



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS - CCET
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQI
MESTRADO EM QUÍMICA ORGÂNICA

RICARDO PEREIRA RODRIGUES

**DESENHO DE NOVOS MODELOS DE HERBICIDAS:
TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS EM DERIVADOS FENÓLICOS E
AVALIAÇÃO FITOTÓXICA**

CAMPO GRANDE/MS

2009



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS - CCET
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQI
MESTRADO EM QUÍMICA ORGÂNICA

**DESENHO DE NOVOS MODELOS DE HERBICIDAS:
TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS EM DERIVADOS FENÓLICOS E
AVALIAÇÃO FITOTÓXICA**

Ricardo Pereira Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. Adriano César de Moraes Baroni

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alexandre Carollo

Dissertação apresentada como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Química, área de concentração em Química Orgânica, junto ao Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

CAMPO GRANDE/MS

2009

AGRADECIMENTOS

À minha Família, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

À minha namorada Patrícia, por todo amor e dedicação em todos os momentos.

Ao Prof. Adriano C. M. Baroni, pela orientação, amizade e pelos ensinamentos propiciados durante a realização deste trabalho

Ao Prof. Carlos Alexandre Carollo, pela co-orientação, amizade e pelos ensinamentos nos testes de atividade biológica e nos programas gráficos.

Ao prof. João Máximo de Siqueira, pela amizade, ensinamentos durante o período de Iniciação Científica e pela idéia deste trabalho.

Aos amigos Marcelo, Edson, Christielly, Douglas e Antônio, pelo apoio e amizade ao longo de todos esses anos.

Aos amigos trabalhadores do Laboratório de Farmacognosia, Daniel, Luis, Lucas e Joãozinho, pela amizade e auxílio na parte experimental.

Ao Fabrício, Thais e Soraya pela amizade ao longo desses anos de iniciação e mestrado.

Ao aluno de iniciação científica Daniel Pecoraro Demarque pela dedicação na conclusão dos testes de atividade alelopática e pelos conhecimentos excepcionais em planilhas.

Ao grupo de trabalho do Laboratório de Química Farmacêutica, Eva, Tais, Amanda, Mariana, Nadla, Kiko e William pela amizade durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao grupo do Laboratório de Bioquímica, prof. Maria Rita, Josy e Giovanna, pelo auxílio na esterilização das placas de Petri.

Aos amigos do mestrado Charles, Dedy, Lucas, Fátima, Ricardo e Yara, pela amizade e boas risadas no decorrer do curso.

Aos professores do curso de pós graduação, Prof.^a Fernanda Rodrigues Garcez e Prof. Dênis Pires de Lima, pelos valiosos ensinamentos e aulas excepcionais.

A Luciana e demais integrantes do Laboratório de RMN do DQI/UFMS, por todo o auxílio na obtenção dos espectros de RMN.

Aos secretários do mestrado em Química: Maria Otávia P. Vasco Toledo e Celestino Gonçalves de Oliveira.

À Nídia Cristiane Yoshida pela amizade e ensinamentos durante o período de iniciação científica.

A todos que de alguma forma contribuíram para conclusão deste trabalho.

À FUNDECT pela bolsa concedida e apoio financeiro.

À PROPP-UFMS pelo apoio financeiro.

ÍNDICE

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	vii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Origem das Plantas Daninhas	2
1.2. Prós e Contras das Plantas Daninhas	4
1.3. Características evolutivas das plantas daninhas	4
1.4. Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas	6
1.5. Tolerância e Suscetibilidade	8
1.6. Prejuízos na Agricultura.....	9
1.7. Alelopatia.....	9
1.8. Eficiência na Agricultura	11
1.9. A descoberta do hormônio vegetal auxina.....	11
1.10. A origem do herbicida 2,4 – D.....	14
1.11. A aplicação da Alelopatia nos cultivos agrícolas.....	15
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	18
3.2 Purificação por cromatografia em coluna.....	18
3.3 Técnicas Espectroscópicas.....	18
3.3.1 Ressonância Magnética Nuclear	18
3.4 Purificação e preparo de reagentes e solventes.....	18
3.5 Descrição dos Procedimentos Sintéticos.....	19
3.5.1 Síntese de 2,4,5 – trimetoxifenol.....	19
3.5.2 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-metila.....	20
3.5.3 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-etila.....	21
3.5.4 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi) propanoato de metila.....	22
3.5.5 Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-acético	23
3.5.6 Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-propanóico.....	24

3.6	Ensaio Biológico.....	24
3.6.1	Avaliação da Atividade Alelopática.....	24
3.6.2	Preparo das Soluções Utilizadas	25
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1.	Análise do Material de Partida	26
4.2.	Síntese do 2,4,5-trimetoxifenol	29
4.3	Análise do 2,4,5-trimetoxifenol.....	31
4.4	Síntese dos Derivados Fenólicos e Hidrólise.....	34
4.4.1	Análise dos dados espectrais dos compostos sintetizados.....	37
4.4.2	Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-metila.....	37
4.4.3	Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-acético	41
4.4.4	Análise de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenoxi)-etila	44
4.4.5	Análise de acetato de 2-(2,4,5-trimetóxiifenóxi) propanoato de metila	47
4.4.6	Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-propanóico.....	51
4.5	Ensaio Biológico	53
4.5.1	Procedimentos para realização do Ensaio.....	54
4.5.2	Germinador de Sementes	54
4.5.3	Procedimentos necessários para a realização do teste	56
4.5.3.1	Umidade e Aeração	56
4.5.3.2	Quantidade de água para o substrato	56
4.5.3.3	Influência da Luz e Temperatura na germinação.....	56
4.6	Estruturas analisadas	57
4.6.1	Análise dos resultados de atividade alelopática em <i>Lactuca sativa</i>	62
4.6.2	Análise dos resultados de atividade alelopática em <i>Allium cepa</i>	64
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
6.	CONCLUSÕES.....	77
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

RESUMO

A eficiência na produção agrícola depende do controle de pragas, doenças e de plantas infestantes e daninhas. Dessa forma, protótipos de herbicidas provenientes de produtos naturais são ferramentas úteis na busca de substâncias com possibilidade de emprego agroquímico, pois são favorecidos pela ampla variedade estrutural. Em trabalho anteriormente desenvolvido pelo grupo de pesquisa, foi realizado o estudo fitoquímico da planta invasora *Duguetia furfuracea*, cujo extrato bruto da fração éter de petróleo, proveniente do caule subterrâneo foi submetido à avaliação alelopática. Entre as substâncias isoladas, o metabólito 2,4,5-trimetoxibenzaldeído **10**, apresentou bons resultados nos testes de atividade alelopática, levando ao desenvolvimento do presente trabalho, com o objetivo de realizar modificações estruturais que permitissem potencializar este efeito. Dessa forma, foi sintetizado o produto 2,4,5-trimetoxifenol **11**, via reação de Dakin, os produtos acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenxi)-metila **12**, acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenoxi)-etila **13** e acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-propanoato de metila **14**, via S_N2, e os produtos ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenoxi)-acético **15** e ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-propanóico **16**, via hidrólise ácida. Os produtos sintetizados foram submetidos à avaliação alelopática juntamente com 3 análogos estruturais, obtidos comercialmente: ácido 2,4,5-trimetoxicinâmico **20**, ácido 2,4,5-trimetoxibenzóico, **21** e ácido 3-(4-hidroxifenil)propanóico, **22**, a fim de se obter correlações nos estudos de estrutura-atividade. Os resultados obtidos mostraram que o produto **16** apresentou os melhores resultados, obtendo-se assim uma estrutura otimizada e mais eficiente, cumprindo o objetivo de sintetizar um composto mais potente que **10**. De forma geral, os compostos sintetizados apresentaram distintos graus de atividade, porém não foram tão eficientes quanto os controles positivos, **AIA** e **2,4-D**.

palavras-chave: herbicidas, atividade alelopática, 2,4,5-trimetoxibenzaldeído.

ABSTRACT

The efficiency in agriculture depends on the control of plagues, illnesses, widespread and harmful plants, in order to avoid the decrease in food production. So, herbicide prototypes from natural products are useful tools in the search for substances with possibility of use in agriculture, therefore they are favored by the widespread structural variety. In a previously work, developed by our group of researchers, was carried out the phytochemistry study of the weed *Duguetia furfuracea*, whose petroleum ether extract from the underground stem bark had been submitted to allelophatic evaluation. Among the isolated substances, the metabolite, 2,4,5-trimethoxybenzaldehyde **10**, expressed good results on the allelophatyc evaluation tests, leading to the development of this work with the objective to develop structural modifications that could improve this effect. The product 2,4,5-trimethoxyphenol **11**, were synthesized via Dakin reaction, the products methyl 2-(2,4,5-trimethoxyphenoxy)acetate **12**, 2-(2,4,5-trimethoxyphenoxy)ethyl acetate **13** and methyl 2-(2,4,5-trimethoxyphenoxy)propanoate **14**, by S_N2, and the products 2-(2,4,5-trimethoxyphenoxy)acetic acid **15** and 2-(2,4,5-trimethoxyphenoxy)propanoic acid **16** by acid hidrolisis. This products were submitted to allelophatic evaluation with 3 comercial analogous: 2,4,5-trimethoxy cinnamic acid **20**, 2,4,5-trimethoxybenzoic acid **21** and 3-(4-hydroxyphenyl)propanoic acid **22**, for structure-activity correlations. The tests indicated that **16** expressed better results than **10**, obtainning a more efficient and optimized structure. The synthesized compounds expressed distinct degrees of activity, but they were not so efficient as their positive controls, **AIA** and **2,4-D**.

key-words: herbicide, allelophatic activity, 2,4,5-trimethoxybenzaldehyde.

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DEPT	“Distortionless Enhancement by Polarization Transfer” ou intensificação do sinal sem distorção por transferência de polarização.
DMSO	Dimetilsulfóxido
Hz	Hertz
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
J	Constante de acoplamento escalar
R _f	Fator de retenção
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento Químico em Partes Por Milhão
DMF	Dimetilformiamida

1. INTRODUÇÃO

A evolução e a pressão de seleção são processos que as espécies vegetais enfrentam constantemente. Dessa forma, muitas plantas, especialmente as daninhas, apresentam uma ampla variabilidade genética, permitindo sua sobrevivência nas mais variadas condições ambientais. Entretanto, nas últimas décadas tem-se observado um crescente aumento no uso de herbicidas para o controle das plantas daninhas, sendo que em muitos casos, acaba sendo o único método de controle adotado, ocasionando uma seleção de determinadas populações de daninhas à partir de biotipos resistentes a alguns dos herbicidas frequentemente utilizados em determinada região^{1,2}.

Plantas invasoras são uma séria ameaça às espécies locais, às comunidades e aos ecossistemas, pois podem competir e, até mesmo, eliminar plantas nativas, animais e outros organismos que dependam das plantas da região. Quando isso ocorre, nota-se que o ecossistema ao redor e seus ciclos sofrem alterações, uma vez que estas plantas não-nativas podem também hibridizarem-se com plantas nativas formando novas espécies de invasoras³.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas pode ser definida como a capacidade que uma planta possui de sobreviver e de se reproduzir, após a exposição a uma quantidade de herbicida que normalmente seria letal para a sua espécie. Esta resistência pode ser de origem natural ou induzida artificialmente pela engenharia genética^{2,4}.

Para um melhor entendimento, é conveniente definirmos algumas expressões que são mais comumente utilizadas ao nos referirmos as plantas, de acordo com as próprias conceituações linguísticas destes termos. Dentre as principais expressões utilizadas para caracterizar um determinado tipo de planta, podem ser destacadas as expressões “plantas cultivadas”, “plantas silvestres”, “plantas invasoras”, “ervas daninhas” e “plantas daninhas”^{5,6}.

As plantas cultivadas compreendem as espécies semeadas ou plantadas pelo homem, enquanto que as silvestres correspondem às espécies vegetais que germinam e se reproduzem sem auxílio humano⁶.

As plantas silvestres, apesar de estarem desvinculadas da interferência humana, podem ser benéficas – do ponto de vista antrópico, apresentando interesse econômico para a região ou malélicas, interferindo nas produções de culturas locais,

prejudicando o bem-estar dos animais e do próprio homem, sendo indesejáveis ao local. Ao serem vistas desta forma, são denominadas popularmente como plantas daninhas, plantas invasoras ou ervas daninhas⁵.

Portanto, a melhor definição para estas plantas que se comportam de maneira indesejável ao homem – de maneira geral – seria um grupo de plantas silvestres que crescem espontaneamente em solos agrícolas e em outras áreas de cultivo e que se comportam como indesejáveis⁵.

Apesar dos termos “Plantas Invasoras” e “Plantas Daninhas” serem utilizados como sinônimos, é conveniente salientar que a primeira expressão refere-se àquelas plantas exóticas, *i.e.*, plantas de outras regiões e/ou países que foram trazidas para determinado local e que, em muitos casos, acabaram propagando-se de maneira invasiva frente às plantas nativas daquela região. Este fenômeno está intimamente relacionado ao fato destas plantas, ditas invasoras, não possuírem competidores naturais neste ecossistema, propagando-se livremente. Já o termo planta daninha, como o próprio nome diz, refere-se à todo tipo de planta que, de alguma maneira, confere dano à outras plantas. Portanto, a adoção deste último termo é mais adequada, pois permite uma definição mais abrangente, englobando também as espécies invasoras⁶.

O termo erva-daninha, muito usado na linguagem popular, deveria ser evitado como termo geral, pois utilizá-lo implicaria em considerar estas plantas como herbáceas, o que não é verdadeiro, haja visto que pelo menos 20% das espécies daninhas são arbustivas ou até mesmo arbóreas, como a maioria das plantas daninhas de pastagens⁵.

1.1. Origem das Plantas Daninhas

Sua existência remonta à antiguidade, quando as plantas cultivadas ainda viviam no estado silvestre, enfrentando um período muito longo antes de sua completa domesticação. Inicialmente a exploração de espécies vegetais era extrativa, *i.e.*, era uma atividade produtiva baseada na extração ou coleta de produtos naturais não cultivados. Neste período, nem mesmo a eliminação das plantas daninhas era realizada, pois as plantas cultivadas apresentavam agressividade suficiente para sobreviverem nessas condições, sem prejuízos

significativos decorrentes da concorrência^{2,5,6}.

Apesar das plantas invasoras possuírem mecanismos evolutivos semelhantes às plantas cultivadas, apresentam como vantagem o fato de não terem perdido sua agressividade natural, algo que para as plantas cultivadas é inexistente devido à seleção artificial a que foram submetidas. Isso permite que uma planta invasora seja naturalmente adaptada a todo tipo de diversidade^{5,6}.

Pela sua própria definição, o termo “planta daninha” refere-se a toda e qualquer espécie que ocorre onde não é desejada. Dessa forma, as plantas daninhas acabaram surgindo de fato, quando o homem iniciou suas atividades agrícolas, pois até então estas conviviam harmonicamente com as plantas utilizadas para o consumo humano, sendo que ambas estavam sujeitas as intempéries da natureza de maneira equivalente. Entretanto, no momento em que as cultivadas perderam sua agressividade, juntamente com um ambiente rico em nutrientes e desprovido das constantes adversidades a que estavam submetidas, criou-se na verdade, um ambiente favorável para as plantas daninhas, pois estas além de manterem sua agressividade competitiva, decorrente de sua seleção natural, agora competiam apenas com plantas cultivadas, que perderam seus mecanismos adaptativos à sobrevivência em prol de maior capacidade germinativa e maior produtividade por hectare. Portanto, pode-se dizer que as plantas daninhas existentes atualmente, são na verdade, produto da pressão de seleção exercida artificialmente pelo homem, que na tentativa de erradicá-las, seja por métodos mecânicos ou químicos, acabou forçando a seleção dos indivíduos mais adaptados, criando populações de plantas daninhas cada vez mais resistentes¹⁻⁵.

O surgimento de plantas daninhas no ecossistema de pastagem é devido, em grande parte, às técnicas incorretas de manejo de solo, como o pastoreio impróprio, ou pela roçada inadequada, fora da época de controle das plantas infestantes, ou pelo empobrecimento do solo, tanto quimicamente (deficiências de N, P, K, Ca, Mg), quanto fisicamente, com um solo compactado e deficiente em recursos hídricos⁷.

Como um exemplo desta adaptação, pode-se citar o uso contínuo de um determinado herbicida, levando uma população que antes era suscetível a tornar-se tolerante, fato este denominado de seleção de ecótipo resistente^{8,9}.

1.2. Prós e Contras das Plantas Daninhas

Apesar das plantas daninhas serem discriminadas, possuem um papel importante na proteção dos solos contra erosões. A cobertura do solo também é necessária em alguns sistemas de semeadura, como o plantio direto, onde é utilizado o milheto (*Pennisetum americanum*) para a cobertura do solo.¹⁰ Outro aspecto positivo a ser considerado é que ao ser realizado o controle de determinada planta daninha, seja por métodos manuais, mecânicos ou químicos, a cobertura formada por estas plantas mortas reduz o aquecimento da superfície decorrente da radiação solar, auxiliando na retenção de umidade. Esta cobertura, quando em decomposição, aumenta a concentração de matéria orgânica e nutrientes do solo. Pode, ainda, reduzir a germinação de novas plantas daninhas, tanto pelo efeito físico de sombreamento do solo quanto pela liberação de substâncias químicas com efeito alelopático.

Um ponto importante, abordado por PRIMAVESI¹¹, e citado por RASSINI¹², é que pela predominância de determinada planta daninha, podemos inferir quais seriam as deficiências presentes no solo de determinada região. Por exemplo, a predominância do capim-seda (*Cynodon dactylon*) pode ser indicativo de um solo compactado; a acidez do solo poderia ser caracterizada pelo sapé (*Imperata brasiliensis*), que indica um pH ao redor de 4,5; os altos teores de alumínio tóxico no solo podem ser indicados pela samambaia (*Pteridium aquilinum*). Dessa maneira, cada planta daninha indica algum fator de degradação, bastando somente que estes sinais sejam devidamente interpretados¹¹.

1.3. Características evolutivas das plantas daninhas

De maneira geral, as plantas daninhas levam desvantagem inicial na competição pela luz, principalmente devido às suas sementes pequenas e plântulas de baixo porte, permitindo que as espécies cultivadas interceptem a luz com maior facilidade. Entretanto, as espécies daninhas apresentam grande capacidade de estiolamentoⁱ quando sombreadas, fazendo com que rapidamente passem de uma

i - Mecanismo adaptativo que permite que sementes enterradas profundamente alonguem-se em direção à superfície; o caule fica longo enquanto suas folhas ficam pequenas.

situação de desvantagem para uma nova situação em que posicionam as suas folhas no mesmo nível ou acima das folhas da cultura, interceptando a radiação solar⁶.

Apesar destas características, as plantas invasoras não são eficientes na competição por recursos (nutrientes, água, luz e espaço) e por esta razão não conseguem se propagar com eficiência em comunidades estabelecidas, dando preferência a locais onde a vegetação natural foi retirada, que é justamente o caso típico de uma plantação de monocultura, onde a vegetação natural é ausente⁶.

Essas espécies invasoras desenvolveram ao longo do tempo, características que proporcionaram a sobrevivência em ambientes sujeitos aos mais variados tipos de adversidades. Os atributos desenvolvidos por estas plantas tornaram-se um impedimento à obtenção de um controle eficiente de plantas daninhas, sendo chamadas de características de agressividade. Dentre estas características de agressividade, podemos destacar: a desuniformidade no processo germinativo, a dormência das sementes, a capacidade de germinar e emergir a grandes profundidades, a viabilidade dos propágulos em condições desfavoráveis e até mesmo, mecanismos alternativos de reprodução.

Se as plantas daninhas concentrassem sua germinação num mesmo período, o controle seria facilitado. A fim de evitar este evento, muitas destas plantas utilizam-se de dois mecanismos adaptativos: a dormência dos propágulos e a distribuição destes no solo, pois em função dessa distribuição, ficam sujeitos a diferentes intensidades de estímulos necessários à quebra dos mecanismos de dormência.

A dormência é um mecanismo evolutivo que pode ser definido como um processo pelo qual as sementes de determinadas espécies – mesmo sendo viáveis e tendo todas as condições ambientais para germinar – deixam de fazê-lo. O tempo em que os propágulos se manterão viáveis no solo depende da coexistência de inúmeros mecanismos de dormência. Pois a longevidade destas sementes é um dos principais fatores que dificultam o controle destas plantas, pois existem casos em que sementes encontram-se viáveis após vários anos; conseguindo dessa forma, garantir sua sobrevivência^{6,13}.

Assim, a dormência evoluiu como um mecanismo de sobrevivência das espécies para determinadas condições climáticas. Em regiões de clima temperado, por exemplo, a maior ameaça à sobrevivência é o inverno. As sementes amadurecem na primavera, no verão e no outono. E se elas germinassem

imediatamente, o inverno as surpreenderia em um estágio vulnerável de plântula e a espécie poderia ser extinta.

1.4. Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é, por definição, a ocorrência de biotipo com habilidade herdada de sobreviver aos herbicidas eficazes no controle da espécie. Sua ocorrência foi teorizada por HARPER (1956) e documentada pela primeira vez no Canadá e nos EUA em 1957 (HILTON, 1957; SWITZER, 1957). A partir de 1996, os casos de resistência tem sido documentados no Brasil, sendo registrados, em média, a cada ano uma nova espécie resistente¹⁴.

Os fatores que favorecem a seleção de biotipos resistentes envolvem características relacionadas às plantas daninhas, aos herbicidas e às práticas culturais. Uma das características inerentes às plantas daninhas é a sua diversidade genética, que possui suas particularidades porque se desenvolvem e evoluem num ambiente hostil. A diversidade genética é maior entre as plantas daninhas anuais, que são as espécies pioneiras na sucessão ecológica do ambiente agrícola. Isto explica, ao menos em parte, porque a nível mundial, a maioria dos biotipos resistentes aos herbicidas é proveniente de espécies anuais. Grande diversidade genética favorece a seleção de indivíduos resistentes aos herbicidas devido a maior probabilidade de se encontrar um alelo inerentemente insensível ao produto utilizado. Assim como grandes infestações aumentam os riscos de seleção para resistência.¹⁴

Dessa forma, devido ao uso intensivo de herbicidas nas últimas décadas, algumas populações de plantas daninhas foram selecionadas em resposta ao distúrbio ambiental provocado pela pressão de seleção dos herbicidas. Estes biotipos resistentes ocorrem de maneira natural e em baixa frequência (cerca de 1 em um milhão ou até mesmo 1 em um bilhão). Esta pressão de seleção exercida pela aplicação repetitiva de um determinado tipo de herbicida ou de herbicidas diferentes, mas que tenham o mesmo mecanismo de ação, aumenta a frequência dos indivíduos resistentes na população. Ao aplicarmos um herbicida em uma população onde estes biotipos resistentes sejam imunes, a grande maioria das espécies suscetíveis é morta. Isto proporciona às espécies resistentes – que são

menos competitivas do que as espécies suscetíveis – uma oportunidade única de proliferarem de maneira significativa. Portanto, ao utilizarmos um mesmo herbicida continuamente, o número de biotipos suscetíveis diminui drasticamente e o número de biotipos resistentes aumenta radicalmente (Figura 1) (Tabela 1)¹⁵.

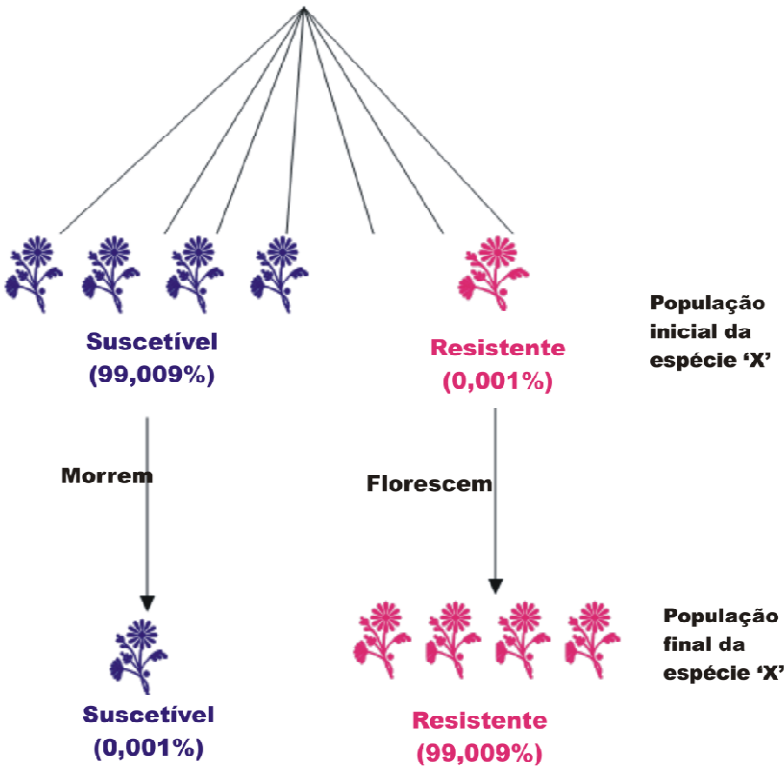


Figura 1: Resistência ocasionada pela pressão de seleção decorrente de aplicação repetitiva de um mesmo herbicida por vários. Adaptado de CHAUNDRY¹⁷.

Tabela 1: Resistência Mundial dos Herbicidas mais utilizados

Herbicida	Ano de Resistência	Ano em que foi reportado
2,4-D	1945	1963
Dalapon	1953	1962
Atrazina	1958	1988
Picloran	1963	1973
Trifluralin	1963	1982
Diclofop	1977	1982
Trialato	1962	1987
Clorosulfuron	1982	1987
Glifosato	2003	2006

Adaptado de CHAUNDRY¹⁷.

O primeiro relato confirmado de plantas daninhas resistentes a herbicidas

ocorreu em 1957, nos Estados Unidos, com biotipos de *Commelina difusa*, resistente ao herbicida 2,4-D. Desde então, o número de biotipos resistentes a vários herbicidas vem aumentando gradativamente (Figura 2).

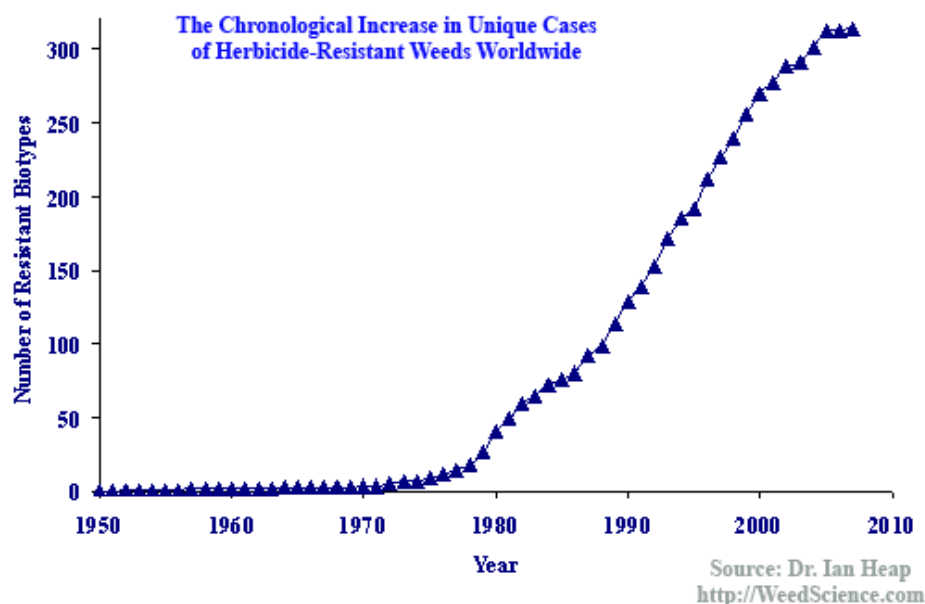


Figura 2: O rápido crescimento mundial da resistência a herbicidas tem seu início ao redor da década de 70, e continua até os dias atuais. Extraído de WEEDSCIENCE¹⁶

1.5. Tolerância e Suscetibilidade

Apesar da expressão “planta daninha resistente” ser bem definida, existem dois outros mecanismos importantes: a tolerância e a suscetibilidade. A tolerância é uma característica própria que uma determinada espécie apresenta, em sobreviver à aplicação de um herbicida (cuja concentração é capaz de eliminar as plantas indesejáveis) sem sofrer alterações significativas em seu crescimento e desenvolvimento^{2,17}; é a capacidade que a planta possui de compensar os efeitos danosos do herbicida, sem utilizar-se de nenhum mecanismo fisiológico. Isso só é possível porque a planta possui esta característica antes mesmo de seu primeiro contato com o herbicida em questão. Já a suscetibilidade, é a sensibilidade que uma determinada população apresenta às dosagens recomendadas de um herbicida, ocorrendo morte ou paralisação do crescimento da grande maioria dos indivíduos¹⁷.

1.6. Prejuízos na Agricultura

Por anos, fazendeiros combatem as injúrias de suas fazendas como: roedores, insetos, micro-patógenos e plantas daninhas, acarretando grandes perdas. De acordo com um recente estudo da Universidade de Cornell, os impactos globais causados somente pelas plantas daninhas na agricultura norte-americana, na qualidade da água e na vida selvagem, tem seu custo estimado em \$ 34,7 bilhões de dólares anuais. As plantas daninhas afetam, de maneira global, a agricultura, a pecuária, a eficiência agrícola na produção de grãos, e consequentemente, influem diretamente na vida do homem. Entretanto, é na agricultura que estas plantas causam os maiores impactos econômicos: sua interferência nas culturas dos países tropicais acarreta uma redução global na produção agrícola em torno de 30 a 40 %, além de aumentar os custos de produção⁵.

Dentre as interferências causadas pelas plantas daninhas, um dos principais mecanismos pelo qual elas atuam é a alelopatia.

1.7. Alelopatia

Embora o termo Alelopatia tenha sido definido recentemente – se comparado à sua existência - desde as primeiras civilizações, o homem vem observando os efeitos causados pela interação entre determinadas plantas em seus cultivos. O primeiro registro sobre a capacidade das plantas interferirem no desenvolvimento de plantas vizinhas foi descrito por Theophrastus (300 a.C.), discípulo de Aristóteles, que observou um comportamento atípico nas plantas de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), que pareciam impedir o crescimento de outras plantas ao seu redor. Em 200 d.C., Shengnong Ben Tsao Jing, na China, relatou o estudo de plantas utilizadas para o controle de pestes. Em 1988, Yang e Tang deram continuidade ao tema, realizando uma extensa revisão destas plantas, relatando 267 plantas com atividade pesticida, sendo que muitas delas também expressaram potencial alelopático. Em 1500 d.C., Lee Shi-Jen, um famoso farmacologista chinês, escreveu um livro sobre ervas medicinais, descrevendo a natureza tóxica e benéfica de seus constituintes químicos sobre organismos diversos, dentre eles o humano. Ele também fez uma importante observação ao ressaltar que estes constituintes

químicos poderiam ser afetados pelo habitat das plantas. No início do século XVII, um botânico chamado De Candolle, sugeriu que a fraqueza do solo era devido a exsudatos provenientes das colheitas de monoculturas que eram cultivadas durante anos seguidos¹⁸. Assim, diversos outros relatos foram surgindo até chegarmos à definição proposta por Molisch, em 1937, que criou o termo alelopatia a partir de duas palavras gregas, *allélon* (mútuo) e *pathos* (prejuízo), que em outras palavras, pode ser interpretado como um processo fisiológico de uma planta, que acabaria por liberar substâncias que seriam deletérias ao crescimento de outras que compartilhassem o mesmo habitat.

Embora seja bem conhecido que o fisiologista vegetal Hans Molisch cunhou o termo alelopatia em 1937, o real objetivo de seu trabalho foi deixado de lado. Na verdade, sua intenção era explicar porque ao armazenar no mesmo local frutas com amadurecimento tardio e outras com amadurecimento precoce (como maçãs e peras), estas últimas acabavam por estimular o amadurecimento das demais. Ele demonstrou que a substância responsável por este fenômeno era o etilenoⁱⁱ. Também demonstrou que havia inibição das raízes da políacea *Vicia sativa* L., popularmente conhecida como ervilhaca e ocorria estímulo das partes aéreas da ervilha (*Pisum sativum* L.) ao mergulhá-las em vasilha contendo algumas maçãs¹⁹.

Posteriormente, em 1984, ELROY RICE ampliou a definição proposta por Molisch e definiu alelopatia como qualquer efeito direto ou indireto, seja ele danoso ou benéfico, que uma planta e microrganismos exercem sobre outra espécie vegetal através da produção de compostos químicos liberados no ambiente.

A expressão *alelopatia* não deve ser confundida com *competição*, pois segundo MULLER, a competição é caracterizada quando ocorre maior captação de recursos do seu habitat causando um efeito danoso no crescimento de outras plantas que necessitem destes elementos. Ao longo de todo o desenvolvimento e da construção da história da agricultura, o homem foi pesquisando – muitas vezes de maneira apenas empírica – fatos que aparentemente pareciam sem explicação e sem ligação, como a experiência que MOLISCH enfrentou ao deparar-se com o curioso episódio onde determinadas frutas estimulavam o crescimento de outras ao serem colocadas juntas; o fato de algumas plantas coincidentemente aparecerem em determinadas plantações e coincidentemente também esta plantação ser

ii - hormônio vegetal responsável pelo amadurecimento de frutos.

prejudicada; o fato da troca de culturas em uma mesma área ser danosa à próxima cultura (devido ao exsudato proveniente da palha da plantação que existia naquele local e que acabara por deixar substâncias químicas no solo). Todas estas situações, além de tantas outras com o mesmo princípio, depois de analisadas e estudadas, fizeram com que o homem percebesse que poderia utilizar os fatores presentes na natureza a seu favor. Dessa forma, começou-se a pesquisar de que forma estes compostos alelopáticos poderiam ser utilizados com o intuito de melhorar os cultivos, aumentando a produção durante as colheitas.

1.8. Eficiência na Agricultura

Dessa forma, a eficiência na agricultura depende de um controle de pragas, doenças e plantas infestantes e daninhas, para evitar a queda na produção de alimentos, decorrente das perdas nas colheitas causadas por destruição, contaminação patogênica, e contaminação por espécies indesejáveis²⁰. Portanto, para que a agricultura fosse economicamente viável, era necessário um método que fosse eficiente, seletivo e de baixo custo ao produtor.

No início da década de 30, começaram a surgir os primeiros herbicidas sintéticos, quando foi descoberto um hormônio responsável pelo crescimento vegetal denominado auxina^{1,20,21}.

1.9. A descoberta do hormônio vegetal auxina

Durante o final do século XIX, Charles Darwin e seu filho estudaram o crescimento dos vegetais envolvendo os movimentos (tropismos), especialmente interessados em um fenômeno específico: a curvatura das plantas em direção à luz (fototropismo). Observaram que ao ser iluminado unilateralmente com um pulso curto de luz, o ápice do vegetal curvava-se em direção à fonte de luz, em período inferior a 1 hora. A estrutura sensível a luz é um órgão protetor responsável por revestir as folhas mais jovens do vegetal, denominado coleóptilo (Figura 3). Dessa forma, concluíram que algum tipo de sinal era produzido no ápice vegetal,

deslocando-se até a zona de crescimento e ocasionando o crescimento mais rápido do lado sombreado do que do lado iluminado. Porém esta linha de pesquisa apresentou resultados apenas no início do século XX, com a demonstração em 1926, por WENT, da presença de um composto promotor de crescimento no ápice dos coleóptilos de aveia (*Avena sativa*). Posteriormente esta substância foi identificada como um hormônio vegetal e denominada de auxina, do grego *auxein*, cujo significado é “aumentar” ou “crescer”. No início da década de 1930, a estrutura química do hormônio auxina foi elucidada como sendo o ácido indol-3-acético (AIA) **1**. Mais tarde, várias outras auxinas foram encontradas nos vegetais superiores (Figura 4), porém o **AIA** é, sem dúvida, a auxina mais abundante e de maior relevância fisiológica²¹.

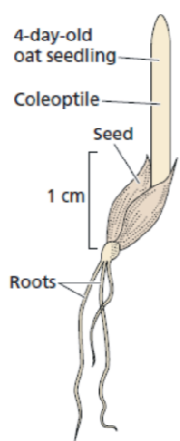


Figura 3: Coleótilo protegendo as primeiras folhas do vegetal. Retirado de Taiz²¹

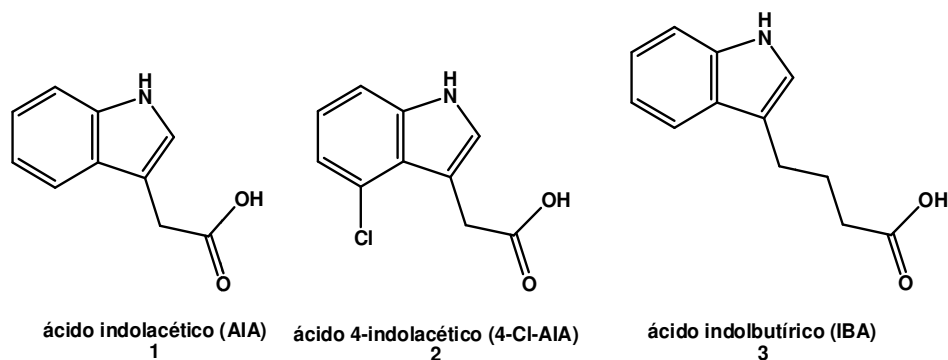


Figura 4: Estrutura de 3 auxinas naturais. Ácido indolacético **1**, que ocorre em todas as plantas; Ácido 4-cloroindolacético **2**, presente em ervilhas, e Ácido indolbutírico **3**, presente em milho e cereais e em sementes de mostarda.

A descoberta destas auxinas naturais contribuiu diretamente para o desenvolvimento de herbicidas sintéticos, pois foi constatado que um pequeno aumento na concentração destes hormônios causava uma série de disfunções na planta, levando-a à morte²⁶. Dessa forma, deu-se início a pesquisas sobre a utilização de auxinas sintéticas como herbicidas, levando ao desenvolvimento de novos produtos sintéticos, como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético **4**, ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético **5**, ácido 2,4,5-trimetoxifenoxiacético **6**, ácido 4-clorofenóxido-2-metilpropanóico **7**, ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzóico **8** e ácido 2,3,6-triclorobenzóico **9** (Figura 5), que foram os primeiros herbicidas efetivamente seletivos, sendo muito mais ativos sobre plantas daninhas de folhas largas (dicotiledôneas) do que para gramíneas (monocotiledôneas)^{22,23}. Na época, a síntese destas moléculas foi possível devido à sua baixa complexidade estrutural²¹.

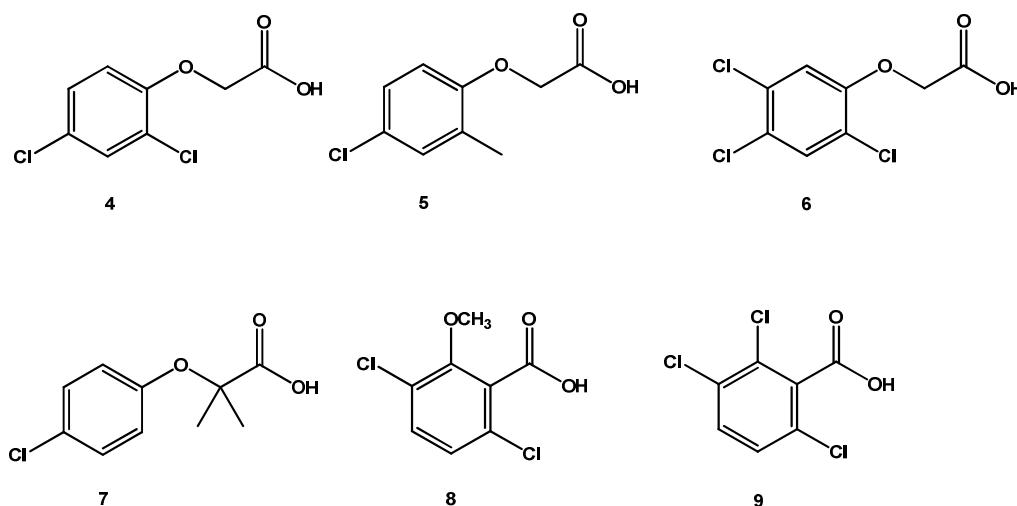


Figura 5: Exemplos de auxinas sintéticas: ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) **4**, ácido 4-cloro-2-metilfenóxiacético **5**, ácido 2,4,5-trimetoxifenóxiacético (245T) **6**, ácido 4-clorofenóxido-2-metilpropanóico **7**, ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzóico (DICAMBA) **8** e ácido 2,3,6-triclorobenzóico (TBA) **9**.

Dentre estes compostos, os mais utilizados foram o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) **4** e o ácido 2,4,5-trimetoxifenoxiacético (2,4,5-T) **6**, pois embora tivessem atividade semelhante aos demais, possuíam um baixo custo para sua produção e apresentavam maior estabilidade. Dessa forma, os dois herbicidas eram utilizados em conjunto, em soluções 1:1 no combate às plantas daninhas. Entretanto, após a Guerra do Vietnã, onde foram utilizadas toneladas destes herbicidas com a finalidade de desfolhar as florestas vietcongues, percebeu-se os

riscos da utilização do 2,4,5-T, pois ele possuía como subproduto de sua síntese a dioxina 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD), substância altamente tóxica e suspeita de ser cancerígena e causar distúrbios endócrinos (Figura 6). Dessa forma, apenas o herbicida 2,4-D é utilizado atualmente^{25 – 29}.

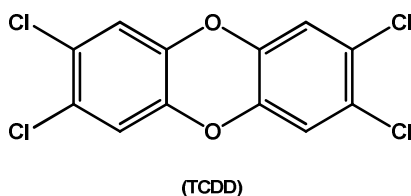


Figura 6: Dioxina 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (**TCDD**), subproduto da síntese do herbicida 2,4,5-T **6**

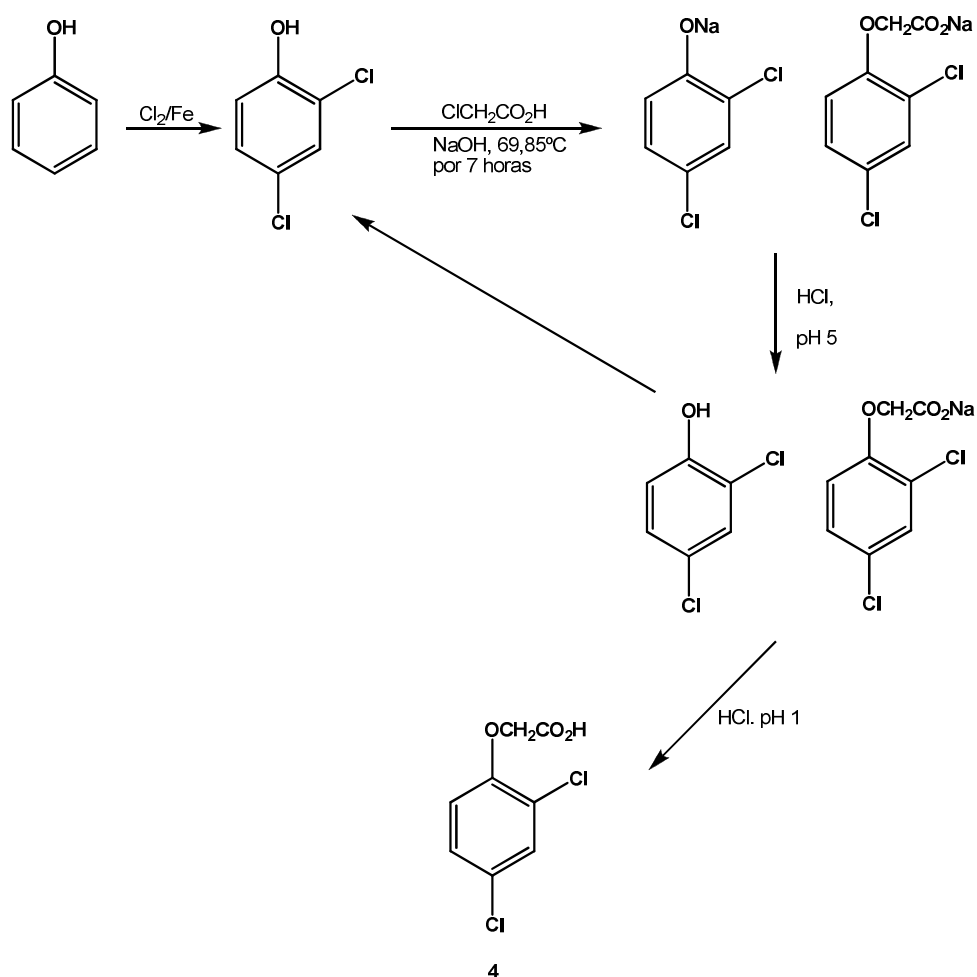
1.10. A origem do herbicida 2,4 – D

O ácido diclorofenoxiacético, mais conhecido como 2,4-D, é um dos herbicidas mais comuns e antigos do mundo. No início de 1941, verificou-se que o 2,4-D tinha potencial para afetar os processos de crescimento em plantas de um modo semelhante aos reguladores de crescimento vegetais, razão pela qual o produto foi descrito posteriormente como “hormonal”. Após o final da década de 40, continuaram a pesquisar o produto e determinaram seu uso como herbicida. As primeiras patentes para sua síntese foram obtidas pela Dow Chemical Co. e American Chemical Paint Company (Union Carbide) em 1947²⁹ (Esquema 1).

Atualmente, o 2,4-D e outros produtos da mesma família química, conhecidos como fenoxiacéticos, são utilizados ao redor do mundo como ferramenta básica na agricultura moderna no combate às plantas daninhas. A razão para este sucesso não é só devido a sua grande atividade como herbicida, mas também devido a um dos melhores perfis toxicológicos disponíveis e um preço muito acessível. O uso do 2,4-D vem crescendo desde a sua introdução no mercado; no início, devido as suas vantagens como herbicida seletivo de baixo custo e ultimamente com a adoção do desenvolvimento da prática do plantio direto (que iniciou o conceito de agricultura sustentável) como uma ferramenta insubstituível para controle de plantas daninhas. O trigo produzido nos Estados Unidos utiliza praticamente só o 2,4-D e há previsão

de que o consumo global deverá crescer na próxima década. Nos Estados Unidos, onde o 2,4-D é o terceiro produto fitossanitário mais utilizado, mais de 31.000 toneladas são usadas anualmente. No reino Unido, é um dos seis herbicidas mais utilizados^{21,30}.

Esquema 1: esquema geral da síntese do 2,4-D, preparado pela condensação de 2,4-diclorofenol com ácido 2-cloroacético em meio fortemente alcalino a temperaturas moderadas.



1.11. A aplicação da Alelopatia nos cultivos agrícolas.

O termo aleloquímico, proveniente de *allelochemic*, utilizado por WHITTAKER e FEENY, em 1971, começou a ser adotado nas pesquisas agrícolas em 1983, por CHOU e WALLER, tornando-se ao longo dos anos um termo muito difundido nas ciências agrícolas, tratando das interações químicas entre organismos vivos, tais como as relações planta-planta, planta-inseto, inseto-inseto, planta-microrganismo e

microrganismo-microrganismo¹⁹, Erro! Indicador não definido.

Segundo Macias e colaboradores, na maioria dos casos, o design destes novos protótipos pode ser desenvolvido por duas estratégias distintas: o uso de fragmentos da molécula que são responsáveis pela bioatividade observada do produto natural, ou por funcionalização do esqueleto molecular³¹. Sendo assim, protótipos de herbicidas a partir de produtos naturais são ferramentas úteis na busca de produtos com possibilidade de emprego agroquímico, pois a ampla variedade estrutural favorece esta busca e em termos de aplicabilidade, o estudo do efeito alelopático é um dos mais promissores alvos como fonte de informação e desenvolvimento de modelos de herbicidas alternativos⁵¹.

Em trabalhos desenvolvidos em nosso laboratório nos últimos 10 anos^{33 – 39} foi realizado o estudo fitoquímico da planta invasora *Duguetia furfuracea*, espécie característica de Cerrado (Figura 7), com alta capacidade de crescimento vegetativo, e responsável por grandes infestações e agressividade sobre as plantas cultivadas no Estado de Mato Grosso do Sul, como a soja (*Glycine max*), por exemplo.

Dentre as substâncias isoladas das cascas do caule desta planta, o metabólito 2,4,5-trimetoxibenzaldeído apresentou bons resultados nos testes de atividade alelopática, levando ao desenvolvimento do presente trabalho, com o objetivo de realizar modificações estruturais que permitissem potencializar este efeito³³.



Figura 7: *Duguetia furfuracea* (St. Hil.) Benth. & Hook³⁹.

2. OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi sintetizar e avaliar a atividade fitotóxica dos derivados fenólicos obtidos a partir do composto 2,4,5-trimetóxiбенzaldeído (substância produzida pela espécie *Duguetia furfuracea*), tornando-se uma alternativa viável aos herbicidas existentes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foram preparadas placas de sílica (sílica-gel 60G - F254 com indicador de fluorescência) com 0,25mm de espessura, por meio de uma mistura na proporção de 1:2 de sílica/água. Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e reveladas com solução de cloreto férrico ou iodo⁴⁰

3.2 Purificação por cromatografia em coluna

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

3.3 Técnicas Espectroscópicas

3.3.1 Ressonância Magnética Nuclear

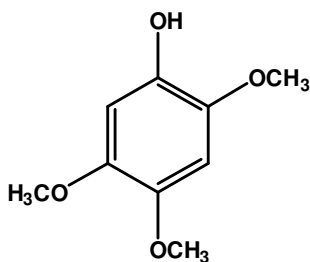
Os Espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em aparelho BRUKER AVANCE DRX 300 MHz, do Departamento de Química da UFMS. Utilizou-se clorofórmio deuterado como solvente e tetrametilsilano como padrão interno de referência ($\delta = 0$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

3.4 Purificação e preparo de reagentes e solventes

A purificação e preparo dos reagentes e solventes foi realizada segundo metodologia de PERRIM e ARMAREGO⁴¹.

3.5 Descrição dos Procedimentos Sintéticos

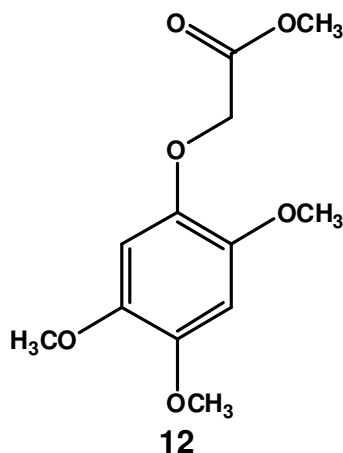
3.5.1 Síntese de 2,4,5 – trimetoxifenol

**11**

Em balão de duas bocas (100 mL) foram adicionados 5 mmol de 2,4,5-trimetoxibenzaldeído **10** e 1,026 mL de peróxido de hidrogênio 30 volumes. A mistura foi resfriada e mantida sob atmosfera de nitrogênio, e após 10 minutos, foi acrescentado lentamente 0,1 mL de ácido sulfúrico. A reação foi mantida à temperatura de 0 °C durante 6h e, em seguida, permitiu-se que a temperatura se igualasse à temperatura ambiente. Deixou-se a mistura sob agitação durante 24 horas quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido.

Foram então adicionados à mistura reacional 30 mL de água destilada e a fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (2 x 30 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado em coluna de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila 7:3, obtendo-se o composto 2,4,5- trimetoxifenol **11**, que foi recristalizado em hexano/acetato de etila (cristais brancos, 0,667 g; 3,4 mmol; 68%), para se obter uma melhor correspondência nos testes de atividade alelopática.

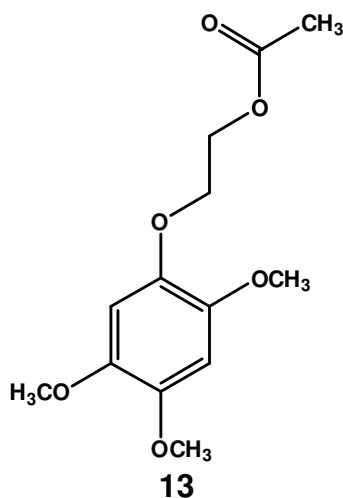
3.5.2 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-metila



Em balão de duas bocas (100 mL), contendo 50mL de etanol, sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 5 mmol de **11**. Foi adicionado 1,03eq. de Hidróxido de Potássio. A mistura reacional ficou sob agitação por 1 hora quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido. O etanol foi rotaevaporado sob pressão reduzida tomando os devidos cuidados para que não ocorresse absorção de umidade do meio. O sistema foi submetido novamente à atmosfera de nitrogênio, adicionando-se DMF (50mL) como solvente polar aprótico para a nova etapa reacional. Após total dissolução do produto previamente rotaevaporado, foi adicionado ao balão reacional 1,03eq. de 2-bromoacetato de metila, com auxílio de seringa de 1mL. Deixou-se a mistura sob agitação durante 24 horas quando foi confirmado, por CCD que o material de partida havia sido totalmente consumido.

Foram então adicionados à mistura reacional 50 mL de água destilada e 50 mL de acetato de etila. Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (2 x 50 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada novamente com 50 mL de água destilada. A solução obtida foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila 8:2, obtendo-se o composto **12**, que foi recristalizado em hexano/acetato de etila (cristais brancos, 0,644g; 3,5 mmol; 70%).

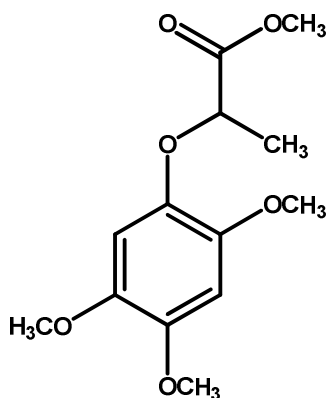
3.5.3 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-etila



Em balão de duas bocas (100 mL), sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 1 eq. (5mmol) de **11** em solução de etanol (50 mL). Foi adicionado Hidróxido de Potássio com pequeno excesso (1,03 eq.). A mistura reacional ficou sob agitação por 1 hora quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido. O etanol foi rotaevaporado sob pressão reduzida tomando os devidos cuidados para que não ocorresse absorção de umidade do meio. O sistema foi submetido novamente à atmosfera de nitrogênio, adicionando-se DMF (50 mL). Após total dissolução do produto anteriormente rotaevaporado, foi adicionado ao balão reacional 1,03 eq. de 2-bromoacetato de etila. Deixou-se a mistura sob agitação durante 24 horas quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido.

Foram então adicionados à mistura reacional 50 mL de água destilada e 50 mL de acetato de etila. Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (2 x 50 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada novamente com 50 mL de água destilada. A solução obtida foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila 8:2, obtendo-se o composto **13**, que foi recristalizado em hexano/acetato de etila (cristais brancos, 0,460g; 2,5 mmol; 50%).

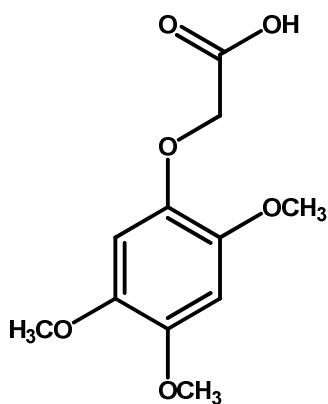
3.5.4 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi) propanoato de metila

**14**

Em balão de duas bocas (100 mL), sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 1 eq. (5 mmol) de **11** em solução de etanol (50 mL). Foi adicionado Hidróxido de Potássio com pequeno excesso (1,03 eq.). A mistura reacional ficou sob agitação por 1 hora quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido. O etanol foi rotaevaporado sob pressão reduzida tomando os devidos cuidados para que não ocorresse absorção de umidade do meio. O sistema foi submetido novamente à atmosfera de nitrogênio, adicionando-se DMF (50 mL. Após total dissolução do produto anteriormente rotaevaporado, foi adicionado ao balão reacional 1,03 eq. de 2-bromopropanoato de metila. Deixou-se a mistura sob agitação durante 24 horas quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido.

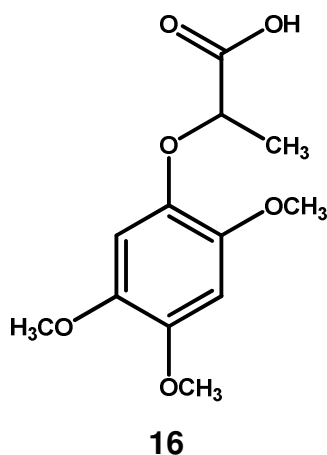
Foram então adicionados à mistura reacional 50 mL de água destilada e 50 mL de acetato de etila. Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (2 x 50 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada novamente com 50 mL de água destilada. A solução obtida foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel, eluída com hexano/acetato de etila na proporção de 4 partes para 1 de acetato de etila, obtendo-se o composto **14**, o qual foi recristalizado em hexano/acetato de etila (cristais brancos, 0,552g; 3,0 mmol; 60%).

3.5.5 Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-acético

**15**

Em balão de duas bocas (50 mL), solução de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-metila **12** (0,66 mmol) em etanol (30 mL) foi tratada com hidróxido de sódio 5N aquoso (3 mL) à temperatura ambiente, deixando sob agitação durante 06 horas, quando foi confirmado, por CCD, que o material de partida havia sido totalmente consumido. Foram então adicionados à mistura reacional 30 mL de água destilada, quantidade equivalente de acetato de etila e o pH foi ajustado para 3,0 com solução 6N de ácido hidrocloreto. Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (2 x 30 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada novamente com 30 mL de água destilada. A solução obtida foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel, eluída com hexano/acetato de etila (4:1), obtendo-se o ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-acético **15** (0,351g; 0,597mmol; 90,4%).

3.5.6 Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-propanóico



Em balão de duas bocas (50mL), foi adicionado solução de **14** (0,66 mmol) em etanol (30mL), que foi tratada com hidróxido de sódio 5N aquoso (3mL) à temperatura ambiente, deixando-s sob agitação durante 06 horas, quando foi confirmado, por cromatografia em camada delgada (CCD), que o material de partida havia sido totalmente consumido. Foram então adicionados à mistura reacional 30 mL de água destilada, quantidade equivalente de acetato de etila e o pH foi ajustado para 3,0 com solução 6N de ácido hidrocloreico. Após a separação das fases, a fase aquosa foi submetida à extração com acetato de etila (2 x 30 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada novamente com 30 mL de água destilada. A solução obtida foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material resultante foi fracionado em coluna de sílica gel, eluída com hexano/acetato de etila (4:1), obtendo-se o composto **16** (0,409 g; 0,607 mmol; 92%).

3.6 Ensaios Biológicos

3.6.1 Avaliação da Atividade Alelopática

A avaliação alelopática foi verificada através do ensaio biológico de inibição de germinação em sementes de plantas mais sensíveis com germinação rápida e uniforme, como a *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola). O ensaio biológico

consiste no acompanhamento da germinação das sementes, bem como no crescimento de radículas e hipocótilos das plântulas das espécies acima citadas⁴².

3.6.2 Preparo das Soluções Utilizadas

As soluções preparadas foram tamponadas com 10 mM de ácido 2-(N-morfolino) etanosulfônico (MES) e seu pH foi ajustado para 6,0 utilizando solução 1N de NaOH⁴².

Os compostos foram solubilizados em DMSO e depois diluídos em tampão (5 µL DMSO/mL de tampão) e testados nas seguintes concentrações: 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} M, com o objetivo de avaliar os efeitos alelopáticos sobre o crescimento dos hipocótilos e radículas das espécies testadas.

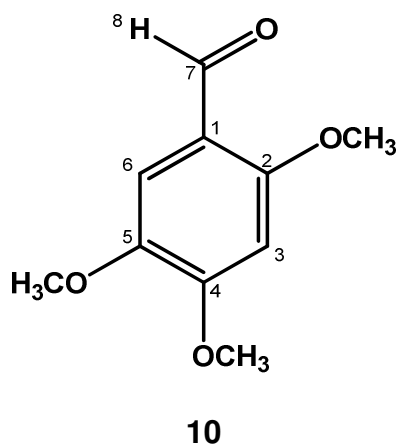
Os experimentos foram realizados em triplicata, e as placas foram incubadas a 25°C com alternância de fotoperíodo. Sementes de alface foram mantidas por 6 dias em estufa com fotoperíodo de 24h e cebola por 7 dias, com fotoperíodo de 12h. Após a conclusão do ensaio, as sementes foram retiradas e resfriadas a -10 °C durante 24 h para interromper o processo de crescimento. O herbicida comercial Aminol 806® foi utilizado como controle positivo. A leitura foi realizada com auxílio de lupa e pinça, medindo-se os hipocótilos e radículas⁴⁴.

Os bioensaios foram realizados em placas de Petri (90 mm. diâmetro) com papel de filtro Whatman Nº 1. Em placas de Petri, previamente submetidas à assepsia com álcool etílico 70º GL, foram adicionados papéis de filtro para esterilização em autoclave por 1 hora a 180°C e 1,5 atm., posteriormente deixadas em estufa durante uma hora, a 100°C para esterilização à seco.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise do Material de Partida

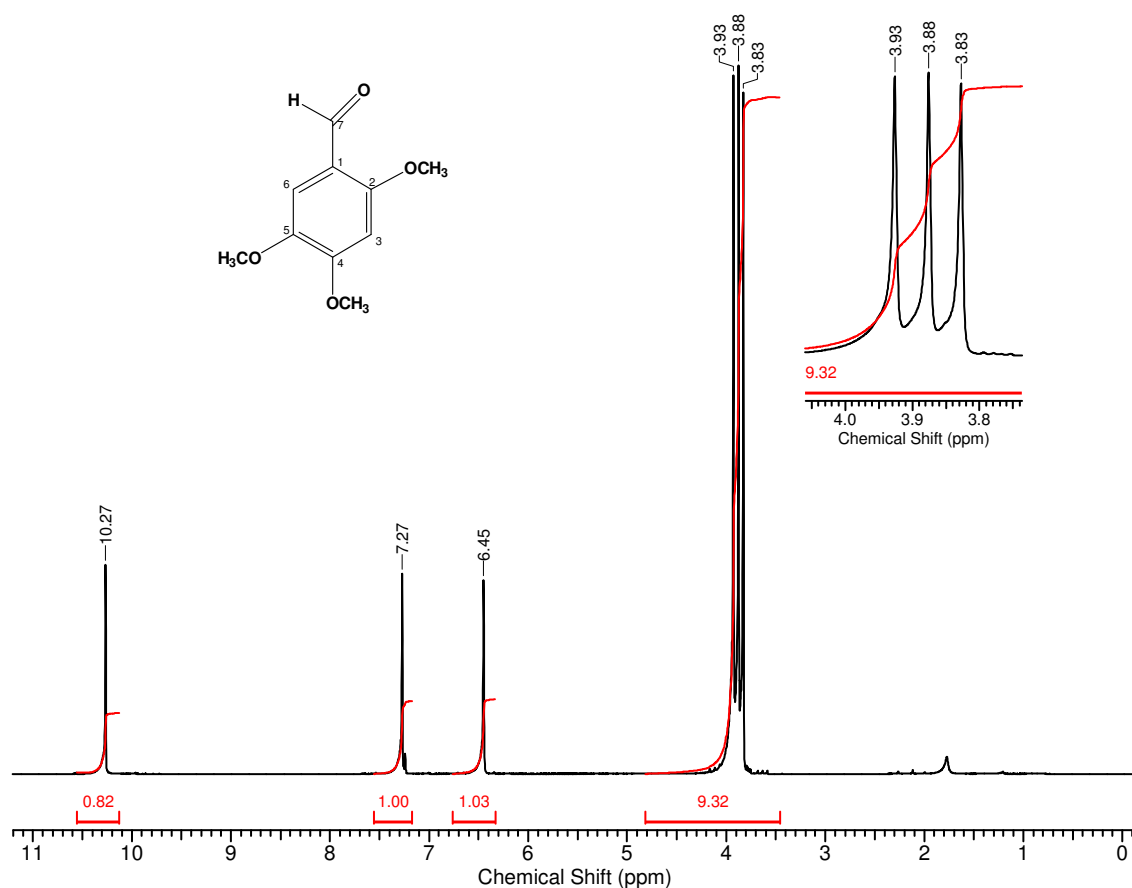
O material de partida utilizado para a síntese foi o produto 2,4,5-trimetoxibenzaldeído **10**, obtido comercialmente e submetido à análise de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13, conforme descrito abaixo, a fim de observar o padrão de deslocamento desta estrutura:



O Espectro de RMN ^1H de **10** (**Espectro 1**) apresentou dois singletes relativos a hidrogênios aromáticos, nas regiões de δ 6,47(s) – atribuído ao hidrogênio H3 e δ 7,31(s) – atribuído ao hidrogênio H6, em posição *orto* à carbonila, que apresentou-se mais desprotegido devido ao efeito de desblindagem adicional deste grupo. Em seguida, três metoxilas aromáticas em δ 3,85 δ 3,9 e δ 3,95 ppm e também um singlete em δ 10,29(s), relativo ao hidrogênio da função aldeído, em decorrência do efeito anisotrópico causado pelo fluxo de elétrons da ligação π da carbonila (**Tabela 1**).

A análise dos dados espectrais de RMN ^{13}C (**Espectro 2**) do composto **10** confirmou a presença de uma carbonila de aldeído e anel aromático tetrassubstituído. Embora a absorção característica de carbonila de aldeído fique ao redor de 199,3 ppm⁴³, observa-se um deslocamento do sinal abaixo de 190 ppm, que pode ser decorrente da deslocalização de carga, ocasionada pelo anel aromático e pela dupla ligação, tornando o carbono carbinólico menos deficiente em elétrons, apresentando deslocamento químico de δ 187,87 ppm, caracterizando uma carbonila conjugada com o anel aromático sob efeito de ressonância (proteção), cuja

deslocalização da carga resultaria em maior desproteção nos carbonos aromáticos das posições *orto* e *para*. A desproteção dos carbonos C1 e C4 (158,63 e 155.82), se comparados à C6 (109,11), pode ser devido à desproteção dos átomos de oxigênio adjacentes às metoxilas diretamente ligadas aos carbonos C2 e C4. Já os carbonos C6 (109.11 ppm) e C3 (96.04 ppm) apresentam-se mais blindados. Porém por efeitos distintos: pois C3, apesar de não possuir contribuição significativa pela deslocalização dos elétrons provenientes da ressonância (posição *meta* em relação à carbonila), possui átomos de oxigênio adjacentes dos carbonos metoxilados, deixando-o desprotegido. C5 apresentou deslocamento químico de $\delta = 143.62$ ppm, uma vez que apresenta um carbono metoxilado e um carbono vizinho à carbonila, além de possuir contribuição pela ressonância (posição *orto*) (**Tabela 2**).



Espectro 1: Espectro de RMN¹H de **10** entre 2,0 – 11,0 ppm (300 MHz, CDCl₃)

Tabela 2: Dados de RMN¹H (δ) de **10**

H	(δ)
3	6,45 (s)
6	7,27 (s)
8	10,27 (s)
OCH ₃	3,85 (s)
OCH ₃	3,90 (s)
OCH ₃	3,95 (s)

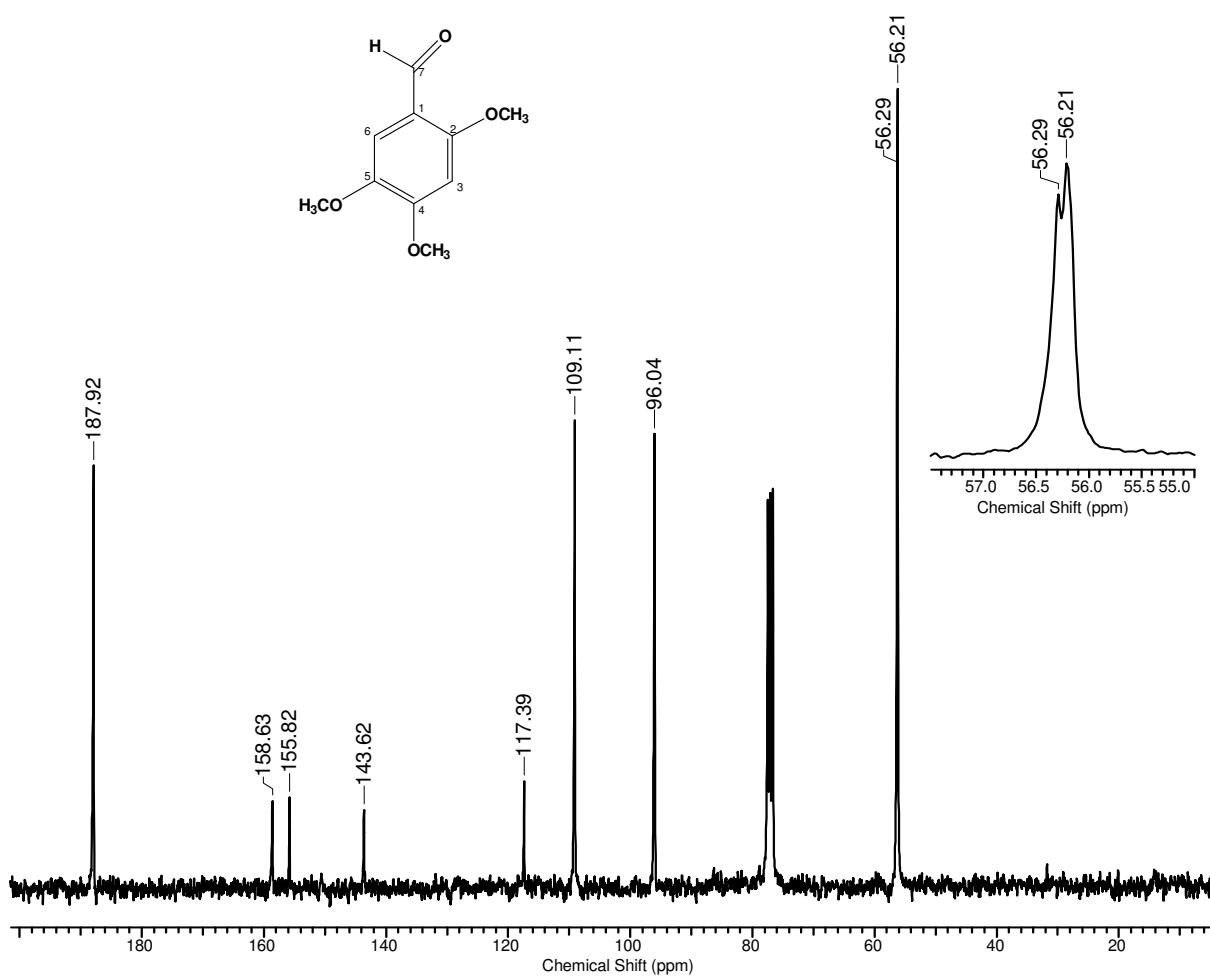
**Espectro 2:** Espectro de RMN¹³C de (**10**) entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

Tabela 3: Dados de RMN¹³C (δ) de **10**

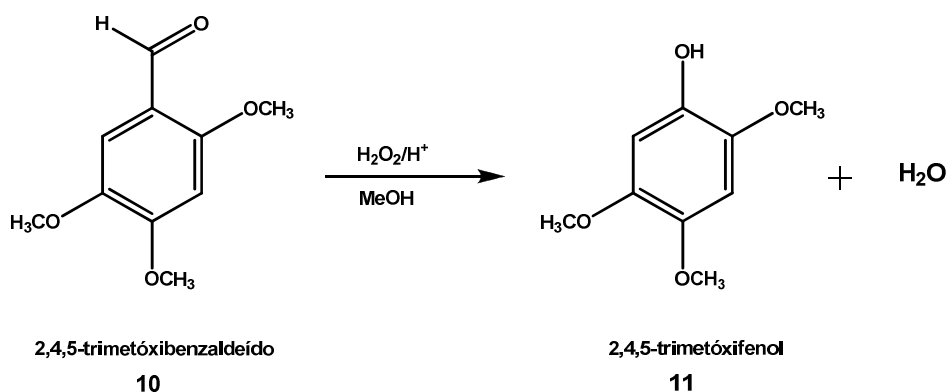
C	(δ)
1	117,39
2	158,63
3	96,04
4	155,82
5	143,57
6	109,11
7	187,87
OCH ₃	
OCH ₃	56,21 – 56,29
OCH ₃	

4.2. Síntese do 2,4,5-trimetoxifenol

A oxidação de benzaldeídos a fenóis é uma das reações mais importantes em síntese orgânica, sendo conhecida como reação de Dakin. Esta reação é uma variação da reação de Bayer-Villiger, sendo muito utilizada na síntese de derivados fenólicos^{44,45}.

Neste sentido, a primeira etapa sintética realizada consistiu na oxidação do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído **10** ao 2,4,5-trimetoxifenol **11** utilizando esta metodologia (Esquema 2)⁴⁶.

Esquema 2: Esquema geral da síntese de 2,4,5-trimetoxifenol via Reação de Dakin.

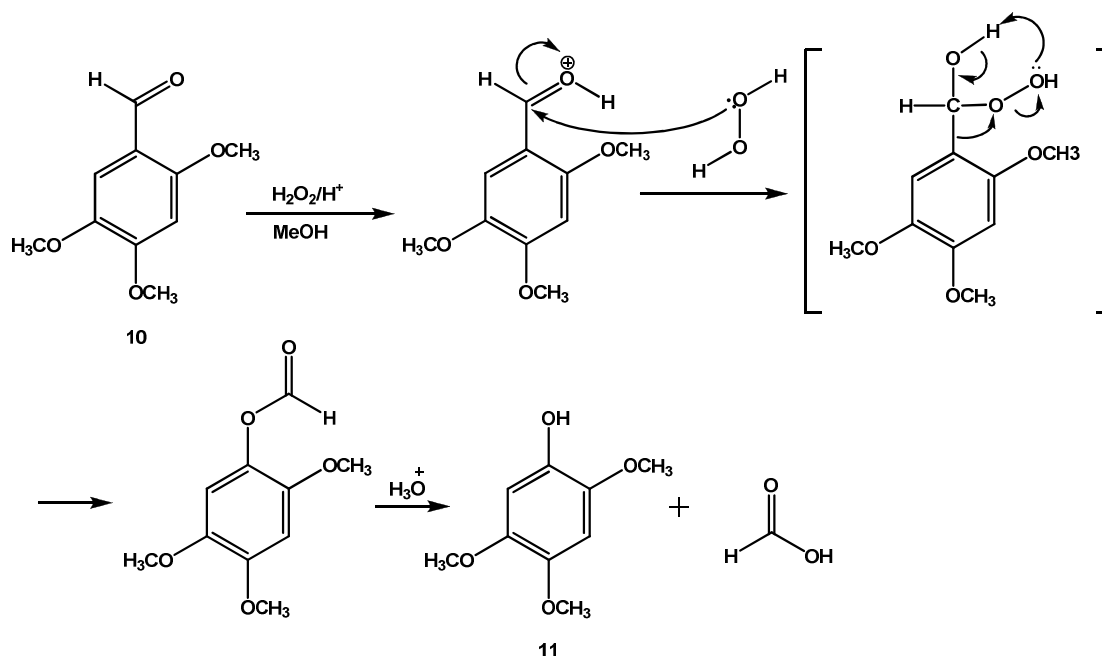


Estudos mecanísticos mostraram que a tendência de migração do

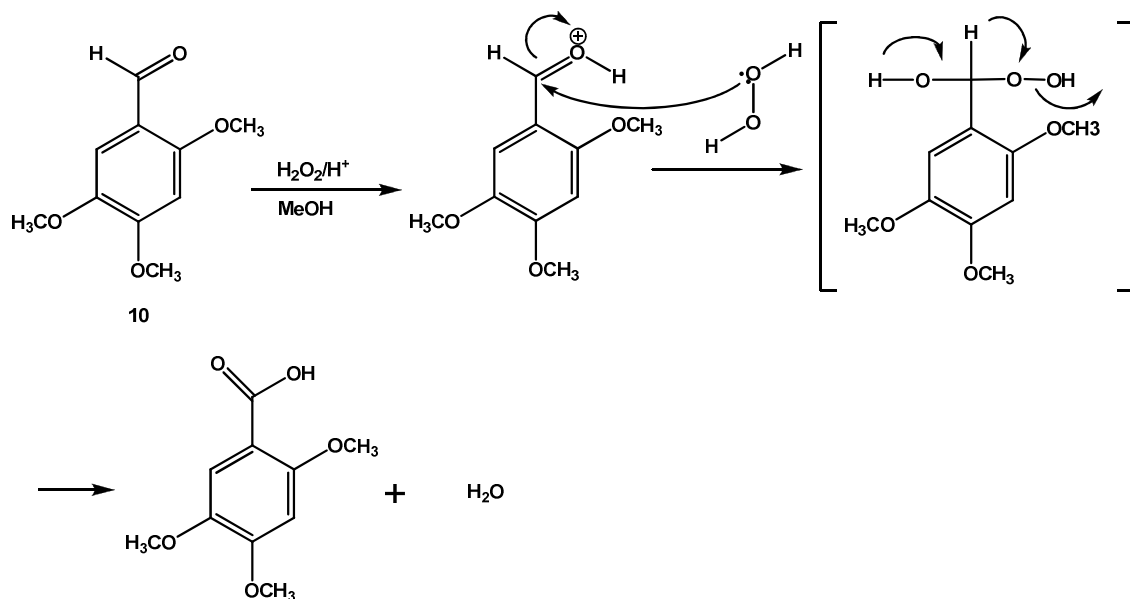
grupamento arila ou hidrogênios aldeídicos é comandada em parte por fatores eletrônicos. Por exemplo, quando grupos doadores de elétrons estão presentes no anel aromático na posição *orto* ou *para*, como fenóis ou grupos metoxila, o produto de reação normalmente é um fenol (aldeídos aromáticos se transformam em fenóis), porém quando grupamentos retiradores de elétrons estão presentes, um ácido carboxílico ou éster é formado como produto final dependendo do solvente empregado⁴⁸.

Nestas reações as condições mais comumente empregadas são um agente oxidante, por exemplo, perácidos na presença de uma base como NaOH⁴⁷, entretanto uma série de pesquisas foram realizadas na tentativa de otimizar esta reação e obter maior seletividade frente ao produto desejado, sendo que a utilização de peróxido de hidrogênio em meio ácido e metanol mostrou os melhores resultados, garantindo-se a seletividade para a formação do fenol. No esquema abaixo mostramos um mecanismo geral para a formação do fenol de interesse, utilizando esta última condição reacional (Esquema 3).

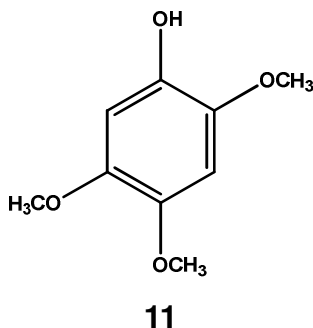
Esquema 3: Mecanismo geral para a formação de **10** utilizando peróxido de hidrogênio, em meio ácido e metanol.



Na proposta mecanística acima, se o hidrogênio aldeídico migrasse, outro produto se formaria e assim o 2,4,5-trimetoxifenol não seria formado (Esquema 4).

Esquema 4: Migração do hidrogênio aldeídico.

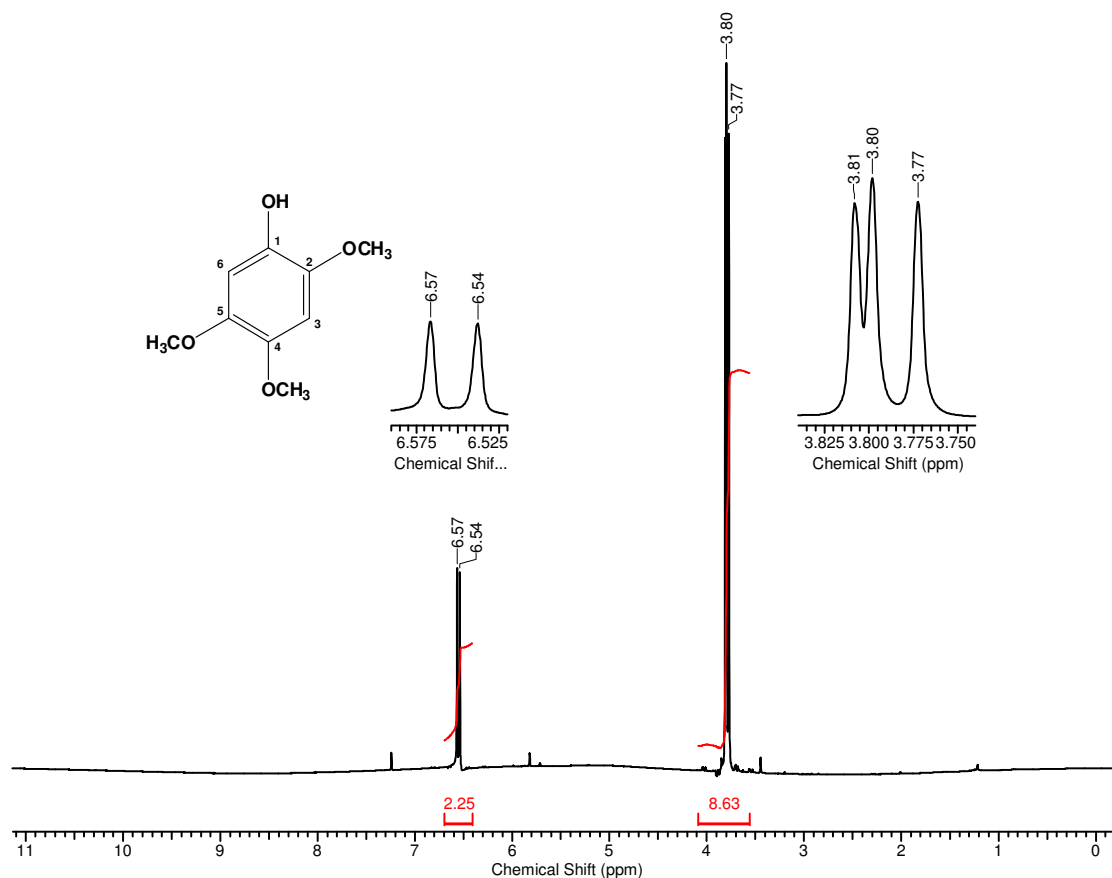
4.3 Análise do 2,4,5-trimetoxifenol



A partir da integração do Espectro de RMN^1H de **11** (**Espectro 3**), observa-se o desaparecimento do singlete referente ao hidrogênio aldeídico ($\delta = 10,29$), indicando que o produto **10** foi transformado em **11**. Um outro indicativo foi a ausência de carbonila, evidenciada pelos deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos, que ausentes do fenômeno de anisotropia diamagnética, agora possuem deslocamentos químicos muito semelhantes, em 6.57 e 6.54 ppm, pois no composto **11** apresentaram átomos de oxigênio adjacentes (**Tabela 4**).

Analisando o Espectro de RMN^{13}C (**Espectro 4**), verifica-se também a ausência do deslocamento químico referente a carbonila, aparecendo apenas deslocamentos relativos aos carbonos do anel aromático, na região de 140 ppm

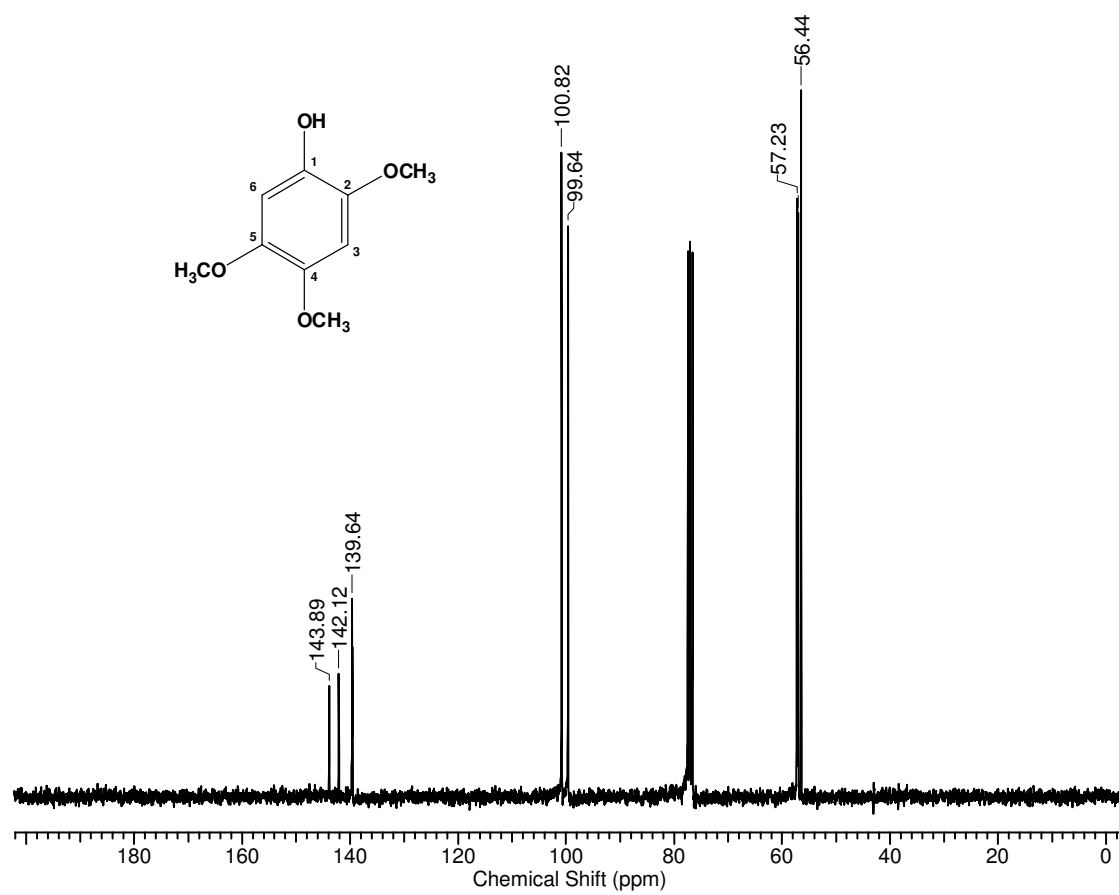
(143,89; 142,12 e 139,64); os carbonos C6 e C3 em $\delta = 108,82$ e $99,64$, sendo este primeiro mais desprotegido devido à sua posição *orto* em relação ao grupo hidroxila. Os carbonos das metoxilas ligadas ao anel aromático aparecem com deslocamentos químicos semelhantes, nas regiões de $\delta = 57,23 - 56,44$ ppm (**Tabela 5**).



Espectro 3: Espectro de RMN ^1H de **11** entre 0 – 11,0 ppm (300 MHz, CDCl_3).

Tabela 4: Dados de RMN ^1H (δ) de **11**

H	(δ)
H3	6,57 (s)
H6	6,54 (s)
OCH $_3$	3,81 (s)
OCH $_3$	3,80 (s)
OCH $_3$	3,77 (s)



Espectro 4: Espectro de RMN ^{13}C de **11** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl_3).

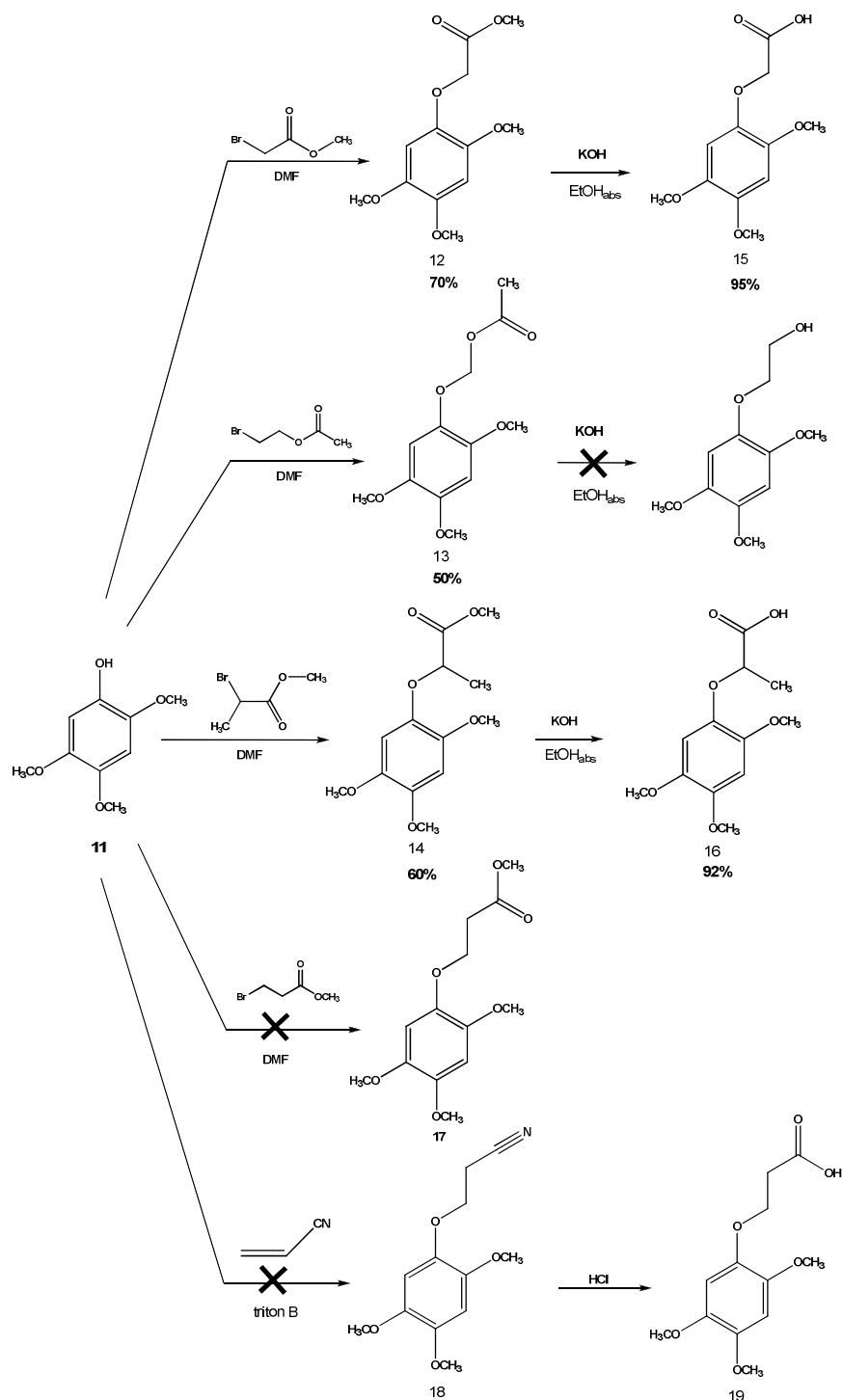
Tabela 5: Dados de RMN ^{13}C (δ) de **11**

C	(δ)
C1	142,12
C2	143,89
C3	99,64
C4; C5	139,64
C6	100,82
(OCH_3)	56,44 – 57,23

4.4 Síntese dos Derivados Fenólicos e Hidrólise

Com o produto **11** purificado, foi iniciado estudos das reações que permitiriam promover a elongação da cadeia lateral conforme esquema 5:

Esquema 5: Esquema para as reações de elongação da cadeia lateral

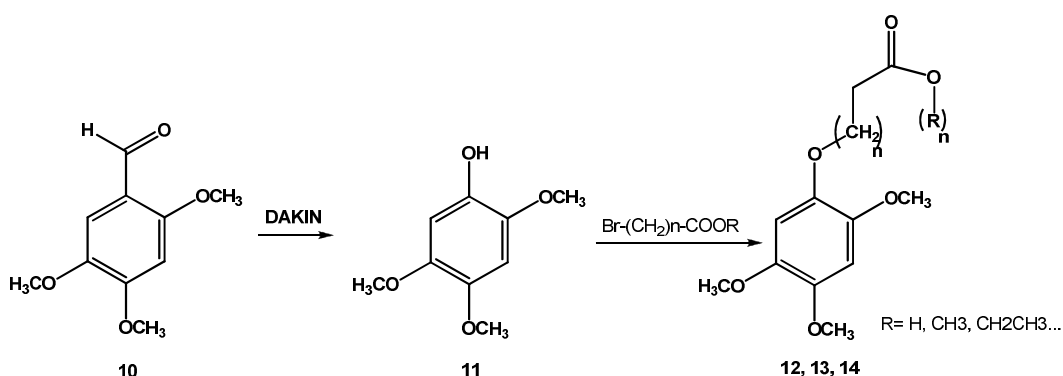


As reações de substituição nucleofílica, figuram entre as reações mais estudadas na história da química orgânica, e deve-se em grande parte, ao trabalho

pioneiro desenvolvido por Ingold e colaboradores^{47,48}.

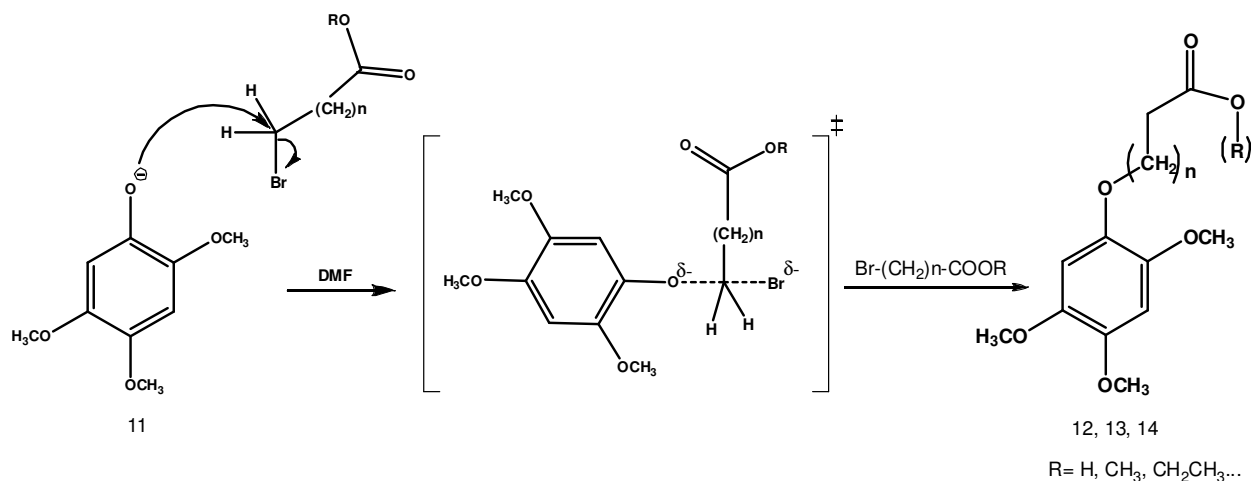
Para o desenvolvimento desta segunda etapa sintética, foi empregada reação de substituição nucleofílica de 2ª ordem (S_N2), que é uma reação amplamente utilizada para a formação de éteres pela reação de alcoóis com derivados halogenados⁵¹⁻⁴⁹ (Esquema 6).

Esquema 6: Esquema geral das reações de substituição nucleofílica de 2ª ordem (S_N2).



Para as sínteses propostas, o mecanismo proposto por HUGHES e INGOLD para uma S_N2 é um processo em uma única etapa, no qual os reagentes estão envolvidos no estado de transição. A quebra da ligação entre o carbono e o grupo de saída é seguida da formação de uma ligação entre o carbono e o nucleófilo. Segundo CAREY, o nucleófilo facilita a saída do halogênio ligado ao carbono, como se o estivesse “empurrando”⁴⁹ (Esquema 7).

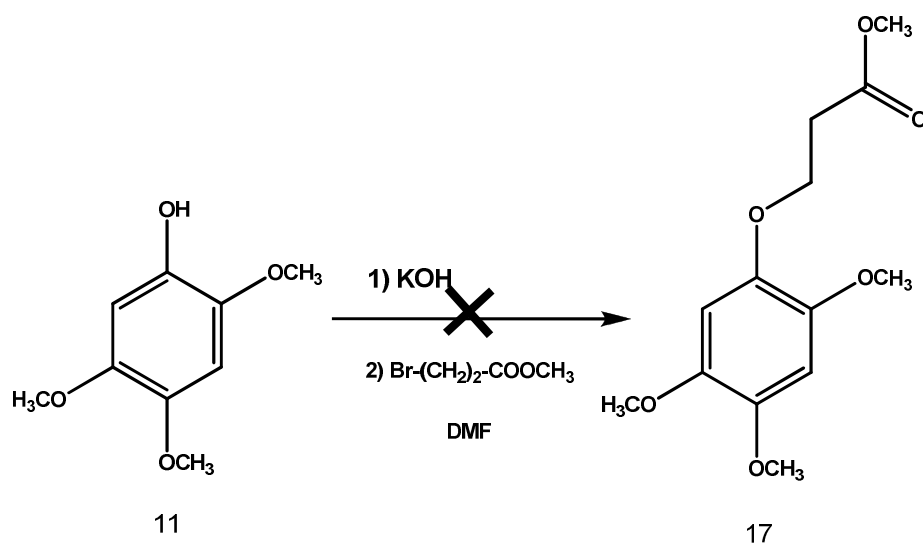
Esquema 7: Mecanismo geral das reações de substituição nucleofílica de 2ª ordem (S_N2).



Sendo assim, os compostos **12**, **13** e **14**, foram preparados pela reação de **11**, utilizado como material de partida com pequeno excesso de hidróxido de potássio em etanol absoluto. Após 1 hora de reação, o excesso de etanol foi evaporado e o arilóxido resultante foi redissolvido em DMF (50 ml/g de material de partida) e 1.3 eq. do derivado bromado correspondente (bromoacetato de metila ($C_3H_5BrO_2$), para **12**; 2-bromoacetato de etila ($C_4H_7BrO_2$), para **13** e 2-bromopropanoato de metila ($C_4H_7BrO_2$), para **14**³¹. Estas etapas sintéticas exigiram condições perfeitamente anidras, pois o fenóxido resultante pode reagir com água regenerando o fenol o que comprometeria a síntese dos compostos propostos.

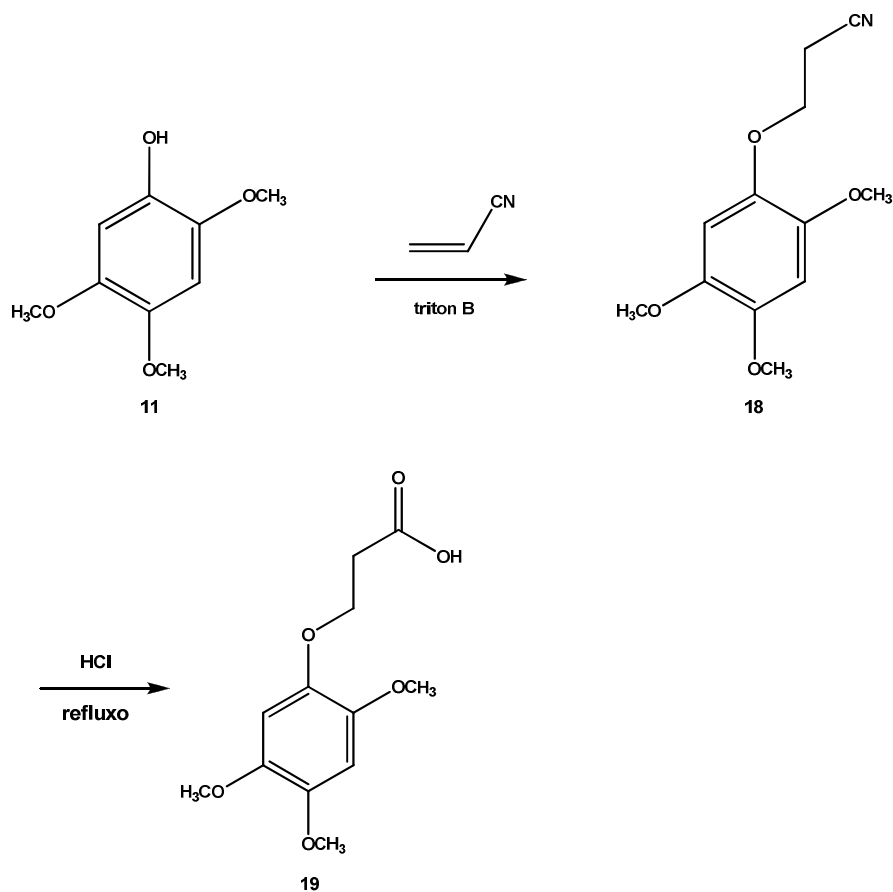
Utilizando-se metodologia semelhante, foram realizados os procedimentos para a síntese do ácido 3-(2,4,5-trimetoxifenoxi)-propanóico **17**, (Esquema 8). Entretanto, devido ao aumento da cadeia em um átomo de carbono esta reação não ocorreu, mesmo após exaustivas tentativas

Esquema 8: Esquema geral da síntese de **17**.



Na tentativa de se obter o produto proposto no esquema 8, encontramos uma alternativa a esta síntese⁵⁰, adotando metodologia com acrilonitrila, em solução com Triton B, o que forneceria em uma primeira etapa, o intermediário **18** e após acidificação, o ácido **19**, conforme esquema abaixo:

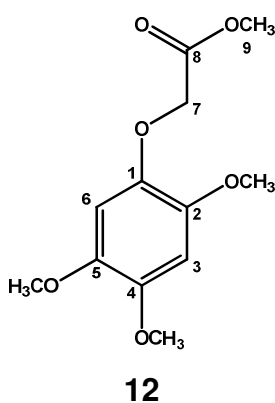
Esquema 9: Esquema de nova metodologia para a formação do ácido 3-(2,4,5-trimetoxifenoxi)propanóico.



Entretanto esta reação não ocorreu, devido às polimerizações ocorridas.

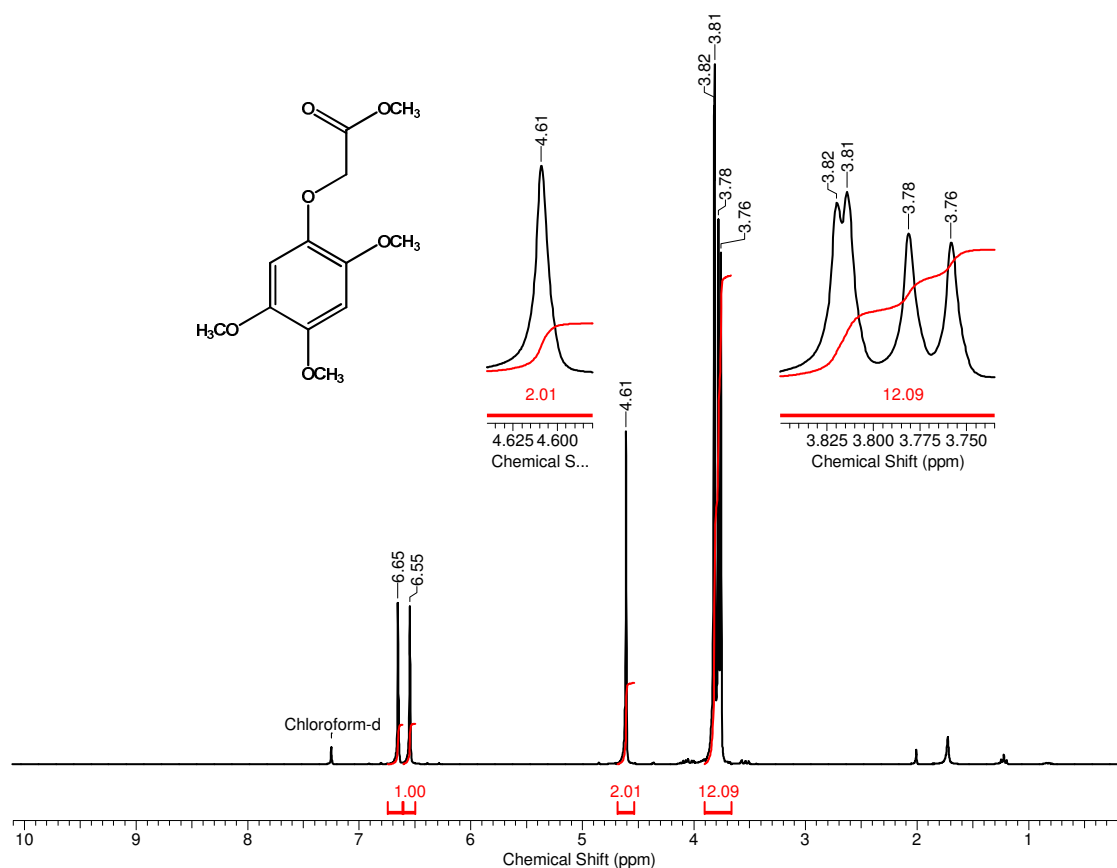
4.4.1 Análise dos dados espectrais dos compostos sintetizados

4.4.2 Síntese de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-metila



A análise dos dados espectrais de RMN¹H de **12** (**Espectro 5**) permitiu identificar os hidrogênios do anel aromático em δ = 6,65 e 6,55 ppm. Também foi confirmado um singlete correspondente a 2 hidrogênios em δ = 4,61, relativo aos 2 hidrogênios da cadeia lateral. Na região de 3,8 ppm foi evidenciado, pela integração dos sinais a presença de 12 hidrogênios, pertencentes a 4 metoxilas (δ = 3,82, 3,81, 3,78 e 3,76 ppm), sendo uma destas referente à cadeia lateral, (**Tabela 6**).

Pelo Espectro de RMN¹³C (**Espectro 6**), verificaram-se absorções correspondentes a um carbono carbinólico em δ = 169,86 ppm, a presença de carbono metilênico em δ =68,41 ppm, também confirmado pelo Espectro de RMN¹³C DEPT 135° e, por meio de comparação com espectro de RMN¹³C da estrutura 15, foi possível atribuir o deslocamento químico correto para o carbono metoxilado da cadeia lateral, em δ =51,96 ppm(**Espectro 7**) (**Tabela 7**).



Espectro 5: Espectro de RMN¹H de **12** entre 0 – 10,0 ppm (300 MHz, CDCl₃).

Tabela 6: Dados de RMN¹H (δ) de **12**

H	(δ)
H3, H6	6,65 (s); 6,55 (s);
OCH ₃	3,81 (s)
OCH ₃	3,80 (s)
OCH ₃	3,77 (s)

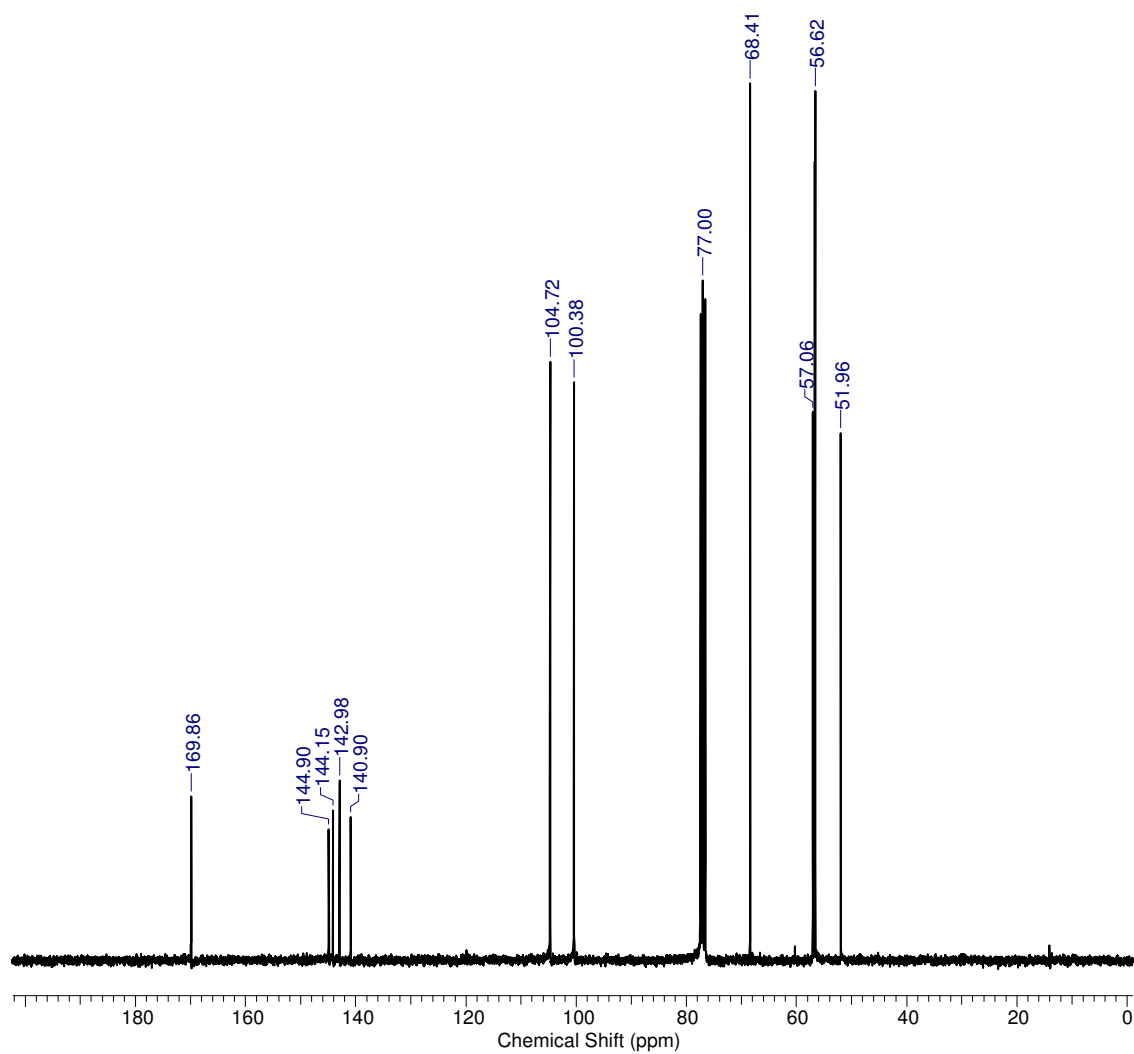
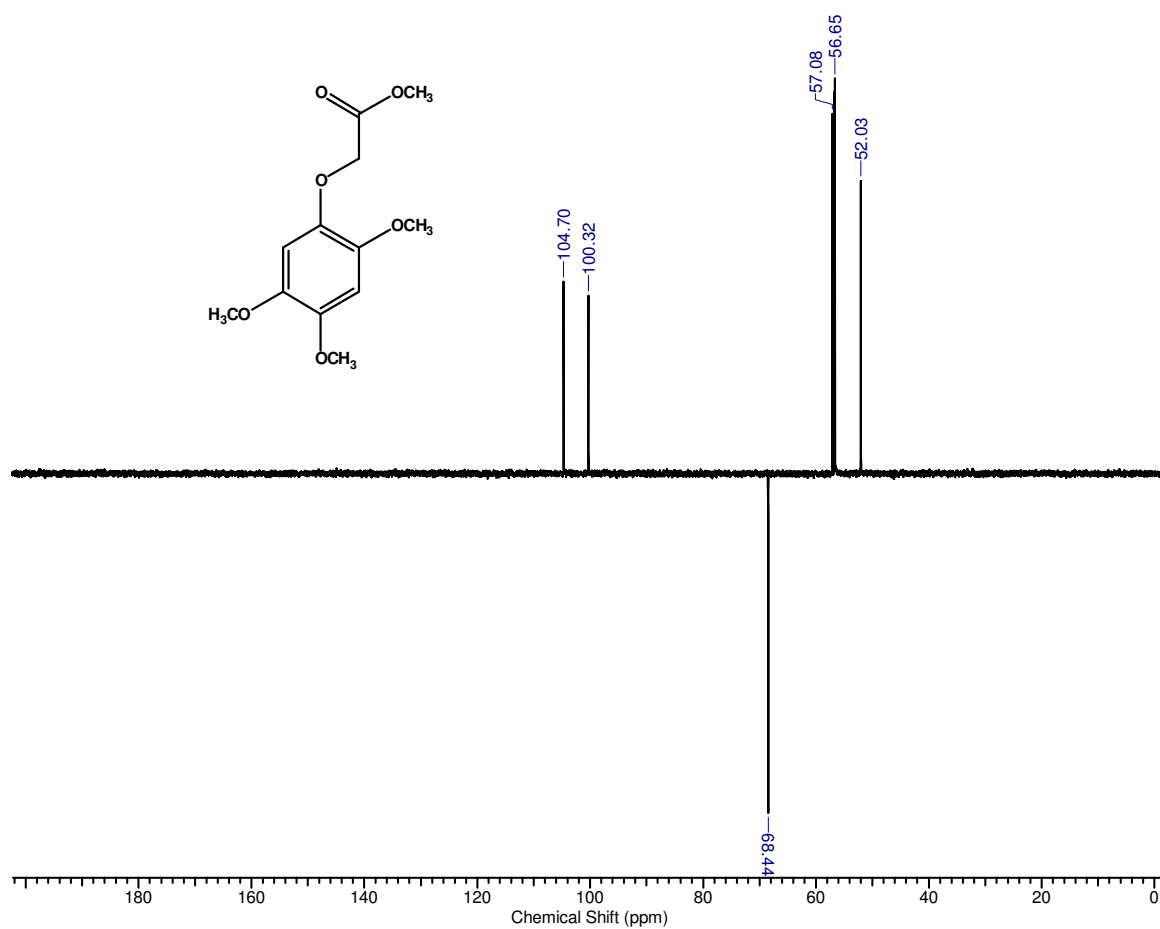
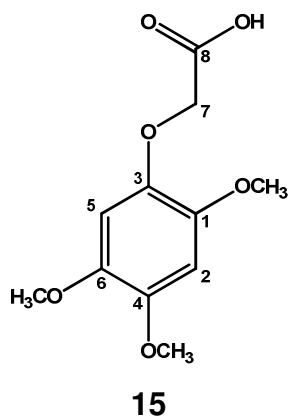
**Espectro 6:** Espectro de RMN¹³C de **12** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

Tabela 7: Dados de RMN¹³C (δ) de **12**

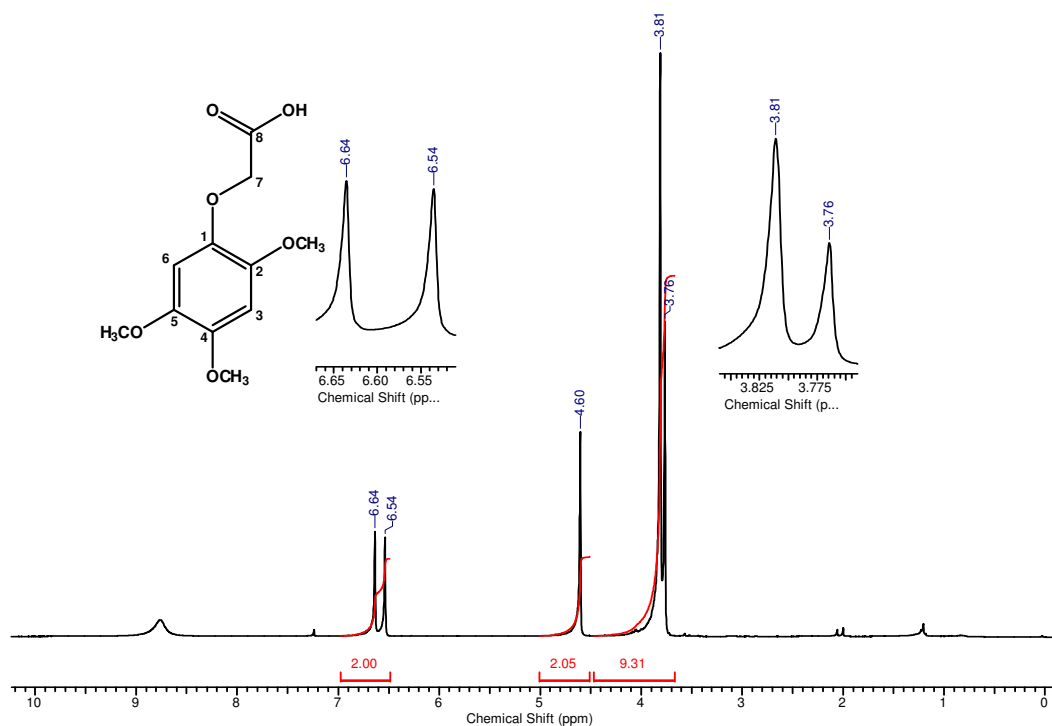
C	(δ)
C1, C2, C4, C5	140,9 - 144,9
C3	100,38
C6	104,72
-CH ₂	68,4
-C=O	169,8
OCH ₃	
OCH ₃	56,62 – 57,06
OCH ₃	
C9	51,96

**Espectro 7:** Espectro de RMN¹³C DEPT 135° de **12** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

4.4.3 Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-acético



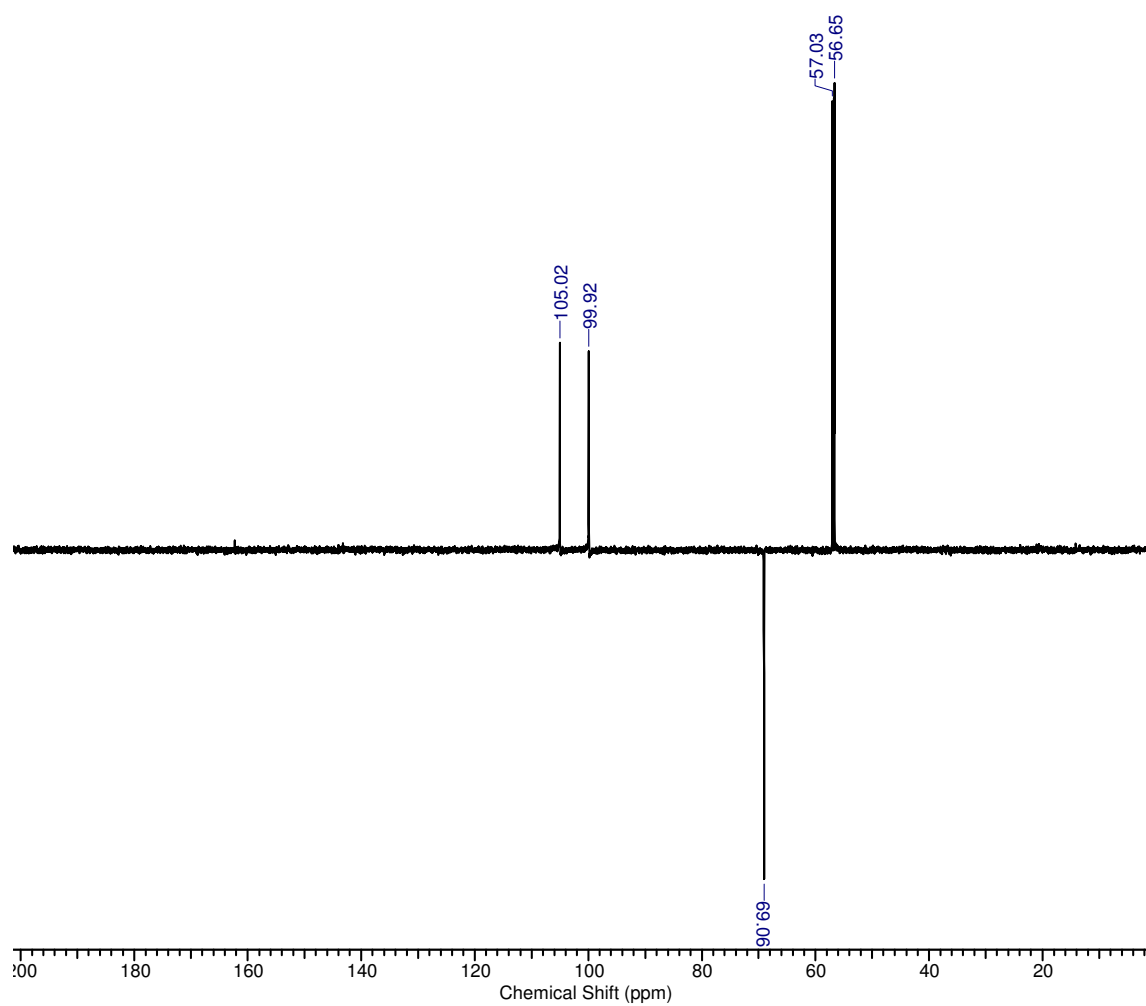
O produto **15**, foi obtido a partir da hidrólise do produto **12**, e foi caracterizado por meio das Espectroscopias de RMN¹H e RMN¹³C. Analisando os dados obtidos a partir da integração do Espectro de RMN¹H (**Espectro 8**), foi constatado singletes na região de 3,7 a 3,8 ppm relativos a 9 hidrogênios (**Tabela 8**), indicando ausência de absorção relativa aos hidrogênios metoxilados da cadeia lateral nesta região. Pelos Espectros de RMN¹³C e DEPT 135° (**Espectro 10**) e (**Espectro 9**), foi confirmada presença do carbono metilênico da cadeia lateral. A carbonila, apresentou absorção em $\delta = 173,07$ ppm (**Tabela 9**).

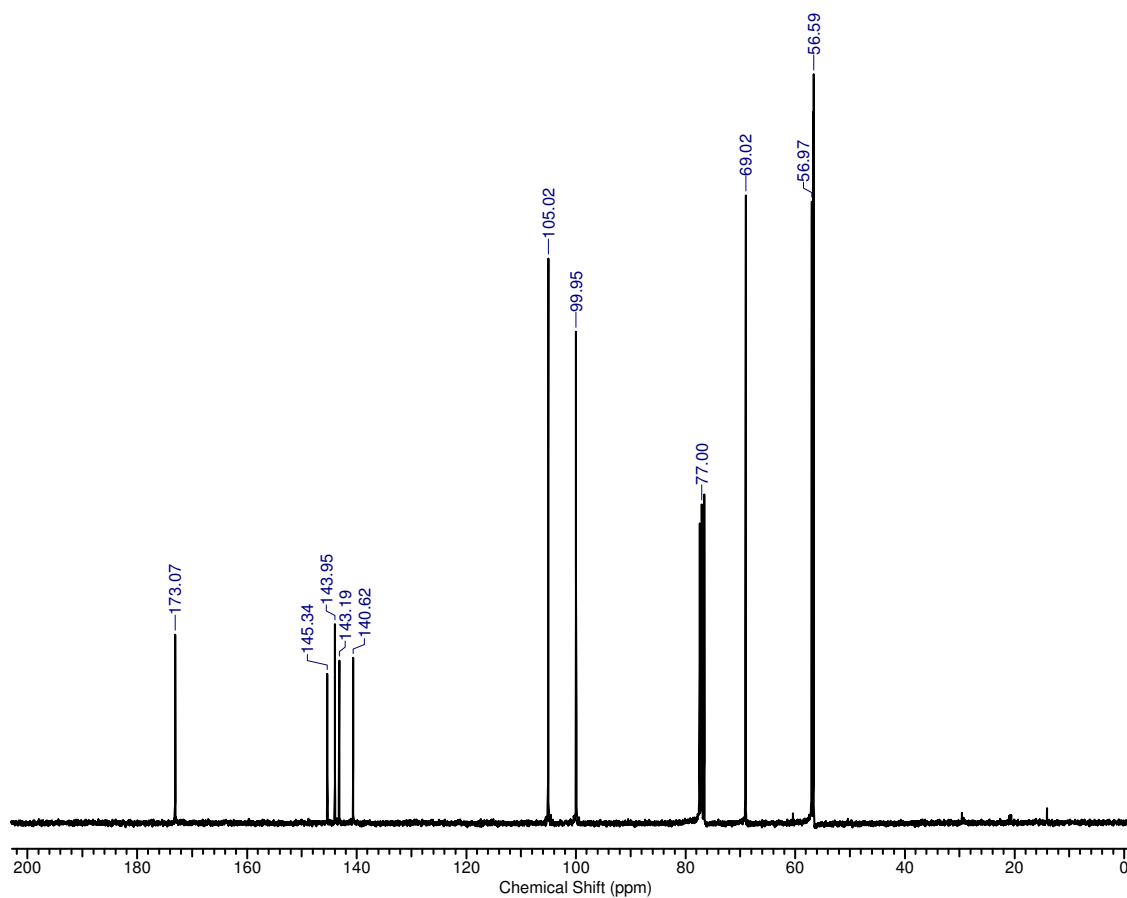


Espectro 8: Espectro de RMN¹H de **15** entre 0 – 10,0 ppm (300 MHz, CDCl₃).

Tabela 8: Dados de RMN¹H (δ) de **15**

H	(δ)
H3	6,54 (s)
H6	6,64 (s)
H7	4,60 (s)
OCH ₃	3,76 – 3,81 (s)

**Espectro 9:** Espectro de RMN¹³C DEPT 135° de **15** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

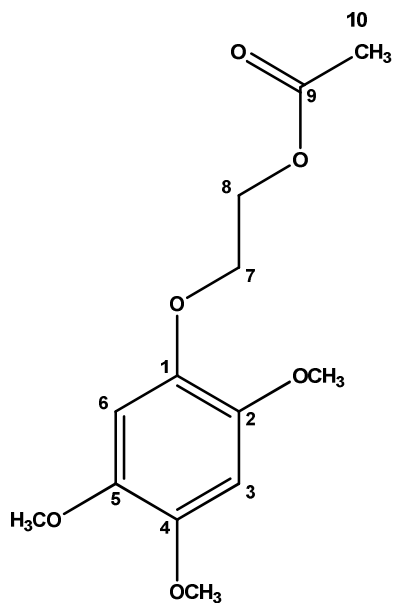


Espectro 10: Espectro de RMN¹³C de 15 entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

Tabela 9: Dados de RMN¹³C (δ) de 15

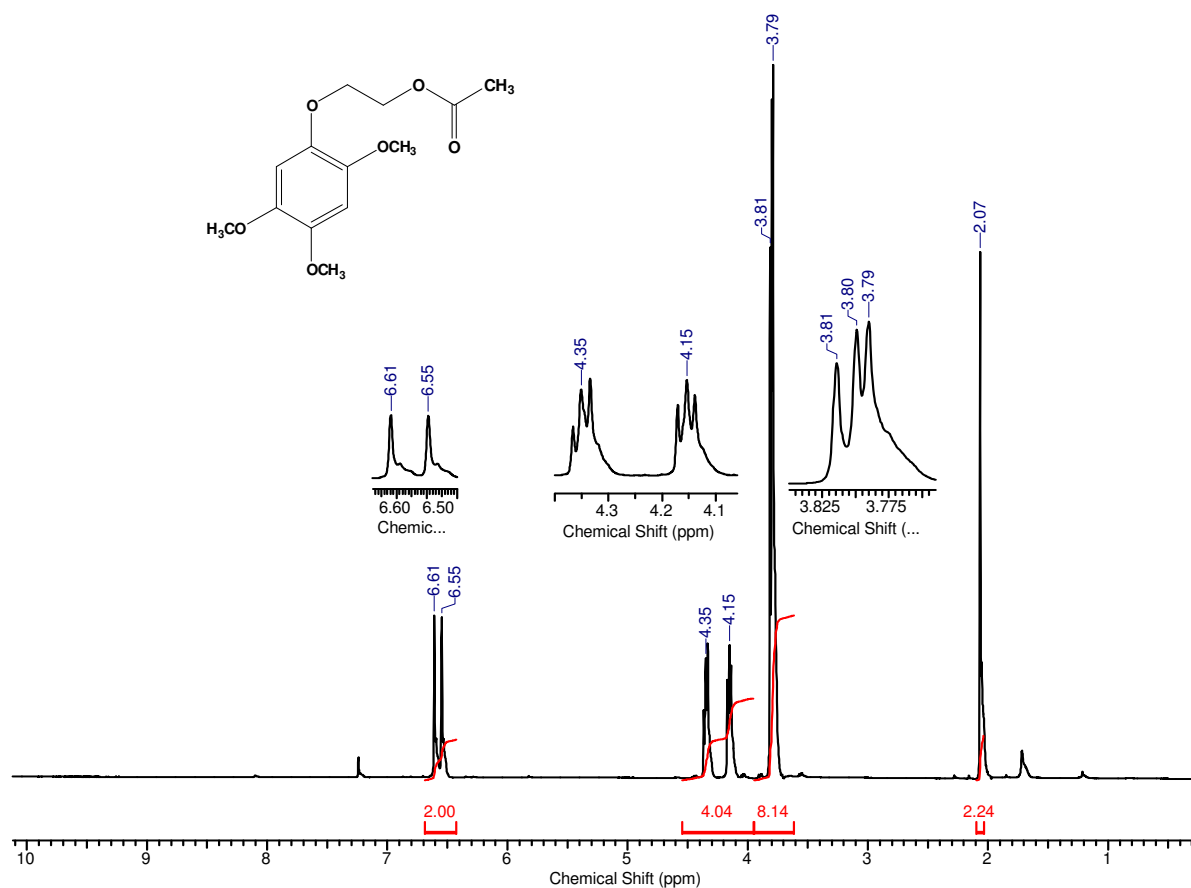
C	(δ)
C1,C2,C4,C5	140,62 – 145,34
C3, C6	99,95 – 105,02
-CH ₂	69,02
-C=O	173,07
OCH ₃	56,5 – 56,9

4.4.4 Análise de acetato de 2-(2,4,5-trimetoxifenoxi)-etila



13

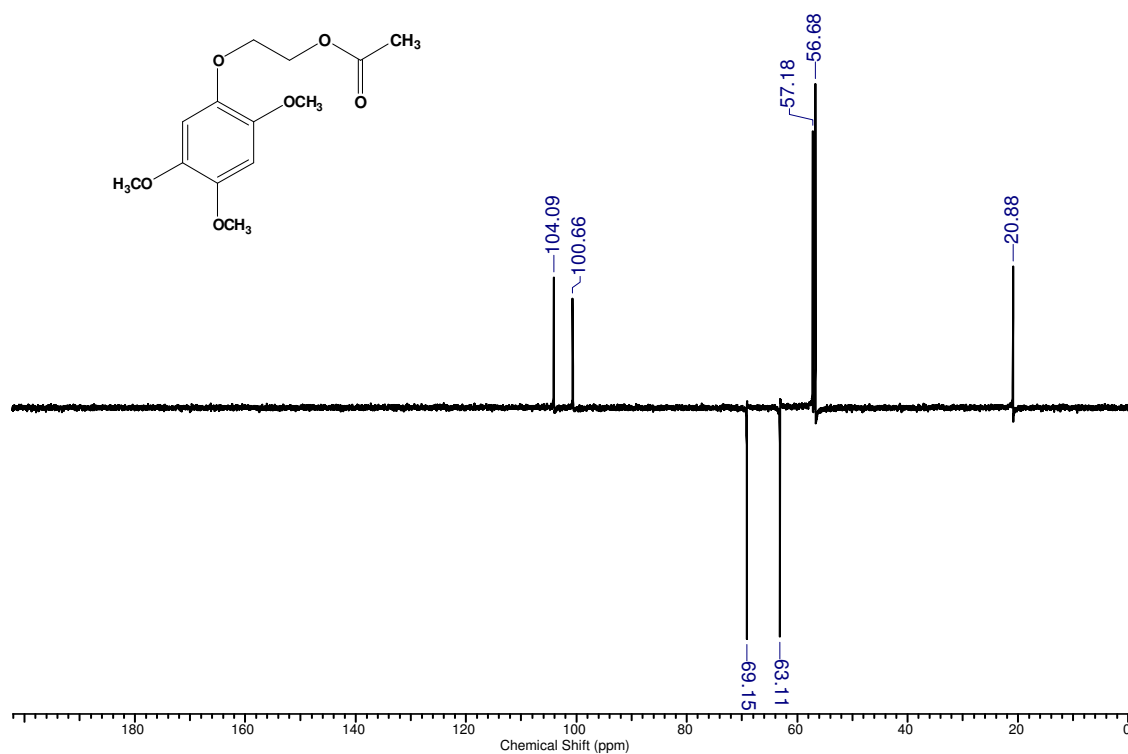
A partir da integração do espectro de RMN ¹H de **13 (Espectro 11)**, observou-se além dos 2 singletes correspondentes aos hidrogênios aromáticos em $\delta=6,5$ ppm e dos 3 singletes relativos aos hidrogênios das 3 metoxilas ligadas ao anel aromático em $\delta= 3,8$ ppm, a presença de 2 tripletes de 2 hidrogênios cada ($J_{7,8}=4,4\text{Hz}$ e $5,1\text{Hz}$), **H7** e **H8** em $\delta= 4,35$ e $4,15$ ppm. Também foi identificado pela integração dos sinais de RMN¹H um singlete em $\delta= 2,07$ ppm correspondente aos 3 hidrogênios **H10** da metila adjacente à carbonila (**Tabela 10**). Pelo Espectro de RMN¹³C (**Espectro 13**), foi confirmada a presença de carbono metilênico em $\delta= 20,87$ ppm. Pelo Espectro de RMN¹³C DEPT 135° (**Espectro 12**), foi confirmada a presença dos 2 carbonos metilênicos da cadeia lateral, em $\delta= 69,15$ e $63,11$ ppm (**Tabela 11**).



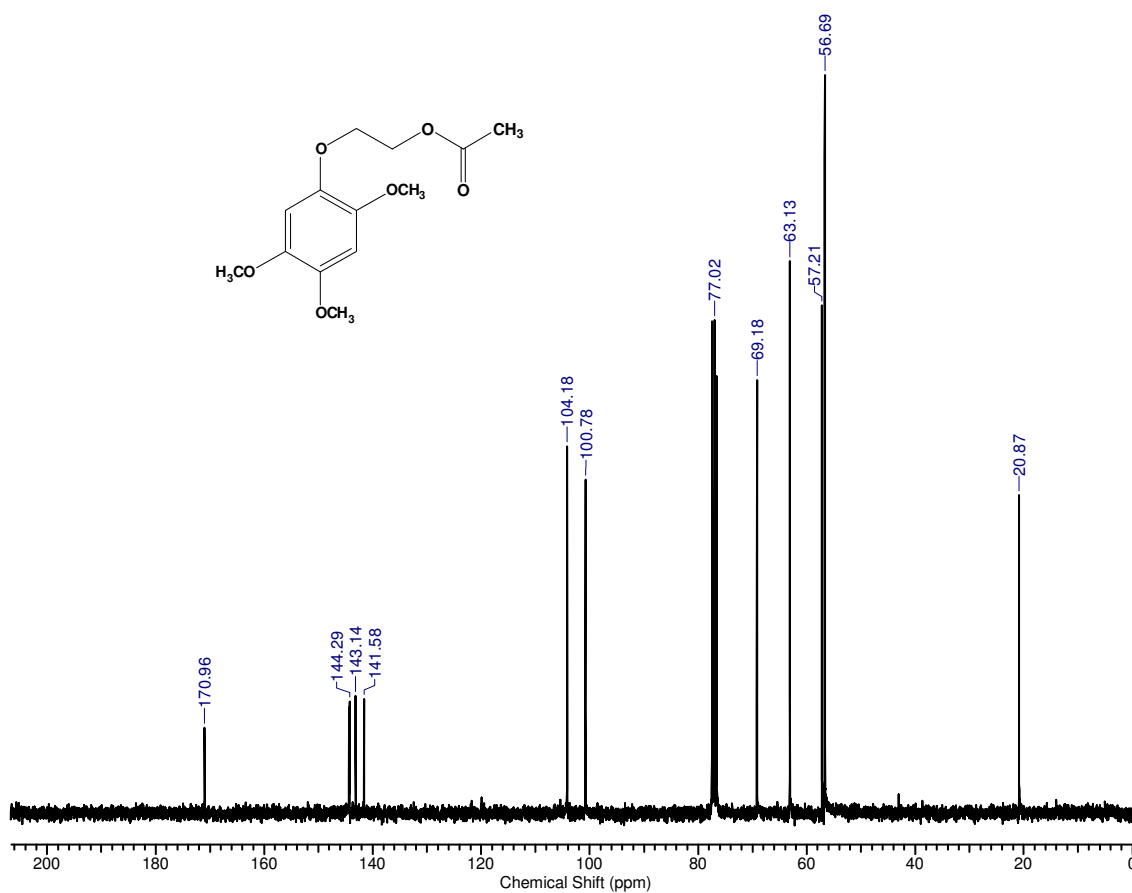
Espectro 11: Espectro de RMN¹H de **13** entre 0 – 10,0 ppm (300 MHz, CDCl₃).

Tabela 10: Dados de RMN ¹H (δ) de **13**

H	(δ)
H3	6,55
H6	6,61
-CH ₂	4,15
-CH ₂	4,35
-CH ₃	2,07
OCH ₃	
OCH ₃	3,79 - 3,81
OCH ₃	



Espectro 12: Espectro de RMN^{13}C DEPT 135° de **15** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl_3)

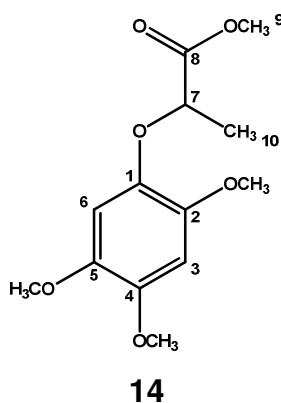


Espectro 13: Espectro de RMN^{13}C de **13** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl_3).

Tabela 11: Dados de RMN¹³C (δ) de **13**

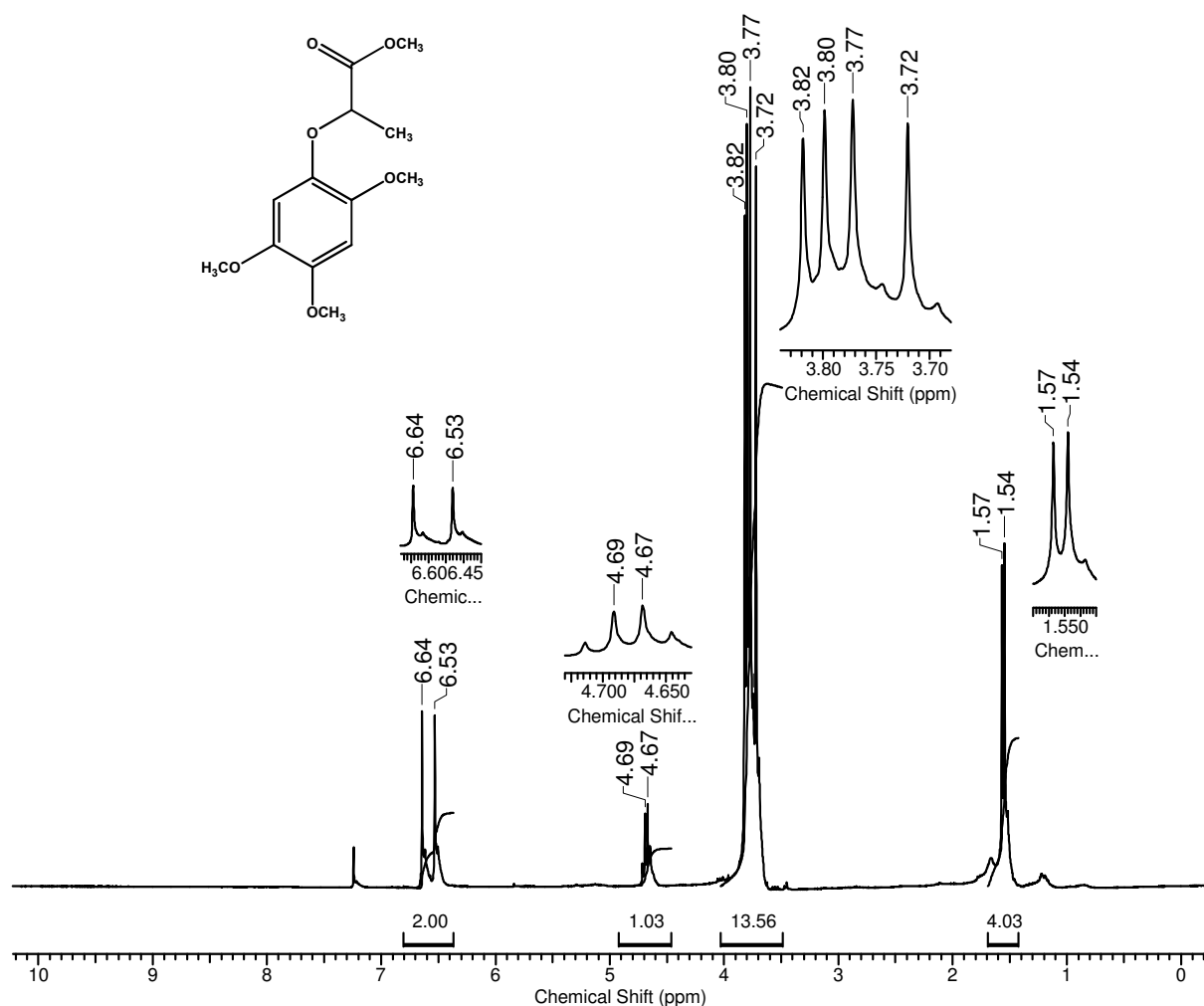
C	(δ)
C1, C2, C4, C5	141,58 – 144,29
C3, C6	100,78 – 104,18
-CH ₂	63,13
-CH ₂	69,18
C=O	170,96
OCH ₃	
OCH ₃	56,69 – 57,21
OCH ₃	
-CH ₃	20,87

4.4.5 Análise de acetato de 2-(2,4,5-trimetóxi)fenóxi) propanoato de metila



Pela integração dos sinais do Espectro de RMN¹H e de RMN¹³C de **14** em CDCl₃, verifica-se que existem absorções correspondentes a um quarteto com deslocamento químico de 4,6 ppm (1H, H7, $J_{7,10} = 6,84$ Hz), um dublete em $\delta = 1,5$ ppm (3H, H10, $J_{10,7} = 6,84$ Hz) correspondente a 3 hidrogênios da metila em C10, 4 singletes intensos ($\delta = 3,72 - 3,82$ ppm) cuja integração (13,56) indicou 12

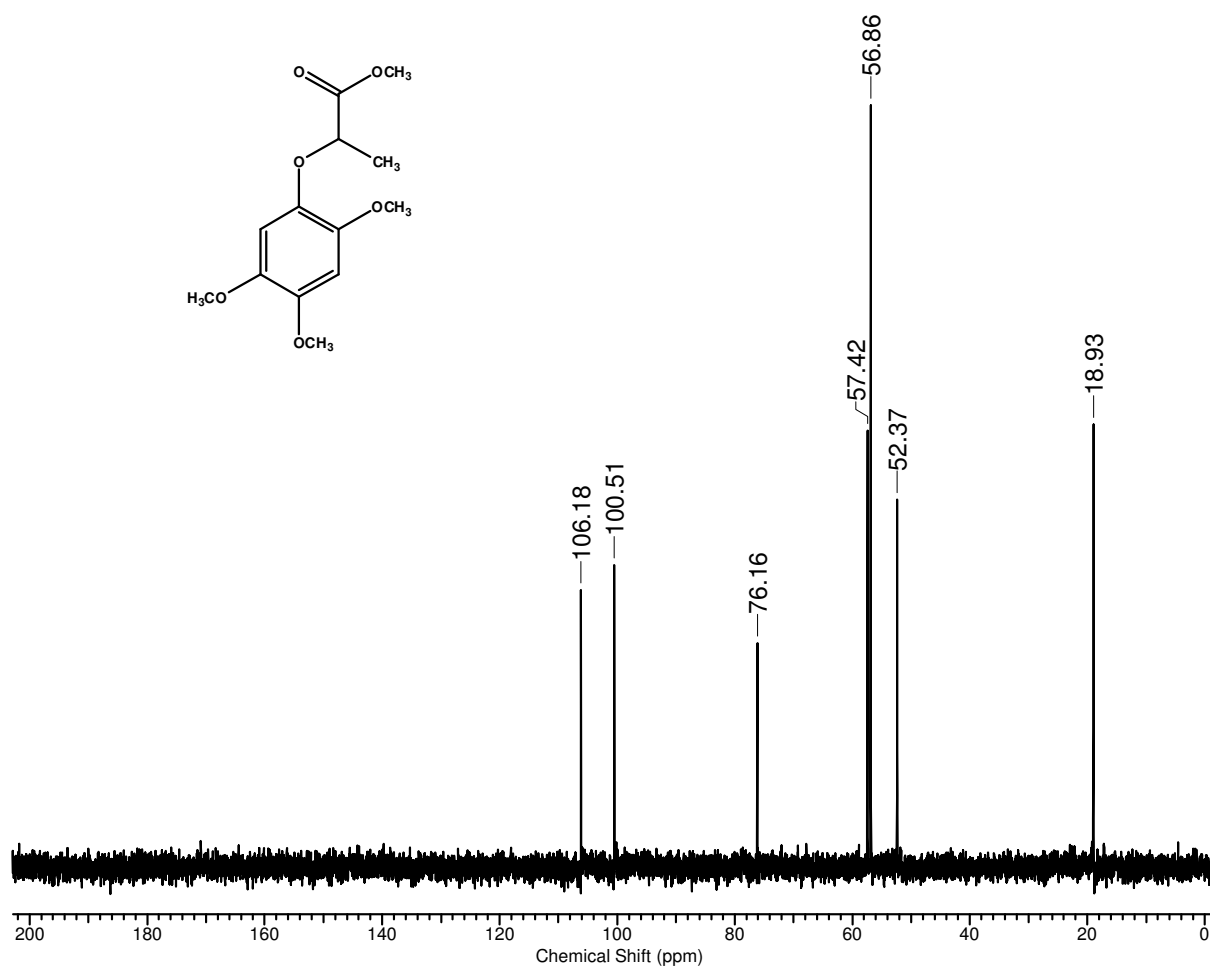
hidrogênios relativos as 4 metoxilas da estrutura, além dos dois singletes na região de 6,53 – 6,64 ppm relativos aos 2 hidrogênios do anel aromático (**Espectro 14**). Pelo espectro de RMN ^{13}C , foi confirmada a presença da carbonila em $\delta = 172,76$ ppm, da metoxila da cadeia lateral (C9), em $\delta = 52,37$ ppm e do carbono metínico da cadeia lateral (C7) em $\delta = 75,64$ ppm (**Tabelas 12 e 13**).

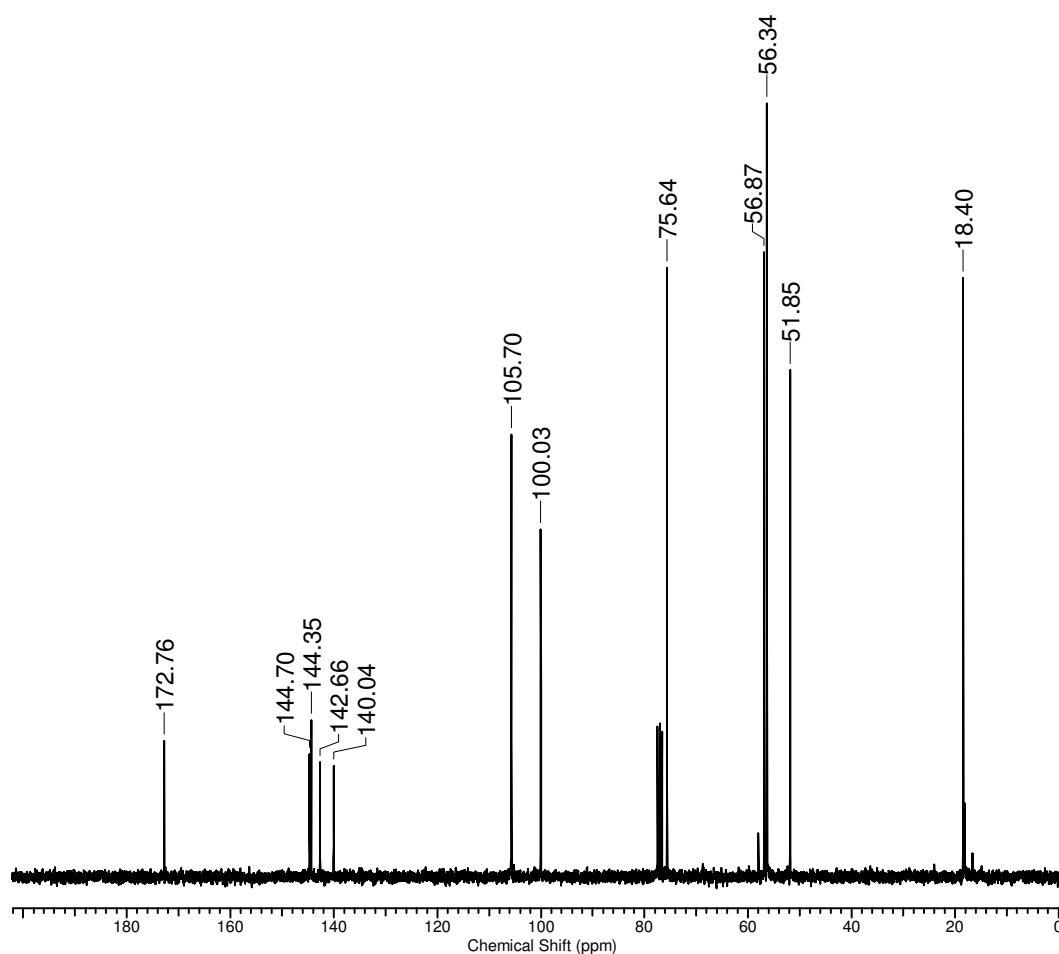


Espectro 14: Espectro de RMN ^1H de 14 entre 0 – 10 ppm (300 MHz, CDCl_3).

Tabela 12: Dados de RMN¹H (δ) de **14**

C	(δ)
H3	6,53
H6	6,64
H8	4,6 (1H,q $J=6,84$)
H9	1,5 (3H,d; $J=6,84$)
OCH ₃	3,72
OCH ₃	3,77
OCH ₃	3,8
OCH ₃	3,82

**Espectro 15:** Espectro de RMN¹³C DEPT 135° de **14** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

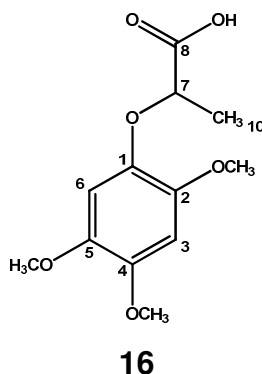


Espectro 16: Espectro de RMN¹³C de **14** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl₃).

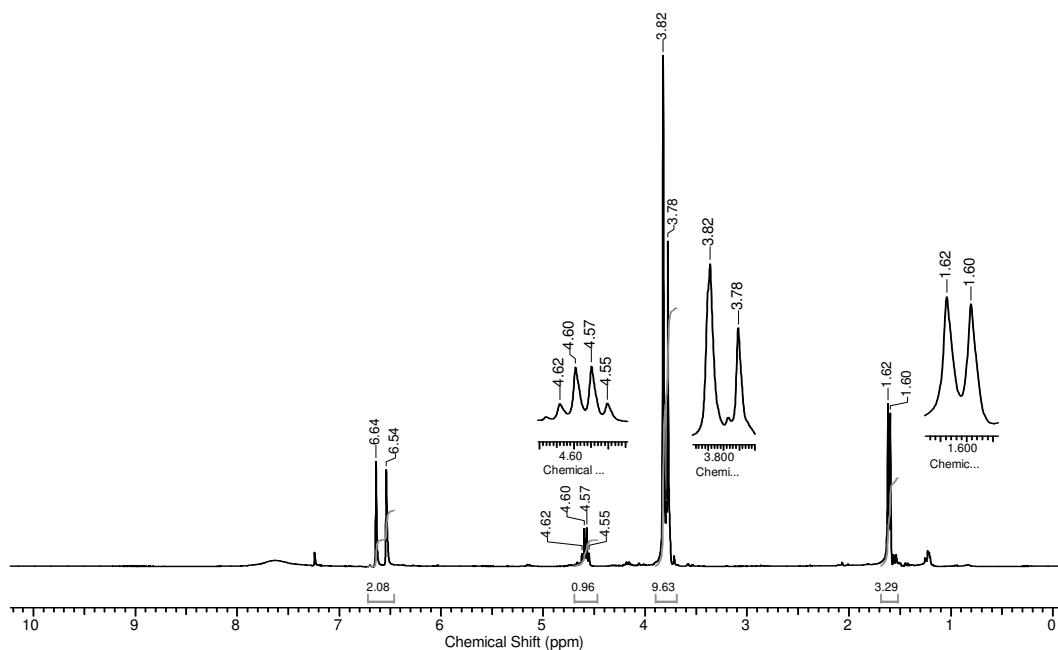
Tabela 13: Dados de RMN¹³C (δ) de **14**

C	(δ)
C1, C2, C4, C5	140,04 – 144,70
C3, C6	100,03; 105,7
C7	75,64
-C=O	172,76
C9 (OCH ₃)	51,85
OCH ₃	
OCH ₃	56,34 – 56,87
OCH ₃	

4.4.6 Síntese do ácido 2-(2,4,5-trimetoxifenóxi)-propanóico



O composto **16**, apresentou padrão de substituição semelhante a **14**, porém pela integração dos Espectros de RMN¹H (**Espectro 17**) e de RMN ¹³C (**Espectro 18**), foi verificado pela integração dos sinais que o multiplete intenso (δ = 3,78 – 3,82 ppm) indicou a presença de 9 hidrogênios relativos as 3 metoxilas ligadas ao anel aromático, indicando assim, a ausência da metoxila da cadeia lateral (**Tabela 14**). Também foi identificado pela integração dos sinais de RMN¹H um singlete em δ = 2,07 ppm correspondente aos 3 hidrogênios (H10) da metila adjacente à carbonila. Pelo Espectro de RMN ¹³C (**Tabela 15**), foi confirmada a presença de carbono metilênico em δ = 20,87 ppm e ausência de metoxila da cadeia lateral, em δ = 51 ppm.



Espectro 17: Espectro de RMN 1H de **16** entre 0 – 11,0 ppm (300 MHz, CDCl₃).

Tabela 14: Dados de RMN ^1H (δ) de **16**

H	(δ)
H3, H6	6,54 – 6,64 (s)
H7	4,57 (q, $J=6,84\text{Hz}$)
H10	1,60 (d, $J=6,84\text{Hz}$)
OCH ₃	3,78 – 3,82 (s)

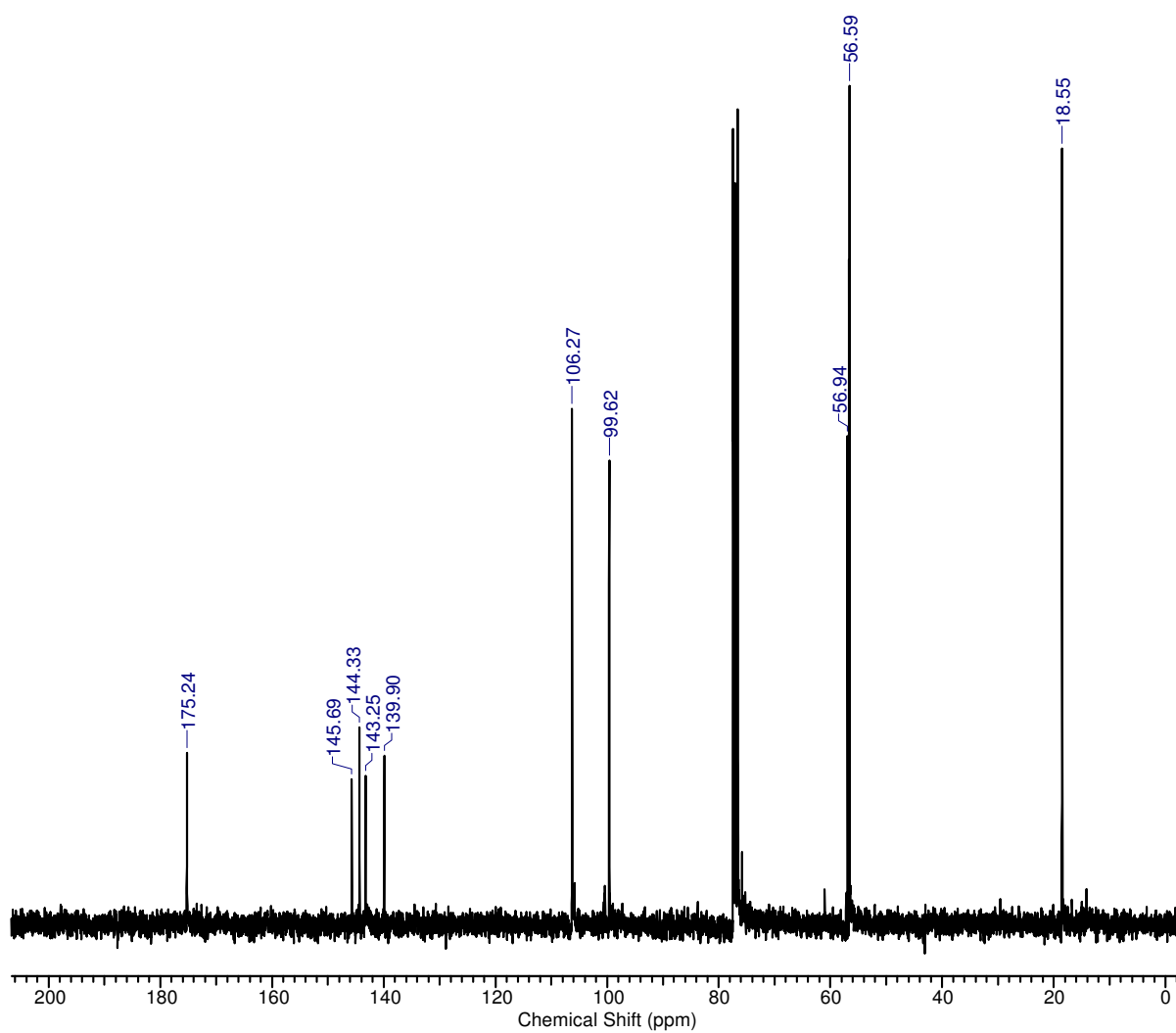
**Espectro 18:** Espectro de RMN ^{13}C de **16** entre 0 – 200 ppm (75 MHz, CDCl_3).

Tabela 15: Dados de RMN ^{13}C (δ) de **16**

C	(δ)
C1,C2,C4,C5	139,9 – 145,69
C3, C6	99,62 – 106,27
OCH ₃	
OCH ₃	56,59 – 56,94
OCH ₃	
C10	18,55

4.5 Ensaio Biológico

Para a realização dos testes de avaliação de atividade alelopática, foram utilizadas sementes comerciais, pois a avaliação apenas de sementes invasoras implicaria na obtenção de dados que comprovassem somente a atividade herbicida. Em contrapartida, ao utilizarmos sementes comerciais, obtemos um modelo mais abrangente, principalmente em relação aos efeitos estimulantes⁵¹.

Desde o trabalho pioneiro, em meados das décadas de 40 e 50, vários ensaios, de fácil execução e também de baixo custo – foram utilizados para verificar a atividade de compostos alelopáticos. Dentre estes, o mais utilizado é a germinação de sementes, semeadas em placas de Petri contendo papéis de filtro como substrato padrão⁵². Dessa forma, este foi o teste adotado para a realização dos bioensaios.

De forma geral, os bioensaios alelopáticos utilizados em estudos fitoquímicos avaliam a bioatividade obtendo os resultados da germinação e crescimento. A partir destes parâmetros pode-se, indiretamente, obter dados de outros processos fisiológicos afetados por interações químicas. Desta forma, uma grande gama de efeitos são abordados, e tais bioensaios servem para selecionar compostos que possam ser posteriormente, avaliados em casa de vegetação e em campo também⁴¹.

4.5.1 Procedimentos para realização do Ensaio

Tomando como base as considerações iniciais, 25 sementes de alface e cebola foram distribuídas em placas de Petri, mantendo certa distância entre as sementes (Figura 8), com 5 mL de solução tampão, pois a relação entre a quantidade de sementes e o volume utilizado, resulta em um volume de aproximadamente 0,2 mL por semente, não comprometendo o processo pela falta de oxigênio⁴⁴. Embora estudos confirmem que a variação no pH não afeta este ensaio biológico de maneira considerável, foi adotado o pH= 6,0 como valor ideal⁵³.

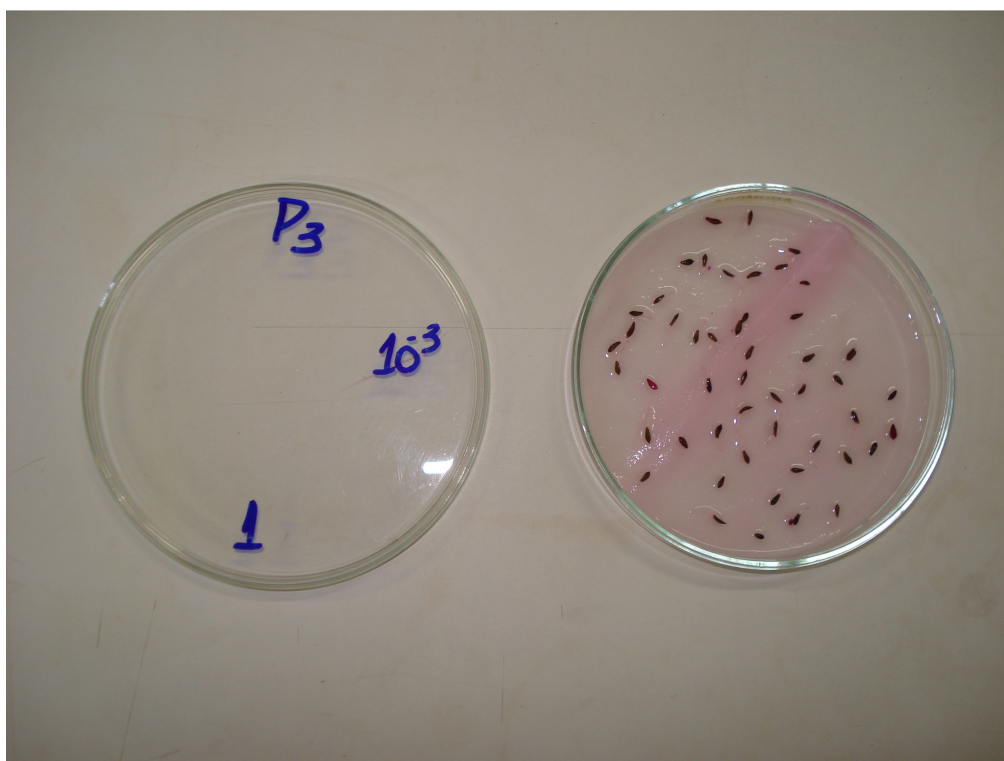


Figura 8 : Exemplo de preparo de placa contendo sementes de alface espaçadamente distribuídas em placa de Petri, em 5mL de solução.

4.5.2 Germinador de Sementes

Embora exista uma grande diversidade entre os equipamentos utilizados para o controle de temperatura, luz, umidade relativa do ar interno e outros detalhes relevantes para o ensaio, os germinadores mais utilizados pela maioria dos

Laboratórios de Análise de sementes são divididos em dois tipos principais: os germinadores de Câmara e os de Sala. O germinador adotado para o ensaio foi o Germinador de Câmara (Figura 9), uma vez que a diferença básica entre os dois tipos consistia apenas em suas dimensões, onde o germinador de Sala é suficientemente grande para permitir a entrada de pessoas. De forma geral, estes germinadores são constituídos por uma câmara de paredes duplas, isoladas por uma camada de ar ou isolante térmico, a fim de reduzir as variações internas de temperatura. São equipados também com um conjunto de bandejas ou suporte adequado para acomodar devidamente as amostras para germinarem, seja no escuro ou na presença de luz. A parte inferior do germinador é construída de modo a formar um depósito para a adição de água destilada, umidificando o interior da câmara⁵⁴.



Figura 9: Incubadora para B.O.D com Fotoperíodo

4.5.3 Procedimentos necessários para a realização do teste

4.5.3.1 Umidade e Aeração

O fornecimento de água é condição essencial para que a semente inicie a germinação e se desenvolva normalmente. O substrato deve ser suficientemente úmido durante todo o teste a fim de dar às sementes quantidade de água necessária para sua germinação. Entretanto, o substrato de papel não deve ser tão umedecido a ponto de formar uma película de água em torno das sementes, pois este excesso restringe a aeração prejudicando a germinação. Para o processo foi utilizada água deionizada, pois esta não requer aeração adicional e pode fornecer resultados mais uniformes, se comparada à água destilada⁴¹.

A adição subsequente de água deve ser evitada sempre que possível, pois aumenta as variações entre as repetições e entre os testes⁴⁴. Para evitar este tipo de alteração, o substrato foi conservado em recipiente fechado para garantir que se mantivesse suficientemente úmido durante todo o teste⁴¹.

4.5.3.2 Quantidade de água para o substrato

Utilizando-se substrato de papel, é recomendado utilizar a relação volume de água (mL) por peso do substrato (g), sendo adequada a relação de 2,5 a 3,0 vezes o peso do substrato. Macías, no seu teste de padronização⁴¹, determinou que a quantidade ideal de água a ser utilizada em placas de petri de 9 mm de diâmetro é de 0,2 mL por semente. Portanto, este foi o percentual adotado para o ensaio biológico.

4.5.3.3 Influência da Luz e Temperatura na germinação

A temperatura influencia diretamente a velocidade e o percentual de germinação, pois modifica a taxa de absorção de água, alterando a velocidade das reações químicas que irão mobilizar ou degradar as reservas armazenadas e a

síntese de várias substâncias para o crescimento das plântulas⁵⁵, ou provocar alterações na membrana plasmática^{56,57,58}.

Mesmo quando a luz não é indicada, a iluminação durante o teste, seja de fonte natural ou artificial, é recomendada para favorecer o desenvolvimento das estruturas essenciais das plântulas, tornando mais fácil a execução do teste e reduzindo a possibilidade de ataque por microrganismos⁴⁴.

Altas temperaturas durante a adsorção das sementes de alface podem atrasar ou inibir completamente a germinação, pois o embrião está completamente enclausurado dentro de um endosperma através do qual a radícula deve penetrar para crescer e completar a germinação⁵⁹. A participação do etileno no processo de germinação é amplamente aceito, embora os detalhes de seu mecanismo sejam pouco conhecidos. Um dos fatores estudados indica que temperaturas superiores a 25° C não são recomendadas para a germinação de alface, pois reduzem os níveis do hormônio etileno, produzido pelas sementes⁶⁰, acarretando o fenômeno de termo-dormência, comprometendo o ensaio. Em altas temperaturas, as sementes de alface são mais exigentes em luz para germinar adequadamente.

Portanto, foram adotadas as temperaturas de 25°C para sementes de alface e 21°C para cebola e fotoperíodo de 24h e 12h, respectivamente, seguindo metodologia do Guia de Análises de Sementes, do Ministério da Agricultura⁴⁴.

4.6 Estruturas analisadas

Com o objetivo de testar a influência da elongação da cadeia lateral na promoção da atividade biológica, além dos compostos sintetizados, foram utilizados 3 análogos estruturais, obtidos comercialmente, ácido 2,4,5-trimetoxicinâmico **20**, ácido 2,4,5-trimetoxibenzóico, **21** e ácido 3-(4-hidroxifenil)propanóico, **22**, com o objetivo de se obter correlações nos estudos de estrutura-atividade (Figura 10).

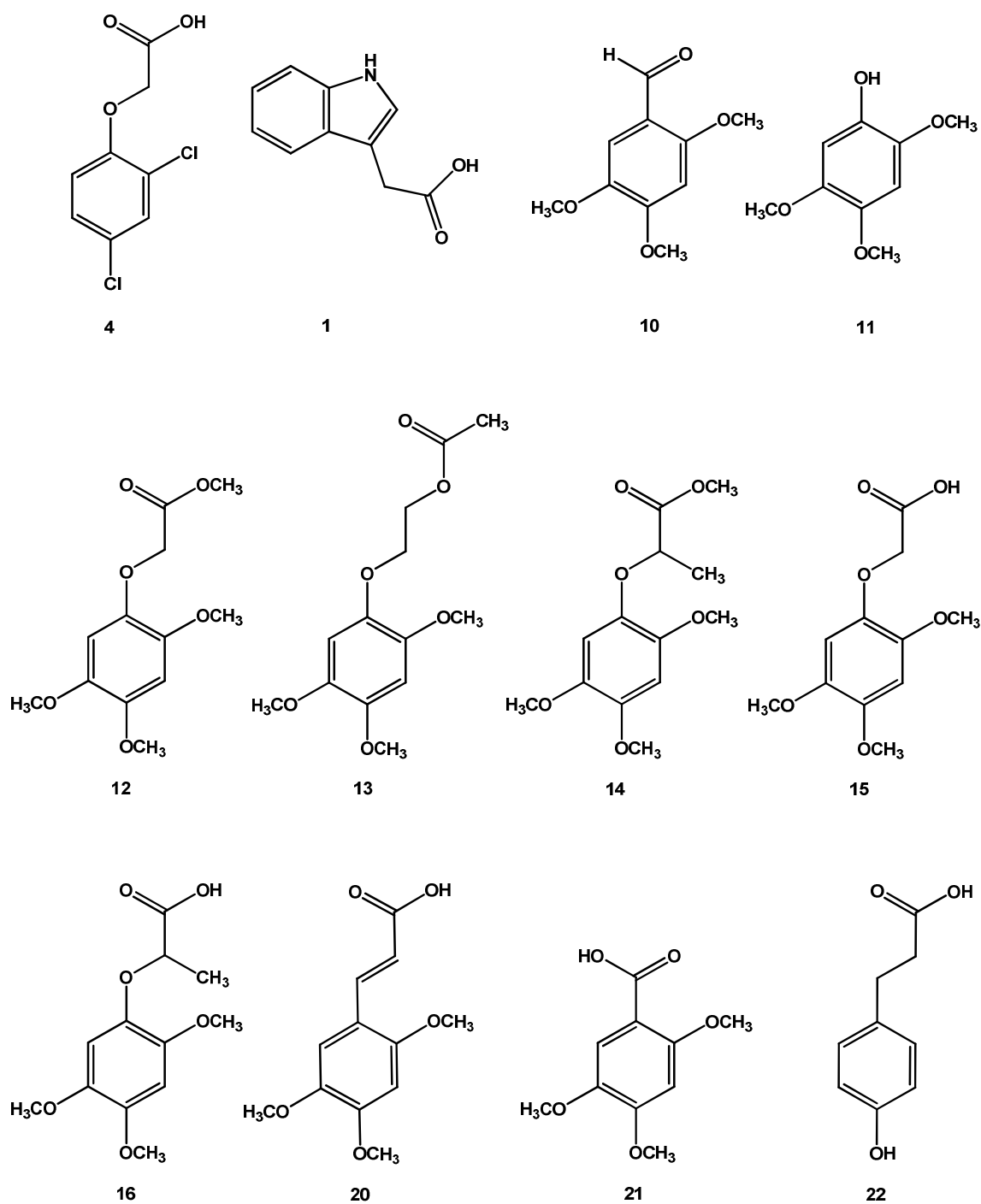


Figura 10: Estruturas submetidas aos ensaios biológicos.

A partir dos dados obtidos dos bioensaios com sementes de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola), respectivamente dicotiledônea e monocotiledônea, foram realizadas as seguintes correlações:

Pela análise dos gráficos (Figuras 13 a 17), observa-se que o ácido **21** apresentou pouca ou nenhuma atividade inibitória nas espécies testadas, chegando a ocasionar estímulo em torno de 20 % no hipocótilo de *Lactuca sativa* (alface)

(Figura 13). Indicando que a elongação da cadeia lateral, como nos casos de **20**, **22**, **13** e **15**, favorece o encaixe no receptor. Essas observações reforçam a teoria de THIMANN, que propôs uma distância mínima necessária para que ocorresse atividade⁶² (Figura 11).

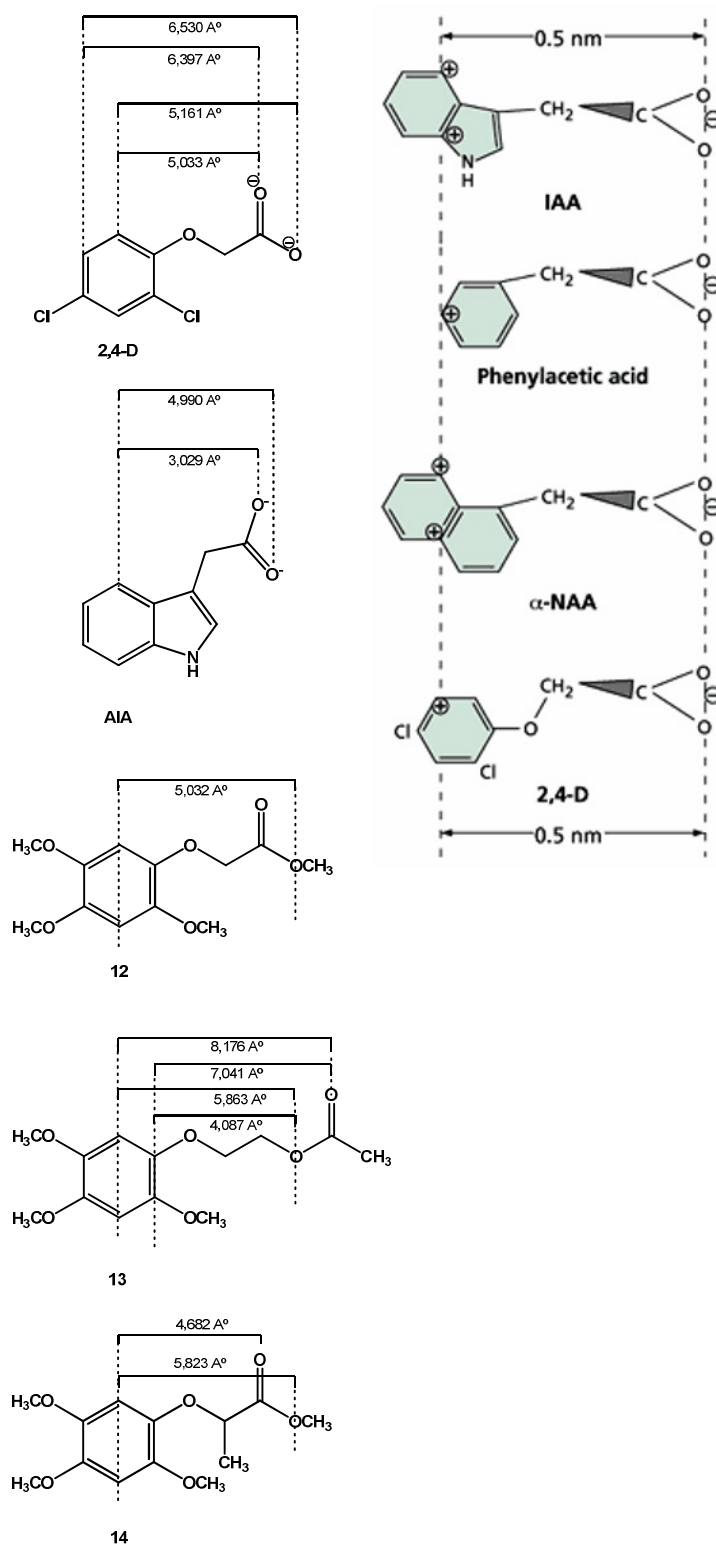


Figura 11: Requerimentos estruturais para a atividade auxínica. Comparação entre compostos sintetizados no presente trabalho e vários compostos que possuem atividade auxínica²¹ (à direita).

THIMANN e PORTER^{61,62} sugeriram que o efeito de crescimento primário exercido pelas auxinas depende da presença de uma carga parcial positiva em um núcleo planar lipofílico, distante aproximadamente 5 Å de uma carga parcial negativa. Apesar de ter sido uma teoria desafiadora para a época, ela não foi levada adiante, principalmente devido à falta de ferramentas adequadas para a realização de cálculos teóricos mais confiáveis. Entretanto, MUIR e colaboradores⁶³, concluíram, com base em seus resultados, que seria muito prematuro descartar esta separação de cargas, pois para eles, ainda é um dos componentes necessários para atividade auxínica.

O resultado obtido pelas estruturas **12**, **13**, **14** e **15** reforça a teoria de que grupos retiradores de elétrons favorecem a atividade biológica, pois embora exista alongação da cadeia lateral, sua atividade parece ser prejudicada pela presença das metoxilas ligadas ao anel aromático. WEINTRAUB e colaboradores⁶⁴, demonstrou que a inserção de grupos doadores de elétrons diminuem a atividade biológica, pois em sua pesquisa, verificou que uma metila na posição 6 reduzia a atividade do ácido 2,4-diclorofenoxiacético. Em seu trabalho, também concluiu que um grande número de substituintes benzóicos e arilóxicanóicos, assim como seus derivados possuem a capacidade de modificar profundamente o tamanho, forma e estrutura de órgãos da planta em desenvolvimento⁶⁴.

Observa-se um grande estímulo das radículas de alface (Figura 14) que foram submetidas à soluções contendo as estruturas **14** e **15**. Entretanto, apenas com esta informação, sugere-se que ocorreu uma estimulação no crescimento e desenvolvimento destas partes subterrâneas. Porém, ao analisarmos as fotos dos respectivos ensaios (Figura 12), observa-se que na verdade, este crescimento é desproporcional e característico de uma disfunção metabólica, onde embora a raiz fique mais esticada, a planta teria poucas chances de sobreviver com este crescimento anômalo. Segundo SANTOS e colaboradores⁶⁵, de forma geral, os herbicidas auxínicos causam intensa divisão celular, com consequente formação de tumores, aparecimento de raízes aéreas, multiplicação e alongamento de raízes e caule. Também ocorre hipertrofia das raízes laterais e epinastia, sendo estes sintomas mais evidentes nas espécies dicotiledôneas, como verificado na espécie *Lactuca sativa*^{27,65}. (Figura 12)

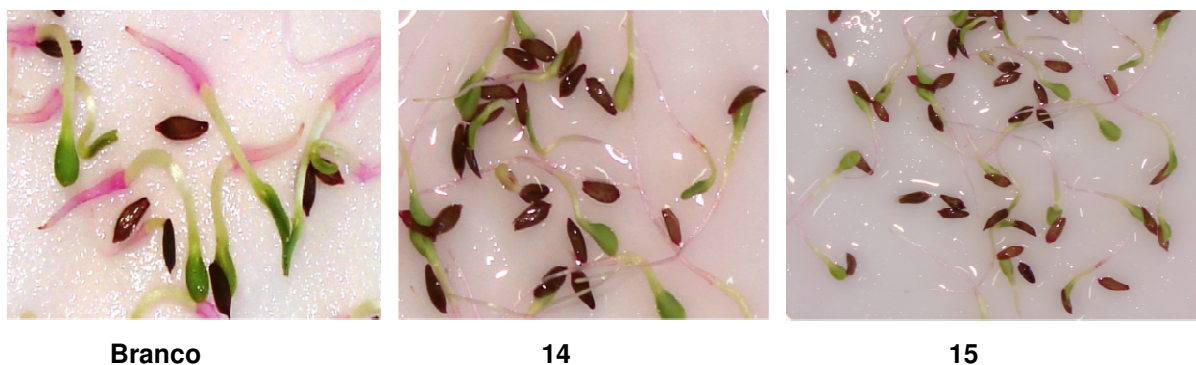


Figura 12: Ampliação de plântulas de *Lactuca sativa* após 4 dias de germinação demonstrando o crescimento anômalo das radículas em 10^{-3} M.

Outra observação relevante foi o crescimento exacerbado das raízes secundárias, sugerindo que, apesar dos compostos não terem apresentado atividade fitotóxica significativa, comportaram-se de forma semelhante a hormônios vegetais, tal como a auxina. Segundo TAIZ e ZAIGER²⁶, uma das características hormonais da auxina, quando presente em altas concentrações, é o aumento desordenado na capacidade metabólica, promovendo uma série de disfunções, onde ocorre um fenômeno muito conhecido, denominado epinastia, no qual a planta apresenta um desenvolvimento anômalo, não conseguindo sobreviver.

Ambos os controles, **AIA** e **2,4-D**, inibiram ativamente a germinação de *Allium cepa* e *Lactuca sativa*, sendo que esta última se manteve mais sensível aos efeitos. Os produtos **12** e **16** exerceram inibição de germinação, principalmente em altas concentrações (Figuras 13 a 17). **16** foi mais seletivo para o modelo de dicotiledônea usado (*Lactuca sativa*) e **22** foi mais seletivo para inibição de crescimento do modelo de monocotiledônea (*Allium cepa*).

Para auxiliar a compreensão dos resultados obtidos, foi avaliado o índice de velocidade de germinação (IVG), de acordo com metodologia proposta por BRASIL⁵⁴, pois segundo FERREIRA e ÁQUILA⁴², o efeito alelopático muitas vezes pode alterar a velocidade de germinação, provocando alterações na sua curva de distribuição (Figuras 18 a 25).

4.6.1 Análise dos resultados de atividade alelopática em *Lactuca sativa*

Estes dados permitiram concluir que dentre as estruturas analisadas, **16** foi o mais ativo para *Lactuca sativa*, porque além de causar redução significativa na velocidade de germinação (IVG), foi também mais ativo nos ensaios de inibição de germinação das sementes, apresentando inibição tanto do hipocótilo quanto da radícula.

Pela análise dos resultados obtidos nos ensaios alelopáticos (IVG e inibição de crescimento), fica evidente a importância da ramificação da cadeia lateral, ao comparamos **15** e **16**, onde é possível observar que neste primeiro, não houve decréscimo significativo dos índices avaliados, causando até mesmo estímulo no crescimento das radículas (em torno de 60%) na maior concentração (10^{-3}).

Outro fator avaliado foi a elongação da cadeia lateral, que por meio da análise dos resultados de **12** e **13**, foi observado que **13** possui potencial de inibição 20% superior em hipocótilo de *Lactuca sativa*, chegando a inibir aproximadamente 55% (Figura 14), indicando que o aumento da cadeia lateral está favorecendo a atividade. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas nas radículas.

Outro composto que também apresentou atividade significativa foi o **22**. Este composto possui menor grau de substituição no anel aromático, exibindo uma única hidroxila em posição *para*. Quando confrontamos esta molécula com compostos estruturalmente semelhantes do ponto de vista espacial, como **15**, observamos um aumento considerável na atividade alelopática e isso nos sugere que um grande volume estérico pode estar comprometendo o encaixe no receptor auxínico, visto que ao observarmos as auxinas, sua grande maioria apresenta anéis aromáticos sem substituição.

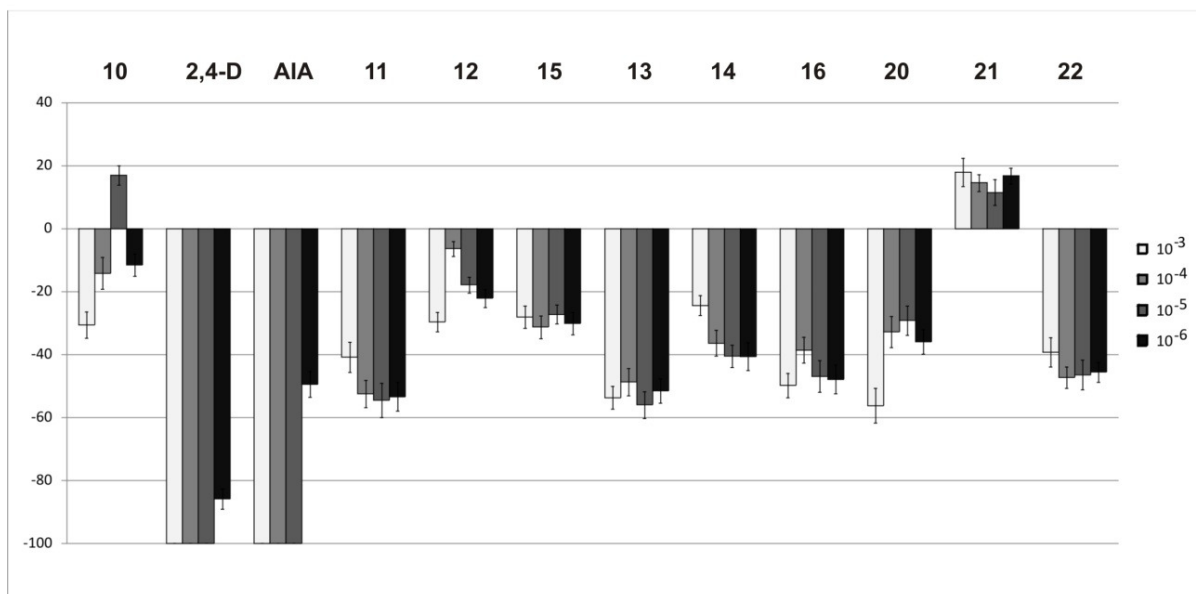


Figura 13: Crescimento médio de hipocótilo de plântulas de *Lactuca sativa* (alface) submetidas à soluções de 10 – 22, 2,4-D e AIA, em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Dados expressos em percentual em relação ao controle.

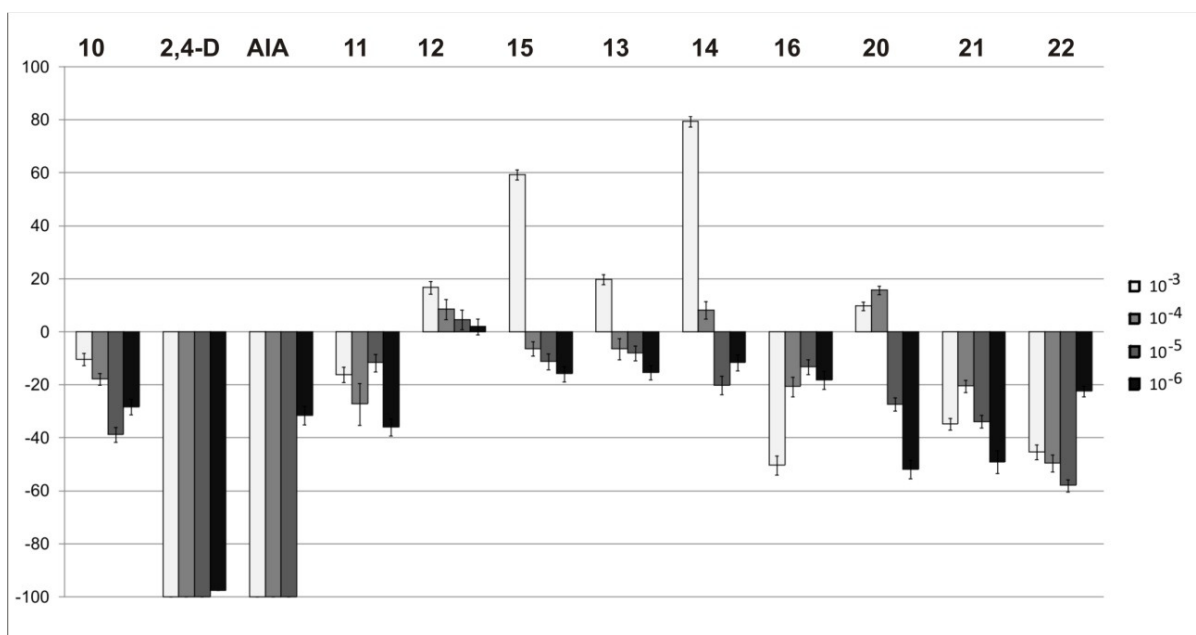


Figura 14: Crescimento médio de radícula de plântulas de *Lactuca sativa* (alface) submetidas à soluções de 10 – 22, 2,4-D e AIA, em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Dados expressos em percentual em relação ao controle.

4.6.2 Análise dos resultados de atividade alelopática em *Allium cepa*

O composto **22** também apresentou atividade significativa na inibição de crescimento de radícula e hipocótilo de *Allium cepa* e reduziu em torno de 50% o IVG em relação ao branco, exibindo atividade significativa e semelhante aos controles positivos **AIA** e **2,4-D** (Figuras 22 a 25).

O composto **13**, novamente causou reduções no crescimento de radícula e hipocótilo. Essas observações indicam que a elongação da cadeia lateral influenciou na atividade sobre às monocotiledôneas.

Tomando como base novamente a teoria do receptor auxínico, sugerida por THIMANN⁶¹ e os dados observados sobre monocotiledôneas, encontramos resultados contraditórios, pois o esperado aumento de inibição de germinação decorrente da exposição do grupo carboxila não aconteceu (Figuras 16 e 17). Foi observado que grupos éster, cetona, aldeído e fenol apresentam melhor atividade frente a esta classe de plantas, com inibições de crescimento em torno de 40%, se comparado ao branco. Isto pode ser claramente evidenciado quando tomamos como base o benzaldeído **10**, o fenol **11** e o ácido carboxílico **21**. Esses indícios sugerem que uma maior densidade negativa na cadeia lateral não está favorecendo a atividade alelopática na monocotiledônea estudada (Figura 15). Raciocínio semelhante pode ser adotado para os compostos **12** e **15**.

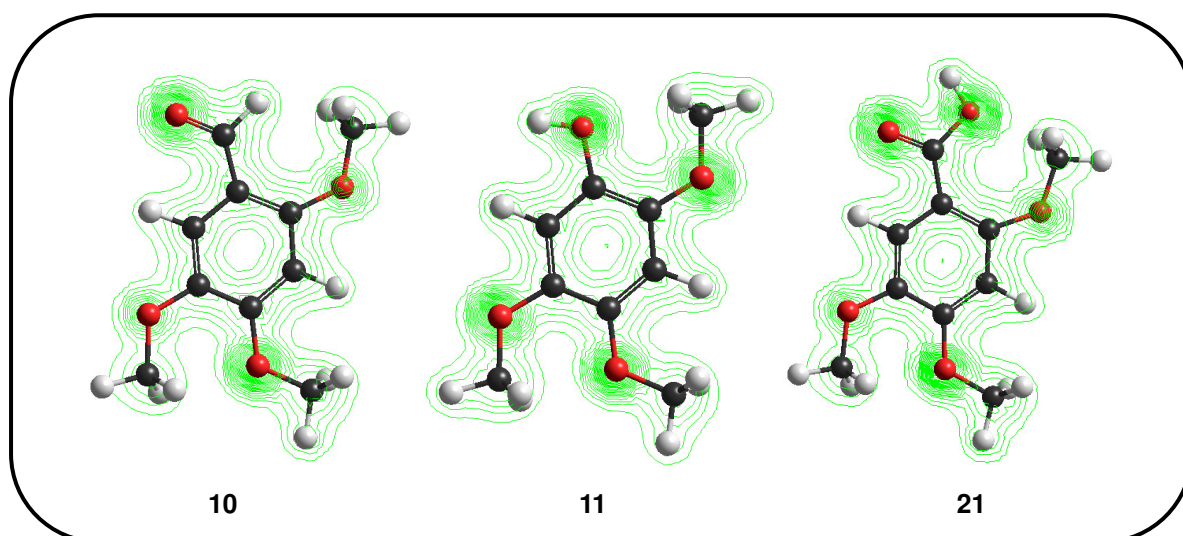


Figura 15: Mapa de densidade total de carga de 10, 11 e 21, ilustrando a maior densidade eletrônica da cadeia lateral deste último.

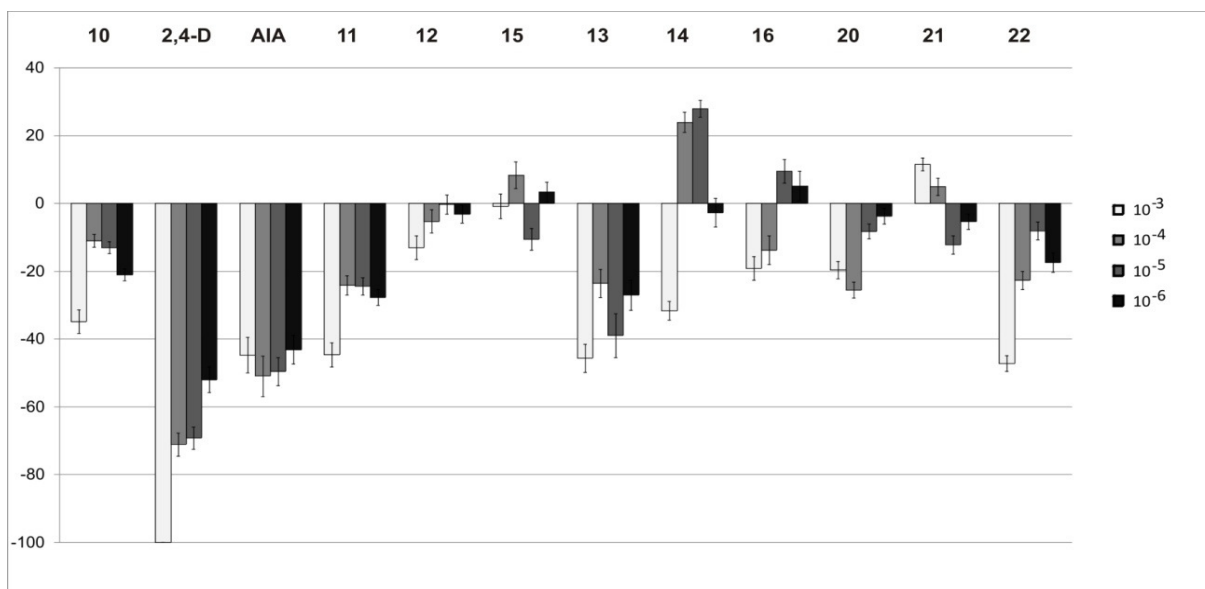


Figura 16: Crescimento médio de hipocótilo de plântulas de *Allium cepa* (cebola) submetidas à soluções de 10 – 22, 2,4-D e AIA, em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Dados expressos em percentual em relação ao controle.

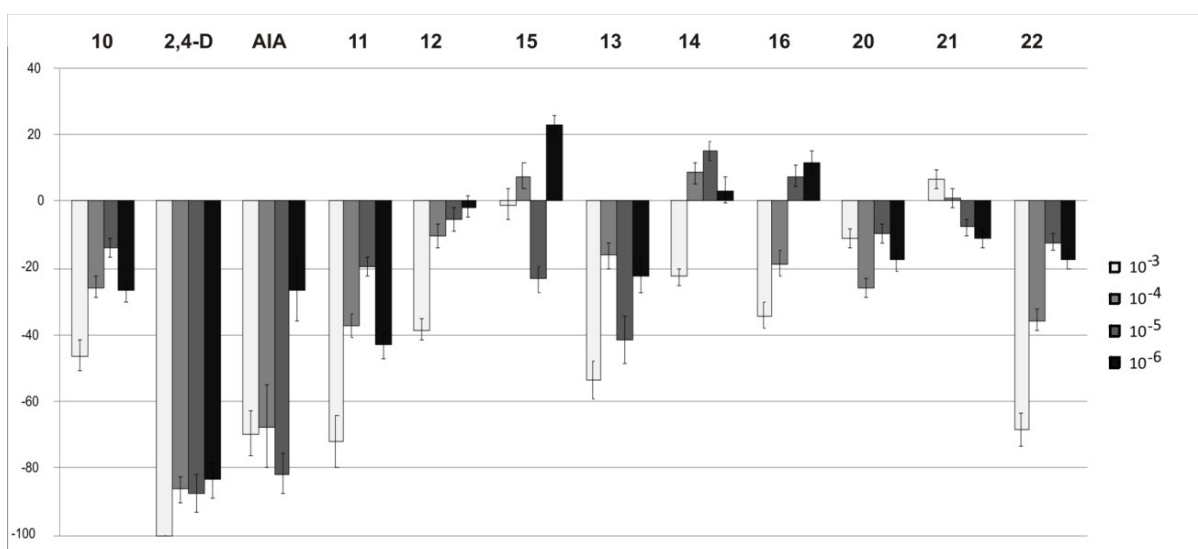


Figura 17: Crescimento médio de radícula de plântulas de *Allium cepa* (cebola) submetidas à soluções de 10 – 22, 2,4-D e AIA, em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Dados expressos em percentual em relação ao controle.

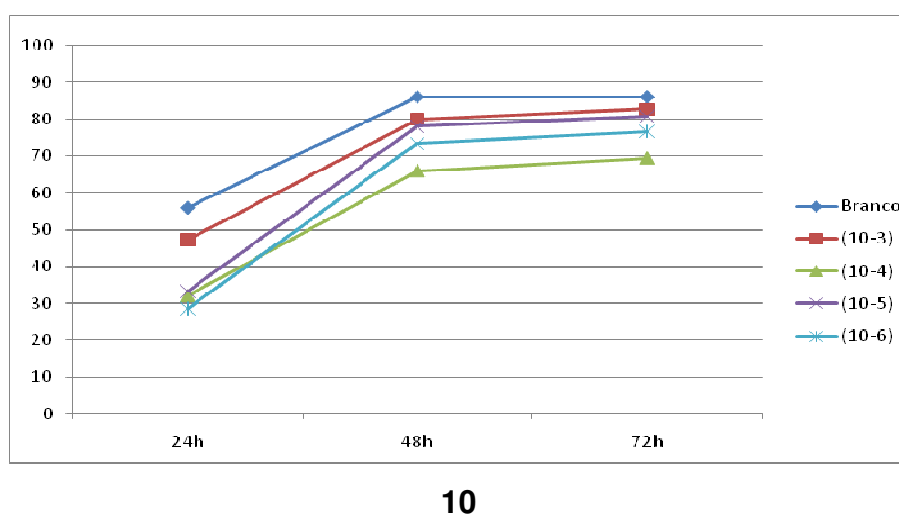
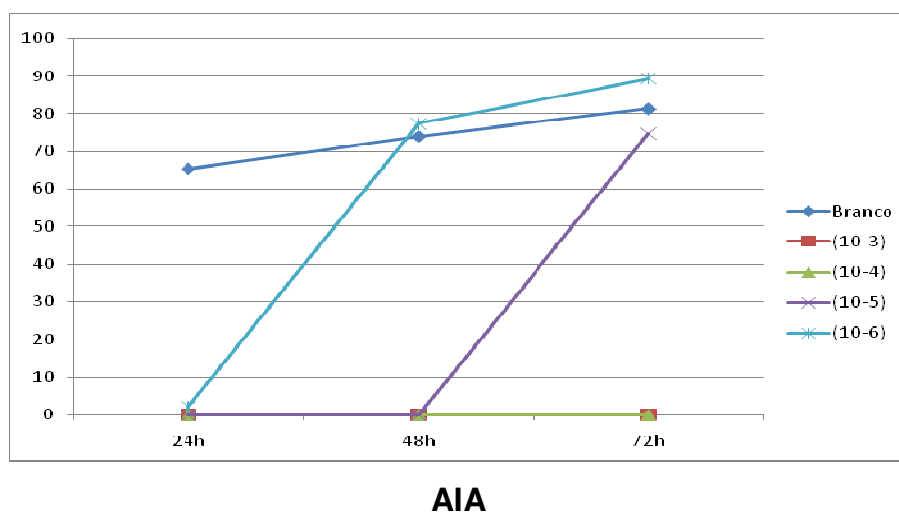
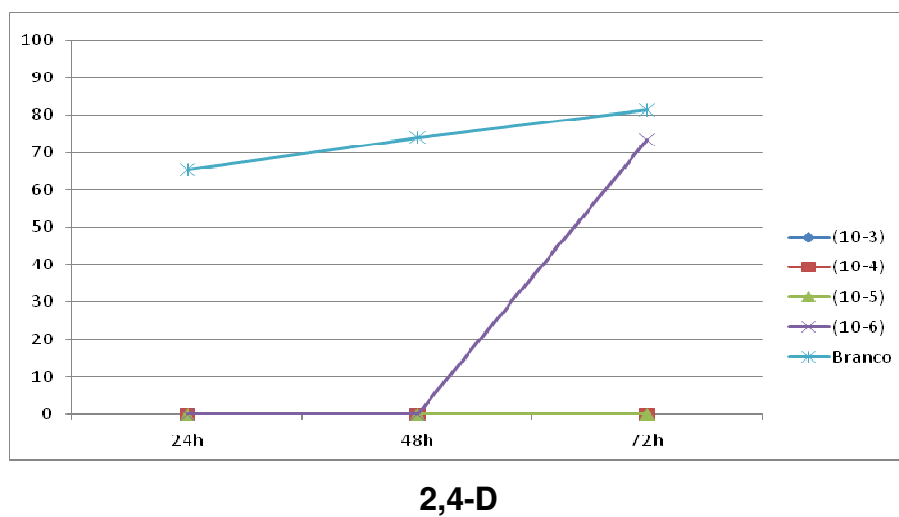
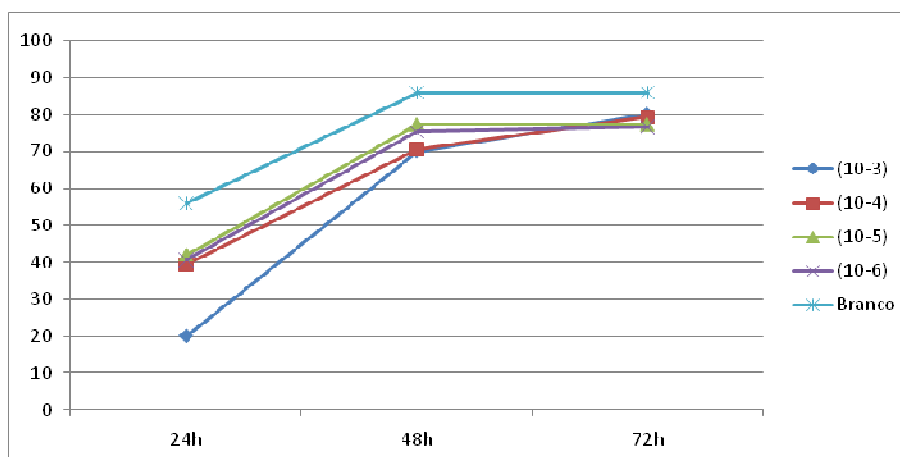
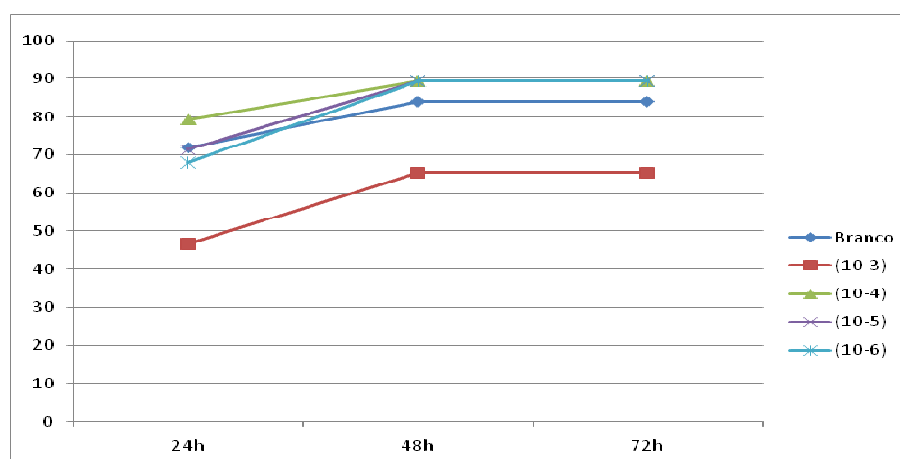


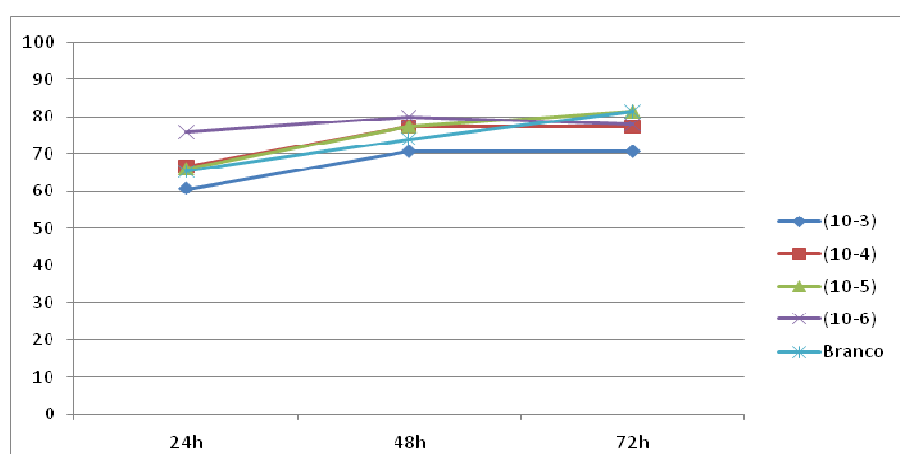
Figura 18: Avaliação do efeito de 2,4-D, AIA, 10 sobre o IVG de sementes de *Lactuca sativa* (alface) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



11

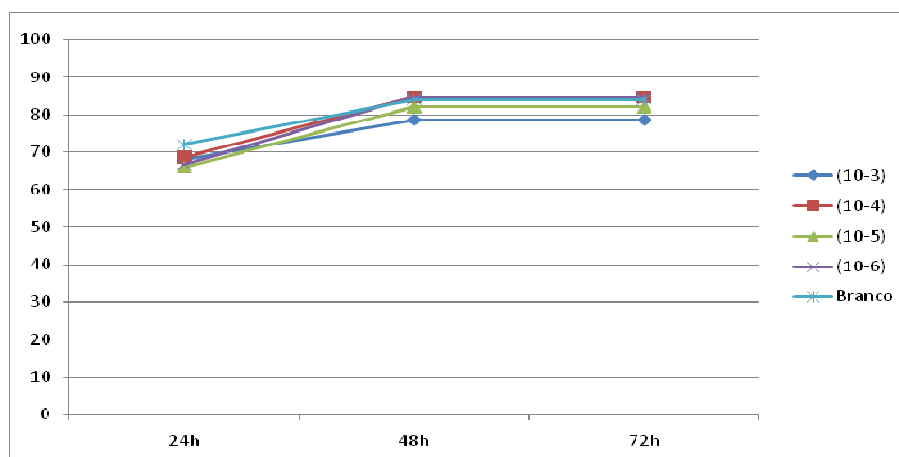


12

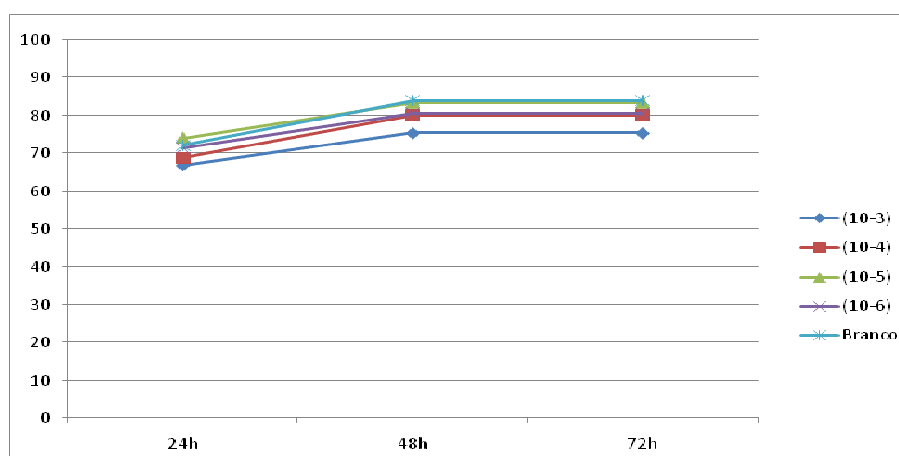


13

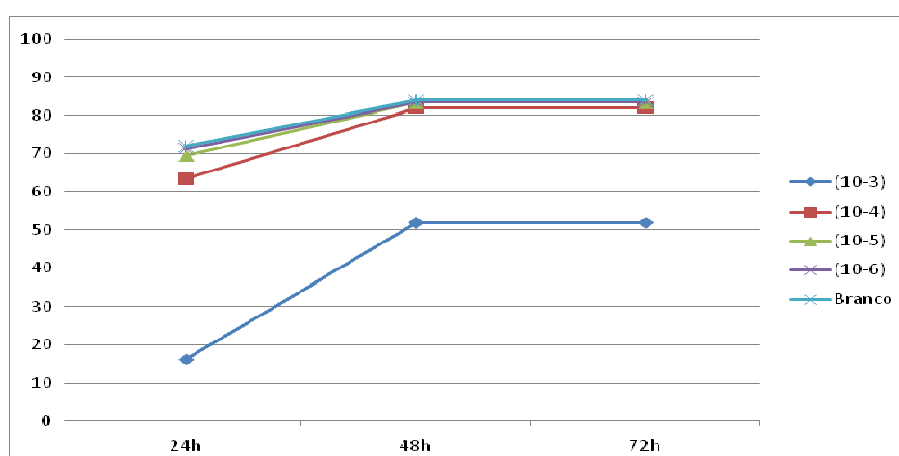
Figura 19: Avaliação do efeito de 11, 12 e 13 sobre o IVG de sementes de *Lactuca sativa* (alface) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



14

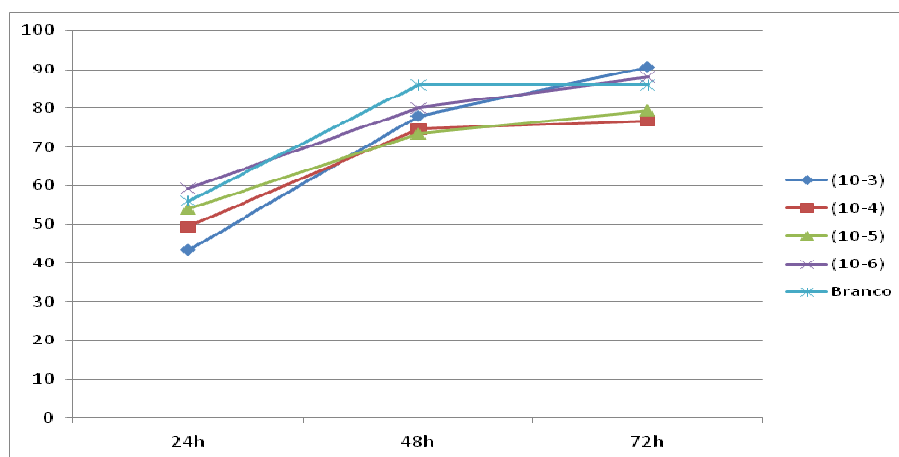


15

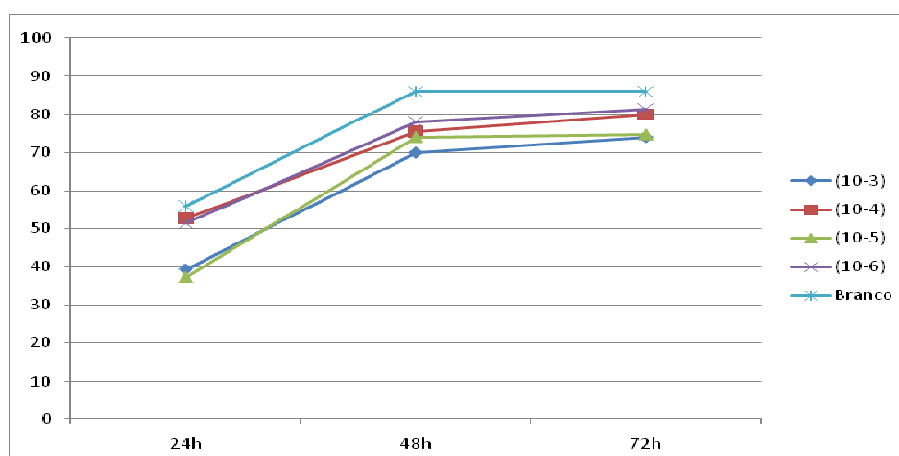


16

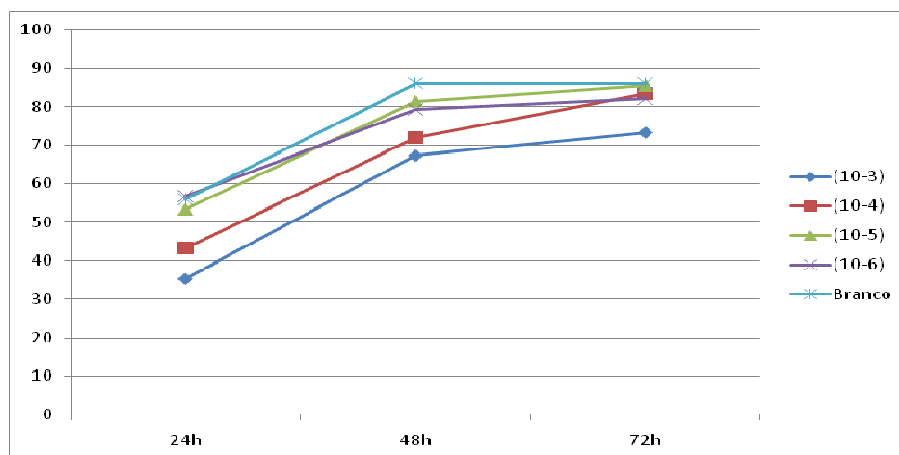
Figura 20: Avaliação do efeito de 14, 15 e 16 sobre o IVG de sementes de *Lactuca sativa* (alface) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



20

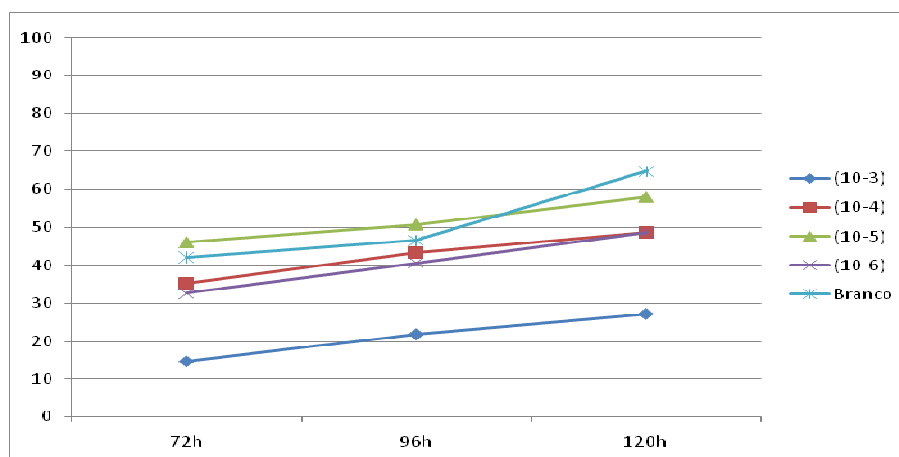


21

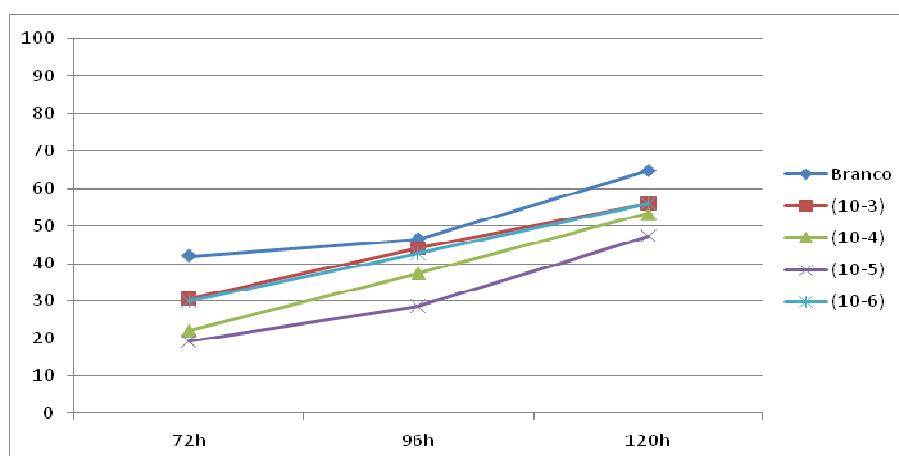


22

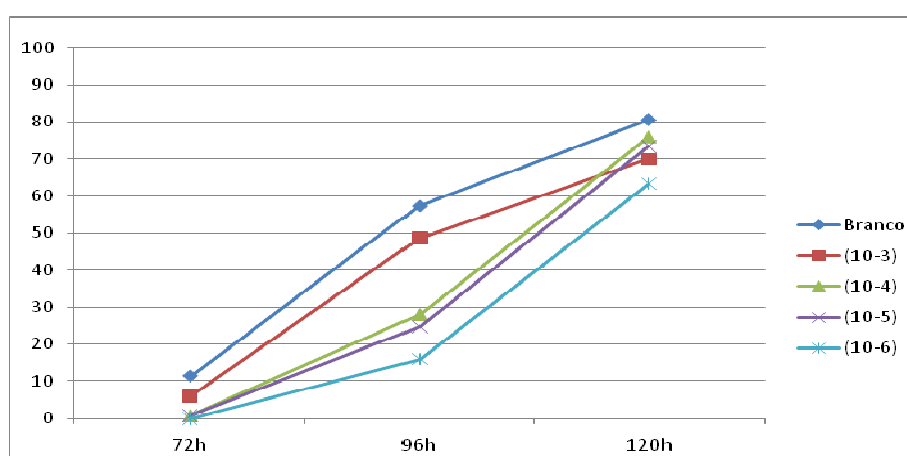
Figura 21: Avaliação do efeito de 20, 21 e 22 sobre o IVG de sementes de *Lactuca sativa* (alface) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



2,4-D

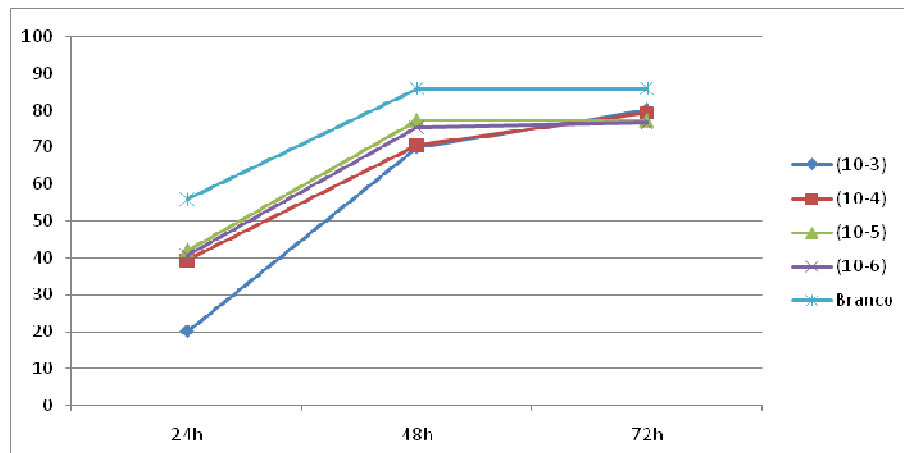


AIA

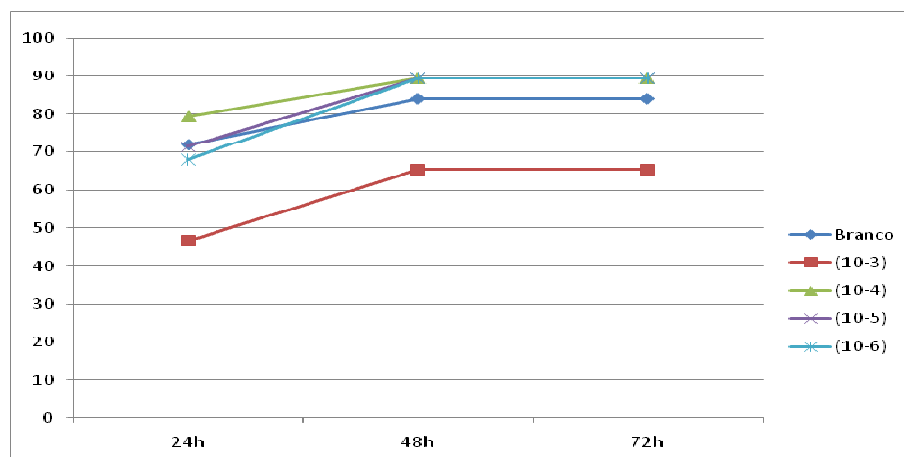


10

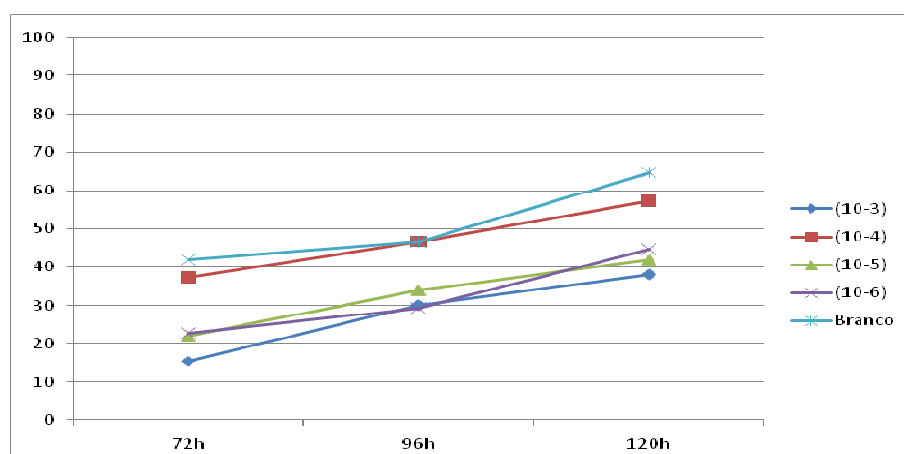
Figura 22: Avaliação do efeito de **2,4-D**, **AIA** e **10** sobre o IVG de sementes de *Allium cepa* (cebola) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



11

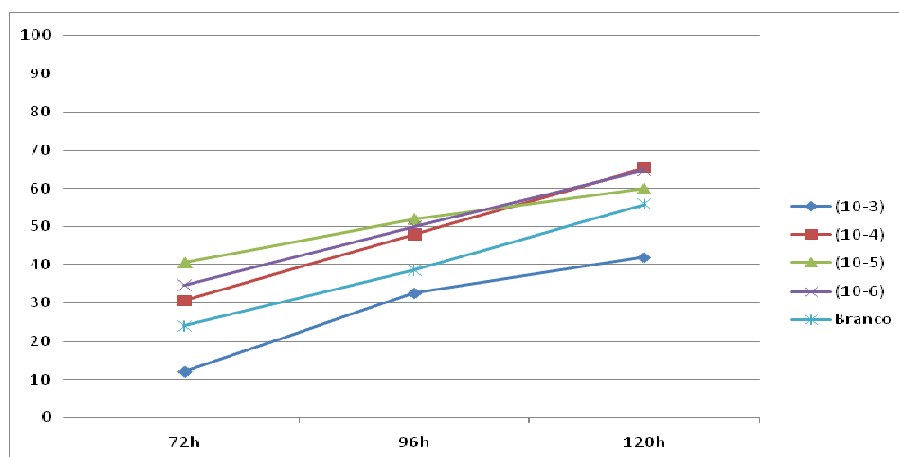


12

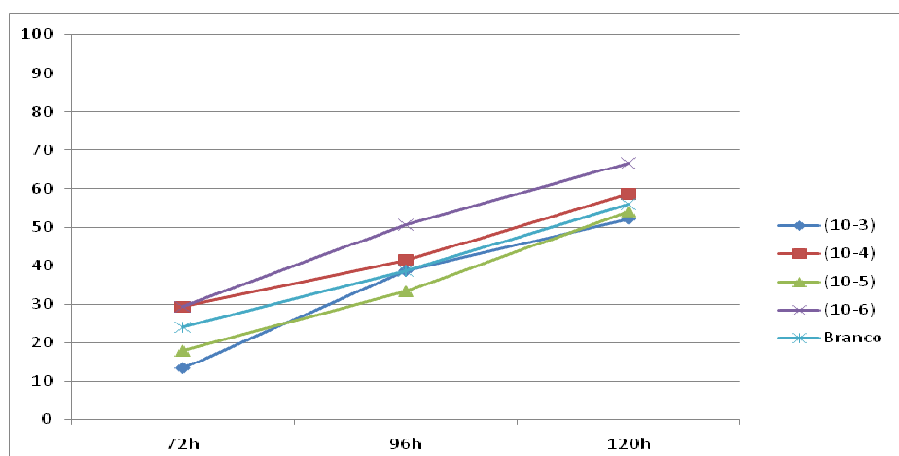


13

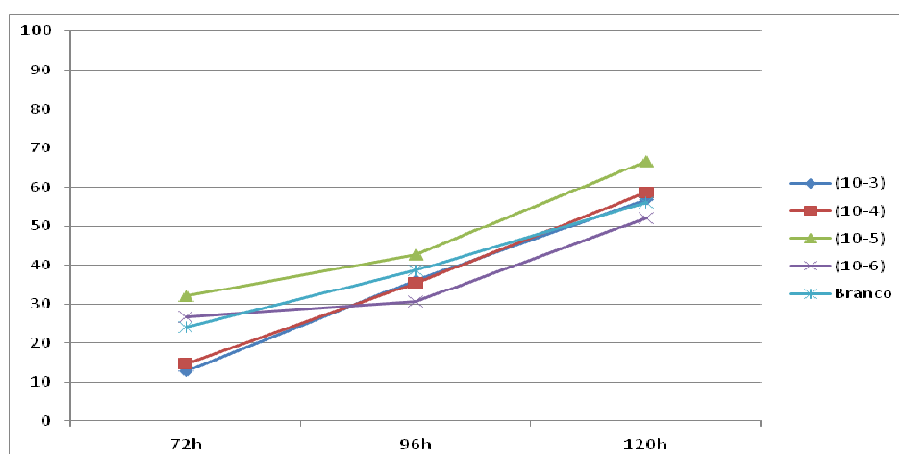
Figura 23: Avaliação do efeito de 11, 12 e 13 sobre o IVG de sementes de *Allium cepa* (cebola) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



14

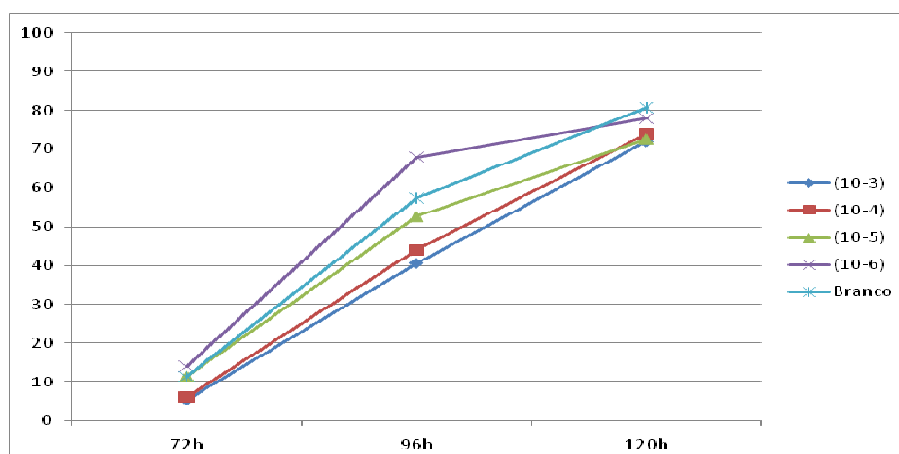


15

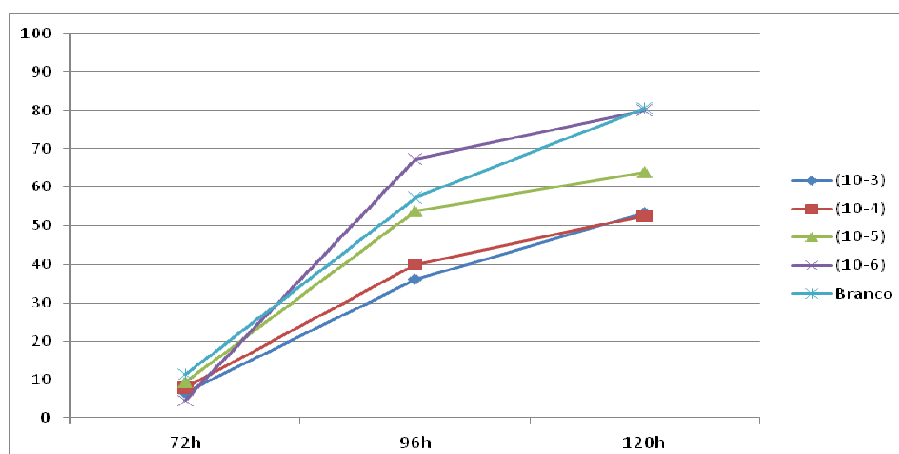


16

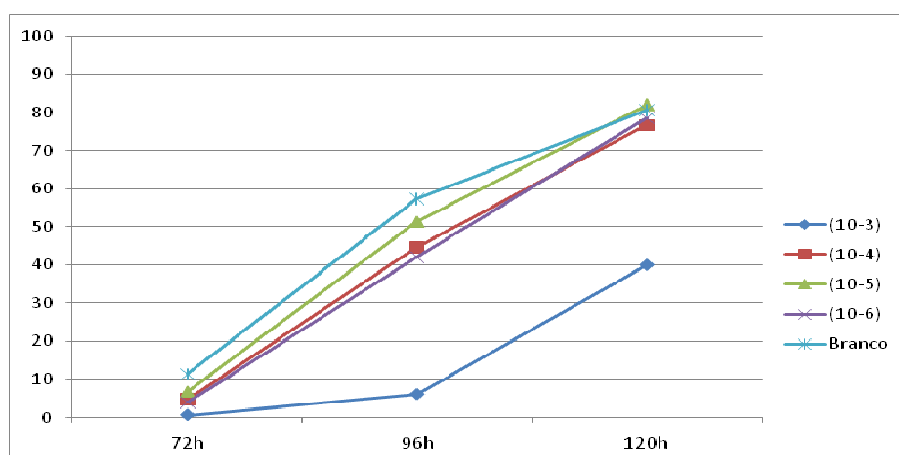
Figura 24: Avaliação do efeito de 14, 15 e 16 sobre o IVG de sementes de *Allium cepa* (cebola) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.



20



21



22

Figura 25: Avaliação do efeito de 20, 21 e 22 sobre o IVG de sementes de *Allium cepa* (cebola) em diluições geométricas de 10^{-3} M até 10^{-6} M. Valores expressos em porcentagem.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devemos recordar que a indústria de herbicidas teve seu império construído no sucesso dos herbicidas 2,4-D e 2,4,5-T e consequentemente o controle de plantas daninhas nos últimos 50 anos teve sua produção concentrada quase que exclusivamente em herbicidas sintéticos⁶⁶. Entretanto, como esperado, o uso disseminado de herbicidas levou ao surgimento dos primeiros casos de resistência a herbicidas, que começaram a crescer em escala exponencial, seguidos também de vários relatos de danos ambientais, decorrentes do uso abusivo dos organoclorados e semelhantes. Todas estas preocupações abriram novas linhas de pesquisa direcionadas à busca de novas alternativas ao combate às plantas daninhas – que além de eficientes, sejam menos prejudiciais ao meio ambiente.

Dessa forma, a alternativa mais viável à solução do problema remete aos primórdios dos primeiros relatos de danos causados às plantas, resultantes de outras espécies vegetais: a alelopatia.

Geralmente, os produtos naturais são considerados benignos do ponto de vista ambiental⁶⁶. Esta é uma alternativa muito adotada, pois muitos aleloquímicos exercem sua influência em mecanismos não explorados pelos herbicidas comerciais, tornando-os apropriados para a descoberta de novos herbicidas. Entretanto, existe uma barreira à este tipo de alternativa, que é a complexidade estrutural que muitos metabólitos secundários apresentam, contendo vários estereocentros, dificultando sua elucidação estrutural e consequentemente, tornando muito complicada a síntese destes produtos em larga escala⁶⁷.

Como ressaltado por MACIAS⁵¹, em suas pesquisas por novos aleloquímicos, existe uma grande dificuldade nesta busca por novos herbicidas, devido à necessidade de aliar diversos fatores, como um potente efeito alelopático, baixo custo de produção e não causar danos ambientais. Todos esses requisitos demandam também uma interdisciplinaridade, com a colaboração de profissionais de várias áreas tornando o processo ainda mais complicado, como verificado no decorrer do presente trabalho. Dessa forma, a busca por aleloquímicos provenientes de produtos naturais vem sendo uma alternativa muito adotada pelos pesquisadores, principalmente por ser uma área com grande potencial a ser explorado.

Portanto, ao verificarmos a atividade auxínica do composto **10**, em estudos fitoquímicos anteriores³³, acompanhados de sua baixa complexidade estrutural, poderíamos ter potencialmente, um novo protótipo de herbicida cuja síntese fosse economicamente viável, adotando reações amplamente estudadas na literatura⁴⁶, aliadas a um baixo custo de produção, além deste composto não possuir átomos de cloro em sua estrutura, o que provavelmente resultaria em um composto menos prejudicial ao meio ambiente. Porém, após a conclusão do trabalho, fica evidente que o resultado inicial favorável de **10** pode ter sido decorrente de um falso positivo ou da presença de algum metabólito junto ao extrato dessa planta, pois a avaliação do produto puro demonstrou que sua atividade é pouco expressiva se comparada aos controles positivos.

Embora as estruturas sintetizadas não tenham apresentado resultados coerentes com os padrões de atividade auxínica, isto é, de forma geral, inibir o crescimento das partes subterrâneas e estimular hipocótilo, podemos observar que as modificações sintéticas desenvolvidas levaram à obtenção de um produto otimizado, **16**, que apresentou-se mais ativo que **10** nos ensaios alelopáticos. Isto sugere que a inserção da cadeia lateral ramificada contribuiu para o aumento da atividade.

Com os dados obtidos do composto **13**, observamos que a elongação da cadeia lateral influenciou na inibição de crescimento em sementes de *Allium cepa*. E pela baixa atividade inibitória de **21** nas duas espécies avaliadas, podemos verificar que a ausência de elongação aliada à maior densidade eletrônica, decorrente do grupamento carboxila, ocasionou baixa atividade em *Allium cepa* e em hipocótilo de *Lactuca sativa*.

Dessa forma, o objetivo de sintetizar um composto mais potente que a molécula precursora **10** foi alcançado. De forma geral, os compostos sintetizados apresentaram distintos graus de atividade, porém não foram tão eficientes quanto os controles positivos, **AIA** e **2,4-D**, sendo que este último já é conhecido desde a década de 30, e até hoje, poucas são as alternativas comerciais a este herbicida que sejam mais viáveis economicamente.

Todavia, foi verificado no decorrer do trabalho que existem poucas informações na literatura sobre pré-requisitos estruturais, assim como o estudo dos

receptores responsáveis pelos efeitos alelopáticos deve ser melhor explorado, pois pelos resultados obtidos, podemos concluir que as estruturas avaliadas não seguiram um padrão aparente de estrutura/atividade, mostrando efeitos inibitórios/estimulantes para compostos com características estruturais diferentes. Assim, a proposta de THIMMAN, sobre o sítio receptor responsável pela atividade auxínica, parece realmente carecer de mais estudos, pois como já observado na literatura, nosso trabalho vem demonstrar que compostos diferentes conseguem exercer efeito alelopático semelhante. Porém a correspondência que podemos obter em relação a esta proposta é que grupos retiradores de elétrons ligados ao anel aromático favorecem a atividade biológica, pois deixam o núcleo interno do anel aromático deficiente em elétrons, a exemplo do que acontece com o herbicida 2,4-D **4**, como indicado no mapa de potencial eletrostático abaixo, onde o predomínio da cor vermelha indica a baixa densidade eletrônica:

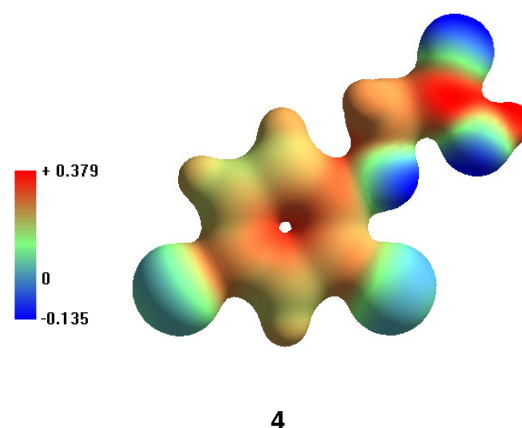


Figura 26: Mapa de potencial eletrostático do herbicida 2,4-D demonstrando a deficiência de elétrons no anel aromático.

Todas essas complicações, aliadas à falta de informações mais precisas, colocam os metabólitos secundários na vanguarda pela busca por novos herbicidas, devido à grande variedade estrutural deste grupo, aliado aos mecanismos evolutivos das plantas, que muitas vezes se utilizam desta classe como uma ferramenta de sobrevivência e perpetuação.

6. CONCLUSÕES

Pela avaliação dos resultados podemos concluir que:

- Para a síntese de **11**, a utilização de peróxido de hidrogênio em meio ácido e metanol mostrou os melhores resultados, garantindo-se a seletividade para a obtenção do fenol desejado.
- Os compostos **12**, **13**, **14**, foram obtidos com rendimentos satisfatórios, sendo que a elongação da cadeia lateral prejudicou o rendimento de **13**.
- Estas etapas sintéticas exigiram condições perfeitamente anidras, pois o fenóxido resultante pode reagir com água regenerando o fenol o que comprometeria a síntese dos compostos propostos.
- Com exceção de **11**, todos os demais compostos sintetizados são inéditos, de acordo base de dados do programa Science Finder.
- Dentre os compostos sintetizados, o que apresentou maior atividade foi **16**, que apresentou maior atividade alelopática nas duas espécies vegetais avaliadas.
- Ao confrontarmos os dados obtidos de **12** e **13** com **22**, embora exista elongação da cadeia lateral, sua atividade parece ser prejudicada pela presença das metoxilas ligadas ao anel aromático.
- Comparando os resultados de **15** e **22**, observa-se que o menor grau de substituição no anel aromático neste último contribui para melhor atividade alelopática.
- Ao compararmos **12** e **13**, verifica-se que o aumento da cadeia lateral favorece a atividade alelopática.
- A importância da ramificação da cadeia lateral fica clara ao compararmos **15** e **16**.

- A análise dos resultados de **14** e **15** sugere atividade auxínica, devido ao estímulo desproporcional das radículas de *Lactuca sativa* (alface).
- O padrão de atividade auxínica dos controles, **AIA** e **2,4,-D**, foi condizente com os dados encontrados na literatura, pois mostraram-se mais ativos em dicotiledônea (*Lactuca sativa*) do que em monocotiledônea (*Allium cepa*).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - CHRISTOFFOLETI, P. J. (1997). Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Simpósio Sobre Herbicidas e Plantas Daninhas**. EMBRAPA. Dourados/MS, EMBRAPA. 1: 75 - 94.
- 2 - CHRISTOFFOLETI, P. J. (2008). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Piracicaba, Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas - HRAC-BR.
- 3 - TU, M., C. HURD, et al. (2001). Weed Control Methods Handbook. **Tools and Techniques for Use in Natural Areas**. The Nature Conservancy's Wildland Invasive Species Team: 219.
- 4 - HEAP, I. M. (1997). **The Occurrence of Herbicide-Resistant Weeds Worldwide**. Pesticide Science 51(3): 235-243.
- 5 - LORENZI, H. (2000). **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. Nova Odessa/SP, Instituto Plantarum.
- 6 - OLIVEIRA, R. S., CONSTANTIN, J. (2001). **Plantas Daninhas e Seu Manejo**. Guaíba, Livraria e Editora Agropecuária Ltda.
- 7 - FERREIRA, M. B. and J. P. LACA-BUENDIA (1979). **Plantas Invasoras em Pastagens no Estado de Minas Gerais e Recomendações Para Sua Erradicação**. Belo Horizonte/MG, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG.
- 8 - VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (2006). **Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas: Conceitos, origem e evolução**. Passo Fundo/RS, Embrapa Trigo. 58: 22. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p58.htm>> Acesso em: 25 mar. 2009.

- 9 - BARBOSA, C. S. S., D. Q. ; TERRONES, M. G. H. (2007). Potencial Herbicida do Extrato Diclorometanólico de Caule da Lixeira (*Curatella americana* L.). **XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**. Uberlândia/MG, Encontro Regional SBQ-MG. 1: PN44.
- 10 - RUEDELL, J. (1995). **Plantio Direto na Região de Cruz Alta**. Cruz Alta/RS, Fundação Centro de Experimentação e Pesquisa FECOTRIGO – FUNDACEP: 133.
- 11 - PRIMAVESI, A. M. (1992). **Agricultura Sustentável**. São Paulo/SP, Editora Nobel. 1: 142.
- 12 - RASSINI, J. B. (1993). **Invasoras em Pastagens**. São Carlos/SP, EMBRAPA Pecuária Sudeste - CPPSE. 4: 33.
- 13 - FONTES, J. R. A. (2003). **Manejo Integrado de Plantas Invasoras na Agricultura Orgânica**. Planaltina/DF, Embrapa Cerrados: 28.
- 14 - VIDAL, R. A. W., L. M. (2004). "*Euphorbia heterophylla* L. Resistant to herbicide inhibitors of acetolactate synthase: II – Geographic distribution and genetic characterization of biotypes from Rio Grande do Sul plains." **Revista Brasileira de Agrociência** 10(4): 4.
- 15 - CHRISTOFFOLETI, P. J. (2003). "Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate." **Planta Daninha**. 21: 507-515.
- 16 - Imagem Disponível em: <<http://www.weedscience.org/ChronIncrease.gif>>. Acesso em: 08 de maio de 2009.
- 17 - CHAUNDHRY, O. (2008). **Herbicide-Resistance and Weed-Resistance Management**. Toronto/CA, Biology Environmental Science Albert Campbell Collegiate Institute. 2: 27.
- 18 - RICE, E. L. (1987). "Allelopathy - An Overview." **Acs Symposium Series**. 330: 8-22.

- 19 - ALIOTTA, G., G. CAFIERO, et al. (2006). **Weed germination, seedling growth and their lesson for allelopathy in agriculture.** 297.
- 20 - KISSMANN, K. G. (2006). **Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas.** (1),32. Disponível em: <www.hrac-br.com.br>. Acesso em: 06 de maio de 2009.
- 21 - TAIZ, L., ZEIGER, E. (2002). **Plant Physiology.** Sinauer Associates., **690**.
- 22 - SILVA, A. A., SILVA, J.F., FERREIRA, F.A., FERREIRA, L. R., SILVA, J.F; (2001). **Controle de plantas daninhas.** Brasília/DF. **201**.
- 23 - ARANTES, F. (2007). **Síntese e avaliação da fitotoxicidade de novas lactonas sesquiterpênicas.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa – UFV. **102**.
- 24 - NORRIS, L. A., MILLER, R. A. (1974). "The toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in Guppies (*Poecilia reticulatus* Peters)." **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.**, **12**(1): 76-80.
- 25 - OKAMOTO, Y. (1999). "A new dioxin decomposition process based on a hybrid density-functional calculation." **Chemical Physics Letters.**, **310**(3-4): 355-360.
- 26 - MCKAY, G. (2002). "Dioxin characterisation, formation and minimisation during municipal solid waste (MSW) incineration: review." **Chemical Engineering Journal.** **86**(3): 343-368.
- 27 - JAMESON, C. W. "Report on carcinogens--History and process." **Chemical Health and Safety.** **12**(3): 9-14.
- 28 - DAUM, A. W., GARDNER, L. C., MAUSBACH, W. (2003). America, the Vietnan War, and the World. **Comparative and international perspectives.** Cambridge/UK, Cambridge University Press. **1**: 371.

- 29 - SUTHERLAND, R. G., HEE S. S. (1981). **Phenoxyalkanoic Herbicides**. Hardcover. **316**
- 30 - DECHEN, S. C. F., POMMER, C. V. (2006) "IAC, Gerando e Transferindo Ciência e Tecnologia Para o Negócio Agrícola". **O Agrônomo**. **58**, 76.
- 31 - MACIAS, F. A., SIQUEIRA, J. M., et al. (2006). "New herbicide models from benzoxazinones: Aromatic ring functionalization effects." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **54**(26): 9843-9851.
- 32 - CAROLLO, C. A. (2004). **Estudo fitoquímico das partes aéreas (folha e caule) de *Duguetia furfuracea* - Annonaceae**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Orientador: João Máximo de Siqueira.
- 33 - BRENTAN, D. B. (2004). **Estudo fitoquímico das cascas do caule subterrâneas de *Duguetia furfuracea* - Uma espécie invasora de pastagem**. Dissertação (Mestrado em Química - CCET - UFMS) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul . Orientador: João Máximo de Siqueira.
- 34 - SIQUEIRA, J. M. de ; HELLMANN, A. R.; CAROLLO, C. A. (2005). "Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* – Annonaceae". **Biochemical Systematics and Ecology**., Inglaterra/UK, v. 33, 647-649.
- 35 - CAROLLO, C. A.; HELLMANN, A. R.; ALBURQUERQUE, S.; SIQUEIRA, J.M. (2006). "Alkaloids And A Flavonoid From Aerial Parts (Leaves And Twigs) Of *Duguetia furfuracea* – Annonaceae". **Journal of the Chilean Chemical Society**., v. 51, 837-841.
- 36 - SILVA, D. B.; TULLI, E. C. O. ; GARCEZ, W. S.; NASCIMENTO, E. A. ; SIQUEIRA, J. M. (2007). Chemical constituents of the underground stem bark of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**., Chile, v. 18, n. 2, **1560**.

- 37 - VALTER, J. L.; ALENCAR, K. M. C.; SARTORI, A. L. B.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R.; MORAIS, S. A. L.; LAURA, V. A. ; YOSHIDA, N. C.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B.; GRASSI, R. F.; FABRI, J. R.; SIQUEIRA, J. M. (2008). "Variação química no óleo essencial das folhas de seis indivíduos de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae)". **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 18, 373-378.
- 38 - CAROLLO, C.A.; SIQUEIRA, J. M. (2009). "Isolation of a minor nitro-alkaloid from the aerial parts of *Duguetia furfuracea* – Annonaceae". **Natural Product Research.**, v. 23, p. 633-637.
- 39 - Imagem disponível em <<http://www.rededesementesdocerrado.com.br>>
- 40 - BERRY, D. (1998). "Advanced Practical Organic Chemistry by J. Leonard, B. Lygo and G. Procter, and Advanced Practical Inorganic and Metalorganic Chemistry, by R. J. Errington." **The Chemical Educator.** 3(6): 1-2.
- 41 - ARMAREGO, W. L. F.; CHAI , C. L. L. (2003). **Purification of Laboratory Chemicals (Fifth Edition)**. Burlington, Butterworth-Heinemann. 5ª ed., 609.
- 42 - FERREIRA, A. G. A., M. E. A (2000). "Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia." **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.** 12(1): 175 - 204.
- 43 - SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F.X (2000). **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro/RJ, LTC. 6ª ed., 550.
- 44 - SMITH, M. B., MARCH, J. (2001). **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. Wiley-Interscience; 5ª ed. 2374.
- 45 - MATSUMOTO, M., H. KOBAYASHI, et al. (1984). "Acid-Catalyzed Oxidation of Benzaldehydes to Phenols by Hydrogen-Peroxide." **Journal of Organic Chemistry.** 49(24): 4740-4741.

- 46 - LIN, Y.-L., C.-S. WU, et al. (2002). "SAR Studies of 3-Cyclopropanecarbonyloxy-2-cyclohexen-1-one as Inhibitors of 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase." **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. **10**(3): 685-690.
- 47 - SYKES, P. (1996). **A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry**., Prentice Hall. 6^a ed., **416**.
- 48 - LOWRY, T. H., RICHARDSON, K. S. (1981). **Mechanism and theory in organic chemistry**. New York/US, Harper & Row., 2^a ed., **991**.
- 49 - CAREY, F. A., SUNDBERG, R. J.(1990). **Advanced Organic Chemistry : Structure and Mechanisms**. Springer., 3^a ed.,**1816** .
- 50 - IRIFUNE, S., KIBAYASHI T., ISHII Y., OGAWA M. (1988). "A Facile Synthesis of Alkyl Iodides and Deuterated Alkyl Iodides by Hydroiodination and Deuterioiodination of Olefins." **Synthesis**. **5**: 366 - 369.
- 51 - MACIAS, F. A., D. CASTELLANO, et al. (2000). "Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **48**(6): 2512-2521.
- 52 - TUKEY, H. B. (1969). "Implications of Allelopathy in Agricultural Plant Science." **Botanical Review**. **35**(1): 1-&.
- 53 - CASTELLANO, D. (2001). Optimización de Bioensayos Alelopáticos: aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales., Facultad De Ciencias. Cádiz/ESP, Universidad De Cádiz. **Tese**: 201.
- 54 - BRASIL (1992). **Regras Para Análise De Sementes**. Brasília/DF, Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária: **365**.
- 55 - BEWLEY, J. D. B., M. (1994). Seeds. **Physiology of development and germination**. New York/US, Plenum Publishing: **445**.

- 56 - THOMPSON, K. (1993) Germination at alternating temperatures. **Methods in comparative plant ecology**. 176 – 205.
- 57 - TAYLOR S. R., HENDRICK, S. (1972). "Interactions of Light and a Temperature Shift on Seed-Germination." **Plant Physiology**. **49**(2): 127-&.
- 58 - THOMPSON, K., GRIME, J. P. (1983). A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. **Journal Applied Ecology**. **20**(1): 141-156.
- 59 - NASCIMENTO, W. M., D. J. CANTLIFFE (2005). "Seed aging affects ethylene production and endo-beta-mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature." **Seed Science & Technology**. **33**(1):11-17.
- 60 - SUNG, Y., D. J. CANTLIFFE, et al. (2008). "Structural changes in lettuce seed during germination at high temperature altered by genotype, seed maturation temperature, and seed priming." **Journal of the American Society for Horticultural Science**. **133**(2): 300-311.
- 61 - THIMANN, K. V., M. TOMASZEWSKI, et al. (1962). "Growth-Promoting Activity of Caffeic Acid." **Nature**. **193**(4821): 1203-&.
- 62 - FARRIMOND, J. A., ELLIOTT, M. C., et al. (1978). "Charge Separation as a Component of Structural Requirements for Hormone-Activity." **Nature**. **274**(5669): 401-402.
- 63 - MUIR, R. M., FUJITA, T., et al. (1967). "Structure-Activity Relationship in the Auxin Activity of Mono-Substituted Phenylacetic Acids." **Plant Physiology**. **42**(11): 1519-1526.
- 64 - WEINTRAUB, R. L., BROWN, J. W., et al. (1954). "Herbicidal Activity - Relation between Molecular Structure and Physiological Activity of Plant Growth Regulators .2. Formative Activity of Phenoxyacetic Acids." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **2**(19): 996-999.

- 65 - SANTOS, M. V., FREITAS, C. L., et al. (2006). "Eficácia e persistência no solo de herbicidas utilizados em pastagem." **Planta Daninha**. **24**: 391-398.
- 66 - VYVYAN, J. R. (2002). "Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals." **Tetrahedron**. **58**(9): 1631-1646.
- 67 - DUKE, S., DAYAN, F., et al. (2000). "Natural Products as Sources of Herbicides: current status and future trends." **Weed Research**. **40**: 99-111.