

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DE NOVOS ANÁLOGOS OXIGENADOS DO ÁCIDO HELMINTOSPÓRICO

Luiz Cláudio de Almeida Barbosa*, Antônio Jacinto Demuner, Célia Regina Álvares Maltha e Patrícia Silvana da Silva

Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa - MG

Antônio Alberto da Silva

Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa - MG

Recebido em 24/7/02; aceito em 21/2/03

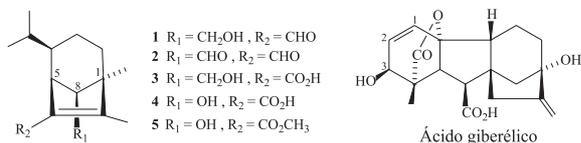
SYNTHESIS AND PHYTOTOXIC ACTIVITY EVALUATION OF NEW OXYGENATED ANALOGUES OF HELMINTHOSPORIC ACID. Several compounds related to helminthosporic acid (**3**) were synthesized via the [3+4] cycloaddition. The reaction of 3-hydroxymethyl-2-methylfuran (**12**) with 1,1,3,3-tetrabromo-4-methylpentan-2-one (**13**) resulted in 7-hydroxymethyl-4 α -isopropyl-1 α -methyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one (**8**) (37%) and 7-hydroxymethyl-2 α -isopropyl-1 α -methyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one (**14**) (12%), which were converted into 7-formyl-4 α -isopropyl-1 α -methyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one (**16**) (32% from **8**) and 7-formyl-2 α -isopropyl-1 α -methyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one (**18**) (40% from **14**), respectively. Reduction of (**8**) resulted in 7-hydroxymethyl-4 α -isopropyl-1 α -methyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3 α -ol (**11**) (63% from **8**) and 7-hydroxymethyl-4 α -isopropyl-1 α -methyl-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3 β -ol (**15**) (30% from **8**). The 4 α -isopropyl-1 α -methyl-3-oxo-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-7-oiic acid (**19**) was obtained by oxidation of (**16**) (78%). The results of biological tests are described in details. The best result was observed for compound (**15**) that caused 76% inhibition on the root growth of *D. tortuosum*.

Keywords: [3+4] cycloaddition; helminthosporic acid; herbicides.

INTRODUÇÃO

Micoorganismos produzem uma grande variedade de compostos fitotóxicos com potencial para serem usados diretamente como herbicidas, ou como protótipos para a descoberta de novos herbicidas sintéticos. Ao contrário, as plantas não são referência para a obtenção de fitotoxinas e destacam-se como fonte de outros pesticidas, particularmente os inseticidas^{1,2}.

Helminthosporol (**1**), helminthosporal (**2**) e ácido helminthosporico (**3**) são toxinas sesquiterpênicas naturais isoladas em culturas do fungo *Helminthosporium sativum*, um ascomiceto patogênico responsável pela ferrugem e apodrecimento da raiz de cereais^{3,4}.

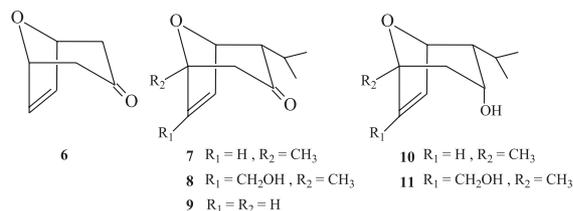


Testes biológicos realizados com o helminthosporol (**1**) incentivaram a investigação do potencial regulador do crescimento de plantas dessa classe de compostos, pois se observou rápido crescimento de brotos em plântulas de arroz e efeito inibitório sobre o crescimento de plântulas de trigo^{5,6}.

O efeito regulador sobre o crescimento de plantas foi também constatado em derivados helminthosporicos com diferentes substituintes R₁ e R₂, sendo observadas, para os mesmos, respostas bastante distintas nos ensaios realizados com arroz e alface⁶. Há evidências de que a atividade biológica do helminthosporol (**1**), bem como

do ácido helminthosporico (**3**), resulte da similaridade estrutural com dois dos anéis do ácido giberélico, um regulador do crescimento de plantas^{7,8}. A presença do grupo 3 β -hidroxil na estrutura do ácido giberélico, unidade funcional importante para a existência da atividade biológica⁹, despertou o interesse para o estudo do potencial biológico de derivados do ácido helminthosporico, uma vez que há em sua estrutura o grupo hidroximetil em C8. Para avaliar a influência do grupo hidroxila em C8 sobre a atividade biológica, foram preparados⁷ os derivados (**4**) e (**5**), sendo observada para (**4**) atividade superior à do ácido helminthosporico (**3**). Por outro lado, observou-se que a atividade biológica foi extinta para o composto (**5**), éster metílico de (**4**).

O sucesso de herbicidas comerciais, cujos princípios ativos são de origem microbiana, desperta cada vez mais o interesse para a busca de compostos com efeito herbicida análogos a compostos oriundos de microorganismos. Recentemente relatamos a atividade biológica do 8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona (**6**)¹⁰ e dos derivados (**7**) - (**11**)¹¹, análogos oxigenados do ácido helminthosporico, cujos resultados evidenciaram a potencialidade fitotóxica dessa classe de compostos. A presença do grupo isopropil parece ser um dos fatores determinantes para a atividade biológica, pois no ensaio realizado com o biciclo (**6**) não se observou efeito sobre a germinação e desenvolvimento em sorgo. Contrariamente, os compostos (**7**) - (**11**), na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, promoveram estímulo ao crescimento radicular em pepino e inibição radicular em sorgo.



*e-mail: lcab@ufv.br

Neste trabalho descrevemos a síntese e avaliação da atividade fitotóxica de análogos oxigenados do ácido helmintosporico derivados do 8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona (**6**) (Esquema 1), que foram obtidos através da reação de cicloadição [3+4]¹². Os ensaios para avaliação da atividade fitotóxica dos compostos sintetizados foram realizados utilizando-se sorgo (*Sorghum bicolor* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) e desmódio (*Desmodium tortuosum* (Sw.) DC.).

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho Kofler R Winkel Sotting. Os espectros na região do infravermelho foram registrados em pastilhas de KBr ou em solução de clorofórmio, em espectrômetro Perkin Elmer FTIR 1000, na região de 4000 a 600 cm⁻¹. Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C foram obtidos em espectrômetro Bruker DPX200. Os deslocamentos químicos estão apresentados em partes por milhão (δ) relativos ao tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,0$), e como solvente utilizou-se CDCl₃. Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro Shimadzu QP5000. As condições estabelecidas foram: temperatura do injetor (250 °C), temperatura do detector FID (300 °C), temperatura programada para a coluna (de 60 a 200 °C, com variação de 5 °C min⁻¹), coluna BP1 (30 m x 0,22 mm x 0,25 μ m).

Os reagentes utilizados nas reações e os solventes utilizados em cromatografia em coluna de sílica gel foram previamente purificados e secados de acordo com os procedimentos descritos na literatura¹³. Para a purificação dos compostos utilizou-se a cromatografia em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck). Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada utilizando-se placas de sílica gel Camlab-Polygram SILK/UV₂₅₄, com 0,25 mm de espessura.

Os compostos (**12**) e (**13**) foram preparados de acordo com a metodologia descrita na literatura¹¹.

Procedimentos sintéticos

7-hidroxi metil-4 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona (**8**) e *7-hidroxi metil-2 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona* (**14**): A uma solução de 2-hidroxi metil-2-metilfuranol (**12**) (1,0 g, 8,92 mmol) e 1,1,3,3-tetrabromo-4-metilpentan-2-ona (**13**) (2,0 mL, 10,0 mmol), em benzeno seco (120 mL), sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e a 0 °C, foi adicionado dietilzinc (25 mL de uma solução 1,0 mol L⁻¹, em hexano, 25,0 mmol) durante 1,5 h. A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 10 h. Após decorrido esse tempo, adicionaram-se 100 mL de solução saturada de NH₄Cl. A mistura foi filtrada sob Celite e o produto foi extraído com diclorometano (3 x 30 mL). A fase orgânica foi lavada com 40 mL de solução saturada de NaCl, seca sobre MgSO₄ e concentrada em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo escuro (3,0 g, cicloadutos dibromados) que foi dissolvido em 15 mL de metanol. Em seguida, adicionou-se solução metanólica saturada de NH₄Cl (30 mL de metanol e 3,5 g de NH₄Cl) e 8,0 g de amálgama de Zn/Cu. A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente durante 6 h e, então, filtrada sob Celite. Ao filtrado foram adicionados 45 mL de solução saturada de Na₂EDTA, 60 mL de diclorometano e logo após foi feita nova filtração sob Celite. A fase aquosa foi separada da fase orgânica e extraída com diclorometano (3 x 30 mL). A fase orgânica resultante foi secada com MgSO₄ e concentrada em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo escuro, cuja purificação por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:éter dietílico 1:1)

forneceu o álcool (**8**) (óleo amarelo, 0,677 g, 3,22 mmol, 37%) e seu isômero (**14**) (óleo amarelo, 0,225 g, 1,07 mmol, 12%).

Dados de (**8**): **IV** (filme líquido, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3440, 2961, 2872, 1707, 1465, 1380, 1326, 1196, 1164, 1041, 1010, 963, 941, 874, 852, 796. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃) δ : 0,90 (d, 3H, $J_{10,9} = 6,8$ Hz, Me-10), 1,05 (d, 3H, $J_{11,9} = 6,8$ Hz, Me-11), 1,45 (s, 3H, Me-12), 2,00 (octeto, 1H, $J_{9,10} = J_{9,11} = J_{9,4} = 7,3$ Hz, H-9), 2,28 (s, 1H, OH), 2,42 (d, 1H, $J_{2\alpha,2\beta} = 14,8$ Hz, H-2 α), 2,53 (d, 1H, $J_{2\beta,2\alpha} = 14,8$ Hz, H-2 β), 2,54 (dd, 1H, $J_{4,9} = 7,3$ Hz, $J_{4,5} = 3,0$ Hz, H-4), 4,13 (d, 1H, $J_{13b,13a} = 14,9$ Hz, H-13b), 4,28 (d, 1H, $J_{13a,13b} = 14,9$ Hz, H-13a), 4,98 (dd, 1H, $J_{5,4} = 3,0$ Hz, $J_{5,6} = 1,5$ Hz, H-5), 6,02 (d, 1H, $J_{6,5} = 1,5$ Hz, H-6). **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃) δ : 19,9* (Me-10), 21,5* (Me-11), 22,5* (Me-9), 24,5* (Me-12), 52,3 (C-2), 58,1 (C-13), 61,2 (C-4), 78,6 (C-5), 86,2 (C-1), 126,6 (C-6), 149,1 (C-7), 207,5 (C-3). **EM, m/z** (%): 210 (M⁺, C₁₂H₁₈O₃, 3), 192 (6), 111 (65), 107 (8), 83 (13), 69 (46), 55 (16), 43 (100).

Dados de (**14**): **IV** (filme líquido, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3430, 2961, 2874, 1704, 1668, 1464, 1381, 1198, 1162, 1041, 933, 867. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃) δ : 0,90 (d, 3H, $J_{10,9} = 6,8$ Hz, Me-10), 1,19 (d, 3H, $J_{11,9} = 6,8$ Hz, Me-11), 1,53 (s, 3H, Me-12), 1,90 (m, 1H, H-9), 2,23 (d, 1H, $J_{4\alpha,4\beta} = 18,0$ Hz, H-4 α), 2,49 (m, 2H, H-2 e OH), 2,78 (dd, 1H, $J_{4\beta,4\alpha} = 18,0$ Hz e $J_{4\beta,5} = 5,9$ Hz, H-4 β), 4,35 (sl, 2H, H-13a e H-13b), 4,92 (d, 1H, $J_{5,4\beta} = 5,9$ Hz, H-5), 6,24 (m, 1H, H-6). **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃) δ : 19,4** (Me-10), 21,5** (C-11), 25,1* (C-9), 26,4* (C-12), 44,6 (C-2), 59,7 (C-13), 68,4 (C-4), 72,1 (C-5), 86,2 (C-1), 125,9 (C-6), 149,4 (C-7), 207,8 (C-3). *As atribuições podem estar trocadas.

7-hidroxi metil-4 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3 α -ol (**11**) e *7-hidroxi metil-4 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3 β -ol* (**15**): A uma solução do cicloaduto (**8**) (0,09 g, 0,43 mmol) em etanol (10 mL), foi adicionado boroidreto de sódio (0,05 g, 1,3 mmol). A mistura foi mantida sob aquecimento (55 °C) e agitação magnética durante 4 h, sendo então resfriada em banho de gelo. Em seguida, foram adicionados 10 mL de água gelada e feita a extração com diclorometano (3 x 10 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ e concentrada em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo amarelo que, após purificação por cromatografia em coluna de sílica (hexano:éter dietílico 1:5) forneceu o diol *endo* (**11**) (cristais brancos, 0,058 g, 0,27 mmol, 63%) e o diol *exo* (**15**) (cristais brancos, 0,027 g, 0,13 mmol, 30%).

Dados de (**11**): $T_f = 92-94$ °C. **IV** (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3490, 3367, 3227, 2969, 2937, 2869, 1654, 1473, 1458, 1382, 1301, 1199, 1149, 1037, 1007, 871, 836, 798, 724, 651. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃) δ : 0,97 (d, 3H, $J_{10,9} = 6,5$ Hz, Me-10), 1,02 (d, 3H, $J_{11,9} = 6,5$ Hz, Me-11), 1,33 (s, 3H, Me-12), 1,47-1,72 (m, 2H, H-9 e H-2 β), 1,95-1,97 (m, 2H, H-4 e H-2 α), 2,55 (s, 1H, OH), 3,05 (s, 1H, OH), 4,09 (d, 1H, $J_{13a,13b} = 12,6$ Hz, H-13a), 4,13 (s, 1H, H-3), 4,30 (d, 1H, $J_{13b,13a} = 12,6$ Hz, H-13b), 4,75 (s, 1H, H-5), 6,19 (s, 1H, H-6). **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃) δ : 20,5* (Me-10), 21,3* (Me-11), 22,1* (C-9), 25,6* (Me-12), 41,8 (C-2), 48,7 (C-4), 58,0 (C-13), 66,7 (C-3), 79,3 (C-5), 82,6 (C-1), 130,5 (C-6), 148,4 (C-7). **EM, m/z** (%): 212 (M⁺, C₁₂H₂₀O₃, 3), 194 (2), 181 (2), 151 (2), 109 (14), 95 (11), 69 (8), 55 (13), 43 (100). *As atribuições podem estar trocadas.

Dados de (**15**): $T_f = 122-124$ °C. **IV** (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3373, 2957, 2931, 2873, 1654, 1465, 1378, 1312, 1213, 1161, 1033, 969, 857, 805 e 785. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃) δ : 0,90 (d, 3H, $J_{10,9} = 6,9$ Hz, Me-10), 1,08 (d, 3H, $J_{11,9} = 6,9$ Hz, Me-11), 1,33 (s, 3H, Me-12), 1,37-1,55 (m, 2H, H-2 β e H-2 α), 1,80-2,12 (m, 4H, 2 x OH, H-4 e H-9), 3,55-3,67 (m, 1H, H-3), 4,13 (d, 1H, $J_{13a,13b} = 14,7$ Hz, H-13a), 4,27 (d, $J_{13b,13a} = 14,7$ Hz, H-13b), 4,70 (s, 1H, H-5), e 5,87 (d, 1H, $J_{6,5} = 1,7$ Hz, H-6). **RMN ¹³C** (50 MHz, CDCl₃) δ : 20,0* (Me-10), 21,9* (Me-11), 22,2* (C-9), 26,9* (Me-12), 41,5 (C-2), 51,16 (C-4), 58,4 (C-13), 68,2 (C-3), 78,5 (C-5), 83,7 (C-1), 125,2 (C-6) e

146,8 (C-7). **EM, m/z (%)**: 212 (M^+ , $C_{12}H_{20}O_3$, 3), 194 (2), 181 (3), 151 (13), 109 (9), 95 (17), 69 (8), 55 (19), 43 (100). *As atribuições podem estar trocadas.

7-formil-4 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona (16) e 7-clorometil-4 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona (17): A uma mistura de cloreto de oxalila (0,1 mL, 1,1 mmol) em diclorometano seco (10 mL), sob agitação magnética e -78 °C, adicionou-se dimetilsulfóxido (0,15 mL, 1,94 mmol) diluído em 3 mL de diclorometano. Após 30 min a solução do cicloaduto (**8**) (0,16 g, 0,76 mmol, 3 mL de diclorometano) foi adicionada e a mistura mantida sob agitação magnética, a -78 °C, por 2 h. Em seguida, trietilamina (0,7 mL, 5 mmol) foi adicionada, mantendo-se a temperatura de -78 °C por 30 min. Após decorrido esse tempo, a reação foi deixada à temperatura ambiente durante 21 h. Em seguida, foram adicionados 15 mL de água destilada e o produto foi extraído com diclorometano (4 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de ácido clorídrico 1% (7 mL), solução aquosa de $NaHCO_3$ 5% (7 mL), solução saturada de NaCl (10 mL), secada sobre $MgSO_4$ e concentrada em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo marrom, cuja purificação em coluna de sílica gel (hexano:éter dietílico 5:1) forneceu o aldeído (**16**) (óleo amarelo, 0,05 g, 0,24 mmol, 32%) e o clorocicloaduto (**17**) (óleo amarelo, 0,033 g, 0,15 mmol, 20%).

Dados de (**16**): **IV** (filme líquido, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$ 3407, 3074, 2963, 2935, 2874, 2735, 1712, 1683, 1607, 1467, 1380, 1327, 1285, 1197, 1169, 1053, 1025, 963, 875, 850, 757, 696, 635. **RMN 1H** (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 0,93 (d, 3H, $J_{10,9}$ = 6,8 Hz, Me-10), 1,07 (d, 3H, $J_{11,9}$ = 6,8 Hz, Me-11), 1,64 (s, 3H, Me-12), 2,01-2,21 (oct., 1H, $J_{9,11}$ = $J_{9,10}$ = $J_{9,4}$ = 6,8 Hz, H-9), 2,49 (d, 1H, $J_{2\alpha,2\beta}$ = 15,4 Hz, H-2 α), 2,55 (d, 1H, $J_{2\beta,2\alpha}$ = 15,4 Hz, H-2 β), 2,63 (dd, 1H, $J_{4,9}$ = 6,8 Hz e $J_{4,5}$ = 4,8 Hz, H-4), 5,18 (dd, 1H, $J_{5,4}$ = 4,8 Hz e $J_{5,6}$ = 1,9 Hz, H-5), 7,09 (d, 1H, $J_{6,5}$ = 1,9 Hz, H-6) e 9,76 (s, 1H, H-13). **RMN ^{13}C** (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 20,2* (Me-10), 21,7* (Me-11), 22,3* (C-9), 24,5* (Me-12), 51,5 (C-2), 61,1 (C-4), 78,8 (C-5), 84,3 (C-1), 149,1 (C-6), 149,6 (C-7), 186,3 (C-13) e 205,4 (C-3). **EM m/z (%)**: 208 (M^+ , $C_{12}H_{16}O_3$, 3), 180 (3), 179 (19), 151 (10), 137 (32), 109 (21), 83 (14), 69 (95), 55 (16), 43 (100). *As atribuições podem estar trocadas.

Dados de (**17**): **IV** (filme líquido, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$ 2962, 2932, 2872, 1710, 1459, 1438, 1381, 1327, 1264, 1167, 1020, 963, 948, 875, 739 e 647. **RMN 1H** (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 0,87 (d, 3H, $J_{10,9}$ = 6,9 Hz, Me-10), 1,05 (d, 3H, $J_{11,9}$ = 6,9 Hz, Me-11), 1,49 (s, 3H, Me-12), 1,97-2,11 (m, 1H, H-9), 2,43-2,56 (m, 3H, H-2 β , H-2 α e H-4), 4,07 (d complexo, 2H, H-13a e H-13b), 4,93-4,98 (m, 1H, H-5) e 6,17 (sl, 1H, H-6). **RMN ^{13}C** (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 20,0* (Me-10), 21,5* (Me-11), 22,4* (C-9), 24,6* (Me-12), 37,7 (C-13), 52,1 (C-2), 60,8 (C-4), 78,6 (C-1), 84,8 (C-5), 131,3 (C-6), 145,1 (C-7) e 206,2 (C-3). **EM m/z (%)**: 228 (M^+ , $C_{12}H_{17}ClO_2$, 2), 213 (1), 185 (8), 150 (17), 129 (40), 121 (6), 108 (19), 95 (24), 69 (63), 55 (11), 43 (100). *As atribuições podem estar trocadas.

7-formil-2 α -isopropil-1 α -metil-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ona (18): A uma mistura de cloreto de oxalila (0,12 mL, 1,31 mmol) em diclorometano (10 mL), sob agitação magnética a -78 °C, adicionou-se dimetilsulfóxido (0,18 mL, 2,3 mmol) diluído em 3 mL de diclorometano seco. Após 30 min, a solução do cicloaduto (**14**) (0,19 g, 0,9 mmol, 3 mL de diclorometano seco) foi adicionada e a mistura mantida sob agitação magnética, a -78 °C, por 2 h. Em seguida, trietilamina (0,83 mL, 5,94 mmol) foi adicionada, mantendo-se a temperatura de -78 °C por 30 min. Após esse tempo, a reação foi deixada à temperatura ambiente durante 21 h. Em seguida, foram adicionados 15 mL de água destilada e o produto foi extraído com diclorometano (4 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de ácido clorídrico 1% (7 mL), solução aquosa de $NaHCO_3$ 5% (7 mL), solução saturada de NaCl (10 mL), secada sobre $MgSO_4$ e concentrada em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo marrom,

cuja purificação em coluna de sílica gel (hexano:éter dietílico 3:1) forneceu o aldeído (**18**) (óleo amarelo, 0,075 g, 0,36 mmol, 40%). **RMN 1H** (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 0,95 (d, 3H, $J_{10,9}$ = 6,8 Hz, Me-10), 1,09 (d, 3H, $J_{11,9}$ = 6,8 Hz, Me-11), 1,30 (s, 3H, Me-12), 2,00-2,40 (m, H-2, H4 α , H-9), 2,53 (dd, 1H, $J_{4\beta,4\alpha}$ = 16,0 Hz e $J_{4\beta,5}$ = 1,5 Hz, H-4 β), 5,08 (m, 1H, H-5), 7,10 (d, 1H, $J_{6,5}$ = 1,5 Hz, H-6) e 9,78 (s, 1H, H-13). **RMN ^{13}C** (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 20,8* (Me-10), 21,4* (Me-11), 21,6* (C-9), 28,3* (Me-12), 51,5 (C-4), 59,6 (C-2), 78,3 (C-5), 83,9 (C-1), 149,2 (C-6), 150,6 (C-7), 186,3 (C-13) e 207,3 (C-3). *As atribuições podem estar trocadas.

Ácido 4 α -isopropil-1 α -metil-3-oxo-8-oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-7-óico (19): A uma solução de hidróxido de sódio (0,043 g, 1,06 mmol) em 3 mL de água destilada, foi adicionado nitrato de prata (0,088 g, 0,53 mmol), sob agitação magnética. A mistura foi resfriada em banho de gelo e, em seguida, adicionou-se a solução do aldeído (**16**) (0,05 g, 0,24 mmol) em 2 mL de etanol. A reação foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 4 h. Após filtração, o sólido foi lavado com água quente (10 mL) e, em seguida, com diclorometano (10 mL). O filtrado foi acidificado com solução de ácido clorídrico 2 mol L^{-1} até pH 3 e a fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 15 mL). A fase orgânica foi secada com $MgSO_4$ e concentrada em evaporador rotatório. Obteve-se um óleo escuro que, após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel (éter dietílico) forneceu o ácido (**19**) (cristais brancos, 0,042 g, 0,19 mmol, 78%), sob a forma de cristais brancos. **IV** (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$ 3200-2500, 2965, 2882, 1713, 1616, 1429, 1381, 1177, 1068, 1021, 766, 739. **RMN 1H** (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 0,83 (d, 3H, $J_{10,9}$ = 6,8 Hz, Me-10), 0,90 (d, 3H, $J_{11,9}$ = 6,8 Hz, Me-11), 1,43 (s, 3H, Me-12), 2,05-2,70 (m, 4H, H-2 β , H-2 α , H-4, H-9), 4,75 (d, 1H, $J_{5,6}$ = 1,9 Hz, H-5) e 7,41 (d, 1H, $J_{6,5}$ = 1,9 Hz, H-6), 12,0 (sl, 1H, COOH). **EM m/z (%)**: 179 (5, M^+ -COOH), 152 (21), 151 (10), 126 (21), 110 (86), 97 (40), 84 (16), 69 (52), 55 (25), 43 (100).

Ensaios biológicos

Soluções dos compostos (**8**), (**11**), (**15**), (**16**), (**17**) e (**19**) foram adicionadas, separadamente, às placas de Petri contendo areia lavada. Em seguida, foram colocadas sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) pré-germinadas por 18 h à temperatura de 28 °C. As placas foram incubadas à temperatura de 28 °C, sob inclinação de 75° durante 48 h quando, então, os comprimentos das radículas foram medidos. As porcentagens de inibição das raízes foram calculadas de acordo com as observações do tratamento controle, realizado nas mesmas condições descritas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Todos os dados observados foram analisados estatisticamente e, para comparação das médias utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade¹⁴. O mesmo procedimento foi realizado com sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.). Para a avaliação do efeito dos compostos (**8**), (**11**), (**15**), (**16**) e (**19**) sobre o desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea foram utilizados, além de sorgo e pepino, capim-braquiária (*B. decumbens* Stapf) e desmódio (*D. tortuosum* (Sw.) DC.), de acordo com metodologia proposta por Parker¹⁵. Esse experimento foi conduzido em potes plásticos, nos quais adicionou-se uma mistura de areia lavada e solução dos compostos a serem avaliados. As sementes foram semeadas a 1 cm de profundidade e os potes mantidos em sala de crescimento sob luminosidade e temperatura controladas. Os potes foram irrigados três vezes ao dia com água destilada e três vezes por semana com solução nutritiva comercial. Após 15 dias foi realizada a colheita das plantas. O material coletado foi seco em estufa de ventilação forçada a 75 °C durante 72 h e, em seguida, determinou-se a biomassa seca da parte aérea e do sistema radicular, calculando-se a porcentagem de inibição para os diferentes tratamentos, em relação ao tratamento controle.

Para ambos os experimentos os produtos foram avaliados na concentração de 5,5 ppm. As soluções foram preparadas utilizando-se xileno, pentan-3-ona, *Tween 40* e água destilada, conforme metodologia descrita na literatura¹⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese

O delineamento experimental para a síntese dos análogos oxigenados do ácido helmintosporico fundamentou-se na reação de cicloadição [3+4], que utiliza cátions oxialfílicos, gerados *in situ* a partir de halocetonas e dienos. Essa metodologia gera cicloadutos com grande potencial para modificações químicas^{12,17}.

O 3-hidroxi-2-metilfurano (**12**) e a 1,1,3,3-tetrabromo-4-metilpentan-2-ona (**13**) foram sintetizados conforme procedimento descrito anteriormente¹¹ e obtidos com rendimentos de 95 e 99%, respectivamente. A reação de cicloadição [3+4] entre o dieno (**12**) e a tetrabromocetona (**13**) resultou inicialmente em cicloadutos dibromados (não isolados), cuja redução com amálgama de Zn/Cu, em presença de metanol forneceu os álcoois (**8**) (37%, previamente descrito¹¹) e (**14**) (12%) (Esquema 1). Em trabalho anterior¹¹, o composto (**8**) foi preparado em menor escala (5 mmol), sendo obtido com rendimento de 54%. Essa diferença de rendimento pode ser devida a vários fatores, como qualidade dos reagentes, pureza dos solventes e escala da reação. Portanto, tal diferença mostra que a reação de cicloadição em questão é bastante sensível às condições experimentais. Entretanto, como a reação não foi otimizada, não há

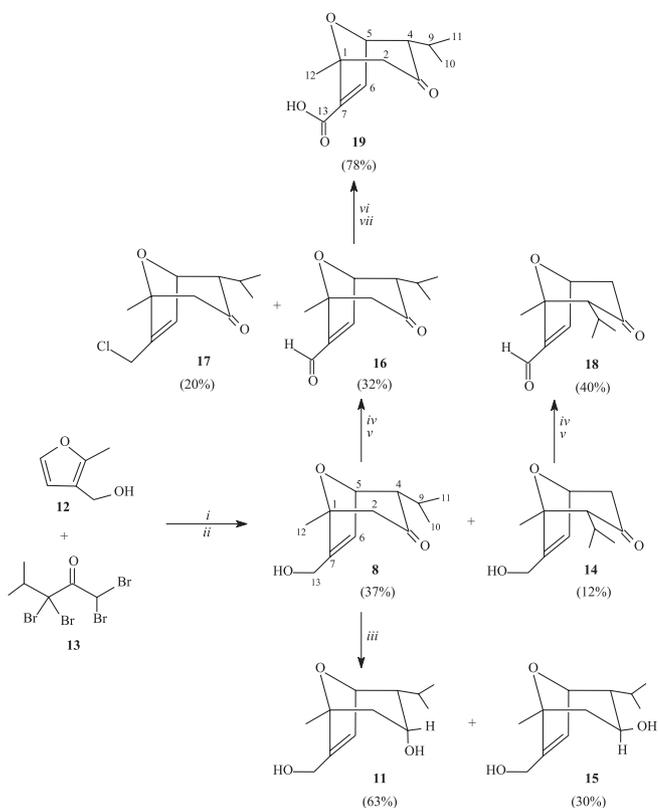
como se saber precisamente quais são os fatores experimentais limitantes. A formação dos isômeros (**8**) e (**14**) resulta da regioseletividade da reação de cicloadição [3+4], sendo observada, em ambos os casos, a formação preferencial do isômero com o grupo isopropil em posição equatorial (isômero α) em relação ao isômero β (substituinte em posição axial)^{12,18}. A estereoquímica α do grupo isopropil em C4 no composto (**8**) foi determinada através da análise do espectro de RMN ¹H, que apresentou um duplo duplete em δ 2,54 (H4), cujos valores obtidos para as constantes de acoplamento ($J_{4,9} = 7,3$ Hz, $J_{4,5} = 3,0$ Hz) estão em concordância com a estrutura proposta. A análise dos espectros no infravermelho, RMN ¹H, RMN ¹³C e de massas obtidos também foram consistentes com as estruturas propostas para os isômeros (**8**) e (**14**).

Para avaliar a influência do grupo carbonila sobre o potencial herbicida dessa classe de compostos, bem como produzir compostos de maior hidrofiliabilidade, o álcool (**8**) foi tratado com boroidreto de sódio em metanol¹¹. Foram obtidos os isômeros (**11**) (diol *endo*, previamente descrito¹¹) e (**15**) (diol *exo*), com rendimentos de 63 e 30%, respectivamente, a partir de (**8**). A formação dos dióis *endo:exo* na proporção 2:1 é decorrente de fatores estruturais que diferenciam o ataque do agente redutor às faces *endo* e *exo* da molécula. A fórmula molecular C₁₂H₂₀O₃ para os dióis (**11**) e (**15**) foi confirmada pelo espectro de massas que apresentou um sinal em *m/z* 212 (íon molecular), conforme requerido. A multiplicidade de sinal para o hidrogênio H3 observada no espectro de RMN ¹H dos isômeros (**11**) e (**15**) permitiu a confirmação inequívoca das estruturas propostas. A análise com modelos moleculares mostrou que no caso do diol *endo* (**11**), a disposição espacial entre o hidrogênio H3 e os hidrogênios H2 α , H2 β e H4 ocasiona ângulos diedros de aproximadamente 90°, que resulta em um sinal simples (δ 4,13) para o hidrogênio H3. Maior complexidade de sinal foi observada para H3 no caso do diol *exo* (**15**) (multiplete, δ 3,55-3,67), pois neste caso os ângulos diedros observados tornam possíveis os acoplamentos vicinais com os hidrogênios H2 β e H4.

A introdução do grupo carboxila no esqueleto 8-oxabicyclo foi planejada mediante reações de oxidação (Esquema 1). A metodologia de Swern¹⁹ foi utilizada para a oxidação do grupo hidroximetil de (**8**) e (**14**) que forneceram os aldeídos (**16**) e (**18**) com rendimentos de 32 e 40%, respectivamente, a partir dos álcoois de origem. O espectro de massas de (**16**) mostrou um sinal em *m/z* 208, consistente com a fórmula molecular C₁₂H₁₆O₃. A carbonila cetônica de (**16**) foi identificada no espectro no infravermelho pela presença de absorção em 1712 cm⁻¹, e o grupo formil α,β -insaturado identificado pela absorção em 1683 cm⁻¹. A oxidação do grupo hidroximetil também foi confirmada no espectro de RMN ¹H, que apresentou para o hidrogênio aldeídico um sinal simples em δ 9,76 para (**16**) e em δ 9,78 para (**18**).

A despeito da grande praticidade da metodologia de Swern, o uso de cloreto de oxalila como agente ativante para o dimetilsulfóxido pode levar à formação de produtos secundários decorrentes da cloração eletrofílica²⁰. A formação do produto clorado foi observada durante a oxidação do álcool (**8**), que forneceu o cloro-cicloaduto com rendimento de 20%, a partir de (**8**). A fórmula molecular C₁₂H₁₇ClO₂ foi confirmada no espectro de massas pelo sinal do íon molecular em *m/z* 228. A existência de um grupo metileno adicional, em relação ao aldeído (**16**), foi confirmada no espectro DEPT 135 de (**17**), que apresentou para o carbono C2 sinal em δ 52,1 e para o carbono alílico C13 sinal em δ 37,7.

Finalmente, o tratamento do aldeído (**16**) com AgNO₃/NaOH, seguido de acidificação, forneceu o ácido (**19**) com rendimento de 78%²¹. O grupo carboxila foi identificado no espectro no infravermelho pela presença da absorção em 1713 cm⁻¹ e pela banda larga de absorção em 2500-3200 cm⁻¹.



Esquema 1. i) Et₂Zn, Benzeno, 10 h, 25 °C; ii) Zn/Cu; NH₄Cl, MeOH, 6 h, 25 °C; iii) NaBH₄, EtOH, 4 h, 55 °C; iv) (COCl)₂, DMSO, CH₂Cl₂, -78 °C, 2,5 h; v) TEA, -78 °C, 30 min. → 25 °C, 21 h; vi) NaOH, AgNO₃, 25 °C, 4 h; vii) HCl

Ensaios biológicos

Os ensaios para avaliação da atividade herbicida são geralmente direcionados para dois diferentes tipos de resultados, podendo ser obtidas respostas em partes específicas da planta ou resposta total sobre a mesma. No primeiro caso, por exemplo, pode-se observar inibição ou alongação do caule e/ou das raízes, alterações decorrentes de imperfeições no processo de divisão celular, clorose, necrose e outras variações morfológicas. A resposta total da planta é freqüentemente avaliada através do acúmulo de biomassa seca pela planta, além da sintomatologia de toxicidade. Devem ser selecionadas plantas de diferentes famílias e espécies de fácil germinação e rápido crescimento inicial para se assegurar a confiabilidade de resultados.

Os ensaios foram realizados com os compostos (8), (11), (15), (16), (17) e (19), utilizando-se *Sorghum bicolor* L., *Cucumis sativus* L., *Brachiaria decumbens* Stapf e *Desmodium tortuosum* (Sw.) DC. Os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 1 a 3.

O efeito dos compostos sobre o crescimento inicial do sistema radicular foi pouco significativo para *S. bicolor* (Tabela 1), sendo observadas taxas de inibição menores que 10%. Resultados pouco mais expressivos foram obtidos com *C. sativus*, observando-se maior efeito de inibição (27,5%) para o diol (11) e efeito de indução do crescimento radicular para o álcool (8). Em trabalho anterior¹¹, o efeito dos compostos (8) e (11) foi avaliado sobre essas mesmas plantas em um ensaio biológico mais simples (papel de filtro). Foram observados resultados diferentes em relação aos resultados aqui

Tabela 1. Efeito dos compostos 8, 11, 15, 16, 17 e 19, na concentração de 5,5 ppm, sobre o desenvolvimento do sistema radicular de *Sorghum bicolor* L. e *Cucumis sativus* L., 48 h após a semeadura

Tratamentos	<i>S. bicolor</i>		<i>C. sativus</i>	
	Comprimento das raízes/cm*	% inibição	Comprimento das raízes / cm*	% inibição
Controle	7,15 a	0,0	5,41 ab	0,0
8	6,45 a	9,8	6,06 a	-12,0
11	6,58 a	8,0	3,92 b	27,5
15	6,84 a	4,3	4,40 b	18,7
16	6,56 a	8,2	4,80 ab	11,3
17	6,29 a	1,4	4,33 b	20,0
19	6,67 a	6,7	4,43 b	18,1

*Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Efeito dos compostos 8, 11, 15, 16 e 19, na concentração de 5,5 ppm, sobre o acúmulo de biomassa seca da parte aérea e das raízes de *Sorghum bicolor* L. e *Cucumis sativus* L., 15 dias após a semeadura

Tratamentos	<i>S. bicolor</i>				<i>C. sativus</i>			
	Parte aérea		Raiz		Parte aérea		Raiz	
	Massa/g*	% inibição	Massa/g*	% inibição	Massa/g*	% inibição	Massa/g*	% inibição
Controle	0,068 a	0,0	0,036 a	0,0	0,058 ab	0,0	0,015 ab	0,0
8	0,053 b	22,1	0,029 ab	19,4	0,046 ab	20,7	0,014 ab	6,7
11	0,062 ab	8,8	0,028 ab	22,2	0,053 ab	8,6	0,011 ab	26,7
15	0,060 ab	11,8	0,025 ab	30,5	0,041 b	29,3	0,009 b	40,0
16	0,062 ab	8,8	0,033 ab	8,3	0,053 ab	8,6	0,011 ab	26,7
19	0,055 ab	19,1	0,023 ab	36,1	0,056 ab	3,4	0,016 ab	-6,7

*Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Efeito dos compostos 8, 11, 15, 16 e 19, na concentração de 5,5 ppm, sobre o acúmulo de biomassa seca da parte aérea e raízes de *Brachiaria decumbens* Stapf. e *Desmodium tortuosum* (Sw.) DC., 15 dias após a semeadura

Tratamentos	<i>B. decumbens</i>				<i>D. tortuosum</i>			
	Parte aérea		Raiz		Parte aérea		Raiz	
	Massa/g*	% inibição	Massa/g*	% inibição	Massa/g*	% inibição	Massa/g*	% inibição
Controle	0,022 a	0,0	0,0097 a	0,0	0,0075 a	0,0	0,0025 a	0,0
8	0,018 b	18,2	0,0078 ab	19,6	0,0046 b	37,8	0,0011 bc	56,0
11	0,020 a	0	0,0082 ab	15,5	0,0050 b	32,4	0,0007 bc	72,0
15	0,013 b	40,9	0,0042 b	56,7	0,0042 b	43,2	0,0006 c	76,0
16	0,019 ab	13,1	0,0087 ab	10,3	0,0040 b	45,9	0,0008 bc	68,0
19	0,023 a	-4,5	0,0065 ab	33,0	0,0051 b	31,1	0,0009 bc	64,0

*Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

descritos. Anteriormente, o composto (**8**), na concentração de 100 ppm, causou 35% de inibição sobre o crescimento radicular de *S. bicolor* e estímulo de 14% sobre o desenvolvimento do sistema radicular de *C. sativum*. Nessa mesma concentração, o composto (**11**) causou 56% de inibição sobre o crescimento radicular de *S. bicolor* e estímulo de 15% sobre o desenvolvimento do sistema radicular de *C. sativum*. Diante dos resultados preliminares alcançados nesse trabalho, buscou-se avaliar, então, a ação dos compostos sobre o desenvolvimento total da planta. Nesse experimento o potencial herbicida foi avaliado em função da percentagem de inibição do sistema radicular e da parte aérea representados pela biomassa seca.

Nos ensaios com *S. bicolor* a maior taxa de inibição da parte aérea (22,1%) foi observada para o álcool (**8**) (Tabela 2). Os demais compostos apresentaram valores inferiores a 12% de inibição. Ao se analisar os resultados obtidos com a raiz (Tabela 2) notou-se aumento nos índices de inibição, sendo o efeito mais pronunciado para os compostos (**15**) (30,5%) e (**19**) (36,1%). O diol (**15**), juntamente com o álcool (**8**), foram os compostos que apresentaram maior efeito de inibição sobre a parte aérea de *C. sativum*, sendo observadas taxas de inibição de 29,3 e 20,7%, respectivamente (Tabela 2). Os resultados obtidos com a raiz mostraram efeito máximo de inibição (40%) para o diol (**15**) e para o ácido (**19**) observou-se efeito de indução sobre o crescimento (6,7%).

Os compostos (**8**), (**15**) e (**19**) foram os que apresentaram maior ação herbicida sobre *B. decumbens* (Tabela 3). Foi observado sobre a parte aérea inibição de 40,9% para o diol (**15**), 18,2% para o álcool (**8**) e efeito de indução sobre o crescimento (4,5%) para o ácido (**19**). A maior taxa de inibição (56,7%) sobre o sistema radicular foi encontrada para o diol (**15**), seguindo-se o ácido (**19**) (33%) e o álcool (**8**) (19,6%).

Quanto à atividade fitotóxica dos derivados helmintosporícos sintetizados sobre *D. tortuosum* observou-se efeito inibitório sobre a parte aérea variando de 31,1%, no caso do ácido (**19**), a 45,9% com o aldeído (**16**). Melhoria acentuada na inibição ocorreu sobre o sistema radicular, onde todos os compostos apresentaram percentuais de inibição superiores a 50%. A maior inibição (76%) foi observada para o diol (**15**). Considerando que *D. tortuosum* é uma das espécies de plantas daninhas de difícil controle na cultura da soja²², e também a importância da soja na economia mundial, esses resultados tornam-se bastante relevantes. A fitotoxicidade desses compostos foi, também, constatada nos ensaios com *C. sativus* e *B. decumbens*. O maior efeito foi observado com *B. decumbens*, pois ocorreu redução no porte das plantas, bem como encurtamento e diminuição do número de raízes secundárias. No caso do *C. sativus* foi observado clorose (amarelecimento) das folhas.

CONCLUSÃO

Os compostos sintetizados foram obtidos a partir da reação de cicloadição [3+4] entre o 3-hidroximetil-2-metilfurano (**12**) e a 1,1,3,3-tetrabromo-4-metilpentan-2-ona (**13**), em um total de quatro etapas. Os compostos (**8**), (**11**), (**15**), (**16**) (**17**) e (**19**) apresentaram baixo potencial fitotóxico sobre o crescimento do sistema radicular

de *S. bicolor* e de *C. sativus*. Os resultados variaram de indução ao crescimento (12%), no caso do álcool (**8**), à inibição (27,5%) com o diol (**11**). Verificou-se, também, que os compostos (**8**), (**11**), (**15**), (**16**) e (**19**) causaram inibição no desenvolvimento total das espécies *B. decumbens* e *D. tortuosum*, indicando possibilidade para desenvolvimento de um novo herbicida. As maiores taxas de inibição sobre o crescimento (acúmulo de matéria seca) da parte aérea e da raiz foram proporcionados pelo diol (**15**) com inibições de 76,0 e 43,2% sobre *D. tortuosum*, e 56,7 e 40,9% para a *B. decumbens*, respectivamente, para a parte radicular e aérea dessas espécies.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo (PSS) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de pesquisa (A. J. Demuner e L. C. A. Barbosa) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Copping, L. G.; *Crop Protection Agents From Nature, Natural Products and Analogues*, SCI: London, 1996, p. 501.
- Godfrey, C. R. A.; *Agrochemicals From Natural Products*, 2nd ed., Marcel Dekker: New York, 1994, p. 418.
- Briquet, M.; Vilret, D.; Goblet, P.; Mesa, M.; Eloy, M. C.; *J. Bioenerg. Biomb.* **1978**, *30*, 285.
- Corey, E. J.; Nozoe, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5728.
- Sakurai, A.; Tamura, S.; *Agric. Biol. Chem.* **1965**, *29*, 407.
- Cutler, H. G.; Crumley, F. G.; Cox, R. H.; Davis, E. E.; Harper, J. L.; Cole, R. J.; Summer, D. R.; *J. Agric. Food Chem.* **1982**, *30*, 658.
- Kim, B. T.; Soh, C. H.; Murofushi, N.; Yoshida, S.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1847.
- Turner, J. V.; Anderson, B. F.; Mander, L. N.; *Aust. J. Chem.* **1980**, *33*, 1061.
- Mander, L. N.; Prager, R. H.; Turner, J. V.; *Aust. J. Chem.* **1974**, *27*, 2645.
- Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Borges, E. E. L.; Mann, J.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1997**, *8*, 19.
- Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; Piló-Veloso, D.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1173.
- Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; Piló-Veloso, D.; *Quim. Nova* **1997**, *20*, 18.
- Perrin, D. D.; Armarego, W. L.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Butterworth-Heinemann Ltd.: Londres, 1988, p. 340.
- Gomes, F. P.; *Curso de Estatística Experimental*, 3^a ed., Nobel: Piracicaba, 1990, p. 404.
- Parker, C.; *Weed Research* **1965**, *5*, 181.
- Andreão, A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 1998.
- Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Borges, E. E. L.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 203.
- Mann, J.; Holland, J. H.; *Tetrahedron* **1987**, *43*, 2533.
- Mancuso, A. J.; Huang, S. L.; Swern, D.; *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480.
- Trost, B. M.; Fleming, I.; *Comprehensive Organic Synthesis – Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry*, 2nd ed., Pergamon Press: Oxford, 1993, cap. 2.
- Baker, W. R.; Coates, R. M.; *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1022.
- Lorenzi, H.; *Manual de Identificação e Controle de Plantas Daninhas*, 5^a ed., Plantarum: Nova Odessa, 2000, p. 339.