compared with other aromatic enamines. The presence of a chlorine atom
395 seems to have little effect on herbicide activity, since **2d** caused 62% of
396 inhibition at the same concentration. On the other hand, compound **2h**, which
397 differs from **2g** by the presence of chlorine in the ring and by the position of
398 the nitro group, was 8% more active at 10^{-3} mol L^{-1} , while **2f** (with a hydroxyl
399 in ring) was 11% less active than **2e** at 10^{-3} mol L^{-1} .

400 For the alkyl enamines **2b** (79% inhibition), **2c** (75%) and **2k** (80%) no
401 significant differences for the herbicide activity at 10^{-3} mol L^{-1} was observed.
402 At the other concentration compound **2c** (20% inhibition) was much less

403 active than the others. These data suggest that the size of the alkyl chain
404 could be associated with activity. Further investigation should be carried out in
405 order to evaluate this proposal.

406 After confirming the inhibitory activity of the pyran-2,4-diones on the
407 development of *C. sativus* and *S. bicolor* the effect of the most active
408 compounds (**1**, **2a**, **2b**, **2g-i**, **4b** and **4d**) on the growth of the important weeds
409 *Ipomoea grandifolia* and *Brachiaria decumbens* was investigated. At 5×10^{-4}
410 mol L⁻¹ all the compounds caused inhibition of the biomass of the roots
411 (ranging from 32% to 83%) and on the aerial parts (from 8% to 84%) of *I.*
412 *grandifolia*. Compounds **2a**, **2b** and **2g** were the most active causing around
413 81% (for the three compounds) inhibition on root biomass development, and
414 84%, 84% and 76% on the aerial parts of *I. grandifolia*, respectively. These
415 data suggest that the presence of *sec*-butyl, benzyl or 2-hydroxy-5-
416 nitrophenyl groups have similar contributions to the herbicide activity of these
417 enamines. The same behavior was observed for **4a** and **4c**, where a methyl
418 or isopropyl on the chiral carbon did not cause a significant change in
419 herbicide activity (roots: **4a**, 62% inhibition and **4c**, 65%; aerial parts: **4a**,
420 57% inhibition and **4c**, 68%). When compared with **2i**, the presence of methyl
421 or isopropyl groups (**4a** or **4c**) significantly increases herbicide activity (**2i**:
422 roots, 34%; aerial parts: 42%) against *I. grandifolia*.

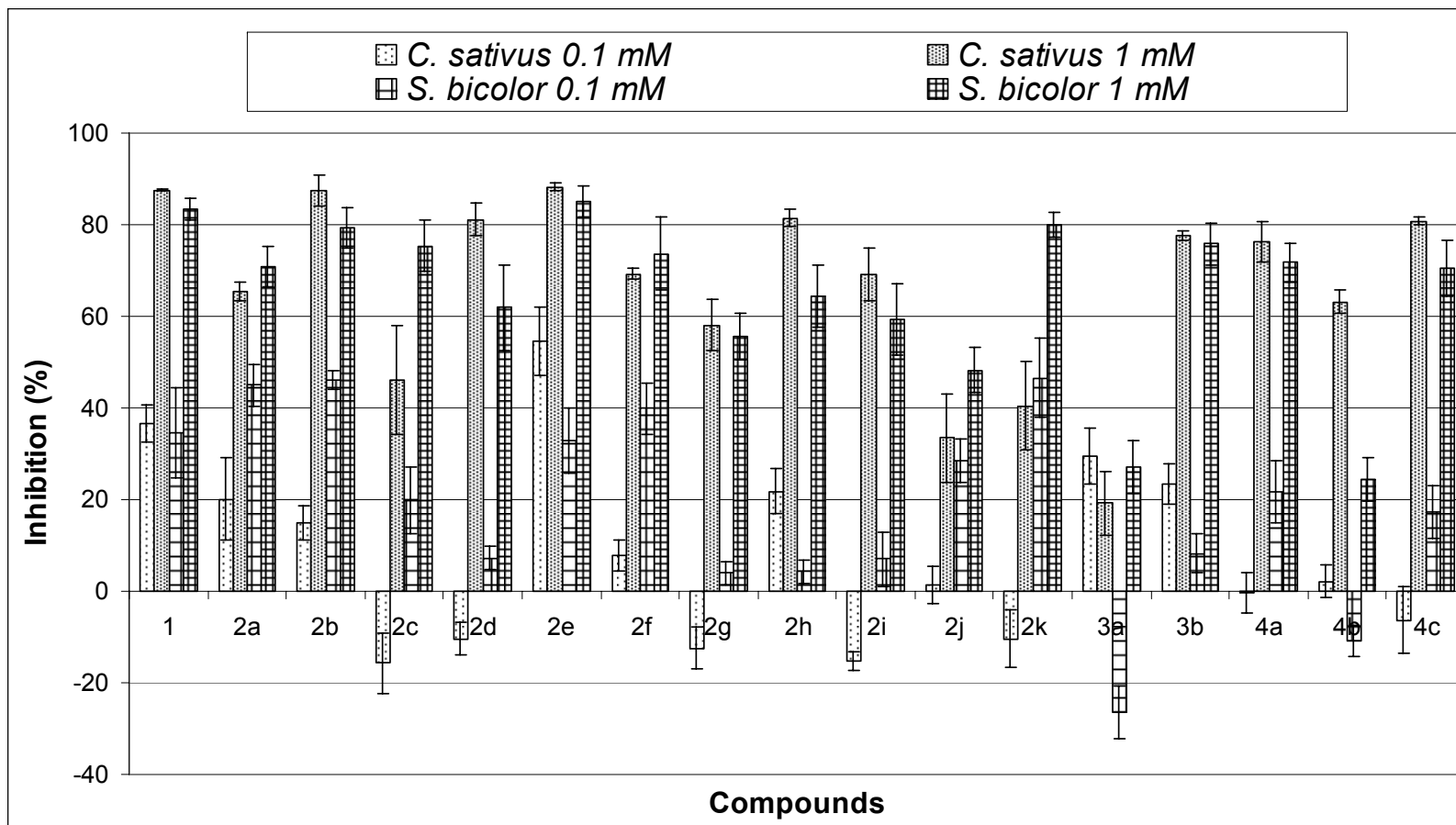
423 For *B. decumbens*, compound **2g** inhibited roots and aerial parts by
424 15%, while **2h** increased the development of roots by 24% and the aerial
425 parts by 20%. Compound **4a** caused 46% and 33% inhibition on roots and
426 aerial part development, respectively; for **4c** induction of the development of
427 roots and aerial parts (around 46%) was observed. There was no significant

428 difference between **4a** and **2i** (roots inhibition, 44%; aerial parts inhibition
429 33%).

430 Compound **2b**, a chiral alkyl enamine, showed the highest inhibitory
431 effect on the development of roots (66%) and aerial parts (71%) of *B.*
432 *decumbens*.

433 The effect of the precursor dehydroacetic acid (**1**) was also
434 investigated. Dehydroacetic acid inhibits the development of roots (41%) and
435 aerial parts (8%) of *Ipomoea grandifolia*, but increases the development of
436 roots (68%) and aerial parts (41%) of *Brachiaria decumbens* at a
437 concentration of 5×10^{-4} mol L⁻¹.

438 The highest activities presented by the tested compounds and the
439 selective effect observed on the root growth of monocotyledons (*B.*
440 *decumbens*) and dicotyledons (*I. grandifolia*) should be further investigated.
441 These compounds also could be exploited for the design of new substances
442 closely related to dehydroacetic acids endowed with herbicidal activity.

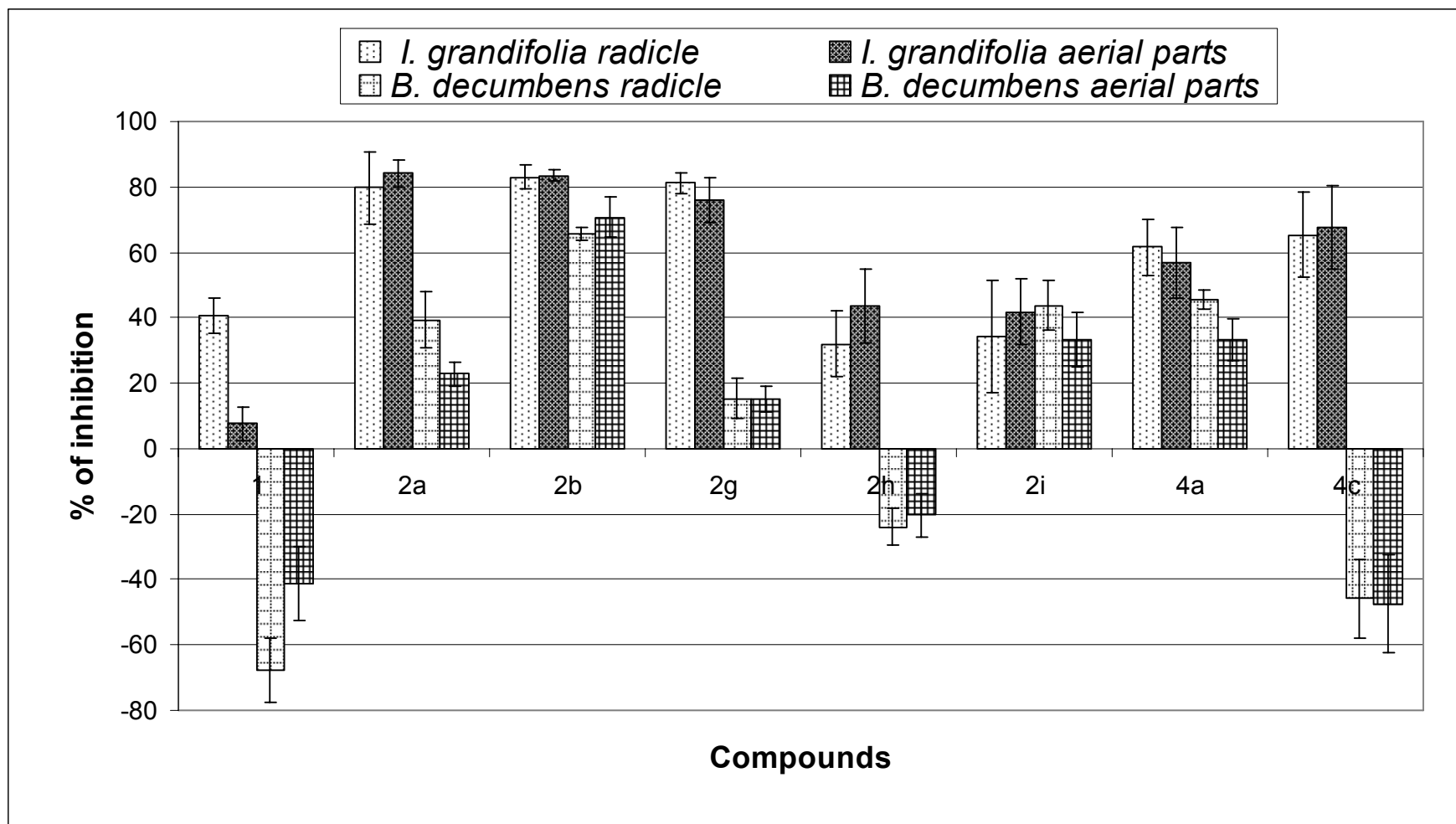


443

444

445

Figure 2. Effect of the compounds, at 10^{-4} mol L $^{-1}$ (0.1 mM) and 10^{-3} mol L $^{-1}$ (1 mM), on the radicle development of *C. sativus* and *S. bicolor*.



446
 447 **Figure 3.** Effect of the compounds, at 5×10^{-4} mol L⁻¹, on the development of radicle and aerial parts of *I. grandifolia* and *B.*
 448 *decumbens*.

449 **2.4. CONCLUSIONS**

450 We have prepared a variety of new functionalized achiral and chiral *E*-
451 enaminyopyran-2,4-diones, starting with dehydroacetic acid. In addition, we
452 have described their effect on radicle growth of *Sorghum bicolor* and
453 *Cucumis sativus*. The most active compounds against *S. bicolor*, and *C.*
454 *sativus* were tested on the development on the radicle and aerial parts of the
455 *I. grandifolia* and *B. decumbens*. Based upon a preliminary structure-activity
456 relationship analysis discussed in this paper, work is currently under way to
457 achieve the synthesis of new pyran-2,4-diones derivatives with better
458 herbicide activity.

459 **2.5. ACKNOWLEDGMENT**

460 We are grateful to FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado
461 de São Paulo) and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico
462 e Tecnológico) for financial support and fellowships (AJD, LCAB, LCD, FTM)
463 and to FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas
464 Gerais) for financial support and a fellowship (VMMV). We also thank Prof.
465 Carol H. Collins (IQ-UNICAMP) for helpful suggestions about English
466 grammar and style.

467 **Supporting Information Available:** Copies of ¹H NMR and ¹³C NMR of
468 compounds **2a**, **2c** and **4c**. **Table 1.** Experimental length and angles for **2c**.
469 **Table 2.** Hydrogen-bonding geometry (Å, °) for **2c**. **Table 3.** Effect of
470 Compounds Radicle Growth of *S. bicolor* and *C. sativus* Seedlings (% of

471 inhibition). **Table 4.** Effect of Compounds at 5.9×10^{-5} mol Kg⁻¹ on the Growth
472 of *I. grandifolia* and *B. decumbens* under Greenhouse Conditions (% of
473 inhibition). **Figure 2.** Hydrogen bond (doubly dotted lines) scheme for **2c**.
474 This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.
475

476 **2.6. LITERATURE CITED**

- 477 (1) Raj, S. A. N.; Deepak, P.; Basavaraju, H. S.; Shetty, M. S.; Reddy,
478 Kloepper, J. W. Comparative performance of formulations of plant growth
479 promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy
480 mildew in pearl millet. *Crop Protection* **2003**, *22*, 579-588.
- 481 (2) Preston, C. Herbicide resistance in weeds endowed by enhanced
482 detoxification: complications for management. *Weed Sci.* **2004**, *52*, 448-
483 453.
- 484 (3) Sunazuka, T.; Hirose, T.; Omura, S. Efficient total synthesis of novel
485 bioactive microbial metabolites. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 302-314.
- 486 (4) Duke, S. O.; Romagni, J. G.; Dayan, F. E. Natural products as sources for
487 new mechanisms of herbicidal action. *Crop Prot.* **2000**, *19*, 583-589
- 488 (5) Nagarajan, M.; Xiao, X. S.; Antony, S.; Kohlhagem, G.; Pommier, Y.;
489 Cushman, M. Design, synthesis, and biological evaluation of
490 indenoisoquinoline topoisomerase I inhibitors featuring polyamine side
491 chains on the lactam nitrogen. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5712-5724.
- 492 (6) McGlacken, G. P.; Fairlamb, I. J. S. 2-Pyrone natural products and
493 mimetics: isolation, characterization and biological activity. *Nat. Prod.*
494 *Rep.* **2005**, *22*, 369-385.

- 495 (7) Parker, S. R.; Cutler, H. G.; Jacyno, J. M.; Hill, J. A. Biological activity of
496 6-pentyl-2*h*-pyran-2-one and its analogs. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*,
497 2774-2776.
- 498 (8) Xiang, D.; Wang, K.; Liang, Y.; Zhou, G.; Dong, D. A facile and efficient
499 synthesis of polyfunctionalized pyridin-2(1H)-ones from β -oxo amides
500 under Vilsmeier conditions. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 345-348.
- 501 (9) Lokot, I. P.; Pashkovskii, F. S.; Lakhvich, F. A. Synthesis of 3-acyl(alkyl)-
502 6-methylpyran-2,4-diones and their derivatives. *Russ. J. Org. Chem.*
503 **1999**, *35*, 746-755.
- 504 (10) Asherson, J. L.; Bilgic, O.; Young, D.W. A general and practicable
505 synthesis of polycyclic heteroaromatic compounds. Part 2. Reaction of
506 quinine-methides of pyridones, pyrimidines, coumarin, and benzene with
507 aromatic amines in a novel synthesis of polycyclic heteroaromatic
508 compounds. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* **1980**, 522-528.
- 509 (11) Donohoe, T. J.; Fishlock, L. P.; Procopiou, P. A. A metathesis-based
510 approach to the synthesis of 2-pyridones and pyridines. *Org. Lett.* **2008**,
511 *10*, 285-288.
- 512 (12) Martins, M.A.P.; Peres, R.L.; Fiss, G.F.; Dimer, F.A.; Mayer, R.; Frizzo,
513 C.P.; Marzari, M.R.B.; Zanatta, N.; Bonacorso, H.G. A solvent-free
514 synthesis of β -enamino trihalomethyl ketones *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**,
515 *18*, 1486-1491.
- 516 (13) Machado, M.A.; Harris, M.I.N.C.; Braga, A.C.H. Studies on the reduction
517 of β -enamino ketones. *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 1440-1442.
- 518 (14) Zhang, Z.-H.; Hu, J.-Y. Cobalt(II) Chloride-mediated synthesis of β -
519 enamino compounds under solvent-free conditions. *J. Braz. Chem. Soc.*
520 **2006**, *17*, 1447-1451.

- 521 (15) Sato, A.; Morone, M.; Azuma, Y. Synthesis of 6-, 7-, 8- or 9-substituted
522 1*H*-pyrano[4,3-*b*]-quinoline derivatives by the cyclization of 3-acetyl-4-
523 arylamino-2*H*-pyran-2-one derivatives. *Heterocycles* **1997**, *45*, 2209-
524 2216.
- 525 (16) Bogdanov, V. S.; Negrebetskii, V. V.; Lakhvich, F. A.; Moiseenkov, A. M.;
526 Akhrem, A. A. Study of the structure of 4-amino-3-acetyl-6-methyl-2-
527 pyrones. *Ann. Acad. Sci. USSR* **1972**, *5*, 1067-1070.
- 528 (17) Garratt, S. The mechanism of the reaction between dehydroacetic acid
529 and alkylamines. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 1886-1888.
- 530 (18) Edwards, J. D.; Page, J. E.; Pianka, M. Dehydroacetic acid and its
531 derivatives. *J. Chem. Soc.* **1963**, 5200-5206.
- 532 (19) Filira, F.; Acampora, M.; Giormani, V.; Rothstein, M.; D'Angeli, F.
533 Diastereomeric distribution in β -aminoenedione derivatives of non-
534 aromatic heterocycles. *Gazz. Chim. Ital.* **1977**, *107*, 479-485.
- 535 (20) Fregona, D.; Faraglia, G.; Sitran, S. Complexing behaviour of Schiff
536 bases derived from 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2*H*-pyran-2-one. *J.*
537 *Coord. Chem.* **1992**, *25*, 127-137.
- 538 (21) X-ray analysis for **2k**: a) Gilli, P.; Bertolasi, V.; Ferretti, V.; Gilli, G.
539 Evidence for intramolecular N-H \cdots O resonance-assisted hydrogen
540 bonding in β -enaminones and related heterodienes. A combined crystal-
541 structural, IR and NMR spectroscopic, and quantum-mechanical
542 investigation. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10405-10417. b) Gilli, G.;
543 Bellucci, F.; Ferretti, V.; Bertolasi, V. Evidence for resonance-assisted
544 hydrogen bonding from crystal-structure correlations on the enol form of
545 the .beta.-diketone fragment. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1023-1028.

- 546 (22) Inoue, A.; Iguchi, S. On the reaction of dehydroacetic acid with
547 hydroxylamine. *Chem. Pharm. Bull.* **1964**, *12*, 381-383.
- 548 (23) Kilbourn, E. E.; Seidel, M. C. Synthesis of *N*-alkyl-3-carboxy-4-pyridones.
549 *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 1145-1148.
- 550 (24) Prakash, O.; Kumar, A.; Sadana, A.; Prakash, R.; Singh, S. P.;
551 Claramunt, R. M.; Sanz, D.; Alkorta, I.; Elguero, J. Study of the reaction
552 of chalcone analogs of dehydroacetic acid and *o*-aminothiophenol:
553 synthesis and structure of 1,5-benzothiazepines and 1,4-
554 benzothiazepines. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6642-6651.
- 555 (25) Tan, S-F.; Ang, K-P.; Jayachandran, H. L.; Jones, A. J.; Begg, W. R. ¹H,
556 ¹³C and ¹⁵N nuclear magnetic resonance studies on the tautomerism of
557 the Schiff's bases of 3-acetyl-6-methyl-2*H*-pyran-2,4(3*H*)-dione and 3,5-
558 diacetyltetrahydropyran-2,4,6-trione. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* **1982**,
559 513-521.
- 560 (26) For the preparation of dehydroacetic acid, see: (a) Arndt, F.
561 Dehydroacetic acid. *Org. Synth.* **1955**, *3*, 231-232. (b) Diwischek, F.;
562 Arnone, M.; Engels, B.; Holzgrabe, U. Studies on the stereochemistry of
563 1,2,6-trimethyl-4-piperidone. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6993-7001.
- 564 (27) Barbosa, L. C. A.; Costa, A. V.; Veloso, D. P.; Lopes, J. L. C.; Hernandez-
565 Terrones, M. G. H.; King-Diaz, B.; Lotina-Hennsen, B. Phytogrowth-
566 inhibitory lactone derivatives of glaucolide B. *Z. Naturforsch.* **2004**, *59c*,
567 803-810.
- 568 (28) Lima, L. S.; Barbosa, L. C. A.; Alvarenga, E. S.; Demuner, A. J.; Silva, A.
569 A. Synthesis and phytotoxicity evaluation of substituted para-
570 benzoquinones. *Aust. J. Chem.* **2003**, *36*, 625-630.

- 571 (29) Chaves, F. C.; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Silva, A. A. New
572 helminthosporal analogues with plant-growth regulatory properties
573 synthesized via oxyallyl cation. *Z. Naturforsch.* **2006**, *61b*, 1287-1294.
- 574 (30) Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Maltha, C. R. A.; Da Silva, P. S.; Silva,
575 A. A. Síntese e avaliação da atividade fitotóxica de novos análogos
576 oxigenados do ácido helmintosporico. *Quim. Nova* **2003**, *26*, 655-660.
- 577 (31) Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Alvarenga, E. S.; Oliveira, A.; King-
578 Diaz, B.; Lotina-Hennsen, B. Phytogrowth- and photosynthesis-inhibiting
579 properties of nostoclid analogues. *Pest. Manage. Sci.* **2006**, *62*, 214-222.
- 580 (32) Costa, A. V.; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Silva, A. A. Synthesis and
581 herbicidal activity of 2 α ,4 α -dimethyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona
582 derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 4807-4814.
- 583 (33) Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L. *Purification of Laboratory Chemicals*,
584 5th ed.; Elsevier: Oxford, U.K., 2003.
- 585 (34) Enraf-Nonius COLLECT. Nonius BV, Delft, The Netherlands, 1997-2000.
- 586 (35) Otwinowski, Z.; Minor, W. in 'Methods in Enzymology', Eds. Carter Jr., C.
587 W.; Sweet, R. M. Academic Press, New York, 1997, Vol. 276, p. 307.
- 588 (36) Sheldrick, G. M. SHELXS97, Program for Crystal Structure Resolution,
589 University of Göttingen, Germany, 1997.
- 590 (37) Sheldrick, G. M. SHELXL97, Program for Crystal Structure Analysis,
591 University of Göttingen, Germany, 1997.
- 592 (38) Farrugia, L. J. *WinGX* suite for small-molecule single-crystal
593 crystallography. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 837-838.
- 594 (39) Farrugia, L. J. *ORTEP-3* for Windows - a version of *ORTEP-III* with a
595 Graphical User Interface (GUI). *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.

- 596 (40) Bruno, I. J.; Cole, J. C.; Edgington, P. R.; Kessler, M. K.; Macrae, C. F.;
597 McCabe, P.; Pearson, J.; Taylor, R. New software for searching the
598 Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta*
599 *Crystallogr., Sect. B* **2002**, *58*, 389-397.
- 600 (41) Bruno, I. J.; Cole, J. C.; Kessler, M.; Luo, J.; Motherwell, W. D. S.; Purkis,
601 L. H.; Smith, B. R.; Taylor, R.; Cooper, R. I.; Harris, S. R.; Orpen, A. G.
602 Retrieval of crystallographically-derived molecular geometry information.
603 *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2004**, *44*, 2133-2138.
- 604 (42) Allen, F. H. The Cambridge Structural Database: a quarter of a million
605 crystal structures and rising. *Acta Crystallogr., Sect. B* **2002**, *58*, 380-388.

607 **Preparation of achiral and chiral *E*-enamino-**
608 **pyran-2,4-diones and their phytotoxic activity**

609 LUIZ C. DIAS^{A,*}, ANTÔNIO J. DEMUNER^B, VÂNIA M. M. VALENTE^B, LUIZ C. A.
610 BARBOSA^B, FELIPE T. MARTINS^C, ANTÔNIO C. DORIGUETTO^D, AND JAVIER
611 ELLENA^C.

612 ***2.7.1. X-Ray analysis. Results and Discussion.***

613 Figure S1 shows an ORTEP-3 representation (1) of compound **2c**.
614 This compound crystallizes in the centrosymmetric monoclinic space group
615 P2₁/c with one entire molecule in the asymmetric unit. In the solid state, the
616 X-ray diffraction analyses have revealed that the major tautomer is the form
617 presenting the nitrogen atom covalently hydrogen bonded, whereas the two
618 exocyclic oxygen atoms lie as either carbonyl or carboxyl ones (Figure S1).
619 An interesting intramolecular feature in the **2c** structure is the occurrence of a
620 chelating six-membered system closed by the classical non-covalent
621 hydrogen bond N1-H1...O2 in which the nitrogen atom of the propylamino
622 moiety is the hydrogen donor and carbonyl oxygen one of the δ -lactone ring
623 is the acceptor. Furthermore, an electronic delocalization crossing the
624 intramolecularly H-bonded core can be suggested, taking into account the
625 following observations: a) the six atoms O2-C3-C2-C7-N1-H1, forming the
626 ring are almost entirely coplanar in view of the highest deviation from the
627 least-squares plane passing through them to be 0.027(3) Å for C2 (root mean
628 square deviation of fitted atoms is 0.0167 Å) and b) the double bonds C2-C7

629 (1.431(2) Å) and O2-C3 (1.262(2) Å) have a single bond character since they
630 present lengths larger than the expected ones, 1.41(2) Å and 1.24(3) Å,
631 respectively, due to a conjugation path through the atoms involved in these
632 bonds and, hence, passing along the chelating ring. All expected values
633 presented throughout the principal text have been averaged by MOGUL (2)
634 intramolecular analyses in the Cambridge Structural Database (CSD) (3),
635 and the results concerning the comparative searches for bond lengths,
636 valence and dihedral angles are exhibited in the Table S1. As found in this
637 Table, some relevant deviations from the expected values for bond distances
638 and angles were reported in the pyrandione moiety. For instance, the
639 shortening of the C4-C5 bond length (1.328(2) Å against a MOGUL mean of
640 1.37(4) Å) and the expansion of the C4-C5-C6 valence angle (126.9(2)°
641 against a MOGUL mean of 121(3)°) were reported, as a consequence of the
642 double bond character strengthening of the covalent C4-C5 contact and C5
643 carbon hybridization alteration. As a coherent interpretation for this, an
644 electronic resonance decrease occurs through the atoms O2-C3-C4-C5 that
645 would give rise to a keto-enolate hybrid wherein the O2-C3 carbonyl group
646 partially takes on the features of a carboxylate, when the four query atoms
647 were kept adequately conjugated. Since the O2 oxygen atom is electronically
648 in charge of conjugation along the chelating O2-C3-C2-C7-N1-H1 ring and it
649 also accepts hydrogen in a strong intramolecular N1-H1...O2 interaction,
650 electron sharing in the O2-C3-C4-C5 resonance path is hindered. Therefore,
651 the electron delocalization crossing these four atoms is decreased, and the
652 C4-C5 binding shows a double bond property greater than that of equivalent
653 connections in **2c**-like compounds which are not influenced by additional
654 resonance-assisted hydrogen bonds (4, 5).

655 **Table S1.** Experimental bond lengths (Å) and angles (°) and some selected torsion angles (°) for compound **2c** determined by
 656 single crystal X-ray diffraction (query value) matching to MOGUL (mean) intra-molecular analyses

657

Fragment	Number	Mean	Query value	Fragment	Number	Mean	Query value
C1-C2	259	1.46(3)	1.434(2)	C9-C10-C11	245	114(7)	111.9(1)
C2-C3	61	1.45(2)	1.443(2)	C7-N1-C9	30	128(4)	127.0(1)
C3-C4	401	1.44(3)	1.445(2)	C1-O3-C5	77	122(1)	122.3(1)
C4-C5	1378	1.37(4)	1.328(2)	N1-C7-C2	20	119(1)	118.5(1)
C5-C6	1695	1.50(3)	1.484(2)	N1-C7-C8	49	117(1)	118.1(1)
C2-C7	71	1.41(2)	1.431(2)	N1-C9-C10	130	112(3)	109.8(1)
C7-C8	1438	1.50(1)	1.492(2)	O1-C1-C2	259	126(4)	129.1(1)
C9-C10	245	1.49(5)	1.510(2)	O1-C1-O3	215	115(2)	113.2(1)
C10-C11	10000	1.50(1)	1.518(2)	O2-C3-C2	61	123(1)	123.7(1)
N1-C7	49	1.32(2)	1.314(2)	O2-C3-C4	401	122(2)	119.4(1)
N1-C9	3329	1.46(2)	1.462(2)	O3-C1-C2	80	117(1)	117.5(1)
O1-C1	10000	1.21(2)	1.214(2)	O3-C5-C4	198	121(2)	121.4(1)
O2-C3	1126	1.24(3)	1.262(2)	O3-C5-C6	217	112(2)	111.6(1)
O3-C1	215	1.39(2)	1.410(2)				
O3-C5	217	1.37(2)	1.365(2)	C1-C2-C7-C8	31	0.19(9)	7.7(2)
				C2-C7-N1-C9	43	179.74(1)	177.8(1)
C1-C2-C3	21	119(1)	119.7(1)	C3-C2-C7-C8	36	179.55(3)	173.7(1)
C1-C2-C7	23	119(1)	119.6(1)	C7-N1-C9-C10	69	179.5(3)	172.1(1)
C2-C3-C4	39	117(2)	116.9(1)	C8-C7-N1-C9	49	0.348(9)	1.0(2)
C3-C2-C7	18	120.7(4)	120.7(1)	N1-C7-C2-C1	31	179.8(1)	173.6(1)
C3-C4-C5	28	122(1)	121.8(1)	N1-C7-C2-C3	34	0.6(2)	5.0(2)
C4-C5-C6	1375	121(3)	126.9(2)	N1-C9-C10-C11	173	179.93(5)	179.4(1)
C2-C7-C8	71	122(2)	123.4(1)				

682

683 **Table S3** . Effect of Compounds Radicle Growth of *S. bicolor* and *C. sativus*
 684 Seedlings (% of inhibition)
 685

Plant Conc.	<i>C. sativus</i>		<i>S. bicolor</i>	
	1x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	1x10 ⁻³ mol L ⁻¹	1x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	1x10 ⁻³ mol L ⁻¹
Compounds				
1	36.7 GHa	87.6 Aa	34.6 JKLMa	82.7 ABa
2a	20.1 JKLb	65.5 CDEa	45.0 HIJKa	70.8 BCDEa
2b	15.0 KLb	87.5 Aa	46.2 HIJa	79.3 ABb
2c	-15.7 Qb	46.2 FGb	19.9 MNa	75.4 ABCa
2d	-10.4 OPQb	81.1 Aba	7.2 QRa	62.0 DEFb
2e	54.5 EFa	88.3 Aa	32.9 KLMNb	85.2 Aa
2f	7.8 LMb	69.3 BCDA	39.9 IJKLa	73.7 ABCDA
2g	-12.4 PQb	58.1 DEFa	3.9 Ra	55.6 FGHa
2h	21.8 IJKa	81.4 Aba	4.3 Rb	64.4 CDEFb
2i	-15.3 Qb	69.1 BCDA	7.0 QRa	59.3 EFGb
2j	1.4 MNOb	33.4 Hib	28.4 LMNOa	48.2 GHla
2k	-10.4 OPQb	40.5 GHb	48.3 GHla	79.7 ABa
3a	29.5 HIJa	19.2 JKLb	-26.5 Tb	27.2 MNOa
3b	23.4 IJKa	77.6 ABCa	8.3 PQRb	75.8 ABCa
4a	-0.3 MNOPb	76.3 ABCa	21.6 NOa	71.7 BCDEa
4b	2.1 MNa	63.1 DEa	-10.8 Sb	24.4 MNOb
4c	-6.4 NOPQb	80.8 Aba	17.2 OPQa	70.5 BCDEb

686
 687 *Mean values in the same column with the same capital letter are not
 688 significantly different at $P = 0.05\%$ by Tukey's test .

689 *Mean values in the same line with the same minuscule letter are not
 690 significantly different at $P = 0.05\%$ by Tukey's test, at each concentration.

691
 692

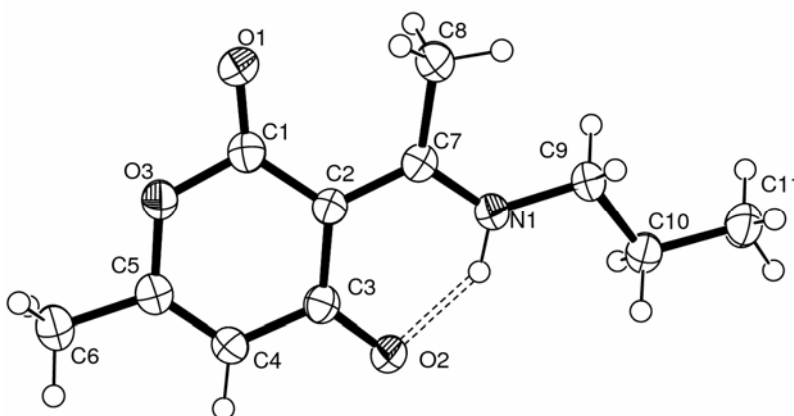
693 **Table S4**. Effect of Compounds at 5.9×10^{-5} mol Kg⁻¹ on the Growth of *I.*
 694 *grandifolia* and *B. decumbens* under Greenhouse Conditions (% of inhibition)
 695

Plant Compound s	<i>Ipomoea grandifolia</i>		<i>Brachiaria decumbens</i>	
	Radicle	Aerial parts	Radicle	Aerial parts
1	40.7 Ba	7.6 Da	-67.7 Eb	-41.2 CDb
2a	79.6 Aa	85.9 Aa	39.3 Bb	22.8 Bb
2b	83.0 Aa	84.4 Aa	65.5 Ab	70.8 Aa
2g	79.9 Aa	78.9 Aba	15.3 Cb	15.0 Bb
2h	32.0 Ba	43.7 Ca	-24.0 Db	-20.3 Cb
2i	34.3 Ba	41.7 Ca	43.3 Ba	33.3 Ba
4a	61.7 Aa	56.9 BCa	43.4 Bb	33.3 Bb
4c	65.3 Aa	67.7 Aba	-45.7 Db	-47.4 Db

696 *Mean values in the same column with the same capital letter are not
 697 significantly different at $P = 0.05\%$ by Tukey's test.

698 *Mean values in the same line with the same minuscule letter are not
 699 significantly different at $P = 0.05\%$ by Tukey's test, at each concentration.

700



701

702 **Figure S1.** The ORTEP view (1) of pyrandione **2c**. Ellipsoids are at 50%
 703 probability level and an arbitrary atom labeling is used. The hydrogen
 704 atoms are shown as spheres of arbitrary radii.

705

706 Five other valence angle measurements given in Table S1
 707 deviated from the MOGUL average values. Such unusual intramolecular
 708 geometry features are caused by the weak non-classical intermolecular
 709 hydrogen bonds whereby the groups either donating or accepting
 710 hydrogen atoms are pulled away from a certain angle supporting domain
 711 to geometrically optimize the hydrogen interaction. In this way, the
 712 intermolecular C9-H9a...O1 contact gives rise to an infinite chain along
 713 the [103] direction, where the packed molecules are related by 2_1 screw
 714 axis symmetry, in a zigzag manner, and is responsible for the contraction
 715 of the angles N1-C9-C10 ($109.8(1)^\circ$) and O1-C1-O3 ($113.2(1)^\circ$), which
 716 are closer than MOGUL means, $112(3)^\circ$ and $115(2)^\circ$, respectively. The
 717 intermolecular non-classical hydrogen bonds, together with the
 718 intramolecular classical one, are illustrated in Figure S2, an ORTEP view
 719 (1), highlighting the non-covalent connections that play an essential role
 720 for the crystalline packing of **2c**. Their detailed geometry is given in Table

721 S2. As a result of O1-C1-O3 angle tightening, the O1-C1-C2 corner
 722 (129.1(1)°) is more expanded than expected, since MOGUL has
 723 averaged a value 126(4)° on 259 entries with structure similar to **2c**. The
 724 weakened C8-H8c...O3 hydrogen contact also contributes to stabilize
 725 the supramolecular assembly in the same chain (Table S2, Figure S2).
 726 Along the [100] direction, the molecules are stacked parallel via the C10-
 727 H10a...O2 interaction which interferes in the geometry of the involved
 728 atoms, whereas the valence angles C9-C10-C11 (111.9(1)°) and O2-C3-
 729 C4 (119.4(1)°) were contracted due to the pull of the hydrogen donor and
 730 acceptor groups, the methylene C10-H10a and the carbonyl C3-O2,
 731 respectively, towards each other to suitably orientate the hydrogen bond.
 732 The MOGUL mean values for angles structurally related to C9-C10-C11
 733 and O2-C3-C4 were 114(7)° (based on 245 hits) and 122(2)° (based on
 734 401 hits), respectively, allow us to state that changes occurred in both
 735 angles.

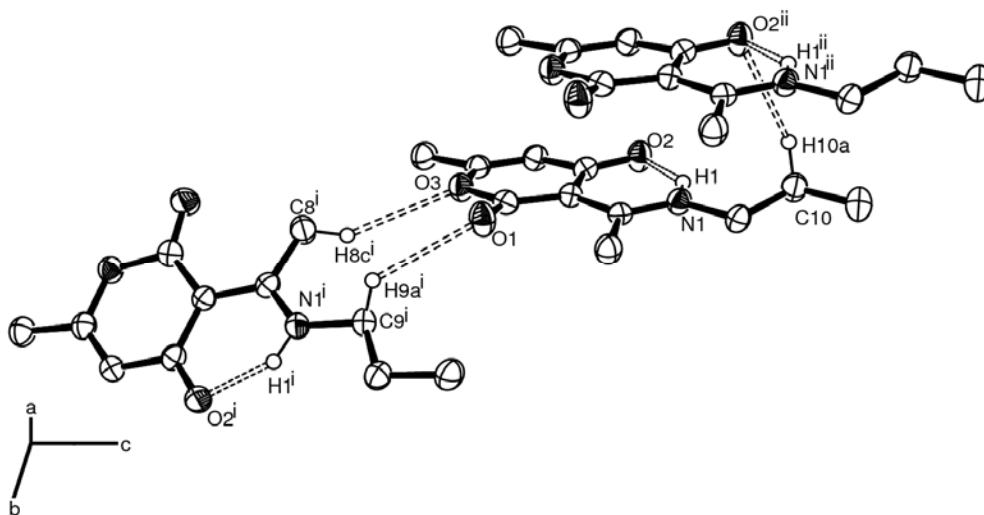
736

737 **Table S2.** Hydrogen-bonding geometry (Å, °) for **2c**. The symbols
 738 'D' and 'A' mean hydrogen donor and acceptor, respectively.

D - H...A	D - H	H...A	D...A	D - H...A
N1-H1...O2	0.92(2)	1.77(2)	2.566(2)	143(2)
C8-H8c...O3 ^{a)}	0.96	2.68	3.512(2)	145
C9-H9a...O1 ^{a)}	0.97	2.64	3.283(2)	124
C10-H10a...O2 ^{b)}	0.97	2.63	3.492(2)	149

^{a)} Symmetry operator: -1+x; 1/2-y; -1/2+z. ^{b)} Symmetry operator: -1+x; y; z.

739



740

741 **Figure S2.** Hydrogen bond contact (doubly dotted lines) scheme in the
 742 **2c** crystal structure packing the molecules along the directions [103]
 743 (symmetry operator: (i) $-1+x; 1/2-y; -1/2+z$) and [100] (symmetry
 744 operator: (ii) $-1+x; y; z$). The H-atoms involved in the hydrogen bonds
 745 contacts are shown as spheres of arbitrary radii.

746 **2.7.2. References**

- 747 (1) Farrugia, L. J. *ORTEP-3* for Windows - a version of *ORTEP-III* with a
748 Graphical User Interface (GUI). *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.
- 749 (2) Bruno, I. J.; Cole, J. C.; Kessler, M.; Luo, J.; Motherwell, W. D. S.;
750 Purkis, L. H.; Smith, B. R.; Taylor, R.; Cooper, R. I.; Harris, S. R.; Orpen,
751 A. G. Retrieval of crystallographically-derived molecular geometry
752 information. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2004**, *44*, 2133-2138.
- 753 (3) Allen, F. H. The Cambridge Structural Database: a quarter of a million
754 crystal structures and rising. *Acta Crystallogr., Sect. B* **2002**, *58*, 380-
755 388.
- 756 (4) Gilli, G.; Bellucci, F.; Ferretti, V.; Bertolasi, V. Evidence for resonance-
757 assisted hydrogen bonding from crystal-structure correlations on the
758 enol form of the .beta.-diketone fragment. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*,
759 1023-1028.
- 760 (5) Gilli, P.; Bertolasi, V.; Ferretti, V.; Gilli, G. Evidence for intramolecular N-
761 H...O resonance-assisted hydrogen bonding in β -enaminones and
762 related heterodienes. A combined crystal-structural, IR and NMR
763 spectroscopic, and quantum-mechanical investigation. *J. Am. Chem.*
764 *Soc.* **2000**, *122*, 10405-10417.

765 **2.8. ^1H NMR AND ^{13}C NMR SPECTRA FOR SELECTED COMPOUNDS**

766

767

768

769

770

771

772

773

774

775

776

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

789

790

791

792

793

794

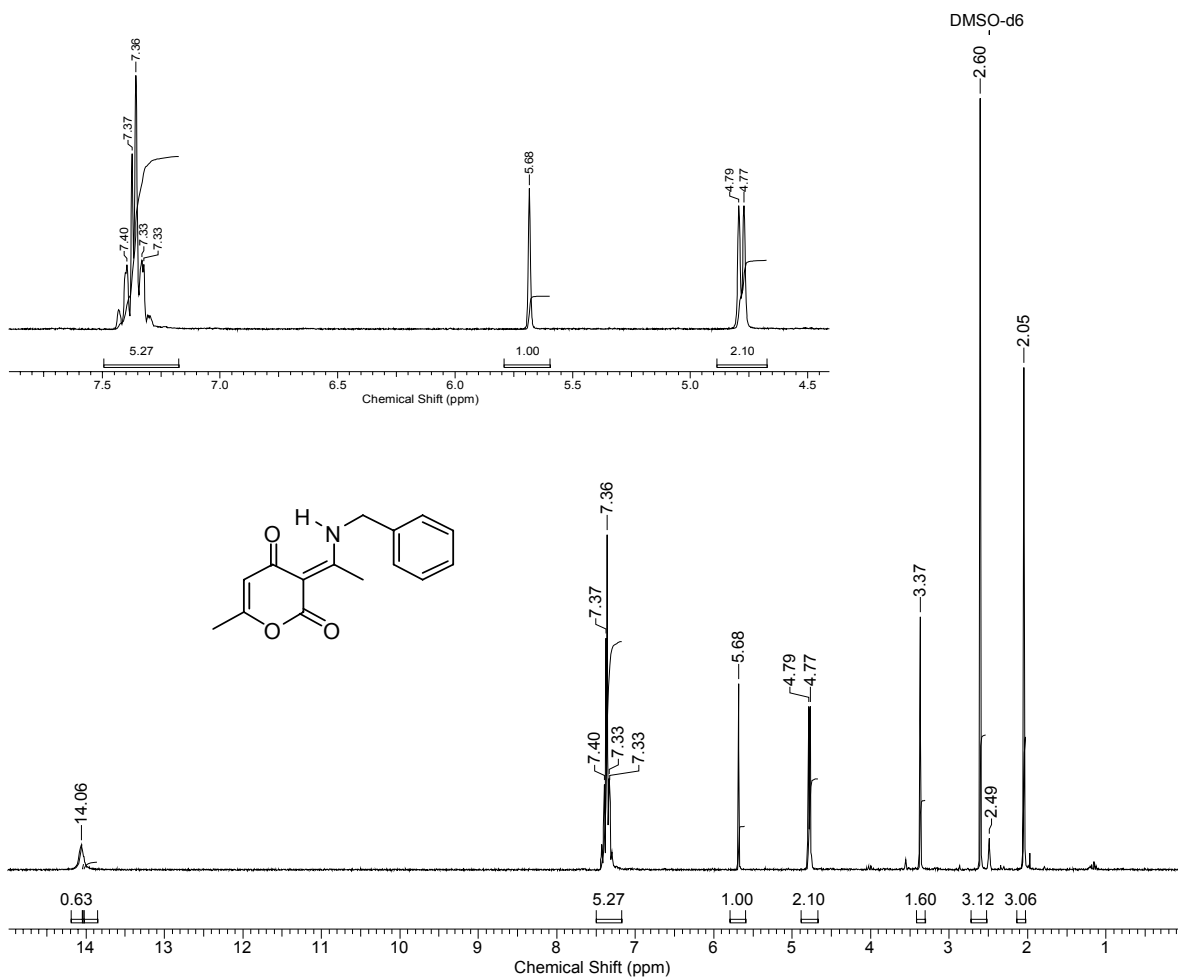
795

796

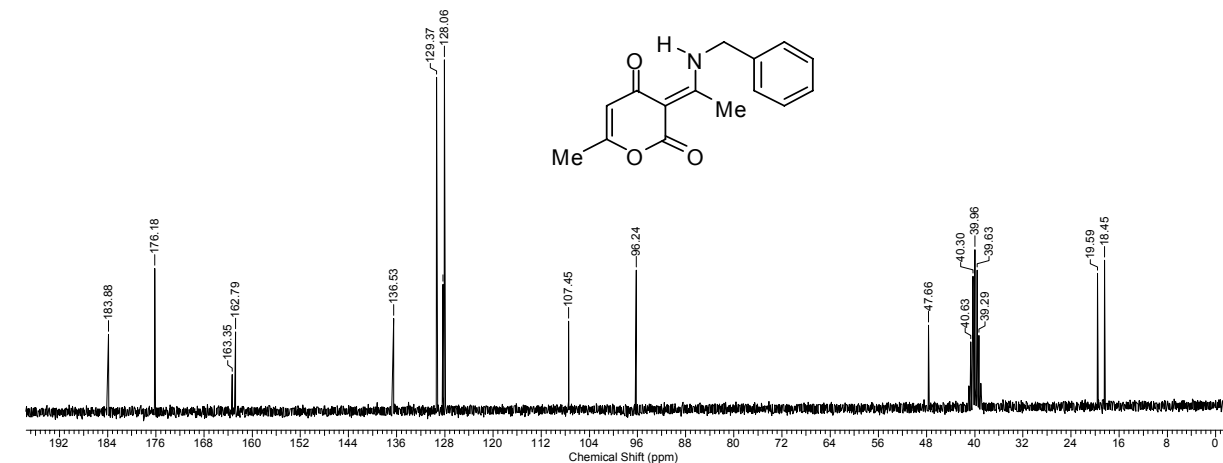
797

798

799



^1H NMR (250 MHz, DMSO-d₆) of **2a**.



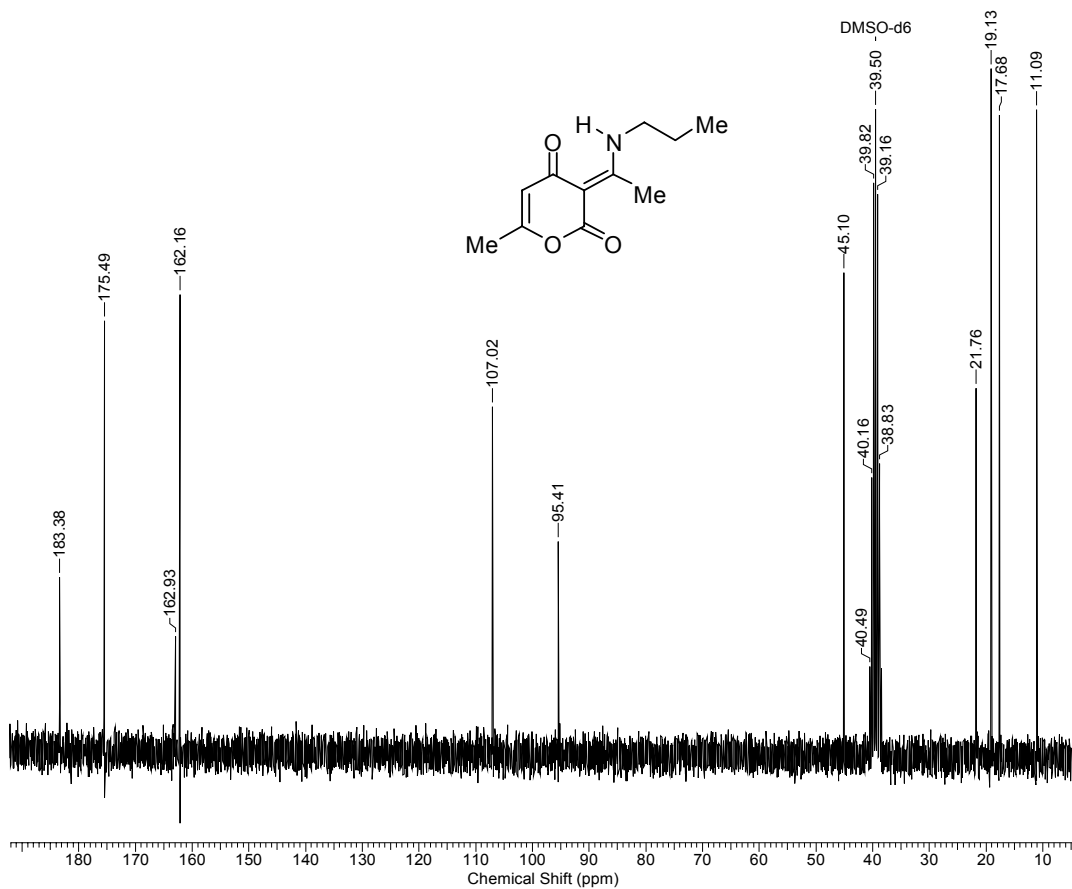
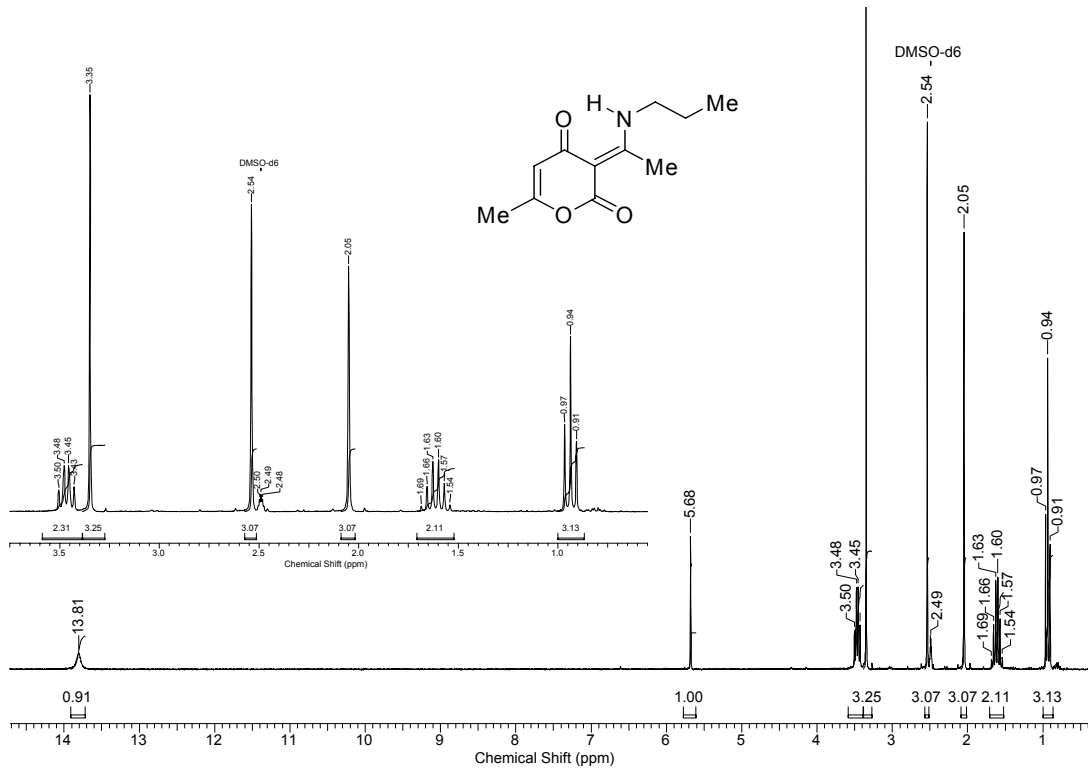
800

801

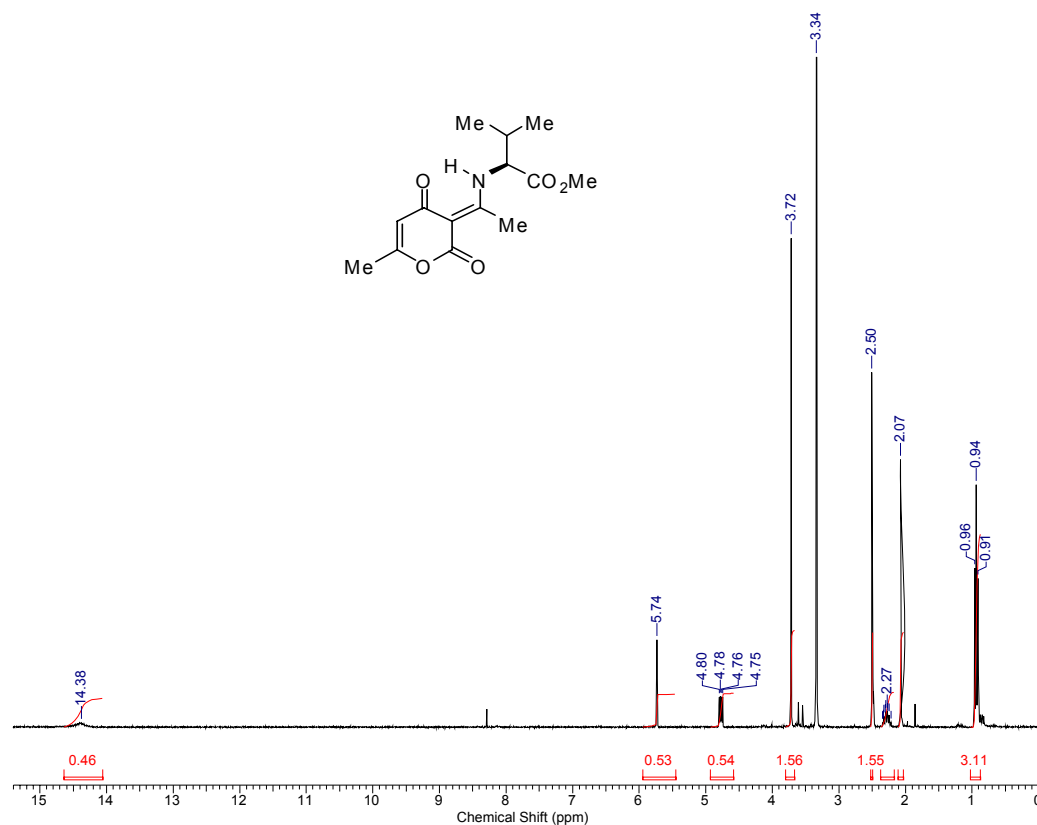
802

^{13}C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆) of **2a**.

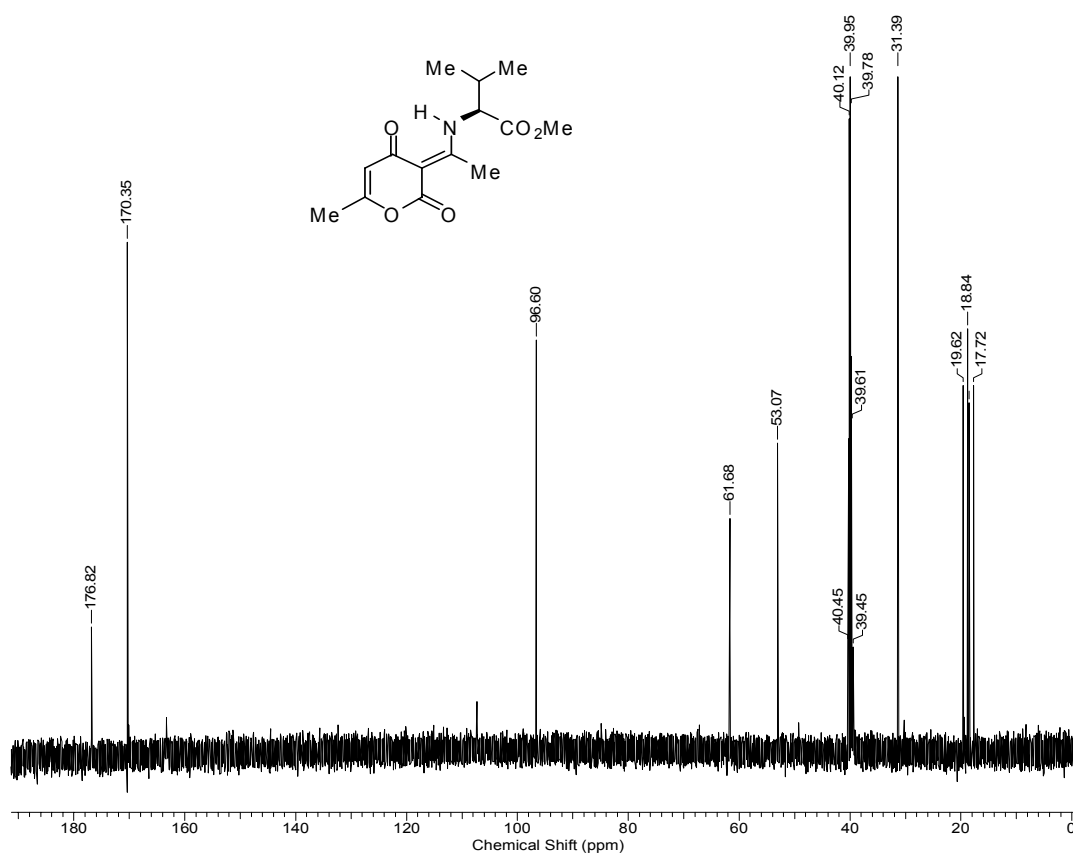
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853



854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903



¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆) of **4c**.



¹³C NMR (62.5 MHz, DMSO-d₆) of **4c**.

Síntese e atividade fitotóxica de compostos aromáticos derivados de 3,5-dioxoexanoato de metila¹

¹ Os estudos deste Capítulo são resultados de uma das tentativas de obtenção da 4-hidroxi-6-metil-piridin-2-ona. Na rota sintética proposta inicialmente, este intermediário-chave na síntese dos bis(piridil)metanos deveria ter sido obtido utilizando-se como materiais de partida a pentan-2,4-diona e o cloroformato de metila. Baseado na metodologia descrita por Barrett & Carr (1986), foi proposta a produção do 3,5-dioxoexanoato de metila, que, posteriormente, reagiria com amônia levando ao produto desejado.

3.1 INTRODUÇÃO

A maioria dos compostos fenólicos é tóxica aos microorganismos, e a ação fungicida e bactericida desses compostos é conhecida há muito tempo. O 2-metil-4,6-dinitrofenol (DNOC), Figura 3.1, inicialmente (1892) utilizado como inseticida (CREMLYN, 1991), também possui atividade fungicida, microbiocida e herbicida (PEREIRA *et al.*, 2007). Em 1933, foi utilizado na França como herbicida de contato (não se transloca na planta) (CREMLYN, 1991).

Embora o 2-metil-4,6-dinitrofenol seja tóxico para mamíferos (inibe a síntese de ATP), quando em contato com a planta ou o solo sofre degradação em metabólitos não tóxicos, não se acumulando na cadeia alimentar. Este composto representou a primeira grande descoberta no campo dos herbicidas seletivos para controle de plantas daninhas em cereais (CREMLYN, 1991).

A maioria dos compostos fenólicos possui elevada atividade fitotóxica, o que não permite seu uso como fungicida agrícola. Porém, são largamente utilizados como fungicidas nas indústrias. Os fenóis clorados como o pentaclorofenol e seus ésteres são utilizados como biocidas nas indústrias para a proteção de materiais, como madeira e tecidos. Os herbicidas seletivos cianofenóis conhecidos como bromoxinil (3,5-dibromo-4-cianofenol) e ioxinil (3,5-diiodo-4-cianofenol) foram introduzidos em 1963 para o controle de plantas daninhas em cereais. Geralmente, são utilizados em misturas com outros herbicidas, como o MCPA (CREMLYN, 1991; CUPPLES *et al.*, 2005).

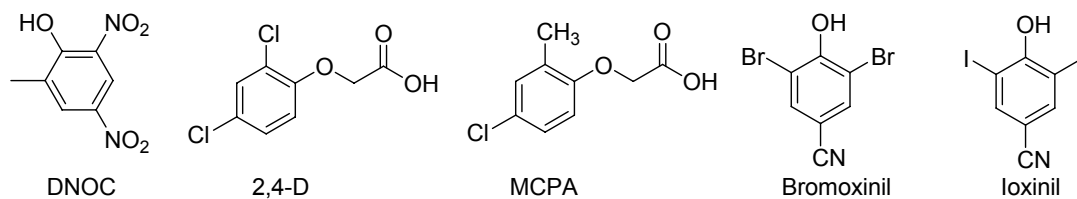


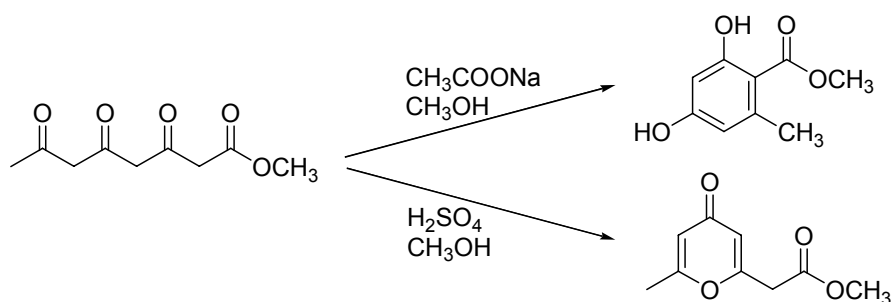
Figura 3.1. Estrutura química dos herbicidas seletivos 2-metil-4,6-dinitrofenol (DNOC), ácido 2,4-diclorofenoxiácético (2,4-D), ácido 4-cloro-2-metilfenoxiácético (MCPA), 3,5-dibromo-4-cianofenol (Bromoxinil) e 3,5-diiodo-4-cianofenol (Ioxinil).

Derivados de 1,3,5-tricarbonílicos e seus homólogos superiores ocorrem em compostos naturais (policetídeos) com importantes propriedades farmacológicas. Representam uma classe importante de materiais de partida para a síntese de polióis (RAHN *et al.*, 2007). A condensação de compostos poli- β -carbonílicos é uma das principais rotas de biossíntese de compostos aromáticos naturais. Segundo Chan e Stössel (1986), a formação de derivados benzenoides a partir de cadeias policetídeas foi reconhecida por Coliie em 1893.

Os compostos 1,3-dicarbonílicos representam unidades versáteis de construção dos policetídeos. A reação entre compostos do tipo 1,3-dicarbonílico com nitrilas e ésteres constitui uma das estratégias utilizadas na síntese de piran-2-onas. Entretanto, a reação de compostos 1,3-dicarbonílico com cloretos de ácidos leva a misturas complexas (RAHN *et al.*, 2007).

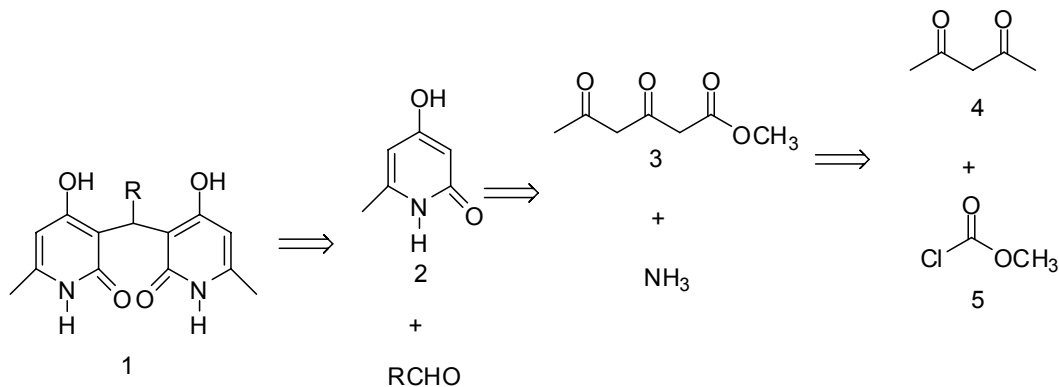
Sistemas poli- β -carbonílicos têm se tornado intermediários versáteis para a síntese tanto de compostos aromáticos quanto de heterocíclicos, tais como polifenóis e pironas. Reações utilizando o mesmo material de partida podem levar a diferentes produtos. O Esquema 3.1 mostra os dois produtos, 2,4-diidroxi-6-metilbenzoato de metila e 2-(6-metil-4-oxo-4H-piran-2-

il)acetato de metila, obtidos com 50% de rendimento a partir do 3,5,7-trioxooctanoato de metila (BARRETT *et al.*, 1986).



Esquema 3.1. Síntese do 2,4-diidroxi-6-metilbenzoato de metila e 2-(6-metil-4-oxo-piran-2-il)acetato de metila, a partir do mesmo policetídeo.

Considerando a versatilidade sintética dos policetídeos, vislumbrou-se a utilização de um policetídeo para a produção de compostos bis(piridil)metanos (**1**), cuja primeira proposta sintética se baseou na rota retrossintética representada no Esquema 3.2.



Esquema 3.2. Análise retrossintética para a síntese dos bis(piridil)metanos, segundo a rota sintética 1.

O composto 4-hidroxi-6-metil-piridin-2-ona (**2**), intermediário-chave nesta rota, seria produzido pela reação do 3,5-dioxohexanoato de metila (**3**) com amônia. Baseado na metodologia descrita por Barret *et al.* (1986), o 3,5-dioxohexanoato de metila (**3**) seria obtido pela reação entre a pentan-2,4-diona (**4**) e o cloroformato de metila (**5**).

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1. Técnicas experimentais

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) analítica, foram preparadas placas de sílica (sílica-gel 60G - F254 com indicador de fluorescência) com 0,25 mm de espessura, por meio de uma mistura na proporção de 1:2 de sílica/água destilada.

Após a eluição, as placas de CCD foram observadas em uma câmara contendo luz ultravioleta ($\lambda = 254$ e 365 nm) e reveladas com solução aquosa de permanganato de potássio (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 e 5 mL de NaOH 5% em 300 mL de água).

Para as purificações por cromatografia em coluna, utilizou-se sílica-gel 60 (70-230 mesh e 230-400 mesh) como fase estacionária. Os solventes, empregados como eluentes foram previamente destilados. A sílica foi recuperada para posterior reutilização, de acordo com procedimento descrito por Teixeira *et al.* (2003).

As temperaturas de fusão, não corrigidas, foram determinadas em um aparelho MQAPF-301.

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos no Departamento de Química da UFV, em um espectrômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000. As amostras foram dissolvidas em diclorometano e aplicadas sobre a placa de KBr.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e de carbono (RMN de ^{13}C) foram obtidos em espectrômetro VARIAN MERCURY 300 MHz, do Departamento de Química da UFV. Utilizou-se

como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A, do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (Lasa), do Departamento de Química da UFV. As análises foram realizadas via inserção direta no espectrômetro de massas, utilizando-se as seguintes condições: temperatura do detector 250 °C, variação de temperatura 40 °C/min até 60 °C e 80 °C/min até 300 °C.

Foram utilizados solventes anidros destilados, conforme descrito a seguir, e reagentes de grau P. A. adquiridos comercialmente.

Purificação do tetraidrofurano (THF): Em um balão de 50 mL, foram adicionados 300 mL de THF e 12,0 g de hidreto de cálcio, submetendo-se a mistura ao refluxo por 24 h. Em seguida, destilou-se o THF, transferindo-o para outro balão de 500 mL, contendo sódio metálico. A mistura foi novamente aquecida e mantida sob refluxo por 1 h. Decorrido esse período, adicionou-se benzofenona, deixando o sistema sob refluxo até que a mistura reagente adquirisse a coloração azul. Posteriormente, destilou-se o THF anidro, armazenando-o sobre peneira molecular 4 Å em um recipiente que foi devidamente vedado (PERRIN e ARMAREGO, 1994).

Purificação de diisopropilamina: Em um balão de 500 mL, foram adicionados 300 mL de diisopropilamina, que foi mantida sob refluxo na presença de CaH_2 por 6h. Após este período, a diisopropilamina foi destilada e armazenada sobre peneira molecular 4 Å em um recipiente devidamente vedado (PERRIN e ARMAREGO, 1994).

Titulação do n-butillítio (n-BuLi): a um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 5 mL de THF anidro e 0,5 mmol de 1,3-difenilcetona *p*-tosilidrazona. A mistura foi agitada até a completa dissolução da 1,3-difenilcetona *p*-tosilidrazona e resfriada a 0 °C. Com o auxílio de uma seringa, 1 mL de *n*-BuLi em solução de hexano foi coletado da embalagem comercial e adicionado lentamente à solução previamente preparada. O ponto final da titulação foi determinado pelo surgimento de uma coloração alaranjada persistente, momento em que foi interrompida a adição de *n*-BuLi. Sua concentração média, de três repetições, foi calculada com base no volume da solução adicionada (LIPTON *et al.*, 1960).

3.2.2. Procedimento sintético

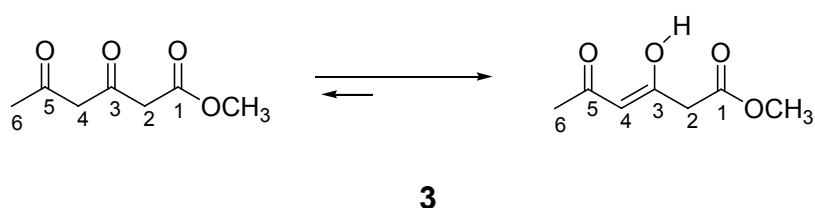
O procedimento descrito a seguir foi baseado no trabalho publicado por Barret *et al.* (1986).

Em um balão bitubulado de fundo redondo (125 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, adicionaram-se 20 mL de THF anidro e 3,1 mL (22 mmol) de diisopropilamina. Em seguida, a solução foi resfriada a -78 °C e foram adicionados 21,2 mL (20 mmol) de *n*-butillítio. A temperatura da mistura reagente atingiu 0 °C e foi mantida por 45 min, quando foi resfriada -78 °C e adicionado 1,0 mL (10 mmol) de pentan-2,4-diona. A temperatura da solução atingiu 0 °C e mantida por 1 h. Novamente, resfriada a -78 °C, foi adicionado 0,4 mL (5 mmol) de cloroformato de metila, e a temperatura mantida por mais 1 h. Após este período foram adicionados 2,5 mL de ácido acético. Quando a temperatura da reação atingiu a temperatura ambiente, foram adicionados 5 mL de água destilada. A mistura foi

submetida à extração com éter dietílico (3 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro e o solvente removido sob pressão reduzida, resultando em um óleo de coloração amarelada. Esse material foi fracionado em coluna de sílica-gel, empregando-se hexano-éter dietílico 7:3 v/v.

Esse procedimento resultou na formação dos compostos 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**), 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**), 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**7**) e 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**8**).

3,5-dioxoexanoato de metila (**3**)



Característica: líquido incolor

Rendimento: 58,0% (458 mg; 2,9 mmol)

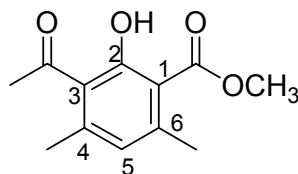
IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3398, 3003, 2956, 2874, 1744, 1620, 1613, 1437, 1331, 1261, 1154, 1017, 927, 778.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ CHCl₃ 7,27): δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): 2,07 (s, 3H, H-6); 3,34 (s, 2H, H-2); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 5,60 (s, 1H, H-4); 15,10 (sl, 1H, OH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ CDCl₃ 77,0): δ (atribuição): 24,6 (C-6); 45,2 (C-2); 52,7 (OCH₃); 100,8 (C-4); 168,3 (C-1); 187,3 (C-3); 190,4 (C-5).

EM, m/z (%): 158 ($[M]^{+}$, $C_7H_{10}O_4$, 6), 126 ($M^{+} - CH_3OH$, 16), 85 (59), 69 (19), 43 (100).

3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (6)



6

Característica: sólido cristalino incolor

Rendimento: 2,0% (22,1 mg; 0,1 mmol)

$T_f = 70,6 - 71,5$ °C.

IV (filme cristalino obtido por evaporação do solvente

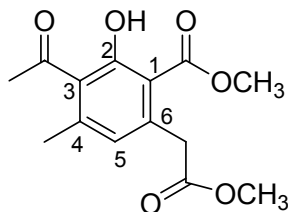
diclorometano, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$: 3022, 2988, 2974, 2968, 2932, 1687, 1656, 1551, 1448, 1432, 1390, 1355, 1295, 1268, 1203, 1074, 1033, 953, 806, 784, 615, 575.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$, δ $CHCl_3$ 7,27): δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,23 (d, 3H, $J = 0,6$ Hz, 4- CH_3); 2,47 (d, 3H, $J = 0,6$ Hz, 6- CH_3); 2,53 (s, 3H, CO- CH_3); 3,95 (s, 3H, O CH_3); 6,57 (m, 1H, H-5); 11,85 (s, 1H, OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, δ $CDCl_3$ 77,0): δ (atribuição): 20,2 (4- CH_3); 24,0 (6- CH_3); 32,3 (CO- CH_3); 52,5 (O CH_3); 110,8 (C-1); 125,6 (C-5); 128,2 (C-3); 142,1 (C-4); 142,6 (C-6); 160,5 (C-2); 172,1 (COO CH_3); 204,6 (CO CH_3).

EM, m/z (%): 222 ($[M]^{+}$, $C_{12}H_{14}O_4$, 16), 190 ($M^{+} - CH_3OH$, 25), 175 (75), 162 (100); 91 (29), 77 (12), 65 (31), 43 (32).

3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (7)



7

Característica: sólido cristalino incolor

Rendimento: 12,4% (86,8 mg; 0,31 mmol)

$T_f = 84,9 - 85,7$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$: IV (filme cristalino obtido por evaporação do solvente diclorometano, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$: 3018, 2960, 2874, 2842, 1727, 1687, 1659, 1613, 1549, 1453, 1432, 1363, 1347, 1265, 1197, 1172, 1106, 1073, 1005, 958, 812, 617, 589.

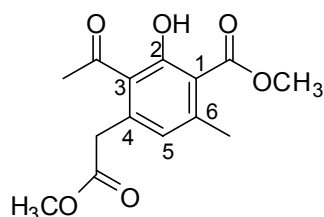
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$, δ $CHCl_3$ 7,27): δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,50 (d, 3H, $J = 0,6$ Hz, 4- CH_3); 2,57 (s, 3H, CO- CH_3); 3,66 (s, 3H, CH_2COOCH_3); 3,67 (s, 2H, CH_2COOCH_3); 3,95 (s, 3H, OCH_3); 6,59 (m, 1H, H-5); 11,92 (s, 1H, OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, δ $CDCl_3$ 77,0): δ (atribuição): δ 24,3 (4- CH_3); 32,1 ($COCH_3$); 38,9 (CH_2COOCH_3); 52,3 ($COOCH_3$); 52,7

(CH₂COOCH₃); 112,0 (C-1); 126,1 (C-5); 128,3 (C-3); 138,4 (C-4); 143,6 (C-6); 161,2 (C-2); 171,3 (CH₂COOCH₃); 172,2 (COOCH₃); 204,1 (COCH₃).

EM, m/z (%): 280 ([M]⁺, C₁₄H₁₆O₆, 23), 248 (M⁺ - CH₃OH, 26), 233 (22), 220 (100), 217 (24), 201 (67), 188 (40), 160 (28), 161 (27), 91 (10), 89 (12), 77 (15), 65 (12), 51 (13).

3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (8)



8

Característica: sólido cristalino incolor

Rendimento: 13,6% (95,2 mg; 0,34 mmol)

T_f = 80,4 - 81,3 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: IV (filme cristalino obtido por evaporação do solvente diclorometano, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3458, 3362, 3013, 2959, 2847, 1739, 1693, 1663, 1615, 1557, 1451, 1437, 1393, 1360, 1265, 1205, 1173, 1107, 1071, 1037, 959, 898, 843, 810, 801, 752, 567.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ CHCl₃ 7,27): δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,24 (d, 3H, J = 0,6 Hz, 6-CH₃); 2,53 (s, 3H, CO-CH₃); 3,68 (s, 3H, CH₂COOCH₃); 3,83 (s, 2H, CH₂); 3,88 (s, 3H, OCH₃); 6,58 (m, 1H, H-5); 11,92 (s, 1H, OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ CDCl_3 77,0): δ (atribuição): 19,9 (6- CH_3); 32,1 (COCH_3); 42,6 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 52,2 (COOCH_3); 52,4 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 110,4 (C-1); 126,6 (C-5); 130,3 (C-3); 137,3 (C-6); 142,4 (C-4); 160,4 (C-2); 171,1 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 171,9 (COOCH_3); 204,2 (COCH_3).

EM, m/z (%): 280 ($[\text{M}]^{+}$, $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6$, 28), 248 ($\text{M}^{+} - \text{CH}_3\text{OH}$, 38), 233 (29), 220 (71), 217 (23), 205 (81), 201 (100), 188 (77), 162 (15), 145 (16), 91 (14), 89 (15), 77 (19), 65 (15), 51 (16).

3.2.3. Ensaios biológicos

3.2.3.1. Avaliação da atividade fitotóxica dos compostos (6), (7) e (8) sobre a germinação e o desenvolvimento radicular de pepino (*Cucumis sativus*) e de sorgo (*Sorghum bicolor*)

Foram realizados ensaios biológicos preliminares no Laboratório de Sementes do Departamento de Engenharia Florestal da UFV para avaliar a atividade fitotóxica dos compostos (6), (7) e (8) sobre a germinação e o crescimento radicular das sementes de pepino (*Cucumis sativus*) e de sorgo (*Sorghum bicolor*), nas concentrações de 1×10^{-3} e 1×10^{-4} mol L^{-1} .

A solução utilizada no ensaio biológico foi preparada em tubo de ensaio pela dissolução da amostra em 24 μL de pentan-3-ona, 48 μL de xileno, 72 μL de monoleato de polietileno glicol (Tween 80) e 4 mL de água destilada. Em seguida, agitou-se vigorosamente a mistura por 1 min. O conteúdo desse tubo de ensaio foi transferido para um balão de 50 mL,

lavando-se o tubo com 10 mL de água destilada. O volume do balão foi completado com água destilada.

Cada tratamento foi composto por cinco placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 20 sementes de pepino (*Cucumis sativus*) ou sorgo (*Sorghum bicolor*), mantidas sobre papel de filtro embebido com 4,0 mL de solução de um dos compostos sintetizados. No controle, as sementes foram tratadas com 4,0 mL da solução contendo todos os componentes (pentan-3-ona, xileno e Tween 80), exceto os produtos sintetizados. As placas de Petri foram fechadas, vedadas com fita de papel adesiva e levadas à câmara de germinação a 25 °C ± 0,5 °C, onde permaneceram por 72 h (DIAS *et al.*, 2009). Após esse período, avaliou-se a percentagem de germinação e mediu-se o crescimento radicular das plântulas. Foram calculadas as médias do crescimento radicular e a percentagem de inibição do crescimento das raízes em relação ao tratamento controle.

3.2.3.2. Avaliação da atividade fitotóxica do composto (6) sobre a produção de biomassa de corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) e de braquiária (*Brachiaria decumbens*)

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sendo cada tratamento composto por quatro vasos de plástico (125 mL de volume), contendo 165 g de areia lavada (tratada com ácido clorídrico seguido por hidróxido de sódio e água em abundância) embebida com 22 mL de solução a $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Em cada vaso, foram plantadas cinco sementes de corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) ou braquiária (*Brachiaria decumbens*). Como as sementes de ambas as espécies apresentaram dormência antes do

plântio, foi necessário fazer um pequeno sulco (com navalha) no tegumento das sementes de corda-de-viola, enquanto as sementes de braquiária foram imersas por 6 min em ácido sulfúrico concentrado, e, em seguida, lavadas com água em abundância. No tratamento controle, as sementes foram plantadas em areia embebida com a solução contendo apenas os componentes pentan-3-ona, xileno e Tween 80. As plantas foram cultivadas por 21 dias e coletadas conforme descrito no Capítulo 2 (DIAS *et al.*, 2009). O herbicida comercial Diuron foi utilizado como controle positivo neste ensaio.

3.2.3.3. Avaliação da atividade do composto (6) sobre o transporte de elétrons (Reação de Hill)

O composto (6) foi enviado para o Professor Blaz Lotina, Universidade Nacional Autônoma do México, que o submeteu a ensaios biológicos de inibição de transporte de elétrons da fotossíntese pela Reação de Hill.

Os cloroplastos fotossinteticamente ativos foram isolados de folhas de espinafre (*Spinacea oleracea* L.). Ao material vegetal, sem a nervura central e extremidades apical e basal e sob banho de gelo, foi acrescentado tampão de N-tris(hidroximetil)metilglicina (tricina)-NaOH 20 mmol L⁻¹ (pH 8,0; 5 mL de solução/g de material vegetal), contendo 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂ e 0,4 mol L⁻¹ de sacarose.

A mistura foi homogeneizada por 30 s em um liquidificador e submetida à filtração através de uma gaze cirúrgica. O filtrado foi centrifugado a 4 °C por 1 min a 500 g. O sobrenadante foi posteriormente centrifugado por 10 min a 1500 g. Os cloroplastos foram ressuspensos em

tampão desprovido de sacarose, e a suspensão imediatamente diluída na proporção 1:1 (v/v) em tampão contendo sacarose. A mistura obtida foi mantida em banho de gelo ao abrigo da luz e usada logo após sua preparação. Após diluição adequada com acetona 80% v/v, a absorvância de cada amostra foi determinada a 645 e 663 nm, e a quantidade de clorofila calculada pela fórmula de Arnon (HALL, 1980).

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

A taxa de transporte de elétrons na fotossíntese foi medida pela redução do ferricianeto exposto à luz. Para tal, foram utilizadas alíquotas da suspensão de cloroplastos contendo 20 μg de clorofila. As alíquotas foram incubadas a 24 °C em cubetas de 1 mL contendo tampão de tricina-NaOH 20 mmol L⁻¹ (pH 8,0), 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂, 0,2 mol L⁻¹ de sacarose e 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]. Posteriormente, foram expostas à luz saturada (800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e a taxa de redução de ferricianeto foi medida a 420 nm em intervalos de 30 s durante 10 min e comparada com o controle. A atividade foi calculada sobre a porção linear da curva, a partir de coeficiente de extinção molar de 1000 M⁻¹cm⁻¹. Sob as condições adotadas, o valor para controle não tratado foi 65,8 ± 2,0 nmol de ferricianeto reduzido s⁻¹ (mg de clorofila)⁻¹.

Para cada composto, foi preparada uma solução estoque a 50 mmol L⁻¹ em DMSO, posteriormente diluída com água. A partir dessas soluções estoques, foram preparadas soluções nas concentrações de 5, 10, 20, 50, 100 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Síntese dos derivados policetídeos (3), (6), (7) e (8)

A reação da pentan-2,4-diona com diisopropilamido de lítio produz um diânion, que reage com o clorofornato de metila. A mistura obtida foi purificada por cromatografia em coluna, obtendo-se o composto de interesse, 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**), como principal produto da reação com rendimento de 58,0%. Três compostos aromáticos com anel pentassubstituído (Esquema 3.3) foram obtidos como subprodutos desta reação, sendo isolados por recristalização em hexano, a partir de frações da coluna: 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**), 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**) e 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**), com rendimentos de 2,0%, 12,4% e 13,6%, respectivamente.

O espectro no IV do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**), Figura 3.2, apresentou uma banda fraca e larga em 3398 cm^{-1} , típica de OH em ligação de hidrogênio intramolecular, assim como uma banda de absorção intensa e alargada em 1744 cm^{-1} , referente ao estiramento dos grupos carbonilas. A análise do espectro no IV desse composto mostrou também bandas em 1613 e 1620 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação C=C, bem como uma banda intensa em 1261 cm^{-1} referente à deformação de C-O de éster.

A estrutura do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**) foi confirmada pelos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , mostrados nas Figuras 3.3 e 3.4, respectivamente.

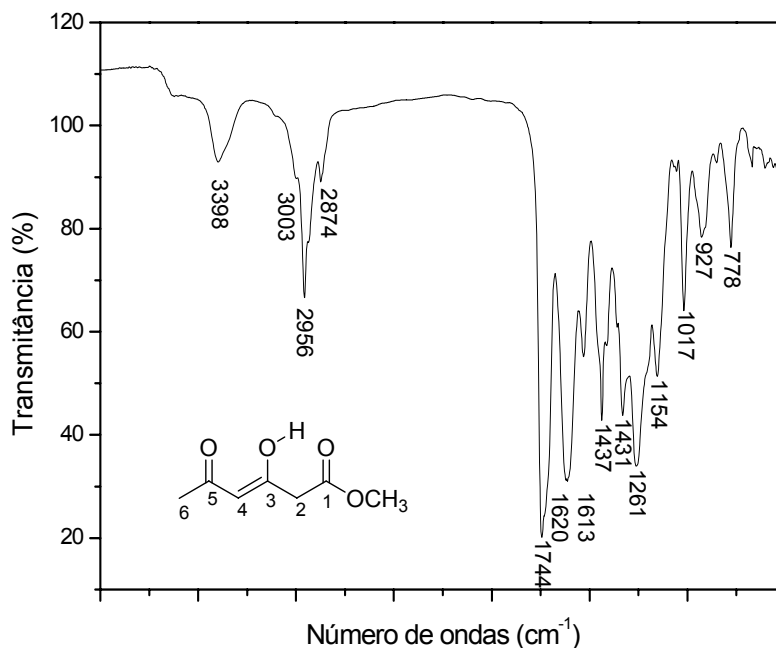


Figura 3.2. Espectro no infravermelho (filme líquido sobre pastilha de KBr) do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**).

No espectro de RMN de ^1H do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**), foram observados quatro simpletos, sendo o δ_{H} 2,07 referente a um CH_3 , δ_{H} 3,74 correspondente a um OCH_3 , δ_{H} 3,34 referente a um CH_2 e o último simpleto em δ_{H} 5,60 referente a um átomo de hidrogênio ligado a carbono sp^2 , indicando que uma carbonila sofreu tautomerismo ceto-enólico.

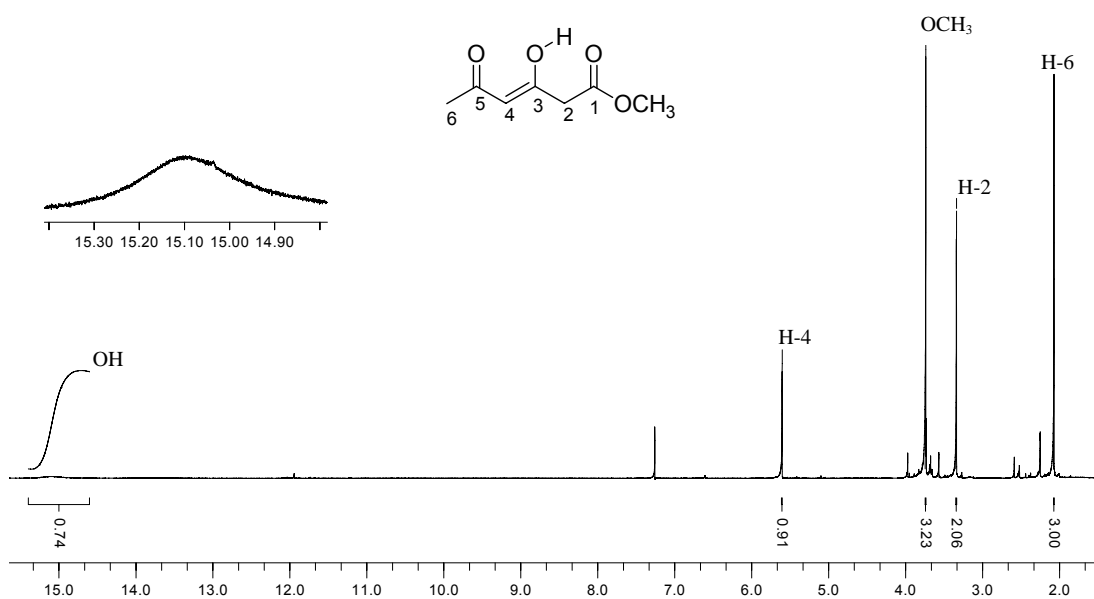
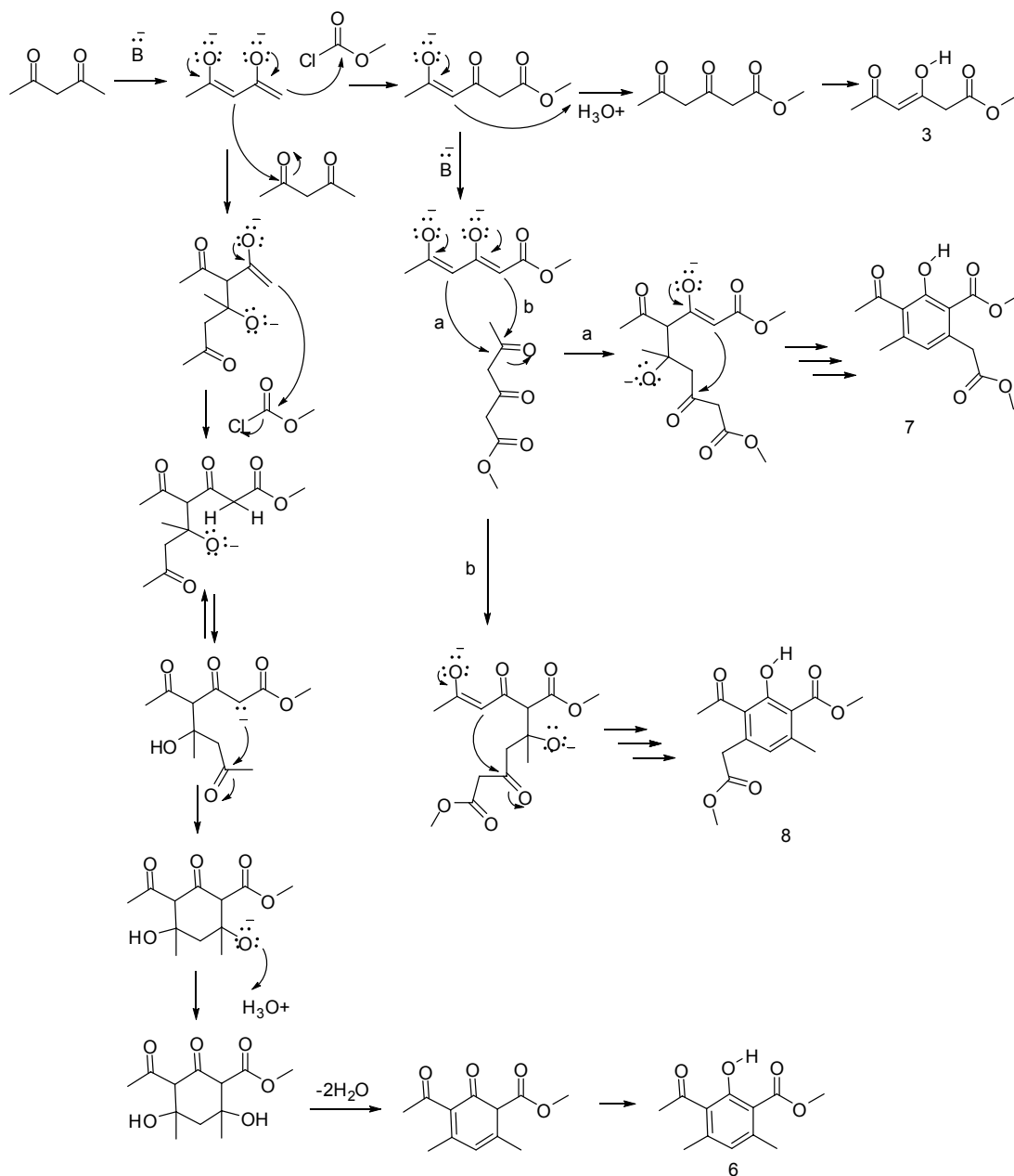


Figura 3.3. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δCHCl_3 7,27) do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**).



Esquema 3.3. Proposta de mecanismo de síntese do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**), 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**), 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**) e 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**), a partir da pentan-2,4-diona.

No espectro de RMN de ^{13}C do mesmo composto, foram observados sete sinais, devidamente atribuídos.

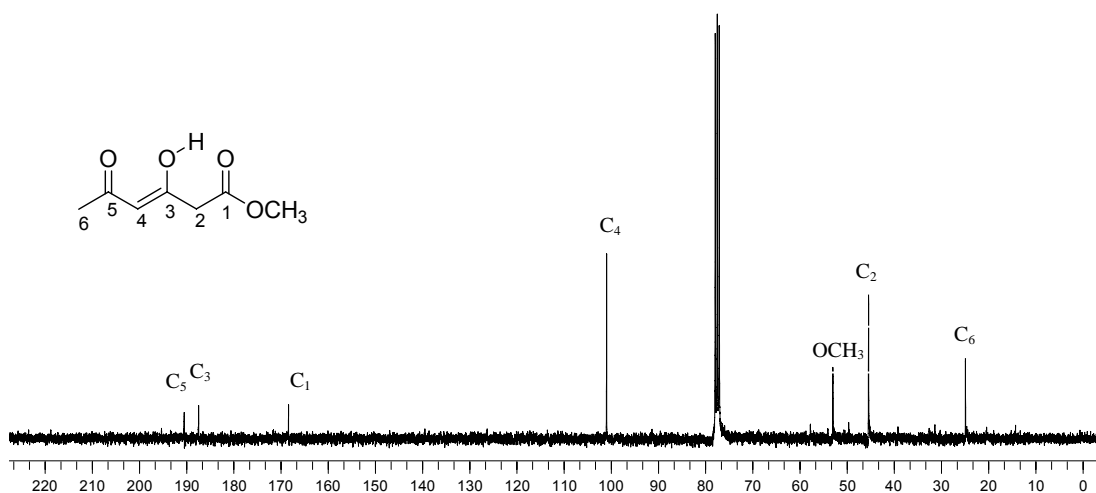


Figura 3.4. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ_{CDCl_3} 77,0) do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**).

Os sinais em δ_{C} 168,3; 187,3 e 190,4 correspondem aos carbonos carbonílicos C-1, C-3 e C-5, respectivamente. Os sinais em δ_{C} 24,6 e δ_{C} 52,7 são referentes aos átomos de carbono da metila (C-6) e da metoxila, respectivamente. O deslocamento em δ_{C} 45,2 refere-se ao átomo de carbono do grupo metileno ($-\text{CH}_2-$) e δ_{C} 100,8 corresponde ao carbono sp^2 ($=\text{CH}-$).

No espectro de massas do 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**), Figura 3.5, observou-se a presença do pico referente ao íon molecular $[\text{M}]^{++}$ em 158, coerente com a fórmula molecular $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_4$, com intensidade relativa de 6%. Também foi observado um pico de intensidade igual a 16% com m/z 126, referente à perda de metanol a partir do íon molecular. Além disso, foram observados neste espectro de massas um pico base em 43 (clivagem entre C5-C4) e um pico em 85 (clivagem entre C3-C2), com 59% de intensidade.

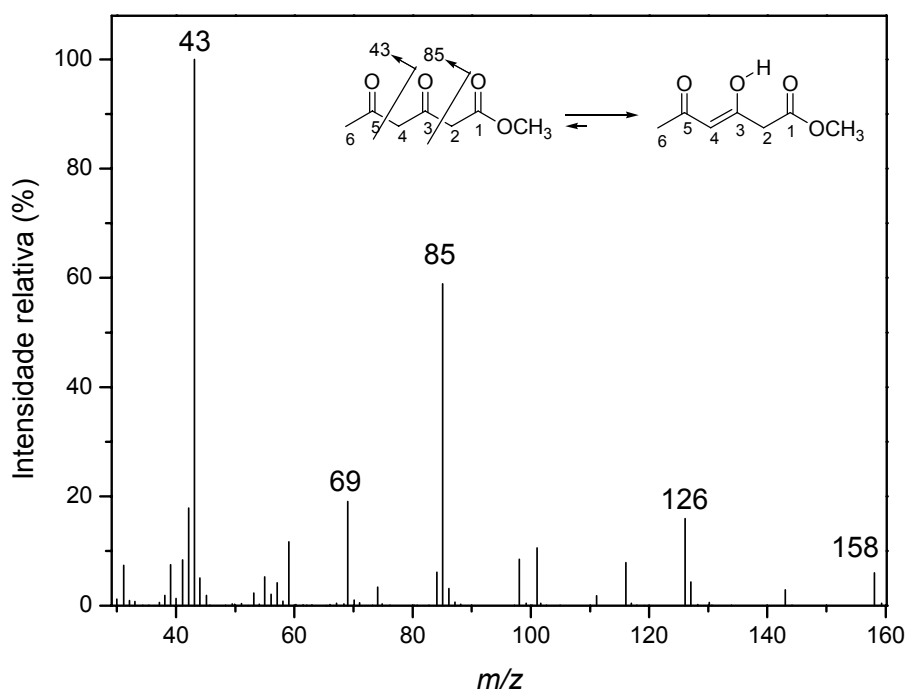


Figura 3.5. Espectro de massas 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**).

O espectro no IV do 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**) apresentou duas bandas de absorção intensas em 1687 e 1656 cm^{-1} , referentes aos estiramentos dos dois grupos carbonila (Figura 3.6). A análise do espectro no IV desse composto mostrou também bandas fracas em 3022 , 2988 e 2932 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação CH sp^2 e CH sp^3 , bem como bandas intensas em 1355 e 806 cm^{-1} , características da ligação C-O de éster e de CH aromático, respectivamente. A banda larga e intensa característica de absorção de OH do fenol não foi observada, já que a hidroxila provavelmente estava envolvida em ligação de hidrogênio intramolecular, o que reduz fortemente a intensidade da banda de absorção no IV (SILVERSTEIN, 2006).

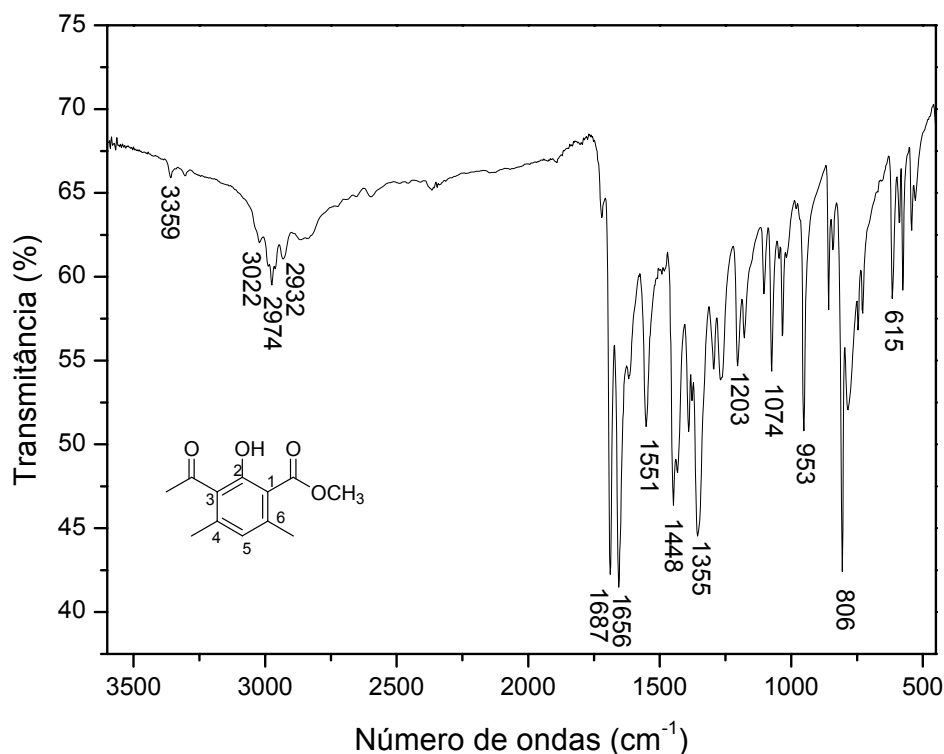


Figura 3.6. Espectro no infravermelho (filme cristalino) 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**).

A estrutura do composto 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**) foi determinada com o auxílio dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY e HETCOR, mostrados nas Figuras 3.7, 3.8, 3.9 e 3.10, respectivamente.

No espectro de RMN de ^1H do composto (**6**), foram observados dois dupletos referentes a duas metilas, cujos deslocamentos foram δ_{H} 2,23 e δ_{H} 2,47 e constantes de acoplamento benzílico com o CH aromático de 0,6 Hz. Como o CH aromático em δ_{H} 6,57 apresentou dois acoplamentos benzílicos com duas metilas, seu sinal foi desdobrado em um multipletto. Observaram-se três simpletos correspondentes a uma metila em δ_{H} 2,53, uma metoxila em δ_{H} 3,95 e um sinal de hidroxila em δ_{H} 11,85.

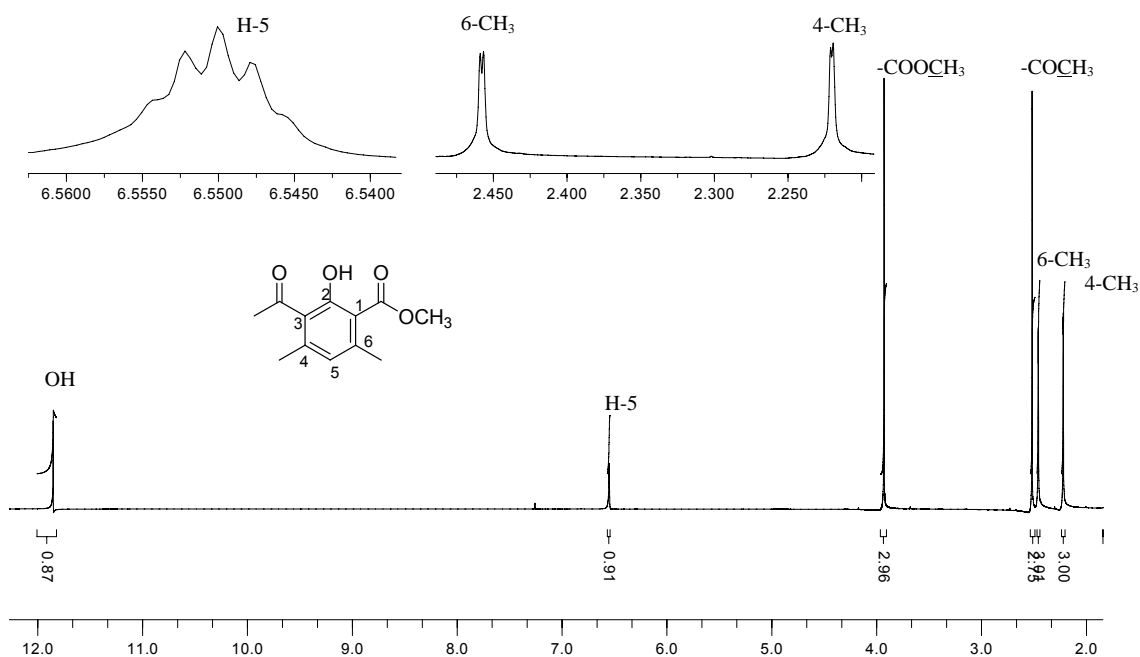


Figura 3.7. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ CHCl_3 7,27) do composto 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**).

No espectro de RMN de ^{13}C do mesmo composto, foram observados doze sinais, correspondentes a quatro CH_3 , um $=\text{CH}$, duas $\text{C}=\text{O}$ e cinco carbonos não hidrogenados, que foram devidamente atribuídos com o auxílio das técnicas bidimensionais COSY, HETCOR e HMBC, além de noe.

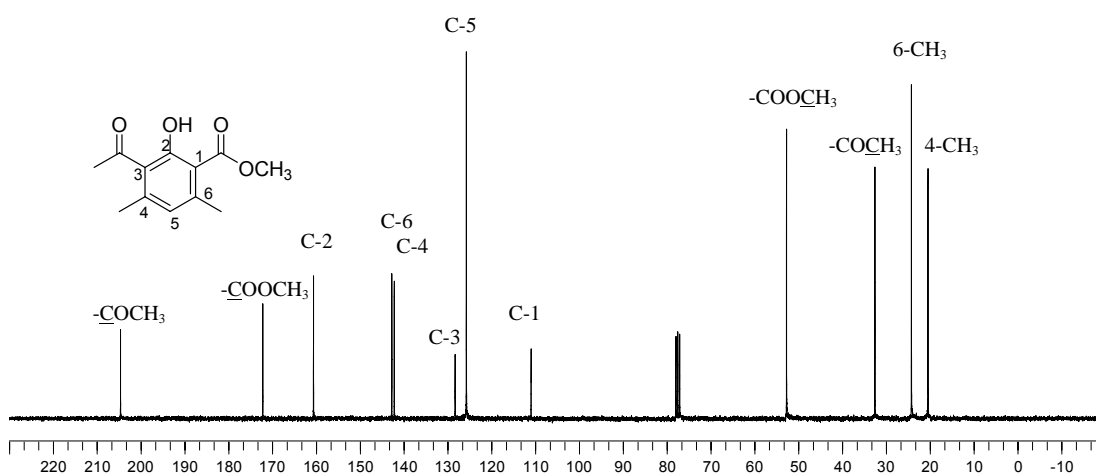


Figura 3.8. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**).

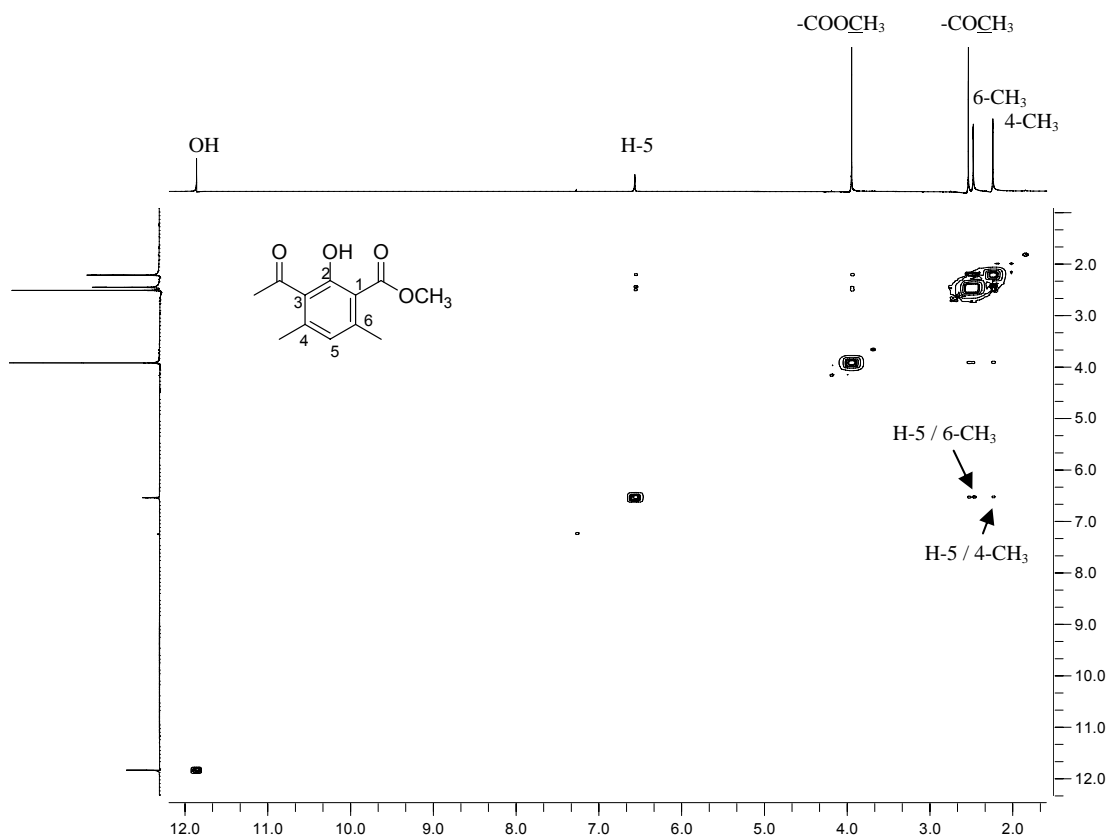


Figura 3.9. Mapa de contornos COSY do 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (6).

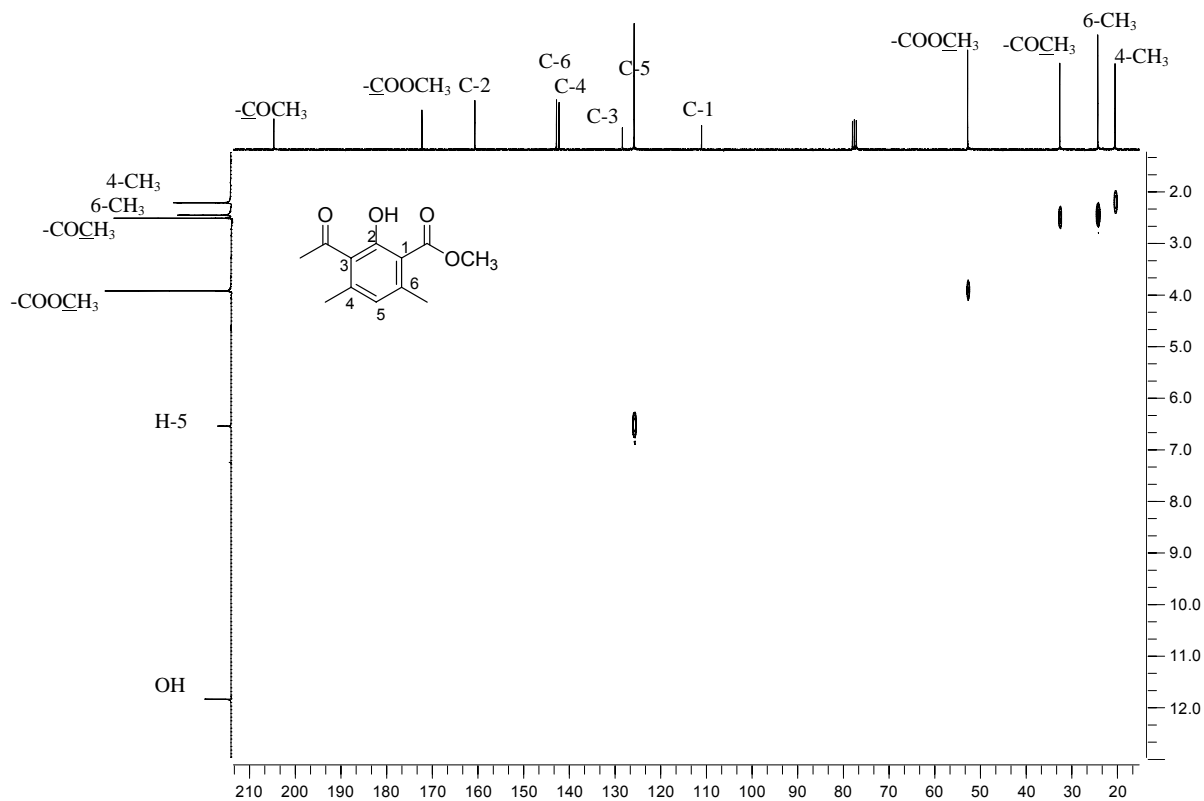


Figura 3.10. Mapa de contornos HETCOR do 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (6).

As posições das duas metilas ligadas ao anel aromático foram determinadas por noe. Ao irradiar o hidrogênio, que apresentou deslocamento em δ_H 6,57 (H-5), foram observados incrementos de noe nos hidrogênios H-x (δ_H 2,23; 5,52%) e H-y (δ_H 2,47; 6,11%) no espectro de noe. Quando o hidrogênio H-y (δ_H 2,47) foi irradiado, apenas um simpleto em δ_H 6,57 (H-5, 3,10%) foi observado. Entretanto a irradiação do hidrogênio H-x (δ_H 2,23) resultou em incrementos de noe em H-5 (δ_H 6,67; 2,73%) e também no sinal da metila do grupo acetil (δ_H 2,53; 0,95%). O hidrogênio do grupo metoxila (δ_H 3,95) também foi irradiado e, neste caso, foram observados dois incrementos de noe com valores de 0,15%. O primeiro incremento ocorreu para o hidrogênio H-y (δ_H 2,47) e o segundo para o hidrogênio da hidroxila (δ_H 11,85).

O mapa de contornos HMBC mostrou correlações entre o hidrogênio δ_H 2,23 e os carbonos 125,6 (C-5) (3J); 128,2 (C-3) (3J) e 142,1 (C-4) (2J). O hidrogênio δ_H 2,47 mostra correlações com os carbonos 110,8 (C-1) (3J); 125,6 (C-5) (3J) e 142,6 (C-6) (2J). Estes dados fornecem informações satisfatórias para a atribuição das posições dos substituintes do anel aromático e confirmam a estrutura do composto (**6**).

No espectro de massas do 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**), Figura 3.11, observou-se a presença do pico referente ao íon molecular $[M]^{+}$ em m/z 222, condizente com a fórmula molecular $C_{12}H_{14}O_4$, com intensidade relativa de 16%. Um pico de intensidade igual a 25% em m/z 190 se refere à perda de metanol a partir do íon molecular. Além disso, foi observado neste espectro de massas um pico base em m/z 162, possivelmente, oriundo da fragmentação do cátion radical m/z 190 com

perda de monóxido de carbono. A presença do íon tropílio m/z 91, com intensidade relativa de 29%, também foi observada no espectro de massas.

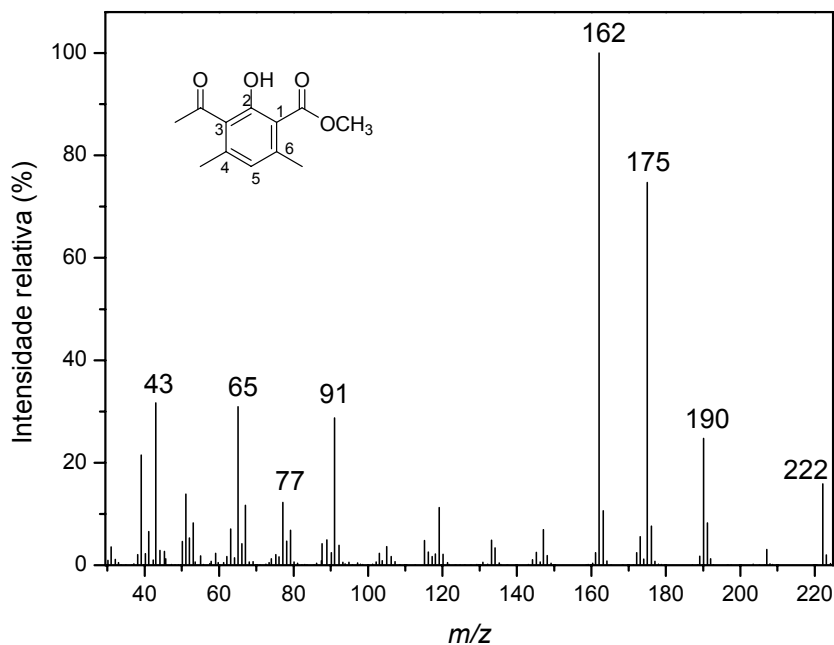


Figura 3.11. Espectro de massas do 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**).

Os isômeros 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**) e 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**) foram identificados com o auxílio dos dados espectrométricos e comparação com a literatura e dados do composto **6**.

Estes compostos foram estudados por Chan e Stössel (1986), que obtiveram estes dois isômeros numa proporção de 1:1, como resultado de uma dimerização espontânea do policetídeo **3**. Esta reação também foi observada neste estudo, quando o policetídeo **3**, após ser isolado, identificado e armazenado em geladeira, sofreu dimerização, produzindo os isômeros **7** e **8** numa proporção de 1:1.

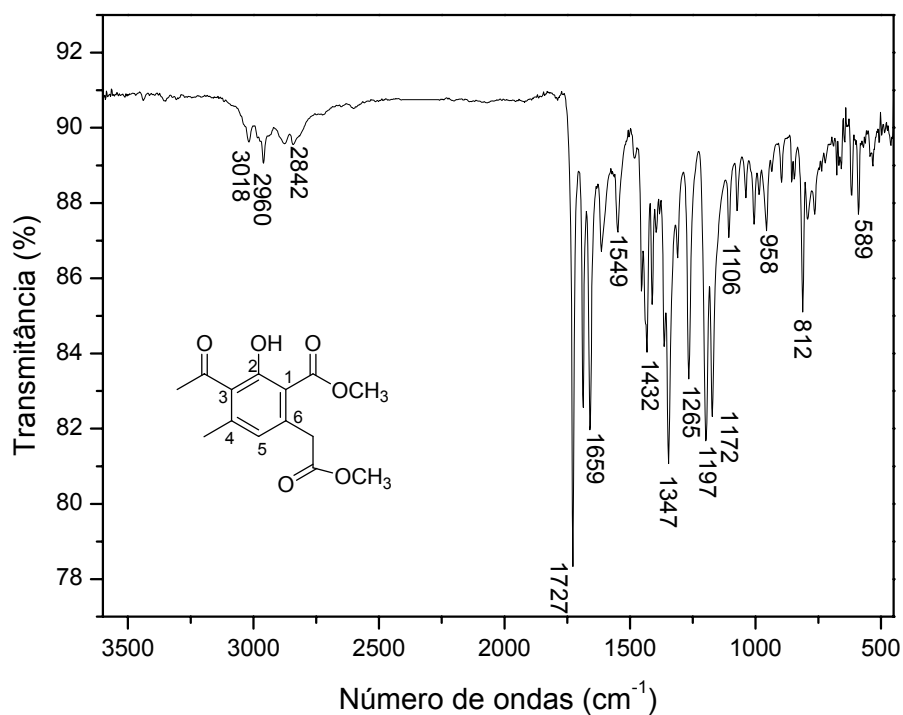


Figura 3.12. Espectro no infravermelho (filme cristalino) do 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**).

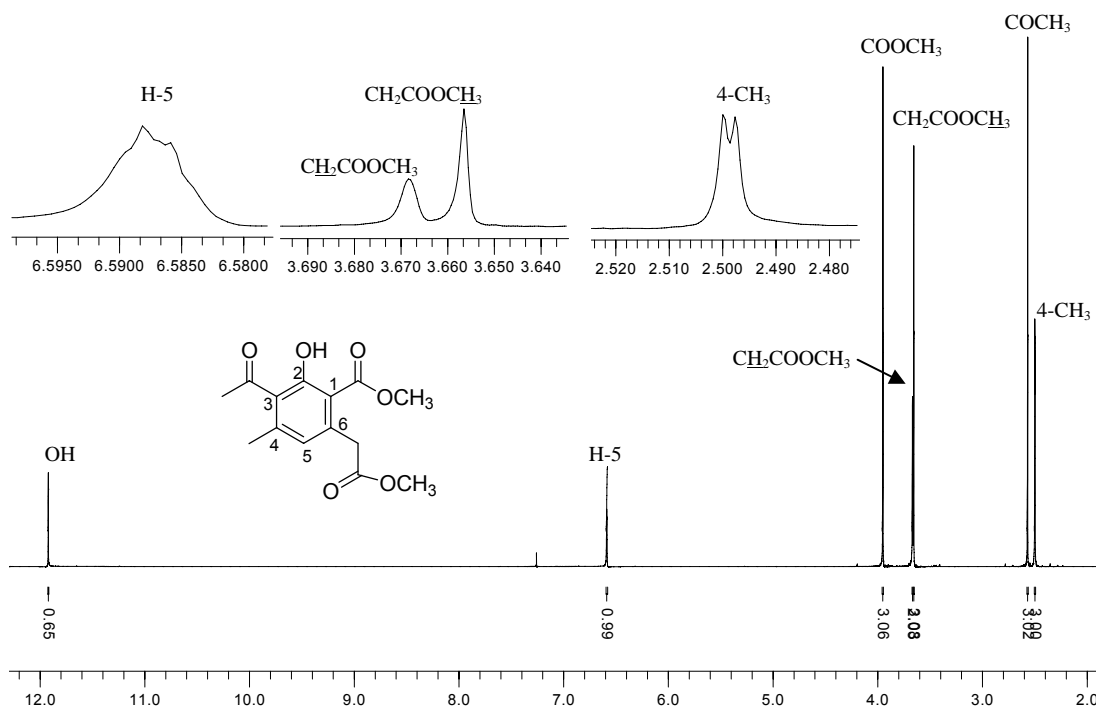


Figura 3.13. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δCHCl_3 7,27) do 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**).

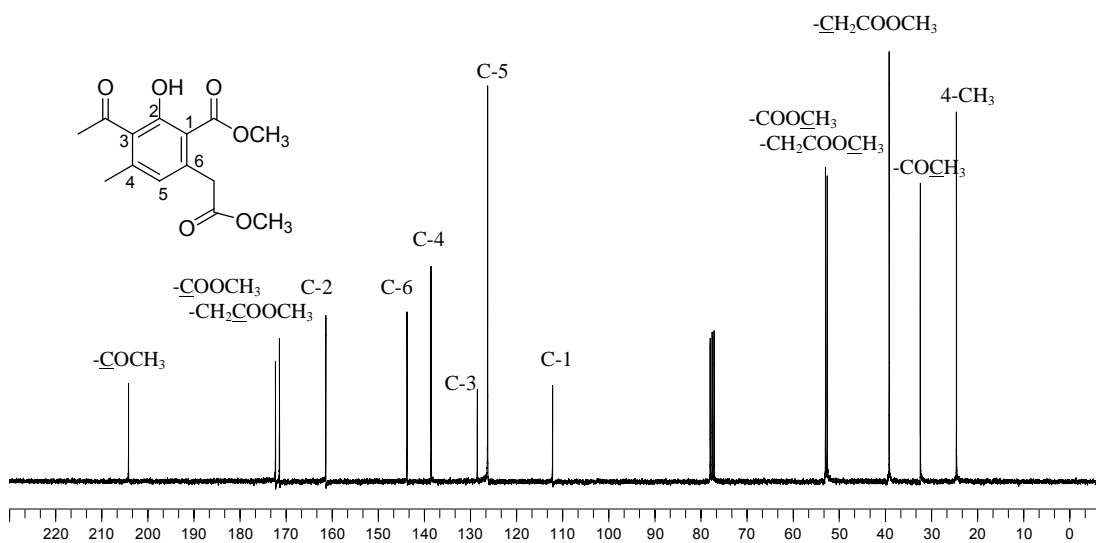


Figura 3.14. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δCDCl_3 77,0) do 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (7).

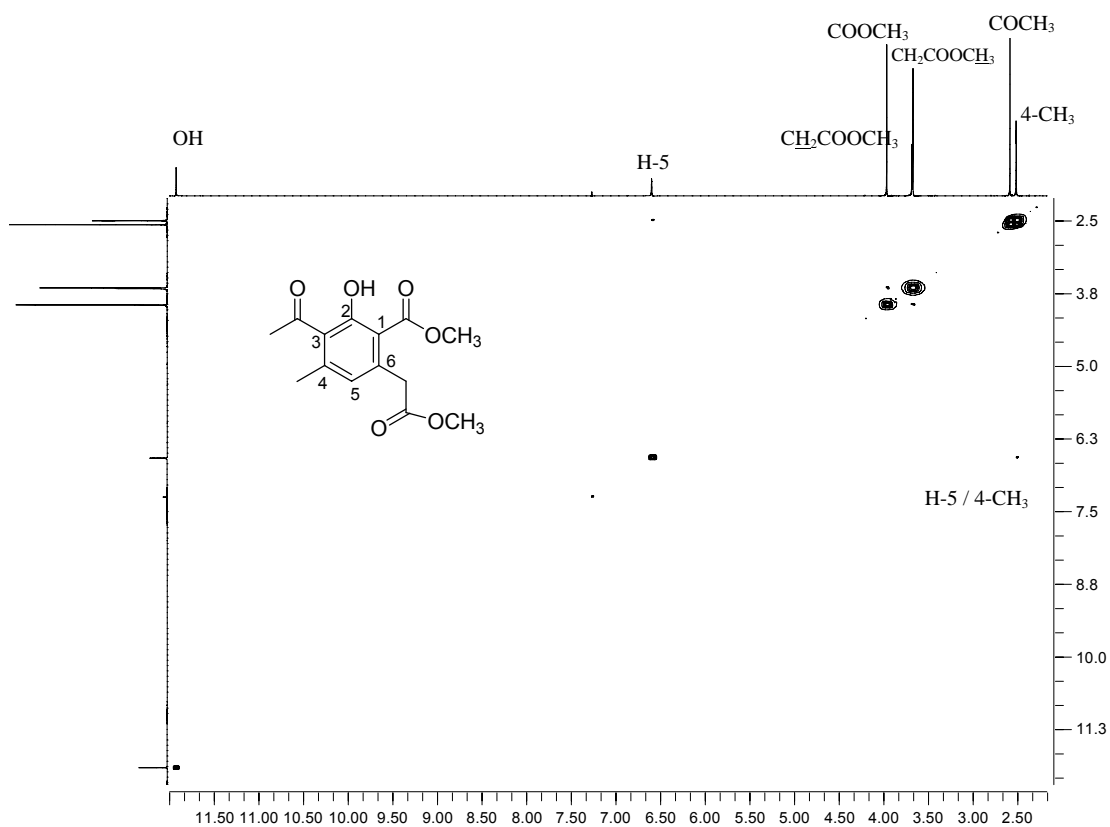


Figura 3.15. Mapa de contornos COSY do 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (7).

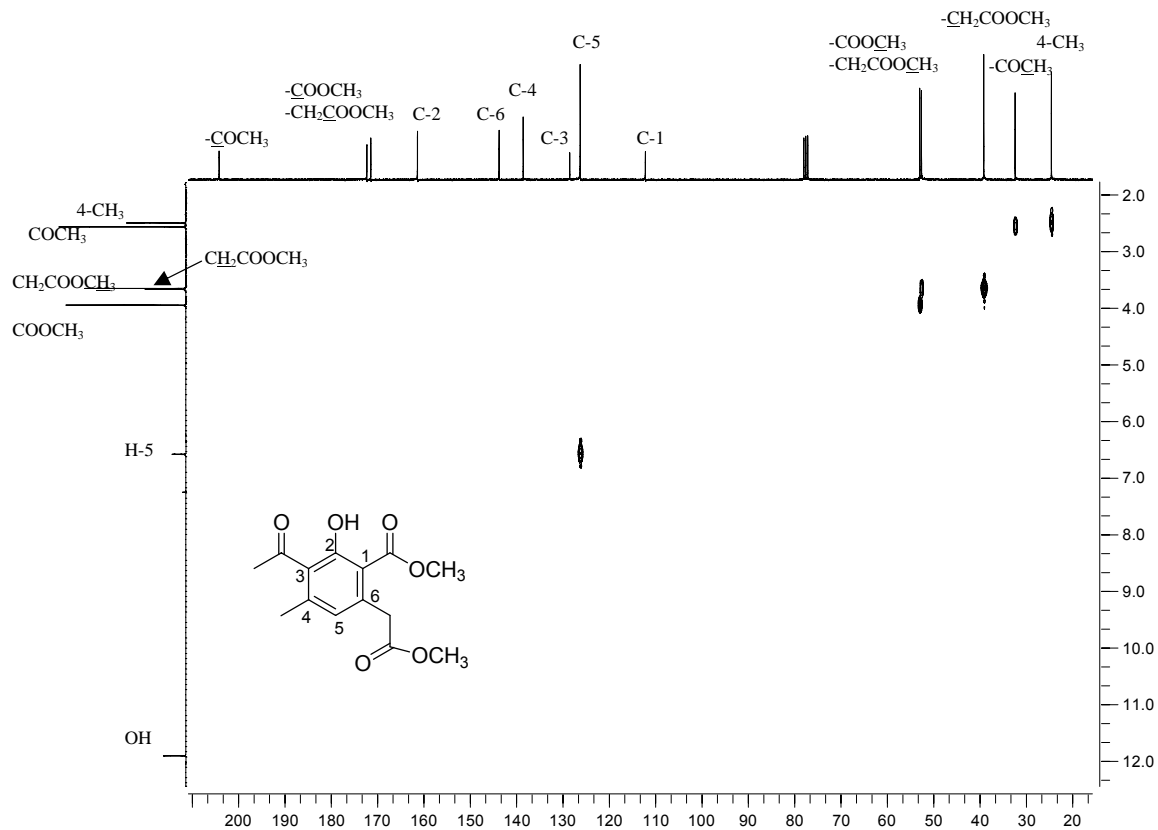


Figura 3.16. Mapa de contornos HETCOR do 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**).

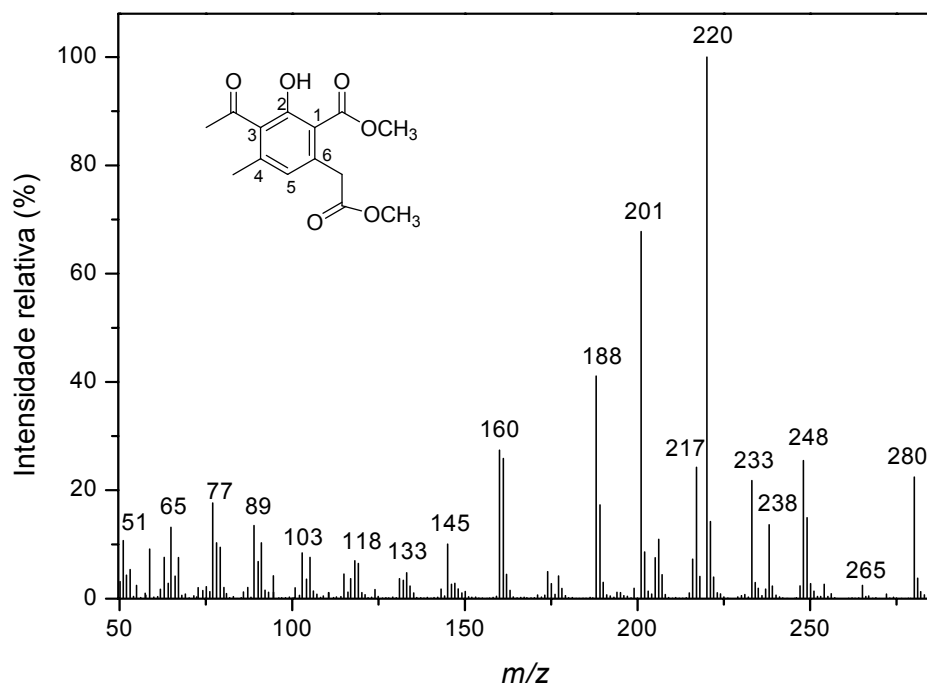


Figura 3.17. Espectro de massas do 3-acetil-2-hidroxi-6-(2-metoxi-2-oxoetil)-4-metilbenzoato de metila (**7**).

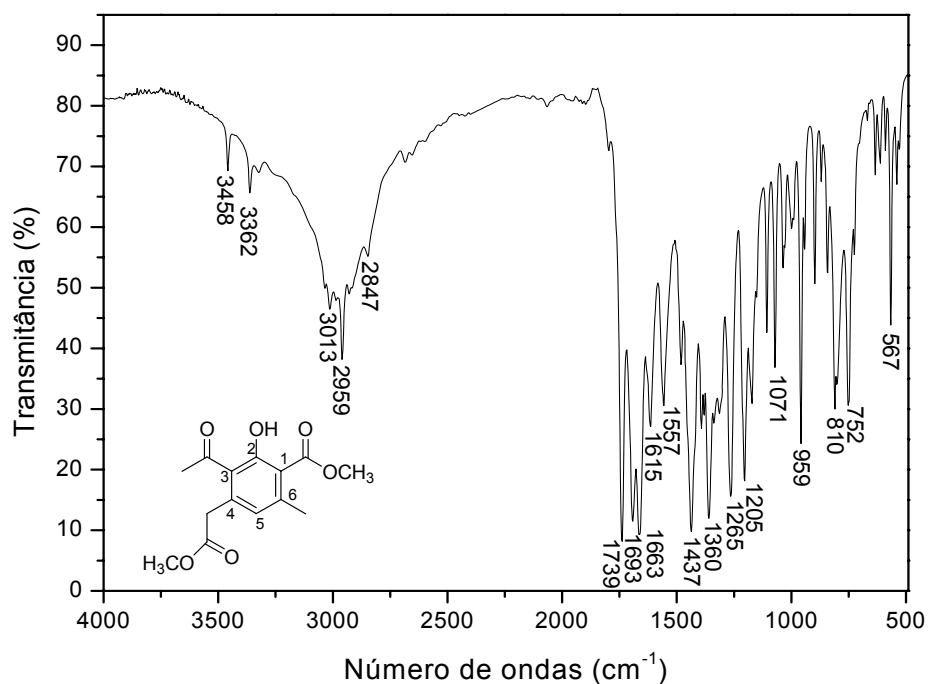


Figura 3.18. Espectro no infravermelho (filme cristalino) do 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**).

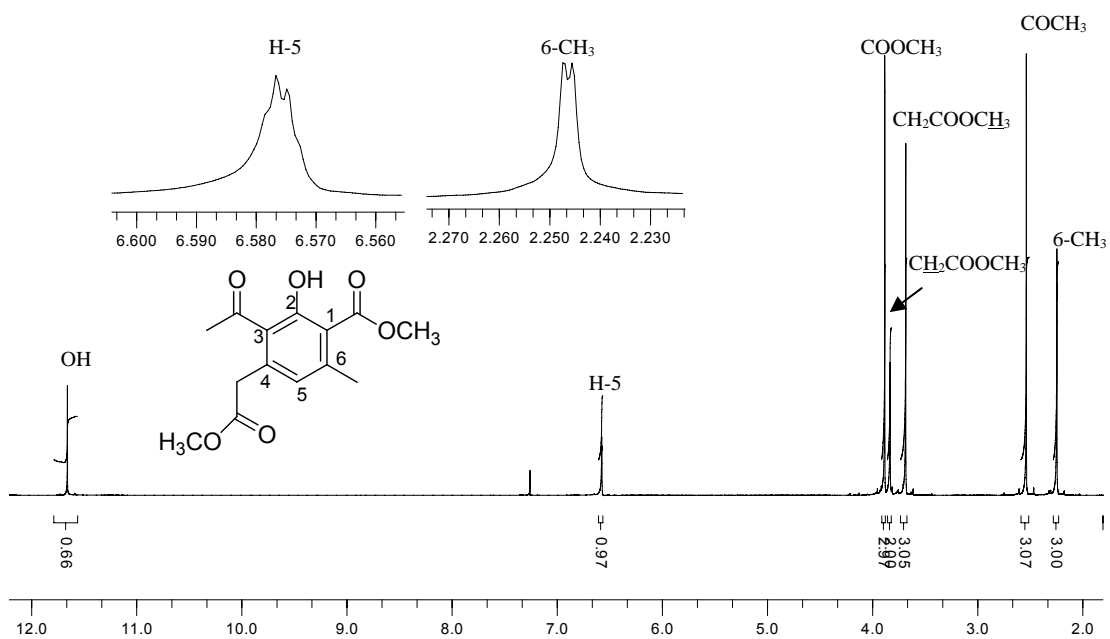


Figura 3.19. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**).

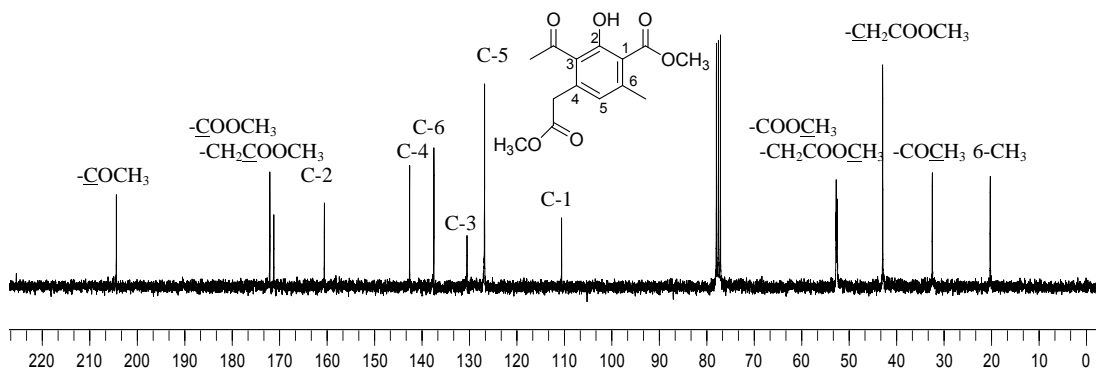


Figura 3.20. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δCDCl_3 77,0) do 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**).

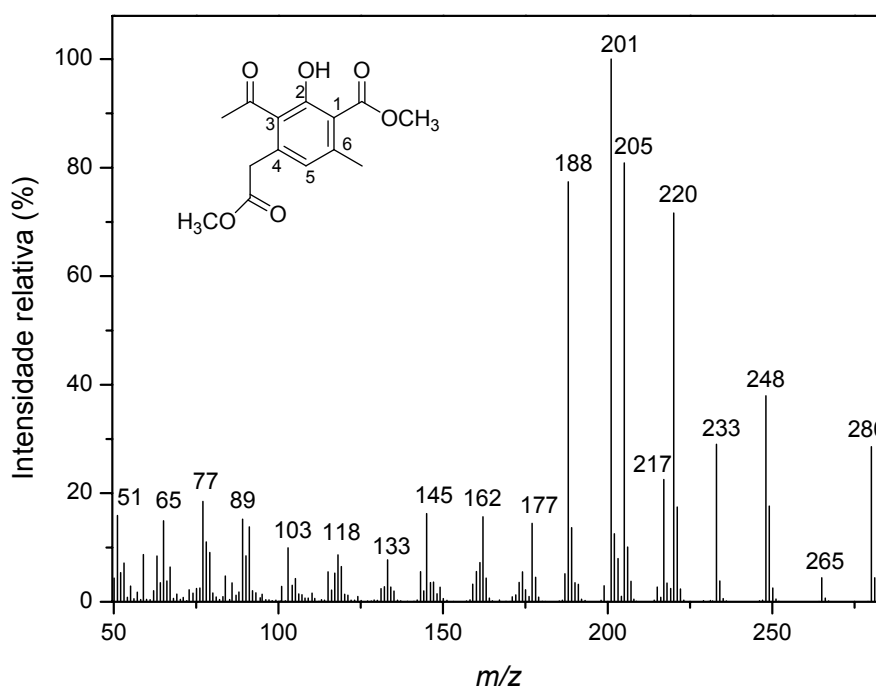


Figura 3.21. Espectro de massas do 3-acetil-2-hidroxi-4-(2-metoxi-2-oxoetil)-6-metilbenzoato de metila (**8**).

O 3,5-dioxoexanoato de metila (**3**, página 77) foi obtido com sucesso e seria utilizado como reagente para a produção da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona. Entretanto, foi observado que seria pouco viável sua utilização, pois

este dicetoéster sofre dimerização, transformando-se nos isômeros **7** e **8** (páginas 79 e 80, respectivamente) numa proporção de aproximadamente 1:1, conforme já relatado por Chan e Stössel (1986). Com isso, foi necessário buscar outra rota sintética com vistas à produção da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona, sendo a alternativa proposta a utilização do ácido desidroacético, conforme descrito no próximo Capítulo.

3.3.2. Ensaio biológico

Apenas os três compostos aromáticos **6**, **7** e **8**, páginas 78, 79 e 80, respectivamente, foram obtidos em condições de serem avaliados quanto ao potencial herbicida. Estes compostos foram avaliados contra *Sorghum bicolor* e *Cucumis sativus*, nas concentrações de 10^{-4} e 10^{-3} mol L⁻¹ (Figura 3.22).

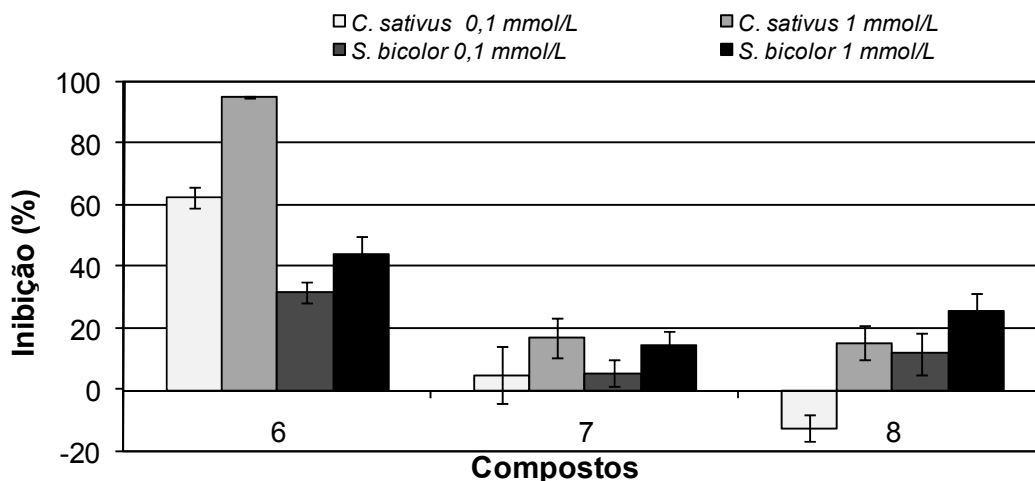


Figura 3.22. Atividade fitotóxica dos compostos (**6-8**).

Os resultados mostraram uma grande atividade inibitória do crescimento radicular proporcionado por (**6**) em relação aos compostos (**7**) e

(8) sobre as duas plantas avaliadas, indicando que a substituição de qualquer uma das duas metilas pelo grupo 2-metoxi-2-oxoetil reduz drasticamente o potencial fitotóxico do composto (6). Com isso, pode-se deduzir que a presença das duas metilas é fundamental para a fitotoxicidade desse composto, enquanto os demais substituintes parecem não ser requisitos para tal atividade.

O composto (6) mostrou-se também duas vezes mais fitotóxico para a espécie *C. sativus* (dicotiledônea) do que para a *S. bicolor* (monocotiledônea), em ambas as concentrações avaliadas.

Este composto foi estudado quanto ao potencial fitotóxico contra *Brachiaria decumbens* e *Ipomoea grandifolia* a $0,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sendo avaliada a produção de biomassa (Figura 3.23).

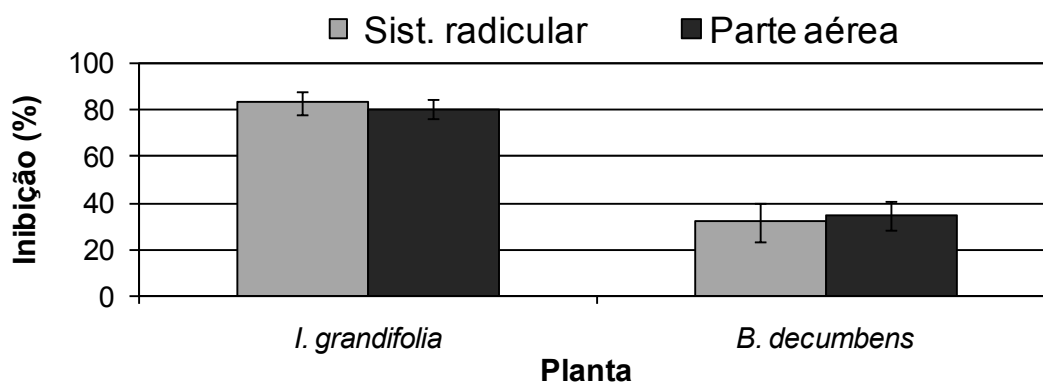


Figura 3.23. Atividade fitotóxica de (6) após 21 dias.

O ensaio de biomassa, em longo prazo (21 dias), confirmou a elevada fitotoxicidade do composto (6) observada em curto prazo (3 dias). Apesar de terem sido avaliadas duas novas espécies *B. decumbens* e *I. grandifolia*, o mesmo perfil toxicológico sobre as quatro espécies foi observado. Conforme registrado no primeiro ensaio, tal composto provocou o dobro de inibição,

reduzindo em 80% a produção de biomassa da espécie *I. grandifolia* (dicotiledônea) em relação à monocotiledônea (*B. decumbens*). Neste ensaio, o herbicida comercial Diuron foi utilizado como controle positivo e nenhuma planta sobreviveu mais que 14 dias a este tratamento.

O composto 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila (**6**) também foi avaliado quanto ao potencial inibitório do transporte de elétrons por meio da reação de Hill. Esta reação está envolvida no processo de fotossíntese e boa parte dos herbicidas (aproximadamente 40%), a exemplo das uracilas, fenilureias e triazinas, dentre outros, atuam sobre as plantas daninhas devido à capacidade que possuem em interferir no processo fotossintético (MORAES *et al.*, 2002).

O resultado do ensaio da reação de Hill apresentou uma concentração mínima necessária para inibir em 50% o transporte de elétrons, $IC_{50} = (0,7 \pm 0,2) \times 10^{-3}$ mol/L, ou seja, concentração estatisticamente equivalente à utilizada nos ensaios de placa de Petri e biomassa. Associando esta informação aos demais ensaios biológicos, pode-se deduzir que há um indício de que o mecanismo de ação deste composto pode estar relacionado à síntese de ATP, a exemplo do herbicida fenólico 2-metil-4,6-dinitrofenol (DNOC).

3.4. CONCLUSÕES

Descreveu-se neste Capítulo a reação entre a pentan-2,4-diona e o cloroformato de metila visando à obtenção do 3,5-dioxoexanoato de metila, que seria utilizado na preparação da 4-hidroxi-6-metil-piridin-2-ona, intermediário-chave na obtenção de bis(piridil)metanos. Além do 3,5-dioxoexanoato de metila, foram obtidos três outros produtos aromáticos, que foram devidamente isolados e caracterizados.

Embora tenha sido obtido o 3,5-dioxoexanoato de metila com bom rendimento, este composto sofreu autocondensação, resultando em dois isômeros, os mesmos isolados como produtos. Diante da instabilidade do 3,5-dioxoexanoato de metila, buscou-se outra rota sintética para a obtenção da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona.

Apenas os três compostos aromáticos foram avaliados quanto ao potencial fitotóxico, observando-se que os dois compostos obtidos na forma de isômeros não apresentaram atividade fitotóxica significativa. Já o terceiro composto aromático, 3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetilbenzoato de metila, obtido em menor rendimento, mostrou elevada fitotoxicidade sobre as espécies dicotiledôneas *Cucumis sativus* em curto prazo e *Ipomoea grandifolia* em longo prazo.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRETT, A. G. M.; CARR, R. A. E.; FINCH, M. A. W.; FLORENT, J-C.; RICHARDSON, G.; WALSH, N. D. A. Synthesis and reactions of derivatives of 1,7-dioxaspiro[5.5]undec-2-en-4-one. *J. Org. Chem.*, v. 51, p. 4254-4260, 1986.

CHAN, T. H.; STÖSSEL, D. Chemistry of 1,3,5-tris(trimethylsiloxy)-1-methoxyhexa-1,3,5-triene, a β -tricarbonyl trianion equivalent. *J. Org. Chem.*, v. 51, p. 2423-2428, 1986.

CREMLYN, R. J. *Agrochemicals: preparation and mode of action*. Wiley, 1991, 396p.

CUPPLES, A. M.; SANFORD, R. A.; SIMS, G. K. Dehalogenation of the Herbicides Bromoxynil (3,5-Dibromo-4-Hydroxybenzotrile) and Ioxynil (3,5-Diodino-4-Hydroxybenzotrile) by *Desulfotobacterium chlororespirans*. *App. Environ. Microbiol.*, v. 71, n. 7, p. 3741-3746, 2005.

DIAS, L. C.; DEMUNER, A. J.; VALENTE, V. M. M.; BARBOSA, L. C. A.; MARTINS, F. T.; DORIGUETO, A. C.; ELLENA, J. Preparation of achiral and chiral *E*-enaminopyran-2,4-diones and their phytotoxic activity. *J. Agric. Food Chem.*, v. 57, p. 1399-1405, 2009.

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

LIPTON, M. F.; SORENSEN, C. M.; SADLER, A. C.; SHAPIRO, R. H. A convenient method for the accurate estimation of concentrations of alkyllithium reagents. *J. Organometal. Chem.*, v. 186, p. 155-158, 1980.

PEREIRA, T. R.; LAIRD, D. A.; JOHNSTON, C. T.; TEPPEN, B. J.; LI, H.; BOYD, S. A. Mechanism of Dinitrophenol Herbicide Sorption by Smectites in Aqueous Suspensions at Varying pH. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, v. 71, p. 476-1481, 2007.

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

RAHN, T.; NGUYEN, V. T. H.; DANG, T. H. T.; AHMED, Z.; METHLING, K.; LALK, M.; FISCHER, C.; SPANNENBERG, A.; LANGER, P. Synthesis of 1,3,5-tricarbonyl derivatives by condensation of 1,3-bis(silyl enol ethers) with acid chlorides. *J. Org. Chem.*, v. 72, p. 1957-1961, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 6 ed., Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2006. 460p.

TEIXEIRA, S. C. G.; MATHIAS, L.; CANELA, M. C. Recuperação de sílica-gel utilizando processos oxidativos avançados: uma alternativa simples e de baixo custo. *Química Nova*, v. 26, n. 6, p. 931-933, 2003.

CAPÍTULO 4

Síntese e avaliação da atividade biológica de bis(piridil)metanos derivados da 4- hidroxi-6-metilpiridin-2-ona¹

¹ Os estudos deste capítulo foram divididos em dois artigos: o primeiro foi publicado na revista *Molecules* v. 14, p. 4973 - 4986, 2009 (DOI: 10.3390/molecules14124973) e o segundo se encontra submetido ao *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

4.1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas constituem um dos principais problemas da produção agrícola, causando diminuição da produtividade. Desde a década de 1940, o uso de herbicidas tornou-se a ferramenta mais viável e menos dispendiosa para controlar plantas daninhas em todo o mundo (MACÍAS *et al.*, 2000; TROYER, 2001), tornando-se eficaz em termos de custos e aumento da produtividade (RAJ *et al.*, 2003).

Embora tenham sido alcançados importantes avanços no controle de plantas daninhas, a necessidade de desenvolvimento de novos herbicidas não pode ser ignorada, já que as plantas daninhas podem adquirir resistência a herbicidas (PENG *et al.*, 2003). Em muitos casos, a resistência é resultado de uma pressão seletiva imposta pela aplicação contínua de produtos com o mesmo mecanismo de ação. Assim, a rotação de herbicida com diferentes mecanismos de ação é recomendada como estratégia para reduzir o surgimento de resistência (SIMINSZKY, 2006).

Atualmente, existem pelo menos 320 biótipos entre 185 espécies de plantas daninhas resistentes a herbicidas dispersos por diversos países (MEROTTO JR *et al.*, 2009). O transtorno causado pela resistência, associado às preocupações relacionadas a problemas ambientais e de saúde humana, têm estimulado a procura por novos compostos (RAJ *et al.*, 2003; MACÍAS *et al.*, 2000).

Neste contexto, o desenvolvimento de herbicidas com novos modos de ação é um desafio constante. A utilização de produtos naturais fitotóxicos como modelo para o desenvolvimento de novos herbicidas é uma das

estratégias mais empregadas e tem levado à descoberta de novas moléculas com atividade herbicida (SUNAZUKA *et al.*, 2008; DUKE *et al.*, 2000).

As piridinonas são encontradas amplamente em fontes naturais e apresentam uma gama de atividades biológicas, com importantes propriedades farmacológicas e atividade fitotóxica, tais como a fluridona (**1**), a gostatina (**2**) e a sapinopiridiona (**3**), Figura 4.1 (FINDLAY *et al.*, 1978; ABADI *et al.*, 1999; STORCK *et al.*, 2005; MACDONALD *et al.*, 2008; WAKABAYASHI *et al.*, 2004; EVIDENTE *et al.*, 2006). Tais compostos têm atraído a atenção de pesquisadores e levado à síntese de novas piridinonas (DEVI e PERUMAL, 2007; PEI *et al.*, 2005; STORCK *et al.*, 2005; ÖZTÜRK *et al.*, 2001; ABADI *et al.*, 1999). Algumas são denominadas genericamente de bis(piridil)metanos (**4**), Figura 4.1, e apresentam atividade antitumoral (COCCO *et al.*, 2000; COCCO *et al.*, 2003).

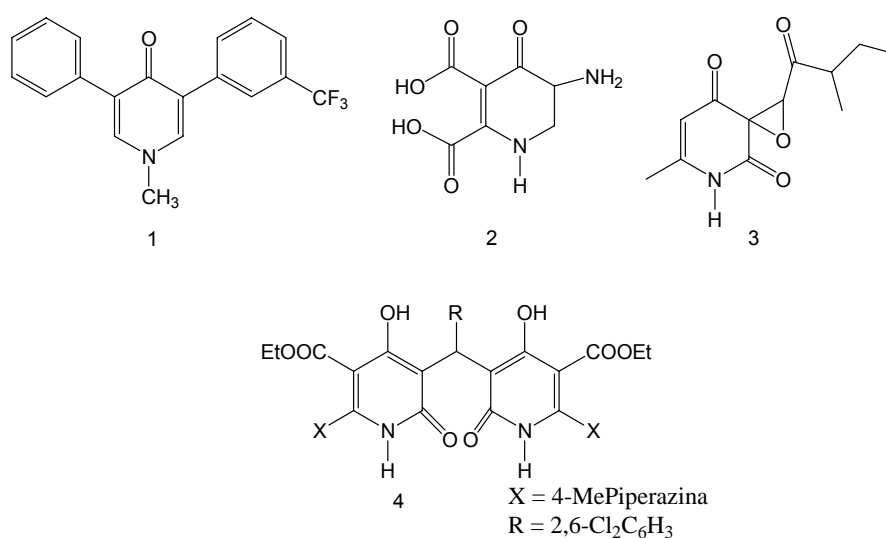


Figura 4.1. Estrutura química dos compostos fluridona (**1**), a gostatina (**2**) e a sapinopiridiona (**3**) e bis(piridil)metano (**4**).

O aparecimento da resistência antimicrobial revelou-se também um problema mundial crescente, especialmente em meio hospitalar, aumentando consideravelmente durante a última década. Embora a resistência antimicrobial tenha atraído a atenção da comunidade médica e científica, a magnitude do impacto desta resistência na saúde e na economia é pouco conhecida.

A resistência antimicrobial pode afetar o paciente, aumentando virulência, causando redução na eficiência da terapia administrada ou limitando a terapia apropriada disponível (COSGROVE e CARMELI, 2003; COAST *et al.*, 1998). Infecções causadas por bactérias resistentes resultam em hospitalizações prolongadas e maior índice de mortalidade (CARMELI *et al.*, 1999). O aparecimento de microorganismos antibiótico-resistentes é uma das principais preocupações dos médicos envolvidos no tratamento de pacientes graves na última década (DE WAELE *et al.*, 2004).

As cepas resistentes apareceram inicialmente em hospitais, onde a maioria dos antibióticos era usada. *Streptococcus pyogenes* resistente à sulfonamida foi encontrada em hospitais militares nos anos 1930. *Staphylococcus aureus* resistente à penicilina surgiu rapidamente após sua introdução em hospitais civis de Londres, nos anos 1940. Semelhantemente, *Mycobacterium tuberculosis* resistente à estreptomicina foi detectada logo após a descoberta deste antibiótico. A descoberta de microorganismos com múltipla resistência a drogas foi constatada primeiramente entre enterobactérias *Escherichia coli*, *Shigella* e *Salmonella* no final dos anos 1950 e início dos anos 1960 (LEVY e MARSHALL, 2004).

O *Bacillus cereus* é uma bactéria Gram-positiva, aeróbia facultativa e formadora de esporos. Tem sido reconhecida como agente etiológico de doenças de origem alimentar há mais de 40 anos. Encontrada comumente em solos, devido à resistência de seus esporos, encontra-se amplamente distribuída na natureza. Por esta razão contamina facilmente alimentos processados e “in natura”, como vegetais, cereais, condimentos, carne bovina, suína e de frango, laticínios, sorvetes, pudins, carne cozida, sopas, pratos à base de vegetais e arroz cozido. A ingestão de alimentos contaminados com cepas patogênicas produtoras de toxinas resulta em intoxicação alimentar. Esta espécie está entre as predominantes em surtos de intoxicação alimentar, causando diarreia, sendo estas alterações atribuídas à ação das enterotoxinas e da toxina emética (MENDES *et al.*, 2004; SUBRAMANIAN *et al.*, 2006; AL-KHATIBA *et al.*, 2007).

Escherichia coli, membro da família *Enterobacteriaceae*, é uma bactéria Gram-negativa anaeróbia facultativa, está presente no trato intestinal dos animais, inclusive do ser humano. Foi usada extensamente como indicadora da qualidade de água de superfície e subterrânea. Certas cepas são responsáveis por infecções entéricas e diarreia, infecções urinárias e meningites. A contaminação pode ocorrer por ingestão de água contaminada. A resistência é observada mais frequentemente para sulfonamidas, tetraciclina e ampicilina (RAM *et al.*, 2007; HU *et al.*, 2008; SCAVIA *et al.*, 2008).

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva, patogênica, resistente a uma variedade de agentes antimicrobianos. Sua importância médico-sanitária face à sua patogenicidade para o ser humano e os animais

tem sido destacada, principalmente porque, devido à sua elevada taxa de mutabilidade, tem aumentado consideravelmente o número de cepas resistentes aos agentes antibióticos. Causa problema na saúde pública devido ao seu grande potencial de disseminação e altas porcentagens de morbidade e mortalidade (EGIDO e BARROS, 2003; ZELANTE *et al.*, 1983; KIM *et al.*, 2001).

É muito reduzido o número de trabalhos que relatam o preparo de compostos bis(piridil)metanos, sendo também escassos os estudos da sua atividade fitotóxica. Considerando a fitotoxicidade da colletopirona e da sapinopiridiona e uma possível atividade herbicida e/ou bactericida dos bis(piridil)metanos, esse estudo tem como objetivos sintetizar compostos bis(piridil)metanos visando à descoberta de novos compostos com potencial uso comercial. Dessa forma, utilizou-se a 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona, obtida a partir do ácido desidroacético, em reação de condensação com aldeídos alifáticos e aromáticos substituídos.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Técnicas experimentais

Os aldeídos foram adquiridos da Sigma Aldrich com elevado grau de pureza. Os solventes utilizados nas reações foram de grau P.A., dispensando o processo de purificação. Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000. As amostras foram misturadas com brometo de potássio e analisadas, em

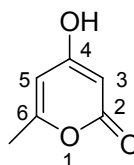
forma de pastilhas, na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho VARIAN MERCURY 300 MHz para hidrogênio e 75 MHz para carbono. Utilizou-se dimetilssulfóxido deuterado (DMSO-d_6) como solvente. As constantes de acoplamento (J) foram expressas em Hertz (Hz). Os espectros de massas da 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona e da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona foram obtidos por inserção direta das amostras em equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A no modo de impacto de elétrons (70 eV). As massas exatas (HRMS) foram obtidas sob condições de ionização por eletrospray (ESI) em espectrômetro Bruker MicroToF (resolução = 10000 FWHM). O lock-mass usado para calibração foi o íon positivo brometo de tetraoctilamônio. As temperaturas de fusão (T_f) foram determinadas em aparelho MQAPF-301 e não foram corrigidas.

Os dados cristalográficos da análise por difração de raios X de monocristal dos compostos **34**, **35** e **36**, páginas 142, 143 e 144, respectivamente, foram coletados a 150 K com um sistema Oxford Cryosystems Cryostream de N_2 open-flow (COSIER e GLAZER, 1986), em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD, utilizando-se como fonte de radiação um tubo selado de $\text{Mo K}\alpha = 0,71073 \text{ \AA}$. Os dados foram processados utilizando o DENZO-SMN (OTWINOWSKI e MINOR, 1997). As estruturas foram resolvidas utilizando o SIR92 (ALTOMARE *et al.*, 1994) e os refinamentos das estruturas cristalinas foram feitos empregando-se o método dos mínimos quadrados de matriz completa em F^2 (BETTERIDGE *et al.*, 2003).

4.2.2. Procedimento de síntese

4.2.2.1 Procedimento para a síntese da 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6)

Em um balão de 25 mL, foram adicionados ácido desidroacético (5) (500 mg; 3 mmol) e ácido sulfúrico 92% m/v (1,5 g; 15 mmol). A mistura foi aquecida a 130 °C, por 10 min. A mistura, ainda quente, foi vertida em um béquer contendo gelo picado. O precipitado formado foi filtrado, lavado com água gelada e recristalizado em água quente, levando à produção da 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6) como um sólido branco (SETO *et al.*, 1966; COLLIE, 1891; NAGAWADE *et al.*, 2005).



6

A 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6) foi obtida 86% de rendimento (322 mg; 2,6 mmol).

$T_f = 186,5-187,7$ °C.

Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3440, 3097, 2962, 2821, 2733, 1717, 1657, 1626, 1586, 1540, 1509, 1493, 1344, 1303, 1256, 1191, 1149, 1042, 989, 878, 839, 814, 591, 526, 498.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,13 (d, 3H, $J = 0,3$ Hz, 6- CH_3); 5,19 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-3); 5,93 (m, 1H, H-5); 11,58 (s, 1H, OH);

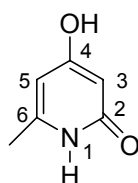
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 20,1 (6- CH_3); 88,8 (C3); 100,9 (C5); 164,0 (C6*); 164,6 (C4*); 171,2 (C2).

*Sinais podem estar trocados.

EM, m/z (%): 126 (M^+ , 33); 111 (15); 98 (70); 85 (33); 69 (100); 55 (25).

4.2.2.2. Procedimento para a síntese da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7)

Em um balão de 25 mL, foram adicionados, sob agitação, 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (**6**) (350 mg; 2,8 mmol) e hidróxido de amônio 28% (2 mL; 14,5 mmol). A mistura foi aquecida a 100 °C por 6 h. Após este período, foi resfriada em banho de gelo, e o sólido branco formado foi filtrado, lavado com água gelada e recristalizado em etanol, fornecendo a 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (SETO *et al.*, 1966).



7

A 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (**7**) foi obtida com 80% de rendimento (279 mg; 2,23 mmol).

$T_f > 300$ °C.

Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3268, 3091, 2894, 2796, 2716, 1653, 1634, 1603, 1550, 1400, 1381, 1352, 1267, 1232, 1175, 1042, 903, 842, 830, 627, 595, 535.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,06 (d, 3H, $J = 0,3$ Hz, 6- CH_3); 5,32 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-3); 5,58 (m, 1H, H-5); 10,97 (s, 1H, OH); 10,41 (s, 1H, NH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 19,1 (6- CH_3); 96,4 (C3); 99,0 (C5); 146,6 (C6); 165,5 (C2*); 168,3 (C4*).

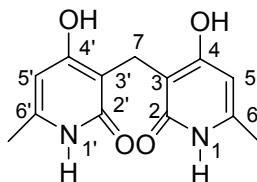
*Sinais podem estar trocados.

EM, m/z (%): 125 (M^+ , 77); 96 (22); 84 (100); 69 (17); 68 (17); 55 (16).

4.2.2.3 Procedimento para a síntese dos derivados bis(piridil)metanos (8-40)

A um balão de 100 mL, foram adicionados etanol 95% (20 mL), metanol (20 mL), 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (**7**) (188 mg; 1,5 mmol), piperidina (15 μL ; 0,15 mmol) e piridina (45 μL ; 0,55 mmol). A mistura reagente foi mantida sob agitação por 5 min, a 25 °C. Em seguida, foi adicionado o aldeído correspondente (0,75 mmol), e a mistura mantida sob refluxo. Após o término da reação, monitorada por CCD, o volume do solvente foi reduzido em evaporador rotatório, e o precipitado foi filtrado e lavado com metanol, seguido de éter etílico. Este procedimento levou aos bis(piridil)metanos com bons rendimentos (20-95%) e elevado grau de

pureza, dispensando qualquer procedimento de purificação (FINDLAY *et al.*, 1976).



8

3,3'-metilenobis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**8**): refluxo 1,5 h; sólido branco; rendimento: 92%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

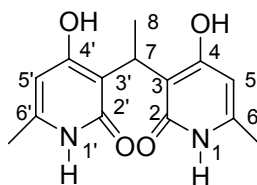
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3284, 3059, 3023, 2899, 1640, 1568, 1442, 1389, 1368, 1267, 1196, 1132, 910, 835, 805, 611, 546.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,10 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 3,41 (s, 2H, H-7); 5,86 (s, 2H, H-5 e H-5'); 11,74 (simpleto largo, 2H, H-1 e H-1'); 12,11 (simpleto largo, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,7 (C7); 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 102,1 (C5 e C5'); 109,1 (C3 e C3'); 144,3 (C6 e C6'); 165,6 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ 261,0881 g/mol; encontrado: 261,0886 g/mol.



9

3,3'-(etano-1,1-diil)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**9**): refluxo 90 h, sólido branco; rendimento: 35%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

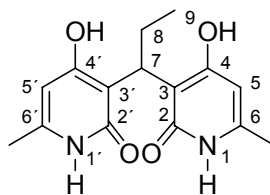
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3446, 3264, 2891, 2610, 1644, 1558, 1451, 1390, 1335, 1265, 1198, 1165, 915, 816, 641, 553.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 1,58 (d, 3H, $J = 7,5$ Hz, H-8); 2,09 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 4,49 (q, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-7); 5,81 (s, 2H, H-5 e H-5'); 11,63 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 15,3 (C8); 18,7 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 25,3 (C7); 102,7 (C5 e C5'); 112,9 (C3 e C3'); 144,0 (C6 e C6'); 166,5 (C2 e C2'); 166,7 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$ 275,1037 g/mol; encontrado: 275,1040 g/mol.



10

3,3'-(propano-1,1-diil)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) **(10):**

refluxo 90 h, sólido branco; rendimento 56%.

$T_f = 220,5-221,6 \text{ }^\circ\text{C}$.

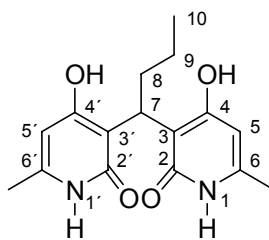
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3447, 3057, 2955, 2872, 2622, 1637, 1460, 1393, 1361, 1265, 1252, 1193, 835, 817, 624, 557.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), **δ** (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): **δ** 0,73 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3); 2,03-2,20 (m, 8H, H-8, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 4,18 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-7); 5,81 (s, 2H, H-5 e H-5'); 11,60 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), **δ** (atribuição): **δ** 13,9 (C9); 18,7 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 21,4 (C8); 33,4 (C7); 102,7 (C5 e C5'); 111,6 (C3 e C3'); 144,2 (C6 e C6'); 166,1 (C2 e C2'); 166,2 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$ 289,1194 g/mol; encontrado: 289,1199 g/mol.



11

3,3'-(butano-1,1-diil)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**11**): refluxo 90 h, sólido branco; rendimento: 20%.

$T_f = 290,4-291,4$ °C.

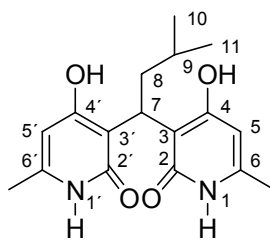
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3447, 3058, 2874, 1626, 1452, 1394, 1360, 1273, 1257, 1194, 824, 607, 536.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 0,80 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, H-10); 2,09 (sl, 8H, H-8, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 1,12 (sex, 2H, $J = 7,2$ Hz, H-9); 4,31 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-7); 5,83 (s, 2H, H-5 e H-5'); 11,60 (simpleto largo, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 14,4 (C10); 18,8 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 22,1 (C9); 30,3 (C8); 30,8 (C7); 102,7 (C5 e C5'); 111,7 (C3 e C3'); 144,2 (C6 e C6'); 166,2 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ 303,1350 g/mol; encontrado: 303,1355 g/mol.



12

3,3'-(3-metilbutano-1,1-diil)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**12**):
refluxo 16 h, sólido branco; rendimento: 67%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

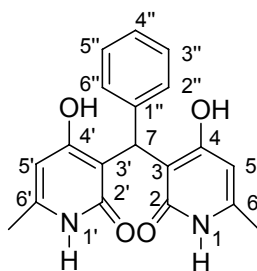
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3280, 3232, 3058, 2951, 2872, 2642, 1635, 1558, 1448, 1398, 1357, 1324, 1274, 1192, 1042, 821, 651, 625, 557.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 0,78 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, H-10 e H-10'); 1,30 (hept, 1H, $J = 6,6$ Hz, H-9); 2,09 (sl, 8H, H-8, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 4,40 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-7); 5,84 (s, 2H, H-5 e H-5'); 11,61 (sl, 2H, 1-H e 1'-H); 11,89 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,8 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 23,0 (C10 e C10'); 27,3 (C9); 29,0 (C7); 37,2 (C8); 102,3 (C5 e C5'); 111,9 (C3 e C3'); 144,0 (C6 e C6'); 165,5 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ 317,1507 g/mol; encontrado: 317,1512 g/mol.



13

3,3'-(fenilmetileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**13**): refluxo 40 h, sólido branco; rendimento: 56%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

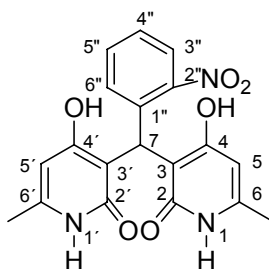
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3280, 3062, 2898, 1632, 1453, 1394, 1361, 1284, 1192, 924, 817, 772, 583.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,87 (br s, 3H, H-7, H-5 e H-5'); 6,99 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-2'' e H-6''); 7,12 (t, 1H; $J = 7,5$ Hz, H-4''); 7,20 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-3'' e H-5''); 11,69 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,31 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,5 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 110,2 (C3 e C3'); 126,0 (C4''); 126,9 (C2'' e C6''); 128,5 (C3'' e C5''); 139,6 (C1''); 144,8 (C6 e C6'); 167,7 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$ 337,1194 g/mol; encontrado: 337,1202 g/mol.



14

3,3'-((2-nitrofenil)metileno))bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**14**):

refluxo 210 h, sólido branco; rendimento 72%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

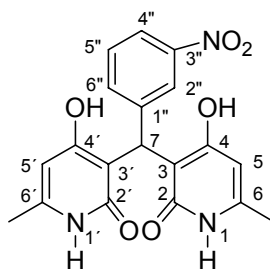
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3447, 3271, 3223, 3058, 2918, 2882, 1623, 1549, 1520, 1460, 1390, 1357, 1357, 1312, 1256, 1194, 1039, 888, 858, 825, 785, 731, 687, 642.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,11 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,82 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,44 (s, 1H, H-7); 7,22 (dl, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6''); 7,36 (tl, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-4''); 7,50 (dt, 1H, $J = 7,8$ e 1,2 Hz, H-5''); 7,56 (dd, 1H, $J = 7,8$ e 1,2 Hz, H-3''); 11,55 (s, 2H, H-1 e H-1'); 11,87 (sl, 1H, 4-OH 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 31,6 (C-7); 101,8 (C5 e C5'); 108,6 (C3 e C3'); 124,3 (C3''); 127,6 (C4''); 130,1 (C6''); 132,1 (C5''); 133,9 (C1''); 145,1 (C6 e C6'); 150,3 (C2''); 165,9 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6$ 406,1010 g/mol; encontrado: 406,1013 g/mol.



15

3,3'-((3-nitrofenil)metileno))bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**15**):

refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 69%.

$T_f > 300$ °C.

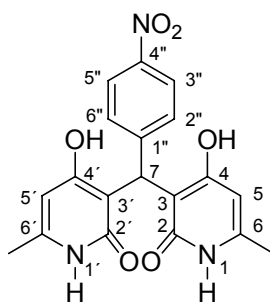
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3280, 3060, 2900, 2616, 1634, 1526, 1457, 1391, 1350, 816, 676.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,16 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,93 (s, 2H, H-5); 6,04 (s, 1H, H-7); 7,43 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6''); 7,53 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-5''); 7,77 (s, 1H, H-2''); 8,02 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-4''); 11,75 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,18 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,4 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 109,3 (C3 e C3'); 121,3 (C2''); 121,6 (C4''); 130,1 (C5''); 134,2 (C6''); 142,8 (C1''); 145,4 (C6 e C6'); 148,4 (C3''); 166,2 (C2 e C2'); 167,6 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6$ 382,1045 g/mol; encontrado: 382,1047 g/mol.



16

3,3'-((4-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**16**):
refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 65%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

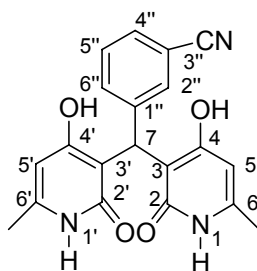
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3440, 3280, 3232, 3062, 2897, 1636, 1516, 1387, 1347, 1192, 1108, 890, 850, 818.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,91 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,04 (s, 1H, H-7); 7,23 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2'' e H-6''); 8,09 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3'' e H-5''); 11,74 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,17 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,9 (C7); 102,4 (C5 e C5'); 109,4 (C3 e C3'); 123,8 (C3'' e C5''); 128,3 (C2'' e C6''); 145,3 (C6 e C6'); 146,2 (C1''); 149,1 (C4''); 166,2 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6$ 382,1045 g/mol; encontrado: 382,1049 g/mol.



17

3,3'-((3-cianofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**17**):

refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 84%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

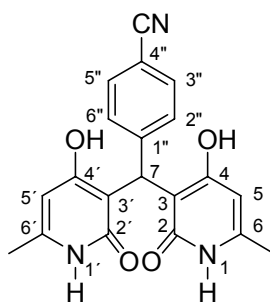
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3280, 3054, 2892, 2832, 2623, 2225, 1631, 1450, 1391, 1308, 1196, 1108, 825, 804, 610, 539.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,91 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,96 (s, 1H, H-7); 7,30 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-2''); 7,31 (dd, 1H, $J = 7,5$ e 1,2 Hz, H-4''); 7,44 (dt, 1H, $J = 7,5$ e 1,2 Hz, H-5''); 7,61 (dd, 1H, $J = 7,5$ e 1,2 Hz, H-6''); 11,73 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,17 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,3 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 109,3 (C3 e C3'); 111,5 (C3''); 119,9 (3''-CN); 129,9 (C5''); 130,1 (C6''); 130,5 (C2''); 132,3 (C6''); 141,9 (C1''); 145,3 (C6 e C6'); 166,2 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ 362,1146 g/mol; encontrado: 362,1149 g/mol.



18

3,3'-((4-cianofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**18**):

refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 73%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

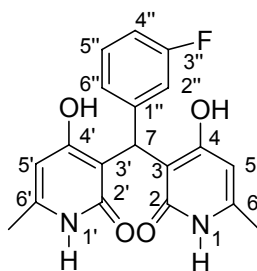
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3276, 3055, 2890, 2627, 2233, 1631, 1457, 1387, 1307, 1196, 852, 818, 552.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,90 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,99 (s, 1H, H-7); 7,15 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-3" e H-5"); 7,67 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-2" e H-6"); 11,72 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,14 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,8 (C7); 102,4 (C5 e C5'); 108,8 (C4"); 109,3 (C3 e C3'); 119,8 (4"-CN); 128,1 (C3" e C5"); 132,5 (C2" e 6"); 145,2 (C6 e C6'); 146,6 (C1"); 166,2 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ 362,1146 g/mol; encontrado: 362,1150 g/mol.



19

3,3'-((3-fluorofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**19**):

refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 80%.

$T_f > 300$ °C.

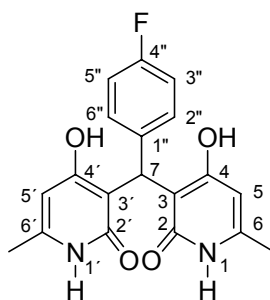
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3275, 3057, 2901, 2616, 1632, 1588, 1483, 1455, 1441, 1397, 1249, 925, 831, 789, 682, 599.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,90 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,92 (s, 1H, H-7); 6,70 (dl, 1H, $J = 11,1$ Hz, H-2''); 6,83 (dl, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-6''); 6,95 (dt, 1H, $J = 8,1$ e 2,4 Hz, H-4''); 7,24 (dt, 1H, $J = 8,1$ e 6,3 Hz, H-5''); 11,68 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,18 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,4 (C7); 102,4 (C5 e C5'); 109,8 (C3 e C3'); 112,8 (d; $J = 20,6$ Hz; C4''); 113,7 (d; $J = 20,6$ Hz; C2''); 123,1 (d; $J = 3,6$ Hz; C6''); 130,3 (d; $J = 8,0$ Hz; C5''); 143,2 (d; $J = 1,4$ Hz; C1''); 145,0 (C6 e C6'); 162,5 (d; $J = 240,0$ Hz; C3''); 166,3 (C2 e C2'); 167,51 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_4$ 355,1100 g/mol; encontrado: 355,1106 g/mol.



20

3,3'-((4-fluorofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**20**):

refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 81%.

$T_f > 300$ °C.

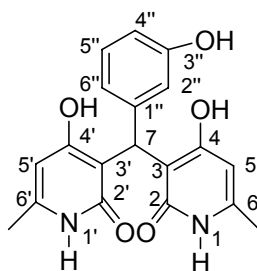
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3273, 3231, 3058, 2898, 2617, 1634, 1585, 1508, 1456, 1389, 1308, 1259, 1222, 1106, 1049, 1020, 932, 883, 848, 820, 606, 547.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,86 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,89 (s, 1H, H-7); 6,96-7,06 (m, 4H, H-2'', H-3'', H-5'' e H-6''); 11,67 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,28 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 33,9 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 110,1 (C3 e C3'); 115,1 (d, $J = 21,2$ Hz, C3'' e C5''); 128,7 (d, $J = 8,0$ Hz, C2'' e C6''); 135,6 (d, $J = 3,5$ Hz, C1''); 144,9 (C6 e C6'); 161,0 (d, $J = 239,2$ Hz, C4''); 166,3 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_4$ 355,1100 g/mol; encontrado: 355,1103 g/mol.



21

3,3'-((3-hidroxifenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona)

(21): refluxo 44 h, sólido branco; rendimento: 59%.

$T_f > 300$ °C.

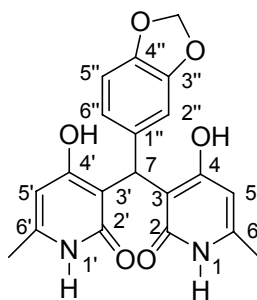
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3274, 3088, 2909, 1628, 1583, 1554, 1452, 1393, 1280, 1246, 1201, 832, 790, 689, 528.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,80 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,89 (s, 1H, H-7); 6,42 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-4''); 6,46 (s, 1H, H-2''); 6,50 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6''); 6,97 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-4''); 9,04 (s, 1H, 3''-OH); 11,64 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,6 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 33,8 (C7); 102,6 (C5 e C5'); 109,9 (C3 e C3'); 113,2 (C4''); 113,9 (C2''); 118,0 (C6''); 129,7 (C5''); 141,6 (C1''); 145,2 (C6 e C6'); 157,2 (C3''); 166,1 (C2 e C2'); 167,6 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$ 353,1143 g/mol; encontrado: 353,1148 g/mol.



22

3,3'-((3,4-metilenodioxifenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**22**): refluxo 60 h, sólido branco; rendimento: 77%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

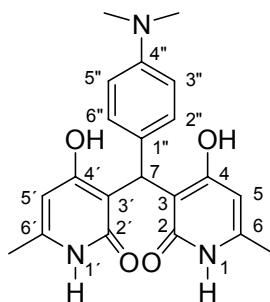
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3273, 3231, 3057, 2893, 2613, 1633, 1503, 1491, 1455, 1390, 1306, 1248, 1238, 1193, 1109, 1042, 931, 842, 815, 615, 537.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,80 (s, 2H, H-5); 5,88 (s, 1H, H-7); 5,93 (s, 2H, - OCH_2O -); 6,44 (dd, 1H, $J = 8,7$ e $1,2$ Hz, H-6''); 6,46 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-2''); 6,73 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-5''); 11,64 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,2 (C7); 101,4 (- OCH_2O -); 102,5 (C5 e C5'), 107,6 (C2''); 108,4 (C5''); 110,3 (C3 e C3'); 119,8 (C6''); 133,5 (C1''); 144,8 (C6 e C6'); 145,6 (C4''); 147,76 (C3''); 166,6 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4'). *Sinais podem estar trocados.

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ 381,1092 g/mol; encontrado: 381,1097 g/mol.



23

3,3'-((4-(dimetilamino)fenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**23**): refluxo 85 h, sólido branco; rendimento: 55%.

Ponto de decomposição = 283,0 °C.

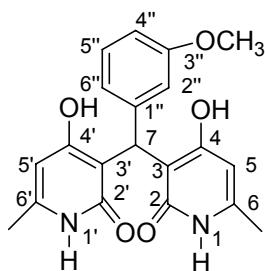
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3435, 3276, 3062, 2899, 2802, 1635, 1519, 1454, 1389, 1350, 1307, 1191, 819, 627, 545.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 2,82 (s, 6H, 4''- $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 5,75 (s, 1H, H-7); 5,87 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,58 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3'' e H-5''); 6,79 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2'' e H-6''); 11,62 (sl 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 33,6 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 111,2 (C3 e C3'); 113,0 (C3'' e C5''); 126,8 (C1''); 127,5 (C2'' e C6''); 144,5 (C6 e C6'); 149,1 (C4''); 167,4 (C2 e C2'); 167,9 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$ 380,1616 g/mol; encontrado: 380,1620 g/mol.



24

3,3'-((3-metoxifenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona)

(24): refluxo 44 h, sólido branco; rendimento: 80%.

$T_f > 300$ °C.

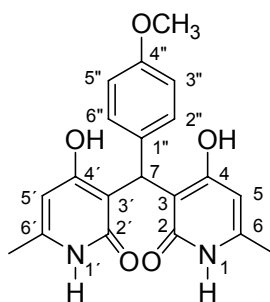
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3289, 3062, 2903, 2836, 1631, 1602, 1457, 1393, 1362, 1281, 1261, 1041, 827, 791, 602, 528.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 3,64 (s, 3H, 3''- OCH_3); 5,85 (s, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,52 (dl, 1H, $J = 0,9$ Hz, H-2''); 6,58 (dd, 1H, $J = 8,1$ e 0,9 Hz, H-4''); 6,71 (dd, 1H, $J = 8,1$ e 2,7 Hz, H-6''); 7,12 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-5''); 11,65 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,4 (H-7); 55,5 (3''- OCH_3); 102,5 (C5 e C5'); 110,2 (C3 e C3'); 110,5 (C6''); 113,6 (C2''); 119,4 (C4''); 129,5 (C5''); 141,4 (C1''); 144,8 (C6 e C6'); 159,8 (C3''); 166,4 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ 367,1299 g/mol; encontrado: 367,1303 g/mol.



25

3,3'-((4-metoxifenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona)

(**25**): refluxo 44 h, sólido branco; rendimento: 69%.

$T_f = 293,0-293,7 \text{ } ^\circ\text{C}$.

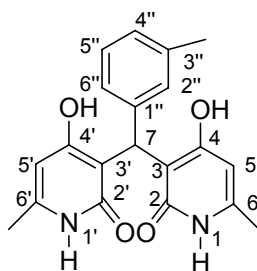
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3269, 3058, 2978, 2612, 2831, 2618, 1633, 1509, 1453, 1389, 1304, 1252, 1194, 1041, 883, 853, 805, 547.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 3,69 (s, 3H, 4''- OCH_3); 5,80 (s, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,77 (d, 2H, $J = 8,4 \text{ Hz}$, H-3'' e H-5''); 6,88 (d, 2H, $J = 8,4 \text{ Hz}$, H-2'' e H-6''); 11,65 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 33,8 (C7); 55,6 (4''- OCH_3); 102,5 (C5 e C5'); 110,5 (C3 e C3'); 113,9 (C3'' e C5''); 127,9 (C2'' e C6''); 131,3 (C1''); 144,7 (C6 e C6'); 157,8 (C4''); 166,7 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ 367,1299 g/mol; encontrado: 367,1300 g/mol.



26

3,3'-((3-metilfenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**26**):

refluxo 16 h, sólido branco; rendimento: 49%.

$T_f > 300$ °C.

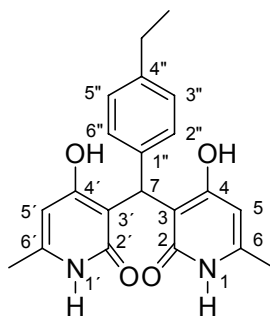
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3446, 3058, 2905, 1634, 1459, 1390, 1365, 1309, 1281, 1257, 1196, 828, 793, 595, 553, 515.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 2,19 (s, 3H, 3''- CH_3), 5,83 (s, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,78 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-4''); 6,80 (s, 1H, H-2''); 6,93 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-6''); 7,09 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-5''); 11,65 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 22,0 (3''- CH_3); 34,4 (C7); 102,6 (C5 e C5'); 110,4 (C3 e C3'); 124,1 (C4''); 126,8 (C6''); 127,4 (C2''); 128,4 (C5''); 137,3 (C1''); 139,5 (C3''); 144,8 (C6 e C6'); 166,0 (C2 e C2'); 167,6 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ 351,1350 g/mol; encontrado: 351,1353 g/mol.



27

3,3'-((4-etilfenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (27):

refluxo 54 h, sólido branco; rendimento: 64%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

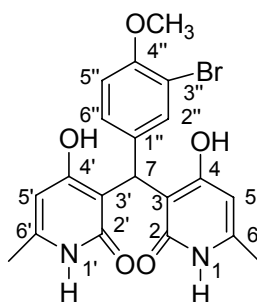
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3446, 3275, 3052, 2963, 1629, 1510, 1459, 1389, 1307, 1256, 1191, 817, 544.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 1,14 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz, 4''-CH₂CH₃); 2,14 (s, 6H, 6-CH₃ e 6'-CH₃); 2,53 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, 4''-CH₂CH₃); 5,81 (s, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,88 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H3'' e H5''); 7,03 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H2'' e H6''); 11,67 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,50 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 16,3 (4''-CH₂CH₃); 18,9 (6-CH₃ e 6'-CH₃); 28,3 (4''-CH₂CH₃); 34,2 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 110,4 (C3 e C3'); 126,8 (C3'' e C5''); 127,9 (C2'' e C6''); 136,6 (C1''); 141,2 (C4''); 144,8 (C6 e C6'); 166,6 (C2 e C2'); 167,4 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ 365,1507 g/mol; encontrado: 365,1512 g/mol.



28

3,3'-((3-bromo-4-metoxifenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**28**): refluxo 48 h, sólido branco; rendimento: 73%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

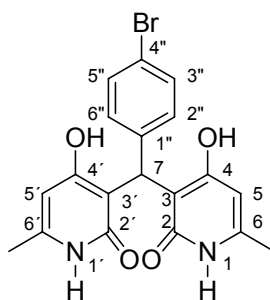
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3430, 3270, 3056, 3008, 2956, 2836, 2622, 1623, 1559, 1458, 1494, 1439, 1394, 1311, 1261, 1194, 1054, 913, 820, 777, 594, 549.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 3,78 (s, 3H, 4''- OCH_3); 5,85 (s, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,88-6,96 (m, 2H, H-5'' e H-6''); 7,07 (s, 1H, H-2''); 11,68 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,20 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 33,5 (C7); 56,8 (4''- OCH_3); 102,5 (C5 e C5'); 109,9 (C3 e C3'); 110,7 (C1''); 112,9 (C5''); 127,6 (C6''); 131,2 (C2''); 133,4 (C3''); 145,0 (C6 e C6'); 153,9 (C4''); 166,3 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_5$ 445,0405 g/mol; encontrado: 445,0409 g/mol.



29

3,3'-((4-bromofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona)

(**29**): refluxo 14 h, sólido branco; rendimento 44%.

$T_f > 300$ °C.

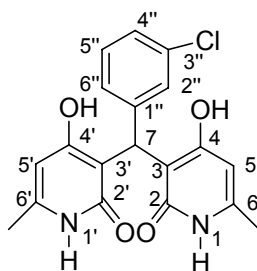
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3411, 3280, 3062, 2897, 2619, 1633, 1485, 1395, 1385, 1311, 1252, 1191, 1009, 882, 812, 598, 544.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,84 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,89 (sl, 1H, H-7); 6,92 (dd, 2H, $J = 8,4$ e $0,9$ Hz, H-2'' e H-6''); 7,39 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3'' e H-5''); 11,70 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,19 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,1 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 109,8 (C3 e C3'); 119,0 (C4''); 129,3 (C2'' e C6''); 131,3 (C3'' e C5''); 139,4 (C1''); 145,0 (C6 e C6'); 166,4 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_4$ 415,0299 g/mol; encontrado: 415,0300 g/mol.



30

3,3'-((3-clorofenil)metileno))bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**30**):

refluxo 15 h, sólido branco; rendimento: 76%.

$T_f > 300$ °C.

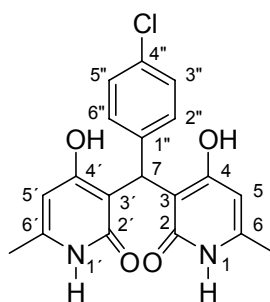
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3278, 3058, 2900, 1631, 1455, 1393, 1363, 1283, 911, 853, 821, 785, 682.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,90 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,92 (s, 1H, H-7); 6,94 (sl, 1H, H-2''); 6,95 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-4''); 7,18-7,27 (m, 2H, H-5'' e H-6''); 11,69 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,15 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,3 (C7); 102,4 (C5 e C5'); 109,6 (C3 e C3'); 125,8 (C2''); 126,1 (C6''); 126,7 (C4''); 30,4 (C5''); 133,4 (C1''); 142,7 (C3''); 145,1 (C6 e C6'); 166,3 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_4$ 371,0804 g/mol; encontrado: 371,0850 g/mol.



31

3,3'-((4-clorofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**31**):

refluxo 14 h, sólido branco; rendimento 72%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

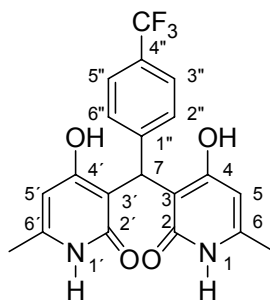
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3426, 3278, 3058, 2903, 2626, 1633, 1490, 1459, 1387, 1316, 1256, 1192, 1095, 1015, 885, 825, 715, 599, 545.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,15 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,87 (sl, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,99 (dd, 2H, $J = 8,4$ e $0,9$ Hz, H-2'' e H-6''); 7,26 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3'' e H-5''); 11,68 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,25 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,1 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 109,8 (C3 e C3'); 128,4 (C3'' e C5''); 128,9 (C2'' e C6''); 130,6 (C1''); 138,9 (C4''); 145,0 (C6 e C6'); 166,3 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_4$ 371,0804 g/mol; encontrado: 371,0850 g/mol.



32

3,3'-((4-(trifluorometil)fenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**32**): refluxo 40 h, sólido branco; rendimento: 76%.

$T_f > 300\text{ }^\circ\text{C}$.

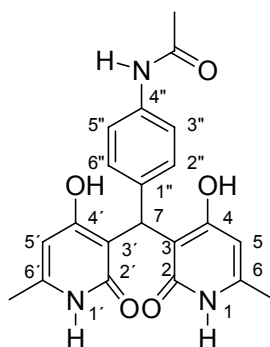
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3447, 3062, 2894, 1631, 1558, 1328, 1160, 1119, 1069, 851, 818, 601, 517.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,16 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,91 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,98 (s, 1H, H-7); 7,19 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H3'' e H5''); 7,58 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H2'' e H6''); 11,70 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,17 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 34,6 (C7); 102,5 (C5 e C5'); 109,6 (C3 e C3'); 125,2 (q, $J = 282,2$ Hz, 4''- CF_3); 125,4 (q, $J = 4,0$ Hz, C3'' e C5''); 126,8 (q, $J = 93,9$ Hz, C4''); 127,0 (C1''); 127,8 (C2'' e C6''); 145,2 (C6 e C6'); 166,3 (C2 e C2'); 167,5 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$ 405,1068 g/mol; encontrado: 405,1072 g/mol.



33

3,3'-((4-N-acetamidofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**33**): refluxo 72 h, sólido branco; rendimento: 56%.

$T_f = 252,7-253,8 \text{ }^\circ\text{C}$.

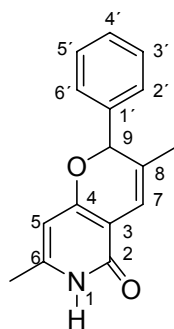
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3421, 3284, 3122, 3062, 1635, 1541, 1510, 1458, 1405, 1387, 1312, 1023, 844, 812, 601, 547.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 1,99 (s, 3H, 4''-NHCH $_3$); 2,15 (s, 6H, 6-CH $_3$ e 6'-CH $_3$); 5,81 (s, 1H, H-7); 5,89 (s, 2H, H-5 e H-5'); 6,89 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H2'' e H6''); 7,38 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H3'' e H6''); 9,81 (s, 1H, 4''-NHCH $_3$), 11,66 (sl, 2H, H-1 e H-1'); 12,43 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,7 (6-CH $_3$ e 6'-CH $_3$); 24,2 (4''-NHCOCH $_3$); 33,6 (C7); 102,6 (C5 e C5'); 110,0 (C3 e C3'); 120,0 (C3'' e C5''); 127,1 (C2'' e C6''); 135,0 (C4''); 136,8 (C1''); 145,1 (C6 e C6'); 166,2 (C2 e C2'); 167,6 (C4 e C4'); 170,1 (4'-NHCOCH $_3$).

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5$ 394,1408 g/mol; encontrado: 394,1413 g/mol.



34

3,7-dimetil-2-fenil-2H-pirano[3,2-c]piridin-5(6H)-ona (**34**): refluxo 190 h, sólido branco; rendimento 49%.

$T_f = 222,4-223,3$ °C.

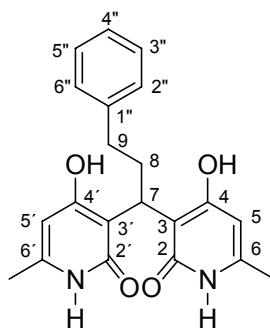
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3446, 3058, 2963, 2897, 2746, 1669, 1647, 1630, 1601, 1565, 1485, 1453, 1394, 1263, 1251, 1145, 1035, 951, 907, 869, 803, 770, 763, 696, 663, 649, 627, 539.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 1,61 (s, 3H, 8- CH_3); 2,04 (s, 3H, 6- CH_3); 5,59 (s, 1H, H-5); 5,77 (s, 1H, H-7); 6,40 (s, 1H, H-9); 7,33-7,37 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5' e H-6'); 11,20 (sl, 1H, H-1).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 19,2 (6- CH_3); 20,0 (8- CH_3); 81,0 (C7); 98,0 (C5); 104,4 (C3); 114,5 (C9); 127,0 (C8); 128,1 (C2' e C6'); 129,4 (C3' e C5'); 129,5 (C4'); 139,5 (C1'); 145,6 (C6); 160,2 (C2); 161,3 (C4).

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ 252,1030 g/mol; encontrado: 252,1036 g/mol.



35

3,3'-(3-fenilpropano-1,1-diil)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**35**):
refluxo 120 h, sólido branco; rendimento 75%.

$T_f = 292,5-295,4 \text{ } ^\circ\text{C}$.

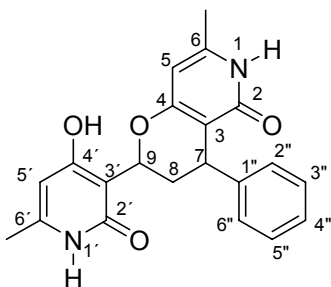
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3446, 3284, 3058, 3042, 3024, 2905, 2622, 1635, 1559, 1455, 1437, 1396, 1257, 1177, 816, 697, 552.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,10 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 2,4 (sl, 2H, H-8); 2,48 (sobreposto ao quinteto do DMSO, correlação observada no HETCOR, H-9); 4,31 (t, 1H, $J = 7,5 \text{ Hz}$, H-7); 5,83 (s, 2H, H-5 e H-5'); 7,06-7,24 (m, 5H, H2'', H3'', H4'', H5'' e H6''); 11,65 (s, 2H, H-1 e H-1'); 11,86 (sl, 1H, 4-OH e 4'-OH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,8 (6- CH_3 e 6'- CH_3), 30,7 (C8); 30,8 (C7); 35,0 (C9); 102,7 (C5 e C5'); 111,5 (C3 e C3'); 126,3 (C4''); 128,9 (C3'' e C5''); 129,0 (C2'' e C6''); 137,5 (C1''); 142,5 (C6 e C6'); 167,1 (C2 e C2'); 167,2 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ 389,1472 g/mol; encontrado: 389,1479 g/mol.



36

4-(4-hidroxi-6-metil-2-oxo-1,2-diidropiridin-3-il)-7-metil-2-fenil-3,4-diidro-2H-pirano[3,2-c]piridin-5(6H)-ona (**36**): refluxo 140 h, sólido branco; rendimento 57%.

$T_f = 254,8-255,6 \text{ } ^\circ\text{C}$.

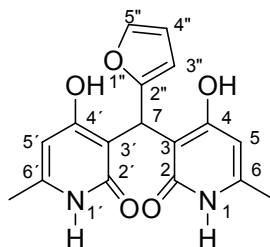
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3418, 3132, 3058, 2932, 1616, 1579, 1455, 1390, 1363, 1321, 1260, 1181, 1155, 1113, 10339, 971, 872, 821, 765, 701, 663, 598.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 1,66 (d, 1H, $J = 13,5$ Hz, H-8); 2,02 (s, 3H, 6- CH_3); 2,09 (s, 3H, 6'- CH_3); 3,10 (dt, 1H, $J = 13,8, 4,8$ Hz, H-8'); 4,01 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz, H-7); 5,12 (dd, 1H, $J = 12,3$ e 1,8 Hz, H-9); 5,62 (s, 1H, H-5); 5,65 (s, 1H, H-5'); 7,08 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz, H-2'' e H-6''); 7,16 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, H-4''); 7,26 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, H-3'' e 5''); 10,44 (s, 1H, 4'-OH); 11,02 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 19,0 (6- CH_3); 19,1 (6'- CH_3); 32,5 (C8); 35,4 (C7); 67,2 (C9); 98,5 (C5); 98,7 (C5'); 104,6 (C3); 105,5 (C3'); 126,4 (C4''); 128,6 (C2'' e C6''); 128,7 (C3'' e C5''); 143,8 (C1''); 146,4 (C6 e C6'); 164,0 (C2); 164,3 (C2'); 164,9 (C4); 166,4 (C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $C_{21}H_{20}N_2O_4$ 363,1350 g/mol;
encontrado: 363,1357 g/mol.



37

3,3'-(furan-2-ilmetileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) **(37):**

refluxo 20 h, sólido amarelo; rendimento 75%.

$T_f = 280,5-281,6$ °C.

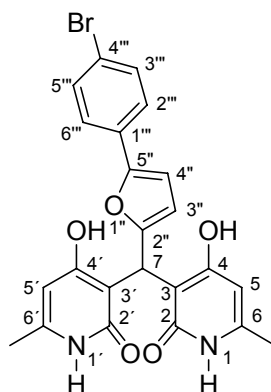
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$: 3425, 2354, 2972, 2880, 2576, 1639, 1621, 1453, 1388, 1354, 1303, 1285, 1100, 1011, 847, 726, 629, 518.

RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ CD_2HSOCD_3 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,13 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,81 (s, 1H, H-7); 5,85 (sl, 2H, H-5 e H-5'); 5,89 (ddd, 1H, $J = 3,3; 1,8$ e 1,5 Hz, H3''); 6,29 (dd, 1H, $J = 3,3$ e 1,8 Hz, H5''); 7,39-7,40 (m, 1H, $J = 2,1$ e 1,5 Hz, H4'');

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,8 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 30,4 (C7); 102,2 (C5 e C5'); 106,3 (C3''); 109,1 (C3 e C3'); 110,8 (C5''); 141,5 (C2''); 144,9 (C6); 153,2 (C4''); 166,1 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $C_{17}H_{16}N_2O_5$ 327,0986 g/mol;
encontrado: 327,0991 g/mol.



38

3,3'-((5-(4-bromofenil)furan-2-il)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**38**): refluxo 20 h, sólido branco; rendimento 95%.

$T_f = 260,3-261,4 \text{ } ^\circ\text{C}$.

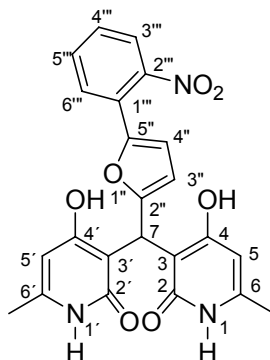
Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3445, 3269, 3052, 3052, 2968, 2890, 2621, 1633, 1478, 1389, 1455, 1313, 1280, 1253, 1508, 1073, 1021, 894, 834, 823, 798, 610, 558, 529.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48), δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,14 (s, 6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,88 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,93 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz; H-7); 6,03 (dd, 1H, $J = 3,3$ e 1,2 Hz, H-3''); 6,84 (d, 1H, $J = 3,3$ Hz, H4''); 7,41 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H3''' e H5'''); 7,51 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H2''' e H6'''); 11,64 (sl, 2H, H-1 e H-1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ 18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 30,5 (C7); 102,2 (C5 e C5'); 108,2 (C4''); 108,8 (C3 e C3'); 109,0 (C3''); 120,2 (C4'''); 125,4 (C3''' e C5'''); 130,5 (C1'''); 132,4 (C2''' e C6'''); 145,0 (C6 e C6'); 150,6 (C2''); 154,2 (C5''); 166,1 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para $C_{23}H_{19}ClN_2O_5$ 437,0910 g/mol;
encontrado: 437,0913 g/mol.



40

3,3'-((5-(2-nitrofenil)furan-2-il)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-
2(1H)-ona (**40**): refluxo 20 h, sólido amarelo; rendimento 68%.

$T_f = 278,3-279,2$ °C.

Dados espectroscópicos

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$: 3445, 3059, 2896, 1631, 1535, 1459, 1393,
1319, 1255, 851, 779, 748, 629.

RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6 ; δ CD_2HSOCD_3 2,48), δ
(multiplicidade, integração, constante de acoplamento, atribuição): δ 2,13 (s,
6H, 6- CH_3 e 6'- CH_3); 5,86 (s, 2H, H-5 e H-5'); 5,89 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-7);
6,06 (dd, 1H, $J = 3,6$ e 1,2 Hz, H3''); 6,74 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz, H4''); 7,43 (ddd,
1H, $J = 8,1, 7,8$ e 1,2 Hz, H4'''); 7,60 (dd, 1H, $J = 6,6$ e 1,2 Hz, H6'''); 7,65 (dt,
1H, $J = 6,6$ e 1,2 Hz, H5'''); 7,71 (ddd, 1H, $J = 8,1, 1,2$ e 0,3 Hz, H3'''); 11,61
(sl, 2H, H-1 e H1').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0), δ (atribuição): δ
18,9 (6- CH_3 e 6'- CH_3); 30,4 (C7); 102,1 (C5 e C5'); 109,0 (C3''); 108,4 (C3 e

C3'); 111,4 (C4"); 123,2 (C1'''); 124,2 (C3'''); 128,2 (C5'''); 128,8 (C4'''); 132,7 (C6'''); 145,0 (C6 e C6'); 146,2 (C2''); 147,7 (C5''); 155,9 (C2'''); 166,0 (C2 e C2'); 167,0 (C4 e C4').

HRMS (ESI TOF-MS): Calculado para C₂₃H₁₉N₃O₇ 448,1150 g/mol; encontrado: 448,1154 g/mol.

4.2.3. Ensaios Biológicos

4.2.3.1. Ensaios de atividade fitotóxica

Todos os 33 compostos sintetizados foram submetidos a dois diferentes ensaios de fitotoxicidade, a uma concentração de 5×10^{-4} mol L⁻¹, em solução aquosa contendo dimetilsulfóxido (0,20%) e Tween 80 (0,15%). No primeiro ensaio, avaliou-se o potencial fitotóxico destes compostos sobre as taxas de germinação e de crescimento radicular em *Cucumis sativus* e *Sorghum bicolor*, em placa de Petri com papel de filtro. No segundo ensaio, foi avaliada a capacidade de produção de biomassa em *C. sativus* e *S. bicolor*, *Ipomoea grandifolia*, *Brachiaria decumbens*, *Amaranthus hybridus*, *Eleusine indica*, em vaso com areia lavada em casa de vegetação (COSTA *et al.*, 1999; DIAS *et al.*, 2009).

Alguns dos compostos sintetizados (10, 14, 20, 21 e 24) foram enviados para Università degli Studi di Ferrara - Itália, no Laboratório di Fisiologia e Biochimica Vegetale, onde o professor Giuseppe Forlani os submeteu a ensaio biológico para avaliar a capacidade de inibição do

transporte de elétrons da fotossíntese pela Reação de Hill, metodologia descrita no capítulo anterior (página 83).

4.2.3.2. Ensaio de atividade antibacteriana

Foram submetidos a ensaio de atividade antibacteriana o material de partida (**5**), os dois intermediários (**6 e 7**) e todos os 33 compostos obtidos (**8-40**).

Foram empregadas cepas de bactérias obtidas do acervo do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa, sendo empregados os microorganismos Gram positivos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus*, ribotipo 1 222-173-S4; e o Gram negativo *Escherichia coli* (ATCC 11229). A atividade dos compostos 5, 6, 7 e 8-40 foi determinada por meio do método de difusão de disco em Ágar (NCCLS, 1997; RUDRA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2010).

As culturas dos microorganismos foram mantidas em nutriente ágar (Sigma) a 37 °C. Para montar o ensaio biológico, foram processadas três repicagens sucessivas em caldo Brain Heart Infusion-Merck (BHI) a temperatura adequada (37 ° C para *S. aureus* e *E. coli* e 32 ° C para *B. cereus*) de incubação de cada microorganismo por 24 h. Alíquotas de 100 µL da terceira repicagem da cultura a 10⁸ UFC mL⁻¹ foram inoculadas utilizando-se a técnica de espalhamento superficial em Ágar Muelle Hinton (Oxoid), adicionado em volumes de 10 mL a placas de Petri de 91 mm de diâmetro. Após a absorção da solução contendo os microorganismos pelo meio, discos

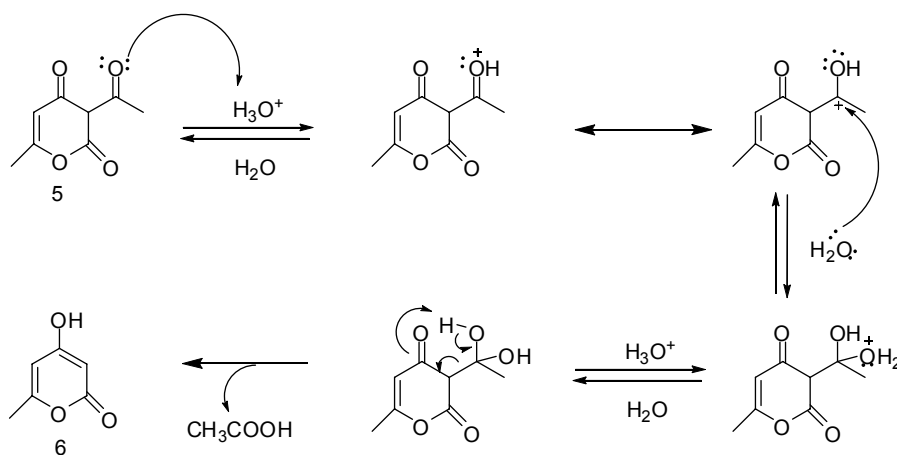
de papel de filtro com 6 mm de diâmetro contendo 200 µg (dissolvidas em 5 µL de dimetilsulfóxido) dos compostos foram depositados sobre o meio de cultura. As placas foram invertidas e incubadas à temperatura ideal de crescimento de cada microorganismo (37 °C para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e 32 °C para *Bacillus cereus*) por 48 h. Os diâmetros das zonas de inibição foram medidos usando um paquímetro e expresso em milímetros. O antibiótico estreptomicina (10 µg) foi utilizado como controle positivo, e água estéril e DMSO serviram como controles negativos e foram incluídos em cada experimento. Cada teste foi realizado em três triplicatas e repetido duas vezes.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Síntese dos Bis(piridil)metanos

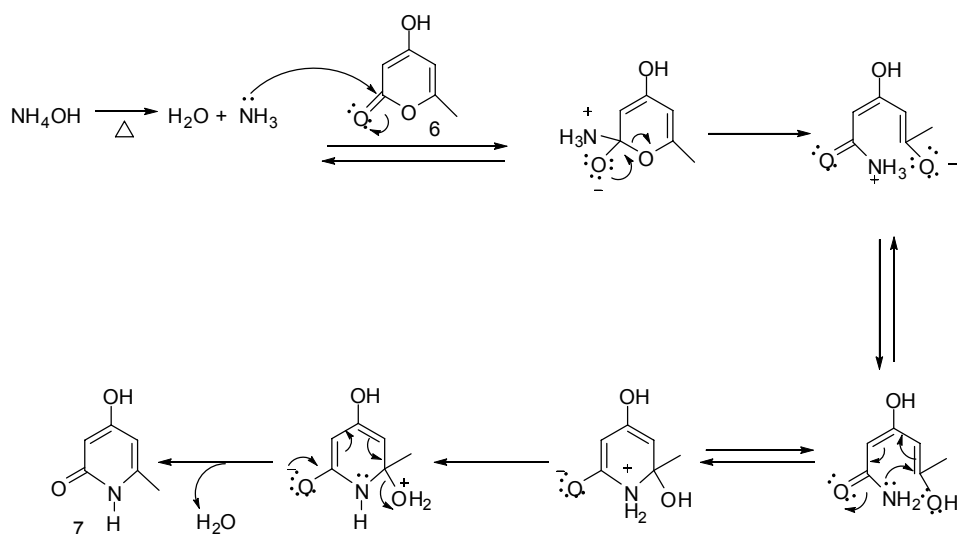
A reação do ácido desidroacético com ácido sulfúrico produziu o composto **(6)** com excelente rendimento (86%). Segundo Coliie (1891), a reação entre o ácido desidroacético e o ácido sulfúrico concentrado a uma temperatura de 150 °C leva à completa decomposição do ácido desidroacético, com produção do ácido acético. Entretanto, se o ácido sulfúrico for levemente diluído com 8-10% de água, a reação ocorre a temperaturas de 130-135 °C, em poucos minutos, produzindo o composto **(6)** com rendimentos que variam de 80-90%. Contudo, rendimentos superiores encontram-se registrados na literatura. Nagawade *et al.* (2005) produziram 36 g do produto de desacetilação a partir de 50 g do ácido

desidroacético (96% de rendimento). Esta reação se processa via hidrólise e leva à desacetilação do ácido desidroacético, conforme a proposta de mecanismo registrada no Esquema 4.1.



Esquema 4.1. Proposta de mecanismo para desacetilação do ácido desidroacético.

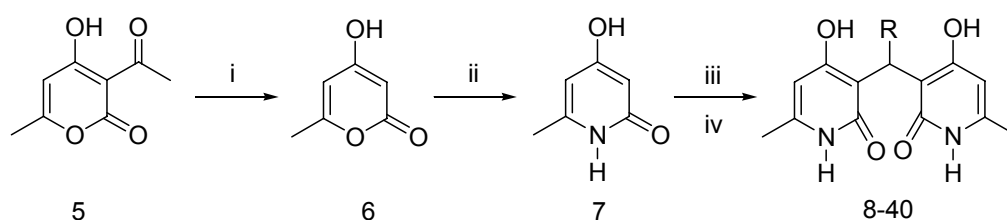
A 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6) obtida pela desacetilação do ácido desidroacético (5) reage com a amônia liberada pelo aquecimento do hidróxido de amônio (Esquema 4.2) produzindo a 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7) com rendimento de 80%.



Esquema 4.2. Proposta de mecanismo para a formação da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7).

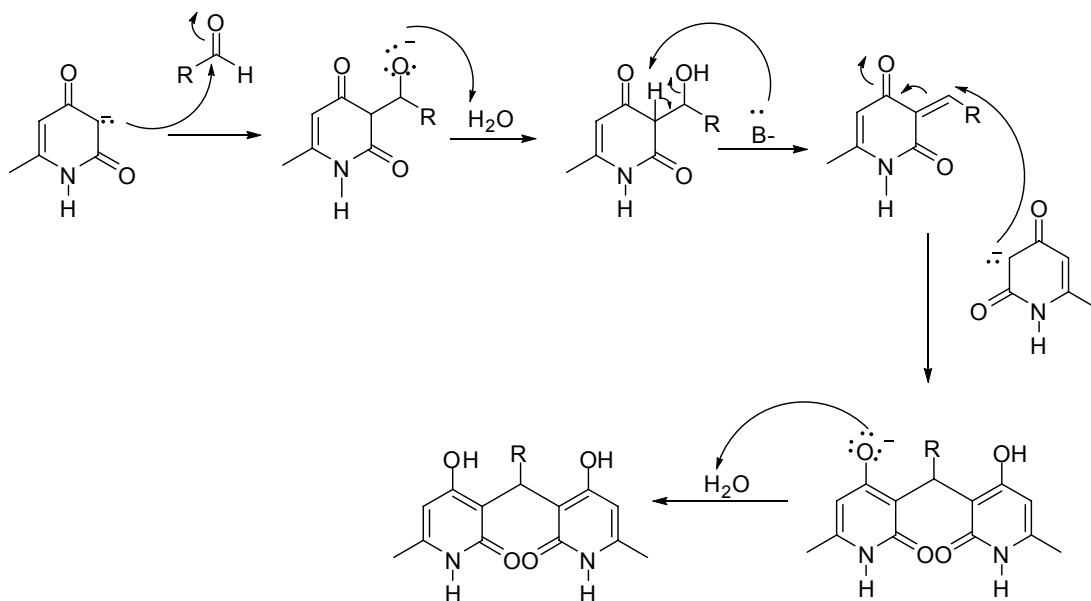
De acordo com relatos de Coliie (1891), a 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6) se dissolve prontamente em solução concentrada de hidróxido de amônio. Sob aquecimento de aproximadamente 100 °C, rapidamente começa a surgir uma nova substância cristalina correspondente ao composto nitrogenado. Apesar de não indicar os valores, este autor relata que a conversão da 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6) em 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7) é muito próxima a 100% de rendimento. Seto *et al.* (1966) produziram, após recristalização, apenas 50 mg partindo de 350 mg do 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (6) (14,4% de rendimento).

O composto (7) foi utilizado para a síntese dos compostos (8-40) (Tabela 4.2) (Esquema 4.3).



Esquema 4.3. Preparação dos bis(piridil)metanos (8-40), i) H₂SO₄ 92% (1:5 mol/mol), 130 °C, 10 min. ii) NH₄OH 28%, (1:5 mol/mol), 100 °C, 6 h. iii) (7) 1,5 mmol, etanol 95% / metanol (1:1 v/v), piperidina (15 µL), piridina (45 µL), 25 °C, 5 min. iv) aldeído (0,75 mmol), refluxo 1,5-210 h.

Nessa reação, a 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7) reagiu com diversos aldeídos sob condições de reações do tipo adição aldólica. A seguir, a desidratação produz uma cetona α,β -insaturada que sofre adição de Michael, fornecendo os correspondentes bis(piridil)metanos com rendimentos que variaram de 20 a 95%. O mecanismo de formação dos bis(piridil)metanos tem sido proposto na literatura e ocorre conforme Esquema 4.4 (FINDLAY *et al.*, 1976).



Esquema 4.4. Mecanismo geral de formação dos bis(piridil)metanos.

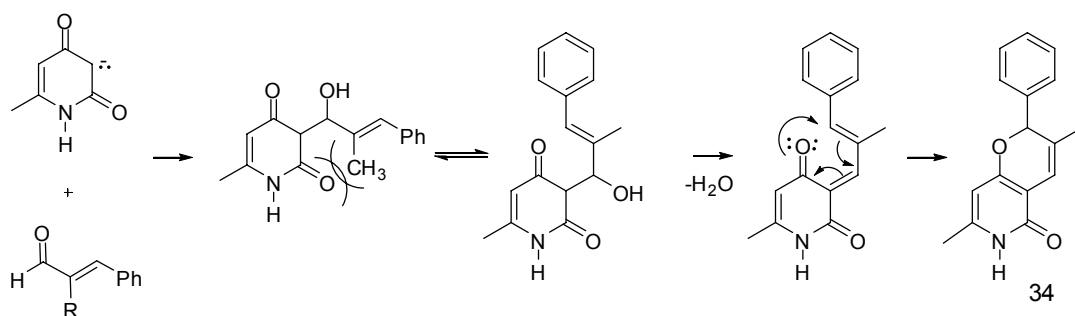
Os espectros de RMN de ^1H dos bis(piridil)metanos apresentam sinais próximos a δ_{H} 2,10 com integral de 6H, correspondentes a dois grupos CH_3 vinílicos δ_{H} 5,90 com integral de 1H referente ao CH sp^3 , δ_{H} 5,80 com integral de 2H correspondente aos dois CH sp^2 e dois sinais referentes a átomos de hidrogênio ligados a heteroátomos, com δ_{H} entre 10 e 13, correspondentes a OH e NH. Enquanto os espectros RMN de ^{13}C apresentam sinais correspondentes a CH_3 próximo a δ_{C} 19,0, CH sp^2 (δ_{C} 102,0), CH sp^3 (δ_{C} 34,0); $\text{C}=\text{O}$ (δ_{C} 166,0), $=\text{COH}$ (δ_{C} 167,0) e dois sinais de carbonos quaternários próximos a 109,0 e 145,0.

Todas as reações levaram à formação de compostos do tipo bis(piridil)metanos, exceto a reação em que o aldeído utilizado foi o (*E*)-2-metilcinamaldeído. Neste caso, apenas um anel piridinona foi detectado na estrutura do produto bicíclico. O bis(piridil)metano, produto da reação entre a piridinona (**7**) o cinamaldeído, foi obtido também na forma de um biciclo.

No caso do (*E*)-2-metilcinamaldeído, a repulsão, devida à proximidade

no espaço entre o grupo metil do aldeído e a carbonila do anel piridinona, inviabiliza a adição do segundo anel piridinona. Em função do impedimento espacial, ocorre rotação da ligação simples, que une o anel piridil ao carbono sp^3 assimétrico do álcool, antes da desidratação que a transforma numa dupla ligação. A rotação desta ligação leva a um intermediário que rapidamente sofre rearranjo produzindo um biciclo contendo um anel piranil fundido ao piridil, conforme proposto no Esquema 4.5. Ao sofrer rearranjo antes da adição do segundo anel piridil, a insaturação, que permitiria a introdução deste segundo anel na posição β -carbonílica, deixa de existir, e a molécula se torna não reativa frente ao ataque da segunda piridinona.

O produto isolado da reação com (*E*)-2-metilcinamaldeído apresentou o pico de $m/z = 276,0095$ no espectro de massas de alta resolução, correspondente à fórmula molecular $C_{16}H_{15}NO_2$. O espectro de RMN de 1H e ^{13}C mostrou sinais correspondentes a 2 CH_3 , 6 $CH\ sp^2$, 1 $C=O$ e cinco carbonos não hidrogenados. Baseado nestas informações, foi proposta a estrutura do biciclo (**34**).

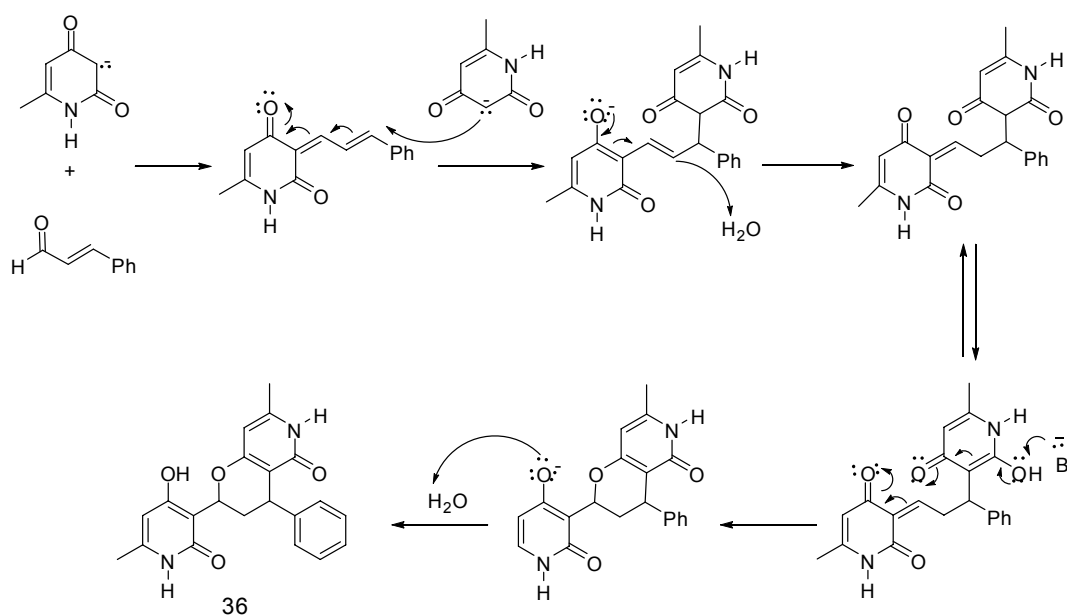


Esquema 4.5. Proposta de mecanismo para o rearranjo de formação do biciclo (**34**) a partir do (*E*)-2-metilcinamaldeído.

Apesar de se encontrar registrado na literatura que a produção de compostos do tipo bis(piridil)metano bicíclico é obtida com a utilização de

grande excesso do aldeído α,β -insaturado (FINDLAY *et al.*, 1976), um composto deste tipo foi obtido utilizando quantidade estequiométrica. A reação com o cinamaldeído forneceu o bis(piridil)metano bicíclico (**36**), conforme mostrado no Esquema 4.6, que apresentou no espectro de massas de alta resolução o pico de $m/z = 387,1301$, condizente com a fórmula molecular $C_{21}H_{20}N_2O_4$.

Os espectros de RMN de 1H e ^{13}C mostraram sinais correspondentes a 2 CH_3 , 1 CH_2 , 6 $CH\ sp^2$, 2 $C=O$ e 7 carbonos não hidrogenados. O fato de ter sido obtido este produto reforça a hipótese de que o impedimento espacial no (*E*)-2-metilcinamaldeído inviabiliza a adição do segundo anel piridinona.



Esquema 4.6. Proposta de mecanismo de formação do bis(piridil)metano bicíclico (**36**) a partir do cinamaldeído.

Os rendimentos das reações variaram de 20 a 95%. O maior rendimento para os aldeídos alifáticos foi de 92% e está associado ao menor tempo reacional (1,5 h) e à menor cadeia carbônica (1C). Observou-se que o

rendimento das reações diminuiu com o aumento da cadeia alifática não ramificada. Entretanto, para o preparo do composto (12), no qual o aldeído empregado possui a cadeia alifática ramificada, houve uma diminuição do tempo de reação e um aumento do rendimento, se comparado aos demais aldeídos alifáticos lineares, com exceção do formaldeído (8).

Contudo, o comportamento destas reações foi semelhante ao encontrado por Findlay *et al.* (1976), que relataram que a reação entre a 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7) com diferentes aldeídos ocorreu com rendimentos de moderados a elevados (45 a 93%). O tempo da reação com o formaldeído, menos de 2 h, foi também muito inferior ao dos demais aldeídos.

Na condensação da 4-hidroxi-6-metilpiridin-2-ona (7) com os aldeídos aromáticos, os rendimentos variaram de 44 a 95%, e o tempo de reação, de 14 a 210 h. O maior rendimento encontrado foi para o 5-(*p*-bromofenil)-2-furfuraldeído. De uma forma geral, as reações com os aldeídos contendo grupos retiradores de elétrons foram mais rápidas, em média 15 h, ou seja, 25 h a menos que a reação com o benzaldeído (40 h). Embora a diferença não tenha sido constante e uniforme, os rendimentos das reações com aldeídos aromáticos, contendo o grupo substituinte na posição *meta*, foram superiores aos rendimentos obtidos com os aldeídos *para* substituídos, independentemente do caráter doador ou retirador de elétrons do substituinte.

O menor tempo de reação para o aldeído contendo grupo eletronegativo está relacionado, certamente, com a formação do primeiro intermediário desta reação, ou seja, o álcool formado pelo ataque

nucleofílico à carbonila aldeídica. O grupo retirador de elétrons reduz a densidade eletrônica da carbonila, proporcionando maior susceptibilidade da mesma a esta reação, facilitando a formação do álcool. A reação segue com desidratação do álcool, levando a uma cetona α,β -insaturada, que sofre adição de Michael, produzindo o bis(piridil)metano correspondente.

Os dados cristalográficos (Tabela 4.1) foram utilizados para gerar as representações gráficas para os compostos.

Tabela 4.1. Dados cristalográficos refinados dos compostos **34**, **35** e **36**

Parâmetros	34	35	36
Fórmula Molecular	C ₁₆ H ₁₅ N ₁ O ₂	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₄	C ₂₁ H ₂₀ N ₂ O ₄ ·0.4 21(C ₂ H ₆ OS)
Fw	253.11	366.41	396.98
Sistema Cristalino / Grupo Espacial	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>C</i> 2/ <i>c</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
Cor do cristal	Colourless	Colourless	Colourless
Dimensões do cristal (mm)	0.60 x 0.06 x 0.04	0.22 x 0.16 x 0.12	0.20 x 0.18 x 0.18
a (Å)	13.8876	21.8480	20.9365
b (Å)	5.7745	12.1257	9.85390
c (Å)	16.4267	16.7405	21.4160
α (°)	90.000	90.000	90.000
β (°)	104.791	121.6650	113.2622
γ (°)	90.000	90.000	90.000
<i>V</i> (Å ³)	1273.67	3774.71	4059.08
Z	4	8	8
<i>D</i> _{calc} (g/cm ³)	1.321	1.289	1.300
<i>T</i> (K)	150	150	150
μ (Mo K α) (mm ⁻¹)	0.09	0.09	0.13
Reflexões coletadas (<i>R</i> _{int})	2923 (0.030)	4264 (0.000)	9268 (0.025)
Dados/restrições/parâmetros	2130/0/173	2471/0/254	9247/60/552
<i>R</i> ₁ (<i>I</i> >2 σ (<i>I</i>))	0.050	0.059	0.084
<i>R</i> ₁ / <i>wR</i> ₂ (todos os dados)	0.079	0.142	0.123

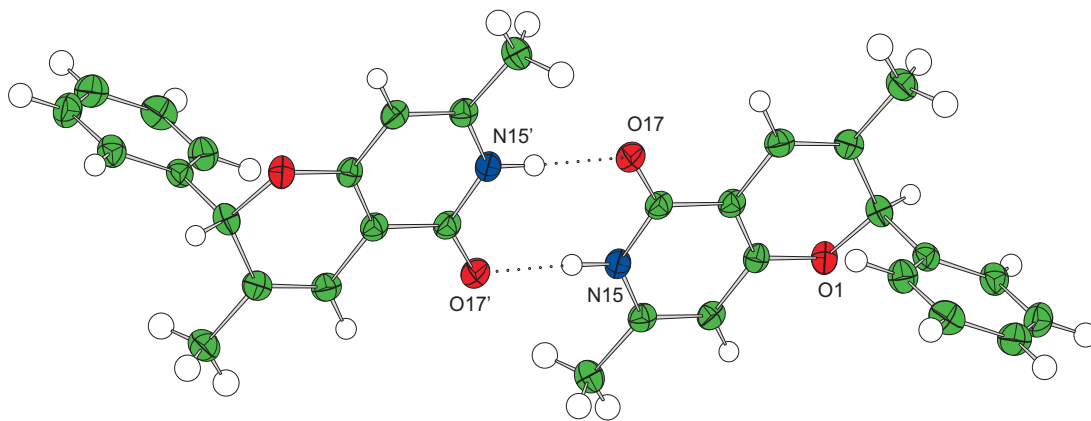


Figura 4.2. Representação da estrutura molecular do composto (34).

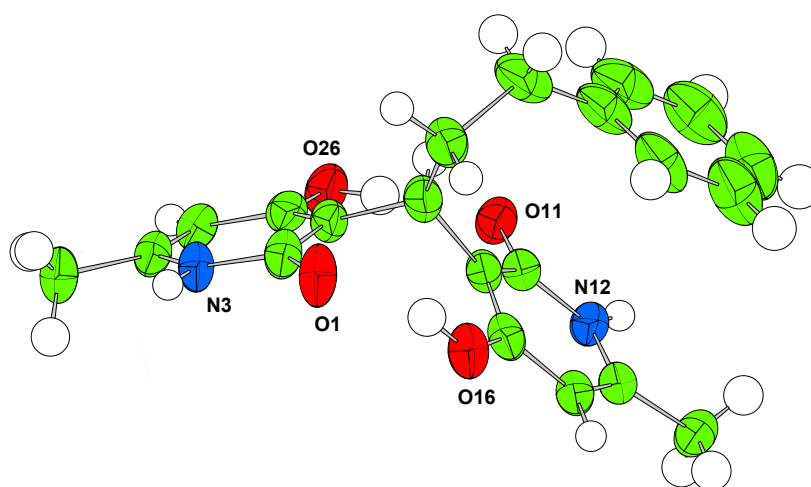


Figura 4.3. Representação da estrutura molecular do composto (35).

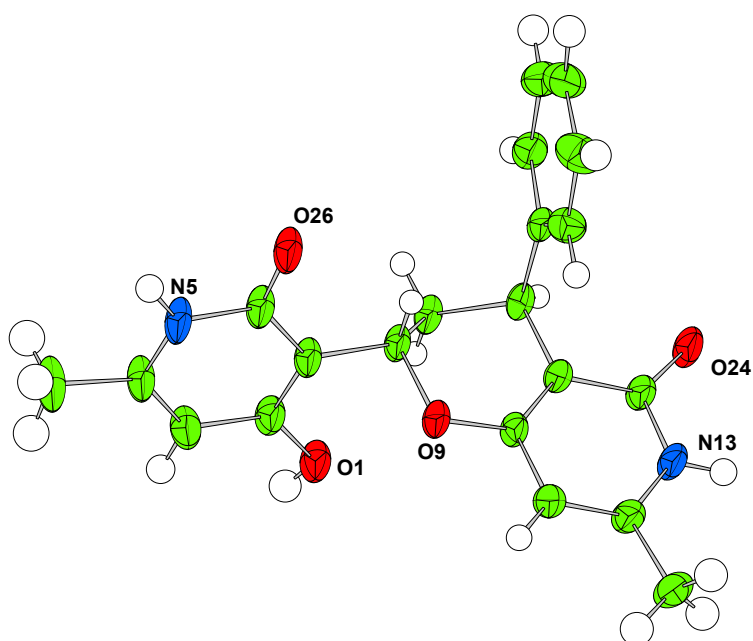


Figura 4.4. Representação da estrutura molecular do composto (36).

Tabela 4.2. Dados referentes ao preparo dos compostos (8-40), sintetizados conforme o Esquema 4.1

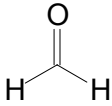
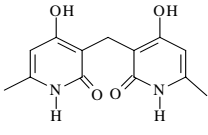
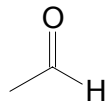
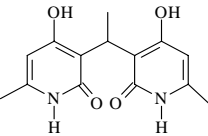
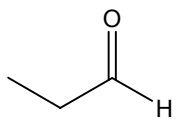
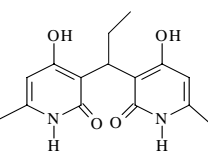
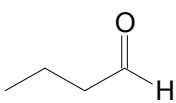
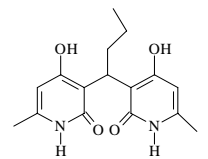
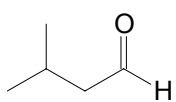
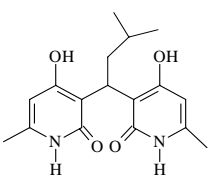
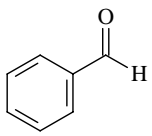
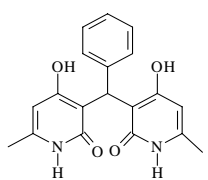
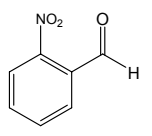
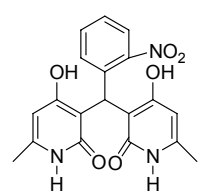
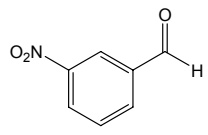
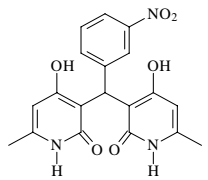
Código	Aldeído	Tempo de reação (h)	Produto	Rendimento
8		1,5		0,69 mmol 92%
9		90		0,26 mmol 35%
10		90		0,42 mmol 56%
11		90		0,15 mmol 20%
12		16		0,50 mmol 67%
13		40		0,42 mmol 56%
14		210		0,54 mmol 72%
15		15		0,52 mmol 69%

Tabela 4.2. Continuação

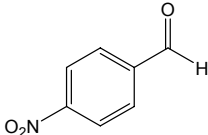
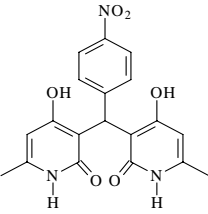
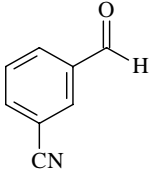
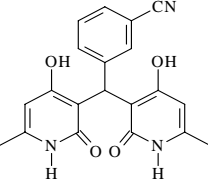
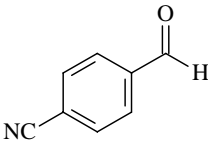
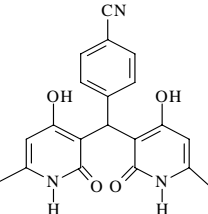
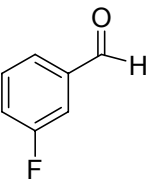
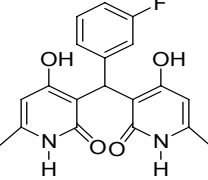
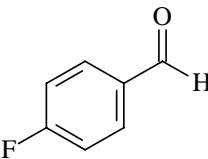
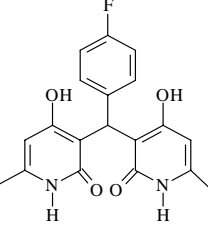
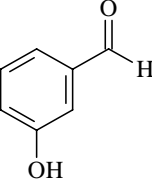
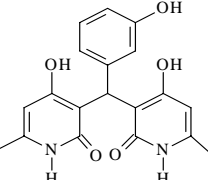
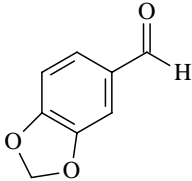
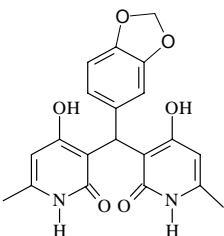
Código	Aldeído	Tempo de reação (h)	Produto	Rendimento
16		15		0,49 mmol 65%
17		15		0,63 mmol 84%
18		15		0,55 mmol 73%
19		15		0,60 mmol 80%
20		15		0,61 mmol 81%
21		44		0,44 mmol 59%
22		60		0,58 mmol 77%

Tabela 4.2. Continuação

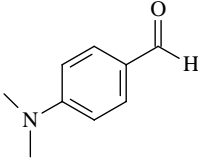
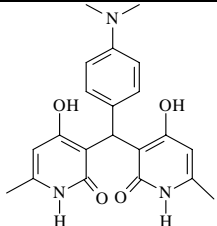
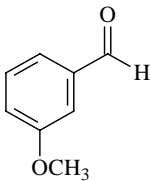
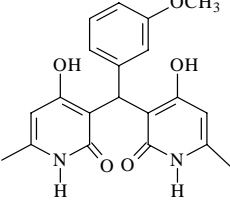
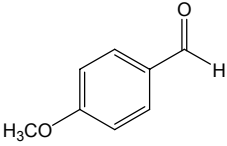
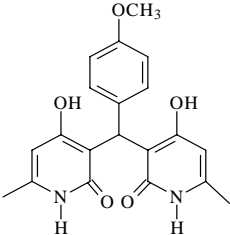
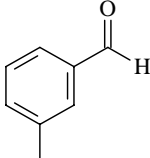
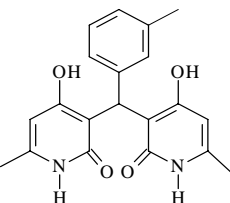
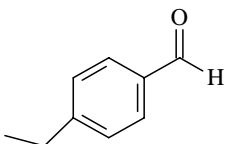
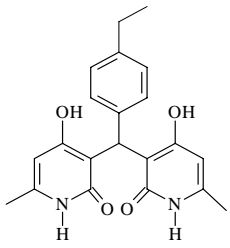
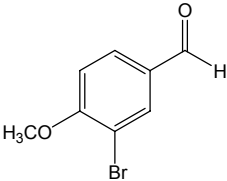
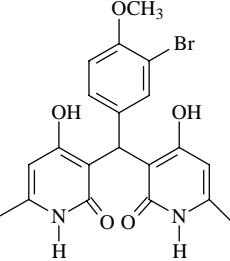
Código	Aldeído	Tempo de reação (h)	Produto	Rendimento
23		85		0,41 mmol 55%
24		44		0,60 mmol 80%
25		60		0,52 mmol 69%
26		16		0,37 mmol 49%
27		54		0,48 mmol 64%
28		48		0,55 mmol 73%

Tabela 4.2. Continuação

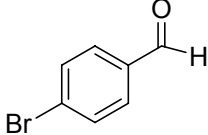
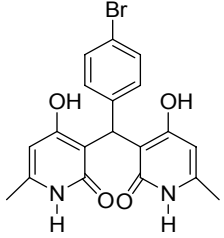
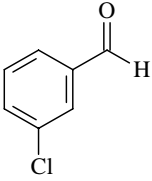
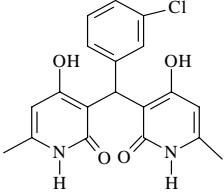
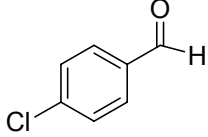
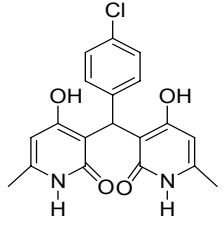
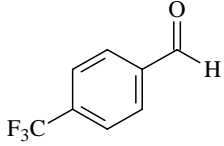
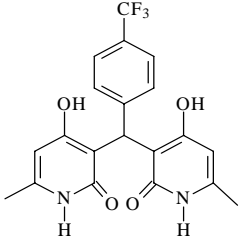
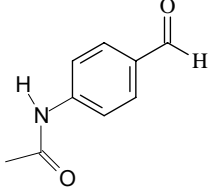
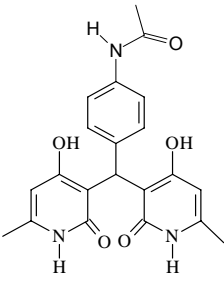
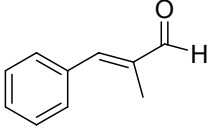
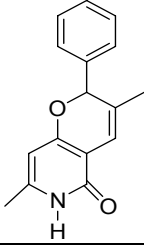
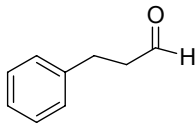
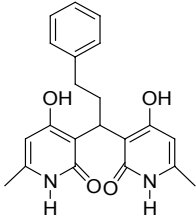
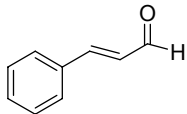
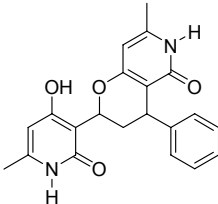
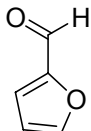
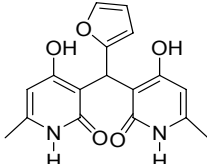
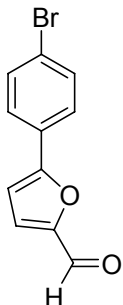
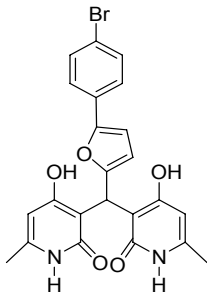
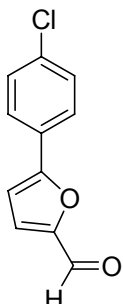
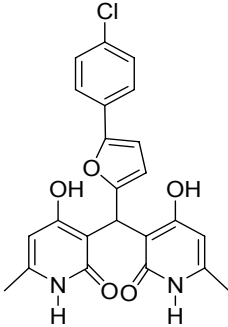
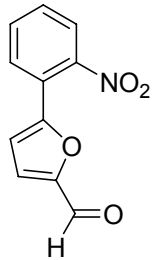
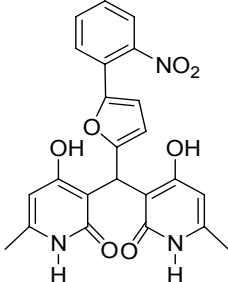
Código	Aldeído	Tempo de reação (h)	Produto	Rendimento
29		14		0,33 mmol 44%
30		15		0,57 mmol 76%
31		14		0,54 mmol 72%
32		40		0,54 mmol 76%
33		72		0,42 mmol 56%
34		190		0,37 mmol 49%

Tabela 4.2. Continuação

Código	Aldeído	Tempo de reação (h)	Produto	Rendimento
35		120		0,56 mmol 75%
36		140		0,43 mmol 57%
37		20		0,56 mmol 75%
38		20		0,71 mmol 95%
39		8		0,62 mmol 83%
40		20		0,51 mmol 68%

4.3.2. Ensaio de fitotoxicidade - efeito na germinação e no crescimento radicular de *C. sativus* e *S. bicolor*

Todos os 33 bis(piridil)metanos foram avaliados quanto ao seu efeito sobre a germinação e o crescimento radicular de *C. sativus* e *S. bicolor*. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Valores de inibição ao desenvolvimento radicular de *C. sativus* e *S. bicolor* causada pelos bis(piridil)metanos a 5×10^{-4} mol L⁻¹

Composto	<i>C. sativus</i>	<i>S. bicolor</i>	Composto	<i>C. sativus</i>	<i>S. bicolor</i>
	Inibição (%)	Inibição (%)		Inibição (%)	Inibição (%)
8	27,5 Ca	27,1 Ca	25	21,4 Da	-10,8 Fb
9	31,2 Ca	23,9 Db	26	17,8 Eb	28,7 Da
10	30,2 Ca	26,9 Ca	27	-8,6 Gb	28,6 Ca
11	-4,1 Gb	19,2 Da	28	34,5 Ba	20,9 Db
12	23,3 Da	12,0 Eb	29	38,6 Ba	16,9 Db
13	36,5 Ba	18,9 Db	30	27,6 Ca	-6,8 Fb
14	38,2 Ba	12,2 Eb	31	31,4 Ca	27,4 Ca
15	22,5 Da	24,9 Da	32	24,7 Da	26,9 Ca
16	14,4 Eb	23,9 Da	33	2,1 Fa	6,9 Ea
17	37,6 Ba	29,8 Cb	34	40,9 Ba	44,2 Ba
18	30,8 Ca	33,6 Ca	35	38,6 Ba	25,1 Db
19	28,9 Ca	24,3 Da	36	45,3 Aa	44,3 Ba
20	27,0 Ca	30,7 Ca	37	40,4 Ba	44,7 Ba
21	31,5 Ca	32,1 Ca	38	44,0 Ab	58,4 Aa
22	40,2 Ba	25,2 Db	39	49,2 Aa	25,2 Db
23	31,8 Ca	33,6 Ca	40	47,9 Aa	50,1 Ba
24	20,5 Db	55,6 Aa			

* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, para cada planta, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott e Knott a 5%.

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas, para cada composto, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott e Knott a 5%.

Não foram observadas alterações nas taxas de germinação de nenhuma das plantas avaliadas. Tanto no controle quanto nos tratamentos, a média de germinação ficou em torno de 88% para *S. bicolor* e 94% para *C. sativus*. Entretanto, a maior parte das substâncias causou redução na taxa de crescimento radicular de ambas as espécies.

Comparando os resultados, verifica-se que 15 compostos afetaram as duas plantas com a mesma intensidade. O composto **(8)** causou inibição média de 27% para as duas espécies, enquanto os compostos **10** (28%), **15** (24%), **18** (32%), **19** (27%), **20** (29%), **21** (32%), **22** (33%), **31** (29%), **32** (26%), **33** (4%), **34** (42%), **36** (44%), **37** (42%) e o composto **40** causou a maior inibição média (49%).

Os compostos **11** e **27** causaram indução de crescimento radicular em *C. sativus* de 4,1 e 8,6%, respectivamente. E os compostos **25** e **30** causaram indução de 10,8 e 6,8%, respectivamente, em *S. bicolor*.

Nenhuma correlação entre o tamanho da cadeia e a atividade fitotóxica dos bis(piridil)metanos oriundos dos aldeídos alifáticos pôde ser estabelecida, uma vez que ocorreram grandes variações nos valores de inibição. As taxas de inibição observadas para este conjunto de compostos pode ser considerada de baixa a moderada, variando de 12,0% para *S. bicolor* (composto **12**) a 31,2% para *C. sativus* (composto **9**).

Os bis(piridil)metanos aromáticos substituídos, para as duas espécies, não mostram nenhuma correlação direta entre uma maior ou menor fitotoxicidade com a presença de substituinte no anel. Contra *C. sativus*, apenas quatro compostos (**36**, **38**, **39** e **40**) apresentaram inibição do

crescimento radicular superior ao aromático não substituído (**13**) (36,5%). Dentre estes compostos, apenas o **36** não apresenta o anel furano em sua estrutura, mas apresenta um éter cíclico fundido a um dos anéis piridinona.

A atividade fitotóxica dos derivados sintetizados não parece estar associada ao caráter doador ou retirador de elétrons dos substituintes presentes no anel aromático dos bis(piridil)metanos, uma vez que não há diferença significativa entre as percentagens de inibição dos compostos **14** (*o*-NO₂), **17** (*m*-CN), **22** (-OCH₂O-), **28** (*p*-OCH₃ e *m*-Br) e **29** (*p*-Br) (*C. sativus*), ou entre **17** (*m*-CN), **18** (*p*-CN), **20** (*p*-F), **21** (-OH), **23** (*p*-N(CH₃)₂), **27** (*p*-CH₂CH₃), **31** (*p*-Cl) e **32** (*p*-CF₃) (*S. bicolor*).

4.3.3 Ensaio de fitotoxicidade - efeito na produção de biomassa de *I. grandifolia*, *C. sativus*, *A. hybridus*, *E. indica*, *B. decumbens* e *S. bicolor*

Todos os trinta e três compostos foram avaliados quanto ao efeito na produção de biomassa de *I. grandifolia*, *C. sativus*, *A. hybridus*, *E. indica*, *B. decumbens* e *S. bicolor*, a uma concentração de 5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 4.4 e nas Figuras 4.5 e 4.6.

A maioria dos bis(piridil)metanos reduziu a produção de biomassa, tanto no sistema radicular quanto na parte aérea das seis espécies avaliadas. Entretanto, foi observado que alguns compostos causaram efeito contrário, um aumento de produção de biomassa.

Tabela 4.4. Inibição (%) da produção de biomassa em *A. hybridus*, *C. sativus*, *I. grandifolia*, *B. decumbens*, *E. indica* e *S. bicolor* causada pelos bis(piridil)metanos a 5×10^{-4} mol L⁻¹, parte aérea e sistema radicular

Composto	<i>A. hybridus</i>		<i>C. sativus</i>		<i>I. grandifolia</i>		<i>B. decumbens</i>		<i>E. indica</i>		<i>S. bicolor</i>	
	Parte aérea	Sist. radicular	Parte aérea	Sist. radicular	Parte aérea	Sist. radicular	Parte aérea	Sist. radicular	Parte aérea	Sist. radicular	Parte aérea	Sist. radicular
8	40,7 Bb	20,9 Ec	42,6 Cb	65,0 Ca	64,4 Aa	38,6 Db	31,9 Dc	25,7 Cc	32,6 Cc	32,4 Cb	22,3 Dd	37,4 Bb
9	28,3 Cc	36,0 Dc	63,7 Aa	80,8 Aa	49,8 Bb	45,5 Cb	27,3 Dc	40,5 Bb	17,2 Dd	32,4 Cc	31,8 Cc	48,0 Ab
10	29,2 Cc	29,5 Ec	63,5 Aa	63,9 Ca	68,4 Aa	72,8 Aa	25,3 Dc	33,1 Cc	16,5 Dd	20,5 Dd	51,6 Ab	44,2 Ab
11	26,9 Cb	57,0 Bb	48,2 Ba	79,4 Aa	55,3 Aa	60,6 Bb	-31,0 Id	23,3 Cd	-20,0 Gc	19,7 Dd	53,4 Aa	44,7 Ac
12	48,5 Ba	18,3 Ec	54,3 Aa	60,5 Ca	34,5 Db	51,3 Bb	6,7 Fc	-19,1 Fd	49,9 Aa	23,9 Dc	40,0 Bb	45,3 Ab
13	49,4 Ba	41,8 Cc	34,9 Cb	67,5 Ba	32,8 Db	32,8 Dc	20,1 Ec	13,0 Dd	27,6 Cc	55,4 Ab	18,1 Dc	31,7 Bc
14	51,1 Bc	56,0 Bb	60,7 Ab	73,2 Ba	61,5 Ab	51,9 Bb	80,3 Aa	69,5 Aa	41,6 Bc	61,7 Ab	47,2 Bc	31,6 Bc
15	26,8 Cc	35,7 Db	43,3 Cb	58,8 Ca	57,7 Aa	50,3 Ba	20,2 Ec	26,1 Cb	6,2 Dd	47,8 Ba	35,0 Cb	34,2 Bb
16	22,8 Dc	41,7 Cb	55,8 Aa	64,0 Ca	45,8 Cb	67,6 Aa	13,0 Fd	8,5 Ec	25,0 Cc	33,3 Cb	62,8 Aa	36,9 Bb
17	27,6 Cb	49,6 Ca	38,6 Ca	30,6 Db	42,1 Ca	16,0 Ec	44,8 Ca	36,6 Bb	25,7 Cb	27,7 Cb	29,9 Cb	31,3 Bb
18	61,6 Aa	71,0 Aa	56,7 Aa	69,2 Ba	31,5 Db	35,3 Dc	29,2 Db	29,6 Cc	34,4 Cb	58,3 Ab	50,3 Aa	39,7 Ac
19	19,5 Dc	38,2 Db	33,0 Db	70,8 Ba	52,7 Ba	62,4 Aa	39,3 Cb	42,1 Bb	32,7 Cb	17,1 Dc	37,1 Cb	36,4 Bb
20	17,9 Dc	17,3 Ec	54,9 Aa	67,3 Ba	42,7 Cb	67,0 Aa	21,1 Ec	22,8 Cc	16,2 Dc	52,9 Ab	51,3 Aa	43,0 Ab
21	-21,9 Ed	24,1 Ed	41,7 Ca	61,7 Cb	47,9 Ba	73,5 Aa	30,4 Db	20,7 Cd	-12,1 Fc	46,6 Bc	42,0 Ba	50,1 Ac
22	61,4 Aa	59,2 Bb	47,3 Bb	71,5 Ba	56,3 Aa	70,0 Aa	35,5 Dc	24,9 Cd	17,8 Dd	25,8 Cd	33,5 Cc	41,7 Ac
23	46,1 Bb	58,3 Ba	45,8 Bb	62,5 Ca	58,1 Aa	62,4 Aa	35,1 Dc	29,1 Cc	29,5 Cc	42,2 Bb	55,4 Aa	40,9 Ab

Tabela 4.4. Continuação

24	-36,9 Fe	24,2 Ed	51,3 Ba	79,4 Aa	54,9 Aa	66,6 Ab	8,9 Fc	19,6 Cd	-15,2 Fd	20,0 Dd	35,1 Cb	45,8 Ac
25	29,2 Cb	35,3 Dd	53,0 Ba	79,6 Aa	58,3 Aa	55,3 Bb	18,8 Ec	16,3 De	35,8 Cd	45,1 Bc	17,3 Dc	33,0 Bd
26	-76,4 He	49,2 Cb	46,1 Ba	72,4 Ba	36,5 Da	65,8 Aa	-16,2 Hc	6,8 Ed	-30,9 Hd	28,7 Cc	26,7 Cb	28,2 Bc
27	51,0 Ba	46,1 Cb	41,7 Cb	54,9 Ca	52,8 Ba	64,3 Aa	54,2 Ba	60,4 Aa	53,9 Aa	38,5 Bc	31,1 Cc	30,9 Bc
28	-53,7 Ge	45,7 Cd	29,8 Db	66,7 Ba	50,7 Ba	51,5 Bb	8,7 Fc	11,5 Dd	-29,9 Hd	-16,9 Ee	37,3 Cb	36,3 Bc
29	31,0 Cc	52,8 Bb	58,3 Aa	70,2 Ba	56,7 Aa	65,3 Aa	27,0 Dc	22,8 Cd	43,5 Bb	59,8 Ab	58,1 Aa	44,0 Ac
30	13,0 Dc	45,9 Cb	34,7 Cb	64,6 Ca	42,7 Ca	56,7 Ba	18,6 Ec	24,0 Cc	-1,0 Ed	29,9 Cc	29,2 Cb	33,9 Bc
31	47,1 Ba	56,9 Bb	52,5 Ba	76,8 Aa	39,2 Db	71,1 Aa	-11,7 Hd	15,5 De	16,9 Dc	30,1 Cd	33,0 Cc	40,6 Ac
32	27,0 Cc	29,8 Ec	37,3 Cb	72,8 Ba	48,8 Ba	46,4 Cb	-23,9 Ie	-51,1 Gd	31,0 Cc	42,8 Bb	16,0 Dd	29,8 Bc
33	25,0 Cb	-38,6 Fd	44,9 Ba	56,9 Ca	48,4 Ba	16,0 Ec	13,1 Fc	30,3 Cb	8,6 Dc	29,0 Cb	27,7 Cb	39,3 Ab
34	67,6 Aa	52,9 Bb	38,6 Cc	74,5 Aa	56,8 Ab	58,2 Bb	22,9 Dd	27,2 Cd	32,1 Cd	44,6 Bc	42,7 Bc	46,8 Ac
35	24,9 Cb	26,1 Ec	38,7 Ca	57,6 Ca	45,6 Ab	44,3 Cb	-0,1 Gc	2,1 Ed	-10,0 Fd	25,5 Cc	40,2 Ba	38,6 Ab
36	55,7 Aa	58,2 Ba	27,5 Dc	63,8 Ca	49,3 Ba	55,3 Ba	24,6 Dc	31,5 Cc	28,5 Cc	55,0 Aa	38,1 Cb	42,8 Ab
37	26,3 Cb	44,7 Cb	33,0 Db	68,6 Ba	52,1 Ba	60,6 Ba	43,9 Ca	41,9 Bb	28,4 Cb	34,6 Cb	44,3 Ba	36,2 Bb
38	36,3 Ca	54,7 Ba	39,6 Ca	58,3 Ba	38,0 Da	38,4 Db	29,0 Db	26,8 Cc	28,0 Cb	42,6 Bb	30,4 Cb	35,4 Bb
39	33,1 Cb	59,5 Ba	32,3 Db	67,2 Ba	50,4 Ba	70,4 Aa	-26,9 Id	18,3 Dc	18,8 Dc	42,3 Bb	27,9 Cb	34,1 Bb
40	-15,9 Ed	44,2 Cb	17,0 Ec	59,5 Ca	50,7 Ba	30,5 Dc	26,3 Dd	35,1 Bc	13,1 Dc	27,3 Cc	46,7 Ba	40,0 Ab

* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, para cada parte das plantas, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott e Knott a 5%.

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas, para cada composto e parte das plantas, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott e Knott a 5%.

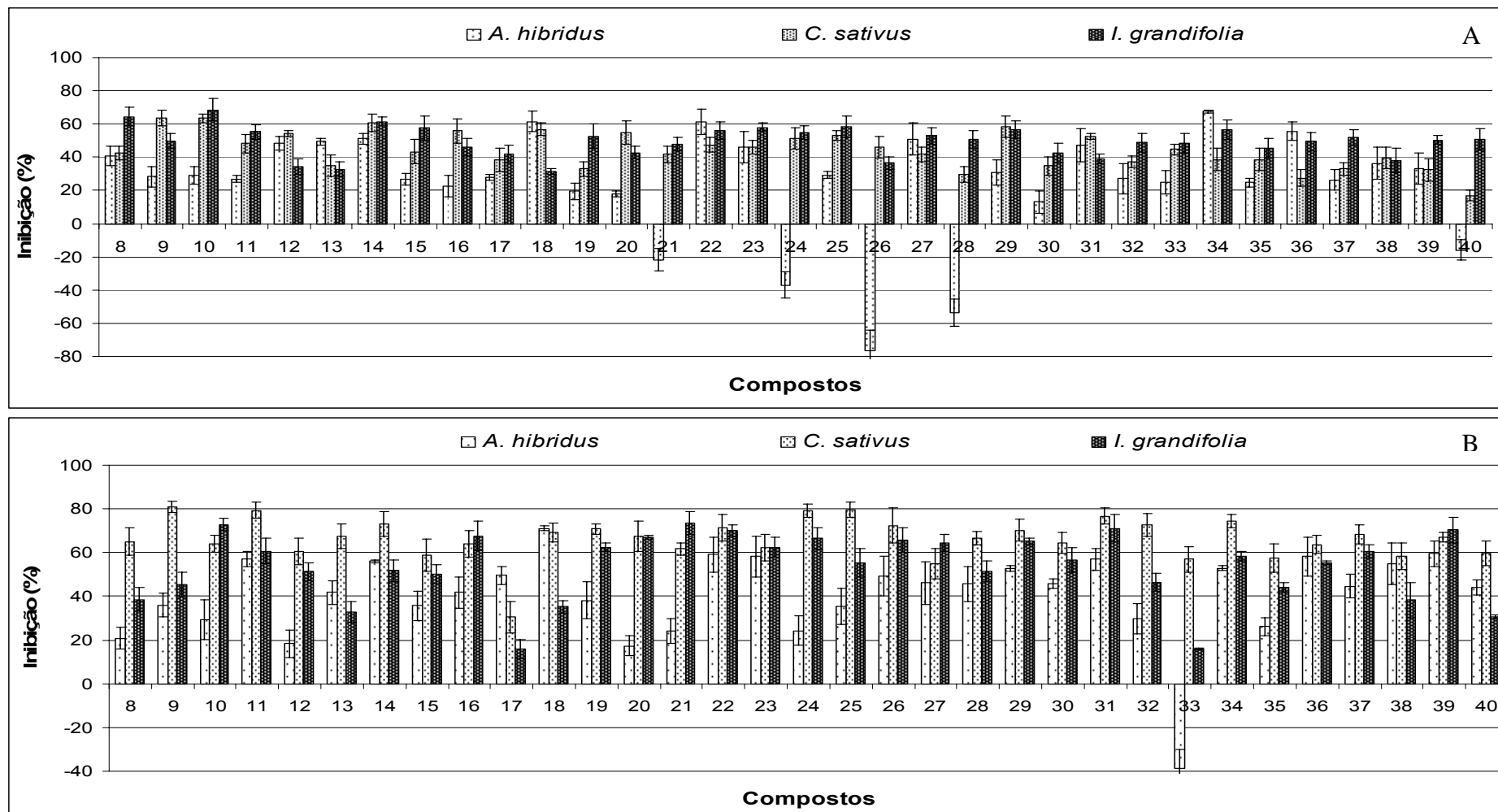


Figura 4.5. Inibição (%) da produção de biomassa sobre a parte aérea (A) e sistema radicular (B) de *A. hybridus*, *C. sativus* e *I. grandifolia* causada pelos bis(piridil)metanos a 5×10^{-4} mol L⁻¹ após 21 dias em casa de vegetação.

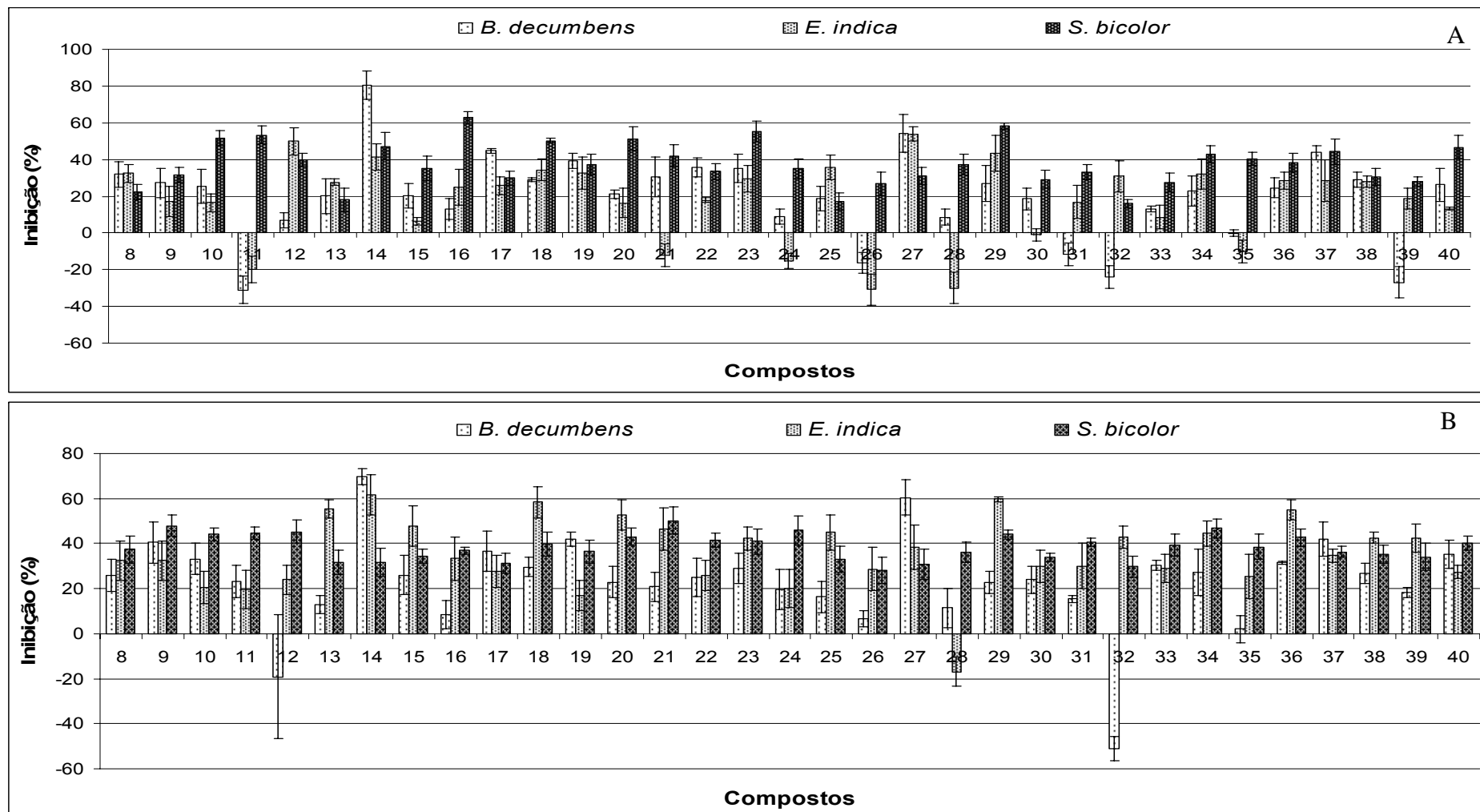


Figura 4.6. Inibição (%) da produção de biomassa sobre a parte aérea (A) e sistema radicular (B) de *B. decumbens*, *E. indica* e *S. bicolor*, causada pelos bis(piridil)metanos a 5×10^{-4} mol L⁻¹ após 21 dias em casa de vegetação.

Dentre as espécies dicotiledôneas (*A. hybridus*, *C. sativus* e *I. grandifolia*), apenas *A. hybridus* sofreu aumento de produção de biomassa na parte aérea provocada pelos compostos **21**, **24**, **26**, **28** e **40** e no sistema radicular causada pelo bis(piridil)metano, composto **33**. Esta planta mostrou-se a mais resistente aos compostos analisados, exibindo os menores valores de inibição da produção de biomassa em seu grupo.

No grupo das monocotiledôneas (*B. decumbens*, *E. indica* e *S. bicolor*), foi observado que um maior número de compostos induziu a produção de biomassa em relação ao grupo das dicotiledôneas. Associado ao fato de os valores de inibição da produção de biomassa nas dicotiledôneas terem sido superiores aos valores observados para as monocotiledôneas, sugere-se que as dicotiledôneas tenham sido mais susceptíveis aos bis(piridil)metanos.

Apenas *S. bicolor* não sofreu indução de produção de biomassa, sendo, portanto, a espécie mais sensível dentre as monocotiledôneas. Os compostos **11**, **26**, **31** e **32** aumentaram a produção de biomassa na parte aérea, enquanto os compostos **12** e **32** aumentaram a produção de biomassa no sistema radicular de *B. decumbens*. Nota-se, portanto, que apenas o composto **32** induziu a produção de biomassa em ambas as partes desta planta. Os compostos **11**, **21**, **24**, **26**, **28** e **35** aumentaram a produção de biomassa na parte aérea e apenas o composto **28** aumentou a produção de biomassa no sistema radicular de *E. indica*. Neste caso, apenas o composto **28** induziu a produção de biomassa em ambas as partes desta planta.

De forma geral, o ensaio de biomassa confirma as observações feitas no ensaio com placa de Petri, em queo aumento da cadeia nos bis(piridil)metanos não está relacionado a um aumento de atividade fitotóxica das espécies avaliadas, uma vez que ocorrem variações nos percentuais de inibição à medida que a cadeia carbônica cresce.

Diversos bis(piridil)metanos aromáticos substituídos causaram inibição à produção de biomassa superior ao composto **13**, indicando uma elevação da fitotoxicidade em função da substituição no anel.

Com relação à espécie *I. grandifolia*, 17 compostos apresentaram inibição superior ao composto **13** (32,8%) na parte aérea, e 16 compostos foram mais ativos que **13** (32,8%) sobre o sistema radicular. Analisando ainda os resultados obtidos, nenhum composto foi menos ativo que o **13** sobre a parte aérea, e apenas dois compostos, o **17** e o **33**, causaram inibição no sistema radicular inferior a tal composto. Com isto, pode-se afirmar que, em longo prazo (21 dias), a substituição no anel aromático eleva a atividade fitotóxica do composto **13** sobre *I. grandifolia*.

O resultados para *C. sativus* não mostraram uma relação consistente entre o aumento da atividade fitotóxica e a substituição do anel. Foram observados que 12, dentre os 20 bis(piridil)metanos aromáticos substituídos, foram mais fitotóxicos e apenas dois menos ativos que o composto **13** (34,9%) sobre a parte aérea de *C. sativus*. Entretanto, os resultados do sistema radicular mostram apenas quatro compostos com inibição superior aos 67,5% apresentados pelo composto **13**, mas 8 compostos foram menos ativos que 67,5%. Dessa forma, o número de compostos mais ativos que **13** é pequeno e não representa uma evidência de que a substituição no anel

eleva a fitotoxicidade do composto **13**. De acordo com os resultados obtidos, em 72 h para o sistema radicular de *C. sativus*, a presença de um substituinte no anel aromático não aumenta a fitotoxicidade dos bis(piridil)metanos sobre *C. sativus*. O mesmo ocorre com *A. hybridus*, em que, apenas dois compostos apresentaram inibição superior aos 49,4% do composto **13** sobre a parte aérea, e quatro superiores aos 41,8% deste composto no sistema radicular. Dentre as três dicotiledôneas, em duas (*C. sativus* e *A. hybridus*) não há evidências de que a presença de um substituinte no anel aromático possa elevar a fitotoxicidade do composto **13**.

No caso de *E. indica* (monocotiledônea), o composto **13** causou 27,6% de inibição sobre a parte aérea e 55,4% sobre o sistema radicular, entre os demais compostos, apenas três foram mais fitotóxicos sobre a parte aérea, e todos foram menos ativos sobre o sistema radicular. Novamente, a substituição no anel não aumenta a atividade fitotóxica do composto **13**. Entretanto, em *B. decumbens* (monocotiledônea), os valores observados para o composto **13** foram 20,1% sobre a parte aérea e 13% sobre o sistema radicular. E o número de compostos mais ativos sobre a parte aérea e o sistema radicular foram nove e quatorze, respectivamente, indicando que a substituição no anel potencializa a fitotoxicidade do composto **13**.

Apesar de menos susceptível à ação dos bis(piridil)metanos que as dicotiledôneas, *S. bicolor* foi a monocotiledônea mais sensível. Dezoito compostos aromáticos substituídos foram mais fitotóxicos que o **13** (18,1%) sobre a parte aérea, e nove compostos foram mais tóxicos que o **13** (31,7%) sobre o sistema radicular. Contudo, nenhum composto apresentou toxicidade menor que o **13** sobre a parte aérea ou o sistema radicular. Isto

está de acordo com a tendência observada em curto prazo (72 h), em que apenas quatro compostos foram menos ativos que o composto **13**. Neste caso, foi observado que a substituição no anel contribui para um aumento da fitotoxicidade ou não diminui a atividade fitotóxica dos bis(piridil)metanos.

O composto **18** foi o único a provocar sintomas de intoxicação, e isto ocorreu em uma única espécie avaliada, *Eleusine indica*. Foram observadas necroses nas folhas de todas as plantas das quatro repetições deste tratamento (Figura 4.7).

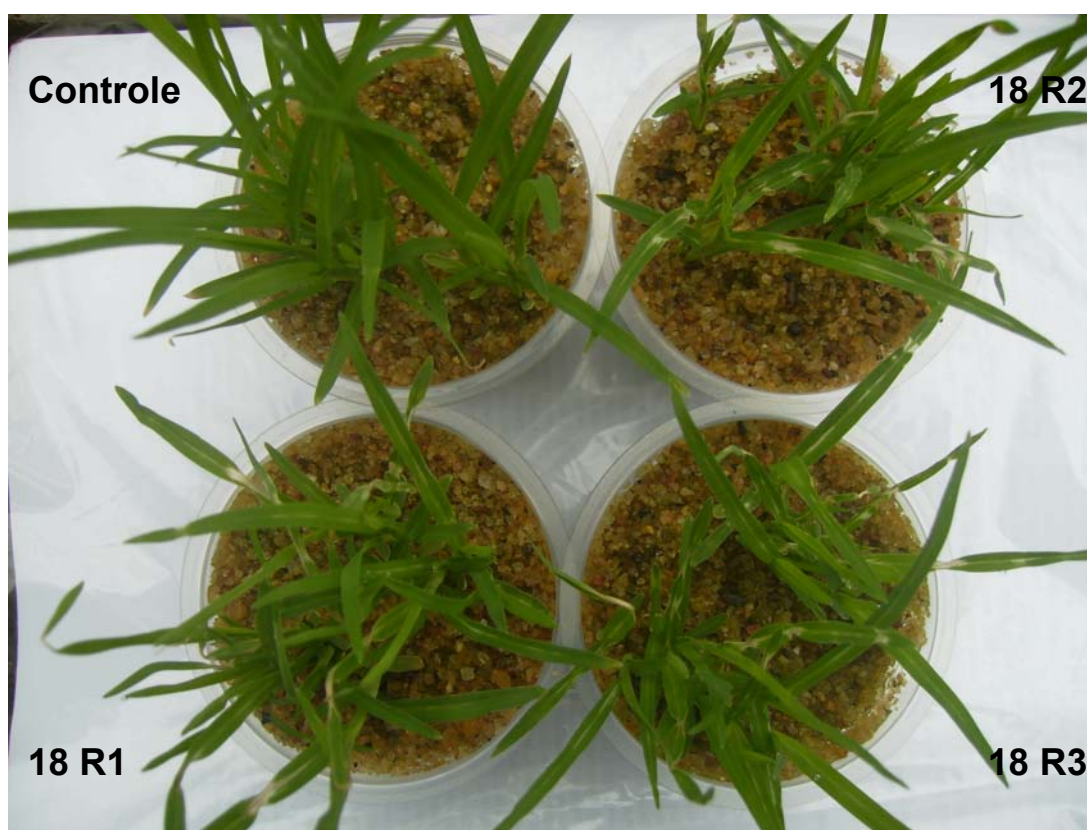


Figura 4.7. Sintomas de intoxicação causados pelo composto **18** em *Eleusine indica*. Tratamentos controle, repetições R1, R2 e R3 das quatro repetições.

O aparecimento de necrose em *E. indica* é um indicativo de que os bis(piridil)metanos são absorvidos pelo sistema radicular e translocados pela planta, atuando como um herbicida sistêmico. Um composto capaz de

causar grande quantidade de necroses pode comprometer funções vitais da planta, como fotossíntese e transporte de nutrientes, levando-a à morte.

Em relação à natureza do substituinte, foi observado em *I. grandifolia* que os compostos mais ativos, com média 57% de inibição sobre a parte aérea, foram os compostos **15** (*m*-NO₂), **21** (*m*-OH), **22** (3,4-OCH₂O-), **23** [*p*-N(CH₃)₂], **24** (*m*-OCH₃), e **28** (*p*-OCH₃, *m*-Br), enquanto, para o sistema radicular, foram os compostos **20** (*p*-F), **21** (*m*-OH) e **31** (*p*-Cl) com média de 57% de redução da produção de biomassa. Isso reflete uma falta de ligação entre a atividade fitotóxica e o caráter doador ou retirador de elétrons do substituinte. Esta afirmação é válida para *C. sativus*, em que os compostos mais ativos sobre a parte aérea foram os compostos **14** (*o*-NO₂), **16** (*p*-NO₂), **18** (*p*-CN), **19** (*m*-F) e **28** (*p*-OCH₃, *m*-Br), com média de inibição igual a 57%, enquanto, para o sistema radicular, foram os compostos **23** [*p*-N(CH₃)₂], **24** (*m*-OCH₃) e **31** (*p*-Cl), com 79%. A mesma observação pode ser estendida também para *A. hybridus*, uma vez os compostos mais fitotóxicos sobre a parte aérea foram os compostos **18** (*p*-CN) e **22** (*m*-OH), com média de inibição de 61%, e sobre o sistema radicular foi o composto **18** (*p*-CN), com média de 71% de inibição.

Em nenhuma das três monocotiledôneas foi observada relação clara entre a atividade fitotóxica e o caráter doador ou retirador de elétrons do substituinte. Para *S. bicolor*, os compostos mais ativos sobre a parte aérea foram o **16** (*p*-NO₂) e o **28** (*p*-OCH₃, *m*-Br), com média de inibição de 60%. Para o sistema radicular, os mais fitotóxicos foram os compostos **18** (*p*-CN), **19** (*m*-F), **20** (*p*-F), **21** (*m*-OH), **22** (3,4-OCH₂O-), **23** [*p*-N(CH₃)₂], **28** (*p*-OCH₃, *m*-Br), **31** (*p*-Cl) e **33** (*p*-NHCOCH₃) com média de 43% de inibição. Para *B.*

decumbens, destaca-se o composto **14** (*o*-NO₂), com inibição de 80% sobre a parte aérea, e no sistema radicular destacam-se o composto **14** (*o*-NO₂) e o **27** (*p*-CH₂CH₃), com média de 65% de inibição. Enquanto em *E. indica* o composto mais ativo sobre a parte aérea foi o **27** (*p*-CH₂CH₃), com média de inibição de 54%, no sistema radicular, foram os compostos **14** (*o*-NO₂), **18** (*p*-CN), **20** (*p*-F) e **29** (*p*-Br), com média de 65% de inibição.

No texto acima, foram feitas 39 citações de compostos mais fitotóxicos sobre a parte aérea e o sistema radicular: 21 referentes a compostos contendo um grupo retirador de elétrons no anel aromático, 14 contendo grupo doador e as outras 4 citações são do composto que possui um bromo e uma metoxila. Com isto, deduz-se que a presença de um substituinte retirador de elétrons no anel aromático pode estar relacionado a uma maior atividade fitotóxica dos bis(piridil)metanos descritos neste trabalho.

Comparando a ação dos compostos contendo o mesmo substituinte em diferentes posições do anel aromático, **15** (*m*-NO₂), **16** (*p*-NO₂), **17** (*m*-CN), **18** (*p*-CN), **19** (*m*-F), **20** (*p*-F), **30** (*m*-Cl) e **31** (*p*-Cl), sobre a parte aérea de *I. grandifolia*, o substituinte em *meta* causou maior redução na produção de biomassa, exceto o **19**. Esta situação se inverte sobre o sistema radicular, em que todos os compostos cujo substituinte está na posição *para* foram mais ativos. Para *B. decumbens*, os compostos **15**, **17**, **19** e **30** (*meta* substituídos) foram mais fitotóxicos em ambas as partes da planta do que seus respectivos isômeros. Para *A. hybridus*, *C. sativus*, *E. indica* e *S. bicolor*, houve alternância entre a maior fitotoxicidade provocada pelos compostos com anéis *meta* e *para* substituídos, sendo que, em alguns

casos, o potencial fitotóxico apresentado pelos dois isômeros foi estatisticamente similar. Dessa forma, não há indícios de que a posição do substituinte no anel aromático tenha alguma relação com uma elevação da fitotoxicidade.

Em curto prazo (72 h), o composto **36** mostrou-se mais ativo que o **34** e o **35**, indicando que a presença do heterociclo contendo oxigênio como heteroátomo aumenta a fitotoxicidade destes compostos. As observações feitas em longo prazo (21 dias) mostram que, de forma geral, o composto **3** foi mais ativo que o **35** e o **36**, o que confirma a necessidade do heterociclo contendo oxigênio, e, ainda, indica que a presença do segundo anel piridinona pode não ser um requisito fundamental para tal atividade.

Em relação à atividade fitotóxica dos compostos **14**, **29**, **31**, **37**, **38**, **39** e **40**, a combinação do anel furano com o bromofenil em **38**, com o clorofenil em **39** e o nitrofenil em **40**, embora com algumas variações, eleva a fitotoxicidade dos compostos **14**, **29**, **31** e **37** em curto prazo (72 h). Contudo, em longo prazo (21 dias), ocorreu muita variação na resposta das plantas. Assim sendo, não se pode generalizar se há uma tendência de redução ou aumento da fitotoxicidade dos compostos **14** (nitrofenil), **29** (bromofenil), **31** (clorofenil) e **37** (fúril) em longo prazo.

Os compostos **10**, **14**, **20**, **21** e **24**, escolhidos aleatoriamente, foram avaliados quanto ao potencial inibitório do transporte de elétrons por meio da reação de Hill. Os resultados do ensaio da reação de Hill, expressos em função do controle a uma concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ por composto, foram: **10** ($92,6 \pm 0,7\%$), **14** ($133,7 \pm 0,4\%$), **20** ($94,9 \pm 1,4\%$), **21** ($89,4 \pm 0,5\%$) e **24** ($96,8 \pm 0,4\%$). Associando esta informação aos demais ensaios

biológicos, pode-se excluir a hipótese de que o mecanismo de ação destes compostos esteja relacionado ao transporte de elétrons, uma vez que nenhum composto causou redução significativa do transporte de elétrons, sendo evidente uma elevação promovida pelo composto **14**.

4.3.4 Ensaios de atividade antibacteriana

Todos os compostos sintetizados descritos no Capítulo 4 (**8-40**), incluindo o composto de partida (**5**) e os intermediários (**6** e **7**), foram avaliados quanto ao potencial antibacteriano contra os microorganismos *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus*. Neste ensaio, foram utilizados 200 µg de cada composto por disco de papel (6 mm de diâmetro). Entretanto, nenhum halo de inibição significativo foi observado. Todos os halos medidos foram equivalentes aos 6 mm dos controles negativos (água e dimetilssulfóxido).

Considerando o controle positivo, o antibiótico estreptomicina, a uma concentração de 10 µg por disco, causou inibição com halos médios de 16,0 mm em *E. coli*, 15,0 mm em *S. aureus* e 24,0 mm em *B. cereus*. A concentração de bis(piridil)metano utilizada foi 20 vezes maior. Dessa forma, fica descartada qualquer atividade antibacteriana dos compostos avaliados contra estas três espécies de microorganismos.

Esperava-se obter algum halo de inibição, uma vez que o ácido desidroacético, composto comercialmente disponível, normalmente obtido pela autocondensação do acetoacetato de etila, possui propriedades antifúngicas modestas (CHALAÇA *et al.*, 2002). Contudo, mostrou-se inerte às bactérias estudadas.

4.4. CONCLUSÕES

A rota sintética para a síntese dos bis(piridil)metanos utilizando como material de partida o ácido desidroacético mostrou-se eficiente, pois nesse trabalho foram sintetizados trinta e três compostos (**8 - 40**), sendo que em todas as etapas sintéticas foram obtidos bons rendimentos, exceto os bis(piridil)metanos **9** e **11**, em que foram utilizados os aldeídos alifáticos acetaldeído (35% de rendimento) e butanaldeído (20% de rendimento), respectivamente. Além disso, a rota é muito simples, constituída de apenas três etapas que dispensam qualquer processo de purificação, desde que o produto seja bem lavado na etapa de filtração.

Todas as substâncias sintetizadas foram submetidas a ensaios biológicos para avaliar as atividades herbicidas e bactericidas. Verificou-se que diversos compostos avaliados apresentaram elevada inibição de produção de biomassa, evidenciando o potencial fitotóxico desta classe de compostos. Aparentemente, os compostos contendo grupo retirador de elétrons no anel aromático apresentam maior atividade fitotóxica. Além disso, resultados do ensaio da Reação de Hill indicam que o mecanismo de ação destes compostos não está relacionado com a inibição do transporte de elétrons na fotossíntese.

No tocante ao ensaio bactericida, nenhum composto apresentou atividade antibacteriana contra *B. cereus*, *E. coli* e *S. aureus*.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, A.; AL-DEEB, O.; AL-AFIFY, A.; EL-KASHEF, H. Synthesis of 4-alkyl (aryl)-6-aryl-3-cyano-2(1H)-pyridinones and their 2-imino isosteres as nonsteroidal cardiotonic agents. *IL Farmaco*, v. 54, p. 195-201, 1999.

AL-KHATIBA, M. S.; KHYAMI-HORANIA, H.; BADRANB, E.; SHEHABIC, A. A. Incidence and characterization of diarrheal enterotoxins of fecal *Bacillus cereus* isolates associated with diarrhea. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 59, p. 383-388, 2007.

ALTOMARE, A.; CASCARANO, G.; GIACOVAZZO, G.; GUAGLIARDI, A.; BURLA, M. C.; POLIDORI, G.; CAMALLI, M. SIRPOW.92 - a program for automatic solution of crystal structures by direct methods optimized for powder data. *J. Appl. Cryst.*, v. 27, p. 435-436, 1994.

BETTERIDGE, P. W.; CARRUTHERS, J. R.; COOPER, G. I.; PROUT, C. K.; WATKIN, D. J. CRYSTALS version 12: software for guided crystal structure analysis. *J. Appl. Crystal.*, v. 36, p. 1487, 2003.

CARMELI, Y.; TROILLET, N.; KARCHMER, A. W.; SAMORE, M. H. Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Intern Med.*, v. 159, p. 1127-1132, 1999.

CHALAÇA, M. Z.; FIGUEROA-VILLAR, J. D.; ELLENA, R. A.; CASTELLANO, E. E. Synthesis and structure of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid. *Inorg. Chim. Acta*, v. 328, p. 45-52, 2002.

COAST, J.; SMITH, R. D.; MILLAR, M. R. An economic perspective on policy to reduce antimicrobial resistance. *Soc. Sci. Med.*, v. 46, n. 1, p. 29-38, 1998.

COCCO, M. T.; CONGIU, C.; ONNIS, V. New bis(pyridyl)methane derivatives from 4-hydroxy-2-pyridones: synthesis and antitumoral activity. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 38, p. 37-47, 2003.

COCCO, M. T.; CONGIU, C.; ONNIS, V. Synthesis and antitumour activity of 4-hydroxy-2-pyridone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 35, p. 545-552, 2000.

COLLIE, J. N. LVI-The lactone of triacetic acid. *J. Chem. Soc., Trans.*, v. 59, p. 607-617, 1891.

COSGROVE, S. E.; CARMELI, Y. The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. *Clin. Infec. Dis.*, v. 36, p. 1433-1337, 2003.

COSIER, J.; GLAZER, A. M. A nitrogen-gas-stream cryostat for general X-ray diffraction studies. *J. Appl. Crystal.*, v. 19, p. 105-107, 1986.

COSTA, A. V.; BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; SILVA, A. A. Synthesis and herbicidal activity of 2 α ,4 α -dimethyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, v. 47, p. 4807-4814, 1999.

DE WAELE, J. J.; VOGELAERS, D.; HOSTE, E.; BLOT, S.; COLARDYN, F. Emergence of antibiotic resistance in infected pancreatic necrosis. *Arch Surg.*, v. 139, p. 1371-1375, 2004.

DEVI, N. S.; PERUMAL, S. A facile four-component tandem protocol for the synthesis of novel 2,6-diaryl-2,3-dihydro-1H-pyridin-4-ones. *Tetrah. Lett.*, v. 48, p. 5627-5629, 2007.

DIAS, L. C.; DEMUNER, A. J.; VALENTE, V. M. M.; BARBOSA, L. C. A.; MARTINS, F. T.; DORIGUETO, A. C.; ELLENA, J. Preparation of achiral and chiral *E*-enaminopyran-2,4-diones and their phytotoxic activity. *J. Agric. Food Chem.*, v. 57, p. 1399-1405, 2009.

DUKE, S. O.; ROMAGNI, J. G.; DAYAN, F. E. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action. *Crop Protection*, v. 19, p. 583-589, 2000.

EGIDO, J. M.; BARROS, M. L. Estudo preliminar das infecções por *Staphylococcus aureus* na comunidade de um Hospital em Manaus, Região do Amazonas, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 36, n. 6, p. 707-709, 2003.

EVIDENTE, A.; FIORE, M.; BRUNO, G.; SPARAPANO, L.; MOTTA, A. Chemical and biological characterisation of sapinopyridione, a phytotoxic 3,3,6-trisubstituted-2,4-pyridione produced by *Sphaeropsis sapinea*, a toxigenic pathogen of native and exotic conifers, and its derivatives. *Phytochem.*, v. 67, p. 1019-1028, 2006.

FINDLAY, J. A.; KREPINSKY, J.; SHUM, F. Y.; TAM, W. H. J. Reactions of 4-hydroxy-6-methyl-2-pyridone with aldehydes. *Can. J. Chem.*, v. 54, p. 270-274, 1976.

FINDLAY, J. A.; TAM, W. H. J.; KREPINSKY, J. The chemistry of some 6-methyl-4-hydroxy-2-pyridones. *Can. J. Chem.*, v. 56, p. 613-616, 1978.

HU, J.; SHI, J.; CHANG, H.; LI, D.; YANG, M.; KAMAGATA, Y. Phenotyping and genotyping of antibiotic-resistant *Escherichia coli* Isolated from a natural river basin. *Environ. Sci. Technol.*, v. 42, n. 9, p. 3415-3420, 2008.

KIM T.; OH P. I.; SIMOR A. E. The economic impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.*, v. 22, p. 99-104, 2001.

LEVY, S. B.; MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: auses, challenges and responses. *Nat. Med.*, v. 10, n. 12, p. 122-129, 2004.

MACDONALD, G. E.; PURI, A.; SHILLINGET, D. G. Interactive effect of photoperiod and fluridone on growth, reproduction, and biochemistry of Dioecious Hydrilla (*Hydrilla verticillata*). *Weed Science*, v. 56, p. 189-195, 2008.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a Standard Phytotoxic Bioassay for Allelochemicals. Selection of Standard Target Species. *J. Agric. Food Chem.*, v. 48, p. 2512-2521, 2000.

MENDES, R. A.; AZEREDO, R. M. C.; COELHO, A. I. M.; OLIVEIRA, S. S.; COELHO, M. S. L. Food service environmental contamination by *Bacillus cereus*. *Rev. Nutr.*, v. 17, n. 2, p. 255-261, 2004.

MEROTTO JR., A.; JASIENIUK, M.; OSUNA, M. D.; VIDOTTO, F.; FERRERO, A.; FISCHER, A. J. Cross-Resistance to Herbicides of Five ALS-Inhibiting Groups and Sequencing of the ALS Gene in *Cyperus difformis* L. *J. Agric. Food Chem.*, v. 57, p. 1389-1398, 2009.

NAGAWADE, R. R.; KHANNA, V. V.; BHAGWAT, S. S.; SHINDE, D. B. Synthesis of new series of 1-Aryl-1,4-dihydro-4-oxo-6-methyl pyridazine-3-carboxylic acid as potential antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 40, p. 1325-1330, 2005.

NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test 6th ed. Approved Standard, M2-A6. Wayne, PA: NCCLS. 1997.

OTWINOWSKI, Z.; MINOR, W. *Processing of x-ray diffraction data collected in oscillation mode, Methods Enzymol.*; Eds C. W. CARTER, R. M. SWEET, Academic Press. Academic Press, 1997, 276p.

ÖZTÜRK, G.; EROL, D. D.; UZBAY, T.; AYTEMIR, M. D. Synthesis of 4(1H)-pyridinone derivatives and investigation of analgesic and antiinflammatory activities. *IL Farmaco*, v. 56, p. 251-256, 2001.

PEI, L-X.; HUANG, S-L.; SHEN, Y-D.; AN, L-Q.; HUANG, Z-S. LI, Y-M.; GU, L-Q.; BU, X-Z.; CHAN, A. S. C. Synthesis of novel dihydrofuro[b]-pyridinone

derivatives: oxidation coupling of 3-hydroxy-4(1H)-pyridinone with β -dicarbonyl compounds. *Tetrah. Lett.*, v. 46, p. 5085-5088, 2005.

PENG, J.; SHEN, X.; EL SAYED, K. A.; DUNBAR, D. C.; PERRY, T. L.; WILKINS, S. P.; BOBZIN, M. T. H.; HUESING, J.; PRINSEN, R. C.; KRUPA, D.; WIDEMAN, M. A. Marine Natural Products as Prototype Agrochemical Agents. *J. Agric. Food Chem.*, v. 51, n. 8, p. 2246-2252, 2003.

RAJ, S. N.; DEEPAK, S. A.; BASAVARAJU, P.; SHETTY, H. S.; REDDY, M. S.; KLOEPPER, J. W. Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection*, v. 22, p. 579–588, 2003.

RAM, S.; VAJPAYEE, P.; SHANKER, R. Prevalence of multi-antimicrobial-agent resistant, shiga toxin and enterotoxin producing *Escherichia coli* in surface waters of river ganga. *Environ. Sci. Technol.*, v. 41, n. 21, p. 7383-7388, 2007.

RUDRA, S.; SANGITA, F.; GUJRATI, A.; PANDYA, M.; BHATEJA, P.; MATHUR, T.; SINGHAL, S.; RATTAN, A.; SALMANA, M.; DASA, B. Synthesis and antibacterial activity of novel oxazolidinones with methylene oxygen- and methylene sulfur-linked substituents at C5-position. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 17, p. 4778-4783, 2007.

SCAVIA, G.; STAFFOLANI, M.; FISICHELLA, S.; STRIANO, G.; COLLETTA, S.; FERRI, G.; ESCHER, M.; MINELLI, F.; CAPRIOLI, A. Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with a foodborne out break of gastroenteritis. *J. Med. Microbiol.*, v. 57, p. 1141-1146, 2008.

SETO, S.; SASAKI, H.; OGURA, K. The reaction of aminotropones with diketene.II. The structure of by-product in the reaction of 5-aminotropolone with diketene. *Bull. Chem. Soc. Japan*, v. 39, p. 281-285, 1966.

SILVA, C. J.; BARBOSA, L. C. A., DEMUNER, A. J.; MONTANARI, R. M.; PINHEIRO, A. L.; DIAS, I.; ANDRADE, N. J. Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of Myrtaceae species planted in Brazil. *Quim. Nova*, v. 33, n. 1, p. 104-108, 2010.

SIMINSZKY, B. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism. *Phytochem. Rev.*, v. 5, p. 445-458, 2006

STORCK, P.; AUBERTIN, A.; GRIERSON, D. S. Tosylation/mesylation of 4-hydroxy-3-nitro-2-pyridinones as an activation step in the construction of dihydropyrido[3,4-*b*]benzo[*f*][1,4]thiazepin-1-one based anti-HIV agents. *Tetrah. Lett.*, v. 46, p. 2919-2922, 2005.

SUBRAMANIAN, S. B.; KAMAT, A. S.; USSUF, K. K.; TYAGI, R. D. Virulent gene based DNA probe for the detection of pathogenic *Bacillus cereus* strains found in food. *Process Biochemistry*, v. 41, p. 783-788, 2006.

SUNAZUKA, T.; HIROSE, T.; OMURA, S. Efficient total synthesis of novel bioactive microbial metabolites. *Acc. Chem. Res.*, v. 41, p. 302-314, 2008.

TROYER, J. R. In the beginning: the multiple discovery of the first hormone herbicides. *Weed Sci.*, v. 49, p. 290-297, 2001.

WAKABAYASHI, K.; BÖGER, P. Phytotoxic sites of action for molecular design of modern herbicides (Part 2): Amino acid, lipid and cell wall

biosynthesis, and other targets for future herbicides. *Weed Biol. Manag.*, v. 4, p. 59-70, 2004.

ZELANTE, F.; ASHCAR, H.; PIOCHI, B. J. A.; ALVES, M. P. Observação sobre o padrão fágico de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas da boca e do nariz de indivíduos sãos. *Rev. Saúde Públ.*, v. 17, p. 123-129, 1983.

4.6. ESPECTROS DE IV E RMN DA 3,3'-((4-NITROFENIL)METILENO)BIS(4-HIDROXI-6-METILPIRIDIN-2(1H)-ONA) (16)

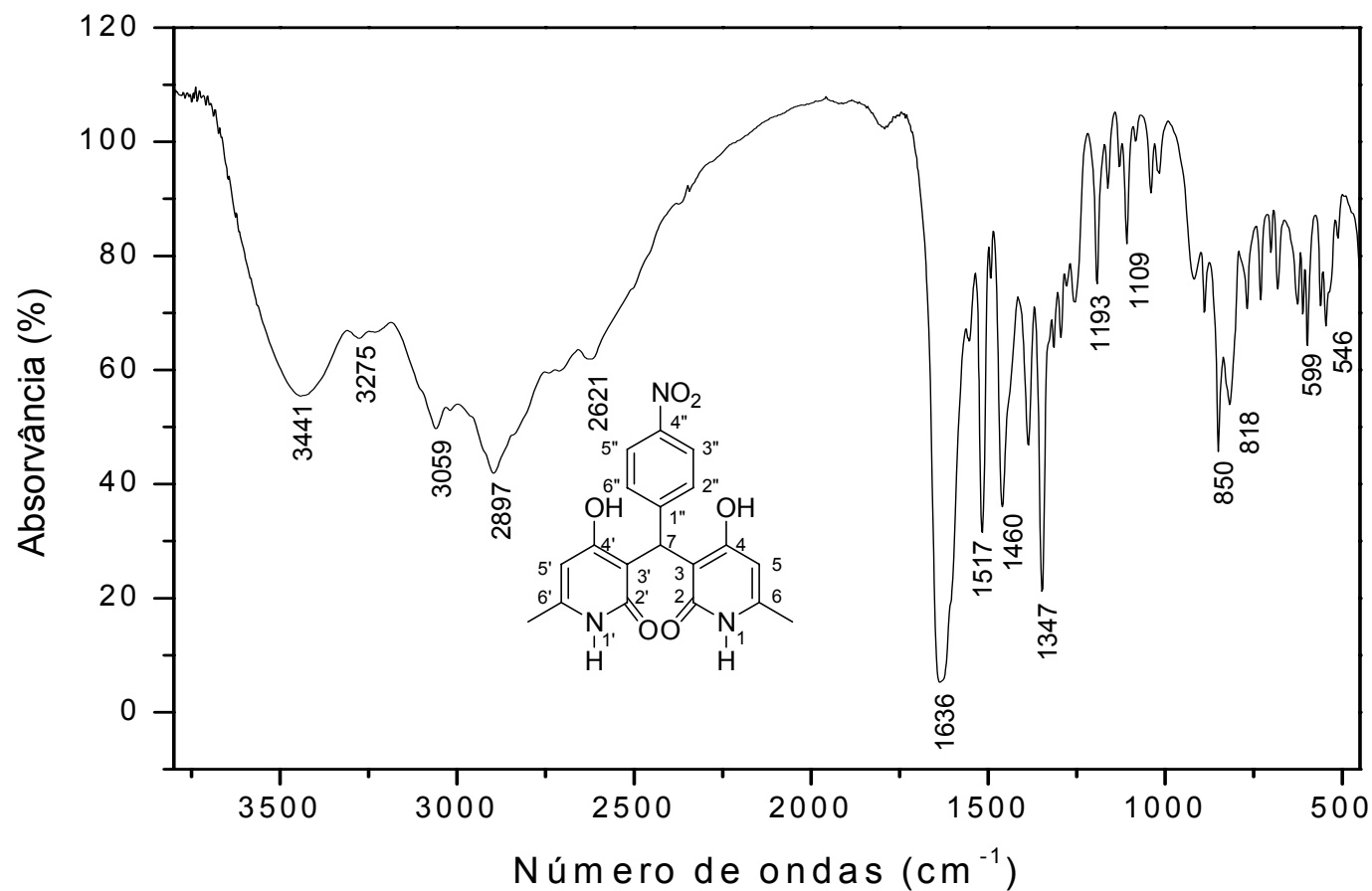


Figura 4.8. Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) do 3,3'-((4-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (16).

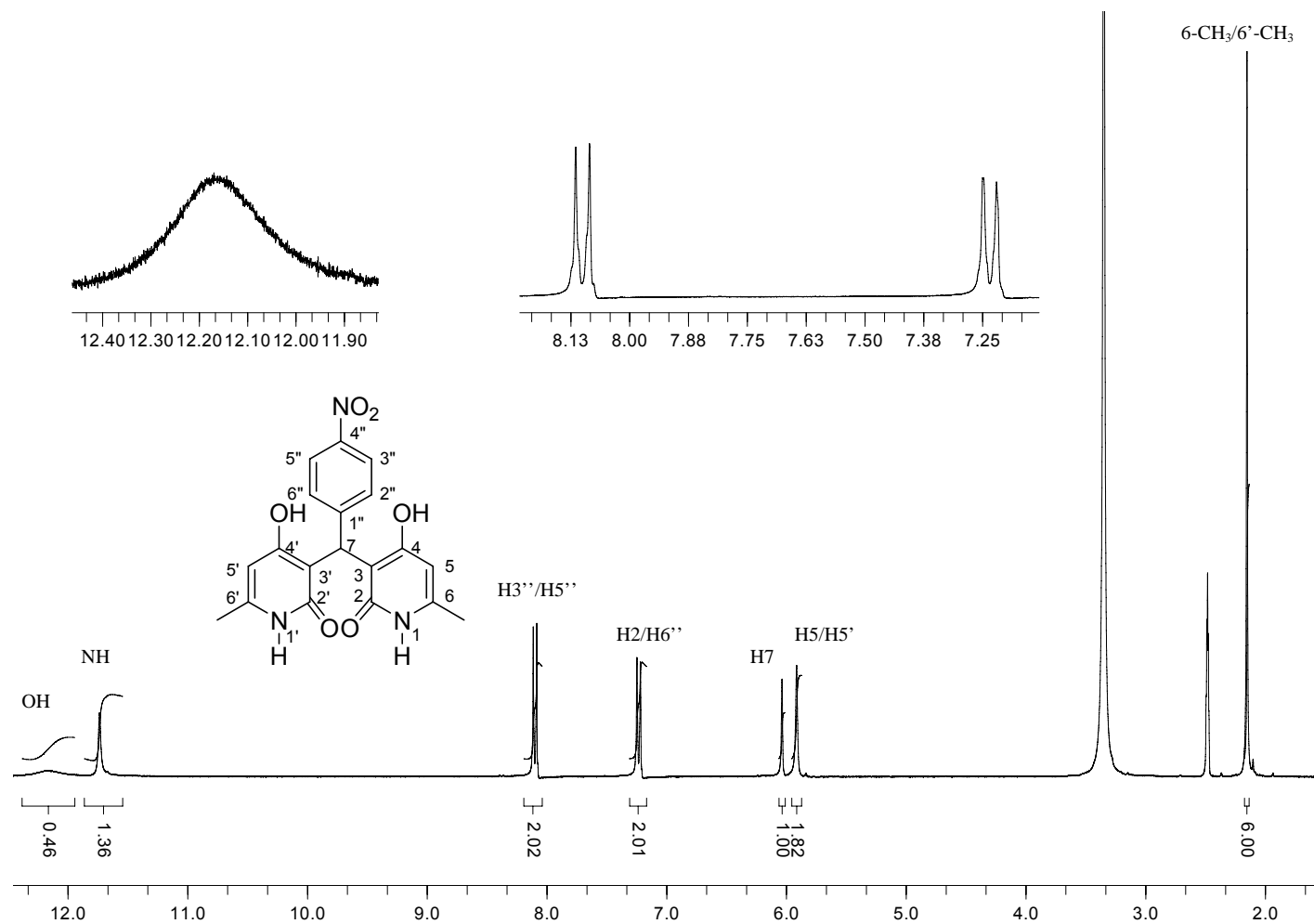


Figura 4.9. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6 , δ $\text{CD}_2\text{HSOCD}_3$ 2,48) do 3,3'-((4-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (16).

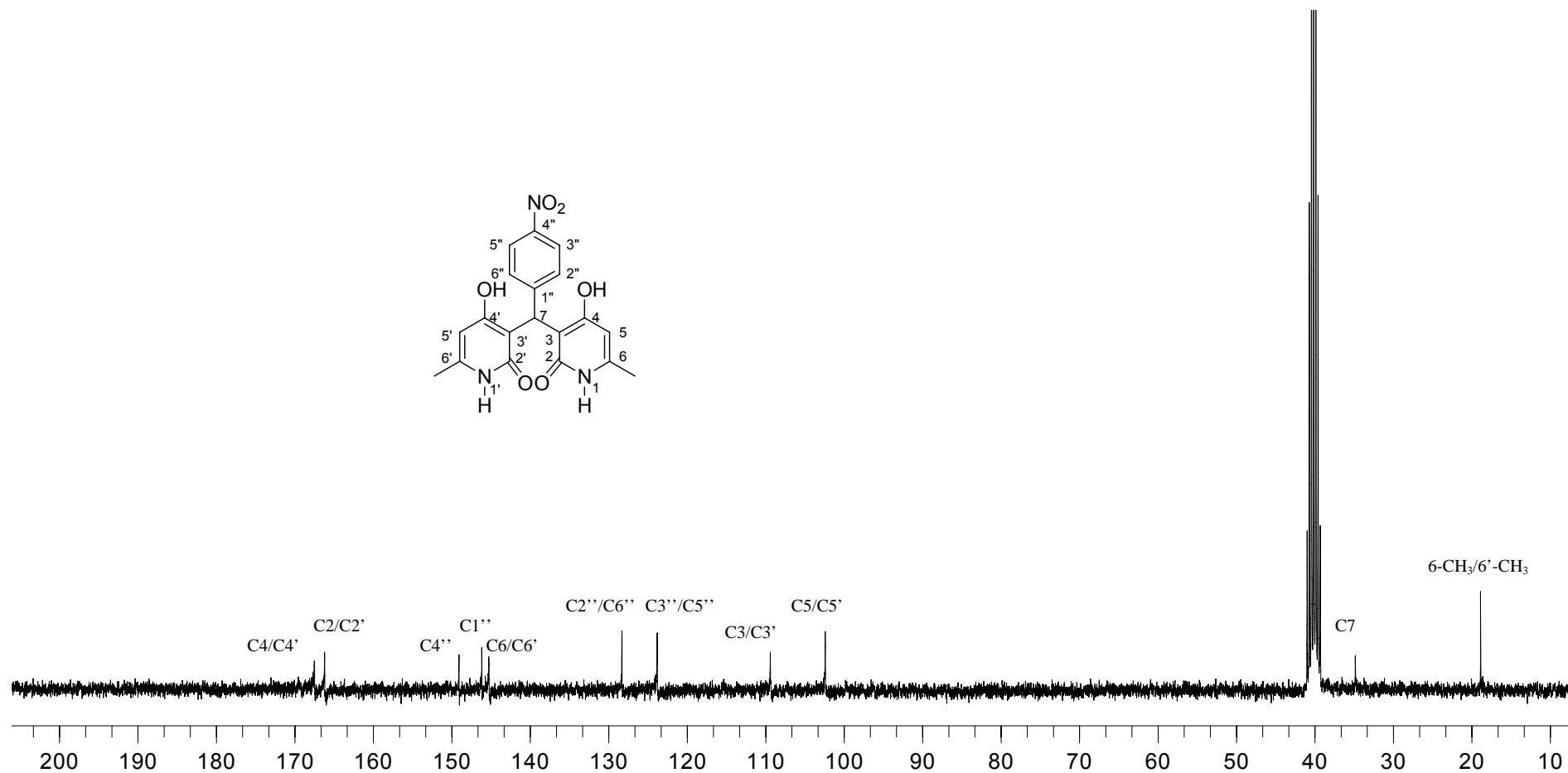


Figura 4.10. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ DMSO- d_6 39,0) do 3,3'-((4-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**16**).

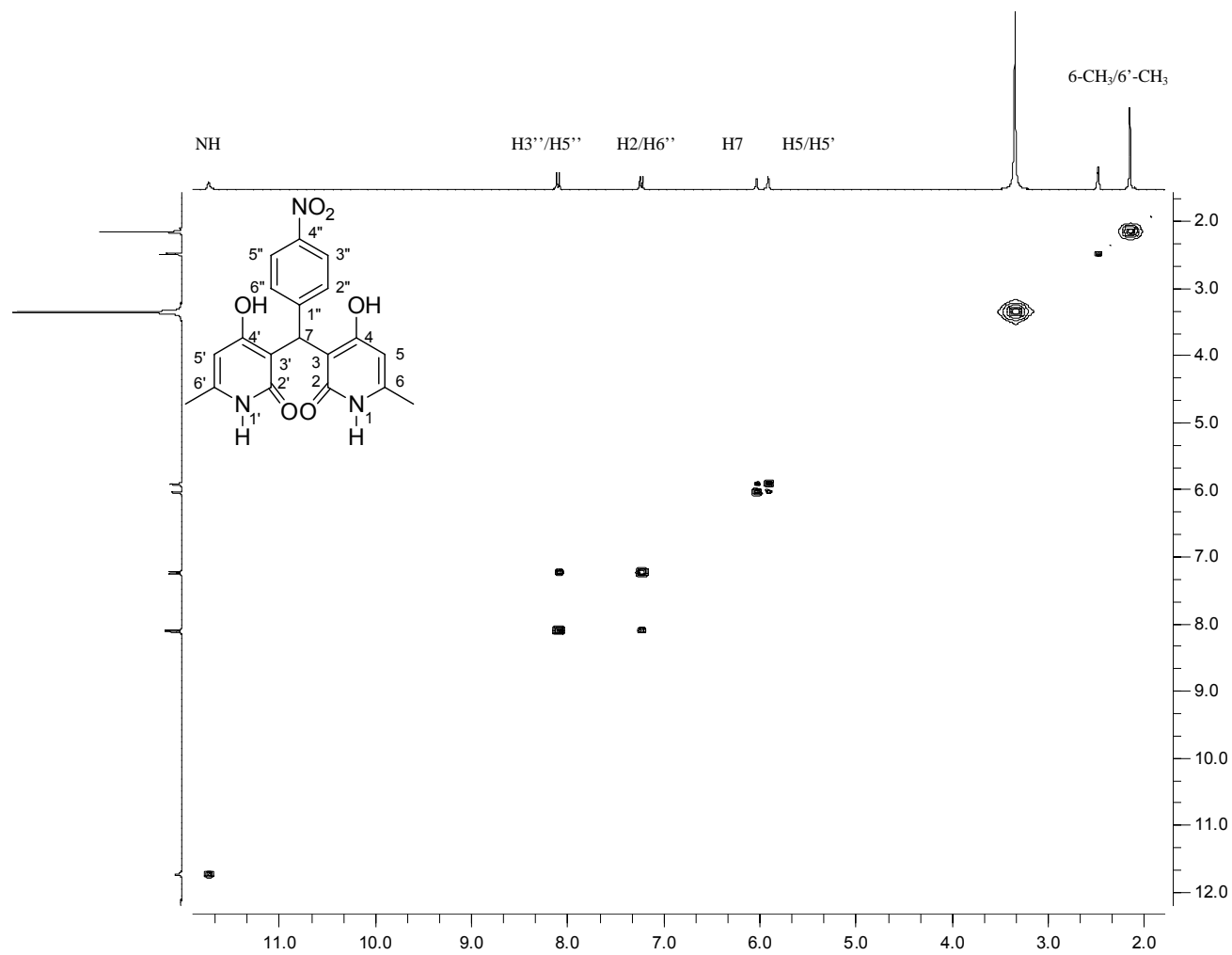


Figura 4.11. Mapa de contornos COSY do 3,3'-((4-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**16**).

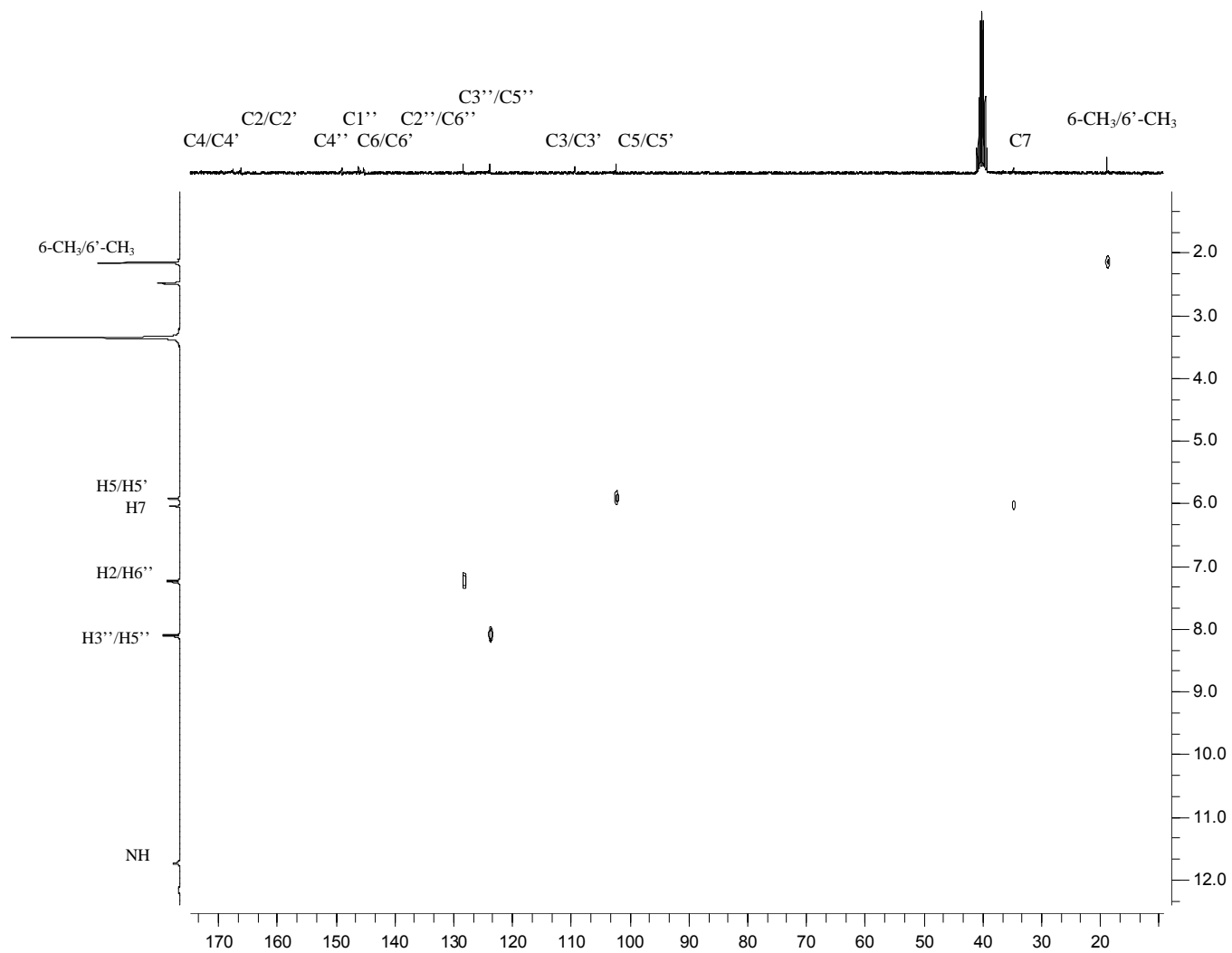


Figura 4.12. Mapa de contornos HETCOR do 3,3'-((4-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona) (**16**).

CAPÍTULO 5

Avaliação da atividade inibidora de urease de bis(piridil)metanos derivados do ácido desidroacético

5.1. INTRODUÇÃO

O feijão-de-porco, *Canavalia ensiformis* (Figura 5.1), é uma planta tropical, da família Fabaceae, amplamente cultivada nos países tropicais como cobertura verde, sendo considerada uma espécie remediadora de solos contaminados com herbicidas. Produz uma enzima denominada urease que foi cristalizada pela primeira por James Batcheller Sumner em 1926, descoberta que lhe valeu o Prêmio Nobel de Química em 1946 (SANTOS *et al.*, 2006; KRAJEWSKA e ZABORSKA, 2007).



Figura 5.1. *Canavalia ensiformis*

Mais de 80 anos depois da descoberta de Sumner, o mecanismo catalítico da urease não está completamente resolvido, e esta enzima, devido a suas implicações múltiplas, ainda é extensivamente estudada (KRAJEWSKA e ZABORSKA, 2007).

Ureases são enzimas dependentes de níquel encontradas em plantas, fungos e bactérias, que catalisam a hidrólise de ureia em amônia e CO₂. A urease disponibiliza o nitrogênio presente na ureia para a planta, papel importante na utilização de fertilizantes nitrogenados. Porém, sob

determinadas condições (pH do solo abaixo de 6-6,5) o nitrogênio pode ser liberado na forma de amônia para a atmosfera, através da hidrólise da ureia, tornando indesejável a administração da ureia como fertilizante, em função de um abrupto aumento de pH, principal efeito negativo. A liberação de grandes quantidades de amônia na atmosfera induz toxicidade nas plantas e o aumento do pH do solo, conduzindo a problemas ambientais e econômicos significantes. O aumento da utilização da ureia como fertilizante na agricultura mundial, por possuir alta porcentagem de nitrogênio (46%), tem estimulado pesquisas visando a encontrar métodos que levem à redução dos problemas associados ao uso deste fertilizante. Encontrar substâncias capazes de reduzir a taxa de hidrólise enzimática da ureia, inibidores de ureases, é uma proposta importante nesta busca (MOBLEY e HAUSINGER, 1989; BEHBEHANI *et al.*, 2009).

Ureases bacterianas têm também propriedades potencialmente relevantes em patologias como úlcera péptica, coma hepático, amônia encefalopatia, infecções urinárias induzidas por pedras e câncer gástrico causado pela bactéria gram-negativa *Helicobacter pylori* (Figura 5.2) (KRAJEWSKA e ZABORSKA, 2007; TANAKA *et al.*, 2003; MOBLEY e HAUSINGER, 1989; LADEIRA *et al.*, 2003).

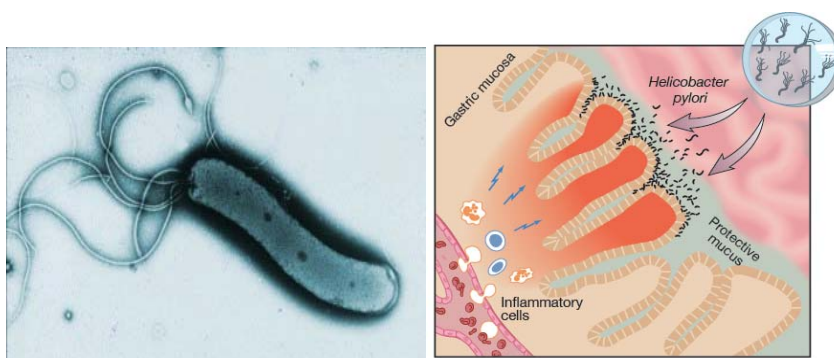


Figura 5.2. *Helicobacter pylori*

A resistência ao ácido clorídrico é de vital importância na patogênese do *H. pylori*, pois, sem este atributo biológico, a bactéria não teria condições de colonizar a mucosa gástrica. A enzima urease, que compreende 6% do total de proteínas sintetizadas pela bactéria, atua promovendo a hidrólise da ureia, presente em condições fisiológicas no suco gástrico. A amônia produzida atua como receptor de íons H^+ , gerando pH neutro no interior da bactéria, conferindo ao *H. pylori* resistência à acidez gástrica (LADEIRA *et al.*, 2003).

A identificação da urease de *H. pylori* tem potencial terapêutico para tratamento de úlcera péptica, despertando o interesse sobre os inibidores de urease como potenciais drogas anti-úlcera (TANAKA *et al.*, 2003).

Tendo em vista a importância dos inibidores de urease tanto na área médica quanto agrícola, propôs-se neste ensaio estudar o efeito dos compostos 5 a 40 na atividade da urease de *C. ensiformis*.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

A enzima Urease-U1500 Tipo III, extraída de *C. ensiformis*, com atividade específica de 40 U mg^{-1} , foi adquirida da Sigma Chemical Company. Uma unidade de enzima (U) é a quantidade da enzima que libera $1 \mu\text{mol}$ de NH_3 da ureia por minuto, a pH 7 e a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

As seguintes soluções foram preparadas e utilizadas no ensaio.

5.2.1. Tampão fosfato de sódio a 0,2 mol L⁻¹ e pH 7,4

Foram dissolvidos 23,04 g de fosfato de sódio dibásico anidro (Na₂HPO₄) e 5,24 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado (NaH₂PO₄·H₂O) em aproximadamente 900 mL de água desionizada. O pH da solução foi ajustado para 7,4, e o volume completado para 1 L, sendo a solução final armazenada em geladeira.

5.2.2. Solução de fenol (A)

Dissolveram-se 7 g de fenol e 0,034 g de nitroprussiato de sódio em 80 mL de água desionizada, completando-se o volume para 100 mL. A solução resultante foi armazenada em recipiente protegido da luz e armazenado a 4 °C.

5.2.3. Solução de hipoclorito (B)

Dissolveram-se 2,96 g de NaOH em 160 mL de água desionizada, adicionando-se 22,26 g de Na₂HPO₄ anidro. Após completa solubilização, foram adicionados 20 mL de hipoclorito de sódio (NaOCl) a uma concentração de 10%. O pH foi ajustado para 12,0 com NaOH 40%, e o volume completado até 200 mL com água desionizada. A solução resultante foi armazenada em recipiente protegido da luz a temperatura ambiente.

Para os ensaios da atividade da urease com os compostos 5 a 40, foram preparadas triplicatas de misturas de reação contendo o composto em análise a uma concentração de 5×10^{-4} mol L⁻¹. As reações foram conduzidas em banho-maria a 25 °C por 12 min, e a quantificação do NH₃ formado em cada reação foi determinada pelo método do hipoclorito-fenol (WITTE & MEDINA-ESCOBAR, 2001), fazendo-se a leitura da absorvância a

636 nm. A atividade enzimática foi expressa em $\mu\text{mol L}^{-1}$, utilizando uma curva analítica preparada com concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NH_4Cl . A atividade para reação controle foi considerada 100%, e as demais calculadas em relação a ela.

A mistura de reação foi preparada em frascos, em triplicata, contendo 0 (controle) e 980 μL de solução estoque do bis(piridil)metano ($7,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,4), correspondentes às concentrações 0 (controle) e $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Em cada mistura de reação, foram adicionados respectivamente, 980 e 0 μL de tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,4. Em seguida, foram adicionados 20 μL de solução estoque de urease ($3,0 \text{ g L}^{-1}$ em tampão fosfato de sódio) em todas as misturas de reação. As misturas de reação foram pré-incubadas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 min. Após a pré-incubação, a reação foi iniciada com a adição de 0,5 mL de solução de ureia $40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, preparada em tampão fosfato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e conduzida por 12 min a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

A determinação do NH_3 produzido na hidrólise da ureia pela urease foi obtida pela retirada de uma alíquota de 15 μL da mistura de reação, que foi transferida para um novo frasco com 1185 μL de água desionizada. À solução diluída, foram adicionados 100 μL do reagente A e 200 μL do reagente B. Após a adição do reagente B, os frascos foram fechados imediatamente para evitar perdas de amônia, agitados para misturar os reagentes e incubados a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 min para o desenvolvimento da cor. Após este período, as amostras foram submetidas à análise por espectrofotometria no visível, sendo a leitura da absorvância feita em $\lambda = 636 \text{ nm}$.

A curva de calibração utilizada para medir a atividade da urease e a interferência dos bis(piridil)metanos na atividade enzimática foi obtida a partir de solução estoque de NH_4Cl . Alíquotas da solução estoque foram pipetadas e diluídas em água desionizada até o volume de 1,2 mL. Em seguida, foram adicionados 100 μL do reagente A e 200 μL do reagente B, os frascos foram imediatamente fechados, agitados e incubados a 50 °C por 20 min. Posteriormente, a leitura da absorvância foi feita $\lambda = 636 \text{ nm}$.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto o ácido desidroacético (**5**), quanto os intermediários **6** e **7**, além dos trinta e três compostos (**8-40**) sintetizados, foram avaliados quanto ao potencial inibidor da atividade da enzima urease a uma concentração de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A atividade da urease foi determinada em função da concentração de amônia em comparação com a curva Figura 5.3. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 5.1 e na Figura 5.4.

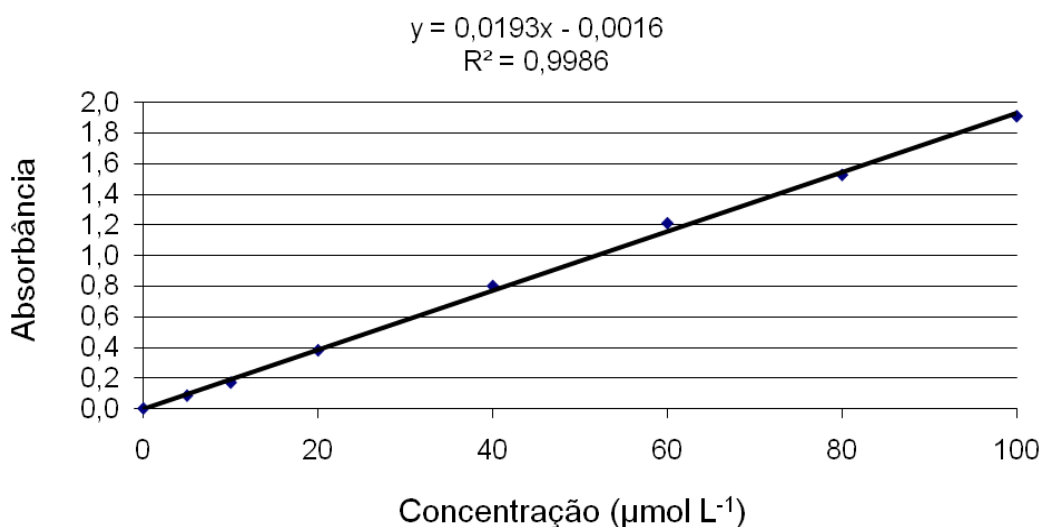


Figura 5.3. Curva de calibração, NH_4Cl

Verificou-se que os compostos **5**, **6** e **7**, precursores na síntese dos bis(piridil)metanos, aumentaram a atividade da urease, enquanto um grande número de bis(piridil)metanos provocou redução desta atividade. Entretanto, nenhum composto inibiu mais que 40% a atividade da urease, sendo que apenas sete compostos (**13**, **21**, **27**, **30**, **32**, **34** e **37**) causaram inibição superior a 30% e nenhum deles é derivado de aldeído alifático.

A atividade inibidora da urease dos bis(piridil)metanos derivados de aldeídos alifáticos não tem relação com o tamanho da cadeia, uma vez que de **8** (derivado do formaldeído) para **9** (acetaldeído), a atividade inibitória quase dobra, mas **10** (derivado do propanaldeído) causa um aumento na atividade da urease. A presença de ramificação é outro fator que não altera a atividade, visto que não há diferença entre a atividade dos compostos **11** e **12** (ramificado).

Tabela 5.1. Inibição da atividade da enzima urease* pelos bis(piridil)metanos e seus pré-cursos a $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

Composto	Absorb. média	[NH₃]media (10⁻⁶ molL⁻¹)	Ativ. Enz. (%)	Inib. (%)	Composto	Absorb. média	[NH₃]media (10⁻⁶ molL⁻¹)	Ativ. Enz. (%)	Inib. (%)
5	1,508	78,2	116,6	-17	23	1,056	54,8	81,7	17
6	1,323	68,6	102,3	-2	24	1,060	55,0	82,0	18
7	1,535	79,6	118,7	-20	25	1,272	66,0	98,4	1
8	1,151	59,7	89,1	12	26	1,039	53,9	80,4	20
9	0,989	51,3	76,6	22	27	0,840	43,6	65,0	34
10	1,307	67,8	101,1	-1	28	1,179	61,2	91,2	8
11	1,051	54,5	81,3	18	29	1,204	62,5	93,1	7
12	1,079	56,0	83,5	16	30	0,881	45,7	68,2	33
13	0,815	42,3	63,1	37	31	1,291	67,0	99,9	0
14	1,193	61,9	92,3	7	32	0,854	44,3	66,1	35
15	1,135	58,9	87,8	13	33	1,337	69,4	103,4	-3
16	1,446	75,0	111,9	-12	34	0,779	40,5	60,3	40
17	1,326	68,8	102,5	-3	35	0,971	50,4	75,2	25
18	1,080	56,0	83,5	17	36	1,062	55,1	82,2	17
19	1,320	68,5	102,1	-2	37	0,887	46,0	68,7	32
20	1,085	56,3	84,0	15	38	1,095	56,8	84,7	16
21	0,862	44,8	66,8	34	39	1,275	66,1	98,6	1
22	1,158	60,1	89,6	10	40	1,140	59,2	88,2	12

*Referência: absorvância média da urease (controle) igual a 1,293, [NH₃] igual a $67,1 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ correspondente a 100% de atividade enzimática.

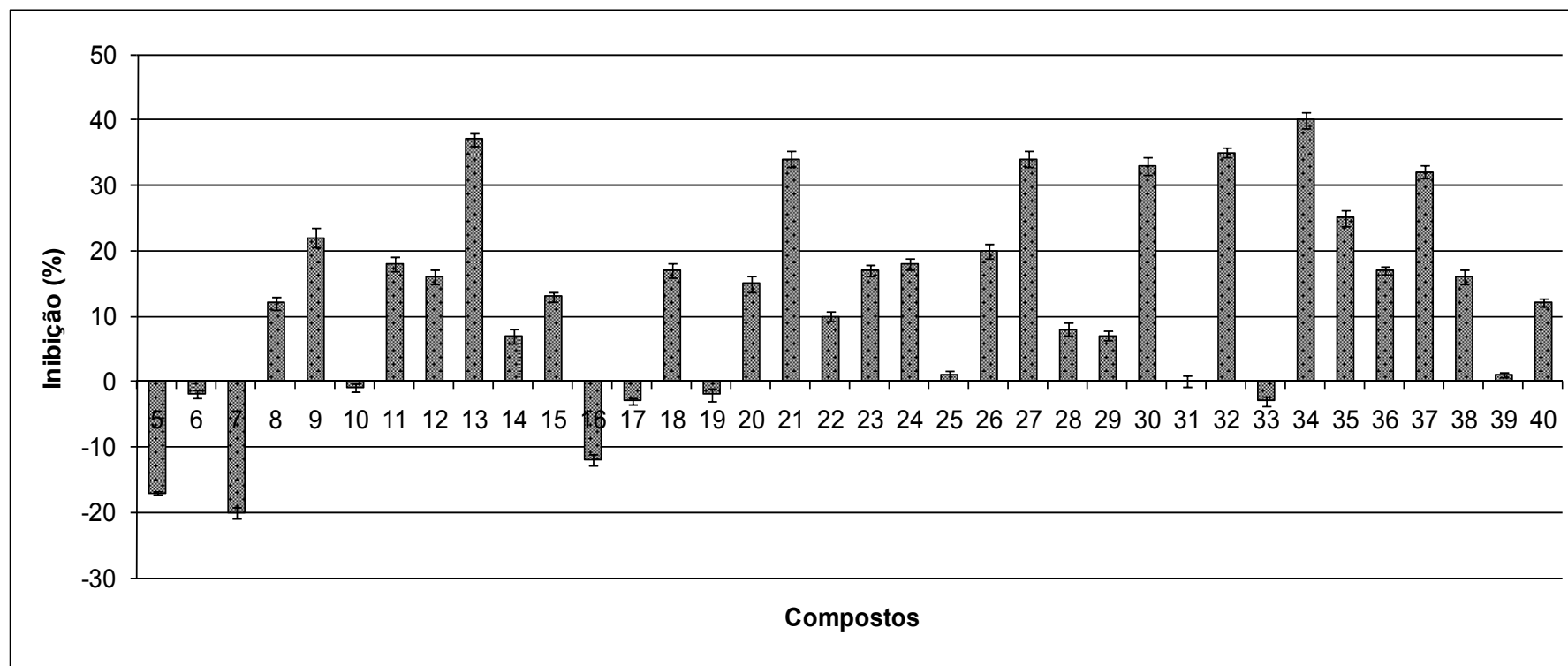


Figura 5.4. Inibição da atividade da urease pelos compostos 5-40.

A presença do anel aromático fenila em **13** e furila em **37** é responsável por triplicar a inibição da urease em relação a **8**. Entretanto, a presença de substituintes nos anéis aromáticos não contribui para um aumento na atividade dos bis(piridil)metanos. Pelo contrário, todos os compostos contendo fenila substituído foram menos ativos que o composto **13** (37% de inibição), tendo o mesmo sido observado em relação ao composto **37** (32% de inibição) e aos demais compostos contendo o anel furil substituído.

Os compostos contendo o anel fenila substituído mais ativos foram o **21** (OH em *meta*, 34% de inibição), o **27** (etil em *para*, 34% de inibição), o **30** (cloro em *meta*, 33% de inibição) e o **32** (trifluorometil em *para*, 35% de inibição). Com isso, nenhuma relação entre a atividade inibidora de urease e a posição ou caráter doador/retirador de elétrons do substituinte no anel fenila pôde ser estabelecida.

Dentre os 33 compostos sintetizados, apenas o **34** e o **36** são assimétricos, mas não há correlação entre os seus resultados de atividade antiurease. Enquanto o **34** causou redução de 40%, o **36** reduziu em apenas 17% a atividade enzimática. Dessa forma, a assimetria não deve ser um dos requisitos para a atividade do **34**. O padrão de substituição no anel piranila, fundido ao piridila, dos compostos **34** e **36**, pode ter relação com a atividade antiurease. A ausência do segundo anel piridila e a presença da segunda dupla ligação associada a um substituinte metila tornam o composto **34** duas vezes mais ativo que o **36**.

5.4. CONCLUSÕES

Os bis(piridil)metanos derivados de aldeídos alifáticos apresentaram atividade antiurease menor que o derivado do benzaldeído. O tamanho da cadeia alifática parece não influenciar a atividade antiurease dos bis(piridil)metanos. A presença de um anel aromático confere maior atividade aos bis(piridil)metanos, entretanto, a presença de substituintes no anel diminui sua atividade.

É recomendável a realização de um ensaio de campo para determinar, em condições normais de cultivo, a interferência dos bis(piridil)metanos em espécies de interesse comercial, seja cultura ou planta daninha. Contudo, o fato de os compostos **32** e **35** induzirem o crescimento de *B. decumbens* e inibirem a atividade da urease, os transforma em bons candidatos como aditivos de fertilizantes à base de ureia. Estes compostos poderiam ser utilizados como inibidores de urease a serem adicionados a fertilizantes adotados na formação de pastagens com *B. decumbens*.

5.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEHBEHANI, G. R.; SABOURY, A. A.; MOHEBBIAN, M.; ABEDINI, J.; SARVESTANI, S. T. Thermodynamic study on the interaction of cyanide ion and jack bean urease at different temperatures. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 100, p. 1079-1083, 2010.

KRAJEWSKA, B.; ZABORSKA, W. Jack bean urease: The effect of active-site binding inhibitors on the reactivity of enzyme thiol groups. *Bioorganic Chem.*, v. 35, p. 355–365, 2007.

LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. *Bras. Patol. Med. Lab.*, v. 39, n. 4, p. 335-342, 2003.

MOBLEY, H. L. T.; HAUSINGER, R. P. Microbial Ureases: Significance, Regulation, and Molecular Characterization. *Microbiol. Rev.*, v. 51, n. 1, p. 85-108, 1989.

SANTOS, J. B.; PROCÓPIO, S. O.; PIRES, F. R.; SILVA, A. A.; SANTOS, E. A. Fitorremediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium por diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.). *Ciênc. agrotec.*, v. 30, n. 3, p. 444-449, 2006.

TANAKA, T.; KAWASE, M.; TANI, S. Urease inhibitory activity of simple α,β -unsaturated ketones. *Life Sciences*, v. 73, p. 2985-2990, 2003.

WITEE, C-P.; MEDINA-ESCOBAR, N. In-gel detection of urease with nitroblue tetrazolium and quantification of the enzyme from different crop plants using the indophenol reaction. *Analytical Biochemistry*, v. 290, p. 102-107, 2001.

CONCLUSÕES GERAIS

Os anéis heterocíclicos piran-2-ona e piridin-2-ona são encontrados na estrutura de inúmeras substâncias que apresentam atividades biológicas, inclusive, fitotóxica. No presente trabalho, foram sintetizados enaminopiranonas e bis(piridil)metanos, compostos que contêm os anéis piran-2,4-diona e piridin-2-ona, respectivamente. Também foi estudada sua atividade fitotóxica, uma vez que a literatura é escassa de informações sobre a atividade fitotóxica dessa classe de compostos. A síntese resultou em bons rendimentos, utilizando-se o ácido desidroacético como material de partida.

Foram sintetizados 49 compostos: dezesseis enaminopiranonas e trinta e três bis(piridil)metanos. Esses compostos foram devidamente caracterizados do ponto de vista químico e avaliados quanto ao potencial fitotóxico. As enaminopiranonas preparadas apresentaram estereoquímica Z da ligação dupla. Análises de massas exatas, difração de raios X e RMN, foram ferramentas importantes para o melhor entendimento de diferentes aspectos estruturais dos compostos sintetizados.

As 16 enaminopiranonas foram obtidas com rendimentos de 49% a 97%, por reação do ácido desidroacético com diferentes aminas, seguida pela purificação empregando cromatografia em coluna. Já os bis(piridil)metanos foram obtidos com elevado grau de pureza por meio de uma rota sintética de três etapas, dispensando qualquer processo de purificação, e os rendimentos variaram de 20% a 95%.

As enaminopiranonas e os bis(piridil)metanos foram avaliados quanto ao potencial fitotóxico sobre a germinação e o crescimento radicular de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.), bem como sobre a produção de biomassa em sorgo, pepino, corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) e braquiária (*Brachiaria decumbens*). Dentre as enaminopiranonas, a substância mais fitotóxica foi (S,E)-3-(1-(sec-butilamino)etilideno)-6-metil-3H-piran-2,4-diona, que inibiu, em média, 83% a produção de biomassa em corda-de-viola e 65% em braquiária, a uma concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

Dentre os bis(piridil)metanos, o composto com maior potencial fitotóxico médio foi 3,3'-((2-nitrofenil)metileno)bis(4-hidroxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona), cujo menor valor de inibição foi 31,6% sobre o sistema radicular de sorgo, e o maior valor foi 80,3% sobre o sistema radicular de braquiária.

De forma geral, observou-se no ensaio de produção de biomassa uma menor susceptibilidade das espécies monocotiledôneas, tanto para as enaminopiranonas quanto para os bis(piridil)metanos. A planta mais resistente, tanto aos bis(piridil)metanos quanto às enaminopiranonas, foi *B. decumbens*.

Os bis(piridil)metanos foram avaliados também quanto ao potencial antibacteriano contra *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Entretanto, nenhum halo de inibição ao crescimento das bactérias foi observado.

O tamanho da cadeia alifática não influencia a atividade inibidora de urease pelos bis(piridil)metanos. Enquanto a presença do grupo fenila

confere maior atividade aos mesmos, a presença de substituintes neste anel diminui sua atividade. A assimetria não parece ser também um requisito para a atividade inibidora de urease.

Em condições de campo, os resultados podem ser diferentes daqueles aqui apresentados e obtidos em casa de vegetação com areia lavada. Por isso, a realização de um ensaio de campo torna-se indispensável para determinar em condições normais de cultivo a interferência dos bis(piridil)metanos em espécies de interesse comercial. Foi observado que alguns bis(piridil)metanos induziram o crescimento de *B. decumbens* e inibiram a atividade da urease. Compostos com estas características podem ser aplicados como aditivos de fertilizantes à base de ureia destinados à formação de pastagens. Dessa forma, as perdas de nitrogênio causadas pela atividade da urease seriam reduzidas e a completa formação da pastagem seria acelerada pela indução da produção de biomassa.