

VÍVIAN HELENE DINIZ ARAÚJO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES FITOTÓXICA E ANTIFÚNGICA DE
ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO 4-HIDROXIFENILACÉTICO**

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

Orientador: Eduardo Vinícius Vieira Varejão

Coorientador: Cleiton Moreira da Silva

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

VÍVIAN HELENE DINIZ ARAÚJO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES FITOTÓXICA E ANTIFÚNGICA DE
ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO 4-HIDROXIFENILACÉTICO**

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

APROVADA:

Vívian Helene Diniz Araújo
Autor

Eduardo Vinícius Vieira Varejão
Orientador

Dedico este trabalho à minha mãe Lourdes e ao meu pai Jairo que com todo amor e confiança estiveram ao meu lado e fizeram de tudo para que este sonho fosse alcançado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e à meu anjo da guarda, por me proporcionarem saúde e perseverança nesta etapa tão importante da minha vida.

Agradeço aos meus pais, que tanto amo. Sem o apoio de vocês, não conseguiria ter concluído esta etapa! Obrigada por tudo, principalmente, por acreditarem nos meus sonhos e na minha profissão.

Agradeço ao meu noivo, Lucas, por tudo que vivemos juntos. Obrigada por sempre incentivar meus projetos e estar ao meu lado, na alegria e nas dificuldades. Agradeço a Deus por ter você ao meu lado, inclusive na pós-graduação, e pela oportunidade de partilhar uma vida junto a você! Agradeço também ao nosso(a) bebê, que ainda tão pequenino dentro de mim, já me transmite coragem e força para viver todos os momentos!

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais pela oportunidade de cursar o mestrado.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo apoio financeiro.

Agradeço ao meu orientador, professor Eduardo, por ter confiado em mim este trabalho, até mesmo a distância como foi o primeiro semestre, e me dar a oportunidade de estar aqui. Obrigada pelos ensinamentos, pela paciência e pela ajuda! Carregarei sempre comigo tudo que aprendi nesses dois anos!

Agradeço ao professor Cleiton, da UFMG, pela ajuda e disposição em realizar nossos espectros de RMN.

Agradeço ao Bruno e ao professor Robert por realizar nossos testes de inibição por contato e antifúngico.

Agradeço a todos os meus professores da UFV-Viçosa que me ajudaram durante estes dois anos e também a todos os meus professores da UFV-Florestal, em especial, ao professor Leandro e à professora Juliana, pela ajuda e incentivo que me deram para tentar o processo seletivo para o mestrado.

Agradeço a todos os meus amigos do LASA, que sorte eu tive de trabalhar neste laboratório! Ueveton, agradeço pela sua amizade, por toda a ajuda, dicas e conselhos que me deu. Cris, obrigada por dividir comigo mais que a capela, mas sua amizade. Bianca, agradeço sua amizade, os tropeiros e por realizar nossos testes

antioxidante e de inibição da enzima acetilcolinesterase! Gabi, Liss, Dayzinha e Lorena agradeço pela amizade, companheirismo, ajuda e risadas que demos juntas no decorrer do nosso trabalho. Biny, Adilson, Vini, Renan, Lucas, Bryan e Fabi, agradeço por serem esses grandes amigos que me acolheram e me tornaram a Vivis, obrigada pela ajuda imensa, conversas, desabafos, passeios e incentivos! Vou sentir saudade de todos vocês, estarão sempre no meu coração!

Agradeço a todos os técnicos que me ajudaram neste trabalho, em especial ao Zé Luiz, por toda a ajuda nestes anos.

Agradeço as estagiárias do professor Eduardo, em especial à Débora e a Letícia, pela preocupação e disposição em sempre me ajudar no que podiam.

Agradeço a toda minha família que sempre torceu e se preocupou comigo, amo cada um de vocês. Agradeço de modo especial à tia Fatinha, tia Isa e tio Antônio, pelo amor que tem por mim. À meus avós, pelo incentivo, e aos meus primos-irmãos Vítor, Túlio, Marina e Rodolfo por cada palavra amiga e carinho. Agradeço ao meu primo Xandy, por ter dividido comigo seis meses dessa caminhada e ser um grande amigo.

Agradeço aos meus amigos-irmãos Júlia, Pat, Mari, Theus e Luis, por todas as conversas, risadas e companheirismo de toda uma vida, amo vocês. Obrigada por participarem ativamente de mais esse caminho, a presença de vocês tornou tudo mais leve!

Aos membros mais fofos da família, Caju e Nescau, agradeço por tornarem meus dias mais felizes, principalmente nos momentos de ansiedade.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente participaram deste projeto.

“Não é o que você faz, mas quanto amor você dedica no que faz que realmente importa”.
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

ARAÚJO, Vívian Helene Diniz, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES FITOTÓXICA E ANTIFÚNGICA DE ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO 4-HIDROXIFENILACÉTICO.** Orientador: Eduardo Vinícius Vieira Varejão. Coorientador: Cleiton Moreira da Silva.

O uso indiscriminado e repetitivo de herbicidas orgânicos sintéticos tem levado ao desenvolvimento de biótipos de plantas daninhas resistentes. Além disso, muitos dos compostos comercialmente disponíveis apresentam elevada ecotoxicidade, causando prejuízos ao meio ambiente e à saúde humana. Portanto, é de grande importância a busca por novos herbicidas capazes de atuar por novos mecanismos de ação e que apresentem melhores perfis toxicológicos. Uma das estratégias para o desenvolvimento de tais compostos consiste na descoberta de fitotoxinas naturais, produzidas por plantas e por microrganismos, e o uso dessas moléculas como modelo para a síntese de análogos. O 2-(4-hidroxifenil)etanol e o ácido 4-hidroxifenilacético são exemplos de compostos naturais fitotóxicos produzidos por fungos fitopatogênicos. Em trabalhos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa, foi verificado que o 2-(4-hidroxifenil)etanol apresenta-se como modelo promissor para o desenvolvimento de novos herbicidas para o controle de *Euphorbia heterophylla* L., uma das mais agressivas plantas daninhas de importantes culturas como soja e milho. Esse composto pode ser utilizado como material de partida para modificações em sua estrutura, a fim de se encontrar novas moléculas que possuam maior atividade fitotóxica. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi a síntese de ésteres derivados do ácido 4-hidroxifenilacético, que guarda estreita relação estrutural com o 2-(4-hidroxifenil)etanol, e avaliação dos compostos obtidos quanto a possíveis atividades biológicas de interesse agrícola como inibição da enzima acetilcolinesterase, fitotóxica e antifúngica. Foram sintetizados 19 ésteres com rendimentos entre 36 e 92%. Dentre estes, quatro ésteres produziram inibição de até 96 % do crescimento de plântulas. Além disso, sete compostos apresentaram elevadas atividades de inibição por contato contra folhas das espécies *Euphorbia heterophylla* L. e *Commelina benghalensis*, e um deles produziu excelente atividade contra os fungos *Rhizoctonia solani* e *Botrytis cinerea*, importantes fitopatógenos causadores de grandes prejuízos à agricultura.

Palavras-chave: Ácido 4-hidroxifenilacético; Tirosol; Ésteres; Herbicidas; Antifúngico.

ABSTRACT

ARAÚJO, Vívian Helene Diniz, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro, 2020. **Synthesis and characterization of esters derivate from 4-Hydroxyphenylacetic acid and analysis of their phytotoxic and antifungal activity.** Adviser: Eduardo Vinícius Vieira Varejão. Co-adviser: Cleiton Moreira da Silva.

The indiscriminate and repetitive use of synthetic organic herbicides has led to the development of resistant weed biotypes. Moreover, many compounds that are commercially available exhibit high ecotoxicity, which prejudice the environment and human health. Thus, the search for novel herbicides capable to act through new action mechanisms and to present better toxicological profiles is of great importance. One strategy on the development of such compounds consist in the search for natural phytotoxins, produced by plants and microorganisms, and the use of these molecules as model to the synthesis of analogues. 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol and 4-Hydroxyphenylacetic acid are examples of natural phytotoxic compounds produced by phytopathogenic fungi. In previous works conducted by our research group, it was observed that 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol is a promising model for the development of new herbicides towards controlling *Euphorbia heterophylla* L., one of the worst weed in important cultures such as soy and corn. This compound may be used as starting material to structural modifications in order to find new molecules with improved phytotoxic activities. Therefore, the objective of this work was the synthesis of esters from 4-Hydroxyphenylacetic acid, which has close structural relationship with 2-(4-hydroxyphenyl)ethanol, and the evaluation of possible biological activities of agricultural interest such as inhibition of acetylcholinesterase enzyme, phytotoxic, and antifungal activity. In this work, it was synthesized 19 esters with yields between 36 to 92 %. Four of them produced inhibition of up to 96 % of seedlings growing. Furthermore, seven compounds presented high toxicity on leaves of the weeds *Euphorbia heterophylla* L. and *Commelina benghalensis*. Also, one of the produced compounds showed excellent antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea*, important phytopathogens that causes high losses in agricultural.

.

Keywords: 4-Hydroxyphenylacetic acid; Tyrosol; Esters; Herbicides; Antifungal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas químicas dos compostos fitotóxicos tirosol, hidroxitirosol e ácido 4-(hidroxifenil)acético	16
Figura 2 – Espectro de massas (IE, 70 eV) obtido para o 3d	39
Figura 3 – Espectro de Infravermelho (FTIR-ATR) obtido para o 3d	41
Figura 4 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3d	43
Figura 5 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 3d	44
Figura 6 - Espectro de massas (IE, 70 eV) obtido para o 5e	46
Figura 7 - Espectro de Infravermelho (FTIR-ATR) obtido para o 5e	48
Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 5e	49
Figura 9 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 5e	51
Figura 10 - Espectro DEPT 135 de ^{13}C do 5e	52
Figura 11 - Estrutura dos ésteres 3a-f sintetizados a partir do ácido 4-(hidroxifenil)acético.....	53
Figura 12 - Letras <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> e <i>d</i> , referentes ao controle negativo de Pepino e Sorgo nos testes realizados com a primeira e segunda série de compostos sintetizados, respectivamente. Letras <i>e</i> e <i>f</i> , controles positivo de Sorgo e Pepino, utilizando-se Dual (herbicida comercial), realizados no teste fitotóxico da segunda série de compostos, respectivamente.....	54
Figura 13 - Estruturas químicas dos O-fenil éteres 5a-h ($\text{R}=\text{CH}_3$) derivados do composto 3e e 6a-e ($\text{R}=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) derivados do composto 3f	57
Figura 14 - Efeito do composto 5d à 1mmol/L (em triplicata) sobre plântulas de pepino.....	58
Figura 15 - Efeito de soluções do composto 5e nas concentrações 1; 0,5; 0,25 mmol/L sobre as sementes de pepino.....	58
Figura 16 - Folhas de <i>C. benghalensis</i> após a aplicação das soluções dos compostos 3a , 6e e 3e	64
Figura 17 - Folhas de <i>E. heterophylla</i> após a aplicação das soluções dos compostos 3c , 3b , 6c , 6e , 3f e 3a	65
Figura 18 - Atividade contra <i>Rhizoctonia</i> (Placa 2- Captan; 2 - 3a ; 3 - Acetona; 4 - Sem nenhuma solução).....	67

Figura 19 - Atividade contra <i>Botrytis</i> (Placa 2- Captan; 2 - 3a ; 3 - Acetona; 4 - Sem nenhuma solução).....	68
Figura 20 - Gráfico relativo à atividade antioxidante do controle positivo, BHT.....	70
Figura 21 - Gráfico da atividade antioxidante dos ésteres da primeira série.....	70

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Síntese dos ésteres 3a-f derivados do ácido 4-(hidroxifenil)acético...	18
Esquema 2 – Síntese dos ácidos 3,4-dimetoxicinâmico (4f) e tri-O-metilgálico (4g) a partir do ácido cafeico e gálico.....	23
Esquema 3 – Síntese de O-fenil ésteres a partir do 4-(hidroxifenil)etanoato de metila (3e) e do 4-(hidroxifenil)etanoato de butila (3f).....	24
Esquema 4 – Mecanismo proposto para a síntese de 3d catalisada por ácido p-toluenossulfônico.....	38
Esquema 5 – Mecanismo proposto para a síntese de 3e catalisada por ácido sulfúrico.....	38
Esquema 6 – Proposta de fragmentação para o 3d	40
Esquema 7 – Mecanismo proposto para a síntese do 5e	45
Esquema 8 – Proposta de fragmentação para o 5e	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeitos dos ésteres sintetizados a partir do ácido 4-hidroxifenilacético sobre o desenvolvimento das sementes de pepino.....	55
Tabela 2 - Efeitos dos ésteres sintetizados a partir do ácido 4-hidroxifenilacético sobre o desenvolvimento das sementes de sorgo.....	56
Tabela 3 - Efeitos dos ésteres da segunda série sobre o desenvolvimento das sementes de pepino.....	59
Tabela 4 - Efeitos dos ésteres da segunda série sobre o desenvolvimento das sementes de sorgo.....	61

Tabela 5 - Diâmetro médio das lesões (mm) causadas sobre folhas de *E.heterophylla* e *C. benghalensis*.....63

Tabela 6 - Halo de crescimento micelial (mm) das colônias de *Rhizoctonia solani* e *Botrytis cinerea* tratadas com soluções a 10 mmol/L dos compostos teste.....66

Tabela 7 - Resultado dos testes de atividade inibidora da acetilcolinesterase.....71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AChE	acetilcolinesterase
CCD	cromatografia em camada delgada
CG/EM	cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
DCC	<i>N,N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DMAP	dimetilaminopiridina
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
FTIR-ATR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Refletância Total Atenuada
Hex:AcOEt	Hexano e Acetato de Etila
HPA	Ácido <i>p</i> -hidroxifenilacético
HPLC	High performance liquid chromatography
PTSA	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
<i>s</i>	simpleto
<i>d</i>	duplete
<i>dd</i>	duplo duplete
<i>ddd</i>	duplo duplete duplo
<i>t</i>	triplete
<i>tt</i>	triplo triplete
<i>dt</i>	duplo triplete
<i>q</i>	quinteto
<i>se</i>	sexteto
LASA	Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos
eV	eletronvolts
<i>h</i>	horas
nm	nanômetros
mL	mililitros
μL	microlitros
μg	microgramas
mmol	milimols
μmol	micromols

IV	infravermelho
Hz	Hertz
MHz	Megahertz
kHz	kilohertz
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
P.t.	Prototropismo
p.a.	para análise
Rf	Fator de retenção
v/v	volume por volume
m/z	Razão massa/carga
δ	Deslocamento químico
T.A.	Temperatura ambiente
BDA	Batata-dextrose-ágar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	155
2.MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.1. Procedimentos Químicos Gerais.....	17
2.2. Procedimentos Sintéticos.....	18
2.3. Atividades Biológicas.....	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.1. Procedimentos Sintéticos.....	37
3.2. Atividades Biológicas.....	53
4. CONCLUSÕES	72
5. REFERÊNCIAS.....	73
APÊNDICE	76

1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas constituem uma das principais causas de perdas na agricultura e, apesar de novas formas de controle das mesmas visando a não utilização de produtos químicos ter progredido nos últimos anos, os herbicidas continuam sendo os mais utilizados para controlá-las (MARCHI, 2008; VURRO *et al.*, 2018).

O uso de bioherbicidas, aqueles nos quais um inimigo natural da planta daninha é utilizado para controlar seu crescimento, é um caminho para que sejam encontrados compostos que agridam menos o meio ambiente e que não causem efeitos maléficos a organismos não-alvos (HALLET, 2005; MARCHI, 2008).

Fungos fitopatogênicos de plantas estão entre as fontes de possíveis bioherbicidas, pois as fitotoxinas produzidas por estes possuem estruturas diversificadas e atividades biológicas promissoras. Como destacado por Vurro *et al.* (2018), estas toxinas também possuem potencial para:

“i) aplicação direta como herbicidas naturais; ii) utilização como compostos base para a síntese de novos herbicidas; iii) exploração como material de partida para subseqüentes modificações química ou microbiológica; iv) descoberta de novos modos de ação” (p. 269, tradução livre da autora).

Alguns dos membros pertencentes ao gênero fúngico *Alternaria* vêm sendo pesquisados por apresentarem patogenicidade, sendo uma das importantes aplicações possíveis das fitotoxinas produzidas pelo gênero, o uso no desenvolvimento de linhagens de plantas mais resistentes à doenças (GAMBOA-ÂNGULO *et al.*, 2000). As fitotoxinas produzidas por este grupo possuem propriedades diversas como antimicrobiana, fitotóxica e citotóxica, sendo esses metabólitos categorizados como terpenóides, compostos contendo nitrogênio, esteroides, compostos fenólicos, entre outros (LOU *et al.*, 2013).

Um exemplo da pesquisa sobre o potencial fitotóxico de compostos fenólicos presentes no gênero *Alternaria* é apresentado no trabalho de Varejão (2012), que tinha por objetivo investigar as fitotoxinas produzidas pela espécie fúngica *Alternaria euphorbiicola*, a fim de terem possível utilização como herbicidas ou servirem de base para a síntese de compostos análogos. O 2-(4-hidroxifenil)etanol, também conhecido como tirosol, foi um dos compostos fitotóxicos isolados a partir do fungo, tendo apresentado fitotoxicidade seletiva contra a espécie daninha *Euphorbia heterophylla*. Entretanto, as concentrações observadas para a ação do composto sobre a planta

eram relativamente altas para que o composto pudesse ser utilizado diretamente na agricultura.

Interessantemente, outro fator que torna esse composto atraente como modelo para a síntese de compostos análogos em busca de novos herbicidas são seus reconhecidos efeitos benéficos à saúde humana. O 2-(4-hidroxifenil)etanol e compostos similares, como o 2-(3,4-dihidroxifenil)etanol (hidroxitirosol) estão entre os principais compostos fenólicos presentes no azeite de oliva, tendo comprovadas atividades terapêuticas como antioxidante, antilipêmica, cardioprotetora e antitumoral (WIDMER *et al.*, 2012; COVAS *et al.*, 2006; VISSERS *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2015).

Relativo à ação fitotóxica, Capasso *et al.* (1992) estudaram os efeitos fitotóxicos prejudiciais que estavam sendo causados na agricultura por águas residuais de fábricas de azeite de oliva e verificaram que ésteres de compostos fenólicos, incluindo do tirosol, apresentaram o mesmo comportamento fitotóxico que os seus compostos de origem, o que sugere a ocorrência de uma hidrólise enzimática dentro da planta.

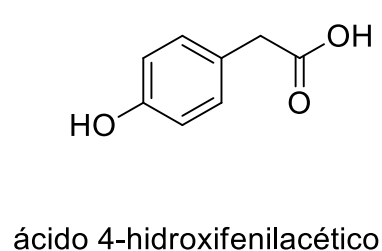
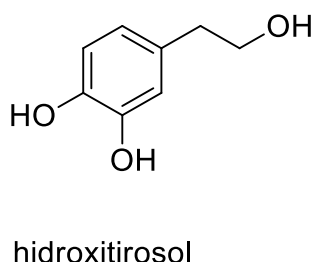
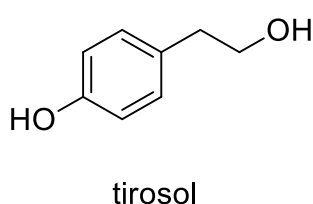


Figura 1: Estruturas químicas dos compostos fitotóxicos tirosol, hidroxitirosol e ácido 4-hidroxifenilacético

Com relação à atividade antioxidante, Zhou *et al.* (2017) consideram que, embora o tirosol e hidroxitirosol apresentem diversificados benefícios, os mesmos ainda são pouco utilizados na indústria como antioxidantes, o que, segundo os autores, se deve ao elevado caráter hidrofílico e pouca solubilidade em meios lipofílicos. Ainda segundo os autores, uma das soluções seria a utilização de análogos dos mesmos, como ésteres, a fim de aumentar a lipofilicidade.

Assim, o presente trabalho teve como principal objetivo a síntese e caracterização de ésteres derivados do ácido 4-hidroxifenilacético, precursor biossintético do tirosol, e avaliação das atividades de inibição da enzima acetilcolinesterase, atividade fitotóxica e atividade antifúngica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Procedimentos Químicos Gerais

Todos os solventes utilizados foram grau analítico, previamente purificados ou secados para serem utilizados nos procedimentos sintéticos, segundo metodologias descritas em Armarego e Perrin (1996).

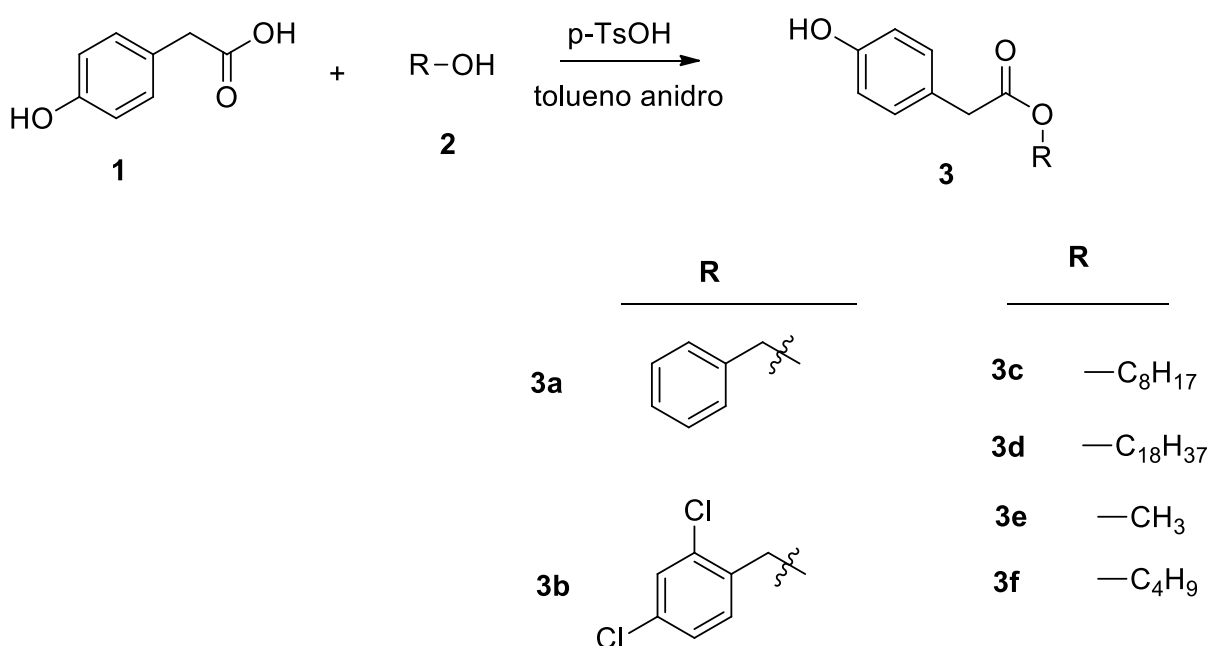
Para realizar-se as análises de cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas placas de sílica gel 60 G-F254 de 0,25 mm de espessura, que foram reveladas em câmara de luz Ultravioleta e em seguida, em solução de vanilina ou permanganato de potássio. Para a preparação de 50 mL de solução de vanilina foram utilizados 50 mL de etanol, 500 mg de vanilina e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Já para a preparação da solução de permanganato de potássio, 20 gramas de carbonato de potássio foram dissolvidos em 30 mL de água destilada, sendo adicionados em seguida 5 mL de solução de hidróxido de sódio 5 % (m/v) e, por fim, 3 gramas de permanganato de potássio. A mistura foi aquecida até completa solubilização e, após resfriada, armazenada em frasco próprio.

Para a determinação das temperaturas de fusão dos compostos sintetizados foram-se utilizados dois aparelhos MQAPF-302. O espectrômetro VARIAN 660-IR com acessório PIKE Gladi ATR foi utilizado para a obtenção dos espectros de infravermelho. Já para os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono foi-se utilizado o espectrômetro BRUCKER 400 MHz, do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, utilizando-se clorofórmio deuterado como solvente. Estes espectros foram referenciados utilizando-se os sinais residuais dos solventes e os deslocamentos químicos (δ) expressos em partes por milhão (ppm). Os espectros de massas dos compostos foram obtidos através do equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A equipado com coluna capilar RTx5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 μ m), operando pelo método por impacto de elétrons (70 eV); modo scan, m/z 30,00 a 700,00; temperatura do injetor e detector em 290 °C; fluxo do gás de arraste (He) em 1 mL/min; com temperatura inicial de 40 °C por 5 minutos e gradiente de 20 °C/min até 300 °C; volume de amostra de 1,0 μ L com razão de Split 1:3, na concentração de 1 mg/mL em diclorometano (CH_2Cl_2).

2.2. Procedimentos sintéticos

2.2.1 Síntese de ésteres 4-hidroxifenilacetato de alquila

O ácido 4-hidroxifenilacético (**1**) foi submetido a reações de esterificação usando diferentes álcoois (**2**) para a síntese dos ésteres **3a-f** conforme ilustrado no esquema 1. Os ésteres **3a-d** foram sintetizados utilizando-se uma metodologia reportada por Kamiyama *et al.* (2016), mas usando-se tolueno como solvente em substituição ao benzeno.



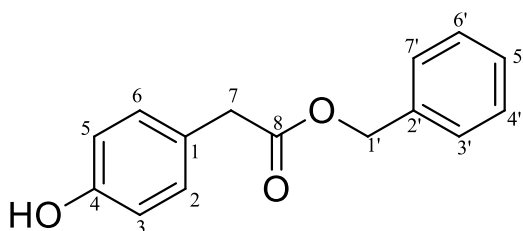
Esquema 1: Síntese dos ésteres **3a-f** derivados do ácido 4-hidroxifenilacético

1 mmol do ácido 4-hidroxifenilacético (**1**), o ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TsOH) (0,1 equiv.) e 5 mL de tolueno anidro foram transferidos para um balão de fundo redondo bitubulado acoplado ao aparelho de Dean-Stark. A mistura foi submetida a agitação magnética por 10 minutos em temperatura ambiente seguida por adição de 1,0 equiv. do álcool [álcool benzílico, (2,4-diclorofenil)benzílico, octanol e octadecanol] previamente dissolvido em 1 mL de tolueno anidro. A mistura reacional foi mantida sob agitação em refluxo por 6 horas. Após o término da reação, monitorada por CCD, o tolueno foi removido em evaporador rotativo. Ao material obtido foram adicionados cerca de 3 mL de diclorometano (DCM) e a mistura foi submetida a filtração para remoção do catalisador e o filtrado foi concentrado em evaporador rotativo. O composto **3d** foi obtido sem necessidade de etapas adicionais de purificação. Os

compostos **3a**, **3b** e **3c** foram obtidos após cromatografia em coluna de sílica-gel utilizando como fases móveis misturas Hex:AcOEt 2:1, 4:1 e 4:1 (v/v), respectivamente.

Os ésteres **3e** e **3f** foram sintetizados utilizando-se metodologia reportada por Kolaczowski *et al.* (2016). Para tal, 1 mmol do ácido 4-hidroxifenilacético, 4 mL de metanol (**2e**) ou butan-1-ol (**2f**) e 0,2 mmol de ácido sulfúrico 98% (m/m) foram transferidos para balão de fundo redondo e a mistura foi mantida sob refluxo por 6 horas. O término da reação foi verificado por CCD. A solução foi concentrada em evaporador rotativo, o material obtido foi diluído em cerca de 15 mL de acetato de etila e a solução foi lavada com solução salina (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e então concentrada em evaporador rotativo, levando à obtenção dos compostos **3e** e **3f**.

(4-hidroxifenil)etanoato de benzila (3a):



Característica: sólido branco

Rendimento: 46%

Temperatura de fusão: 78,5 °C – 80,5 °C

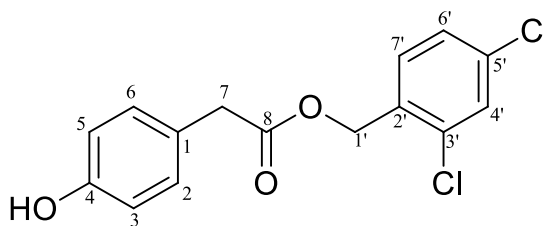
CCD: R_f = 0,61 [Hex:AcOEt 2:1 (v/v)]

FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 3365; 3038; 2919; 1707; 1518; 1218; 1163; 971; 748.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,34 (m; 5H; H3'/H4'/H5'/H6'/H7'); 7,12 (d; J=8,51 Hz; 2H; H2/H6); 6,74 (d; J=8,51 Hz; 2H; H3/H5); 5,57 (s; 1H; OH); 3,14 (s; 2H; H1'); 3,61 (s; 2H; H7).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172 (C8); 155 (C4); 136 (C2'); 130 (C2/C6); 129 (C4'/C6'); 128 (C5'); 128 (C3'/C7'); 126 (C1); 116 (C3/C5); 67 (C1'); 40 (C7).

EM, m/z (%): 242 ([M⁺]); 107 (100); 91 (45).

(4-hidroxifenil)etanoato de 2,4-diclorobenzila (3b)

Característica: sólido branco

Rendimento: 70 %

Temperatura de fusão: 57,3 °C – 59,5 °C

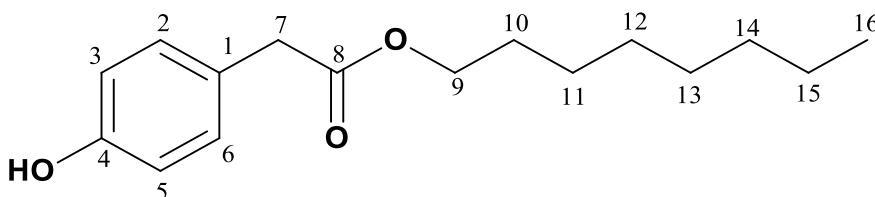
CCD: Rf= 0,38 [Hex:AcOEt 8:2 (v/v)]

FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 3316; 2922; 1693; 1517; 1211; 1130; 974; 790.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,39 (d; J=1,93 Hz; 1H; H4'); 7,23 (s; 1H; H7'); 7,20 (dd; J=14 Hz; 1H; H6'); 7,13 (m; 2H; H2/H6); 6,76 (m; 2H; H3/H5); 5,40 (s; 1H; OH); 5,19 (s; 2H; H1'); 3,62 (s; 2H; H7).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172 (C8); 155 (C4); 135 (C3'); 134 (C5'); 132 (C2'); 131 (C1); 131 (C2/C6); 130 (C4'); 127 (C7'); 126 (C6'); 116 (C3/C5); 64 (C1'); 41 (C7).

EM, m/z (%): 310 ([M⁺]); 207 (1,32); 159 (9); 107 (100).

(4-hidroxifenil)etanoato de octila (3c)

Característica: líquido branco

Rendimento: 80 %

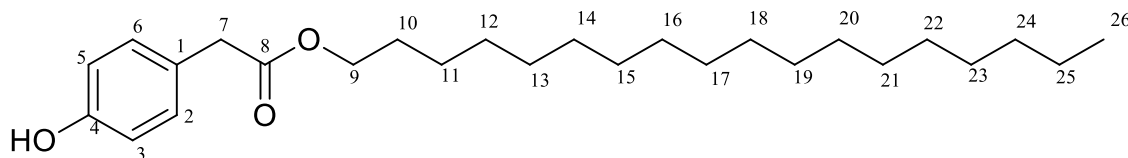
CCD: Rf=0,5 [Hex:AcOEt 4:1 (v/v)]

FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 3397; 2929; 1707; 1517; 1218; 1136; 1001; 804.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): em execução.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: em execução.

EM, m/z (%): 264 ([M⁺]); 152 (62); 107 (100).

(4-hidroxifenil)etanoato de octadecanila (3d)

Característica: sólido branco

Rendimento: 54 %

Temperatura de fusão: 62 – 62,6°C

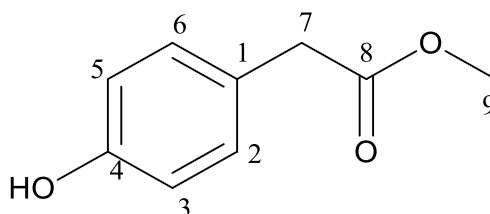
CCD: Rf= 0,63 [Hex:AcOEt 7:3 (v/v)]

FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 3370; 2915; 2847; 1727; 1517; 1218; 1157; 729.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,11 (d; J= 8,5 Hz; 2H; H2 e H6); 6,74 (d; J= 8 Hz; 2H; H3 e H5); 4,73 (s; 1H; OH); 4,08 (t; J= 6,7 Hz; 2H; H9); 3,54 (s; 2H; H7); 1,61 (q; J= 6,8 Hz; 2H; H10); 1,26 (s; 30H; H11 – H25); 0,88 (t; J= 6,7 Hz; 2H; H26).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 173 (C8); 155 (C4); 130 (C2/C6); 126 (C1); 115 (C3/C5); 65 (C9); 41 (C7); 32 – 26 (C10 – C25); 23 (C26).

EM, m/z (%): 404 ([M⁺]); 297 (3); 152 (28); 107 (100).

(4-hidroxifenil)etanoato de metila (3e)

Característica: líquido amarronzado

Rendimento: 83 %

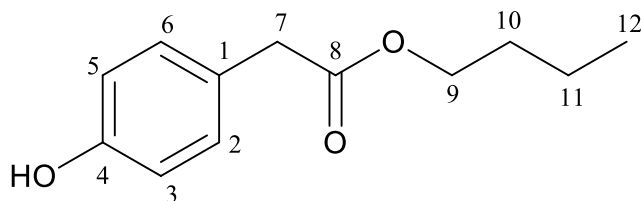
CCD: Rf=0,46 [Hex:AcOEt 7:3 (v/v)]

FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 3377; 2949; 1707; 1510; 1225; 1150; 1001; 824.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,1 (d; J=8 Hz; 2H; H2/H6); 6,74 (d; J=8 Hz; 2H; H3/H5); 3,70 (s; 3H; H9); 3,56 (s; 2H; H7).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 173 (C8); 155 (C4); 130 (C2/C6); 126 (C1); 115 (C3/C5); 52 (C9); 40 (C7).

EM, m/z (%): 166 ([M⁺]; 12); 107 (100).

(4-hidroxifenil)etanoato de butila (3f)

Característica: líquido amarronzado

Rendimento: 92 %

CCD: R_f = 0,48 [Hex:AcOEt 7:3 (v/v)]

FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 3377; 2956; 1700; 1517; 1218; 1150; 797.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,90 (d; J=8,52 Hz; 2H; H₂/H₆); 6,73 (d; J=8,52 Hz; 2H; H₃/H₅); 4,10 (t; J=6 Hz; H₉); 3,54 (s; 2H; H₇); 1,60 (q; J= 11 Hz; 2H; H₁₀); 1,35 (se; J=18 Hz; 2H; H₁₁); 0,91 (t; J=7,36 Hz; 3H; H₁₂).

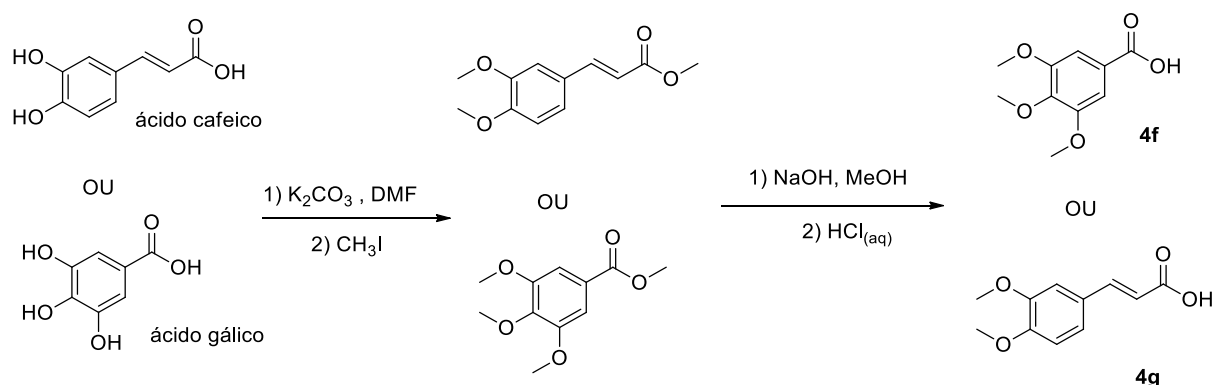
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 173 (C₈); 155 (C₄); 130 (C₂/C₆); 126 (C₁); 116 (C₃/C₅); 66 (C₉); 41 (C₇); 31 (C₁₀); 19 (C₁₁); 14 (C₁₂).

EM, m/z (%): 208 ([M⁺]; 31); 152 (14); 107 (100); 77 (21); 57 (35).

2.2.2 Síntese de O-fenil ésteres a partir de (4-hidroxifenil)etanoato (3e) de metila e 4(4-hidroxifenil)etanoato de butila (3f)

Os compostos **3c** e **3d** foram ainda submetidos a reações para esterificação de suas hidroxilas fenólicas com diferentes ácidos carboxílicos [ácido benzoico (**4a**); ácido cinâmico (**4b**); ácido nicotínico (**4c**); ácido 4-bromofenilacético (**4d**); ácido 4-clorofenilacético (**4e**), ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**) e ácido tri-O-metilgálico (**4g**)]. Os ácidos 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**) e tri-O-metilgálico (**4g**) foram previamente preparados a partir dos ácidos cafeico e gálico, respectivamente, utilizando metodologia proposta por Cohen *et al.* (1998), representada no esquema 2. Para tal, foram adicionados 5 mmol de ácido gálico ou cafeico e 40 mmol de carbonato de potássio anidro em um balão bitubulado de 25 mL. O balão foi conectado a um condensador e mantido sob atmosfera de nitrogênio. Foram adicionados 15 mL de dimetilformamida (DMF) e a mistura foi mantida sob refluxo e agitação por 20 minutos. Em seguida, 40 mmol de iodeto de metila foram adicionados à mistura reacional, que foi mantida por 3 horas sob agitação e refluxo. Ao término da reação, conforme

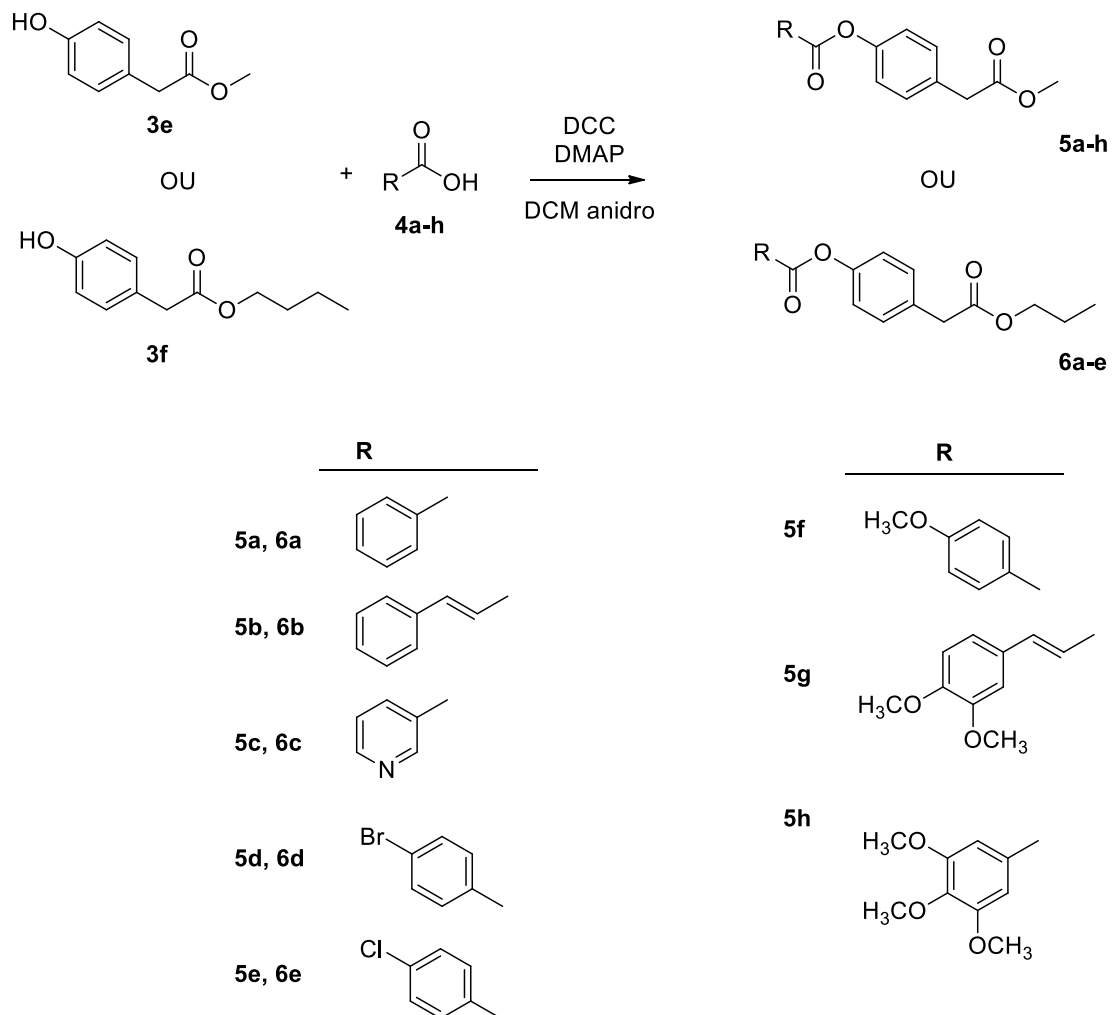
monitoramento por CCD, a mistura foi concentrada em evaporador rotativo. Foram adicionados cerca de 20 mL de acetato de etila, a fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 15 mL), seca sobre sulfato de magnésio anidro e concentrada em evaporador rotativo. Os produtos obtidos foram diretamente submetidos a etapa de hidrólise pela adição de 12 mL de metanol, 5 mL de solução de hidróxido de sódio 6 mol/L sob refluxo e atmosfera de nitrogênio por 3 horas. Ao final da reação, a mistura foi resfriada em banho de gelo e ácido clorídrico 2 mol/L foi vagarosamente adicionado até pH 1, levando à precipitação do produto desejado. As misturas foram filtradas à vácuo, os resíduos foram lavados com água destilada gelada e secos, sendo deixados em estufa por cerca de 8 horas e após deixados em dessecador, levando à obtenção dos aril éteres correspondentes com rendimentos de 59% e 71% (esquema 2).



Esquema 2. Síntese dos ácidos 3,4-dimetoxicinâmico (4f) e tri-O-metilgálico (4g) a partir do ácido cafeico e gálico.

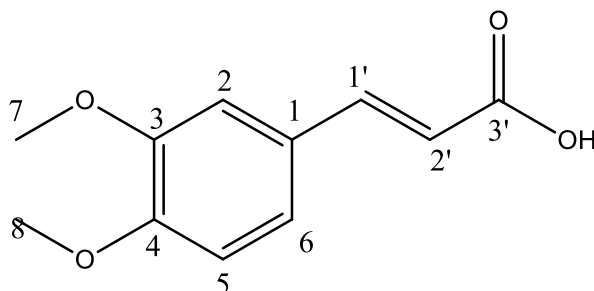
Os O-fenil ésteres **5a-h** e **6a-e** foram sintetizados a partir dos compostos **3e** e **3f**, respectivamente, empregando metodologia reportada por Taylor (2006), representada no esquema 3. Nessas reações, 1 mmol dos compostos **3e** ou **3f**, 1,1 mmol dos ácidos carboxílicos (**4a-g**), 1,1 mmol de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 0,25 equiv. de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) foram transferidos para um tubo de ensaio de fundo redondo e dissolvidos em 2 mL de diclorometano anidro. As reações foram mantidas em temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas. Após finalizada a reação (conforme monitoramento por CCD), as misturas reacionais foram submetidas a filtração e o solvente foi removido em evaporador rotativo. Os compostos **5a-f** e **6a-d** foram purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel utilizando diferentes misturas de Hexano:Acetato de etila, cujas proporções estão especificadas

na descrição da caracterização dos compostos apresentadas adiante. Os compostos **5g** e **5h** foram purificados por recristalização em hexano-diclorometano. O composto **6e** não necessitou de posterior purificação.



Esquema 3. Síntese de O-fenil ésteres a partir do (4-hidroxifenil)etanoato de metila (**3e**) e (4-hidroxifenil)etanoato de butila (**3f**)

Ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**)



Característica: Sólido bege

Rendimento: 71 %

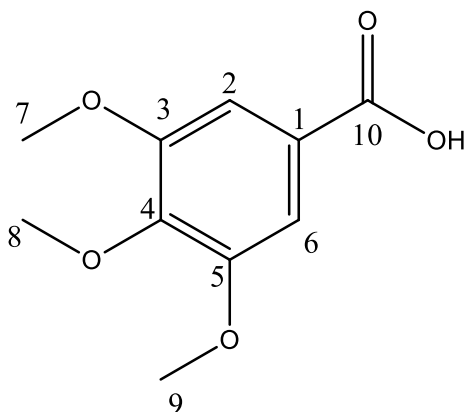
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3300 a 1750, 2996; 2961; 2837; 1676; 1516; 1236; 1138.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): 7,73 (d; $J = 15,98$ Hz; 1H; H1'); 7,11 (m; 1H; H5); 7,07 (s; 1H; H2); 6,88 (d, $J = 8,28$ Hz, 1H; H6); 6,32 (dd; $J = 1,12, 15,90$ Hz; 1H; H2'); 3,92 (s; 6H; H7/H8); 1,26 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 171 (C3'); 152 (C4); 149 (C3); 147 (C1'); 127 (C1); 123 (C5); 115 (C2); 111 (C6); 110 (C2'); 56 (C7); 55,94 (C8).

EM, m/z (%): 208 (100); 193 (23); 91 (92); 77 (41).

Ácido tri-*O*-metilgálico (4g)



Característica: Sólido branco.

Rendimento: 59 %.

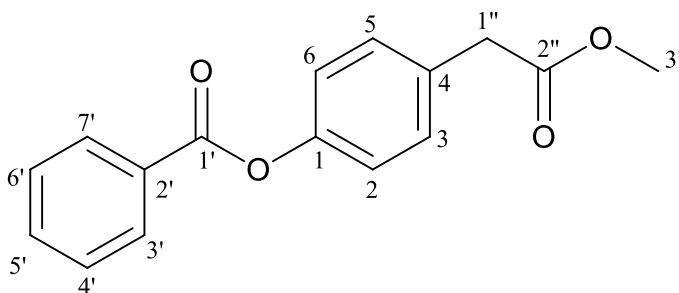
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3300 a 1750; 3017; 2933; 2961; 2834; 1676; 1578; 1118; 999.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): 7,37 (s; 2H; H2/H6); 3,92 (d; $J=2,32$; 9H; H7/H8/H9).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172 (C10); 153 (C3/C5); 143 (C4); 124 (C1); 107 (C2/C6); 61 (C8); 56 (C3/C5).

EM, m/z (%): 212 (100); 197 (60); 169 (12); 141 (28); 93 (29).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (5a)



Característica: sólido branco

Rendimento: 58 %

Temperatura de fusão: 53,5°C – 53,8°C

CCD: R_f=0,35 [Hex:AcOEt 4:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 5:1 (v/v)]

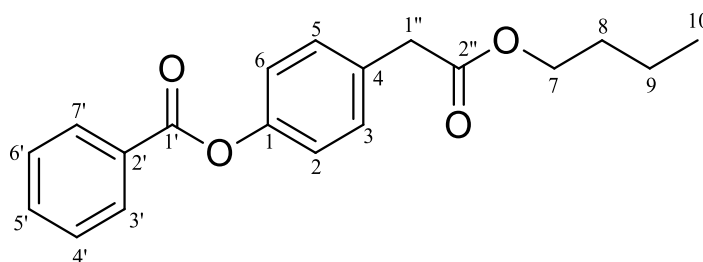
FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 3070; 2947; 1729; 1510; 1191; 1160; 702.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 8,20 (d; J= 8 Hz; 2H; H3' e H7'); 7,63 (tt; 1H; H5'); 7,51 (t; J= 8 Hz; 2H; H4' e H6'); 7,35 (d; J= 8 Hz; 2H; H3 e H5); 7,19 (d; J= 12 Hz; 2H; H2 e H6); 3,71 (s; 3H; OCH₃); 3,65 (s; 2H; H1'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172; 133; 131; 130,19; 130; 129; 128; 122; 52; 40.

EM, m/z (%): 271 ([M⁺]); 105 (100); 77 (37).

4-(2-butóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (6a)



Característica: sólido branco

Rendimento: 65 %

Temperatura de fusão: 40,6 °C – 40,9 °C

CCD: R_f=0,46 [Hex:AcOEt 6:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 8:1 (v/v)]

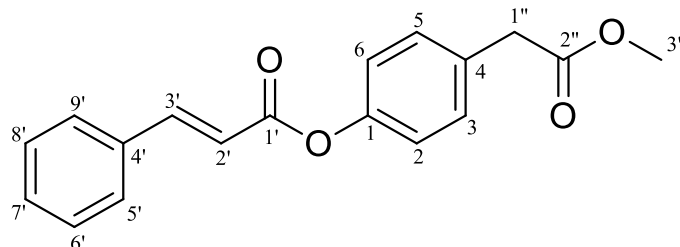
FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 2960; 2930; 1724; 1510; 1193; 1167; 1063; 702.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 8,20 (m; 2H; H3' e H7'); 7,63 (tt; 1H; H5'); 7,52 (m; 2H; H4' e H6'); 7,36 (d; J= 12 Hz; 2H; H3 e H5); 7,18 (d; J= 8 Hz; 2H; H2 e H6); 4,11 (t; J= 6,7 Hz; 2H; H7); 3,64 (s; 2H; H1''); 1,62 (m; 2H; H8); 1,37 (se; J= 14 Hz; 2H; H9); 0,93 (t; J= 7,4 Hz; 3H; H10).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172 (C2''); 165 (C1'); 150 (C1); 134 (C5'); 132 (C2); 131 (C3/C5); 130 (C3'/C7'); 130 (C4); 129 (C4'/C6'); 122 (C2/C6); 65 (C7); 41 (C1''); 31 (C8); 19 (C9); 14 (C10).

EM, m/z (%): 32 ($[M^+]$), 105 (100), 77 (21).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (5b)



Característica: sólido branco

Rendimento: 68 %

Temperatura de fusão: 78,5 °C – 79,5 °C

CCD: R_f = 0,37 [Hex:AcOEt 4:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 4:1 (v/v)]

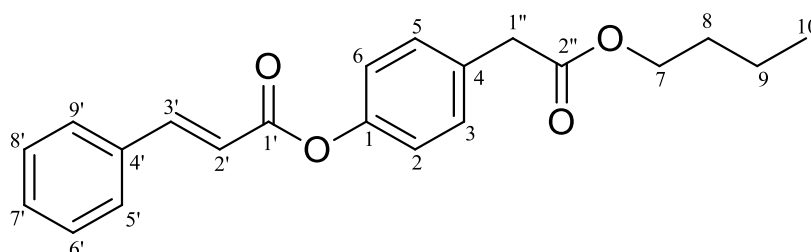
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3058; 2922; 2854; 1713; 1639; 1435; 1198; 1136; 987; 763.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): 7,90 (d; J = 16 Hz; 1H; H3'); 7,62 (dd; J = 6,8; 3 Hz; 2H; H5' e H9'); 7,47 (m; 3H; H6', H7' e H8'); 7,35 (d; J = 8 Hz; 2H; H3 e H5); 7,17 (d; J = 8 Hz; 2H; H2 e H6); 6,66 (d; J = 16 Hz; 1H; H2'); 3,73 (s; 3H; OCH_3); 3,66 (s; 2H; H1'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172 ($\text{C}2''$); 165 ($\text{C}1'$); 150 ($\text{C}1$); 147 ($\text{C}3'$); 134 ($\text{C}7'$); 131 ($\text{C}4'$); 131 ($\text{C}4$); 130 ($\text{C}3/\text{C}5$); 129 ($\text{C}5'/\text{C}9'$); 128 ($\text{C}6'/\text{C}8'$); 122 ($\text{C}2/\text{C}6$); 117 ($\text{C}2'$); 52 ($\text{C}1''$); 41 (OCH_3).

EM, m/z (%): 296 ($[M^+]$); 131 (100); 103 (20); 77 (23).

4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (6b)



Característica: sólido branco

Rendimento: 69 %

Temperatura de fusão: 64,4 °C – 66,2 °C

CCD: R_f = 0,53 [Hex:AcOEt 5:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 5:1 (v/v)]

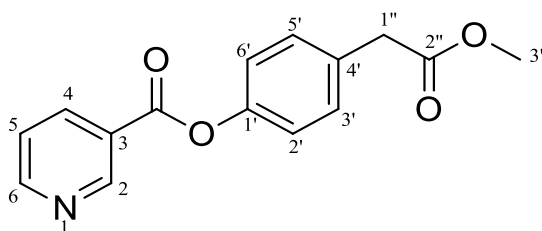
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3058; 2956; 2868; 1734; 1639; 1510; 1161; 1144; 985; 768.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): 7.87 (d; J = 16 Hz; 1H; H3'); 7,63 (m; 2H; H5' e H9'); 7,43 (m; 3H; H6', H7' e H8'); 7,33 (d; J = 8 Hz; 2H; H3 e H5); 7,14 (d; J = 8 Hz; 2H; H2 e H6); 6,63 (d; J = 16 Hz; 1H; H2'); 4,11 (t; J = 6,7 Hz; 2H; H7); 3,62 (s; 2H; H1''); 1,62 (q; J = 10 Hz; 2H; H8); 1,36 (se; J = 15 Hz; 2H; H9); 0,93 (t; J = 7,4 Hz; 3H; H10).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172 (C2''); 166 (C1'); 150 (C1); 147 (C3'); 134 (C7'); 132 (C4'); 131 (C4); 130 (C3/C5); 129 (C5'/C9'); 128 (C6'/C8'); 122 (C2/C6); 117 (C2'); 65 (C7); 41 (C1''); 31 (C8); 19 (C9); 14 (C10).

EM, m/z (%): 338 ($[\text{M}^+]$), 131 (100); 103 (17); 77 (16).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (5c)



Característica: sólido branco

Rendimento: 66 %

Temperatura de fusão: 61,4 °C – 63,4 °C

CCD: R_f = 0,28 [Hex:AcOEt 1:1 (v/v)]

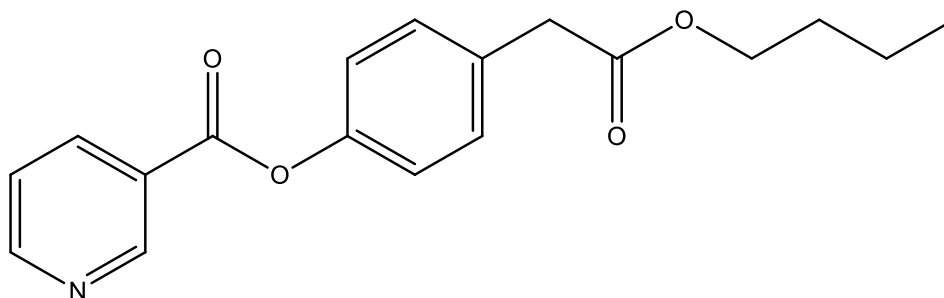
Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 3:1 (v/v)]

FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3424; 2949; 2155; 1727; 1585; 1510; 1272; 1157; 1076; 824; 729.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): 9,38 (dd; J = 2 Hz; 1H; H2); 8,85 (dd; J = 4,9; 1,8 Hz; 1H; H6); 8,44 (dt; J = 8,2 Hz; 1H; H4); 7,46 (ddd; J = 8,4; 4,9; 0,9 Hz; 1H; H5); 7,36 (d; J = 8,6 Hz; 2H; H3' e H5'); 7,9 (d; J = 8,6 Hz; 2H; H2' e H6'); 3,71 (s; 3H; OCH_3); 3,65 (s; 2H; H1'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172 (C2''); 164 (C7); 154 (C2); 152 (C6); 150 (C4); 138 (C5); 132 (C1'); 131 (C3'/C5'); 126 (C3); 124 (C4'); 122 (C2'/C6'); 57 (OCH_3); 41 (C1'').

EM, m/z (%): 271 ($[\text{M}^+]$), 106 (100), 78 (46).

4-(2-butóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (6c)

Característica: líquido esbranquiçado

Rendimento: 74 %

CCD: R_f= 0,22 [Hex:AcOEt 3:1 (v/v)]

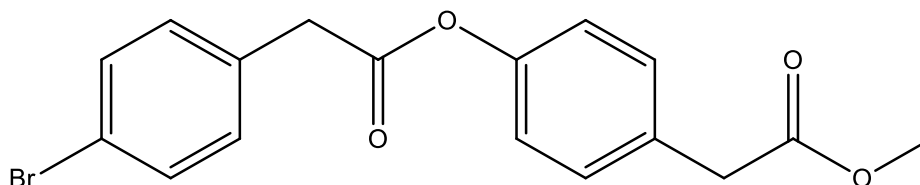
Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 3:1 (v/v)]

FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 2956; 2162; 1734; 1591; 1272; 1198; 1014; 729; 695.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): em execução.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: em execução.

EM, m/z (%): 313 ([M⁺]), 106 (100), 78 (29), 51 (13).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (5d)

Característica: sólido branco

Rendimento: 36 %

Temperatura de fusão: 74,2 °C – 74,8 °C

CCD: R_f= 0,57 [Hex:AcOEt 2:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 9:1 (v/v)]

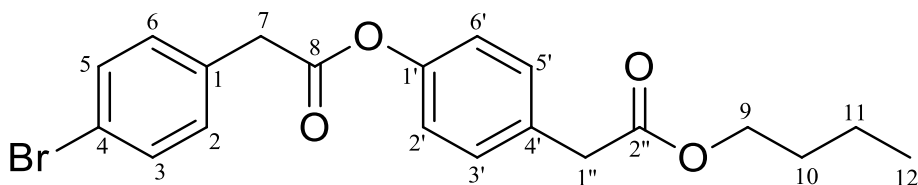
FTIR-ATR (ν, cm⁻¹): 2947; 2025; 1732; 1641; 1508; 1341; 1215; 1146; 804; 726; 517.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): em execução.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: em execução.

EM, m/z (%): 364 ([M⁺]), 198 (98), 196 (100). 169 (64), 107 (87), 90 (40), 89 (52).

4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (6d)



Característica: sólido branco pastoso

Rendimento: 36 %

CCD: Rf= 0,59 (Hex:AcOEt 4:1 v/v)

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 6:1 (v/v)]

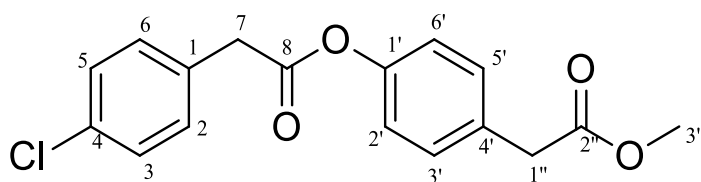
FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 2961; 2870; 2018; 1725; 1508; 1334; 1215; 1124; 1013; 804; 489.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,52 (m; 2H; H₂/H₆); 7,29 (m; 4H; H₃/H₅ e H₃'/H₅'); 4,11 (t; J= 6,7 Hz; 2H; H₉); 3,83 (s; 2H; H₇); 3,61 (s; 2H; H₁''); 1,62 (m; 2H; H₁₀); 1,36 (se; J=14 Hz; H₁₁); 1,05 (t; J=6,70; H₁₂).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 171 (C₂''); 169 (C₈); 150 (C₁'); 132 (C₄); 132 (C₁); 132 (C₃'/C₅'); 131 (C₂/C₆); 130 (C₃/C₅); 121 (C₄'); 121 (C₂'/C₆'); 65 (C₉); 41 (C₇); 41 (C₁''); 31 (C₁₀); 19 (C₁₁); 14 (C₁₂).

EM, m/z (%): 198 (95), 196 (100), 169 (49), 107 (75), 90 (31), 89 (32).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(4-clorofenil)etanoato de fenila (5e)



Característica: sólido branco

Rendimento: 51 %

Temperatura de fusão: 62,6 °C – 62,9 °C

CCD: Rf= 0,33 [Hex:AcOEt 5:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 5:1 (v/v)]

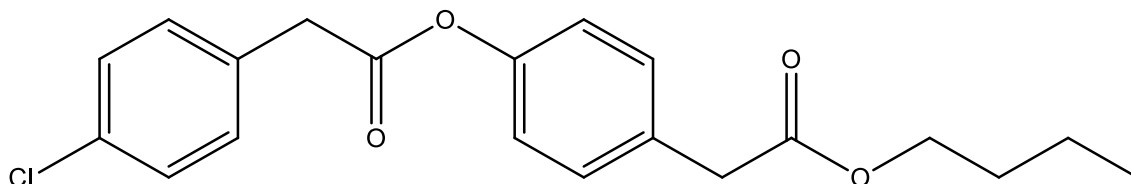
FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 2947; 2158; 1732; 1488; 1215; 1138; 803; 517; 413.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,30 (m; 6H; H₆/H₂, H₃/H₅, H₃'/H₅'); 7,04 (d; J=8 Hz; 2H; H₂'/H₆'); 3,84 (s; 2H; H₇); 3,71 (s; 3H; OCH₃); 3,63 (s; 2H; H₁'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172 ($\text{C}2''$); 170 ($\text{C}8$); 150 ($\text{C}1'$); 133 ($\text{C}4$); 132 ($\text{C}1$); 132 ($\text{C}4'$); 131 ($\text{C}3'/\text{C}5'$); 130 ($\text{C}2/\text{C}6$); 129 ($\text{C}3/\text{C}5$); 121 ($\text{C}2'/\text{C}6'$); 52 (OCH_3); 41 ($\text{C}7$); 40 ($\text{C}1''$).

EM, m/z (%): 318 ($[\text{M}^+]$), 152 (100), 125 (65), 107 (43).

4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-clorofenil)etanoato de fenila (6e)



Característica: líquido amarelado

Rendimento: 68 %

CCD: $R_f = 0,59$ [Hex:AcOEt 3:1 (v/v)]

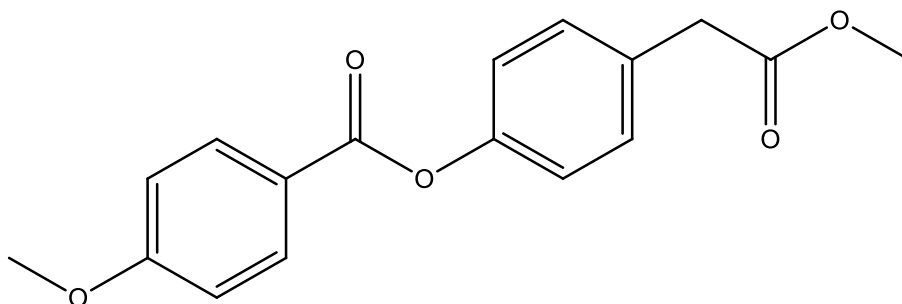
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 2961; 2870; 2025; 1732; 1641; 1488; 1215; 1124; 1013; 803; 496.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): em execução.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : em execução.

EM, m/z (%): 208 (10), 152 (100), 125 (61), 107 (46).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)-4-metóxi-benzoato de fenila (5f)



Característica: sólido branco

Rendimento: 40 %

Temperatura de fusão: 93,9 °C – 96,1 °C

CCD: $R_f = 0,61$ [Hex:AcOEt 2:1 (v/v)]

Cromatografia em coluna: [Hex:AcOEt 3:1 (v/v)]

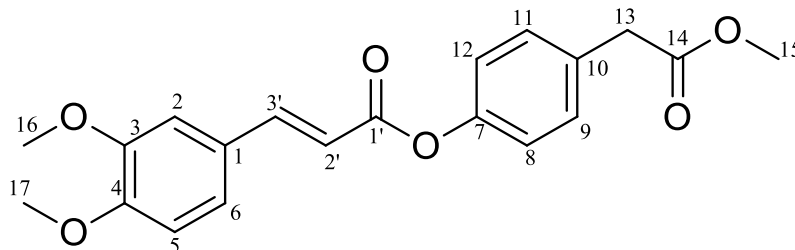
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 3058; 3010; 2949; 2841; 2046; 1720; 1605; 1510; 1442; 1258; 1157; 1068; 844; 763.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): em execução.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : em execução.

EM, m/z (%):

4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-(3,4-dimetóxiifenil)prop-2-etanoato de fenila (5g)



Característica: sólido branco

Rendimento: 46 %

Temperatura de fusão: 133,6°C – 134,8°C

CCD: R_f = 0,39 [Hex:AcOEt 2:1 (v/v)]

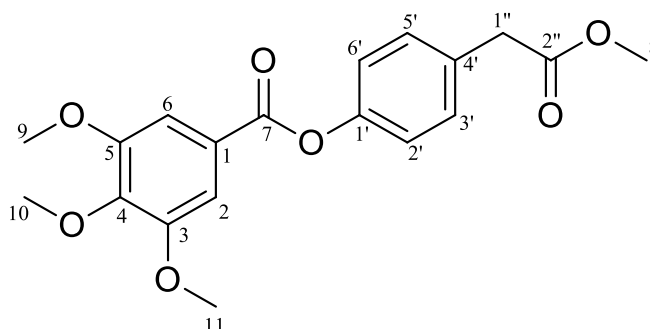
FTIR-ATR (ν , cm^{-1}): 2922; 2847; 2026; 1713; 1591; 1510; 1163; 1136.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J , integração, atribuição): 7,8 (d; J = 16 Hz; 1H; H3'); 7,32 (d; J = 8 Hz; 2H; H9 e H11); 7,18 (dd; J = 8 Hz; 1H; H6); 7,14 (m; 3H; H2, H8 e H12); 6,89 (d; J = 8,3 Hz; 1H; H5); 6,49 (d; J = 16 Hz; 1H; H2'); 3,93 (d; J = 1,2 Hz; 6H; H16/H17); 3,70 (s; 3H; H15); 3,63 (s; 2H; H13).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172 (C14); 166 (C1'); 152 (C4); 150 (C7); 149 (C3); 147 (C3'); 131 (C1); 130 (C9/C11); 127 (C10); 123 (C6); 122 (C8/C12); 115 (C5); 111 (C2); 110 (C2'); 56 (C17); 56 (C16); 52 (C15); 41 (C13).

EM, m/z (%): 77 (5); 163 (8); 191 (100); 356 (2).

4-(2-metóxi-2-oxoetil)-3,4,5-trimetóxiibenzoato de fenila (5h)



Característica: sólido branco

Rendimento: 73 %

Temperatura de fusão: 95,8 °C – 98,5 °C

CCD: Rf= 0,63 [Hex:AcOEt 1:1 (v/v)]

FTIR-ATR (v, cm⁻¹): 2926; 2836; 2165; 1976; 1718; 1586; 1334; 1160; 1124; 985; 754; 496.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, integração, atribuição): 7,44 (s; 2H; H6/H7); 7,35 (d; J=8,49 Hz; 2H; H3'/H5'); 7,16 (d; J=8,53 Hz; 2H; H2'/H6'); 3,93 (d; J=2,59 Hz; 9H; H9/H10/H11); 3,71 (s; 3H; H8); 3,65 (s; 2H; H1'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172 (C2''); 165 (C7); 153 (C3); 150 (C5); 144 (C4); 143 (C1'); 132 (C1); 130 (C3'/C5'); 124 (C4'); 122 (C2'/C6'); 107 (C6/C7); 61 (C10); 56 (C11); 56 (C9); 52 (C8); 41 (C1'').

EM, m/z (%): 195 (100); 360 (5).

2.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

2.3.1. Teste em semente de atividade fitotóxica e alelopática:

A metodologia para o ensaio fitotóxico em semente foi adaptada do trabalho de Pinto *et al.* (2013). A atividade dos ésteres sintetizados foram testadas em sementes dicotiledônea, de Pepino (*Cucumis sativus* L.), e monocotiledônea, de Sorgo (*Sorghum bicolor* L.). A solução de Tween 80 a 0,5 % (v/v) foi utilizada como controle negativo. A solução comercial do herbicida Dual Gold foi utilizada como controle positivo para o teste realizado com a segunda série de compostos.

Para as demais preparações das soluções contendo os ésteres (dissolvidos/diluídos em Tween), as concentrações foram de 0,1; 0,25; 0,5 e 1,0 mmol/L. Dessas soluções, feitas em triplicata, 5 mL foram transferidos para placas de Petri, contendo 20 sementes sobre um papel de germinação, as quais foram seladas com papel filme e transferidas para a câmara de germinação BOD, durante um período de cinco dias, sob fotoperíodo de 12 horas.

Após as sementes esticadas e fotografadas, elas foram medidas por meio do programa de computador Photomed, e depois as porcentagens de inibição foram calculadas, sendo as médias comparadas por meio do teste de Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando-se o software Past3.

2.3.2. Avaliação do efeito fitotóxico em folhas de plantas daninhas

Os compostos foram testados em duas plantas daninhas, sendo elas *Commelina benghalensis* e *Euphorbia heterophylla*. Todas as plantas de *C. benghalensis* utilizadas nos experimentos foram cultivadas a partir de hastes obtidas de um estoque de plantas saudáveis mantidas em casa de vegetação e originalmente obtidas de populações naturais de *C. benghalensis* que ocorrem no campus da UFV. As sementes e mudas foram plantadas individualmente em vasos de 0,5 L contendo solo, areia e esterco bovino na proporção de 1: 1: 1 e mantidos em casa de vegetação, à aproximadamente 25 °C.

A avaliação da fitotoxicidade dos compostos sobre *C. benghalensis* e *E. heterophylla* foi realizada a partir de um ensaio de punctura de folhas (Pedras *et al.*, 2004), onde folhas bem expandidas de duas a três semanas de idade, cultivadas em casa de vegetação, foram perfuradas (lado adaxial) com uma agulha fina e esterilizada. Gotículas (20 µL) de cada solução testada foram depositadas sobre cada punctura (uma punctura por folha, uma folha por planta, três plantas por composto). Os compostos foram testados na concentração de 10 mmol/L. As soluções foram preparadas em 100% (v/v) de acetona. Após a aplicação das gotículas, as plantas foram mantidas em uma câmara de orvalho à 25 °C sob luz natural. O aparecimento dos sintomas foi observado diariamente e o diâmetro das lesões foi mensurado 48 h após a aplicação das soluções. Uma solução aquosa de acetona 100% (v/v) foi aplicada como controle negativo.

Os dados estatísticos foram analisados usando Sigma Plot 11 versão 23.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). De modo a reduzir a variabilidade dos resultados, foi procedido o escore-Z para identificação de outliers. Para verificação da homogeneidade das variâncias foi utilizado o teste de Levene. Para verificação da normalidade foi adotado teste de Shapiro-Wilk. Para comparação entre tratamentos, foi procedida a ANOVA para estudo dos componentes de variação dos resultados, a qual foi acoplado o teste de Tukey. Os dados foram apresentados como média e a significância estatística foi estabelecida em $P < 0,05$.

2.3.3. Avaliação do efeito antifúngico sobre fitopatógenos

Os compostos foram testados em dois fungos fitopatogênicos (*Botrytis cinerea* e *Rhizoctonia solani*), ambos possuindo grande impacto nos ecossistemas agrícola e natural. Os isolados foram obtidos da coleção de culturas da Universidade Federal de

Viçosa (número de depósito COAD2292 - *B. cinerea* e COAD2390 - *R. solani*). A sensibilidade das duas espécies aos 19 compostos foi avaliada pela inibição do crescimento radial micelial em meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) de acordo com Cimmino *et al.* (2018).

Plugues de micélio (6 mm de diâmetro) foram cortados a partir da margem de colônias de cinco dias de crescimento ativo. Um plugue foi colocado no centro de uma placa de Petri com 9 cm de diâmetro, contendo BDA. Em seguida, 20 µL da solução teste (10 mmol/L) foram aplicados no topo de cada plugue. Os controles negativos consistiram na aplicação de 20 µL de acetona sobre o plugue e em plugue micelial sem aplicação de nenhuma solução. O controle positivo foi feito pela aplicação de Captan SC (captan; p.a. 48,0 %; ADAMA) sobre o plugue. As placas foram mantidas a 25 °C sob um regime de 12 horas diárias/luz (luz fornecida por duas lâmpadas brancas e uma lâmpada de luz próximo à UV, colocadas 35 cm acima das placas) por 48h e 72h para *R. solani* e *B. cinerea*, respectivamente. O diâmetro das colônias foram medidos para todos os tratamentos e cada tratamento foi repetido quatro vezes.

A análise estatística foi feita conforme descrito para os testes de fitotoxicidade sobre folhas (item 2.3.2).

2.3.4. Avaliação da atividade antioxidante:

Para a determinação da atividade antioxidante dos compostos sintetizados, foi-se utilizado o ensaio da captura do radical orgânico 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), seguindo-se a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007). Os ensaios foram realizados em parceria com o Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios (Departamento de Microbiologia Agrícola – UFV), sendo realizados em placas de microdiluição contendo 96 micropoços (TPP, Trasadingen Suíça). As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 517 nm (THERMO SCIENTIFIC, Vantaa, Finland).

Uma solução de 0,1 mmol/L do radical DPPH em metanol foi previamente preparada. Após, uma curva analítica com o antioxidante padrão (*Butylated Hydroxytoluene* - BHT) nas concentrações de 1; 0,5; 0,25; 0,2; 0,15; 0,125; 0,1; 0,05; 0,025 e 0,0125 mg/mL foi construída. A reação entre o antioxidante e o radical foi realizada homogeneizando-se 25 µL de cada concentração do antioxidante e 175 µL da solução do radical DPPH em placas de microdiluição, mantidas ao abrigo da luz, sendo realizadas após uma hora as leituras da absorbância a 517 nm.

Um miligrama de cada composto sintetizado foi pesado e diluído com 1 mL de metanol. A partir dessa solução, foram preparadas diluições nas concentrações de 1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,125 mg/mL; 0,062 mg/mL. Um volume de 25 µL de cada solução foi adicionado a 175 µL da solução do radical DPPH. A reação foi mantida longe da luz, sendo realizadas duas leituras da absorbância após 1 hora de reação. Todas as análises foram realizadas em triplicata, usando-se metanol como branco.

2.3.5. Avaliação da atividade de inibição da Acetilcolinesterase:

Para avaliar a inibição dos compostos sintetizados sobre a enzima Acetilcolinesterase (AChE), foi realizado um ensaio espectrofotométrico em microplaca de 96 poços (TPP, Trasadingen Suíça), seguindo-se uma metodologia adaptada de Rocha *et al.* (2018). Os ensaios foram feitos em parceria com o Laboratório de Biodiversidade do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV.

As amostras foram preparadas na concentração de 2500 µmol/mL em metanol grau HPLC (DINÂMICA). Essa solução foi armazenada no congelador e reutilizada para a produção da solução intermediária das repetições, que ocorreram em três dias consecutivos. Ao todo, foram utilizadas três microplacas e triplicatas foram feitas para cada composto, totalizando nove pontos. A cada dia, as amostras eram solubilizadas por banho ultrassônico (Sander®, modelo Soniclean 2), com frequência de 40 kHz e temperatura entre 35 e 40 °C, e diluídas quatro vezes em tampão A (Tris-HCl 50 mmol/L, pH 8,0). A solução intermediária foi obtida na concentração de 250 µg/mL.

Em microtubos de 1,5 mL foram adicionados 200 µL de solução de albumina sérica bovina (0,1 % de BSA em tampão A), 100 µL de solução de iodeto de acetiltocolina em água ultrapura (14,5 mmol/L), 500 µL de solução de ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (3 mmol/L de DTNB em tampão A, contendo 10 mmol/L de NaCl e 20 mmol/L de MgCl₂) e 100 µL da solução intermediária. Um microtubo foi destinado para cada espécie química. Os controles negativo e positivo foram realizados utilizando-se metanol grau HPLC (DINÂMICA®) e Galantamina (inibidor padrão, a 21 µmol/L), respectivamente. A concentração testada para os compostos foi de 50 µmol/mL.

Para a montagem da placa, retirou-se uma alíquota de 225 µL, em triplicata, de cada microtubo. Procedeu-se com a leitura do *Background* a 405 nm e 30 °C em

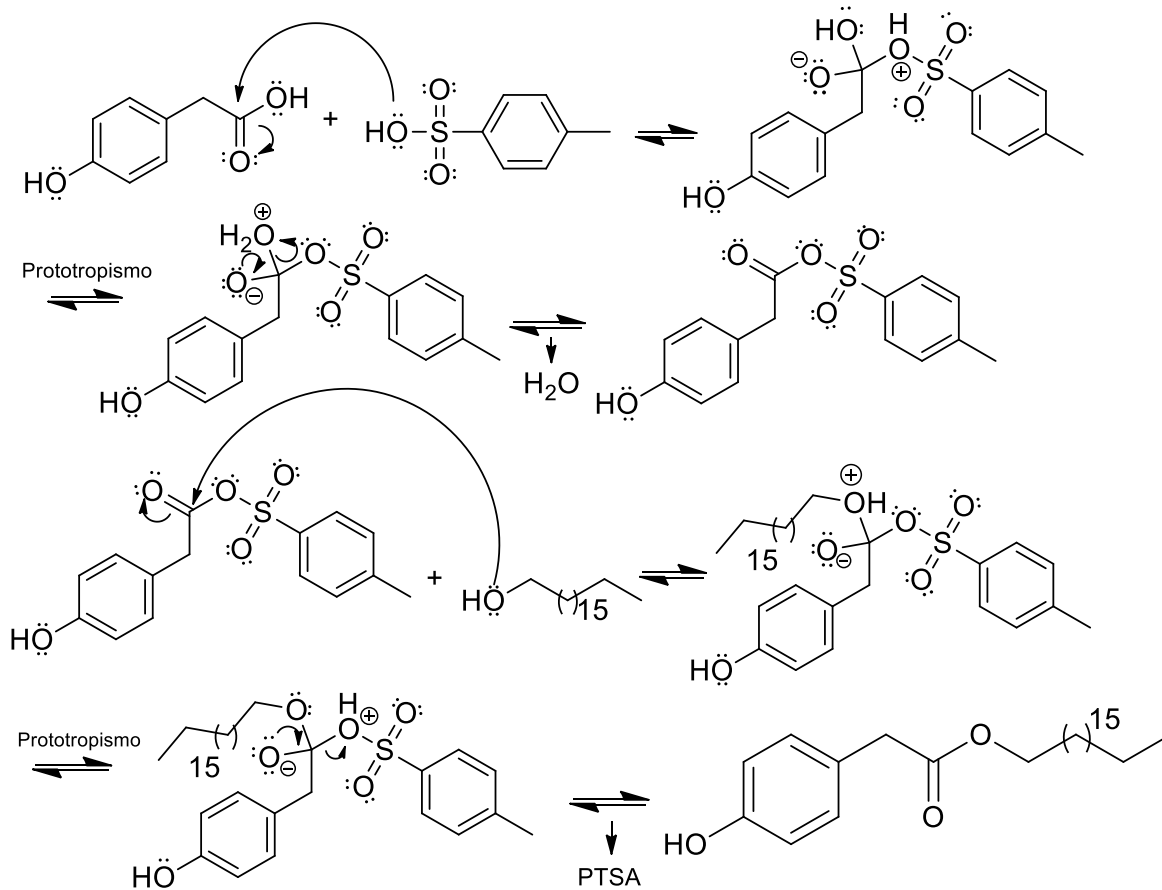
espectrofotômetro (Thermoplate, modelo TP-reader). Para a realização do ensaio cinético foram adicionados 25 μL ($0,2 \text{ U mL}^{-1}$) da enzima AChE (*Electrophorus electricus*, tipo VI, Sigma-Aldrich), efetuando-se a leitura da placa ($\lambda=405 \text{ nm}$, à 30°C) a cada 5 minutos, por 25 minutos.

A inibição da hidrólise enzimática foi avaliada a partir da diferença de valores de absorbância do *background* (sem adição enzimática) e do ensaio cinético (com adição da enzima).

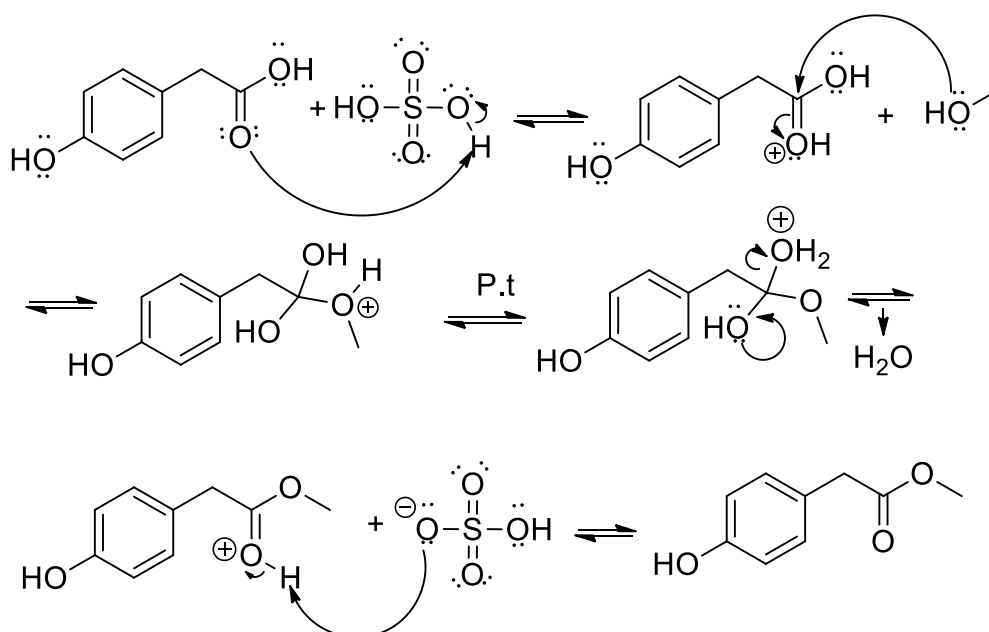
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Procedimentos sintéticos

Inicialmente, foram sintetizados seis ésteres derivados do ácido 4-hidroxifenilacético (**3a-3f**). Dentre estes, de acordo com nossos levantamentos bibliográficos, apenas a síntese do (4-hidroxifenil)etanoato de 2,4-diclorobenzila (**3b**) não foi encontrada na literatura e nenhum relato sobre a avaliação dos efeitos fitotóxicos dos compostos sintetizados foi encontrada. Os ésteres **3a-d** foram sintetizados utilizando ácido *p*-toluenossulfônico como catalisador em tolueno anidro e os ésteres **3e** e **3f** foram sintetizados utilizando excesso dos álcoois e ácido sulfúrico como catalisador. O mecanismo para as reações encontra-se ilustrados nos esquemas 4 e 5, respectivamente.



Esquema 4: Mecanismo proposto a síntese de **3d** catalisada por ácido *p*-toluenossulfônico



Esquema 5: Mecanismo proposto para a síntese de **3e** catalisada por ácido sulfúrico

Os compostos foram caracterizados por métodos espectroscópicos e espectrométricos e os dados obtidos para o composto **3d** são apresentados e discutidos a seguir. Os espectros obtidos para os demais compostos desta série estão apresentados no apêndice, página 76.

No espectro de massas do composto **3d**, observa-se o pico do íon molecular em m/z 404, correspondente a massa molecular esperada (Figura 2). A proposta das fragmentações principais, incluindo-se a do pico base em m/z 107 que se repete em todos os compostos da primeira série de ésteres sintetizados, está apresentada no Esquema 6.

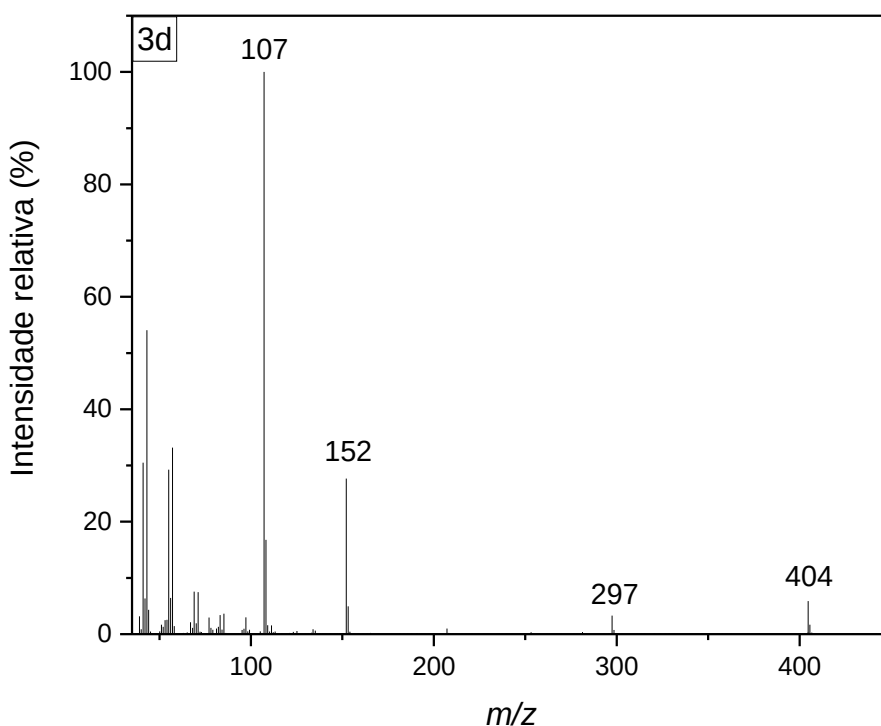
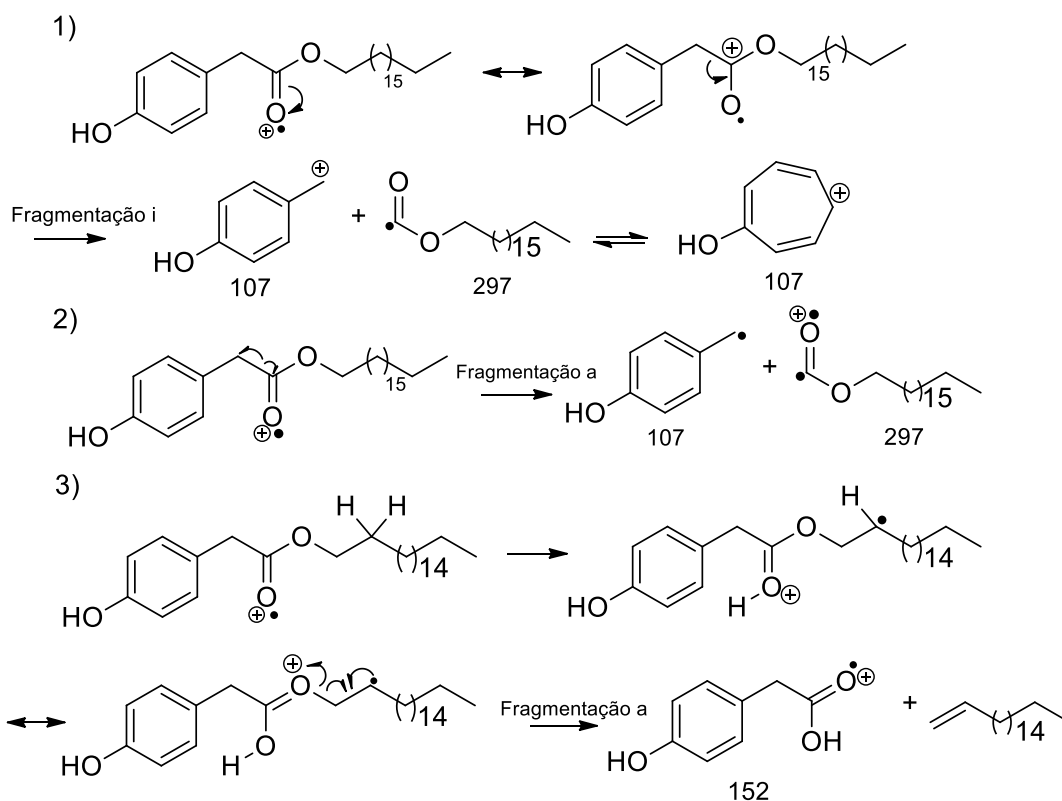


Figura 2: Espectro de massas (IE, 70 eV) obtido para o **3d**



Esquema 6: Proposta de fragmentação para o **3d**

O espectro de Infravermelho (Figura 3) apresenta a banda de estiramento relativa à hidroxila fenólica em 3370 cm^{-1} , aspecto comum observado em todos os espectros de IV dos compostos sintetizados na primeira série. Os estiramentos assimétrico e simétrico relativos à ligação C-H são observados em 2919 e 2850 cm^{-1} , respectivamente. O estiramento relativo à carbonila de éster também é observado, em 1725 cm^{-1} (Barbosa, 2007).

Espectros de ésteres apresentam duas bandas relativas aos estiramentos da ligação sigma entre o carbono da carbonila e o oxigênio e da ligação entre o oxigênio e o carbono sp^3 . Para ésteres alifáticos saturados estas bandas são observadas nas regiões $1275 - 1185\text{ cm}^{-1}$ e $1160 - 1050\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. No espectro do **3d** é possível observar as duas bandas em 1215 e 1160 cm^{-1} . As bandas em 1612 e 1516 cm^{-1} , são relativas ao estiramento da ligação entre carbonos sp^2 . Por fim, a banda em 726 cm^{-1} é referente à deformação angular assimétrica CH_2 , sendo esta mais evidente em compostos que apresentam cadeia longa, como o **3d**.

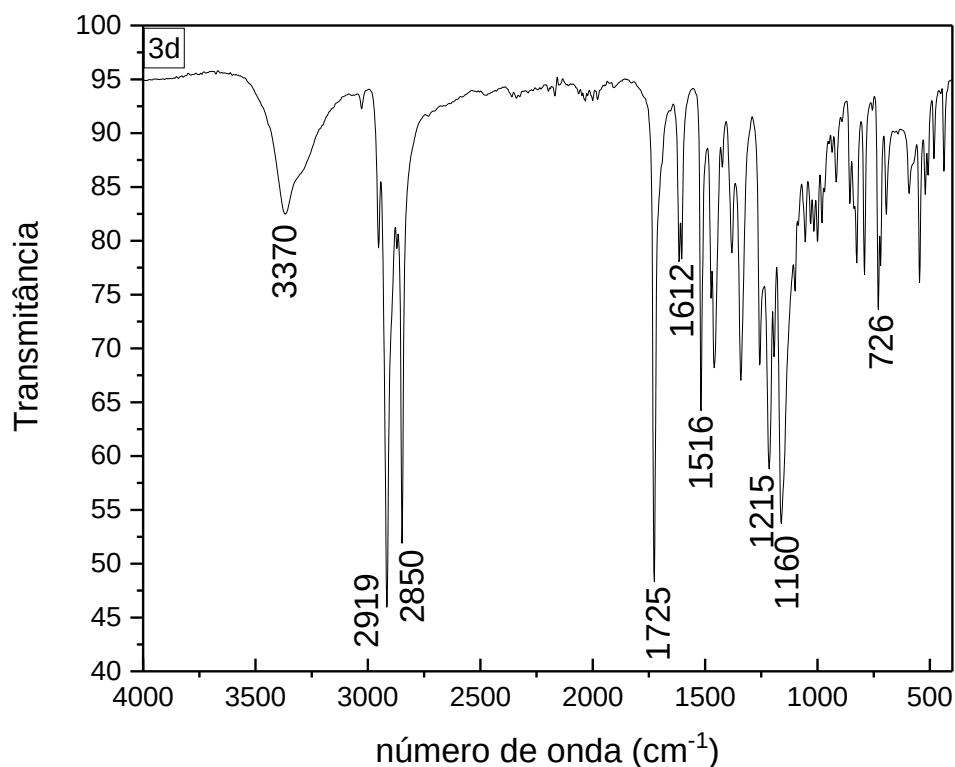


Figura 3: Espectro de Infravermelho (FTIR-ATR) referente ao 3d

Com relação ao espectro de RMN de ^1H , Figura 4, observa-se um duplete em δ 7,11 ($J=8,45$ Hz) ppm e outro duplete em 6,74 ($J=8,48$ Hz) ppm, referentes aos hidrogênios aromáticos H2/H6 e H3/H5, sendo o duplete mais desblindado referente aos H2/H6, uma vez que eles estão em posição meta quando relacionado ao grupo hidroxila (PAVIA *et al.*, 2010). Em δ 4,70 encontra-se o sinal referente ao hidrogênio do grupo hidroxila. O tripleto em δ 4,08 ($J=6$ Hz), é referente aos dois H9, sendo estes mais desblindados que os H7 (simpleto), já que estão ligados à um carbono diretamente ligado ao átomo de oxigênio. O quinteto em δ 1,61 ($J=10$ Hz) refere-se aos dois hidrogênios H10. O simpleto em δ 1,26, possui integração 30 e refere-se aos 30 hidrogênios ligados nos carbonos C11 a C25. Por fim, o sinal mais blindado em δ 0,88 ($J=8$ Hz) é um tripleto referente aos três hidrogênios H26.

Por fim, no espectro de RMN de ^{13}C , é possível observar em δ 175 o sinal correspondente ao carbono carbonílico de éster (C8). Os deslocamentos δ 155, 130, 125, 115 são referentes aos carbonos do grupo aromático. O sinal correspondente a C9 aparece em δ 65 ppm. Os sinais restantes em δ 41, 23, 26, 28, 29 e 32 ppm

referem-se aos carbonos C7 e C10 à C25. Já o deslocamento em δ 14 ppm, o mais blindado, refere-se ao carbono terminal da cadeia alifática C26.

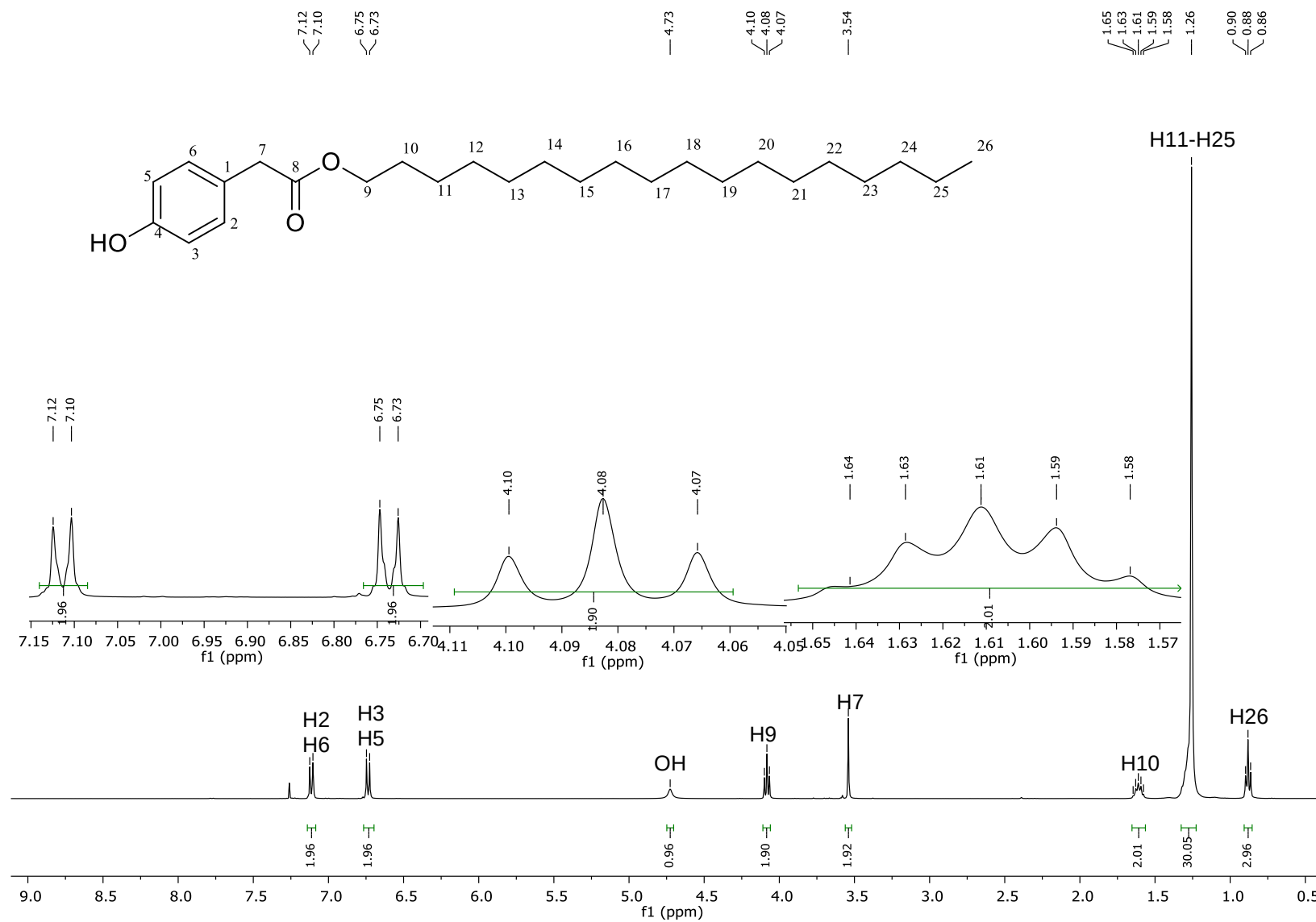


Figura 4: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do **3d**

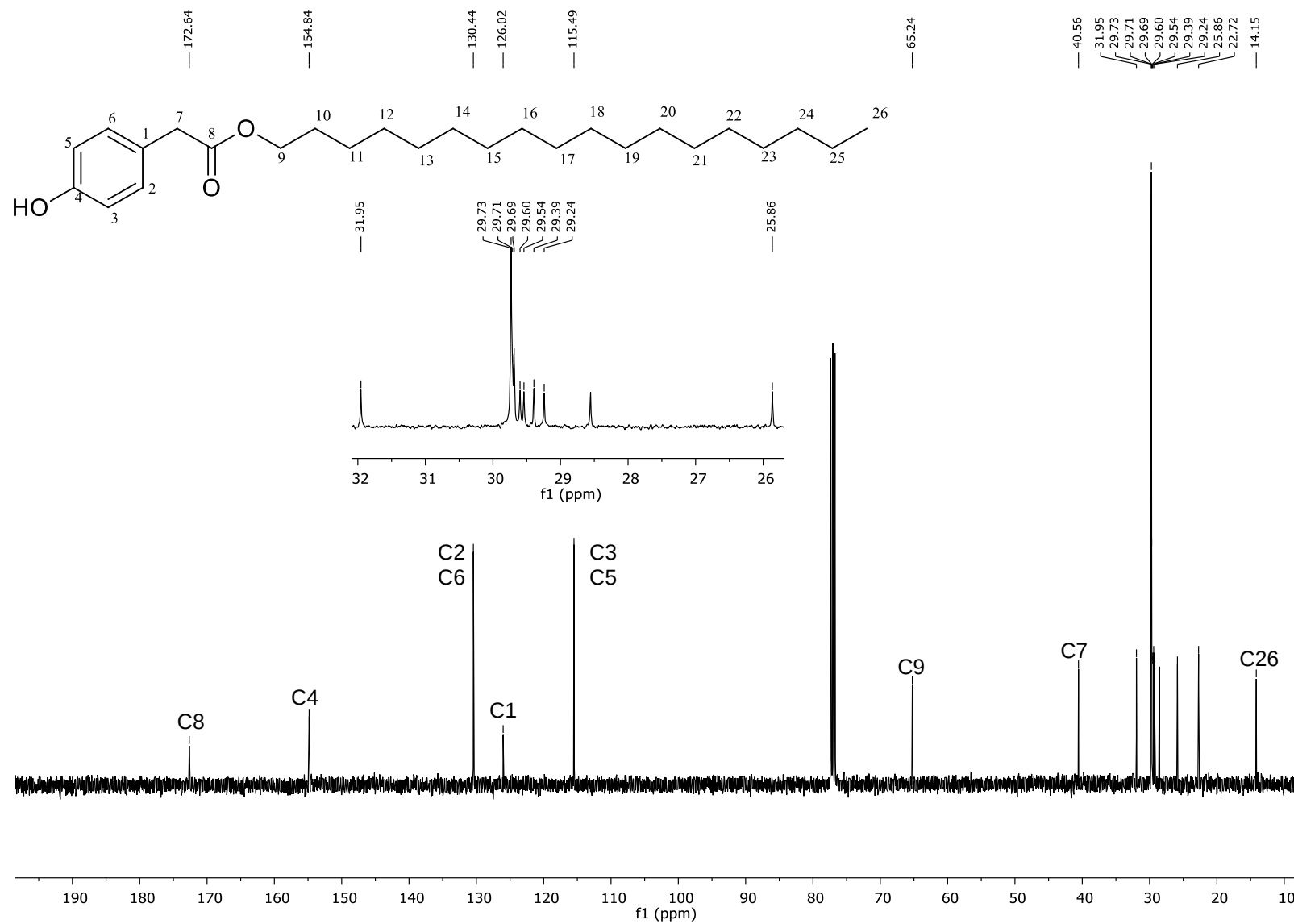
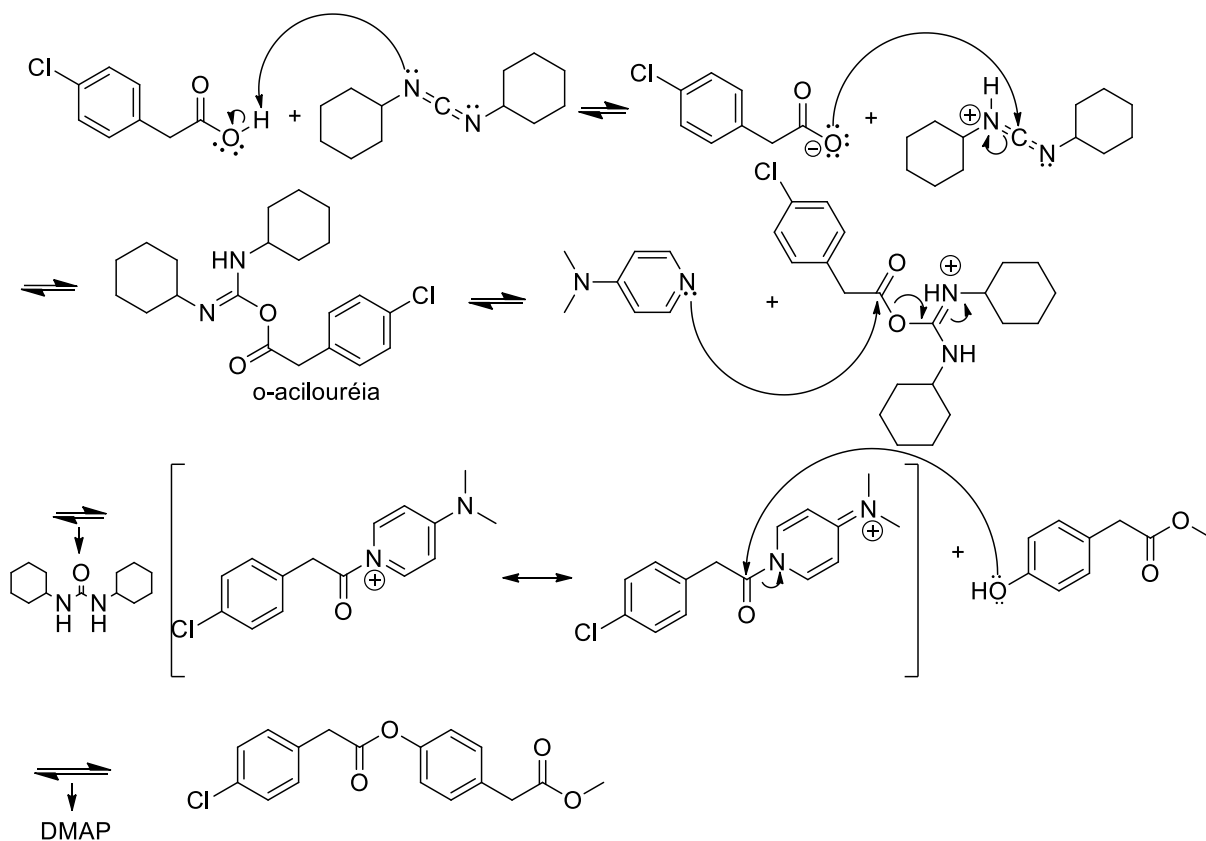


Figura 5: Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 400 MHz) do **3d**

Com base em resultados preliminares sobre as atividades fitotóxicas dos ésteres **3a-f**, os compostos **3e** e **3f** foram submetidos à reações para esterificação de suas hidroxilas fenólicas com diferentes ácidos, levando à obtenção de 13 novos compostos (**5a-h** e **6a-e**). Esses compostos foram sintetizados utilizando a esterificação de Steglich, cujo mecanismo está representado no esquema 7. Em nossos levantamentos bibliográficos, não encontramos relato sobre a síntese dos compostos **5b-c**, **f-g** e **6a-e**. Ainda, não encontramos relato sobre a avaliação das atividades fitotóxicas dos compostos sintetizados. Dada a similaridade estrutural entre os compostos sintetizados, para fins de discussão sobre a caracterização química desses compostos, os dados espectroscópicos e espectrométricos do composto **5e** serão discutidos ao longo do texto a título de exemplo. Os espectros dos demais compostos estão apresentados no Apêndice.



Esquema 7: Mecanismo proposto para a síntese do **5e**

No espectro de massas do composto é possível observar, com baixa intensidade, o pico do íon molecular em razão m/z 318, assim como o pico base em 152 (Figura 6). No esquema 8 estão propostas as fragmentações principais para o **5e**.

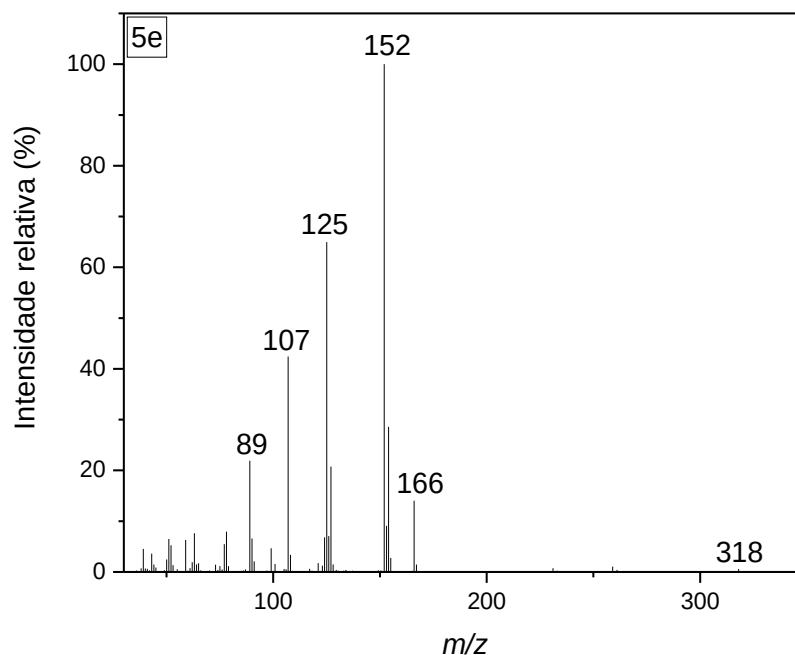
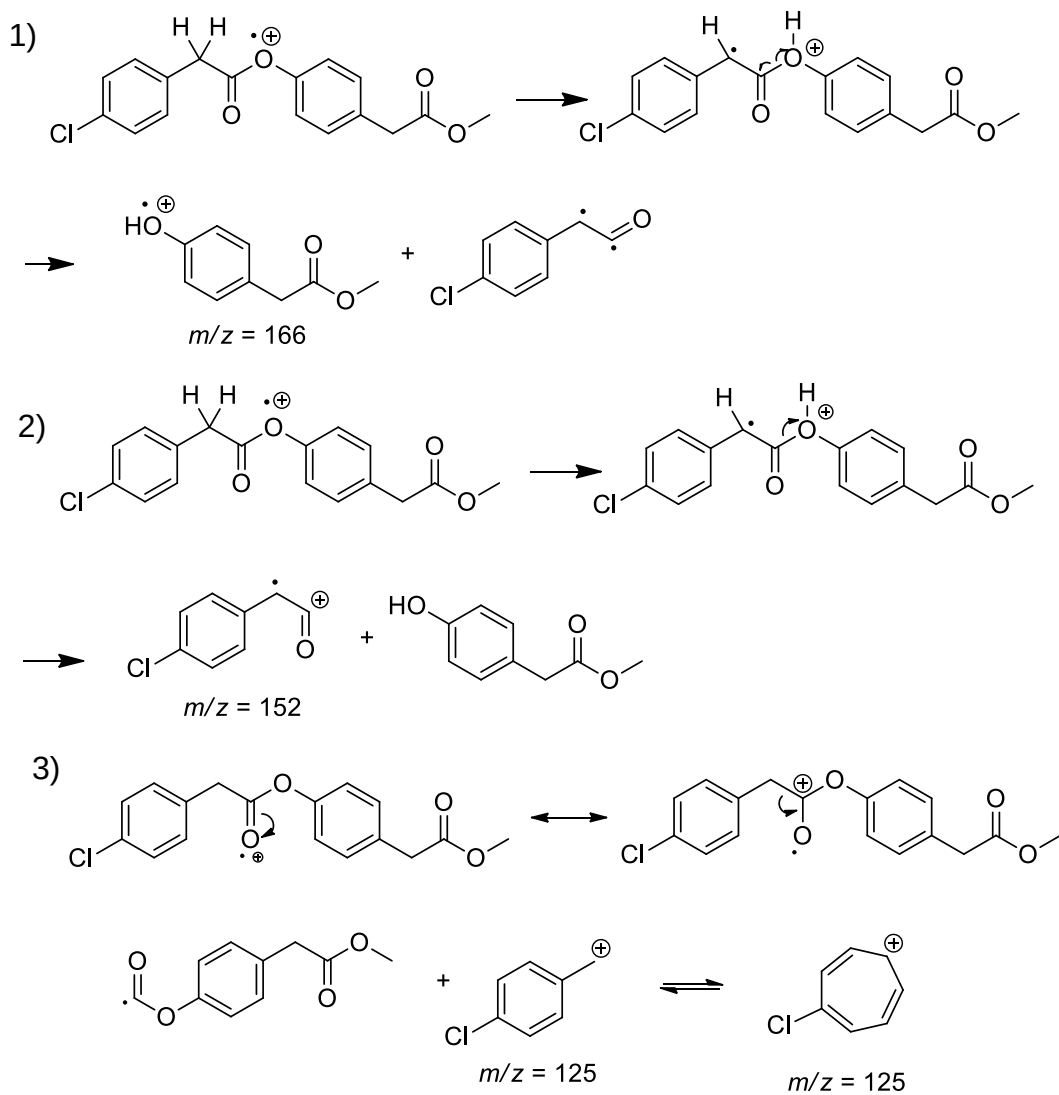


Figura 6: Espectro de massas (IE, 70 eV) referente ao **5e**

No espectro de IV (Figura 7), nota-se a ausência da banda correspondente à vibração de estiramento da hidroxila fenólica, que se encontrava nos espectros dos compostos precursores **3e** e **3f**, assim como nos demais da primeira série de compostos. A banda relativa ao estiramento assimétrico de Csp^3-H encontra-se em 2947. Observa-se em 1732 cm^{-1} uma banda intensa relativa ao estiramento de carbonila de éster, assim como as bandas relativas à ligação C-O entre o carbono da carbonila e o oxigênio e o oxigênio e o carbono sp^3 em 1215 e 1138 cm^{-1} . Em 1488 cm^{-1} observa-se uma banda relativa à vibração de estiramento da dupla ligação carbono-carbono do anel aromático. Por fim, as bandas em 517 cm^{-1} e em 413 cm^{-1} são relativas às vibrações de estiramento e deformação angular da ligação C-Cl, respectivamente.



Esquema 8: Proposta de fragmentação para o **5e**

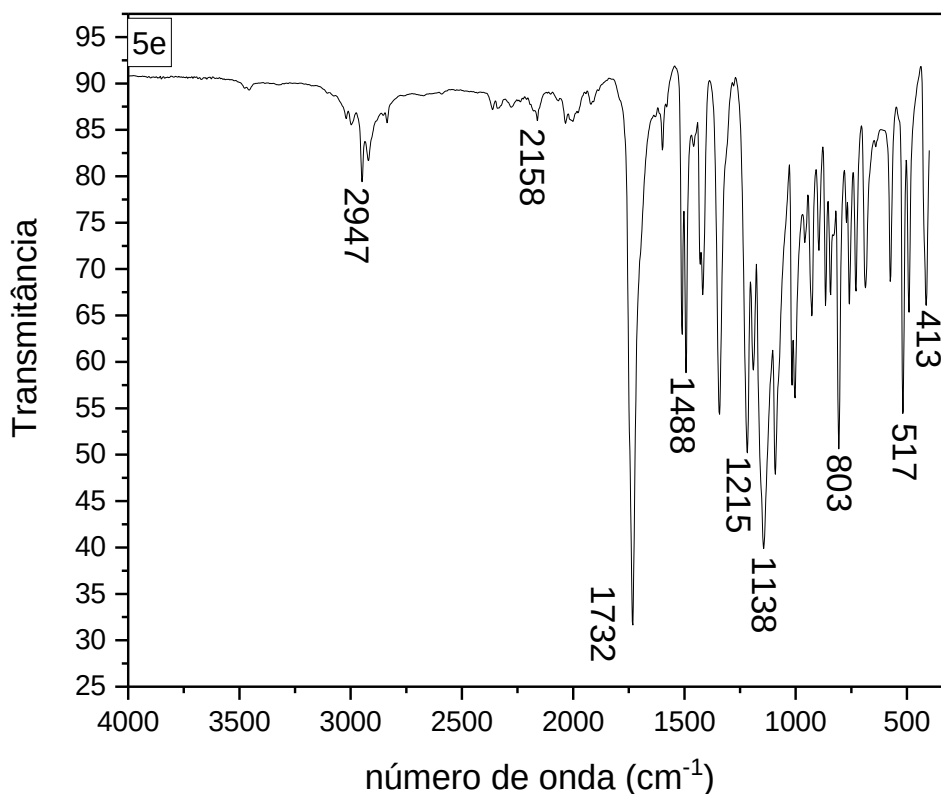


Figura 7: Espectro de IV (FTIR-ATR) referente ao **5e**

No espectro de RMN de ^1H do composto de **5e** observa-se um multiplete em δ 7,39 até δ 7,27 integrado para 6 átomos de hidrogênio, referente aos hidrogênios dos anéis aromáticos H2/H6; H3'/H5' e H3/H5. O duplete em δ 7,04 ppm ($J = 8,58$ Hz) corresponde ao sinal referente aos átomos H2'/H6'. Em δ 3,84 observa-se um simpleto integrado para dois átomos de hidrogênio referente aos hidrogênios H7. Em δ 3,71 observa-se um simpleto integrado para três átomos de hidrogênio, que corresponde ao sinal dos hidrogênios do grupo metoxila (H3''). Finalmente, o simpleto em δ 3,63 corresponde ao sinal dos dois átomos de hidrogênio H1''.

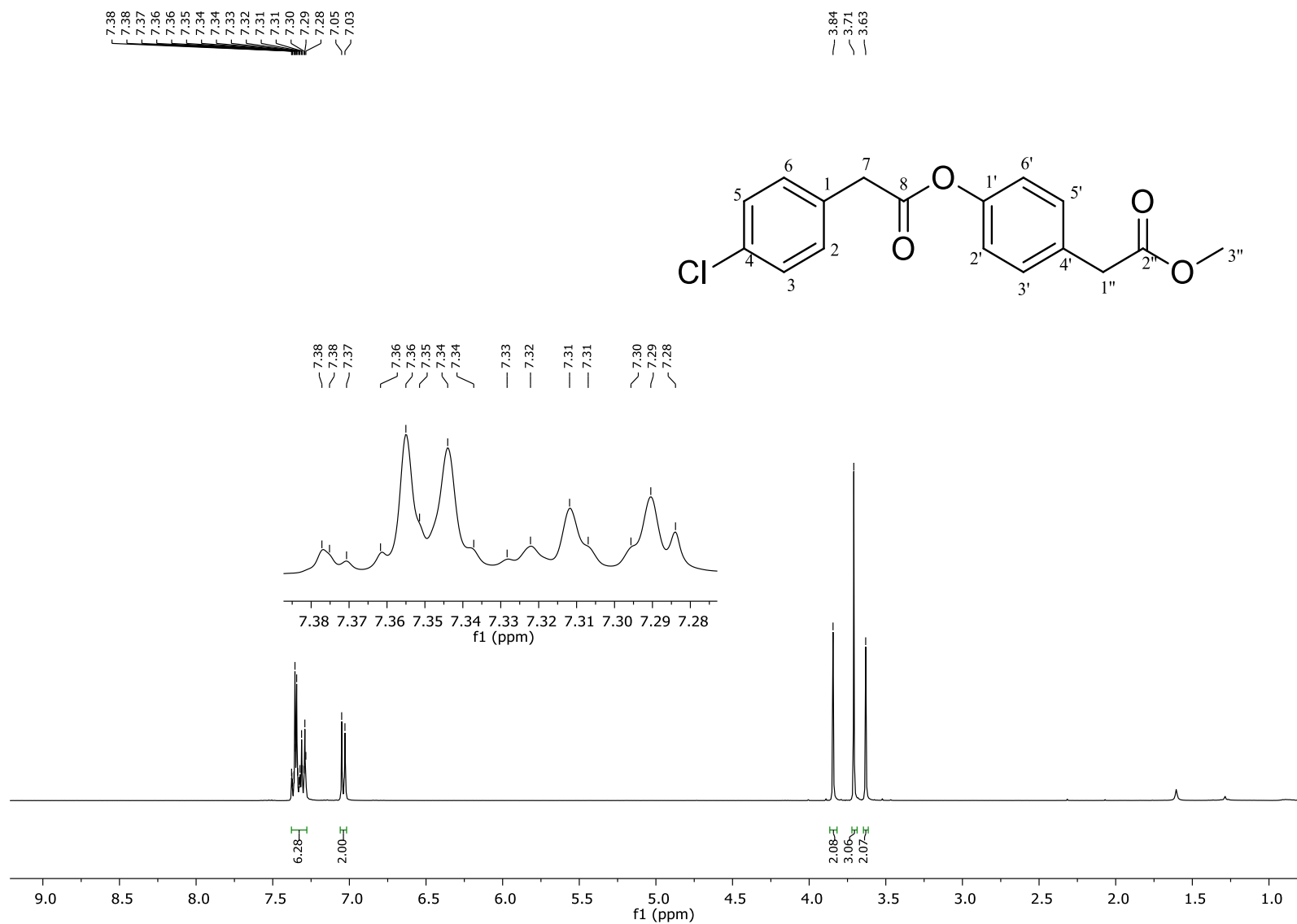


Figura 8: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do **5e**

No espectro de ^{13}C (Figura 9), em $\delta 172$ e $\delta 169$ observam-se os sinais dos $\text{C}2''$ e $\text{C}8$ das carbonila de éster, respectivamente. Em $\delta 150$ e $\delta 133$, observam-se os sinais dos carbonos aromáticos $\text{C}1'$, diretamente ligado ao oxigênio e $\text{C}4$, diretamente ligado ao cloro. Em $\delta 131,84$ e $\delta 131,71$ estão os sinais de $\text{C}1$ e $\text{C}4'$. Em $\delta 131$ e $\delta 130$, observam-se os sinais referentes aos carbonos $\text{C}3'/\text{C}5'$ e $\text{C}2/\text{C}6$ e em $\delta 129$ e $\delta 121$ estão os sinais de $\text{C}3/\text{C}5$ e $\text{C}2'/\text{C}6'$, respectivamente. O sinal em $\delta 52$ é relativo ao carbono $\text{C}3''$ do grupo metoxila e os sinais em $\delta 40,7$ e $\delta 40,5$ se referem aos dois CH_2 do éster, os carbonos $\text{C}7$ e $\text{C}1''$, respectivamente.

No espectro DEPT 135 (Figura 10), não se observam os sinais referentes aos carbonos $\text{C}2''$, $\text{C}8$, $\text{C}1'$, $\text{C}4$, $\text{C}1$ e $\text{C}4'$ e os dois sinais atribuídos aos $\text{C}7$ e $\text{C}1''$, apresentam sinal negativo, o que comprova que se referem aos CH_2 .

Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do **5e**

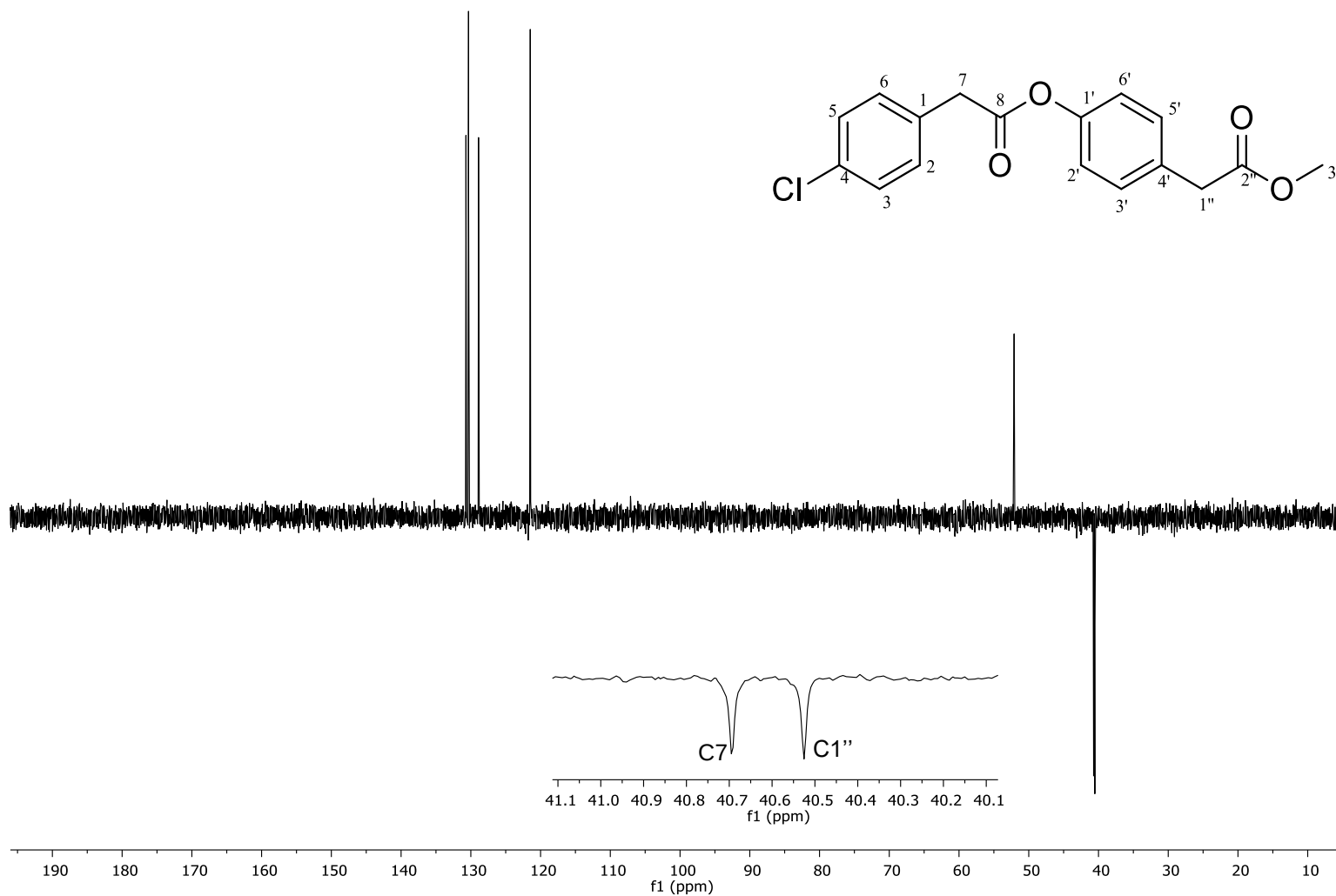


Figura 10: Espectro DEPT 135 de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do **5e**

3.2. Atividades Biológicas

3.2.1. Atividade fitotóxica sobre sementes

O teste fitotóxico para determinação da inibição de germinação, de crescimento radicular e de crescimento de caule foi realizado utilizando-se sementes de Sorgo (monocotiledônea) e de Pepino (dicotiledônea), duas espécies consideradas sensíveis a compostos fitotóxicos e usadas como plantas indicadores em testes de atividade fitotóxica. A Figura 12 apresenta os controles negativo e positivo utilizados nos testes realizados com as duas séries de ésteres sintetizados.

A fim de facilitar a análise dos resultados e a comparação entre as diferenças estruturais dos compostos, as estruturas químicas dos ésteres **3a-f** são apresentadas a seguir na Figura 11 e os resultados dos testes sobre sementes de pepino e sorgo são mostrados, respectivamente, na Tabela 1 e na Tabela 2.

Observa-se que nenhum dos compostos inibiu a germinação das sementes de ambas as espécies. Diferentemente, com exceção do **3d**, todos produziram alguma porcentagem de inibição sobre o crescimento da raiz e caule de pepino. A ausência de efeito pelo éster **3d**, indica que uma cadeia longa (18 átomos de carbono) não favorece o efeito fitotóxico. Os demais compostos apresentaram maior capacidade para inibir o crescimento do caule do que o crescimento radicular. Sobre os testes em semente de sorgo, nenhum dos compostos produziu inibição tanto do crescimento do caule quanto da raiz.

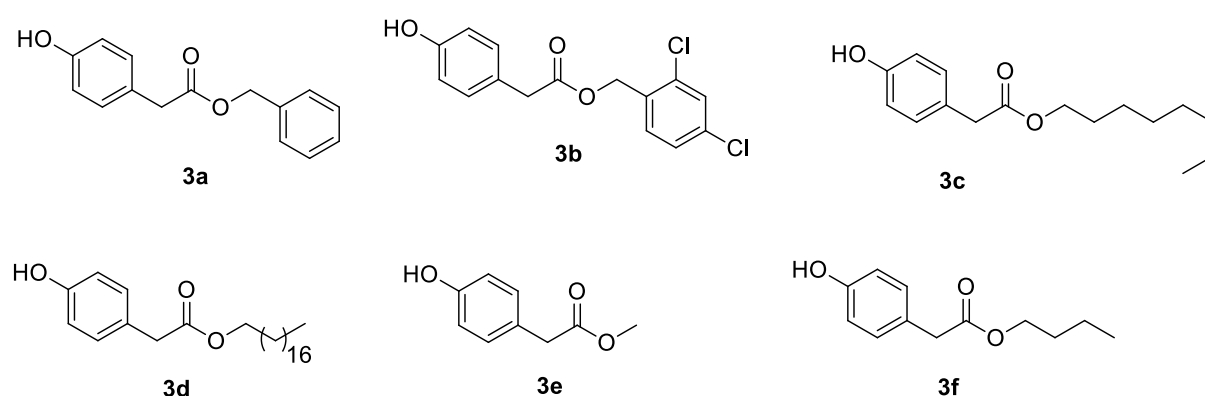


Figura 11: Estrutura dos ésteres **3a-f** sintetizados a partir do ácido 4-hidroxifenilacético

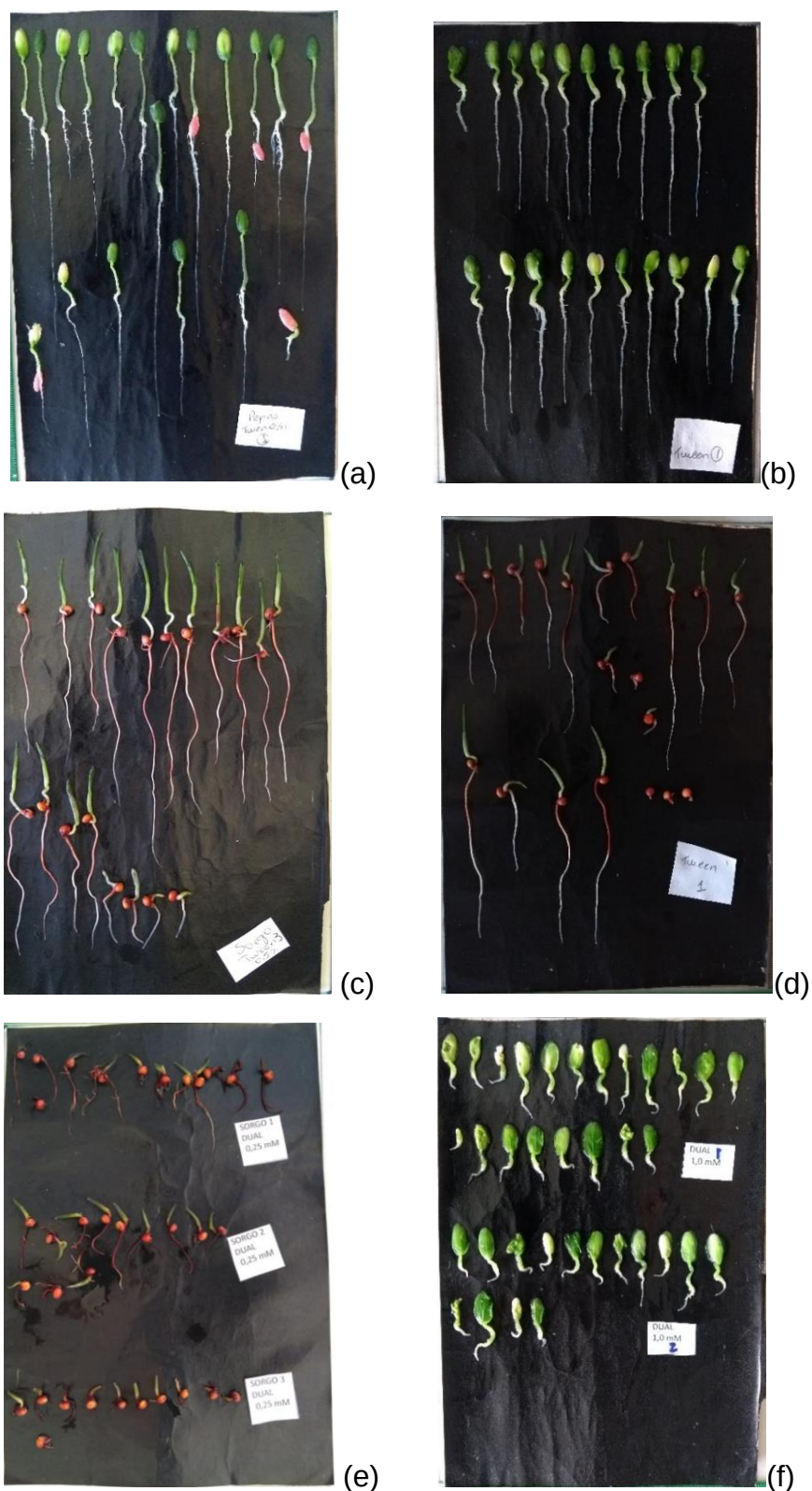


Figura 12: Letras *a*, *b*, *c* e *d*, referentes ao controle negativo de Pepino e Sorgho nos testes realizados com a primeira e segunda série de compostos sintetizados, respectivamente. Letras *e* e *f*, controles positivo de Sorgho e Pepino, utilizando-se Dual (herbicida comercial), realizados no teste fitotóxico da segunda série de compostos, respectivamente.

Tabela 1: Efeitos dos ésteres sintetizados a partir do ácido 4-hidroxifenilacético sobre o desenvolvimento das sementes de pepino

Composto	Concentração (mmol/L)	Germinação (%)	Cresc. Raiz (cm)	% de inibição**	Cresc. Caule (cm)	% de inibição*
C. negativo	-----	91,7 ± 2,9 a	5,49 ± 0,14 a	---	2,01 ± 0,13 a	----
3a	0,1	81,7 ± 15,3 a	3,73 ± 1,72 a	-	0,71 ± 0,41 b	65
	0,25	90 ± 10 a	4,24 ± 0,53 a	-	0,94 ± 0,13 b	53
	0,5	88,3 ± 7,6 a	4,12 ± 0,83 a	-	0,81 ± 0,08 b	60
	1	93,3 ± 2,9 a	3,04 ± 0,30 b	45	0,70 ± 0,04 b	65
3b	0,1	98,3 ± 2,9 a	4,87 ± 0,35 a	-	1,13 ± 0,20 b	44
	0,25	90 ± 10 a	4,01 ± 0,46 a	-	1,35 ± 0,15 b	33
	0,5	90 ± 5 a	3,59 ± 0,49 b	35	1,00 ± 0,18 b	50
	1	95 ± 8,7 a	3,92 ± 0,99 b	29	0,91 ± 0,21 b	55
3c	0,1	88,3 ± 12,6 a	3,11 ± 0,81 b	43	0,79 ± 0,31 b	61
	0,25	93,3 ± 7,6 a	3,61 ± 0,58 b	34	0,80 ± 0,20 b	60
	0,5	91,7 ± 7,6 a	3,12 ± 0,58 b	43	0,72 ± 0,22 b	64
	1	90 ± 5 a	3,70 ± 0,60 b	33	0,93 ± 0,08 b	54
3e	0,1	91,7 ± 2,9 a	3,73 ± 0,79 b	32	0,70 ± 0,08 b	65
	0,25	88,3 ± 5,8 a	3,19 ± 0,36 b	42	0,68 ± 0,02 b	66
	0,5	95 ± 5 a	3,40 ± 0,35 b	38	0,70 ± 0,02 b	65
	1	95 ± 5 a	3,26 ± 0,81 b	41	0,77 ± 0,19 b	62
3f	0,1	93,3 ± 7,6 a	3,62 ± 0,44 b	34	0,67 ± 0,13 b	67
	0,25	90 ± 5 a	3,45 ± 0,50 b	37	0,64 ± 0,02 b	68
	0,5	98,3 ± 2,9 a	4,33 ± 0,88 a	-	1,64 ± 0,57 a	-
	1	86 ± 8,7 a	2,71 ± 0,70 b	51	0,64 ± 0,11 b	68
3d	0,1	88,3 ± 2,9 a	3,82 ± 0,53 b	30	1,45 ± 0,46 a	-
	0,25	85 ± 18 a	4,80 ± 0,81 a	-	1,37 ± 0,58 a	-
	0,5	95 ± 5 a	4,96 ± 0,39 a	-	1,41 ± 0,10 a	-
	1	95 ± 8,7 a	4,90 ± 0,69 a	-	2,06 ± 0,23 a	-

* solução aquosa de Tween 80 a 0,5% (m/v); ** % de inibição em relação ao controle negativo,

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2: Efeitos dos ésteres sintetizados a partir do ácido 4-hidroxifenilacético sobre o desenvolvimento das sementes de sorgo

Produto	Concentração (mmol/mL)	Germinação (%)	Cresc. Raiz (cm)	% de inibição**	Cresc. Caule (cm)	% de inibição*
C. negativo	-----	78,3 ± 16,1 a	4,1 ± 1,06 a	---	1,1 ± 0,29 a	----
3a	0,1	61,7 ± 7,6 a	2,0 ± 1,14 a	-	1,5 ± 0,48 a	-
	0,25	75,0 ± 18,0 a	3,0 ± 2,10 a	-	2,0 ± 0,53 a	-
	0,5	51,7 ± 16,1 a	1,4 ± 0,99 a	-	1,3 ± 0,42 a	-
	1	65,0 ± 18,0 a	2,7 ± 1,49 a	-	1,8 ± 0,48 a	-
3b	0,1	76,7 ± 2,9 a	3,6 ± 0,42 a	-	1,7 ± 0,41 a	-
	0,25	66,7 ± 20,2 a	2,9 ± 1,74 a	-	1,9 ± 0,85 a	-
	0,5	88,3 ± 16,1 a	4,2 ± 0,91 a	-	2,5 ± 0,87 a	-
	1	63,3 ± 12,6 a	2,1 ± 1,23 a	-	1,7 ± 0,17 a	-
3c	0,1	73,3 ± 12,6 a	3,1 ± 1,95 a	-	1,9 ± 0,31 a	-
	0,25	55,0 ± 13,2 a	1,6 ± 0,75 a	-	1,2 ± 0,11 a	-
	0,5	58,3 ± 12, 6 a	1,9 ± 0,98 a	-	1,3 ± 0,10 a	-
	1	63,3 ± 5,8 a	2,2 ± 0,96 a	-	1,3 ± 0,03 a	-
3e	0,1	71,7 ± 12,6 a	4,2 ± 1,59 a	-	1,8 ± 0,39 a	-
	0,25	71,7 ± 7,6 a	3,4 ± 1,39 a	-	2,0 ± 0,66 a	-
	0,5	60,0 ± 13,2 a	2,5 ± 1,10 a	-	1,7 ± 0,49 a	-
	1	55,0 ± 5,0 a	1,3 ± 0,27 a	-	1,3 ± 0,27 a	-
3f	0,1	70,0 ± 15,0 a	2,8 ± 1,29 a	-	1,6 ± 0,43 a	-
	0,25	76,7 ± 2,9 a	3,2 ± 0,82 a	-	1,8 ± 0,18 a	-
	0,5	78,3 ± 11,5 a	2,9 ± 0,64 a	-	1,9 ± 0,80 a	-
	1	81,7 ± 2,9 a	2,6 ± 0,48 a	-	2,1 ± 0,30 a	-
3d	0,1	81,7 ± 5,8 a	3,4 ± 1,02 a	-	2,1 ± 0,52 a	-
	0,25	76,7 ± 16,1 a	3,0 ± 1,38 a	-	1,9 ± 0,76 a	-
	0,5	88,3 ± 2,9 a	4,2 ± 1,04 a	-	2,2 ± 0,57 a	-
	1	93,3, ± 2,9 a	3,5 ± 0,96 a	-	2,3 ± 0,46 a	-

* solução aquosa de Tween 80 a 0,5% (m/v); ** % de inibição em relação ao controle negativo,

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não havendo diferença estatisticamente significativa entre os efeitos produzidos pelos compostos **3a-d**, os compostos **3e** e **3f**, que apresentam grupo alcóxila com um e quatro átomos de carbono, respectivamente, foram selecionados para serem submetidos a reações de esterificação de suas hidroxilas fenólicas, de modo a produzir uma nova série de compostos **5a-h** e **6a-e**, cujas estruturas são apresentadas na Figura 13. Os resultados dos testes de atividade fitotóxica desses compostos sobre sementes de pepino são apresentados na Tabela 4. A solução de Tween 0,5 % (m/v) foi novamente utilizada como controle negativo e o herbicida comercial pré-emergente Dual Gold foi utilizado como controle positivo.

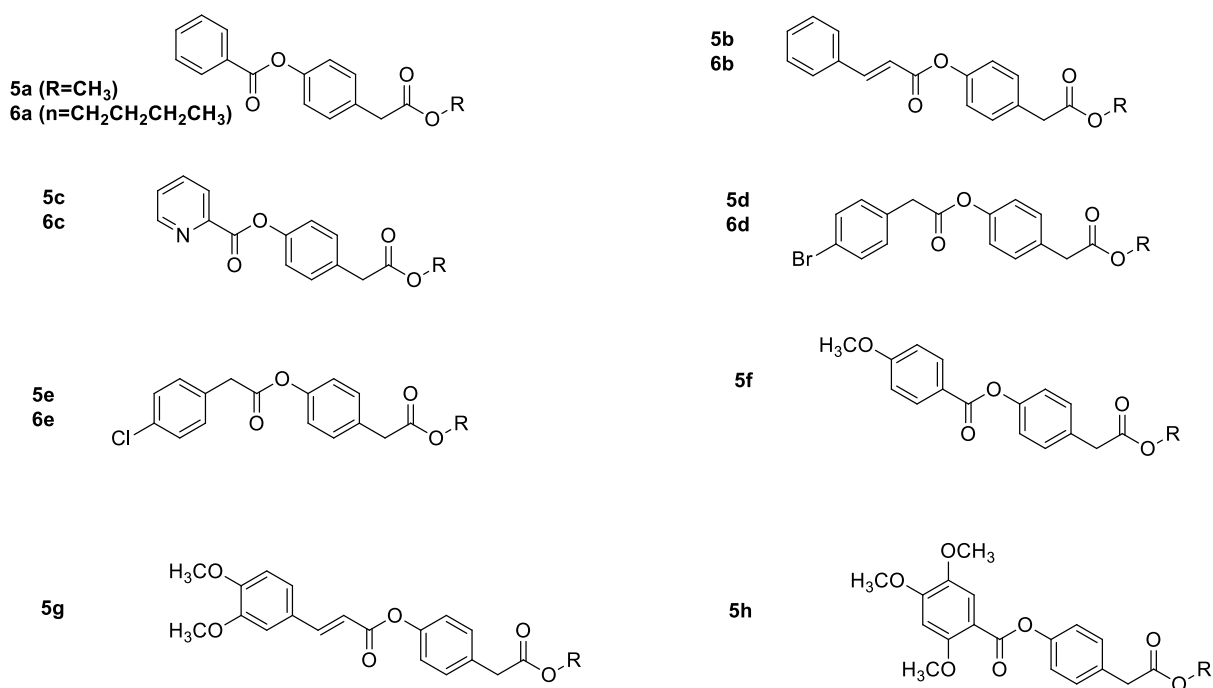


Figura 13. Estruturas químicas dos O-fenil éteres **5a-h** (R=CH₃) derivados do composto **3e** e **6a-e** (R=CH₂CH₂CH₂CH₃) derivados do composto **3f**.

Assim como observado para seus precursores **3e** e **3f**, nenhum dos compostos das séries **5** e **6** inibiu a germinação de pepino, mas alguns inibiram a germinação de sorgo em até 78 %, como o éster **5d**, superando a inibição do controle positivo Dual. Quanto aos efeitos sobre o crescimento das plântulas, os compostos apresentando átomo de halogênio ligados ao anel aromático (**5d**, **5e**, **6d** e **6e**) apresentaram efeito relevante. A título de ilustração, a Figura 14 a seguir mostra os efeitos produzidos pelo composto **5d** sobre as sementes de pepino em comparação ao controle negativo, e a Figura 15 mostra os efeitos do composto **5e** em diferentes concentrações sobre as sementes de pepino.



Figura 14: Efeito do composto **5d** a 1 mmol/L (em triplicata) sobre plântulas de pepino.



Figura 15: Efeito de soluções do composto **5e** nas concentrações 1; 0,5; 0,25 mmol/L sobre as sementes de pepino.

Tabela 3: Efeitos dos ésteres da segunda série sobre o desenvolvimento das sementes de Pepino

Produto	Concentração (mmol/L)	Germinação (%)	Cresc. Raiz (cm)	% de inibição**	Cresc. Caule (cm)	% de inibição
C. negativo	-----	100 ± 0 a	4,85 ± 1,62a	-----	0,83 ± 0,46a	-----
DUAL GOLD	0,1	91,70 ± 10,40 a	1,30 ± 0,14b	73	1,27 ± 0,15a	-
	0,25	95,00 ± 5,00 a	0,98 ± 0,16b	80	0,76 ± 0,37a	-
	0,5	100 ± 0 a	1,02 ± 0,20b	79	0,89 ± 0,47a	-
	1	91,70 ± 14,40 a	0,73 ± 0,13b	85	0,37 ± 0,13a	-
5a	0,1	100 ± 0 a	4,34 ± 1,07a	-	0,80 ± 0,28a	-
	0,25	98,3 ± 2,9 a	2,81 ± 1,70a	-	0,73 ± 0,70a	-
	0,5	96,7 ± 2,9 a	3,91 ± 0,27a	-	0,65 ± 0,10a	-
	1	100 ± 0 a	3,16 ± 1,17a	-	0,41 ± 0,36a	-
6a	0,1	100 ± 0 a	2,50 ± 0,60b	48	0,18 ± 0,17b	78
	0,25	100 ± 0 a	2,57 ± 0,28b	47	0,25 ± 0,07a	-
	0,5	98,3 ± 2,9 a	2,41 ± 0,37b	50	0,22 ± 0,05a	-
	1	100 ± 0 a	2,17 ± 0,17b	55	0,13 ± 0,11b	84
5b	0,1	95 ± 5 a	3,32 ± 0,23a	-	0,43 ± 0,13a	-
	0,25	100 ± 0 a	4,98 ± 2,36a	-	0,82 ± 0,95a	-
	0,5	98,3 ± 2,9 a	3,48 ± 0,61a	-	0,47 ± 0,28a	-
	1	100 ± 0 a	4,45 ± 1,70a	-	0,70 ± 0,73a	-
6b	0,1	98,3 ± 2,9 a	2,84 ± 0,17a	-	0,29 ± 0,13a	-
	0,25	100 ± 0 a	3,72 ± 0,35a	-	0,38 ± 0,20a	-
	0,5	98,3 ± 2,9 a	3,17 ± 1,26a	-	0,24 ± 0,39a	-
	1	98,3 ± 2,9 a	4,21 ± 0,22a	-	0,60 ± 0,43a	-
5c	0,1	100 ± 0 a	4,53 ± 0,63a	-	0,89 ± 0,24a	-
	0,25	98,3 ± 2,9 a	5,00 ± 1,16a	-	1,27 ± 0,31a	-
	0,5	100 ± 0 a	4,06 ± 0,91a	-	0,65 ± 0,30a	-
	1	100 ± 0 a	3,06 ± 0,51a	-	0,43 ± 0,15a	-
6c	0,1	100 ± 0 a	3,51 ± 1,06a	-	0,59 ± 0,35a	-
	0,25	100 ± 0 a	2,78 ± 0,41a	-	0,47 ± 0,08a	-
	0,5	100 ± 0 a	2,92 ± 0,79a	-	0,34 ± 0,18a	-
	1	96,7 ± 2,9 a	4,21 ± 0,67a	-	0,71 ± 0,21a	-

5d	0,1	100 ± 0 a	2,00 ± 0,48b	59	0,55 ± 0,09a	-
	0,25	100 ± 0 a	1,09 ± 0,11b	77,5	0,49 ± 0,11a	-
	0,5	95 ± 8,7 a	0,82 ± 0,13b	83	0,47 ± 0,16a	-
	1	96,7 ± 5,8 a	0,53 ± 0,04b	89	0,12 ± 0,10b	85
6d	0,1	75 ± 39,1 a	1,44 ± 1,08b	70	0,49 ± 0,11a	-
	0,25	100 ± 0 a	1,25 ± 0,32b	74	0,37 ± 0,13a	-
	0,5	98,3 ± 2,9 a	0,97 ± 0,16b	80	0,25 ± 0,09a	-
	1	88,3 ± 16,1 a	0,65 ± 0,16b	87	0,28 ± 0,14a	-
5e	0,1	100 ± 0 a	1,54 ± 0,52b	68	0,29 ± 0,17a	-
	0,25	98,3 ± 2,9 a	1,00 ± 0,03b	79	0,21 ± 0,02b	75
	0,5	100 ± 0 a	0,69 ± 0,07b	86	0,11 ± 0,03b	87
	1	100 ± 0 a	0,74 ± 0,08b	85	0,05 ± 0,01b	94
6e	0,1	91,7 ± 2,9 a	2,19 ± 0,37b	55	0,47 ± 0,28a	-
	0,25	100 ± 0 a	1,22 ± 0,10b	75	0,31 ± 0,11 a	-
	0,5	98,3 ± 2,9 a	0,80 ± 0,10 b	83,5	0,10 ± 0,09b	88
	1	96,7 ± 2,9 a	0,70 ± 0,06b	85	0,08 ± 0,04b	90
5f	0,1	100 ± 0 a	2,94 ± 0,72a	-	0,29 ± 0,16a	-
	0,25	100 ± 0 a	2,80 ± 0,43a	-	0,16 ± 0,14a	-
	0,5	100 ± 0 a	2,93 ± 0,85a	-	0,29 ± 0,22a	-
	1	98,3 ± 2,9 a	2,94 ± 0,58a	-	0,31 ± 0,13	-
5g	0,1	100 ± 0 a	2,95 ± 0,08a	-	0,22 ± 0,06b	73
	0,25	98,3 ± 2,9 a	2,69 ± 0,22b	44	0,17 ± 0,01b	79,5
	0,5	100 ± 0 a	2,86 ± 0,54a	-	0,14 ± 0,15b	83
	1	100 ± 0 a	3,50 ± 0,32a	-	0,30 ± 0,12a	-
5h	0,1	100 ± 0 a	2,84 ± 0,16a	-	0,33 ± 0,06a	-
	0,25	98,3 ± 2,9 a	3,58 ± 0,14a	-	0,25 ± 0,15a	-
	0,5	98,3 ± 2,9 a	3,51 ± 0,72a	-	0,33 ± 0,18a	-
	1	100 ± 0 a	3,51 ± 0,56a	-	0,23 ± 0,12a	-

* solução aquosa de Tween 80 a 0,5% (m/v); ** % de inibição em relação ao controle negativo,

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4: Efeitos dos ésteres da segunda série sobre o desenvolvimento das sementes de Sorgo

Produto	Concentração (mmol/L)	Germinação (%)	% de inibição*	Cresc. Raiz (cm)	% de inibição**	Cresc. Caule (cm)	% de inibição*
C. negativo	-----	85,00 ± 10,00 a	85,00 ± 10,00	2,31 ± 0,67 a	-----	0,78 ± 0,07 a	-----
DUAL GOLD	0,1	73,30 ± 5,8 ab	--	1,60 ± 0,31 b	31	0,49 ± 0,07 b	37
	0,25	56,70 ± 5,80 bc	33	0,66 ± 0,24 b	71	0,41 ± 0,11 b	47
	0,5	31,70 ± 12,60 cd	63	0,30 ± 0,11 c	87	0,26 ± 0,03 c	67
	1	23,30 ± 10,40 d	73	0,14 ± 0,05 c	94	0,25 ± 0,06 c	68
5a	0,1	81,70 ± 16,10 a	--	3,16 ± 1,52 a	--	1,26 ± 0,29 a	--
	0,25	78,30 ± 15,30 a	--	1,74 ± 0,80 a	--	1,27 ± 0,15 a	--
	0,5	83,30 ± 10,40 a	--	1,47 ± 0,61 a	--	1,14 ± 0,07 a	--
	1	55,00 ± 15,00 a	--	0,42 ± 0,09 c	--	0,78 ± 0,22 a	--
6a	0,1	80,00 ± 10,00 a	--	2,74 ± 1,21 a	--	1,36 ± 0,13 b	-74
	0,25	63,30 ± 2,90 a	--	2,28 ± 0,21 a	--	1,04 ± 0,11 a	--
	0,5	66,70 ± 5,80 a	--	2,00 ± 0,66 a	--	1,16 ± 0,17 b	-49
	1	53,30 ± 12,60 b	37	1,76 ± 0,24 a	--	0,72 ± 0,14 a	--
5b	0,1	68,30 ± 12,60 a	--	1,50 ± 0,73 a	--	0,81 ± 0,16 a	--
	0,25	65,00 ± 0,00 a	--	1,14 ± 0,09 a	--	0,85 ± 0,04 a	--
	0,5	78,30 ± 7,60 a	--	1,47 ± 0,55 a	--	1,07 ± 0,19 a	--
	1	86,70 ± 2,90 a	--	1,17 ± 0,25 a	--	0,97 ± 0,14 a	--
6b	0,1	83,30 ± 7,60 a	--	3,30 ± 0,51 a	--	1,12 ± 0,10 b	-44
	0,25	76,70 ± 11,50 a	--	2,38 ± 0,70 a	--	1,04 ± 0,03 a	--
	0,5	81,70 ± 20,20 a	--	1,92 ± 0,84 a	--	1,14 ± 0,19 b	-46
	1	78,30 ± 5,80 a	--	1,82 ± 0,22 a	--	1,11 ± 0,09 b	-42
5c	0,1	80,00 ± 5,00 a	--	3,65 ± 0,63 a	--	1,16 ± 0,15 a	--
	0,25	78,30 ± 10,4 a	--	2,36 ± 0,68 a	--	1,11 ± 0,08 a	--
	0,5	85,00 ± 8,70 a	--	3,23 ± 0,38 a	--	1,28 ± 0,18 b	-64
	1	61,70 ± 22,50 a	--	2,58 ± 1,41 a	--	0,75 ± 0,22 a	--
6c	0,1	63,30 ± 20,80 a	--	3,05 ± 1,67 a	--	1,05 ± 0,39 a	--
	0,25	83,30 ± 7,60 a	--	3,42 ± 0,19 a	--	1,25 ± 0,06 a	--
	0,5	75,00 ± 13,20 a	--	2,58 ± 0,77 a	--	1,08 ± 0,22 a	--

	1	46,70 ± 2,90 b	45	0,94 ± 0,23 a	--	0,66 ± 0,10 a	--
5d	0,1	71,70 ± 11,50 a	--	0,92 ± 0,22 b	60	1,02 ± 0,21 a	--
	0,25	70,00 ± 8,70 a	--	0,52 ± 0,16 b	77	0,91 ± 0,24 a	--
	0,5	31,70 ± 20,80 b	63	0,19 ± 0,11 b	92	0,74 ± 0,17 a	--
	1	18,30 ± 7,60 b	78	0,09 ± 0,02 b	96	0,59 ± 0,13 a	--
6d	0,1	56,70 ± 11,50 b	33	0,87 ± 0,26 b	62	0,82 ± 0,08 a	--
	0,25	50,00 ± 8,70 b	41	0,36 ± 0,06 b	84	0,77 ± 0,17 a	--
	0,5	33,30 ± 12,60 bc	61	0,26 ± 0,17 b	89	0,78 ± 0,30 a	--
	1	16,70 ± 2,90 c	80	0,10 ± 0,02 b	96	0,50 ± 0,05 a	--
5e	0,1	53,30 ± 24,70 a	--	0,49 ± 0,30 b	79	0,85 ± 0,20 a	--
	0,25	45,00 ± 8,70 b	47	0,30 ± 0,03 b	87	0,80 ± 0,00 a	--
	0,5	36,20 ± 10,40 b	57	0,17 ± 0,05 b	93	0,80 ± 0,09 a	--
	1	23,30 ± 14,40 b	73	0,11 ± 0,05 b	95	0,60 ± 0,04 a	--
6e	0,1	66,70 ± 2,90 ab	--	0,70 ± 0,21 b	70	0,97 ± 0,13 a	--
	0,25	53,30 ± 2,90 bc	37	0,36 ± 0,01 b	84	0,85 ± 0,03 a	--
	0,5	33,30 ± 17,60 cd	61	0,22 ± 0,12 b	90	0,76 ± 0,07 a	--
	1	21,70 ± 15,30 d	74	0,14 ± 0,07 b	94	0,57 ± 0,14 a	--
5f	0,1	73,30 ± 11,50 a	--	2,95 ± 0,71 a	--	0,85 ± 0,07 a	--
	0,25	63,30 ± 5,80 a	--	1,86 ± 0,16 a	--	0,75 ± 0,12 a	--
	0,5	50,00 ± 15,00 b	41	1,00 ± 0,31 b	57	0,62 ± 0,14 a	--
	1	61,70 ± 2,90 a	--	1,82 ± 0,26 a	--	0,72 ± 0,07 a	--
5g	0,1	83,33 ± 7,64 a	--	2,73 ± 0,67 a	--	0,82 ± 0,14 a	--
	0,25	78,33 ± 7,64 a	--	3,38 ± 0,80 a	--	0,83 ± 0,05 a	--
	0,5	80,00 ± 8,66 a	--	2,71 ± 0,45 a	--	0,83 ± 0,07 a	--
	1	80,00 ± 0,00 a	--	2,22 ± 0,38 a	--	0,70 ± 0,05 a	--
5h	0,1	80,00 ± 8,70 a	--	4,21 ± 0,73 a	--	1,10 ± 0,13 a	--
	0,25	75,00 ± 5,00 a	--	3,12 ± 1,01 a	--	0,94 ± 0,04 a	--
	0,5	68,30 ± 11,50 a	--	2,64 ± 0,88 a	--	0,80 ± 0,24 a	--
	1	61,70 ± 7,60 a	--	2,56 ± 0,30 a	--	0,76 ± 0,07 a	--

* solução aquosa de Tween 80 a 0,5% (m/v); ** % de inibição em relação ao controle negativo,

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, ao nível do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2.2. Atividade de inibição por contato – Teste fitotóxico em folha

Todos os compostos foram também testados para seus efeitos como potencial herbicidas de contato, utilizando como plantas-alvo o leiteiro (*E. heterophylla*) e a trapoeraba (*C. benghalensis*), duas espécies invasoras responsáveis por causar grandes perdas agrícolas. Como observado na Tabela 5, os compostos **3c**, **3b**, **6c**, **6e**, **3f** e **3a**, apresentaram excelente atividade fitotóxica contra *E. heterophylla* e os compostos **3a**, **6e** e **3e** apresentaram ótimos resultados contra *C. benghalensis*.

Os efeitos produzidos pelos compostos **3a**, **6e** e **3f** sobre as folhas de *C. benghalensis* são apresentados na Figura 16, e os efeitos dos compostos **3c**, **3b**, **6c**, **6e**, **3f** e **3a** sobre folhas de da *E. heterophylla* são apresentados na Figura 17.

Tabela 5. Diâmetro médio das lesões (mm) causadas sobre folhas de *E. heterophylla* e *C. benghalensis*.

Código	<i>E. heterophylla</i>	<i>C. benghalensis</i>
3a	9,66bc	11,66a
3b	16,00a	2,33def
3c	17,00a	0,66ef
3e	0,00d	8,33b
3f	11,00abc	2,66cdef
3d	0,00d	2,33def
5a	1,00d	0,00f
6a	1,33d	2,33def
5b	3,00d	3,33cde
6b	0,33d	2,66cdef
5c	0,00d	3,33cde
6c	15,66ab	2,33def
5d	2,66d	5,00cd
6d	0,33d	5,33c
5e	1,66d	2,33def
6e	13,66ab	8,66b
5f	5,66cd	4,33cd
5g	2,33d	5,33de
5h	3,00d	1,33ef
Acetona	0,00d	0,00f
C.V.	41,76%	27,85%
C.V. Coeficiente de variação		

É interessante notar que os compostos **5d**, **6d** e **5e**, que apresentaram as melhores atividades inibidoras do crescimento de raiz e caule no teste de inibição do crescimento de plântulas, não produziram efeitos foliares tão relevantes. Isso sugere que, apesar das semelhanças estruturais entre os compostos das séries **5** e **6**, os compostos **5d**, **6d** e **5e** parecem exercer efeito similar a um herbicida de ação foliar, mas não atuam como potenciais herbicidas de ação por contato. Da mesma maneira, os compostos da primeira série **3a-c**, que não apresentaram resultados relevantes no teste fitotóxico em semente, exerceram elevada toxicidade como potenciais herbicidas de contato. Já os ésteres **3e** e **3f**, ambos precursores dos compostos das séries **5** e **6**, apresentaram bons efeitos tanto na inibição do crescimento de plântulas de pepino quanto nos testes sobre as folhas, tendo o composto **3e** apresentado efeito contra *C. benghalensis* e o composto **3f** tendo produzido danos contra *E. heterophylla*.



Figura 16: Folhas de *C. benghalensis* após a aplicação das soluções dos compostos **3a**, **6e** e **3e**.

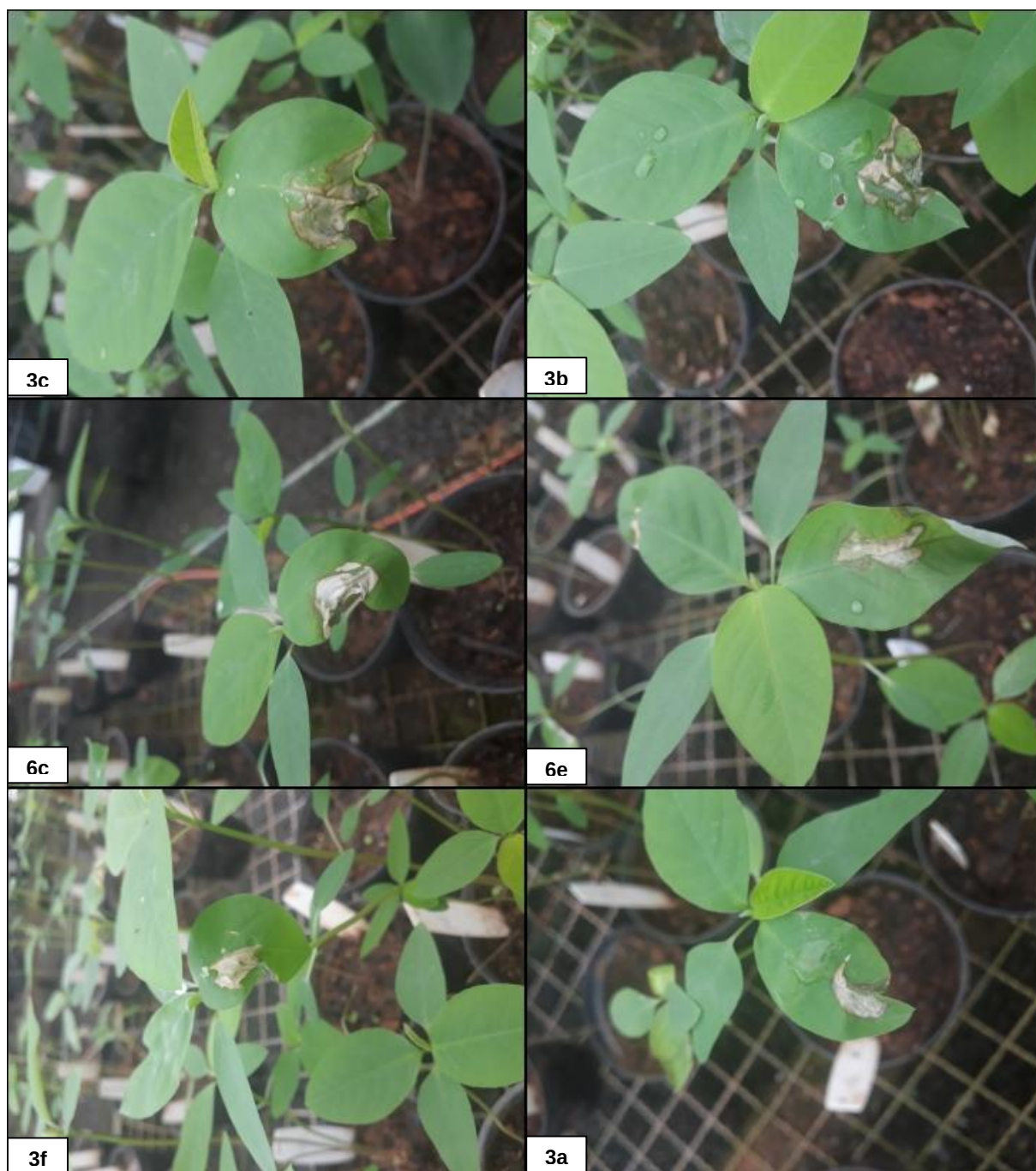


Figura 17: Folhas de *E. heterophylla* após 48 horas da aplicação das soluções dos compostos **3c**, **3b**, **6c**, **6e**, **3f** e **3a**, à 10 mmol/L.

3.2.3. Atividade antifúngica

Os compostos foram também testados quanto às suas atividades antifúngicas contra *Rhizoctonia solani* e *Botrytis cinerea*, duas espécies de fungos fitopatogênicos causadores de grandes prejuízos à agricultura. A espécie fúngica *B. cinerea* é conhecida por causar o mofo cinzento, uma doença que ataca inúmeras espécies vegetais, como plantações de tomate, morango e uva, possuindo alta relevância econômica, devido as grandes perdas que causa na agricultura (BOUKAEW *et al.*, 2017). Já o fungo *R. solani* causa danos na fase inicial do desenvolvimento de plântulas, causando a doença conhecida como tombamento de plântulas, o que impacta em diversas culturas como a do algodão (GOULART, 2018). Os resultados relativos a análise da atividade antifúngica apresentada pelos compostos testados estão expostos na Tabela 6.

Tabela 6: Halo de crescimento micelial (mm) das colônias de *Rhizoctonia solani* e *Botrytis cinerea* tratadas com soluções a 10 mmol/L dos compostos teste.

Código	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
3a	17i	10,25e
3b	33,00h	41,75ab
3c	36,25gh	32,00bc
3e	52,75ab	30,50bc
3f	42,25defgh	41,50ab
3d	55,50a	36,25abc
5a	43,75bcdefg	36,50abc
6a	43,75bcdefg	34,5abc
5b	45,50bcdefg	39,25abc
6b	45,00bcdefg	36,25abc
5c	46,25abcdef	36,75abc
6c	39,75efgh	26,00cd
5d	37,50fgh	34abc
6d	42,00defgh	32,25abc
5e	43,25cdefg	46,75a
6e	36,25gh	40,75ab
5f	43,00cdefg	30,75bc
5g	47,00abcde	30,75bc
5h	44,75bcdefg	33,00abc

Controle negativo ^a	52,00abc	42,75ab
Acetona ^b	50,50abcd	37,25abc
CAPTAN ^c	6,00j	6,00e
C.V.	8,19%	16,6%

^afungo crescido na ausência de qualquer tratamento; ^b branco (acetona PA); ^c controle positivo; As médias dos tratamentos seguidos por letras diferentes são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Observa-se que a solução do composto **3a** a 10 mmol/L produziu grande redução do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, obtendo-se diâmetro médio das colônias em 17 mm, quando comparados aos controles negativos (Tabela 6). É importante mencionar que, embora o fungo ainda tenha apresentado halo de crescimento, o micélio crescido apresentava-se extremamente escasso. Este mesmo composto, **3a**, também produziu acentuada atividade inibidora do crescimento de *B. cinerea*, (diâmetro médio das colônias igual a 10,25 mm), em comparação ao controle negativo e ao branco das soluções (42,75 mm e 37,25 mm de crescimento, respectivamente).

A maior atividade antifúngica foi exercida pelo composto **3a**, para ambas as espécies fúngicas testadas. Nas Figuras 18 e 19, é possível observar como a atividade antifúngica do composto **3a** se assemelhou à atividade do CAPTAN, usado como controle positivo, contra *Rhizoctonia solani* (Figura 18) e *Botrytis cinerea* (Figura 19).

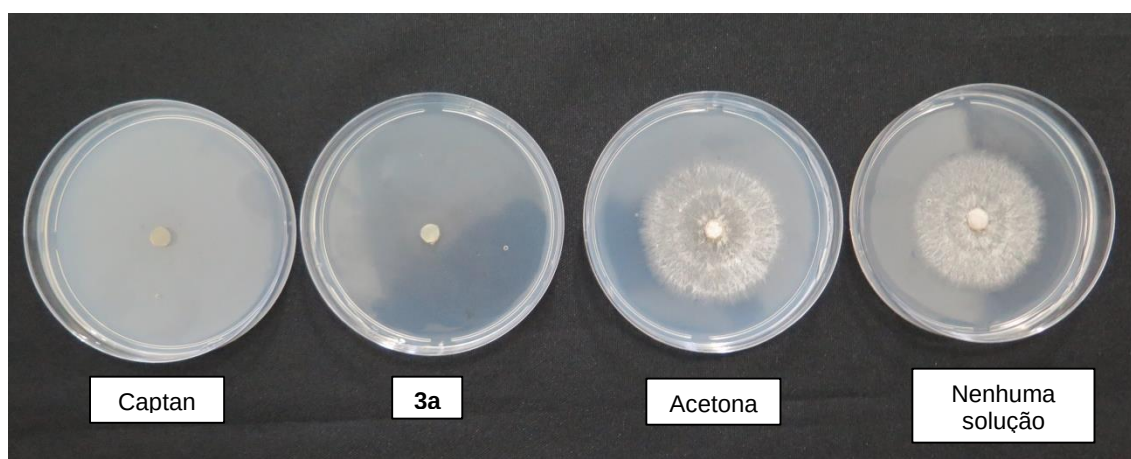


Figura 18: Atividade contra *Rhizoctonia* (Placa 1-Captan; 2-**3a**; 3-Acetona; 4-Sem nenhuma solução)

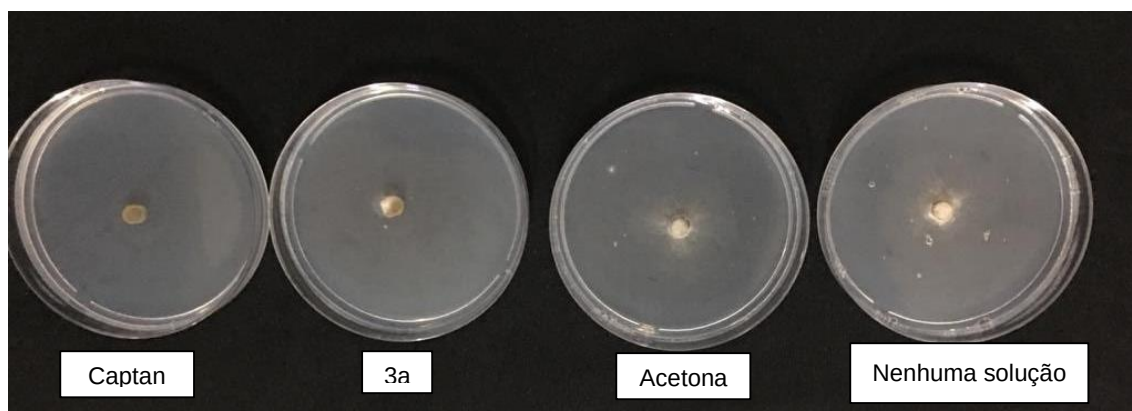


Figura 19: Atividade contra Botrytis (Placa 1- Captan; 2- **3a**; 3- Acetona, 4- Sem nenhuma solução)

Em relação ao crescimento micelial dos fungos na ausência de qualquer tratamento (controle negativo), o CAPTAN inibiu o crescimento micelial de *B. cinerea* em 86 %, enquanto o composto **3a** inibiu em 76 %. Para *R. solani*, o CAPTAN inibiu o crescimento micelial em 88 %, enquanto **3a** inibiu em 67 %.

O controle positivo utilizado, CAPTAN SC, é um fungicida não sistêmico, com ação preventiva, utilizado no controle de doenças fúngicas através da aplicação foliar em diversas culturas, como de batata, cebola, maçã, tomate e uva, além de ser usado no tratamento das sementes de culturas como de algodão, feijão, milho (HAHN, 2014; RAUT *et al.*, 2019).

No revisão de literatura feita por Arce *et al.* (2010), os fungicidas Captan e Folpet, ambos possuindo o grupo SCCl_3 em sua estrutura que tem como produto de degradação o tiofosgênio, são estudados quanto a sua possível toxicidade em animais. Por meio de diversos estudos, foi-se observado que nenhum dos dois fungicidas, quando testados in vivo, produzem mutações genéticas nas células. Porém, caso consigam acesso ao DNA, como nos testes in vitro, eles podem causar mutações tanto em células procariontes quanto eucariontes.

Além da possível toxicidade de fungicidas como os dois citados, estes também enfrentam a resistência de algumas espécies fúngicas a eles. Em trabalhos mais antigos como o de Barak e Edgington (1984), já era relatada na literatura uma resistência ao Captan por espécies de *B. cinerea*, e os teste realizados in vitro pelos autores demonstraram uma resistência cruzada de *B. cinerea* aos fungicidas Captan, Folpet, Captafol, entre outros. Em trabalhos mais recentes como o de Hahn (2014), é relatado que fungicidas como o Captan que possuem modo de ação não seletivo, possuem menor risco da espécie fúngica criar resistência ao mesmo.

Dessa maneira, o éster **3a** sintetizado neste trabalho foi considerado um potencial fungicida devido aos resultados apresentados.

3.2.4. Atividade antioxidante da primeira série de compostos (3a-3f)

A atividade antioxidante do precursor, o ácido 4-hidróxifenilacético, já foi descrita na literatura. Como exemplo, o trabalho de Yuji *et al.* (2007) objetivou determinar se a atividade antioxidante do ácido 4-hidroxifenilacético poderia ser aumentada caso houvesse um aumento da capacidade do antioxidante se acumular na superfície de emulsões do tipo óleo em água, através da conjugação de cadeias de hidrocarboneto. Dessa forma, os autores sintetizaram ésteres utilizando-se os álcoois butanol e dodecanol e verificaram que o (4-hidroxifenil)etanoato de butila (**3f**) apresentava atividade antioxidante.

Os resultados do trabalho em questão permitiram concluir, por meio de um teste de oxidação lipídica, que os ésteres apresentaram menores atividades antioxidantes que o ácido precursor. Para confirmar que a adição de cadeias de hidrocarbonetos diminuiria a atividade antioxidante, os compostos foram avaliados pelo ensaio de capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), usando-se AAPH e Fluoresceína. Foi observado por este ensaio que, de fato, a atividade dos ésteres era menor que a do ácido HPA, sendo isso atribuído a possibilidade da cadeia carbônica aumentar a energia que seria necessária para dissociar o hidrogênio pertencente ao grupo hidroxila.

Apesar deste relato, decidimos avaliar a atividade antioxidante dos seis ésteres do ácido 4-hidroxifenilacético (**3a-f**), utilizando-se o ensaio de captura do radical orgânico DPPH. O controle positivo utilizado foi o BHT e, como mostrado no gráfico da Figura 20, o mesmo apresenta em sua maior concentração testada (250 µg/mL), atividade antioxidante por volta de 80 %.

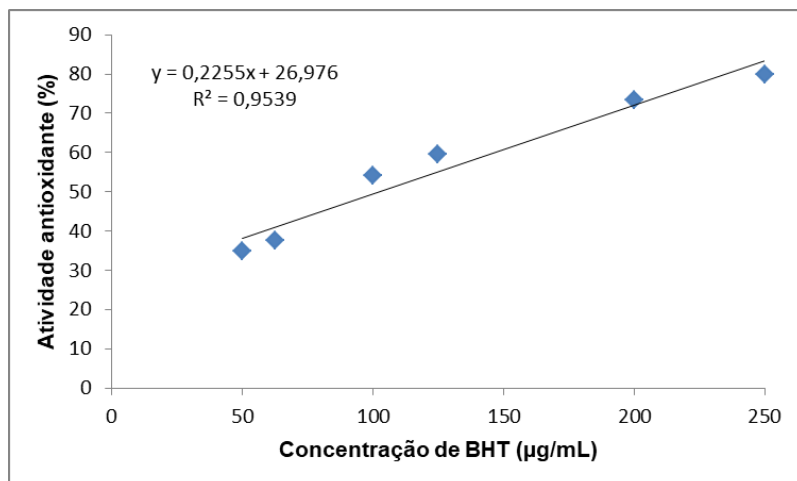


Figura 20: Gráfico relativo à atividade antioxidante do controle positivo, BHT

No gráfico da Figura 21 estão apresentados os resultados dos testes de atividade antioxidante. Analisando-se os resultados, o ácido 4-hidroxifenilacético manteve-se com melhor atividade antioxidante, o que está de acordo com os resultados encontrados no trabalho de Yuji *et al.* (2007). Ainda assim, na maior concentração testada (1000 µg/mL), quatro vezes maior que a maior concentração do BHT usada, o ácido 4-hidroxifenilacético não chegou a atingir 12% de inibição dos radicais livres. Os ésteres **3c** e **3f** obtiveram resultados parecidos com o do HPA, confirmando que ésteres com cadeias longas provenientes do ácido 4-hidroxifenilacético não aumentam a atividade antioxidante apresentada pelo precursor. Os dois ésteres que contêm dois grupos aromáticos em suas estruturas, **3a** e **3b**, obtiveram os piores resultados, tendo praticamente 0 % de atividade antioxidante até a concentração de 500 µg/mL.

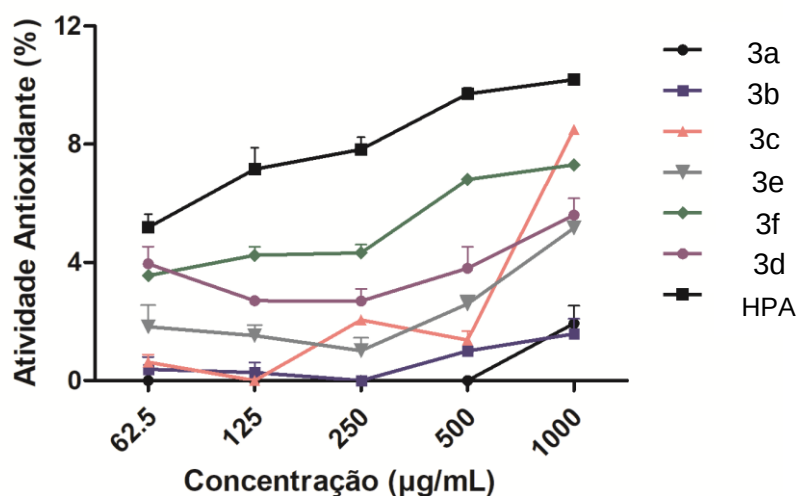


Figura 21: Gráfico da atividade antioxidante dos ésteres da 1ª série

3.2.5. Atividade de inibição da enzima Acetilcolinesterase

Na Tabela 7 estão dispostos os resultados do teste de inibição da enzima AChE. Apenas os compostos **5e** e **5h** não foram avaliados quanto a sua possível atividade de inibição da enzima.

Tabela 7: Resultados dos testes de atividade inibidora da acetilcolinesterase.

Compostos	Atividade enzimática (%)	Desvio Padrão
Galantamina ^a	88,55	1,76
3a	2,86	4,41
3b	11,91	5,11
3c	4,88	1,10
3e	2,86	0,79
3f	2,99	6,81
3d	5,34	8,17
5a	5,44	2,47
6a	13,56	1,34
5b	6,09	2,47
6b	9,91	2,32
5c	14,11	2,28
6c	23,14	2,75
5d	25,85	2,84
6d	15,25	2,34
5e	15,12	6,75
6e	11,06	1,72
5f	13,18	2,26

^bcontrole positivo

Como observado na Tabela 7, nenhum dos compostos sintetizados apresentou atividade de inibição contra a enzima AChE.

Considerando o potencial uso como herbicida, a não inibição da AChE é um fator positivo, uma vez que herbicidas que possuem como mecanismo de ação a inibição da enzima AChE para o controle de plantas daninhas apresentam risco quanto a possíveis intoxicações em organismos não-alvos, como peixes e anfíbios (DEY *et al.*, 2016).

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho, o ácido 4-hidroxifenilacético, produzido como fitotoxina natural por fungos fitopatogênicos, foi esterificado com diferentes ácidos graxos na busca por compostos com atividade potencial para uso como herbicidas. Esta linha de pesquisa, que busca na natureza moléculas a serem usadas como modelos para o desenvolvimento de compostos derivados com atividades de interesse agrícola, tem sido considerada uma estratégia promissora. Os compostos sintetizados não inibiram a germinação de pepino e sorgo, usadas como plantas indicadores. Entretanto, alguns desses compostos inibiram o crescimento radicular e de caule de plântulas de pepino. Dois desses compostos foram submetidos à reação de esterificação de suas hidroxilas fenólicas para obtenção de *O*-fenil ésteres que apresentaram melhores efeitos fitotóxicos sobre sementes que seus compostos precursores, inibindo em até 96 % o crescimento de plântulas e tendo alguns dos compostos inibido a germinação do pepino. Os resultados indicam que esses compostos apresentam potencial para o desenvolvimento de herbicidas pré-emergentes.

Além disso, alguns dos compostos apresentaram excelentes atividades fitotóxicas quando aplicados sobre folhas de *E. heterophylla* e *C. benghalensis*, apresentando, portanto, elevado potencial para uso como herbicidas de contato. Ainda, os compostos foram avaliados quanto às suas atividades antifúngicas contra *R. solani* e *B. cinerea*, tendo o 2-(4-hidroxifenil)acetato de benzila apresentado elevada atividade contra ambas as espécies. Contra *B. cinerea*, esse composto apresentou atividade estatisticamente igual ao fungicida comercial CAPTAN, que constitui o principal fungicida preventivo usado em diversas culturas. Dado o desenvolvimento de resistência de diferentes espécies fúngicas contra vários fungicidas atualmente disponíveis, incluindo resistência de *B. cinerea* e *R. solani* contra o CAPTAN, e tendo em vista o surgimento de biótipos de plantas daninhas resistentes aos vários herbicidas de amplo espectro, os compostos produzidos no presente trabalho apresentam elevado potencial para contribuir para o desenvolvimento de novos pesticidas.

5. REFERÊNCIAS

- ARCE, G.T., *et al.* Genetic toxicology of folpet and captan. *Critical Reviews in Toxicology*, 40 (6): 546-574, 2010.
- ARMAREGO, W. L. F., PERRIN, D. D. Purification of laboratory chemicals. 4th ed. Oxford: Butterworth Heinemann, 529 p., 2000.
- BARAK, E., EDGINGTON, L.V. Cross-resistance of *Botrytis cinerea* to captan, thiram, chlorothalonil, and related fungicides. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 6: 318-320, 1984.
- BARBOSA, L.C. Espectroscopia no Infravermelho – Na caracterização de compostos orgânicos. Editora UFV, 2007.
- BOUKAEW, S., *et al.* Biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea* by using *Streptomyces* spp. *BioControl*, 2017.
- CAPASSO, R., Cristinzio, G., Evidente, A., Scognamiglio, F. Isolation, Spectroscopy and Selective Phytotoxic Effects of Polyphenols from Vegetable Waste Waters. *Phytochemistry*, vol. 31, n. 12, pp. 4125-4128, 1992.
- CIMMINO, Alessio., *et al.* Phytotoxic Metabolites Produced by *Diaportheella cryptica*, the Causal Agent of Hazelnut Branch Canker. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2018, 66.13: 3435-3442.
- COHEN, Seth M., *et al.* Enterobactin protonation and iron release: Hexadentate tris-salicylate ligands as models for triprotonated ferric enterobactin1. *Journal of the American Chemical Society*, v. 120, n. 25, p. 6277–6286, 1998.
- COVAS, M.I., Ruiz-Gutiérrez, V., Torre de la, R., Kafatos, A., Lamuela-Raventós, R.M., Osada, J., Owen, R.W., Visioli, F. Minor Components of Olive Oil: Evidence to Date of Health Benefits in Humans. *Nutrition Reviews*, vol. 64, n. 10, 2006.
- DEY, S., *et al.* Integrative assessment of biomarker responses in teleostean fishes exposed to glyphosate-based herbicide (Excel Mera 71). *Emerging Contaminants*, 191-203, 2016.
- GAMBOA-ANGULO, M.M., *et al.* Novel Dimeric Metabolites from *Alternaria tagetica*. *Journal of Natural Products*, vol. 63, No. 8, 1117-1120, 2000.
- GOULART, A.C.P. Severidade Quantificada. *Revista Cultivar*, 2018.
- HAHN, M. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *J. Chem. Biol.*, 2014.
- HALLET, S. G. Where are the bioherbicides? *Weed Science*, 53: 404-415, 2005.
- KAMIYAMA, A., *et al.* Phosphonate-based irreversible inhibitors of human c-glutamyl transpeptidase (GGT). GGsTop is a non-toxic and highly selective inhibitor with critical

electrostatic interaction with an active-site residue Lys562 for enhanced inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2016.

KOLACZKOWSKI, M.A., *et al.* Stepwise Bay Annulation of Indigo for the Synthesis of Desymmetrized Electron Acceptors and Donor-Acceptor Constructs. *Organic Letters*, 18 (20), 5224-5227, 2016.

LOU, J., *et al.* Metabolites from *Alternaria* Fungi and Their Bioactivities. *Molecules*, 18 (5), 5891-5935, 2013.

MARCHI, G. *et al.* Herbicidas: mecanismos de ação e uso. EMBRAPA Cerrados, Planaltina, DF, 2008.

PEDRAS, M. Soledade C.; AHIAHONU, Pearson WK. Phytotoxin production and phytoalexin elicitation by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of chemical ecology*, 2004, 30.11: 2163-2179.

PEREIRA, W.L., *et al.* Ação antiproliferativa do flavonóide morina e do extrato da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) contra a linhagem de célula H460. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v. 17, n.4, p. 798-806, 2015.

PINTO, M.E.A., *et al.* Efeito alelopático dos ésteres metílicos dos ácidos graxos obtidos de óleos de milho e girassol. *Biochemistry and Biotechnology Reports*, v. 2, n.1, 2013.

RAUT, I.D. *et al.* Efficacy of non-systemic fungicides against *A. macrospora* causing leaf spot of Bt Cotton. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1): 1481-1483, 2019.

ROCHA, M.P., *et al.* Combined in Vitro Studies and in Silico Target Fishing for the Evaluation of the Biological Activities of *Diphylleia cymosa* and *Podophyllum hexandrum*. *Molecules*, 2018.

RUFINO, M.S., *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. *Comunicado Técnico Online*, Fortaleza, 2007.

TAYLOR, S. R. Synthesis of biaryl substituted isoquinolines based on the reticuline scaffold. PhD thesis, Department of Chemistry, University of Wollongong, 2006.

VAREJÃO, E.V.V. Isolamento, caracterização química e avaliação da atividade fitotóxica de metabólitos produzidos pelo fungo *Alternaria euphorbiicola*. Tese (doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 159 f., 2012.

VISSERS, M.N., *et al.* Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 955-965, 2004 (58).

VURRO, M., *et al.* Fungal Phytotoxins in Sustainable Weed Management. *Current Medicinal Chemistry*, 268-286, 2018.

WIDMER, R.J., *et al.* Beneficial effects of polyphenol-rich olive oil in patients with early atherosclerosis. *European Journal of Nutrition*, 2013.

YUJI, H., *et al.* Ability of Surface-Active Antioxidants To Inhibit Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 11052-11056, 2007.

ZHOU, D., *et al.* Preparation and antioxidante activity of tyrosol and hydroxytyrosol esters. *Journal of Functional Foods*, 2017.

APÊNDICE

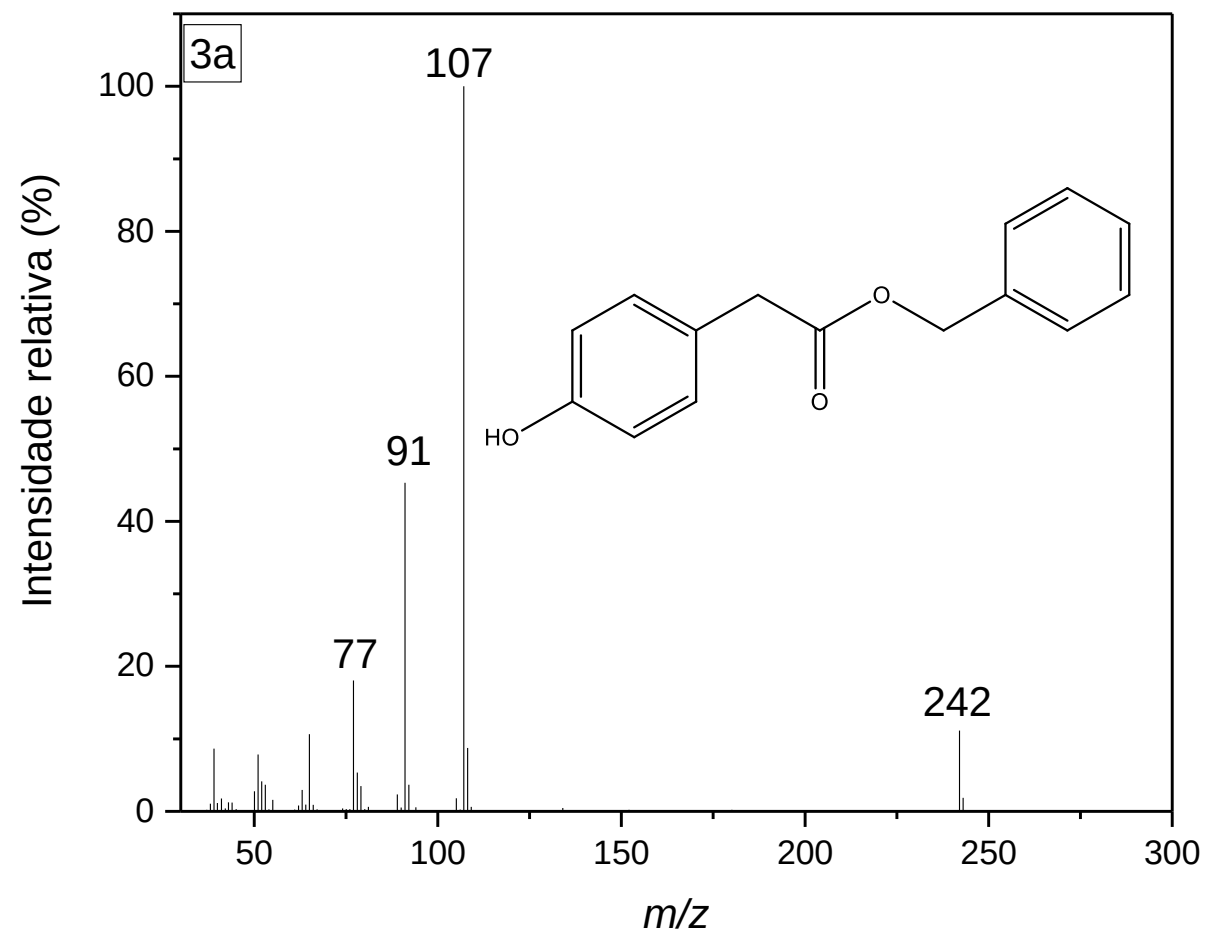


Figura 22: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de benzila (**3a**)

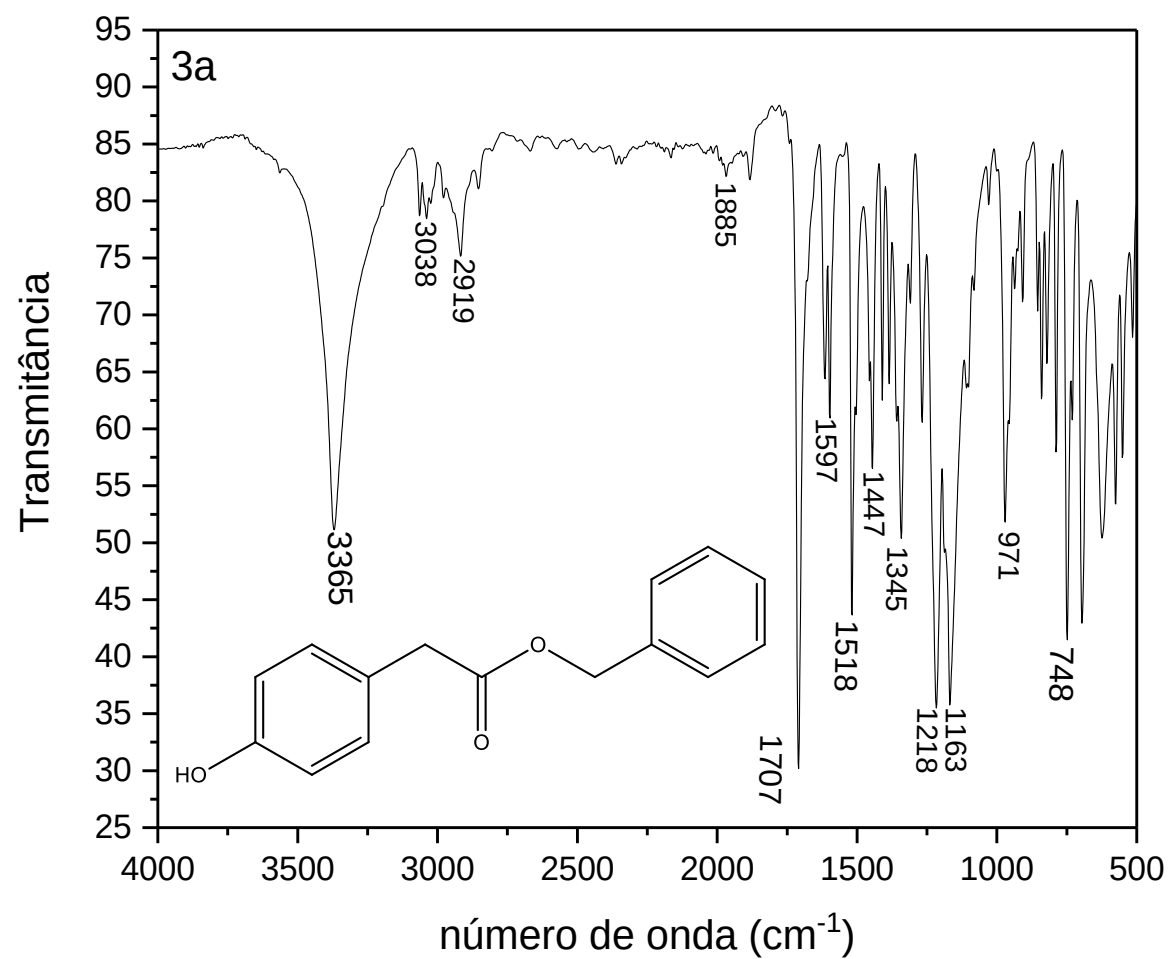


Figura 23: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de benzila (**3a**)

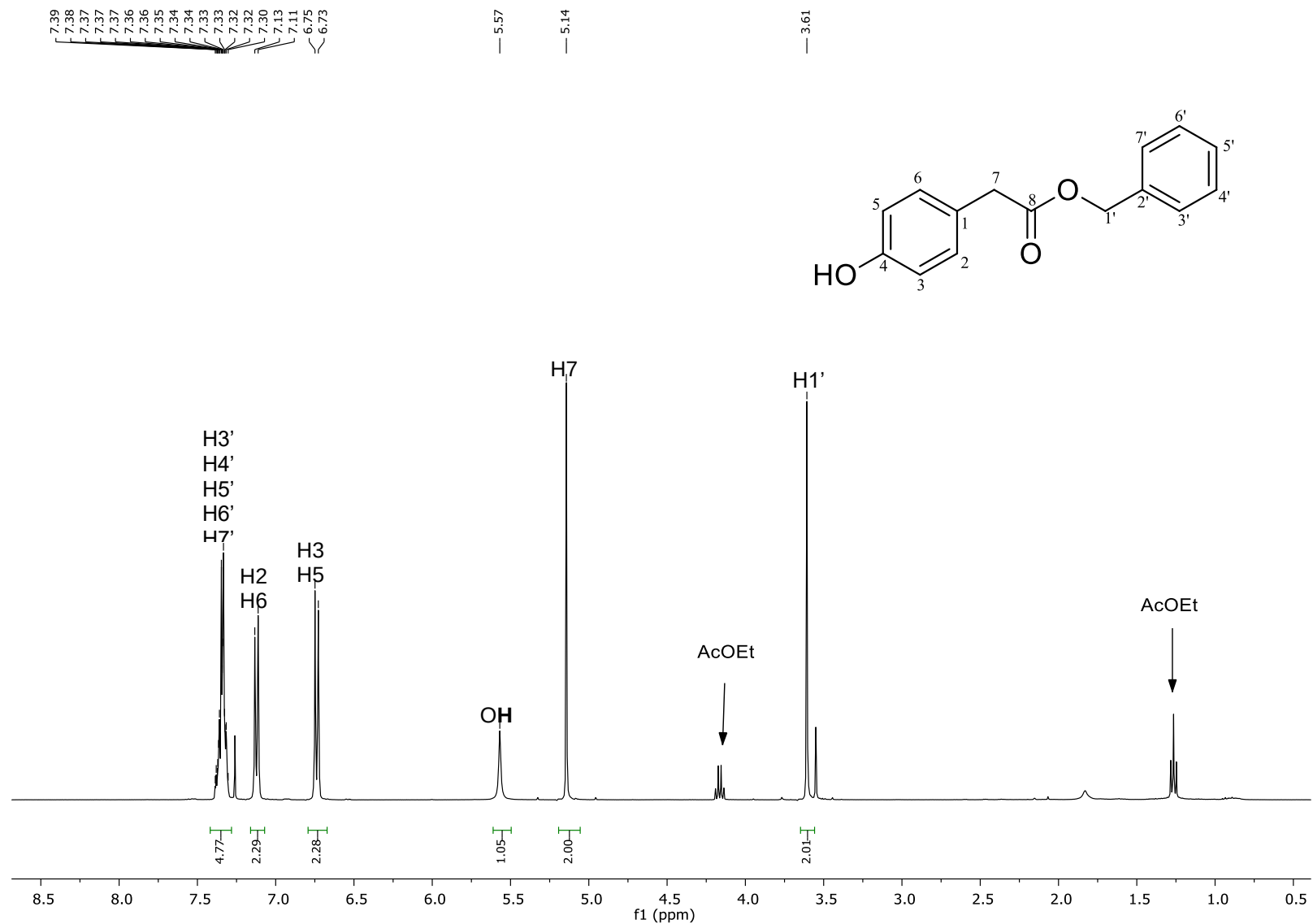


Figura 24: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de benzila (**3a**)

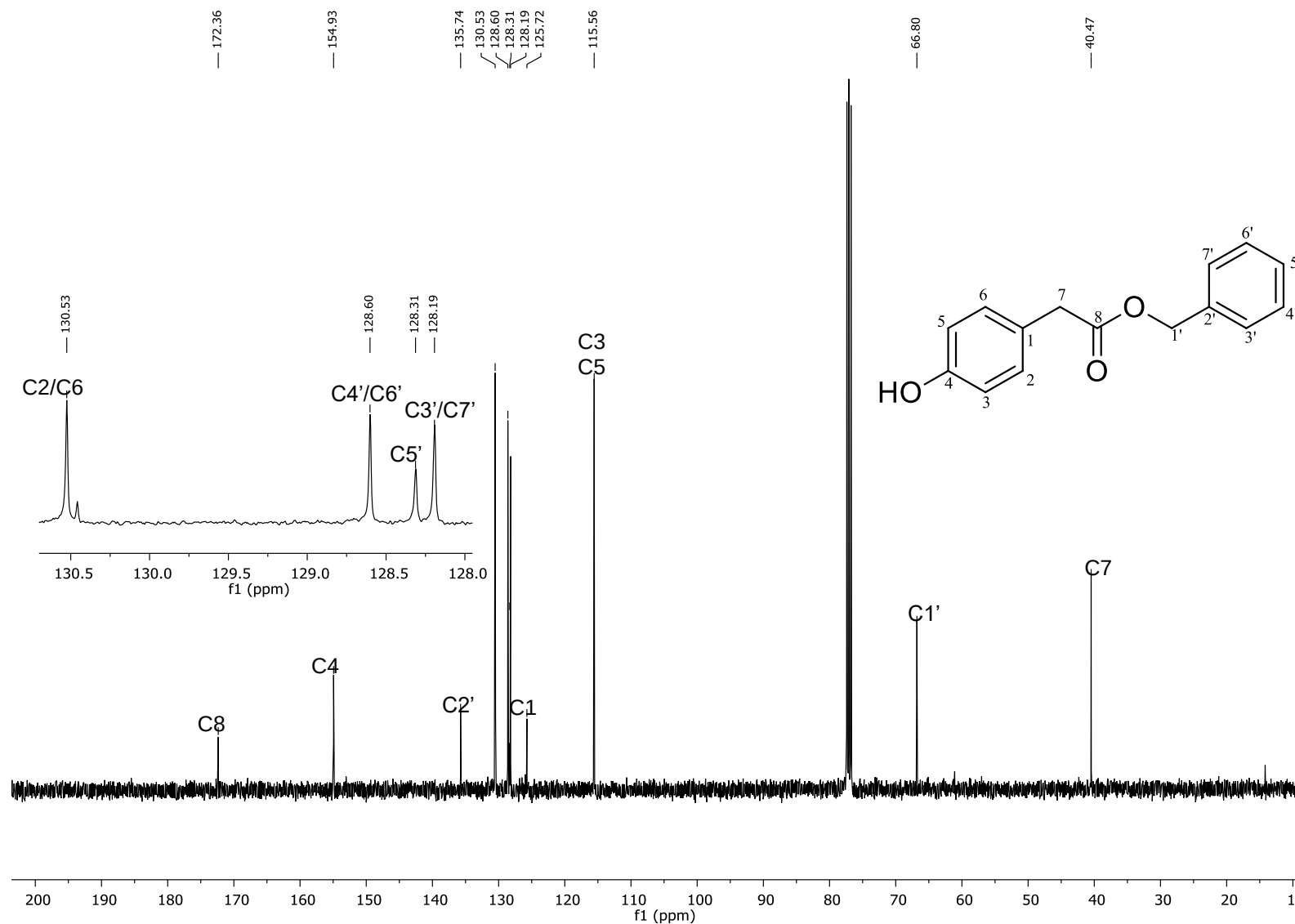


Figura 25: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de benzila (**3a**)

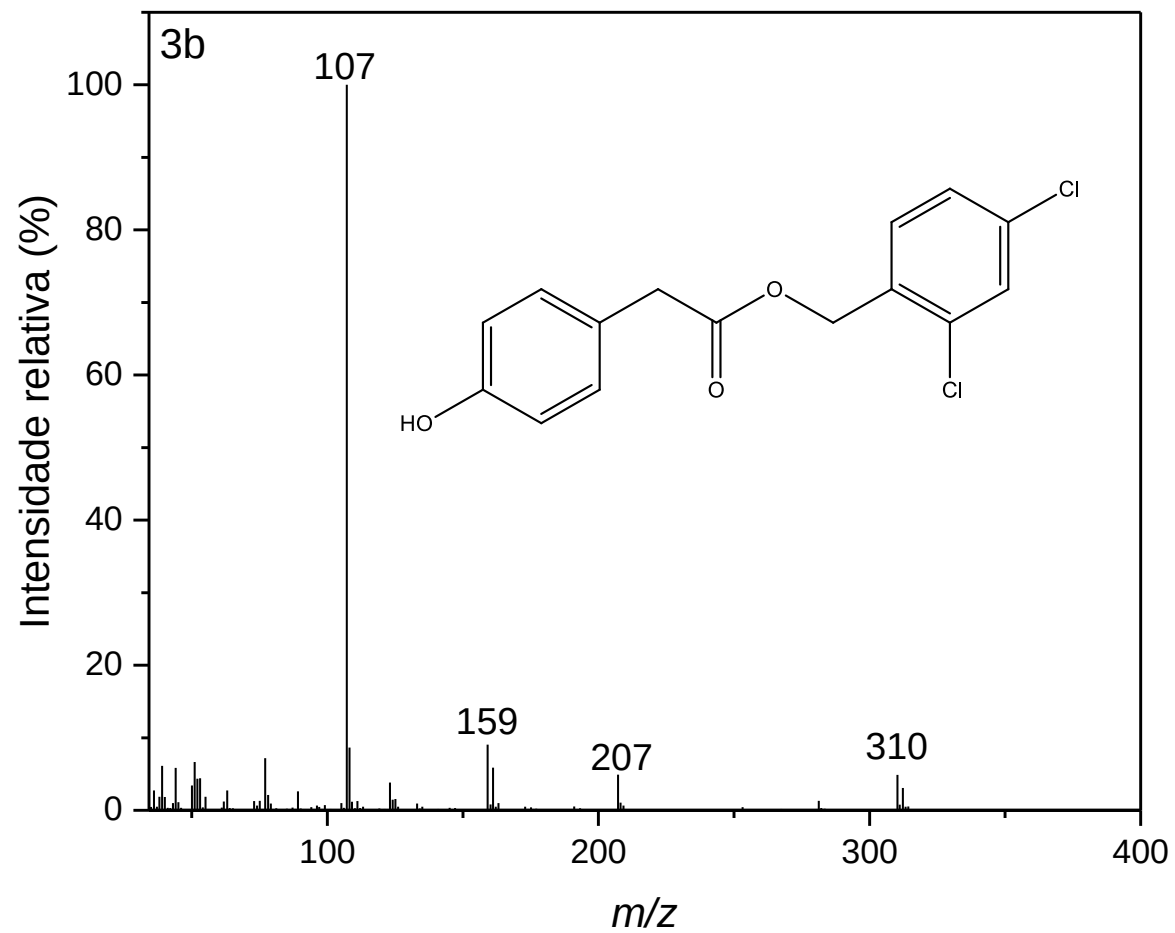


Figura 26: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de 2,4-diclorobenzila (**3b**)

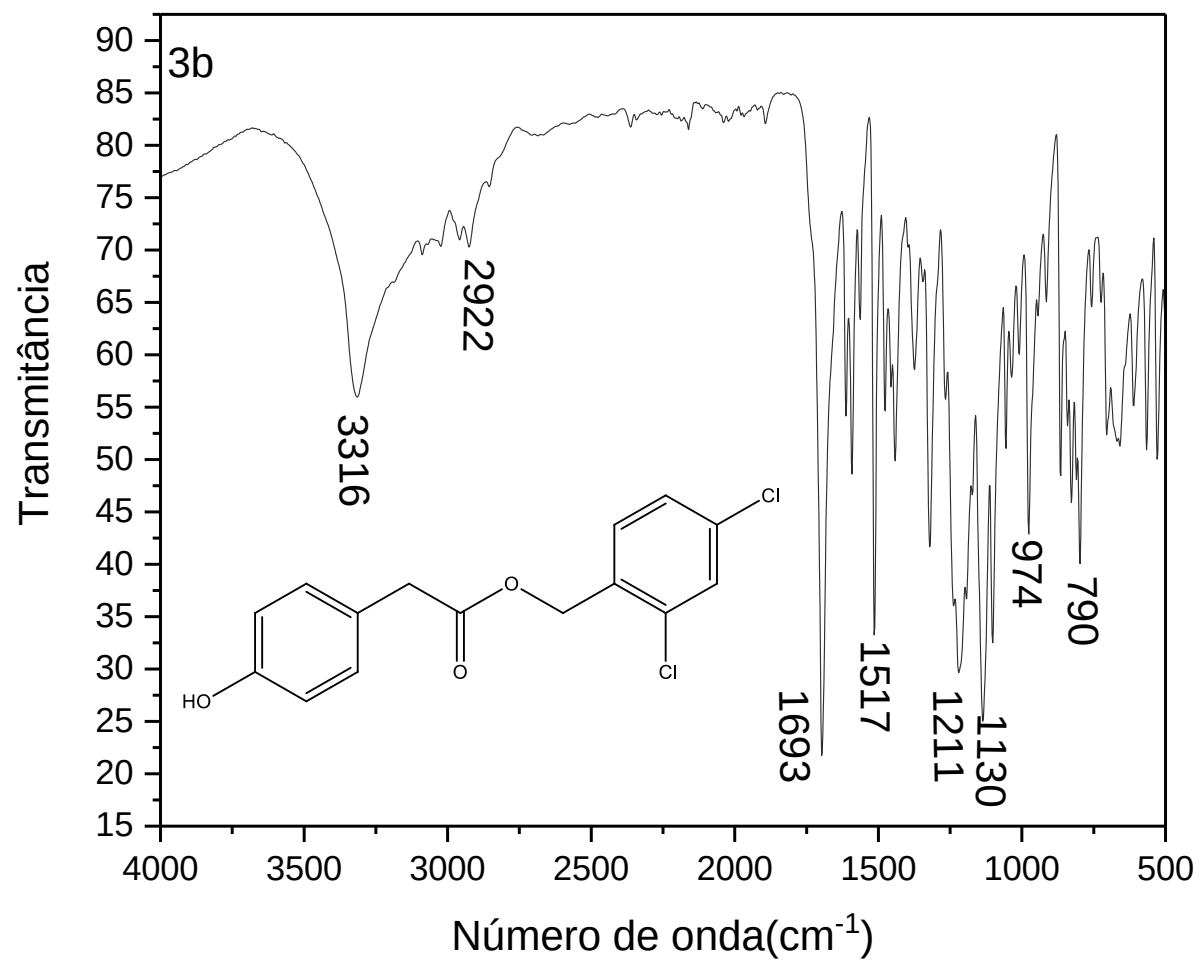


Figura 27: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de 2,4-diclorobenzila (**3b**)

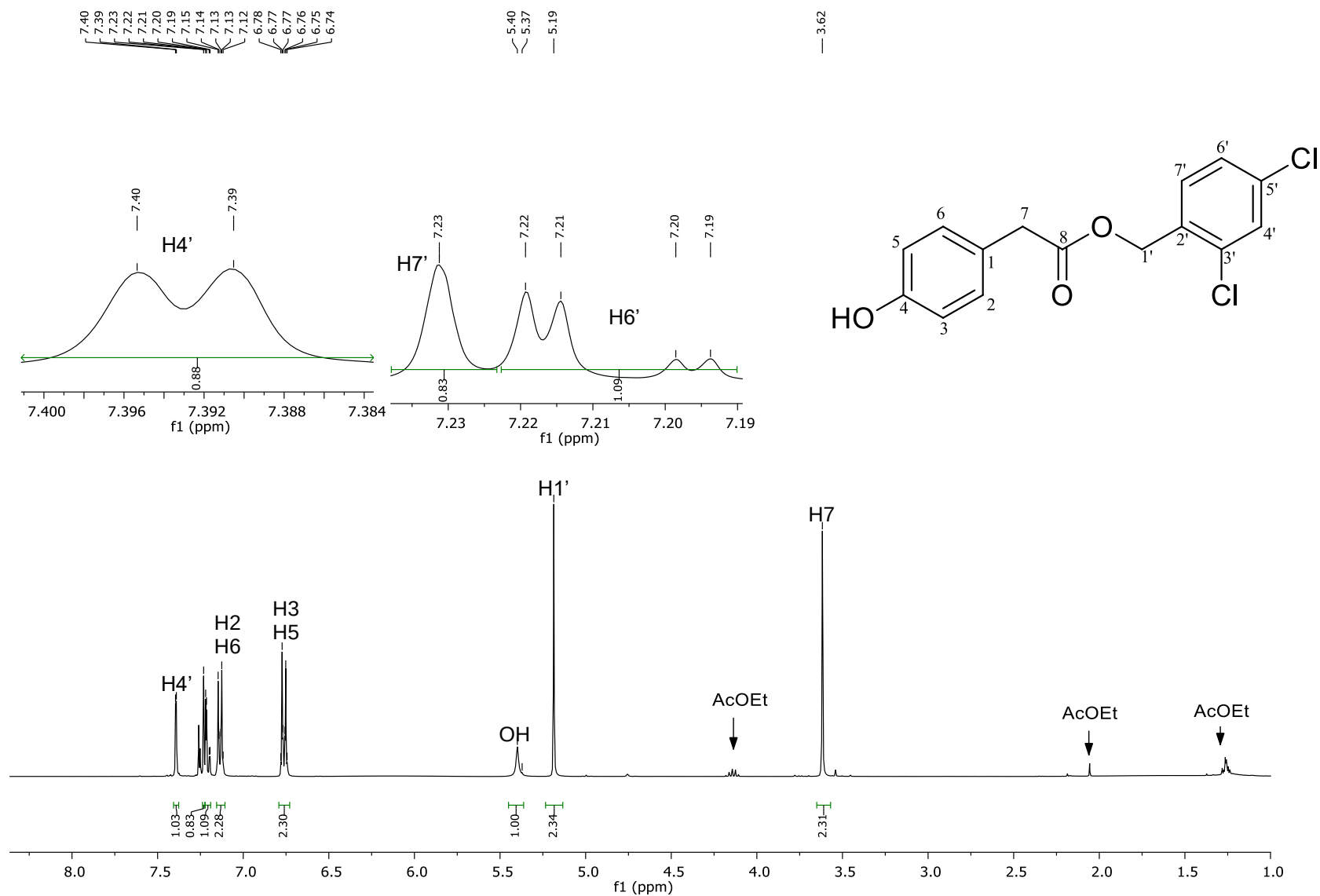


Figura 28: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de 2,4-diclorobenzila (**3b**)

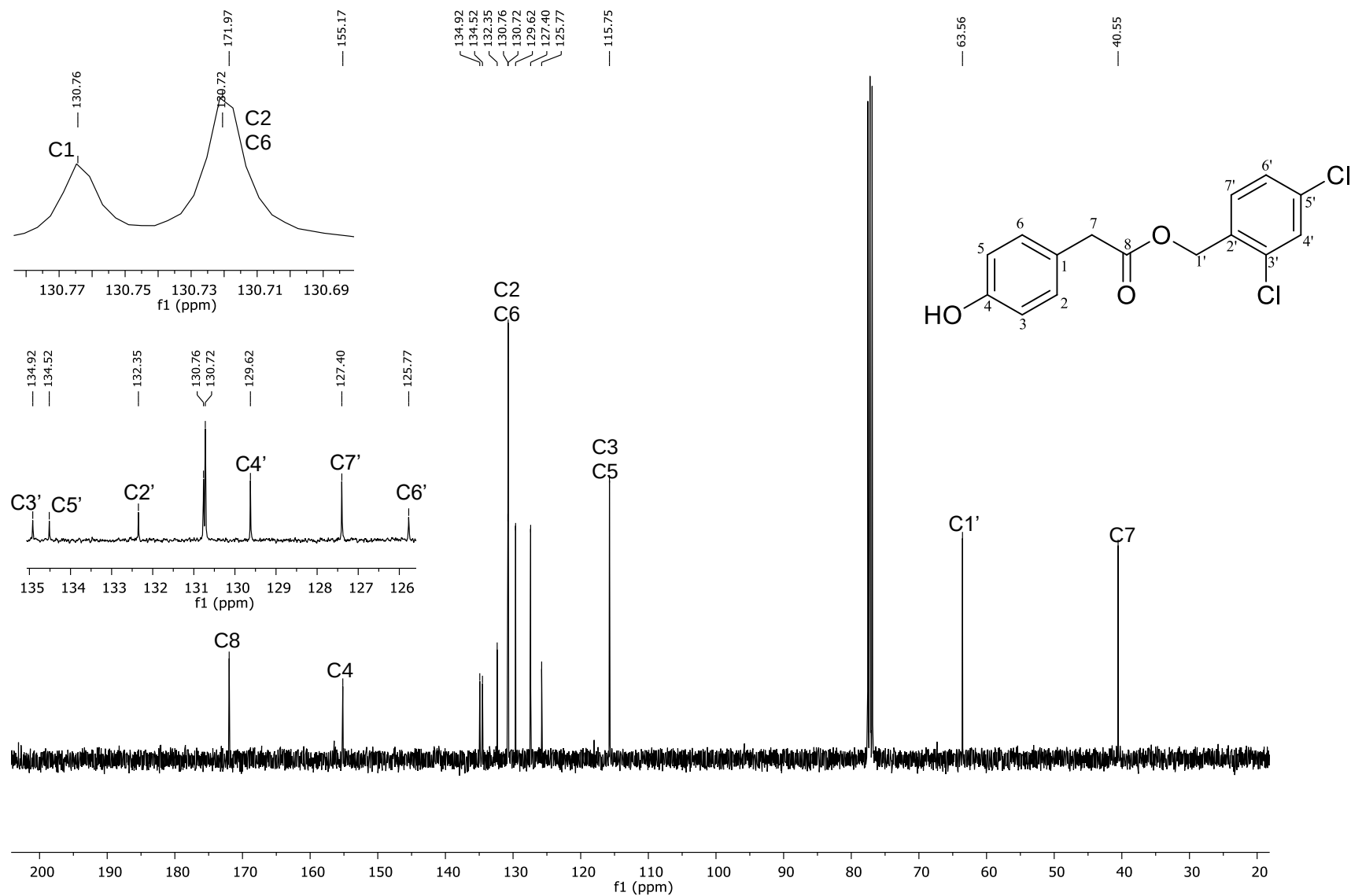


Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de 2,4-diclorobenzila (**3b**)

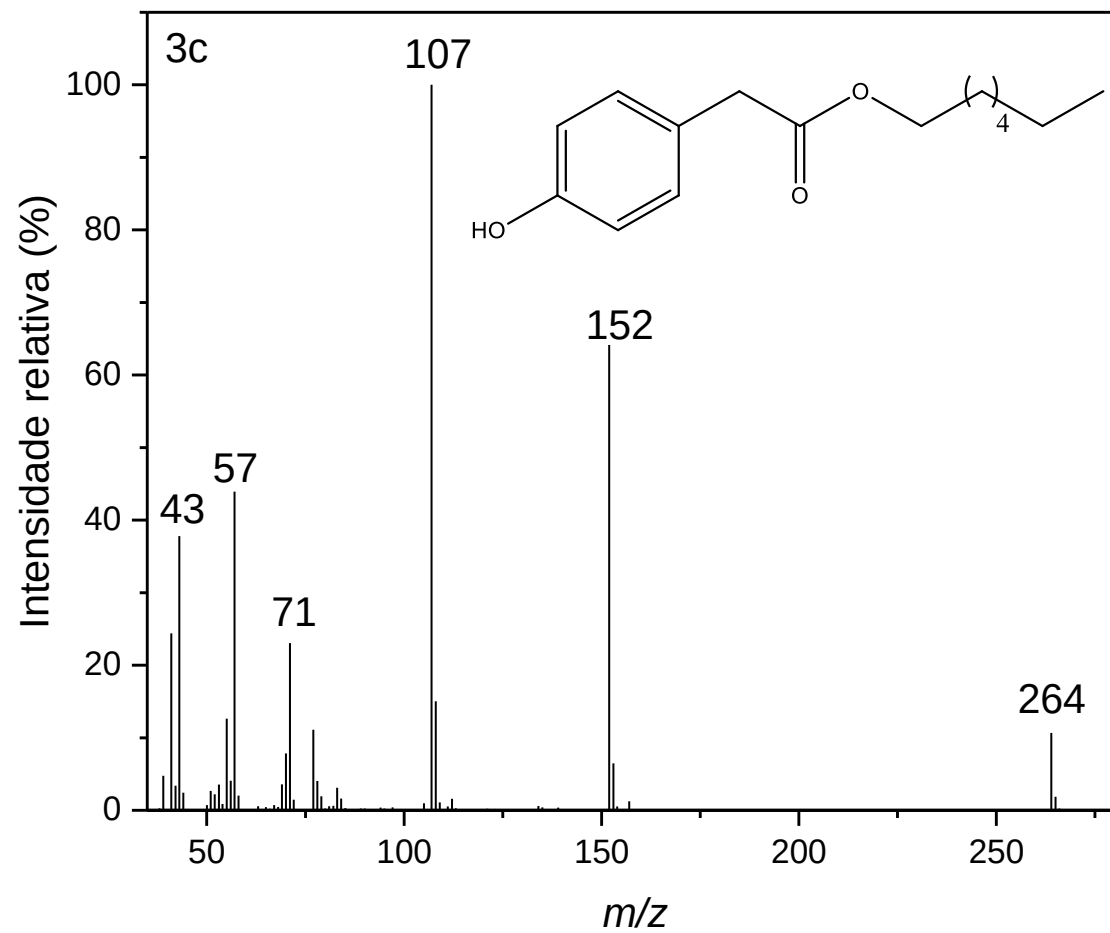


Figura 30: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de octila (**3c**)

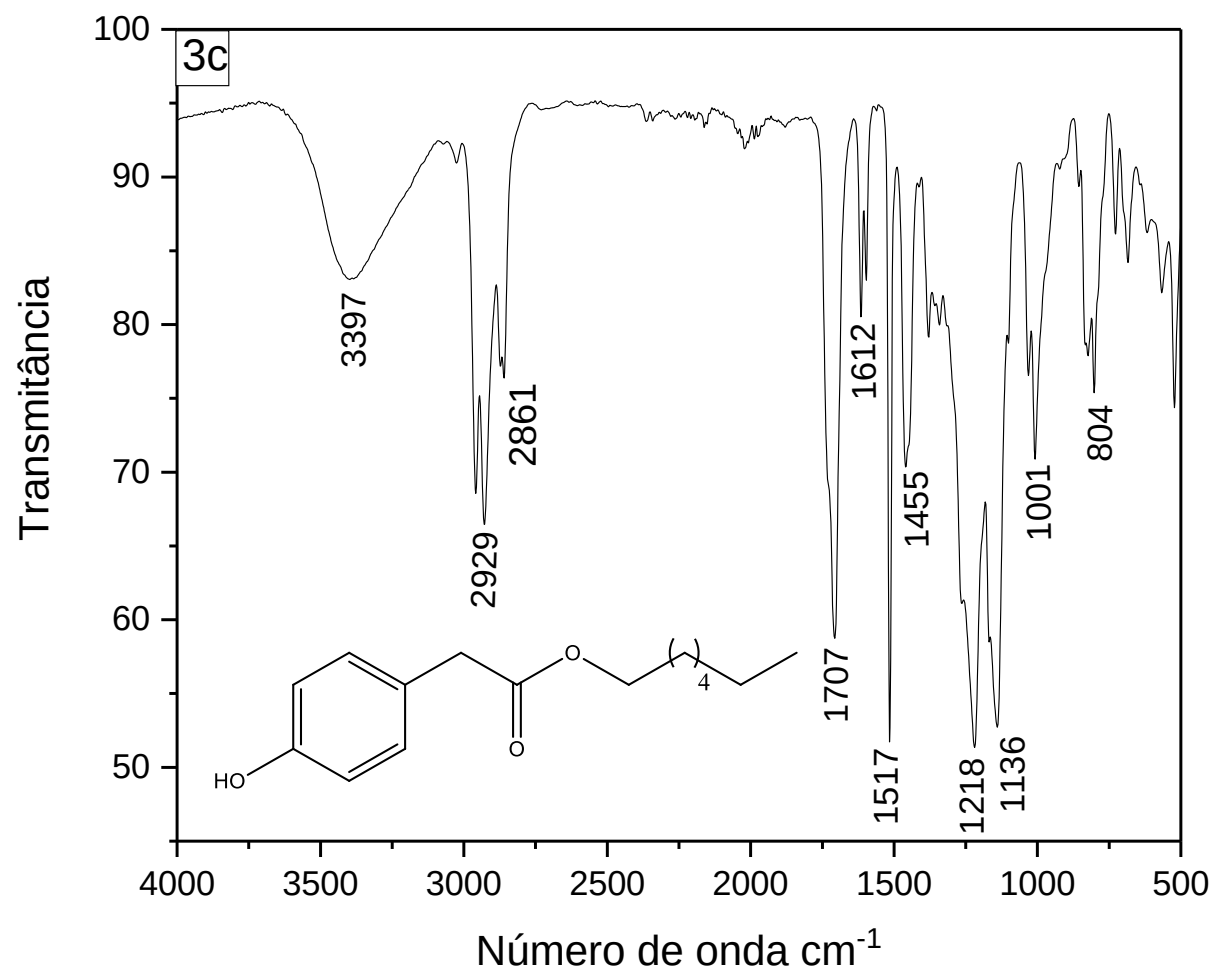


Figura 31: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de octila (**3c**)

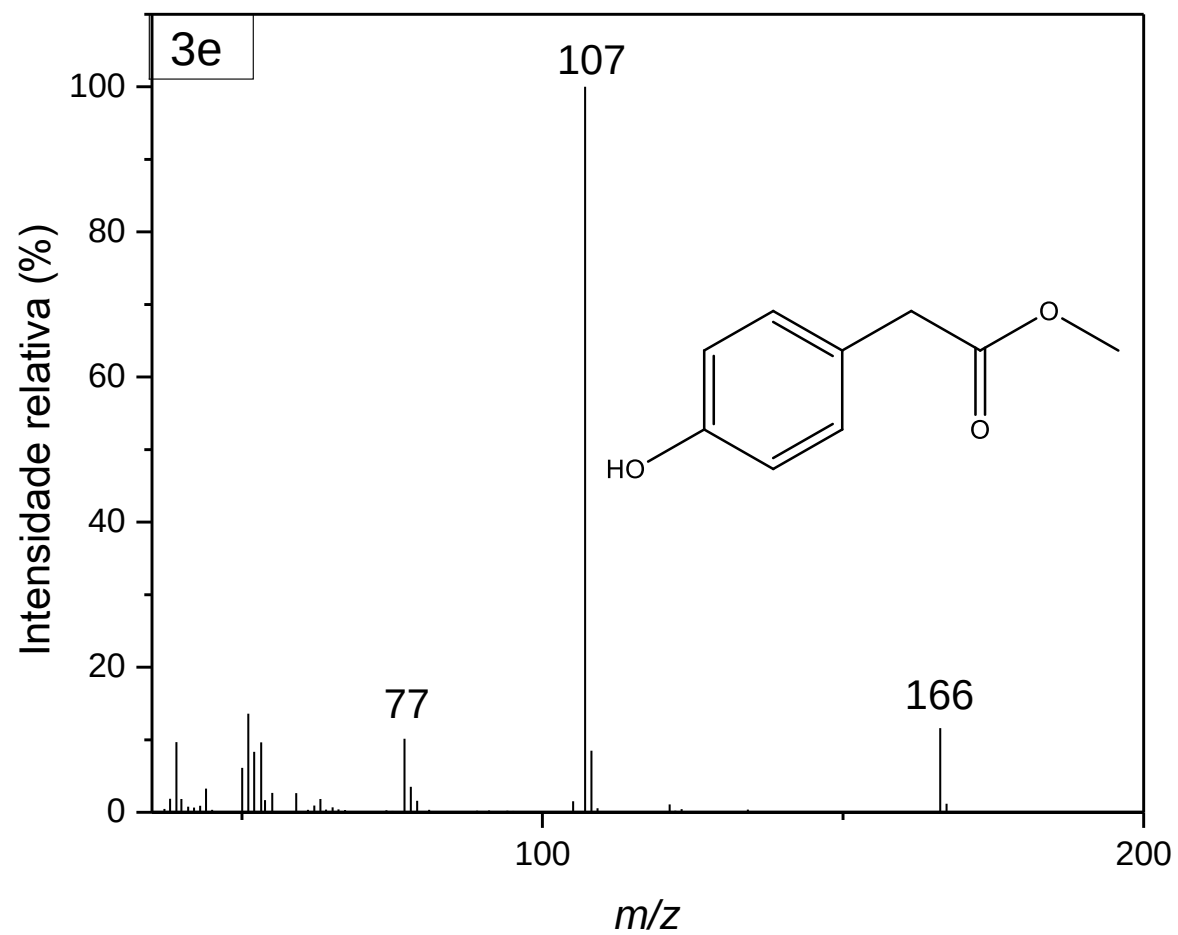


Figura 32: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de metila (**3e**)

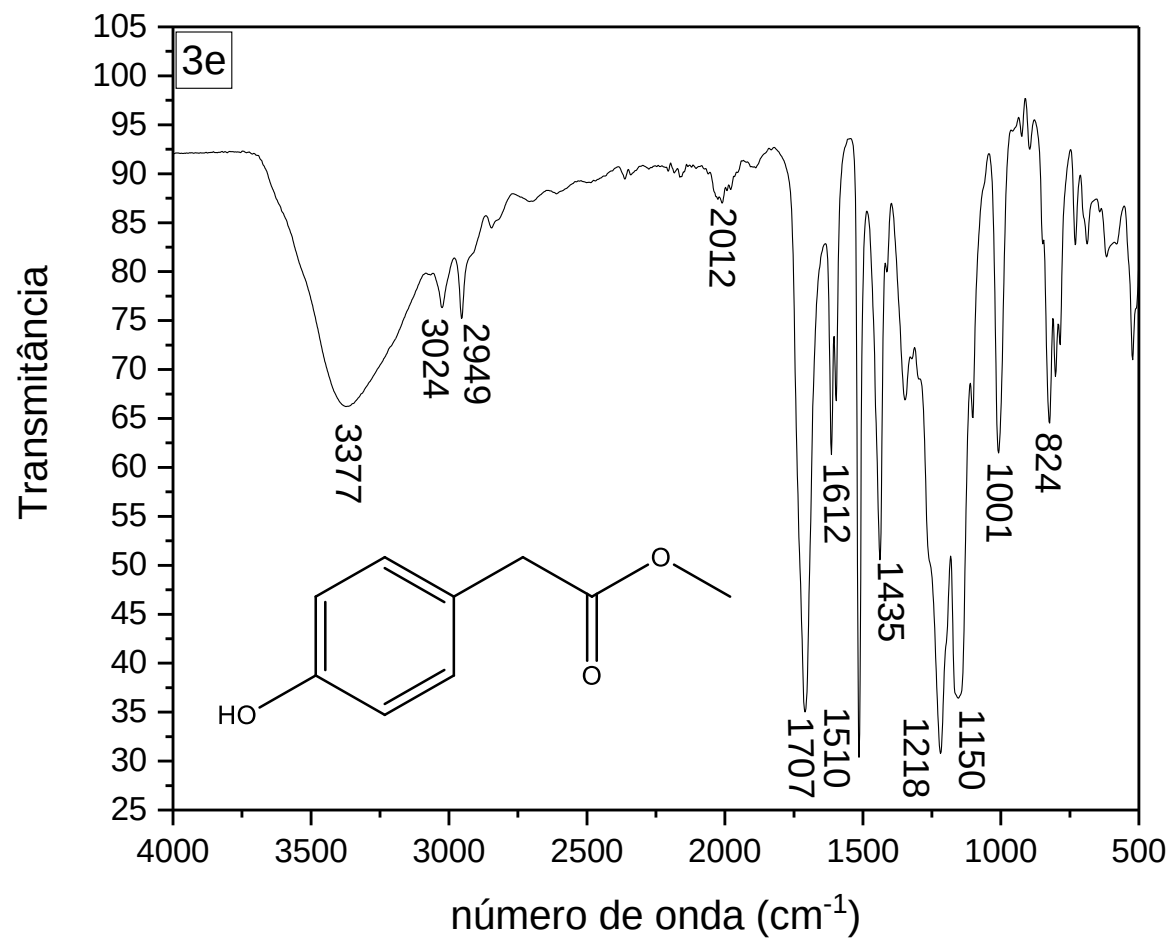


Figura 33: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de metila (**3e**)



Figura 34: Espectro de RMN de ¹H(CDCl₃, 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de metila (**3e**)

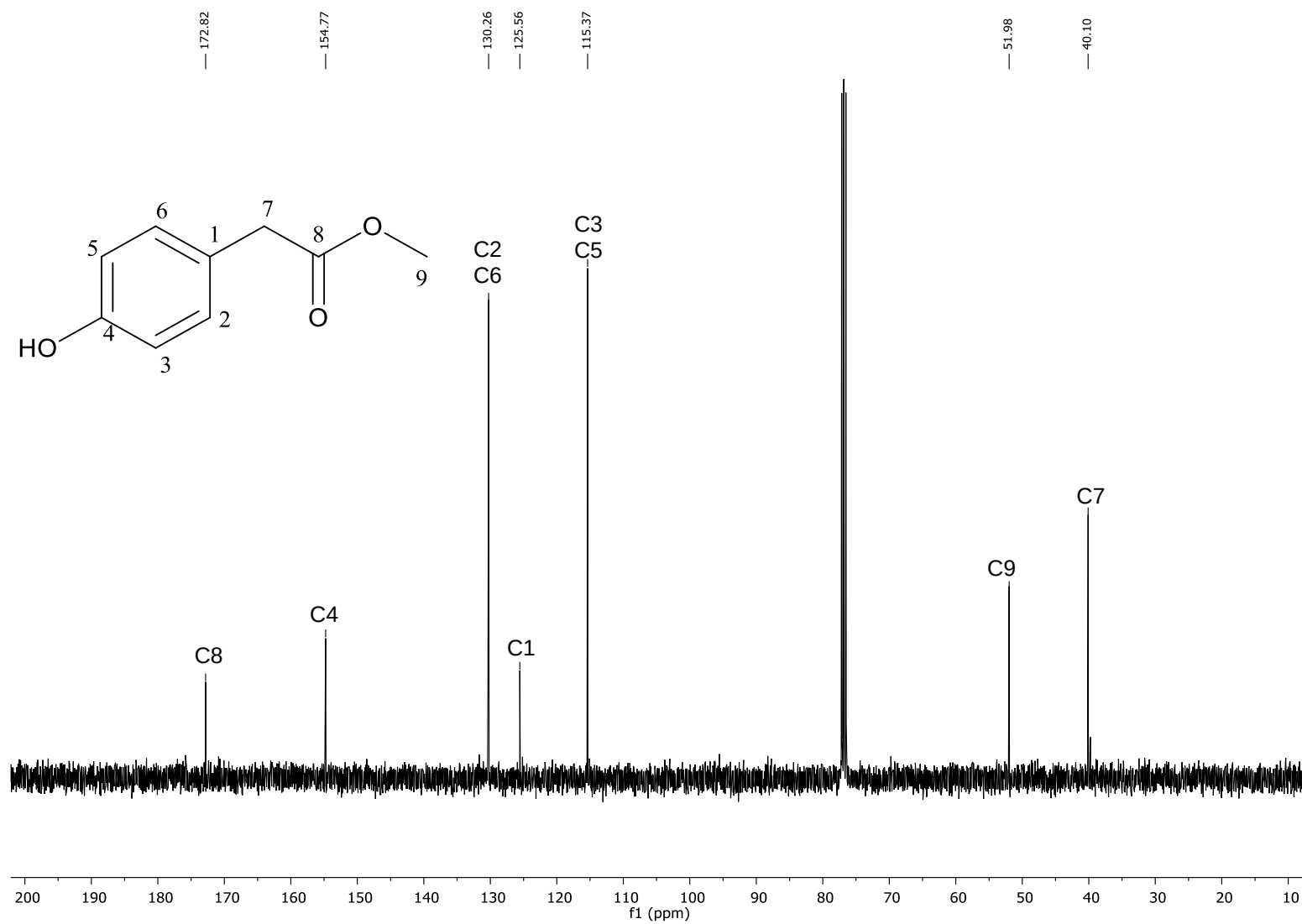


Figura 35: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de metila (**3e**)

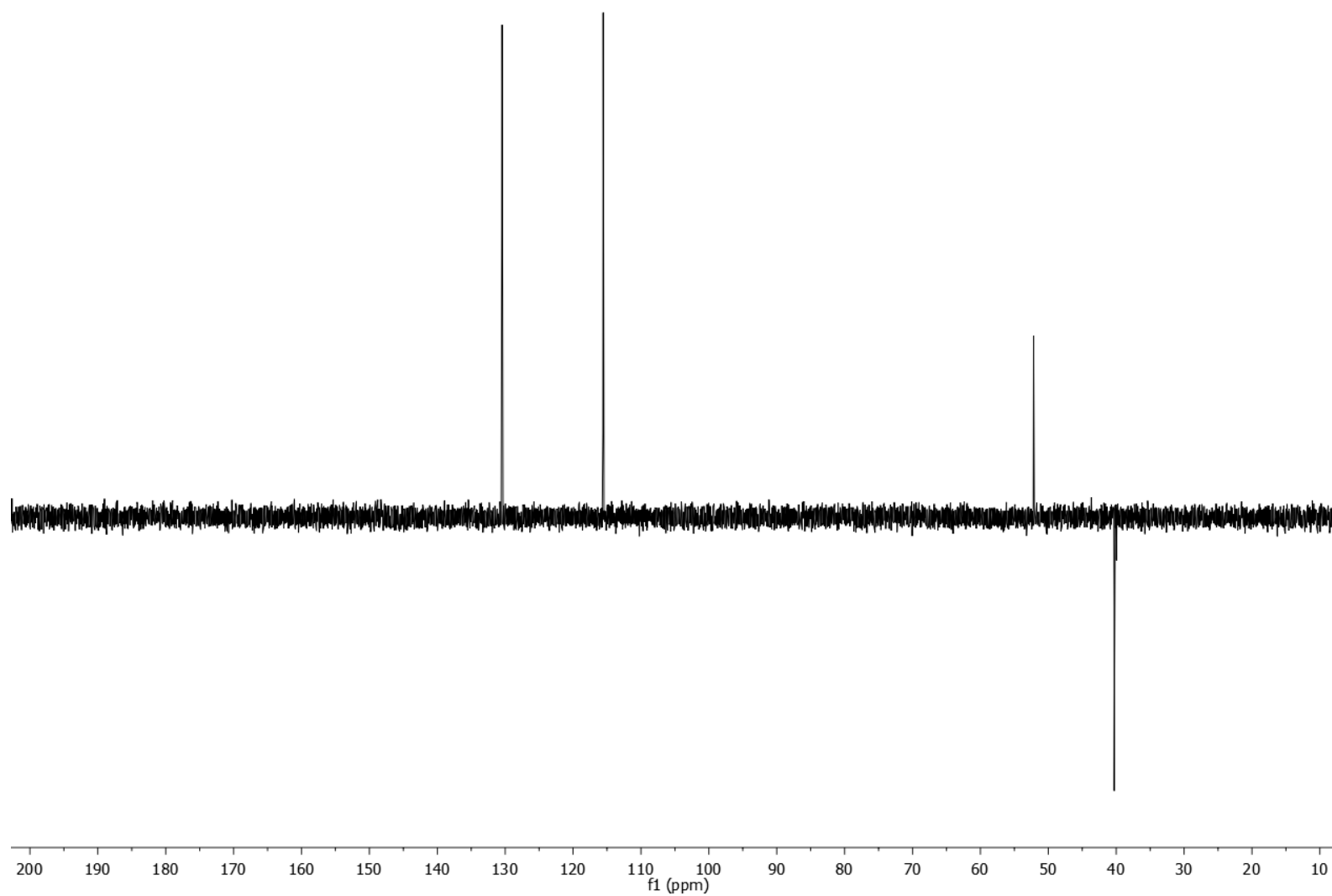


Figura 36: Espectro DEPT 135 de ^{13}C do éster (4-hidroxifenil)etanoato de metila (**3e**)

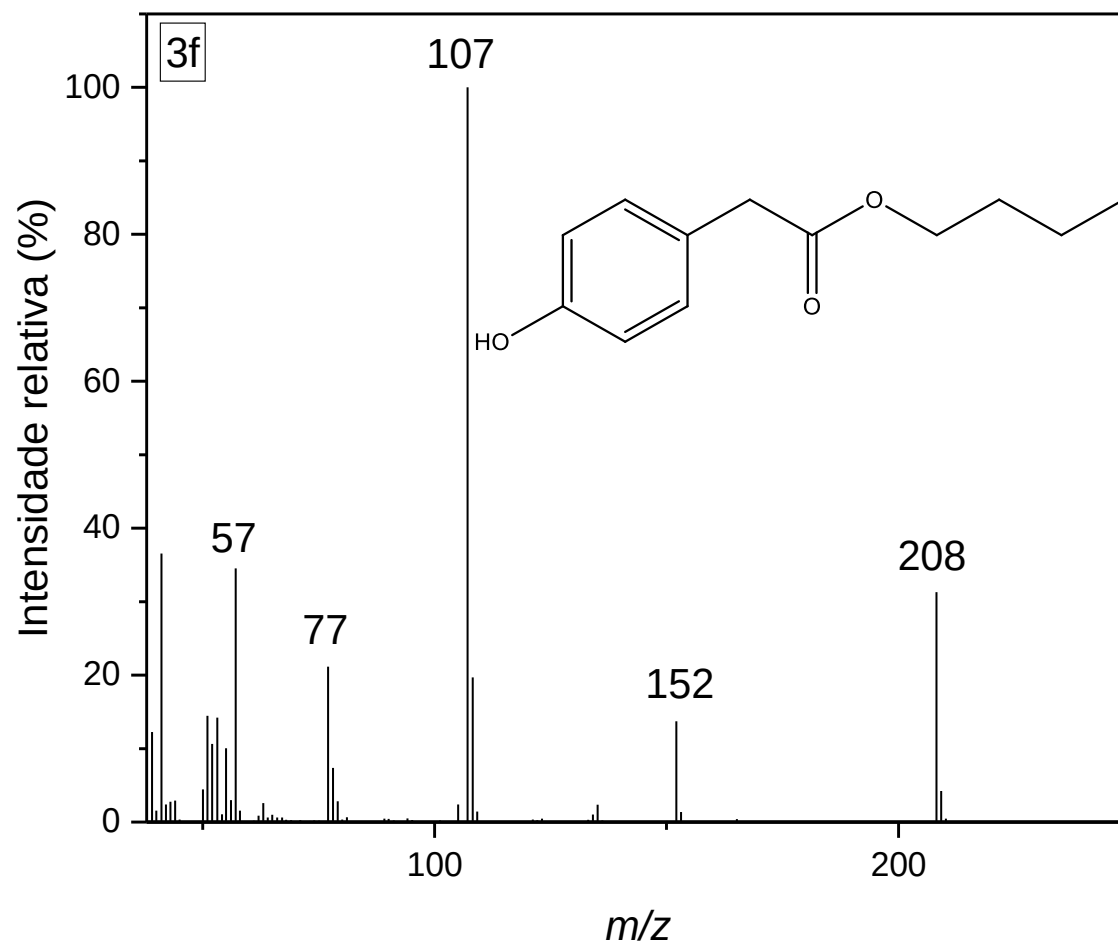


Figura 37: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de butila (**3f**)

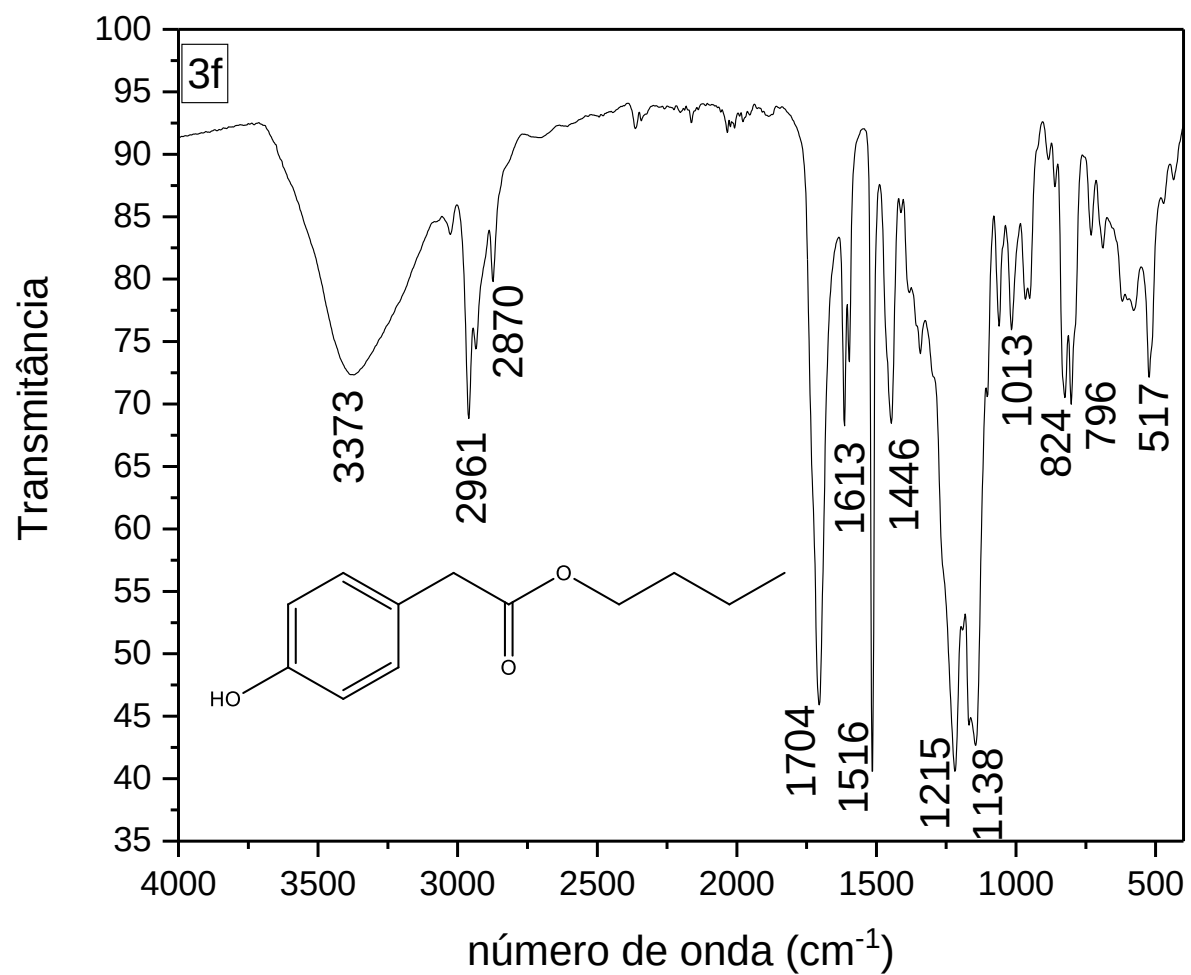


Figura 38: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de butila (**3f**)

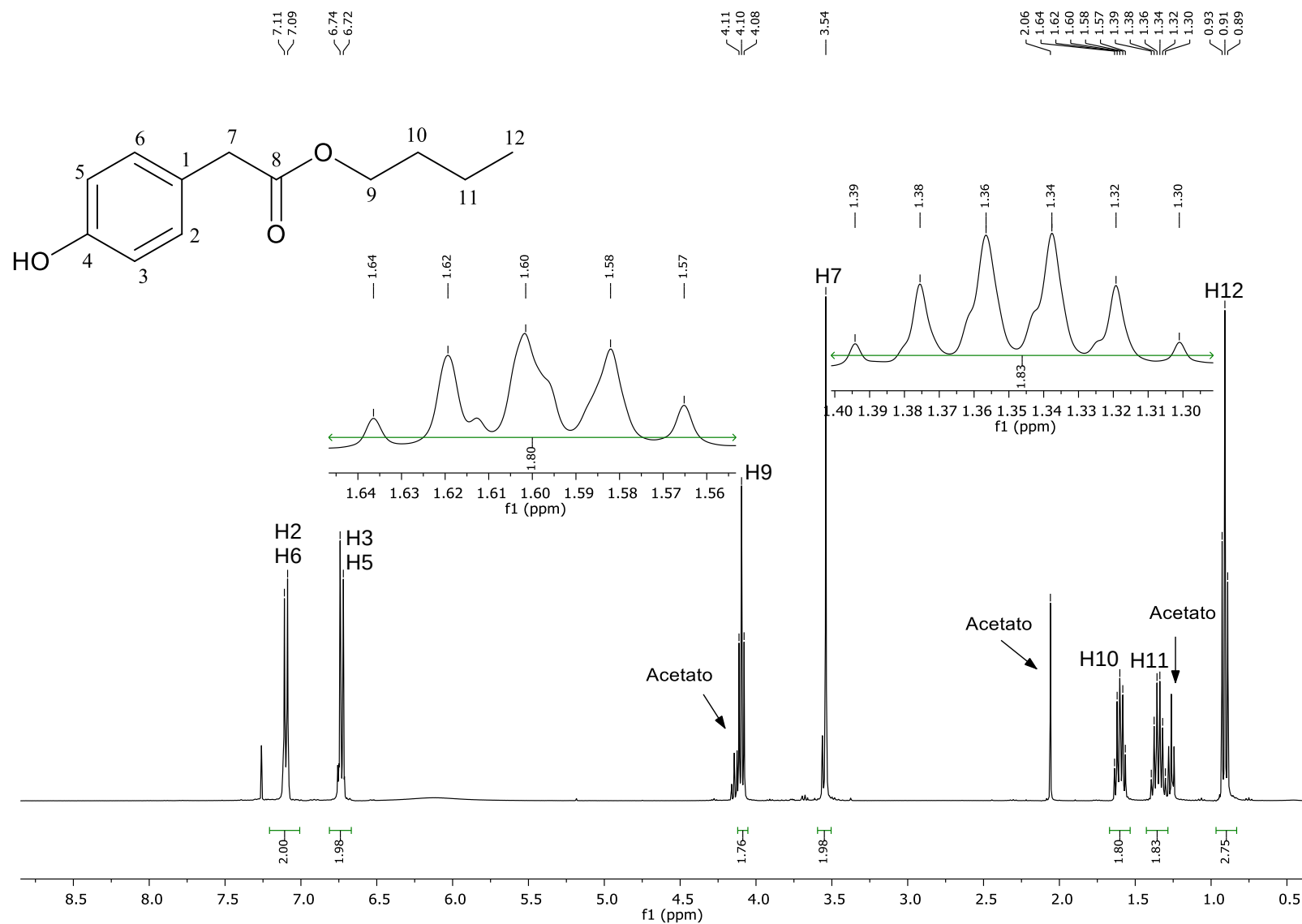


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de butila (**3f**)

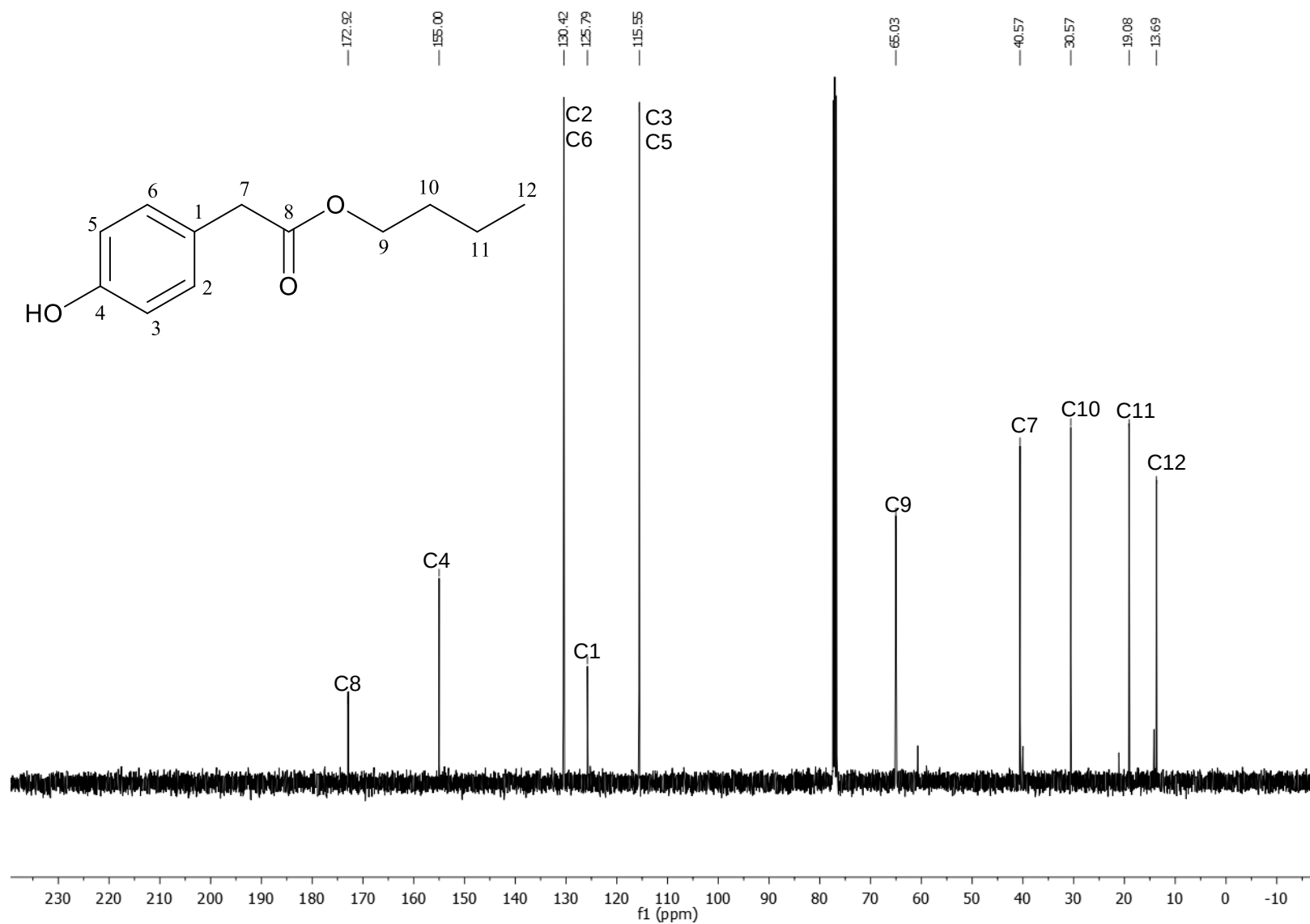


Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 400 MHz) do éster (4-hidroxifenil)etanoato de butila (**3f**)

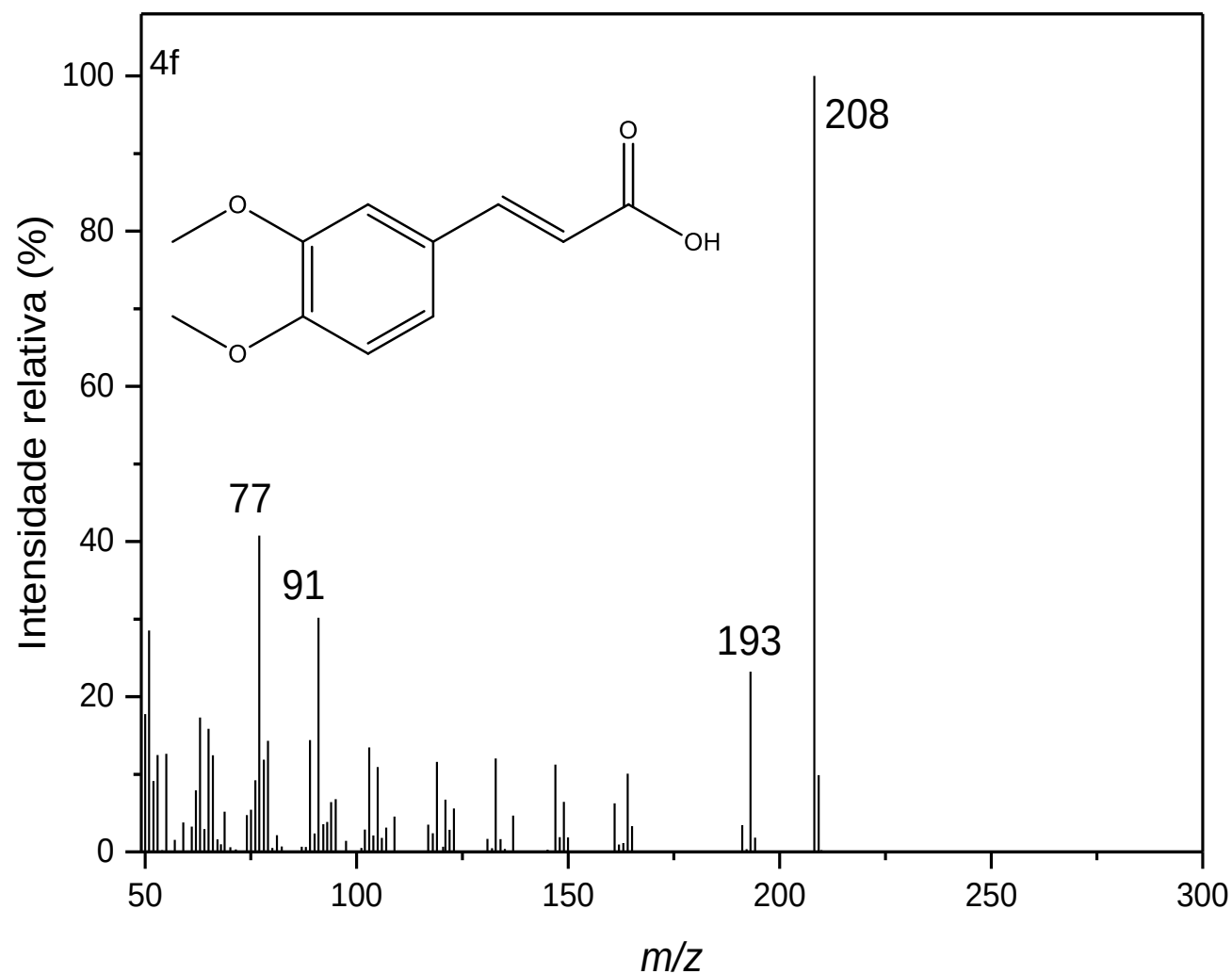


Figura 41: Espectro de massas (IE, 70 eV) do ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**)

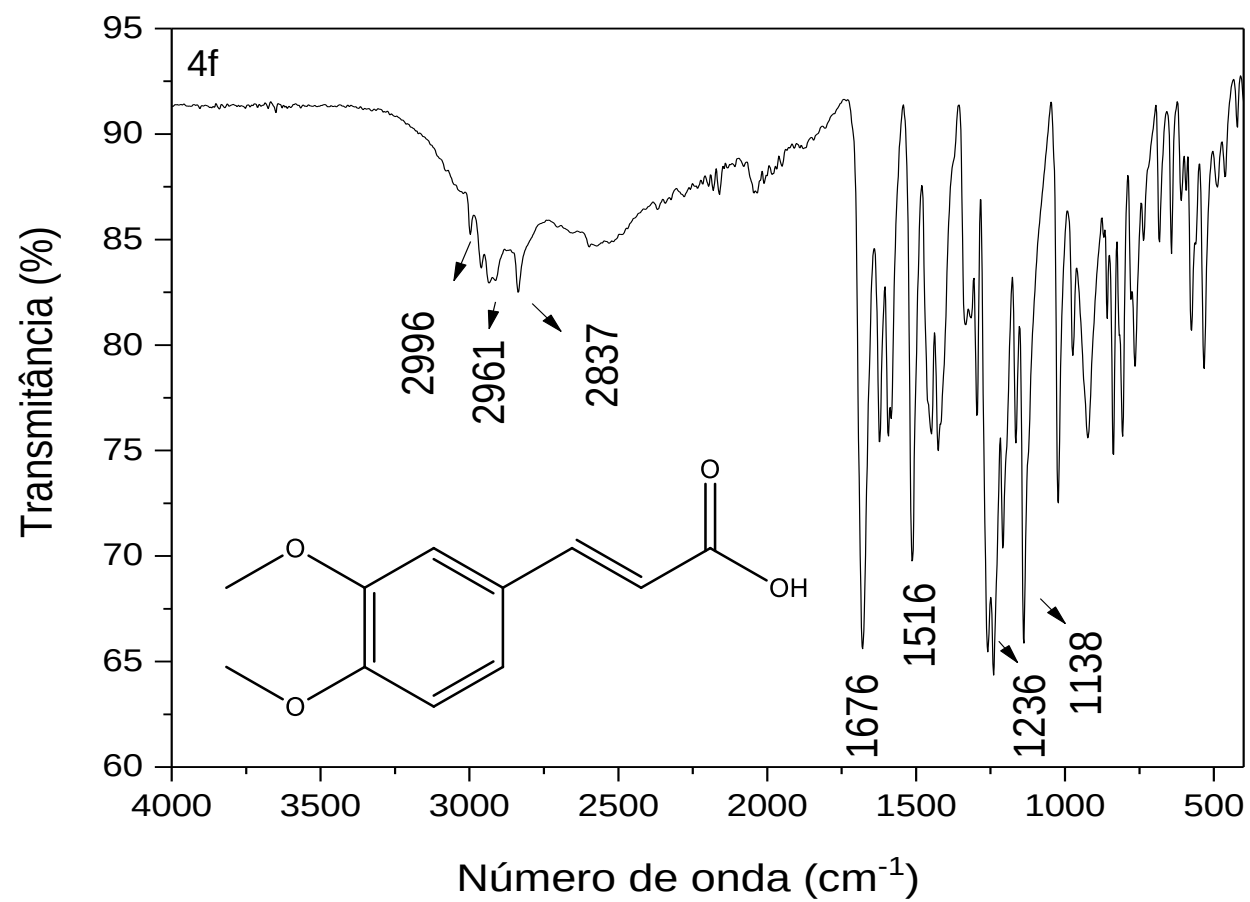


Figura 42: Espectro de IV (FTIR-ATR) do ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**)

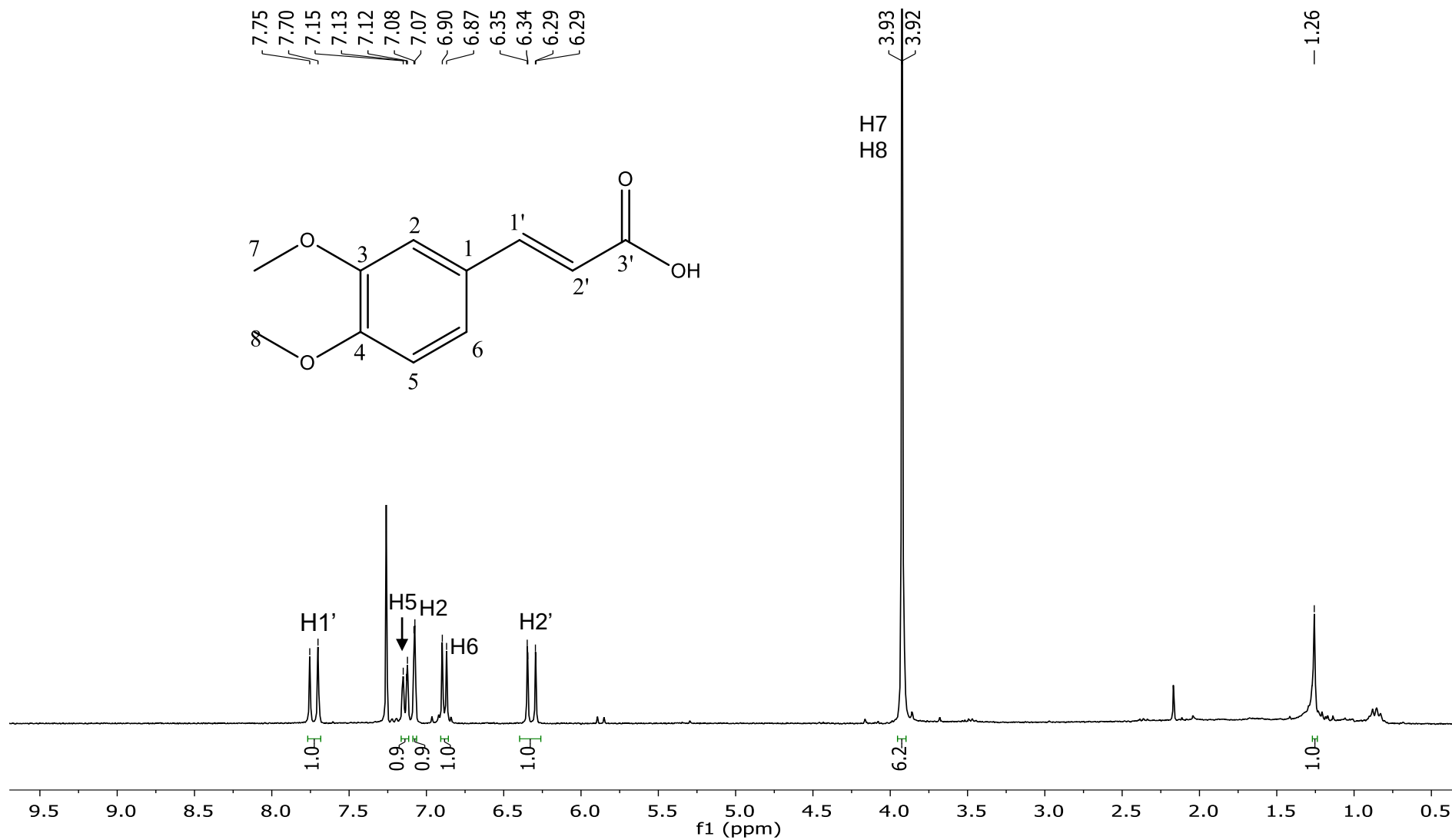


Figura 43: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**)

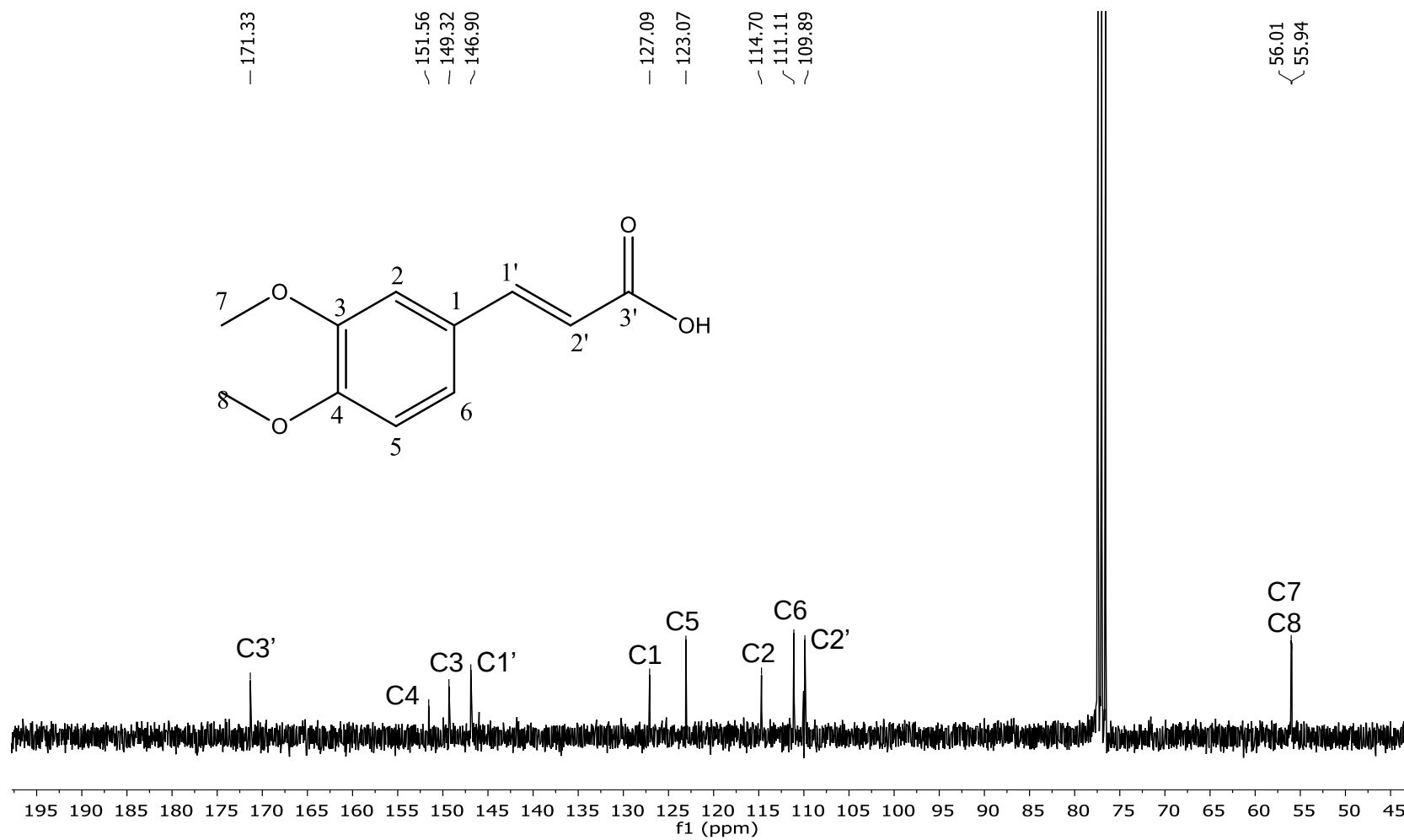


Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**4f**)

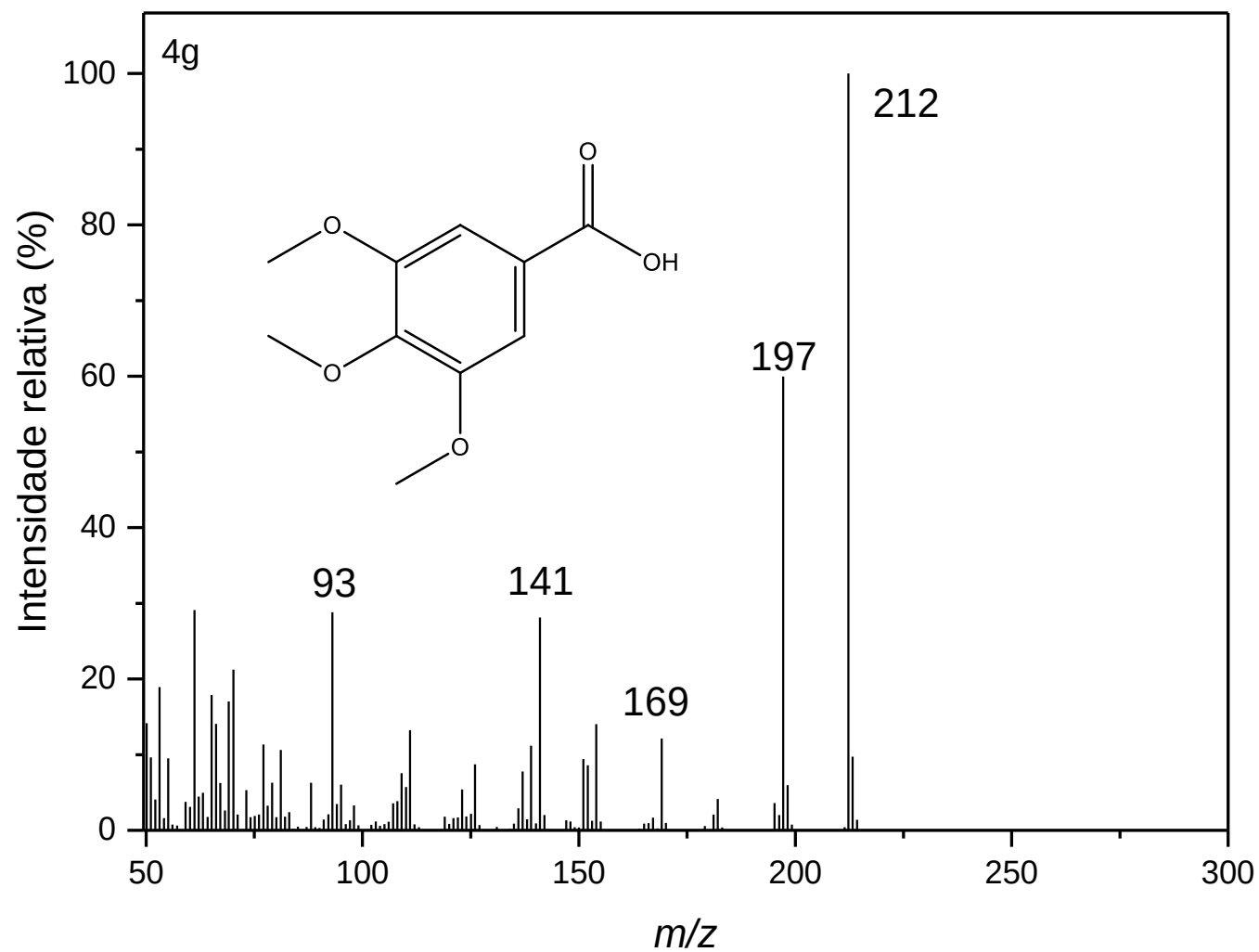


Figura 45: Espectro de massas (IE, 70 eV) do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**4g**)

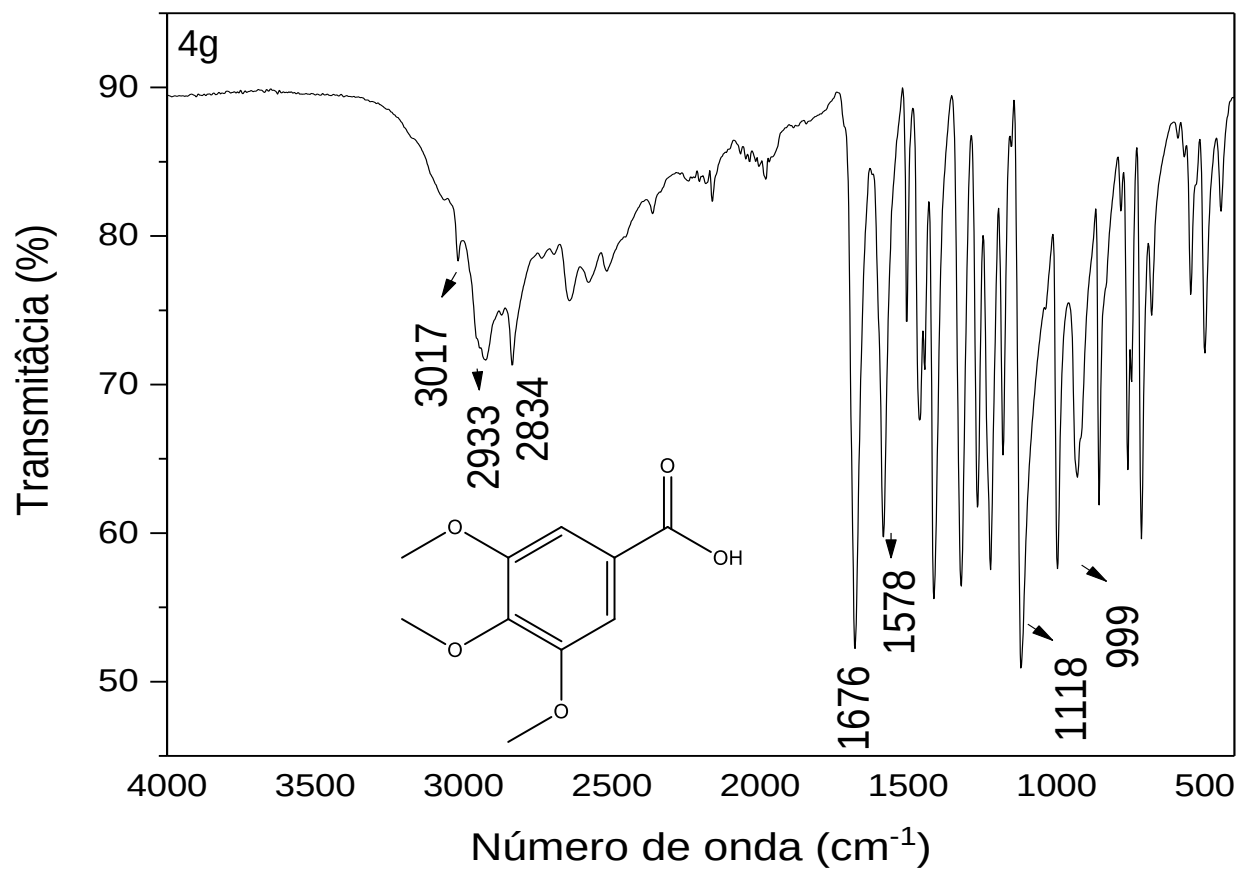


Figura 46: Espectro de IV (FTIR-ATR) do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**4g**)



Figura 47: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**4g**)

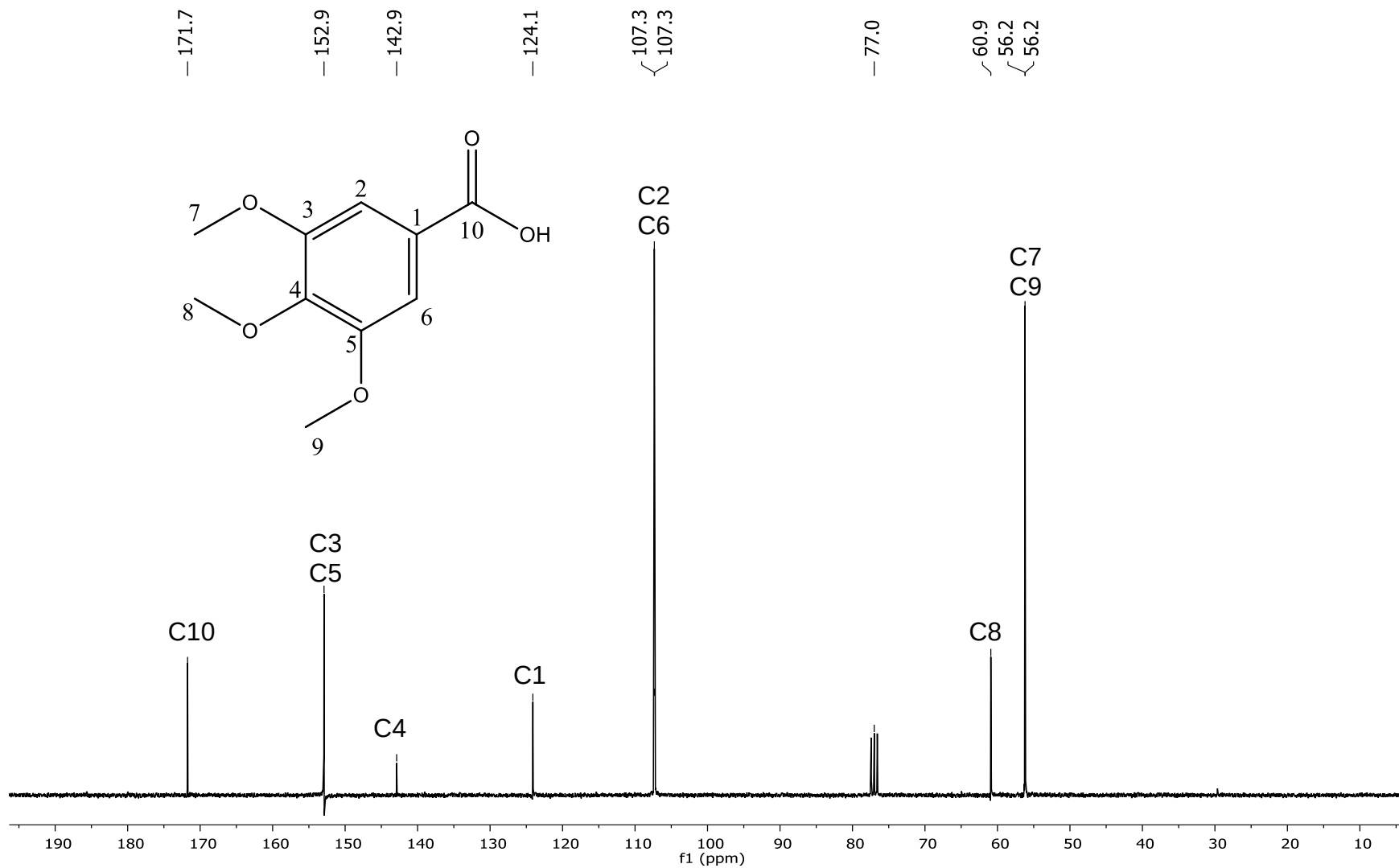


Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**4g**)

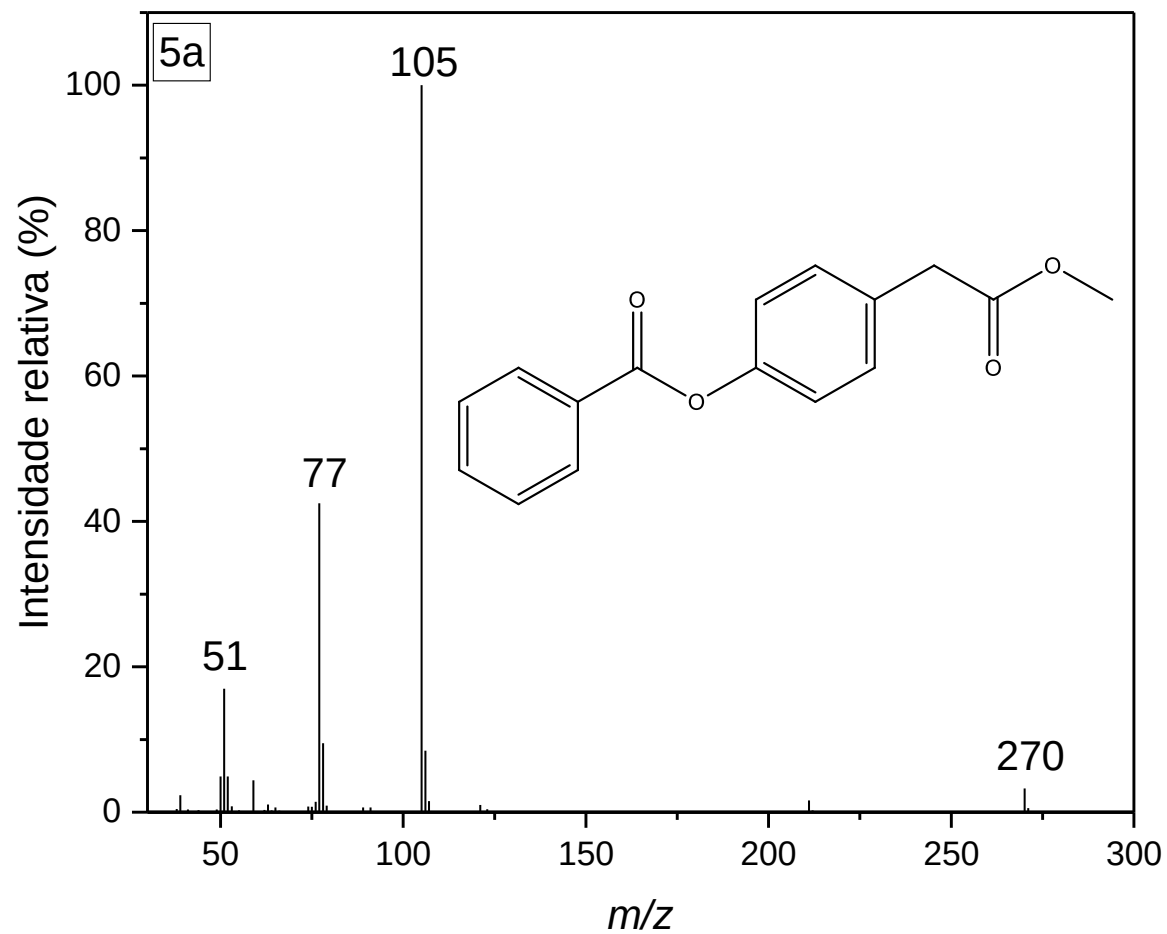


Figura 49: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (**5a**)

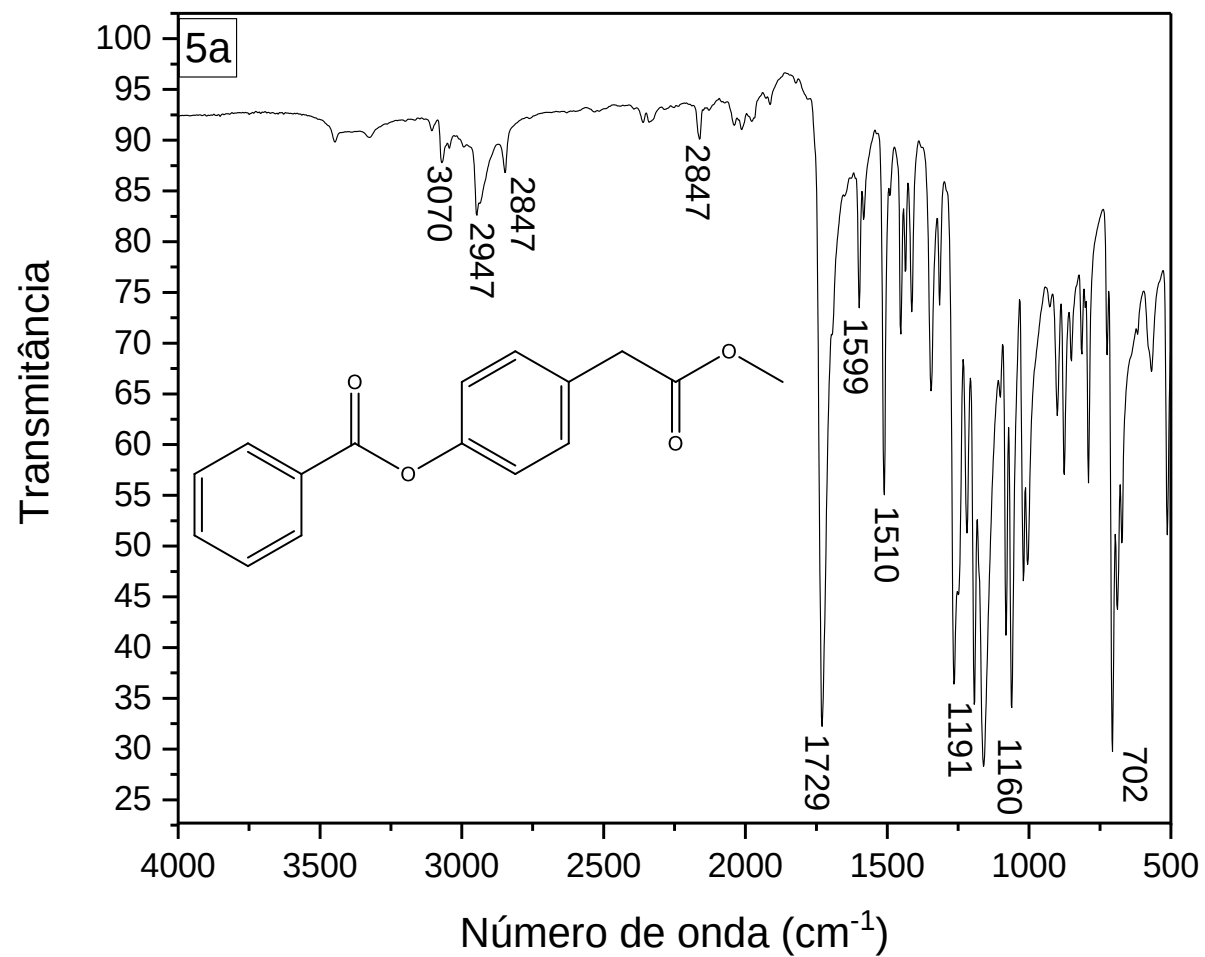


Figura 50: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (**5a**)

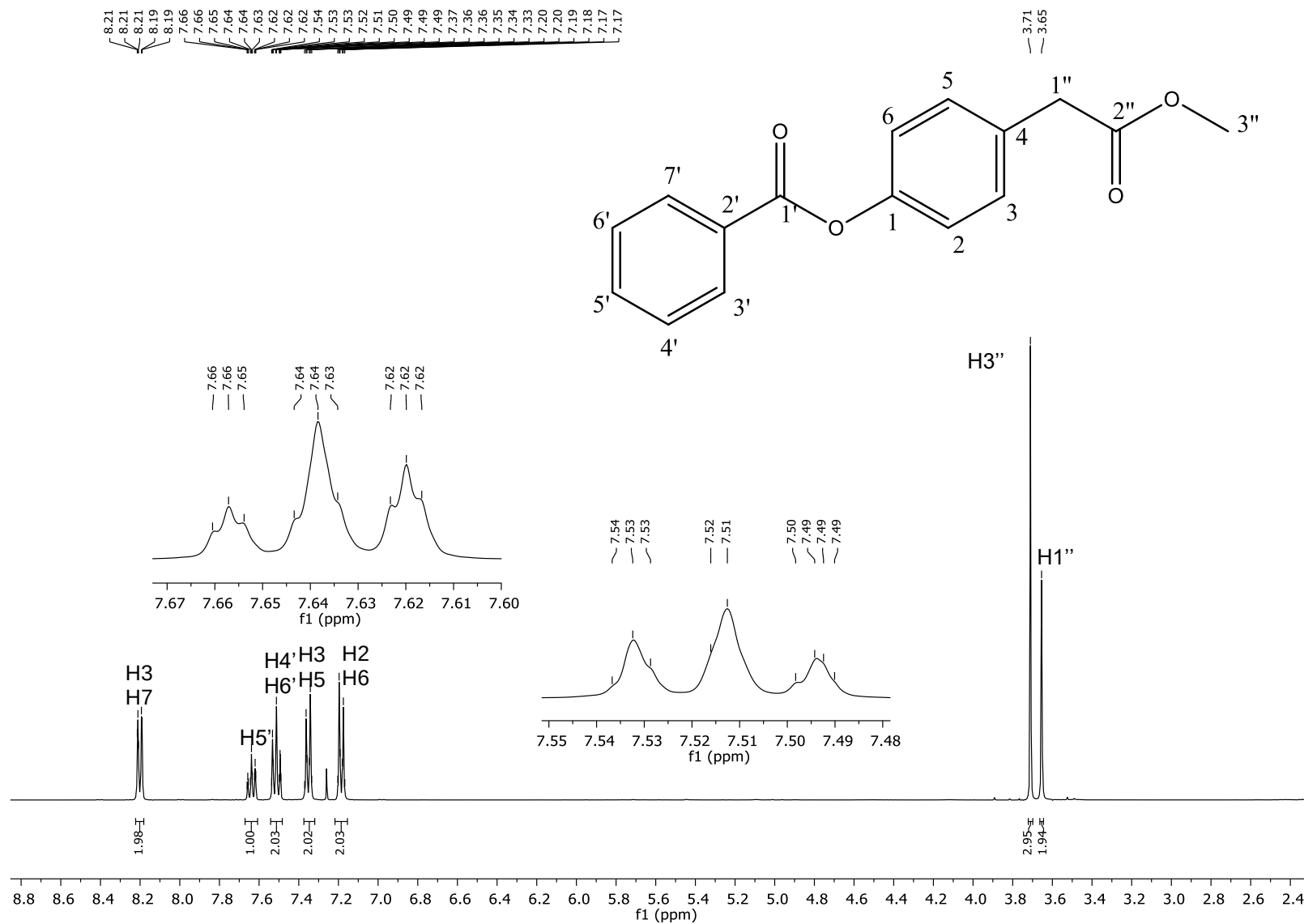


Figura 51: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (5a)

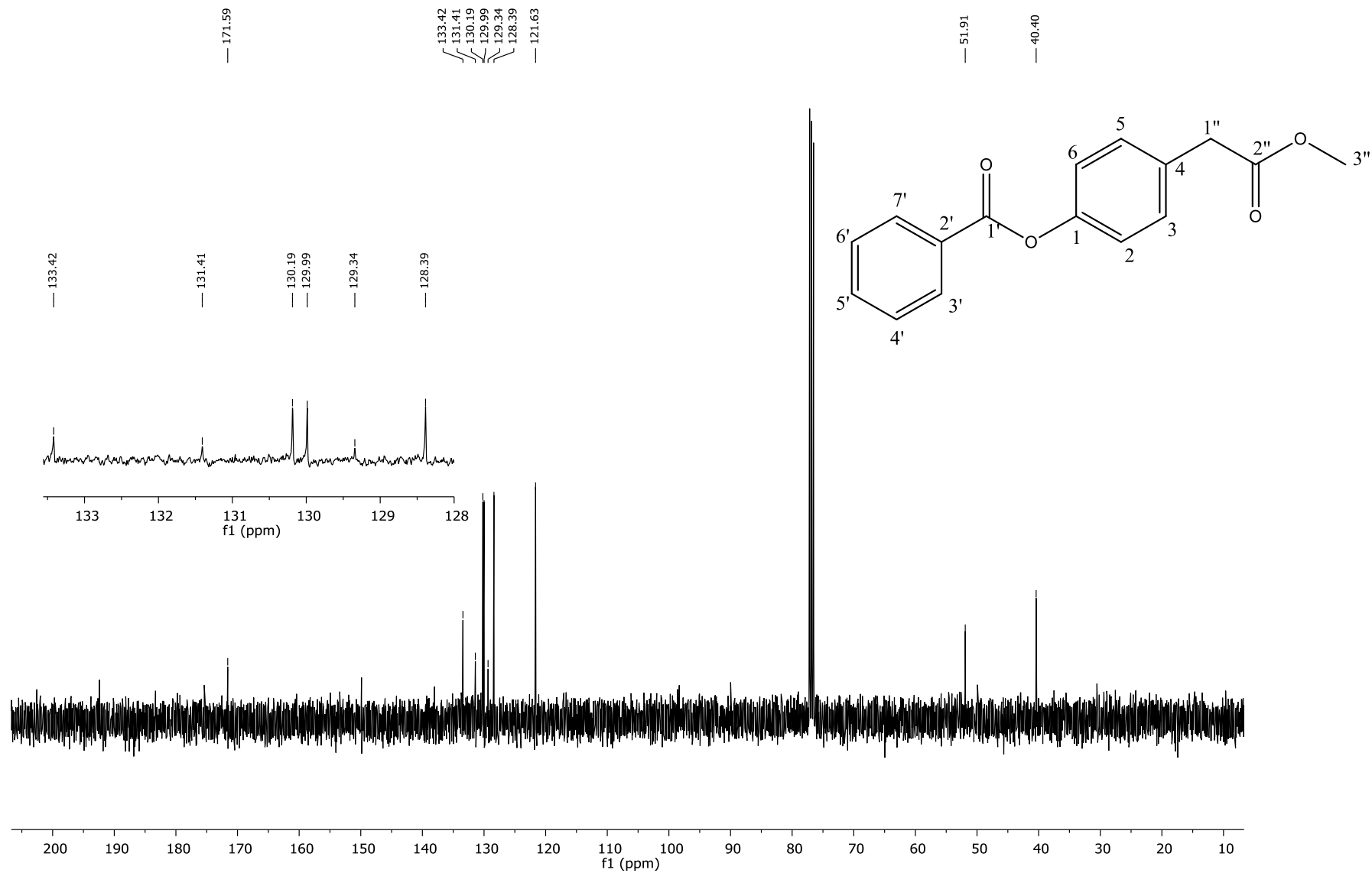


Figura 52: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (5a)

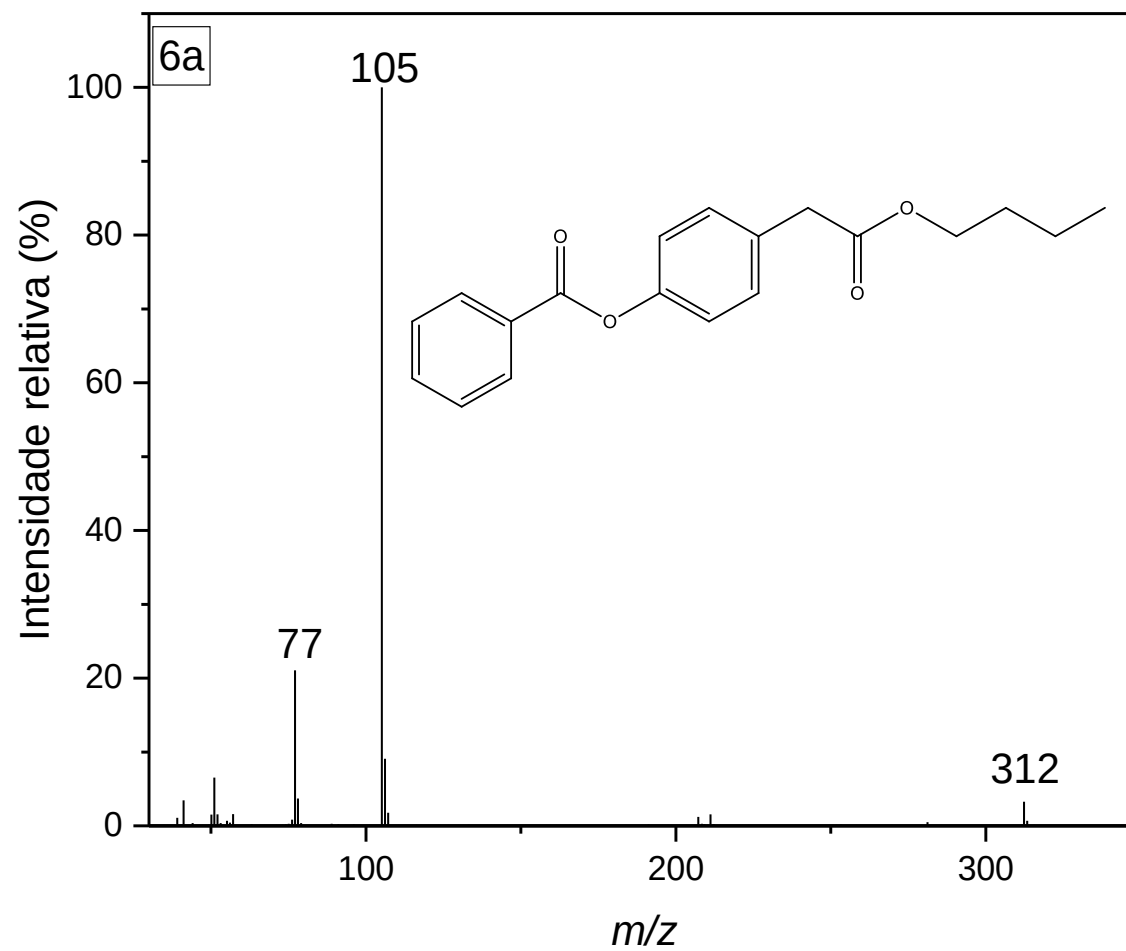


Figura 53: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (**6a**)

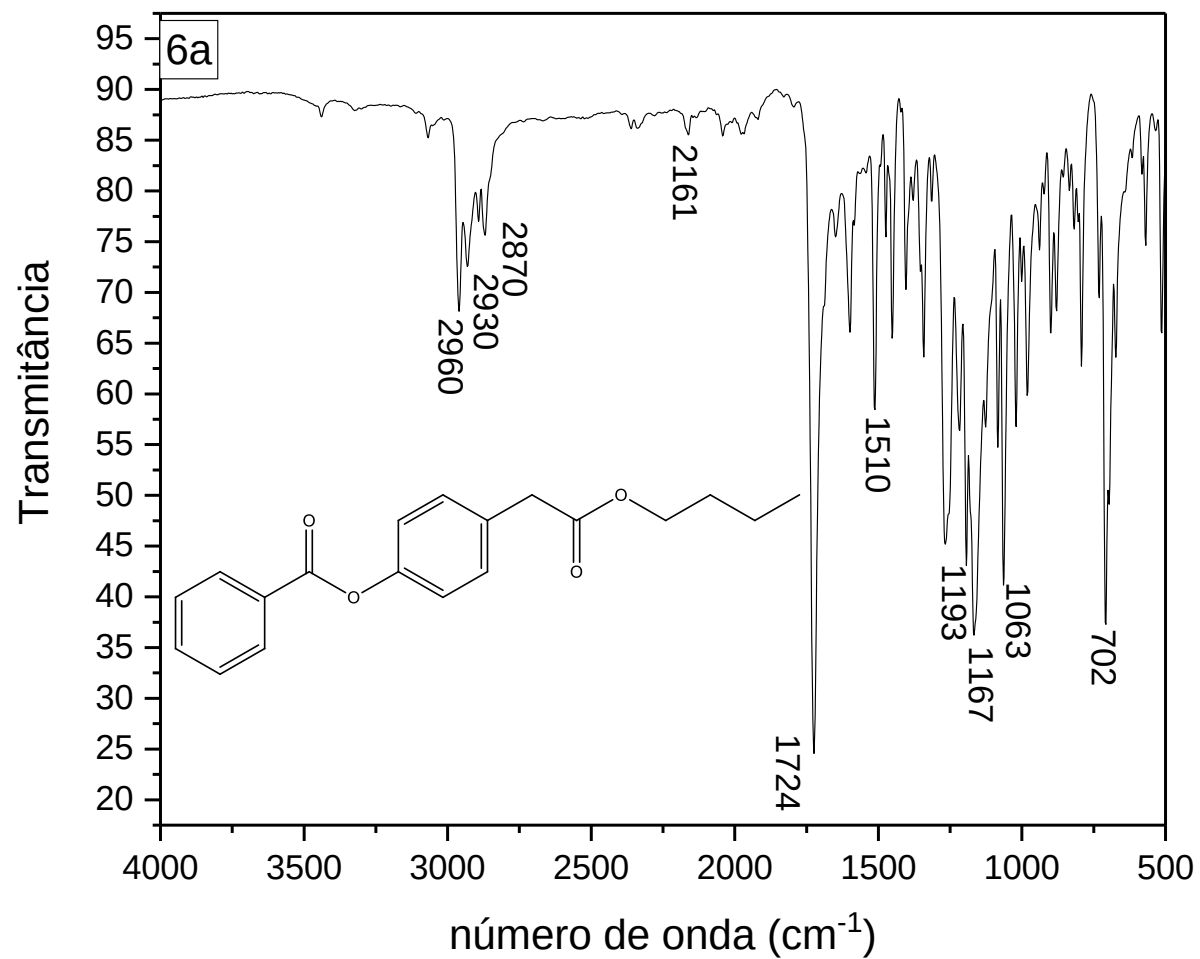


Figura 54: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (**6a**)

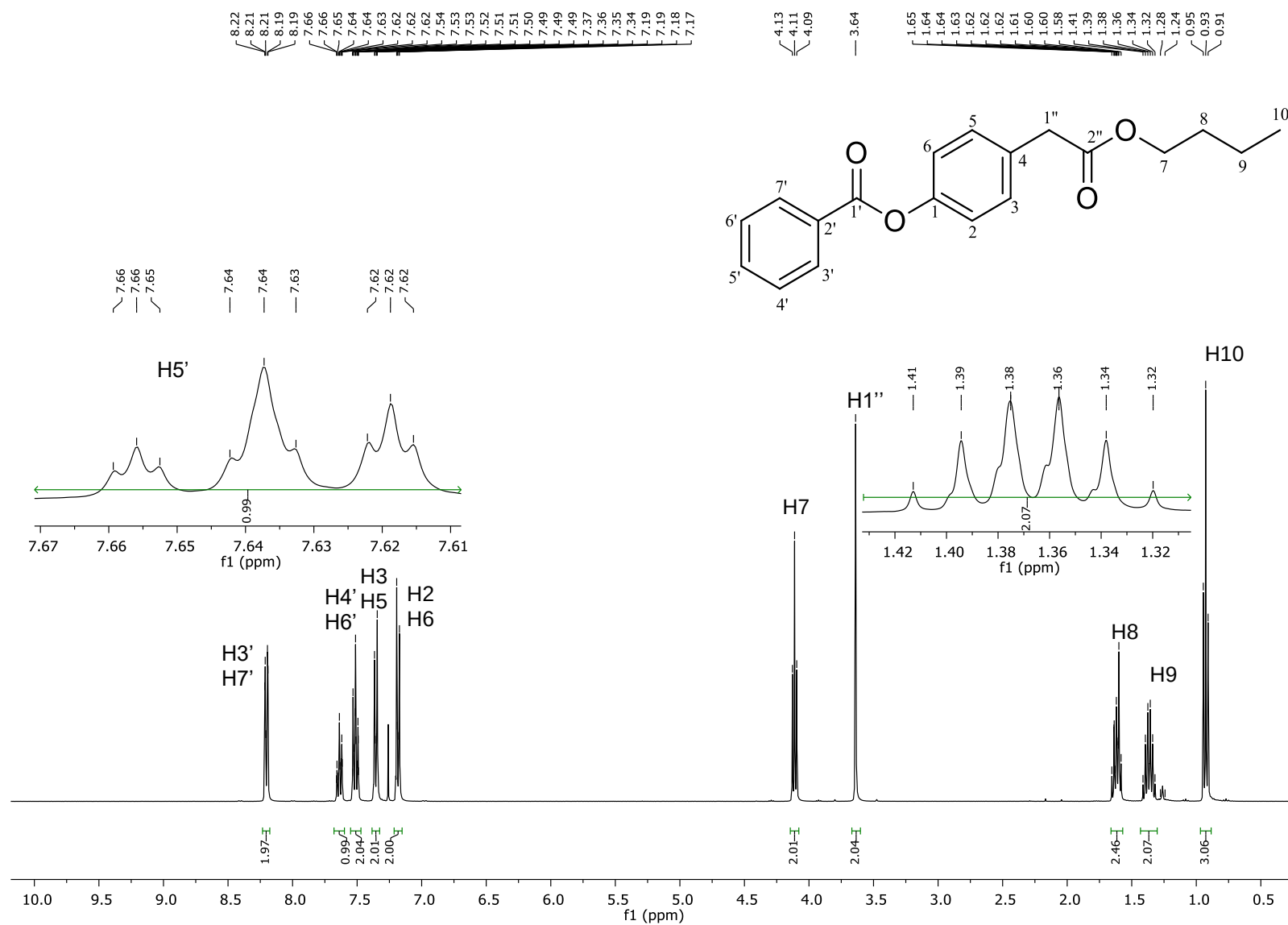


Figura 55: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-butoxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (**6a**)

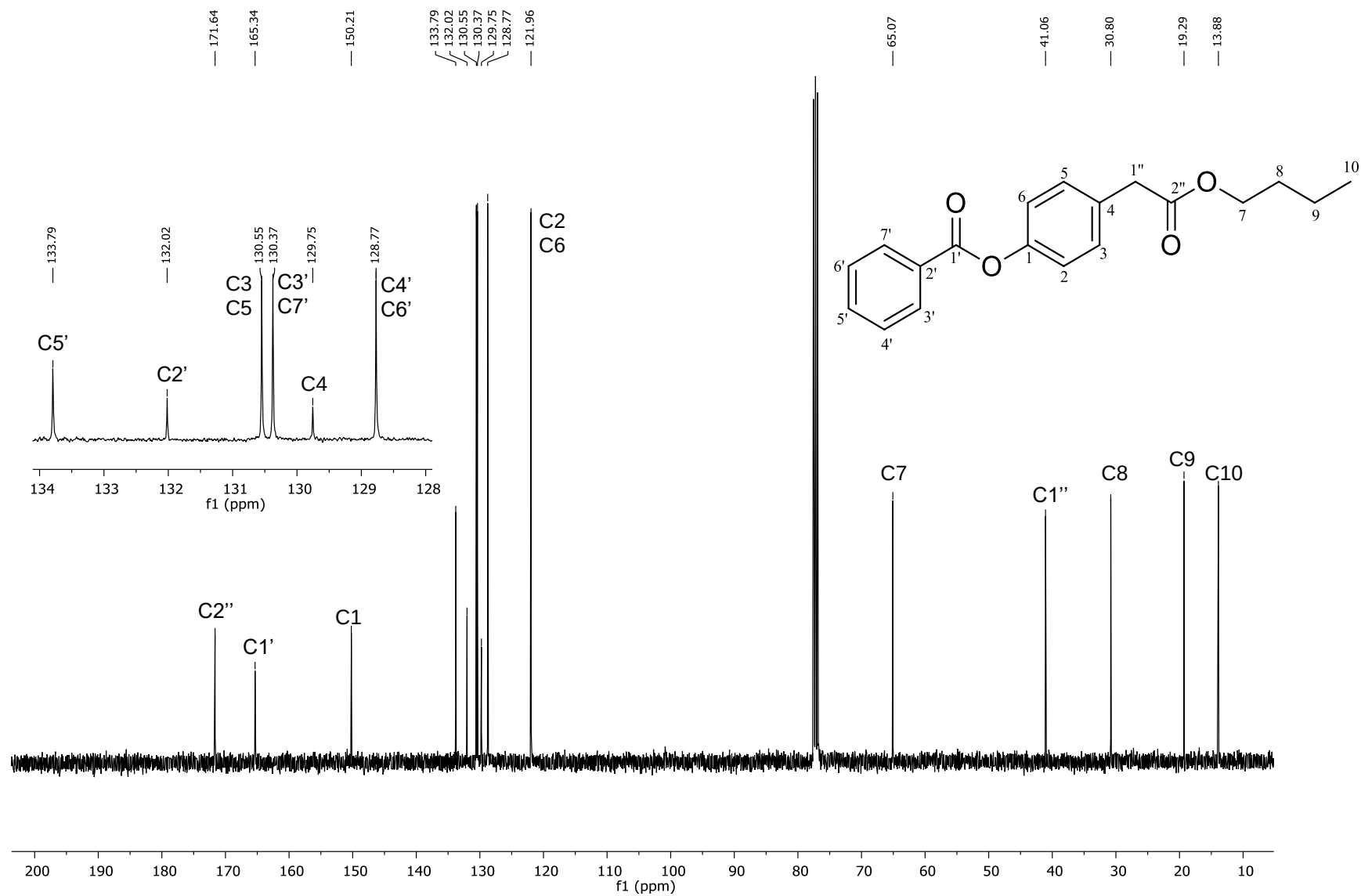


Figura 56: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-butoxi-2-oxoetil)benzoato de fenila (**6a**)

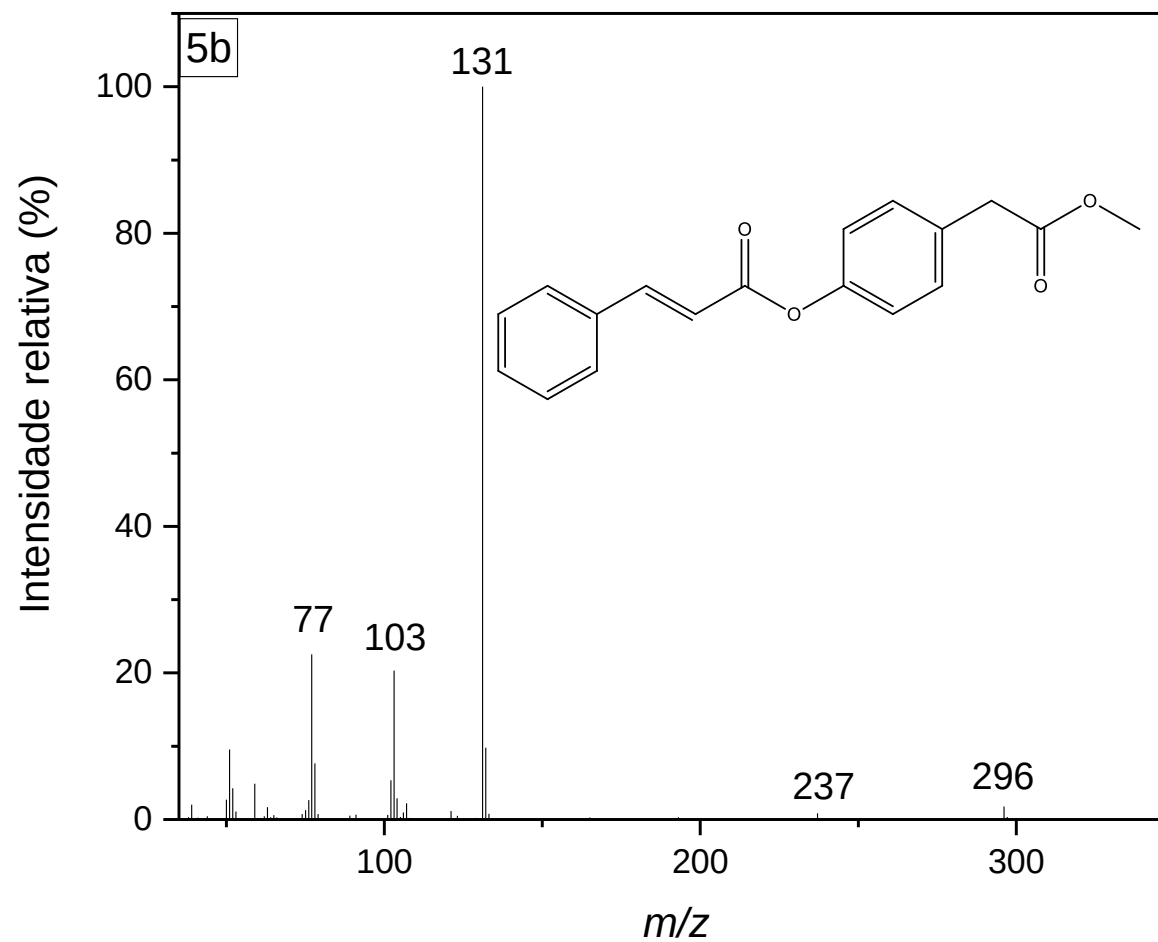


Figura 57: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**5b**)

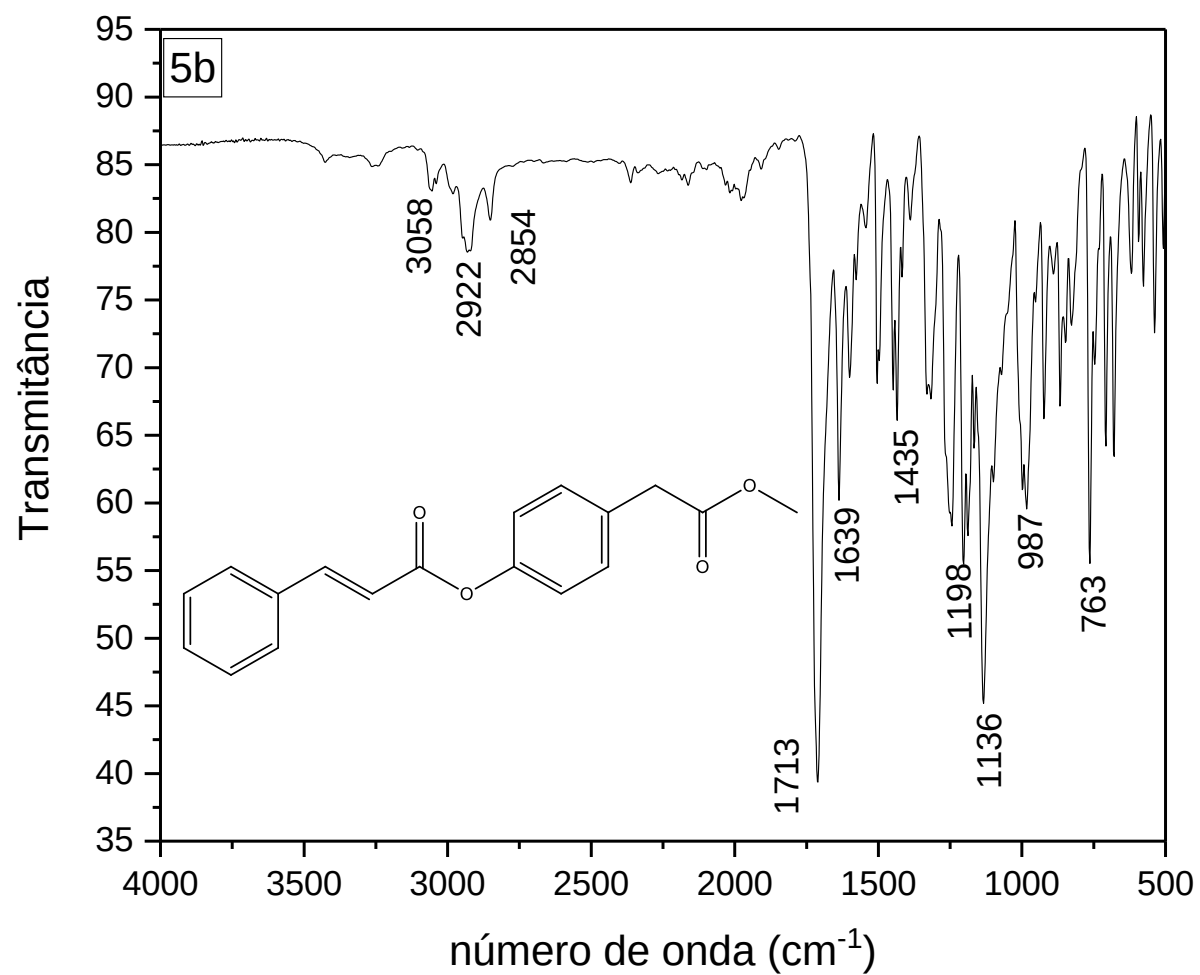


Figura 58: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**5b**)

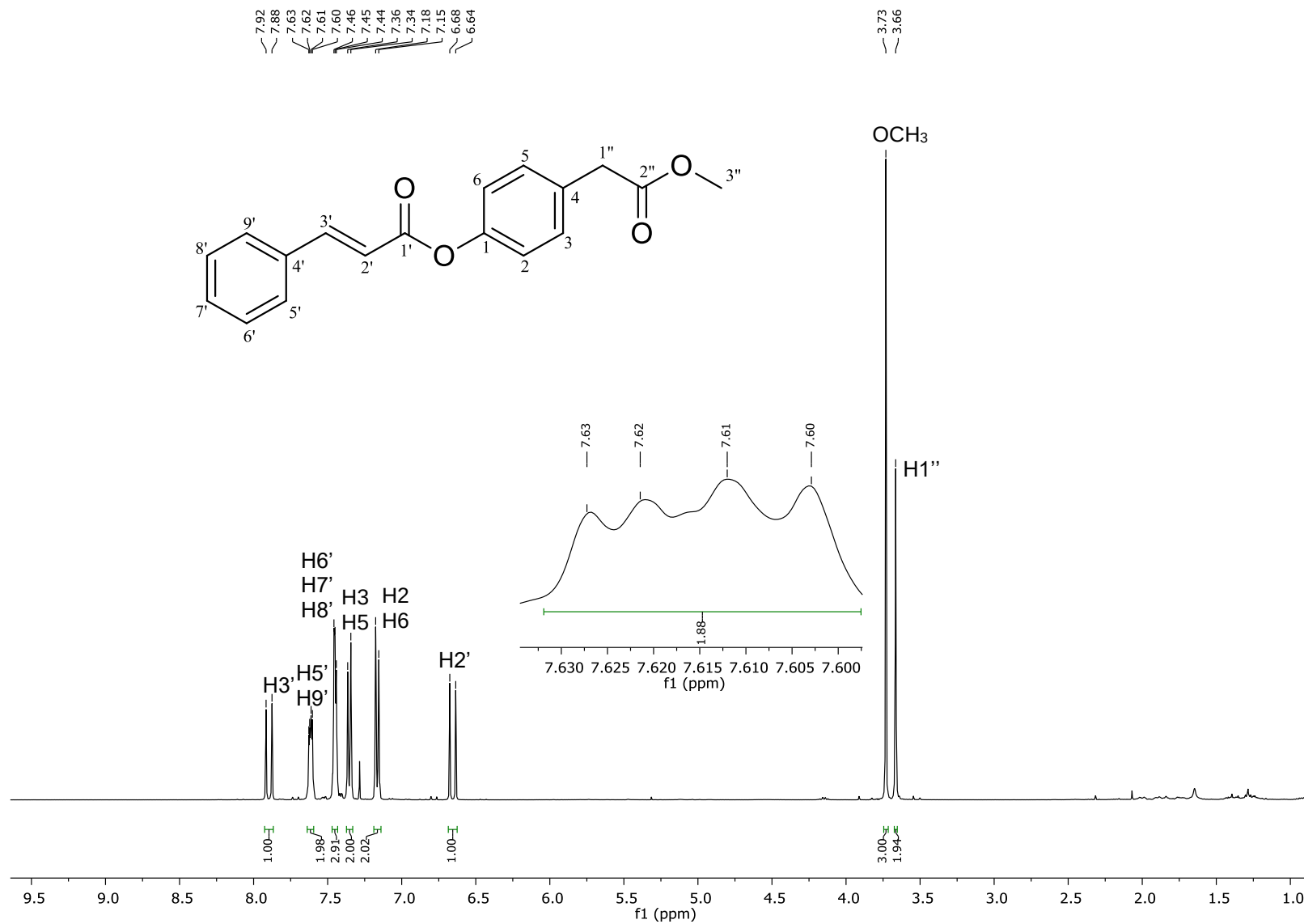


Figura 59: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**5b**)

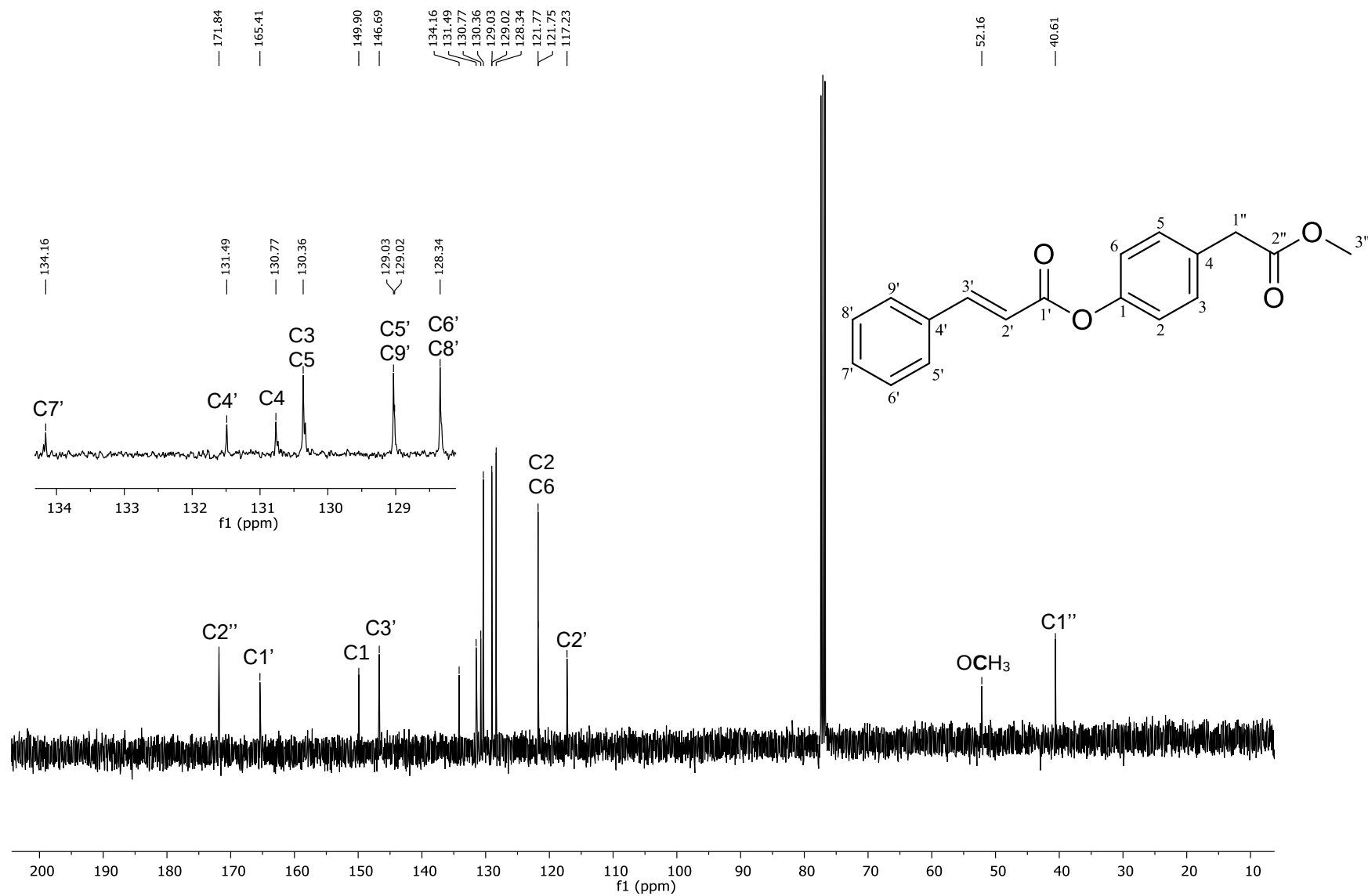


Figura 60: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**5b**)

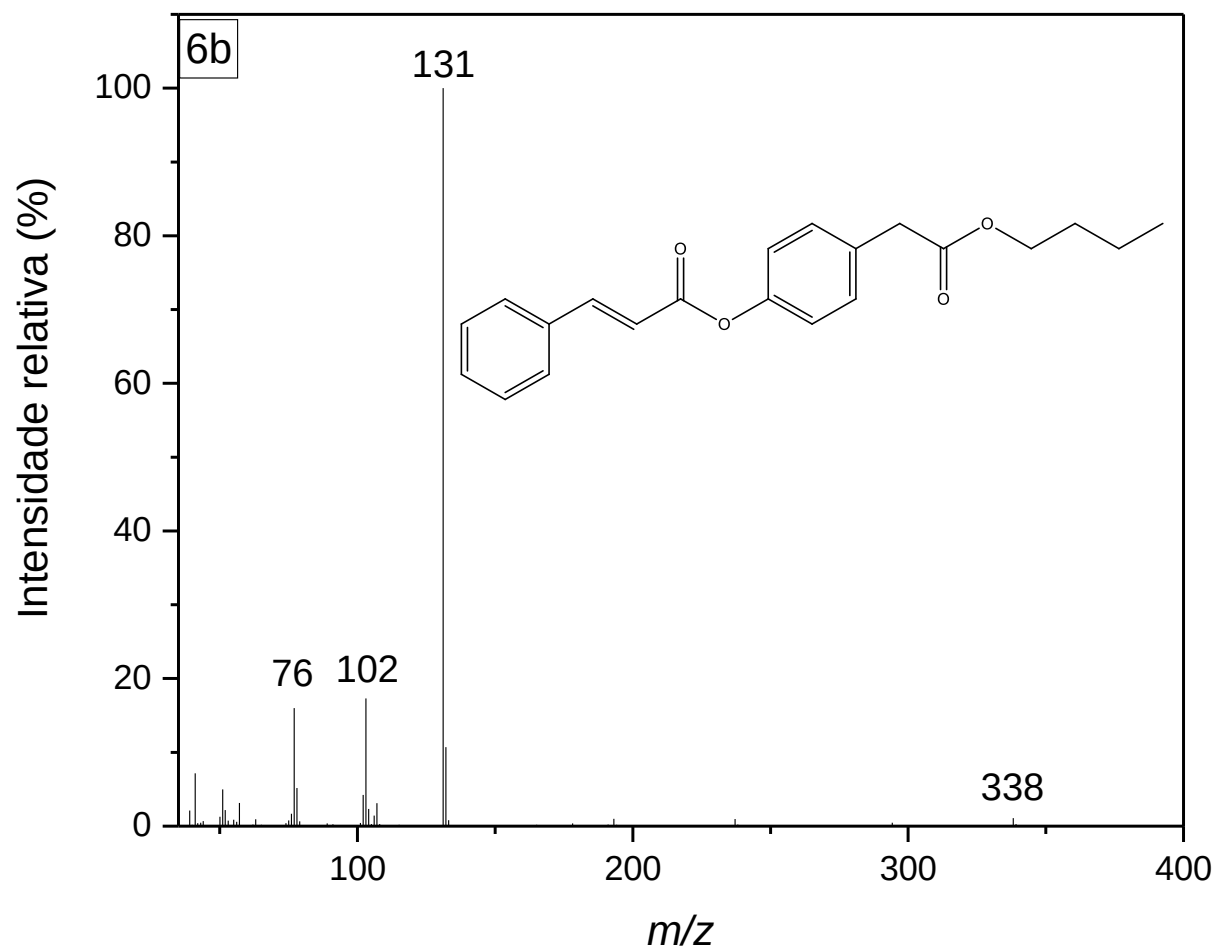


Figura 61: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**6b**)

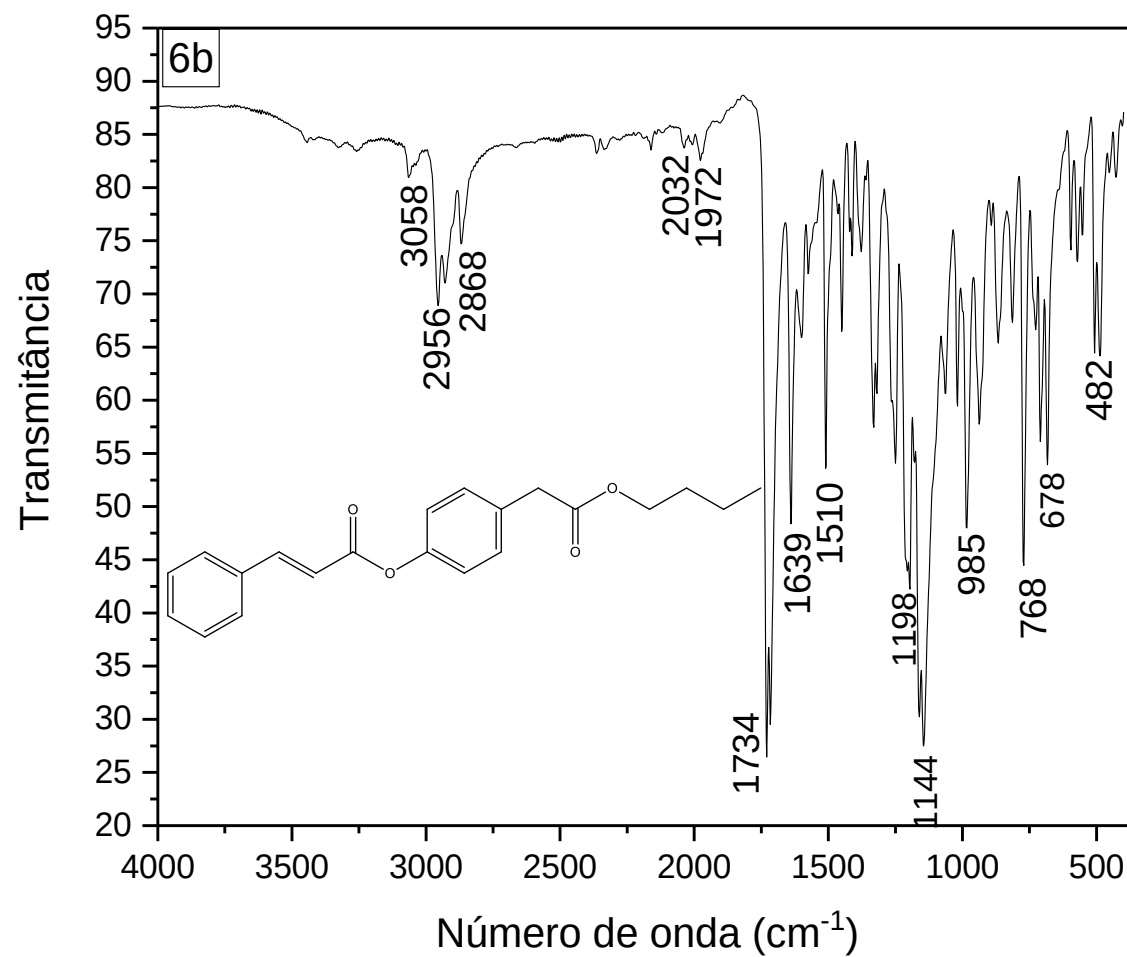


Figura 62: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-butoxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**6b**)

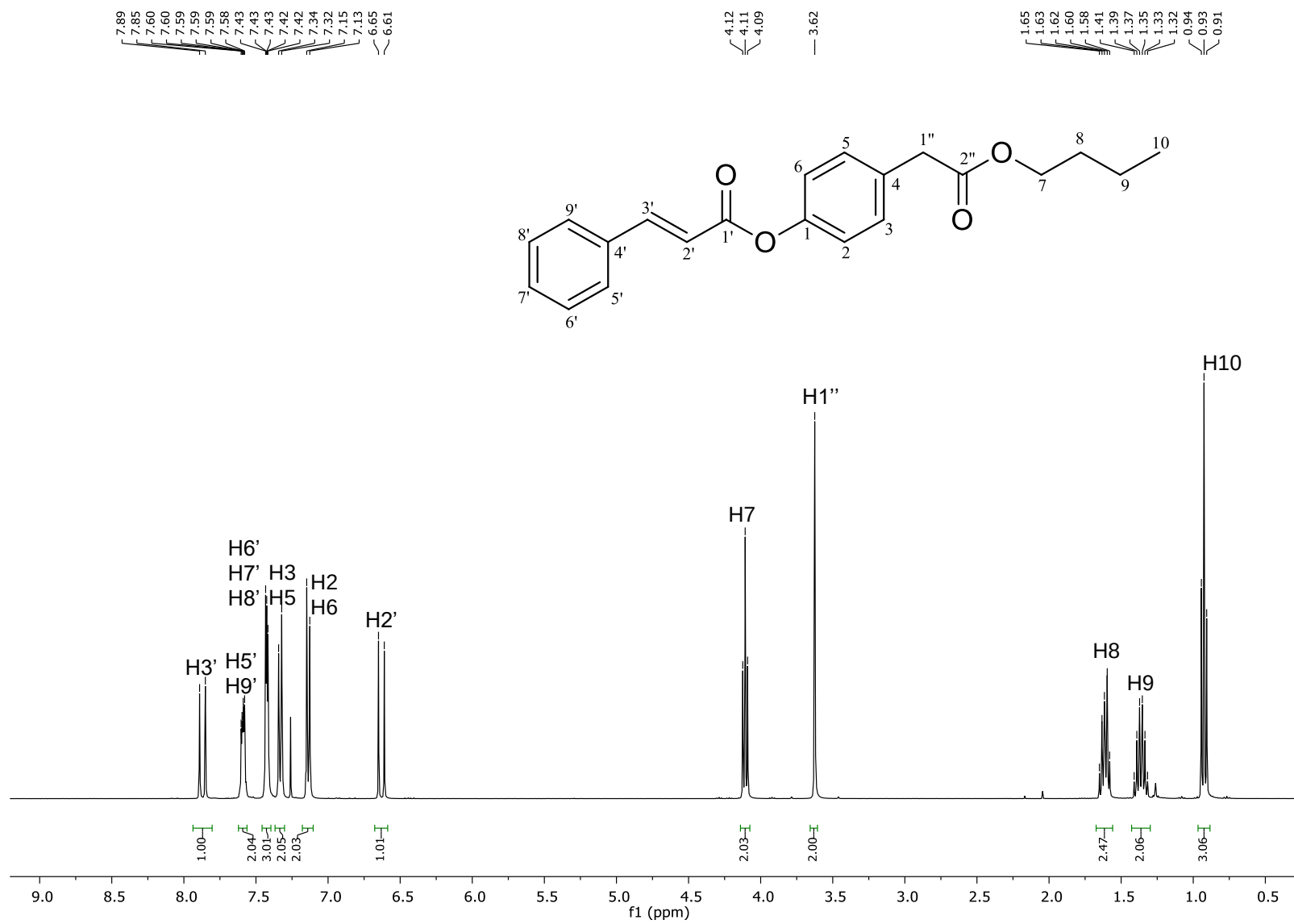


Figura 63: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do éster 4-(2-butoxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**6b**)

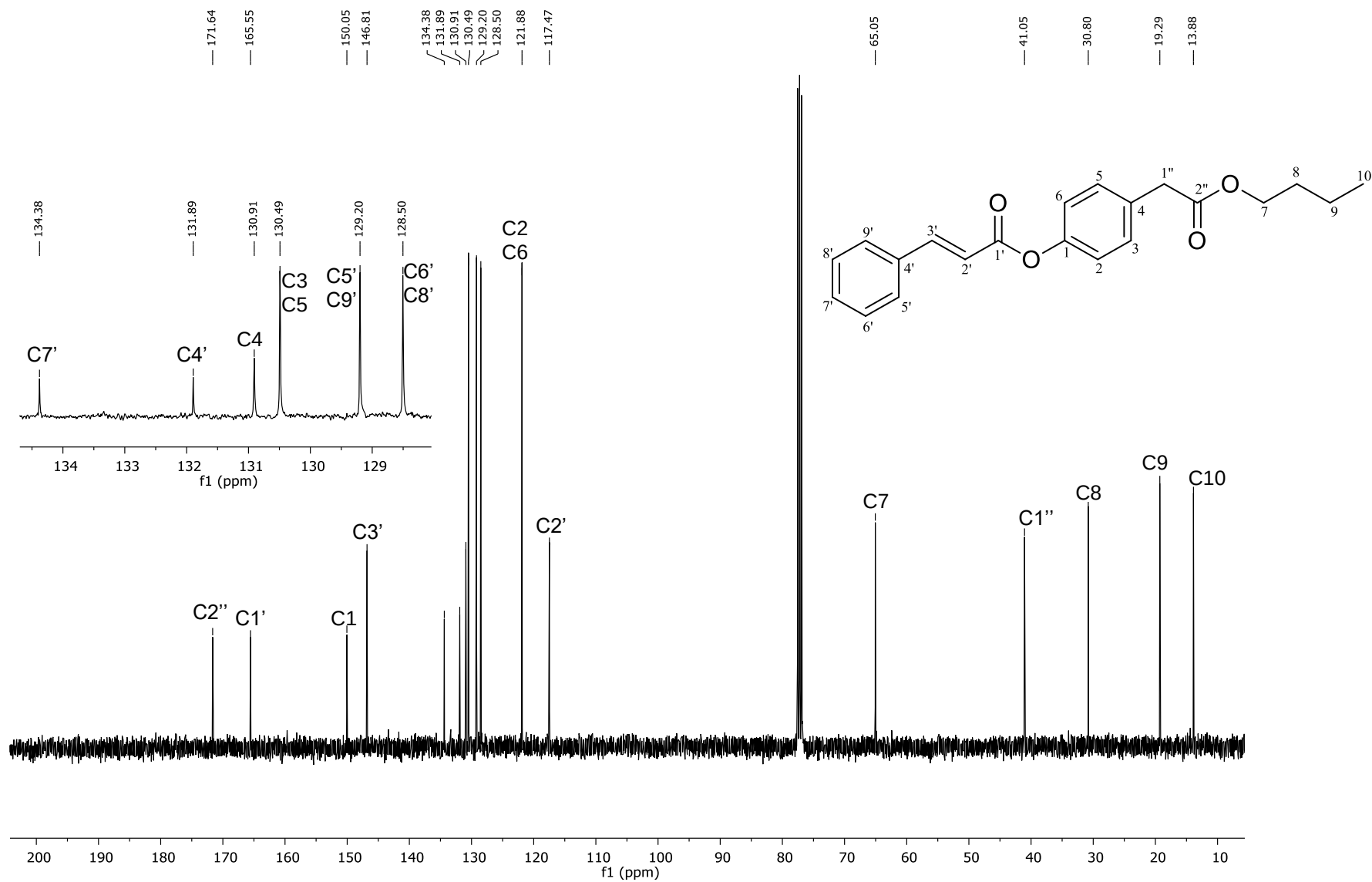


Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-fenilprop-2-enoato de fenila (**6b**)

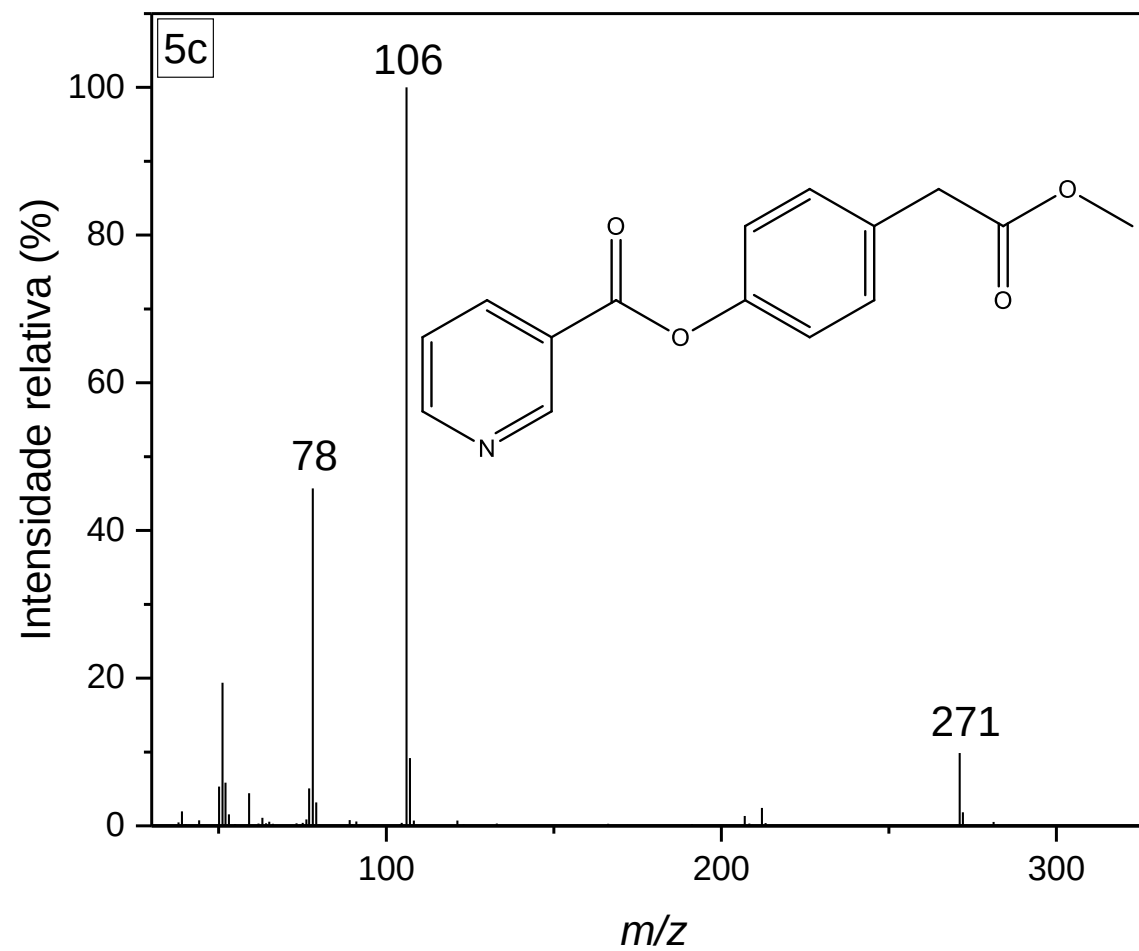


Figura 65: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (**5c**)

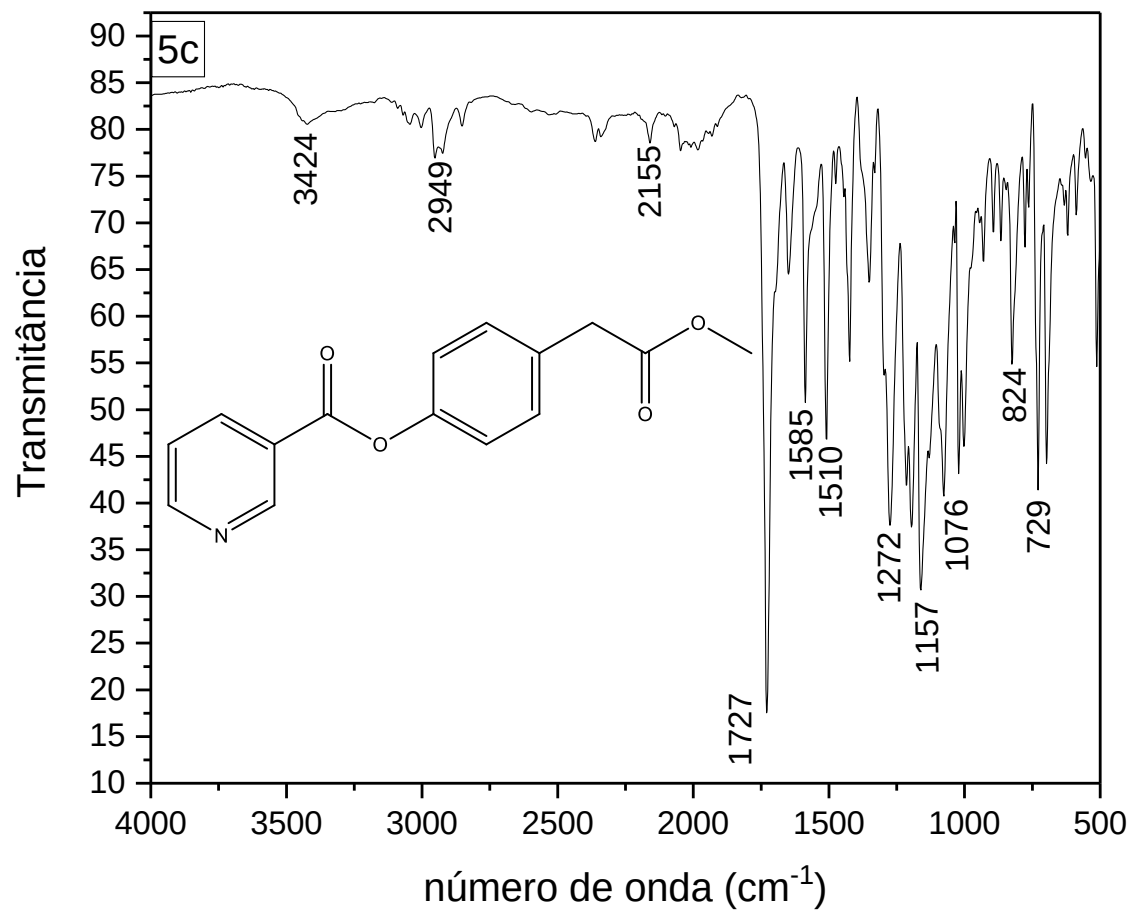


Figura 66: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (**5c**)

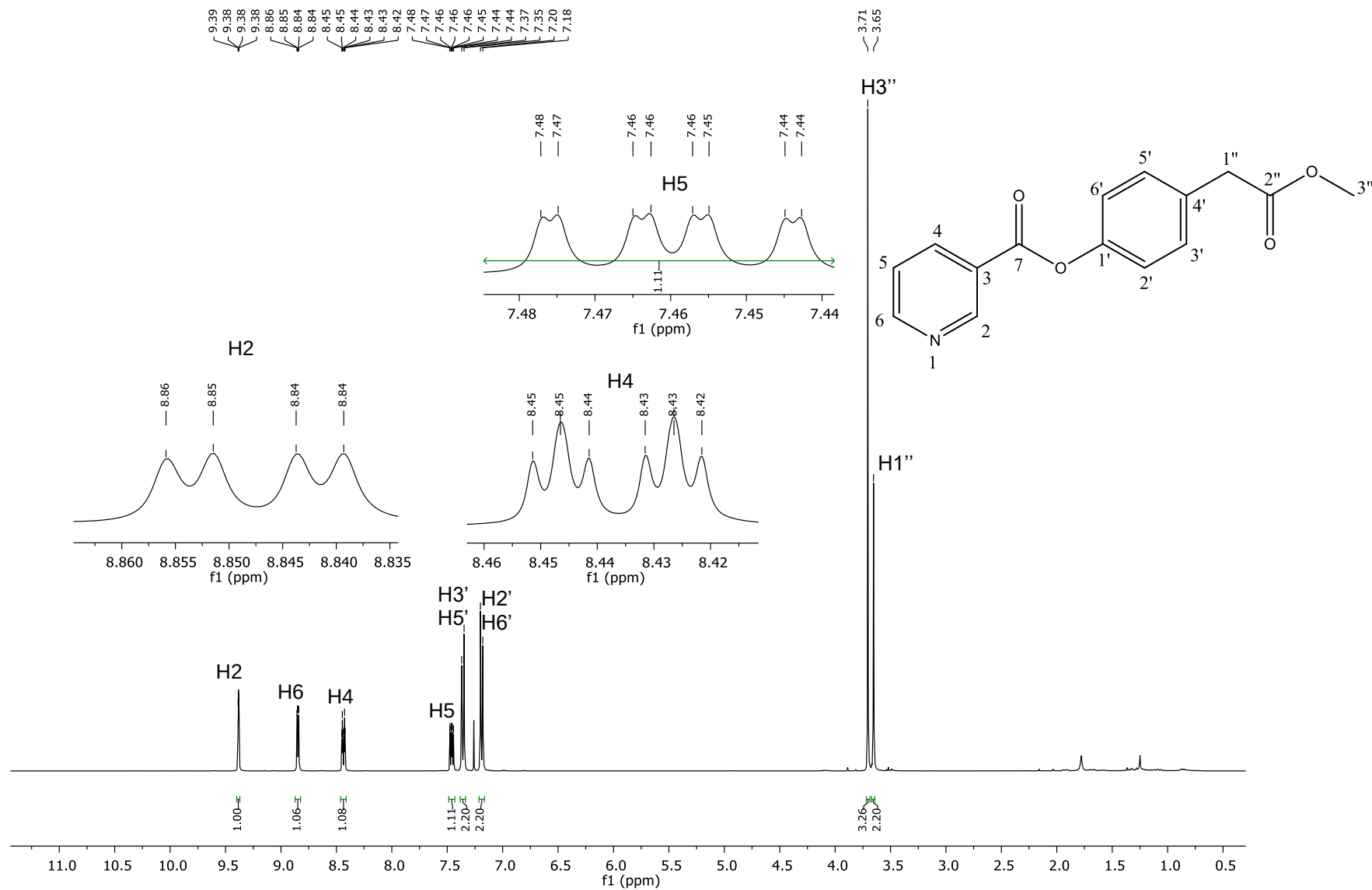


Figura 67: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (**5c**)

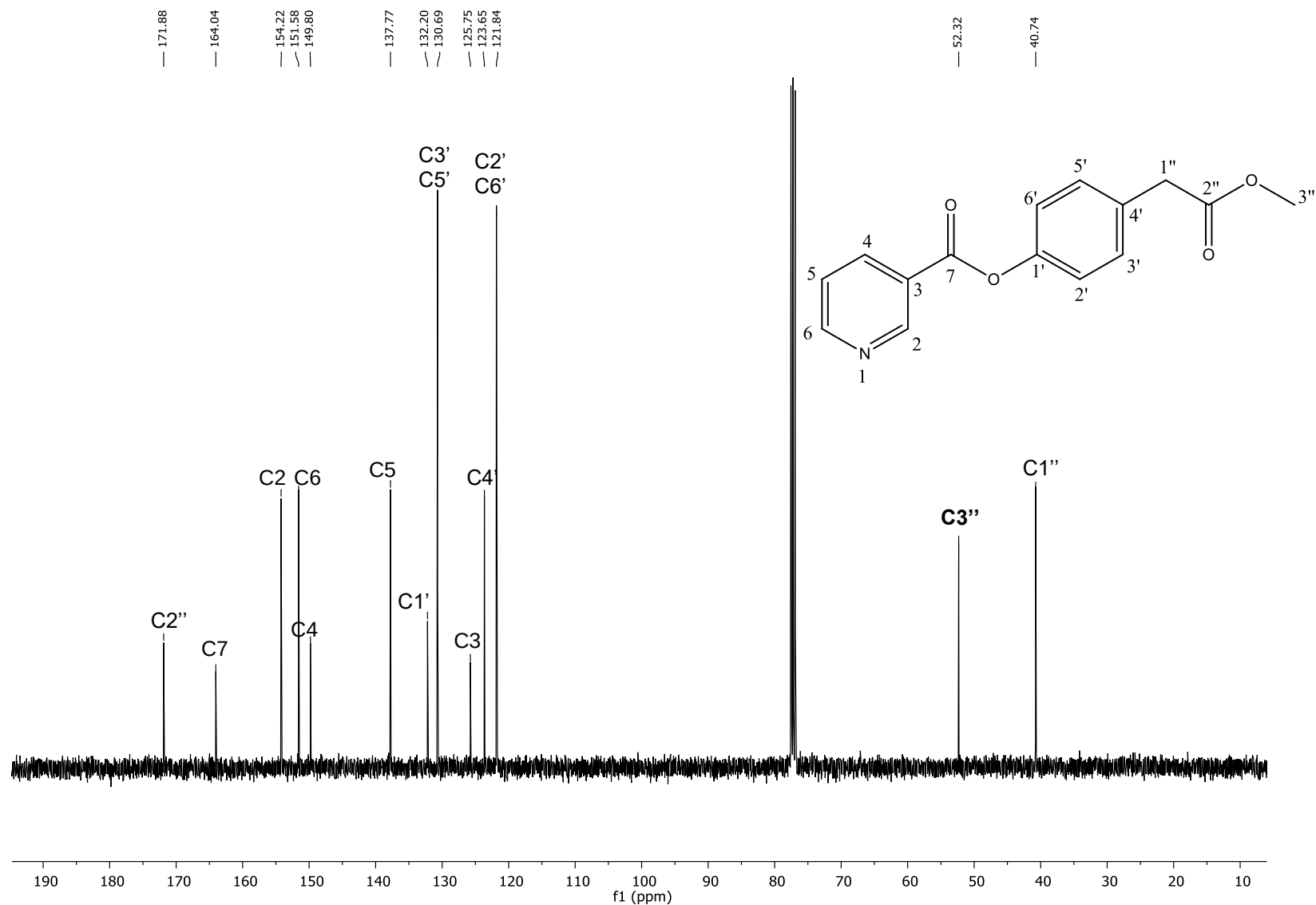


Figura 68: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 400 MHz) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (**5c**)

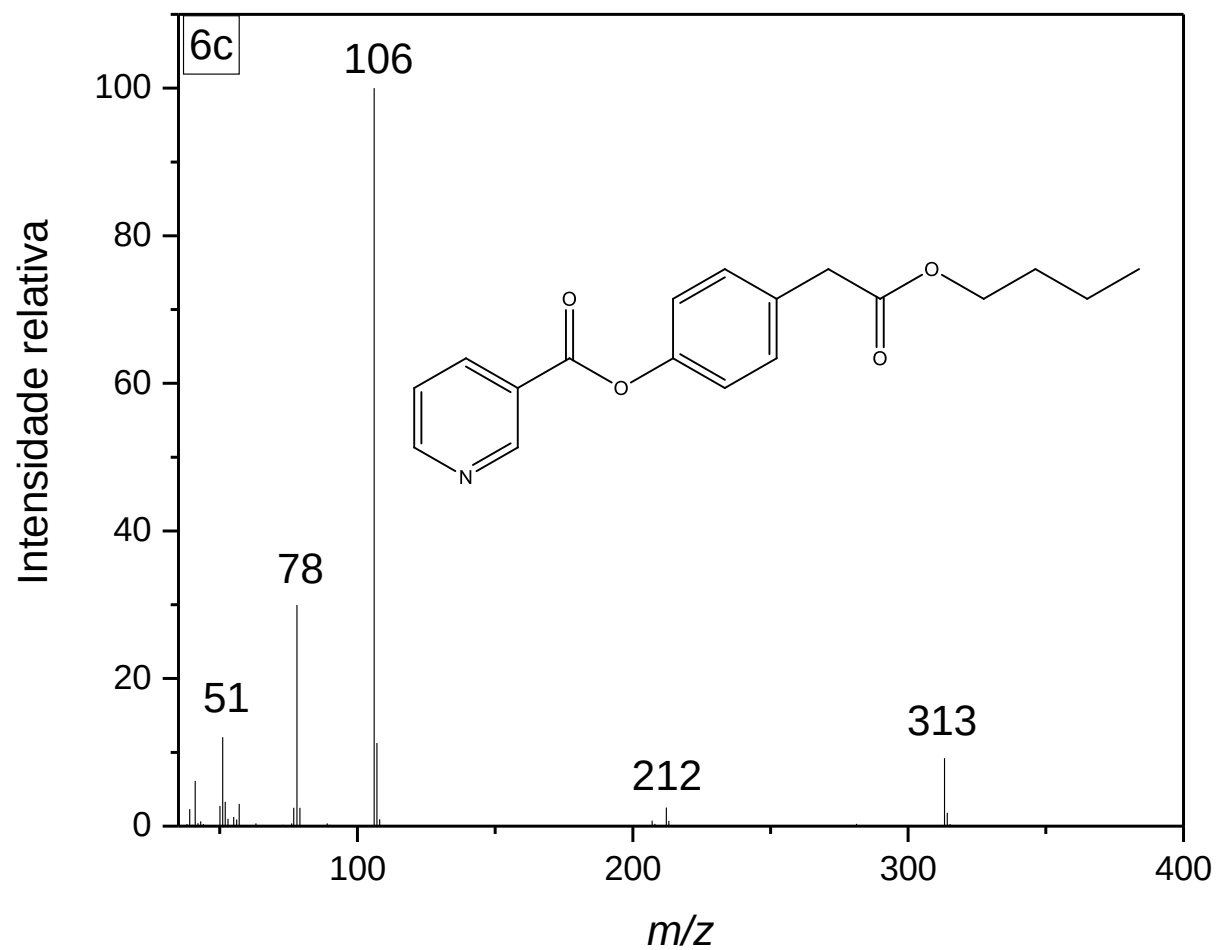


Figura 69: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (**6c**)

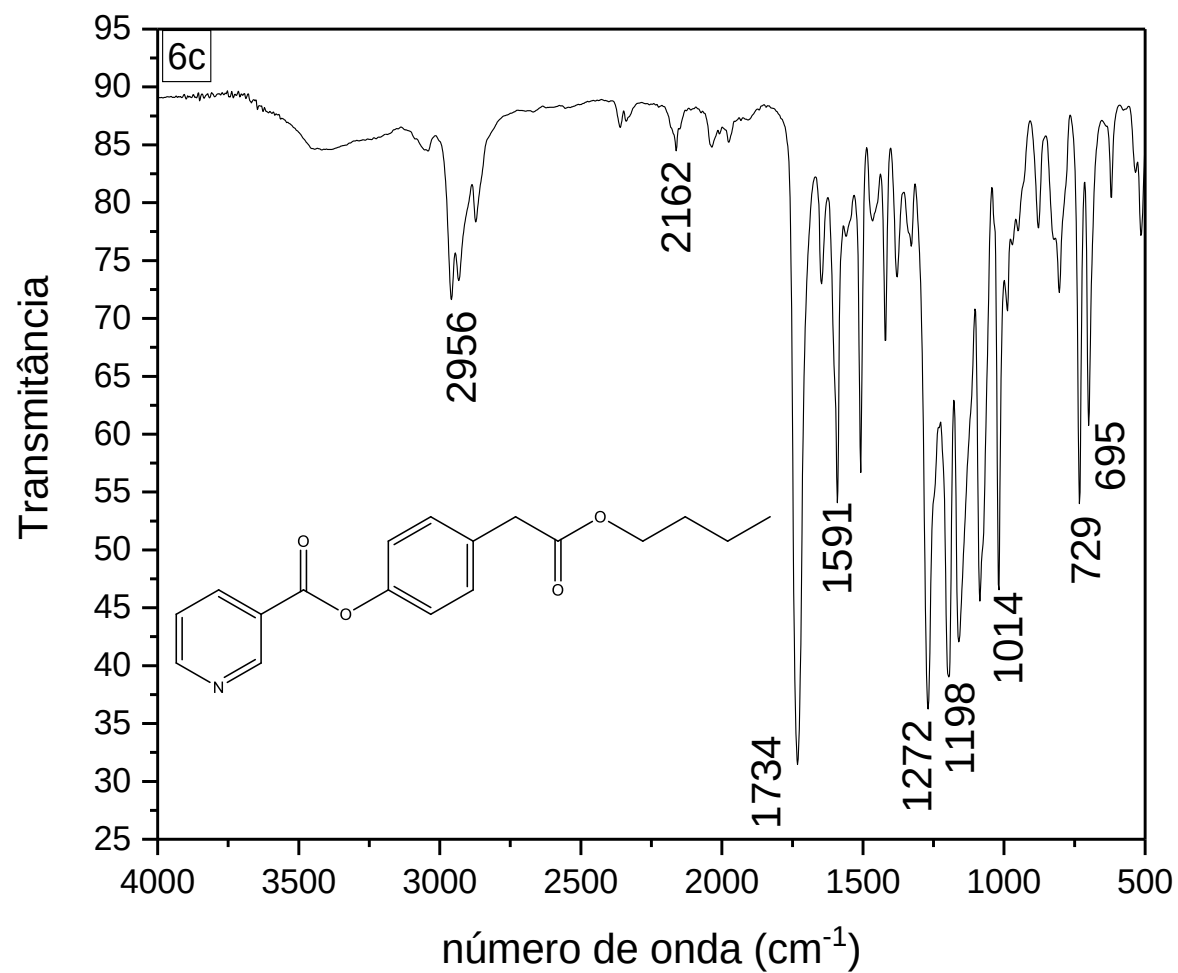


Figura 70: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-butoxi-2-oxoetil)piridina-3-carboxilato de fenila (**6c**)

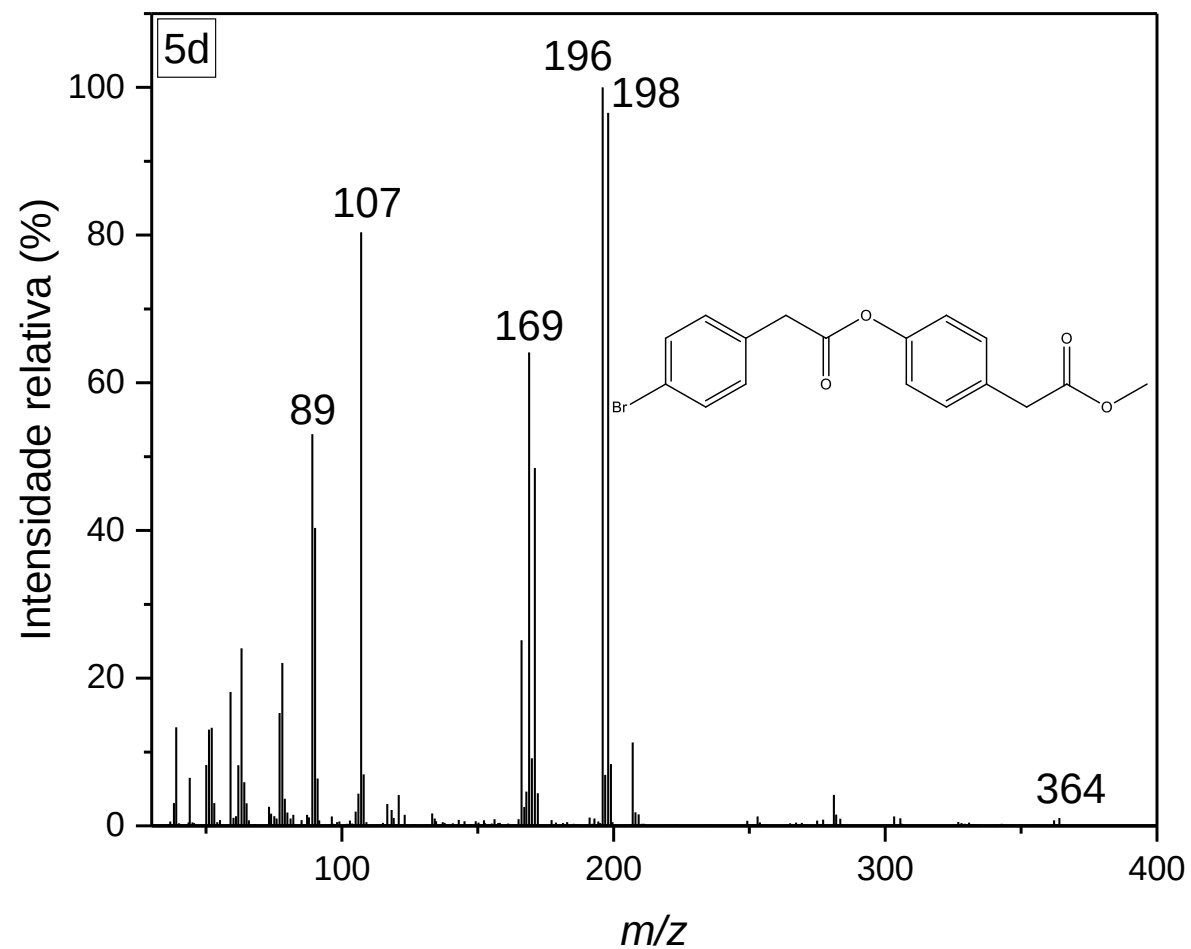


Figura 71: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**5d**)

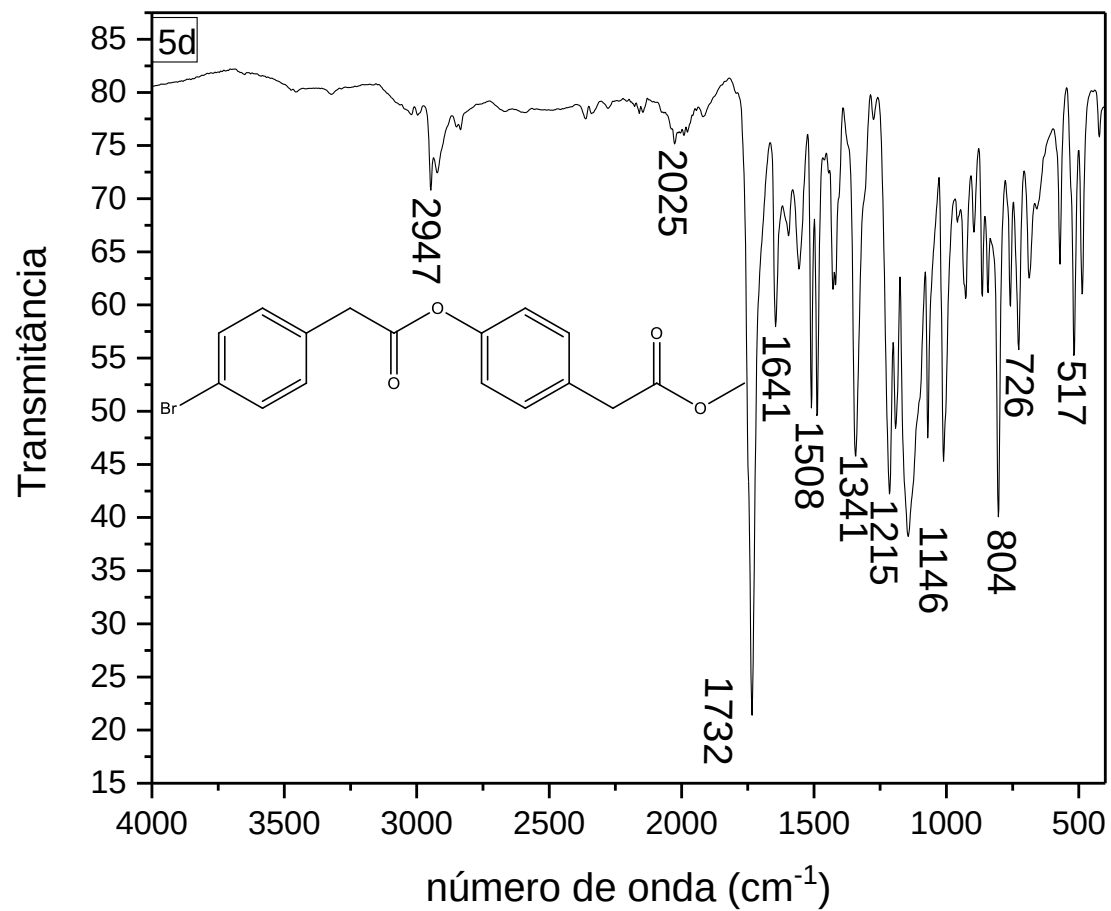


Figura 72: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**5d**)

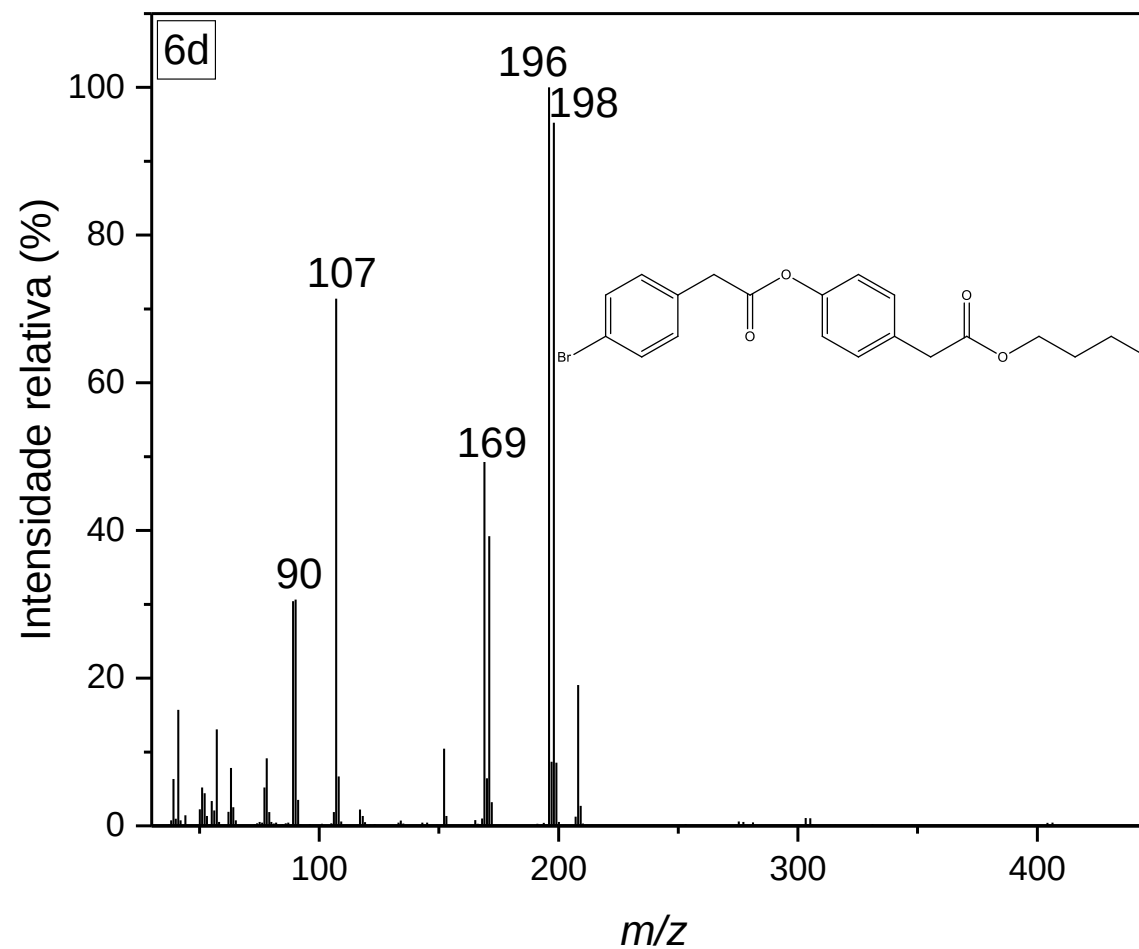


Figura 73: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**6d**)

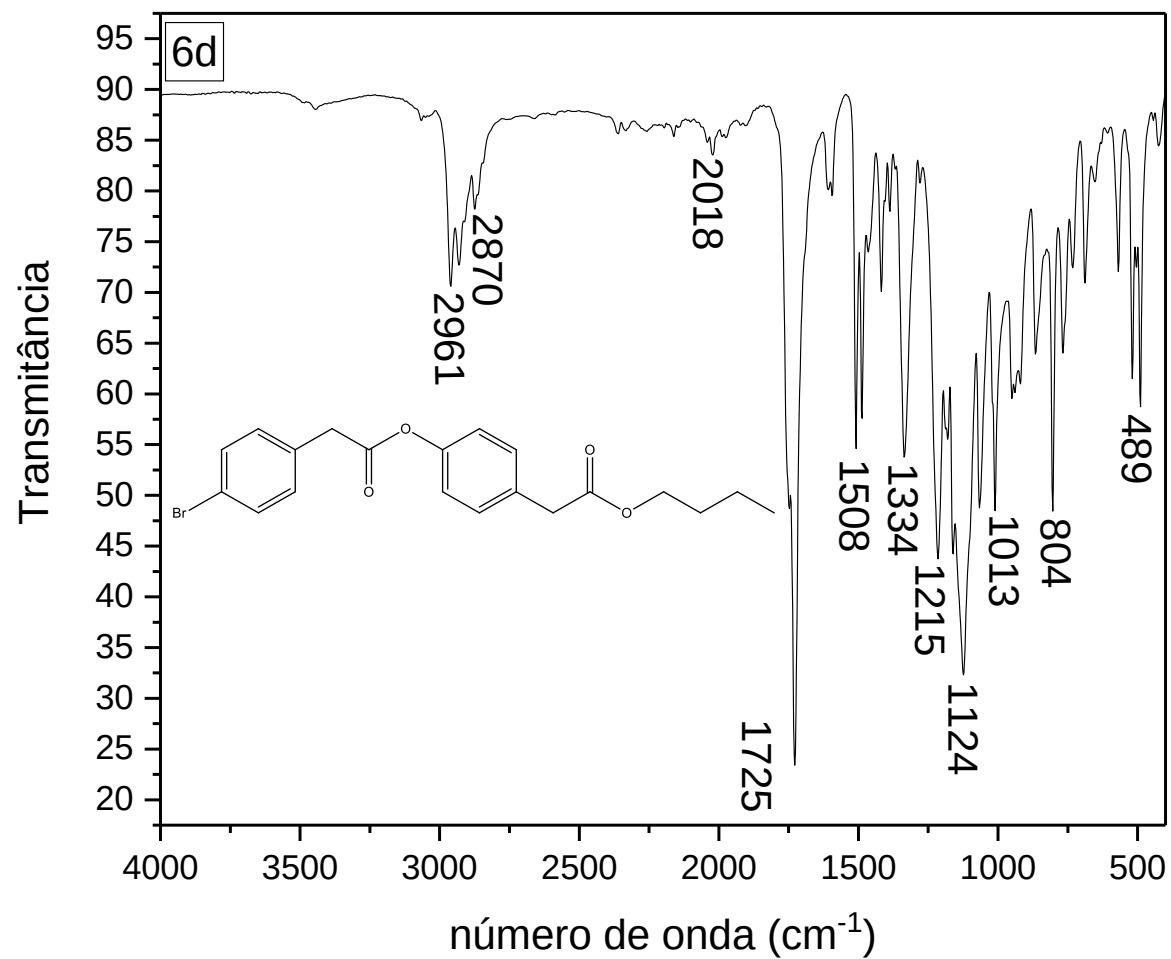


Figura 74: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**6d**)

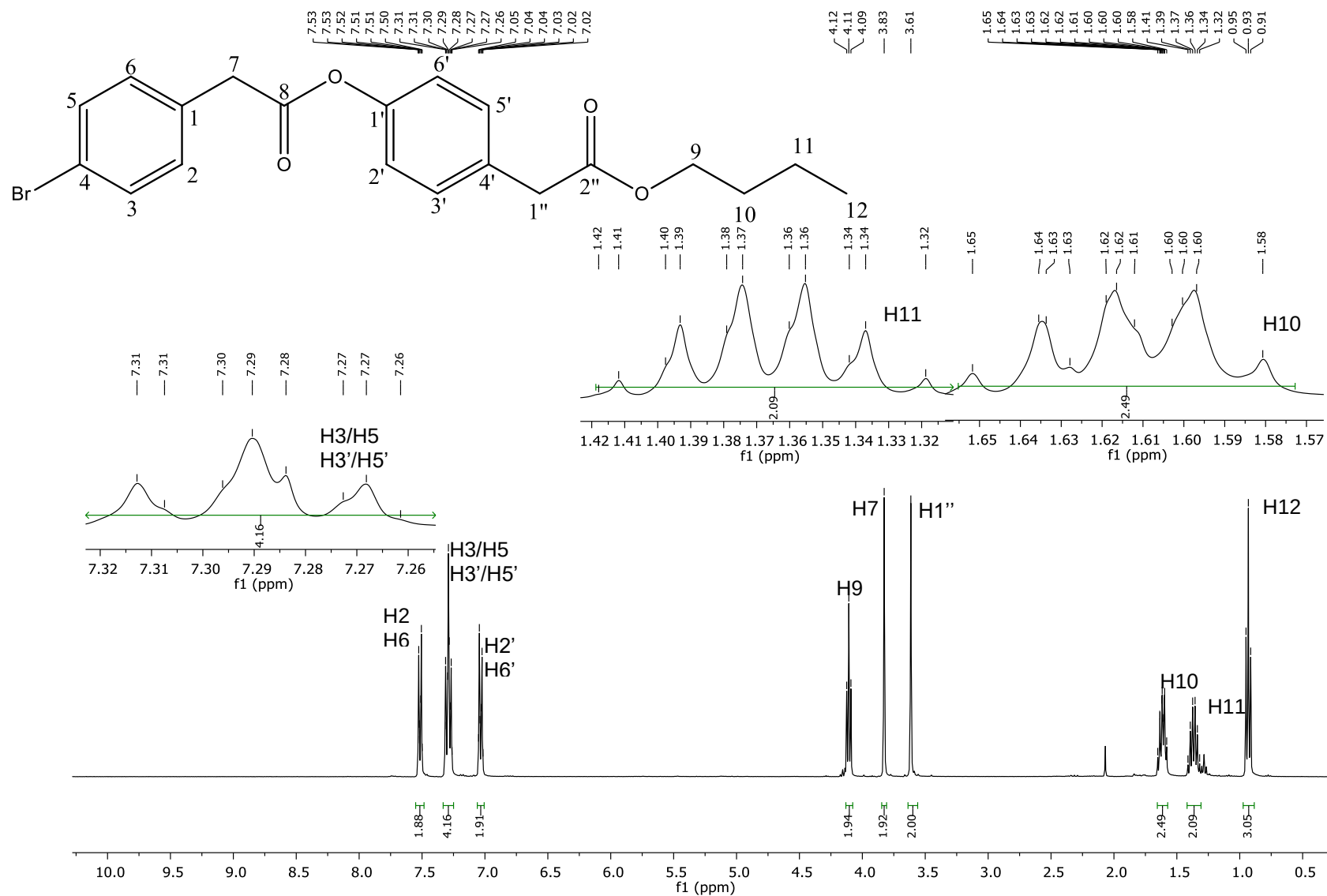


Figura 75: Espectro de RMN do ^1H do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**6d**)

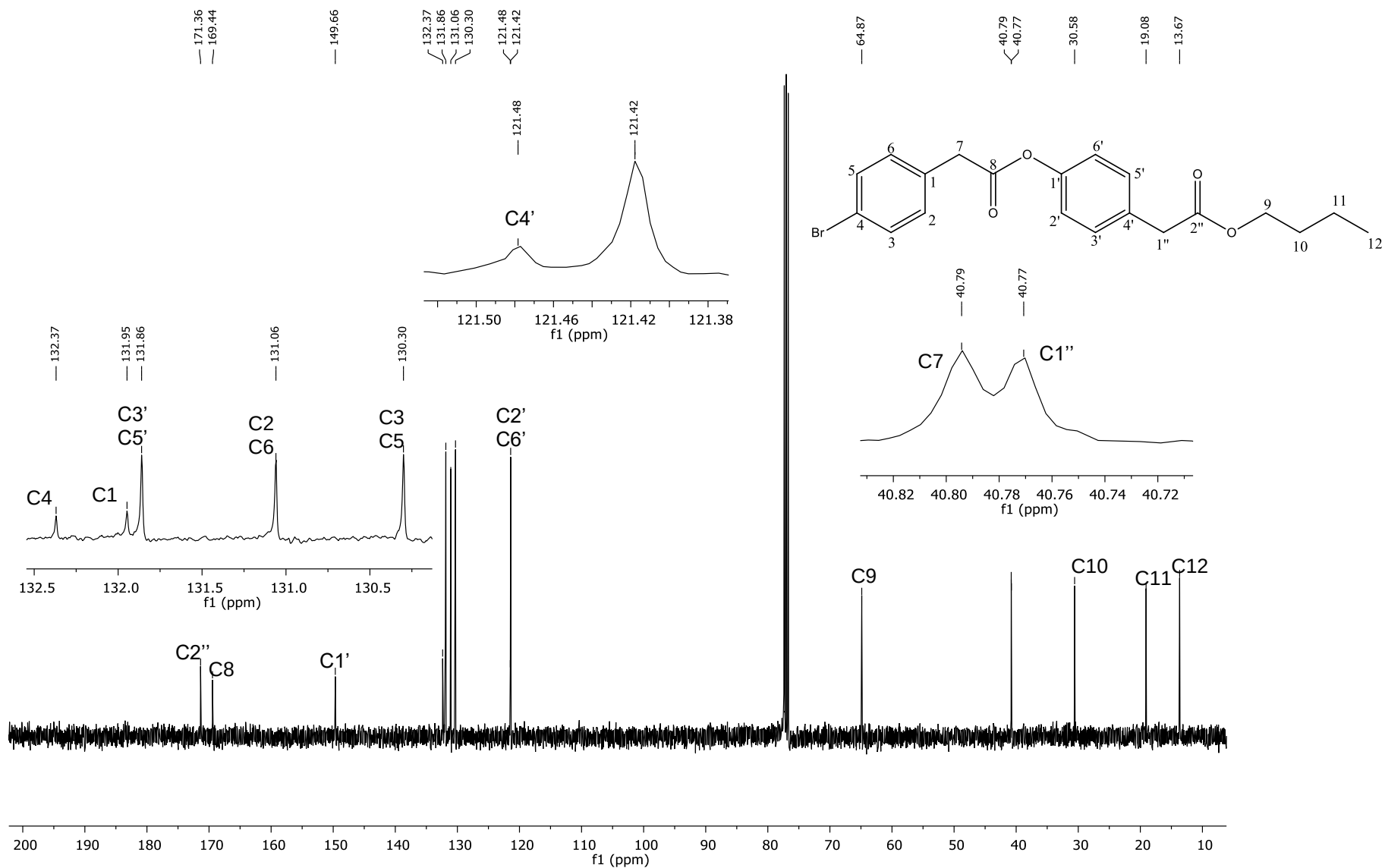


Figura 76: Espectro de RMN do ^{13}C do éster 4-(2-butoxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**6d**)

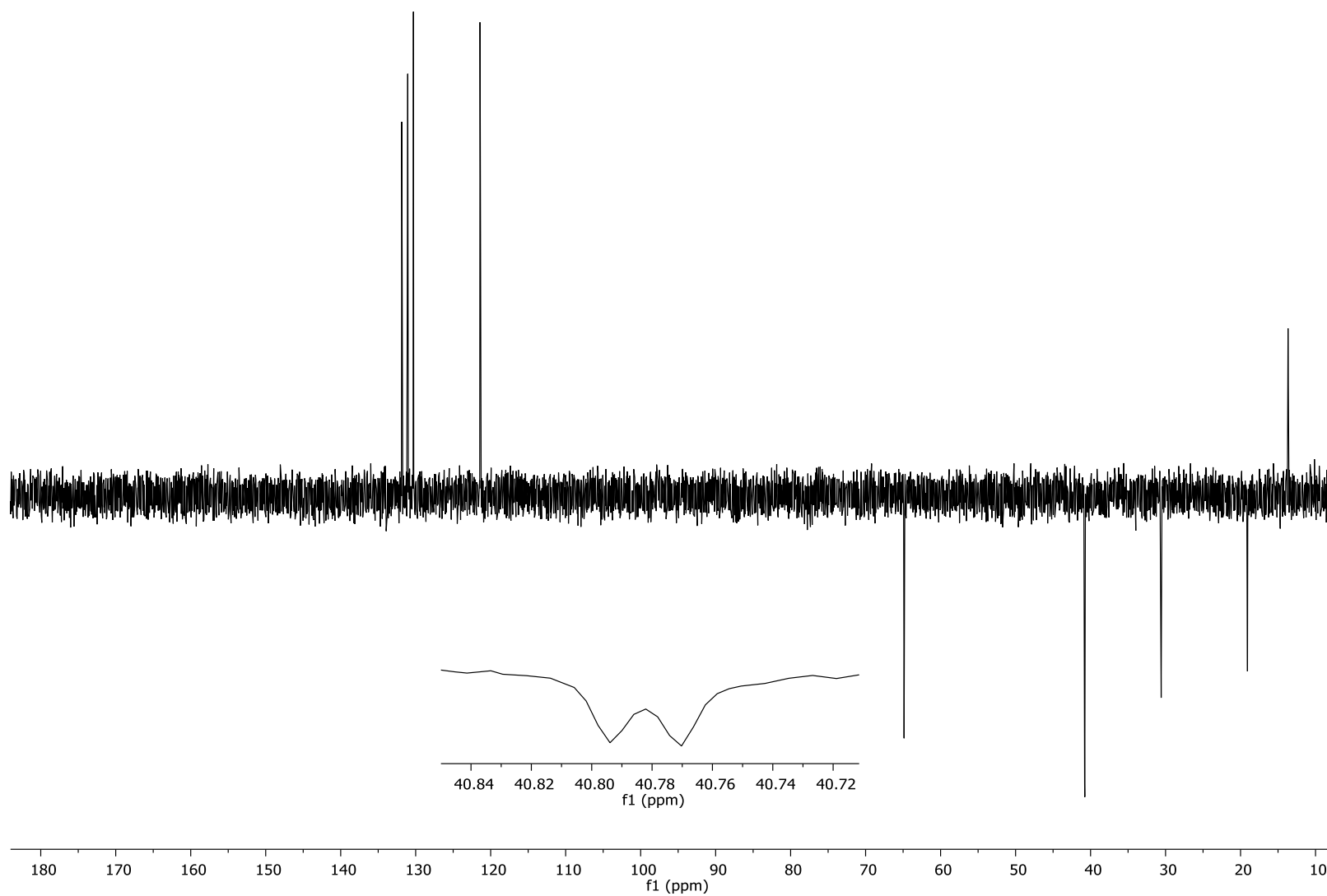


Figura 77: Espectro DEPT 135 do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-bromofenil)etanoato de fenila (**6d**)

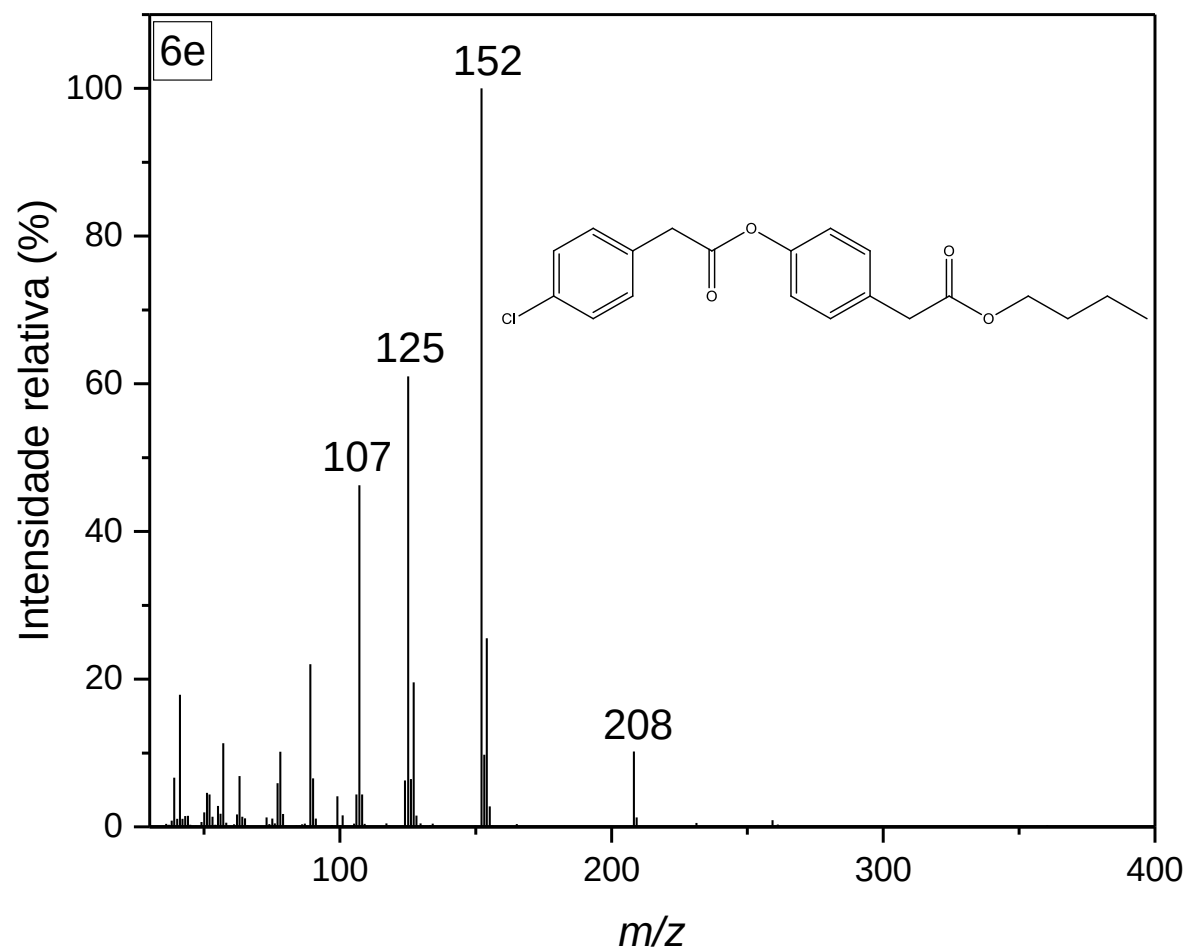


Figura 78: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-clorofenil)etanoato de fenila (**6e**)

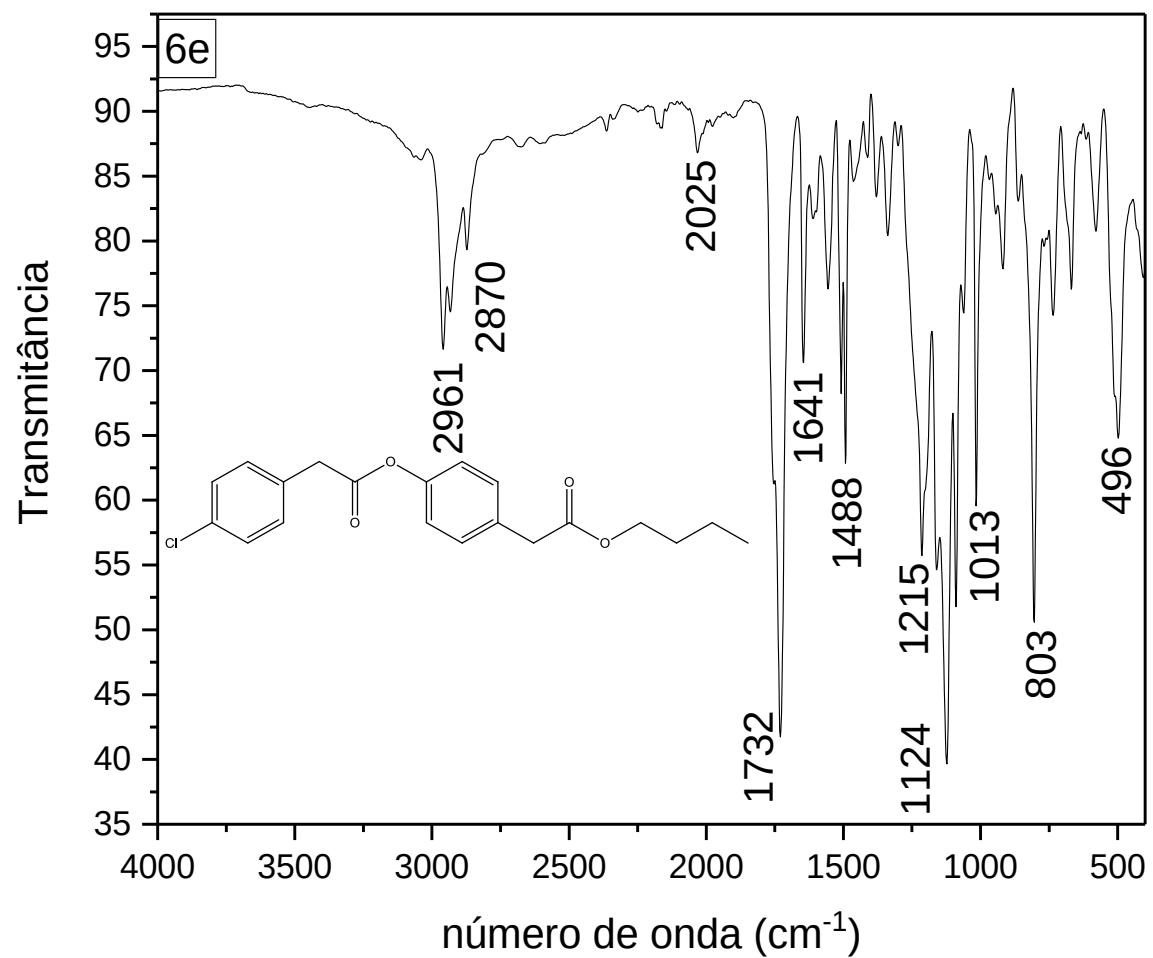


Figura 79: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-butóxi-2-oxoetil)-(4-clorofenil)etanoato de fenila (**6e**)

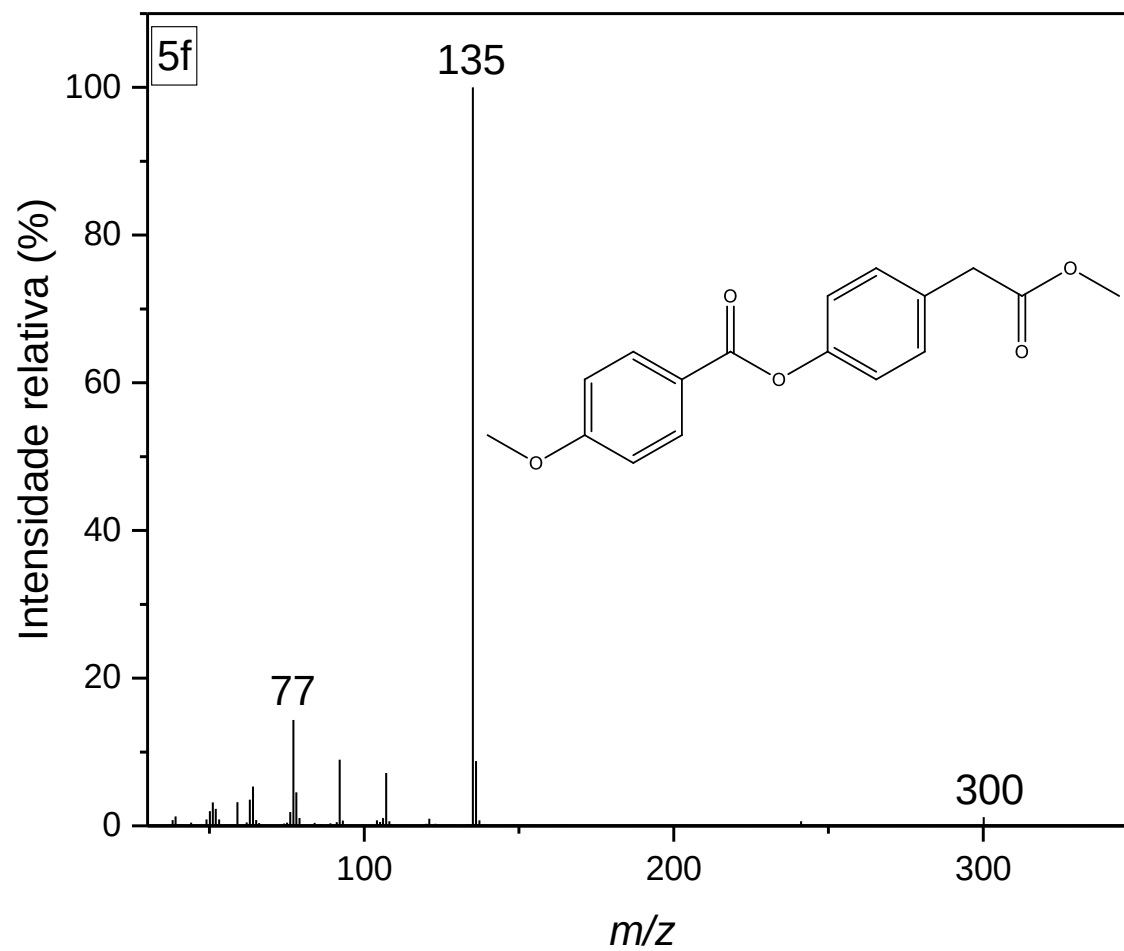


Figura 80: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-4-metóxi benzoato de fenila (**5f**)

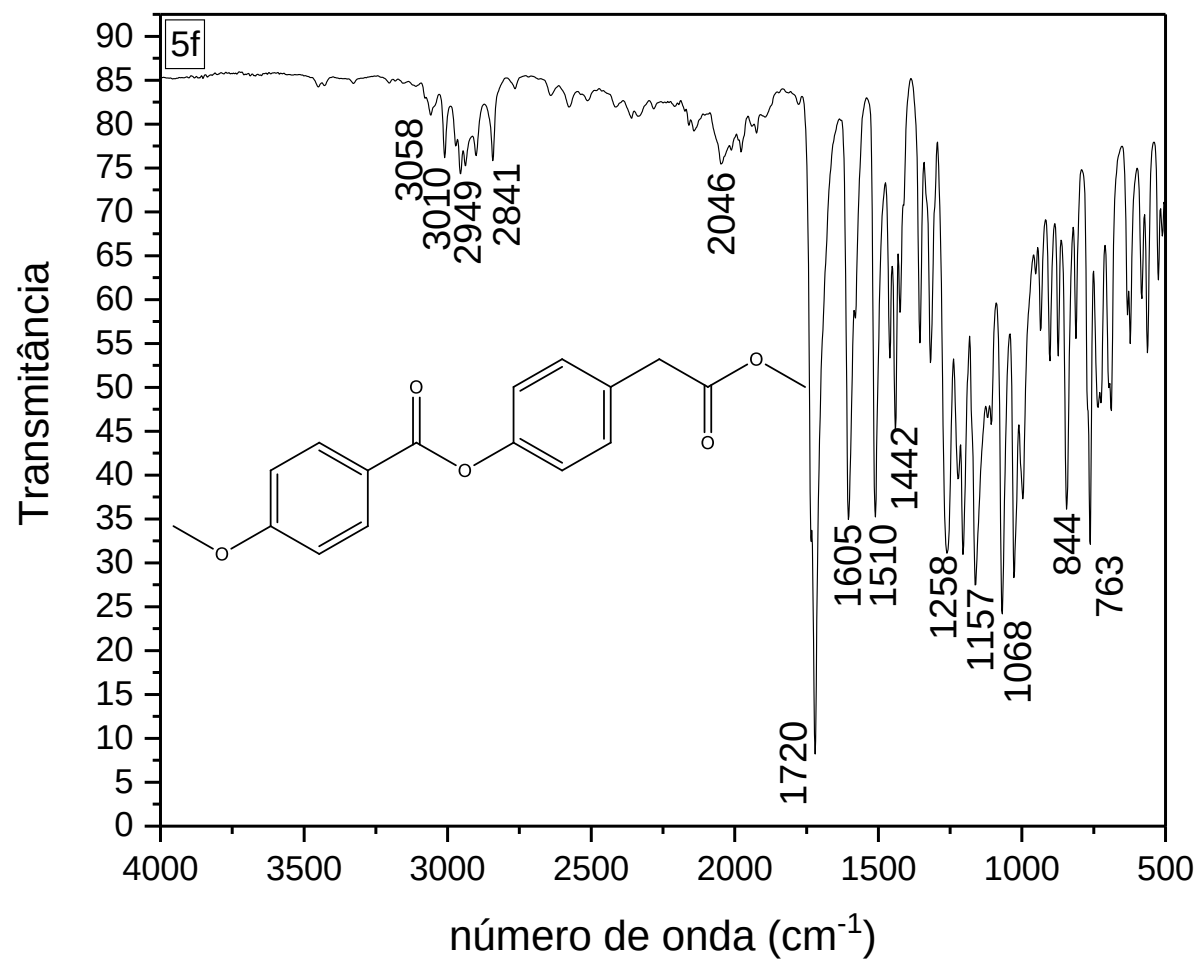


Figura 81: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-4-metóxi benzoato de fenila (**5f**)

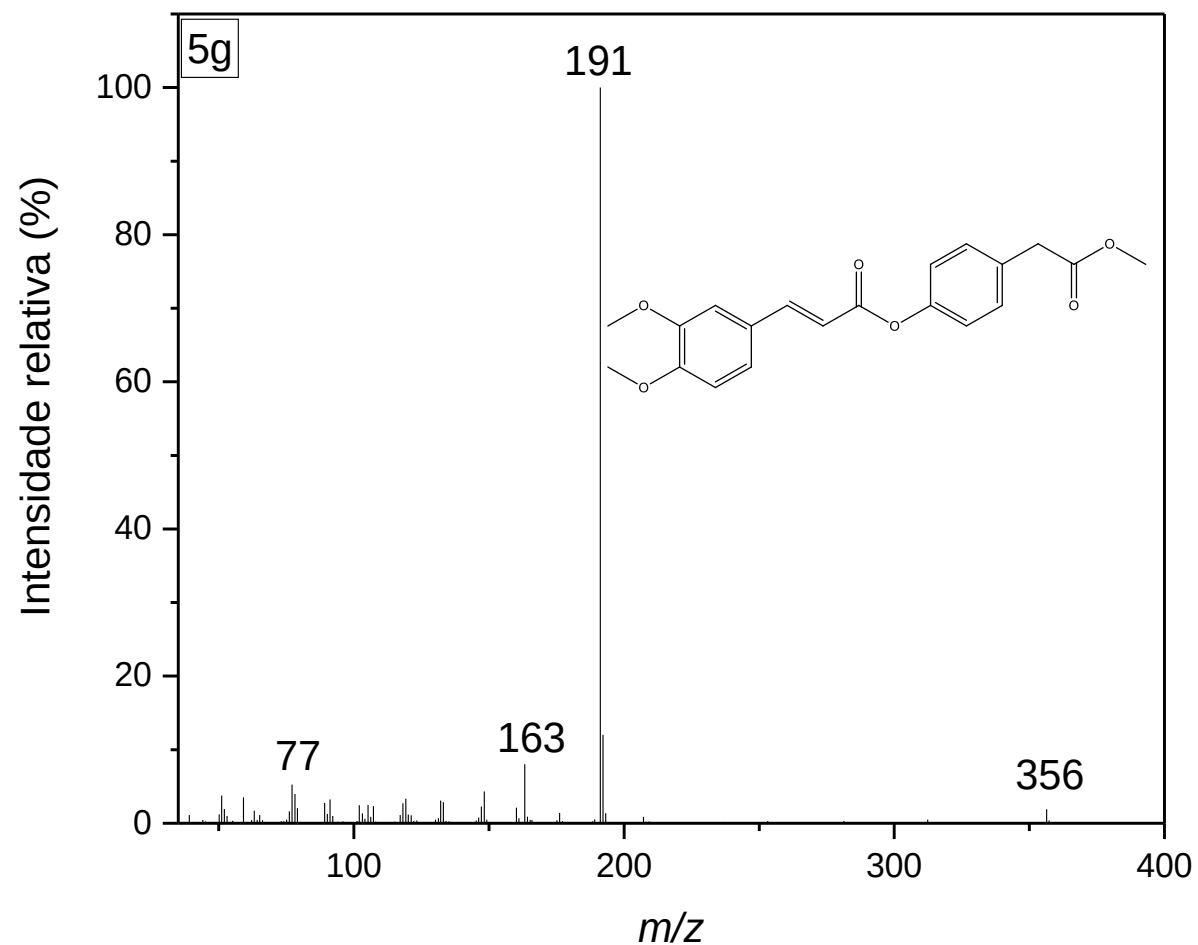


Figura 82: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-(3,4-dimetóxfenil)prop-2-etanoato de fenila (**5g**)

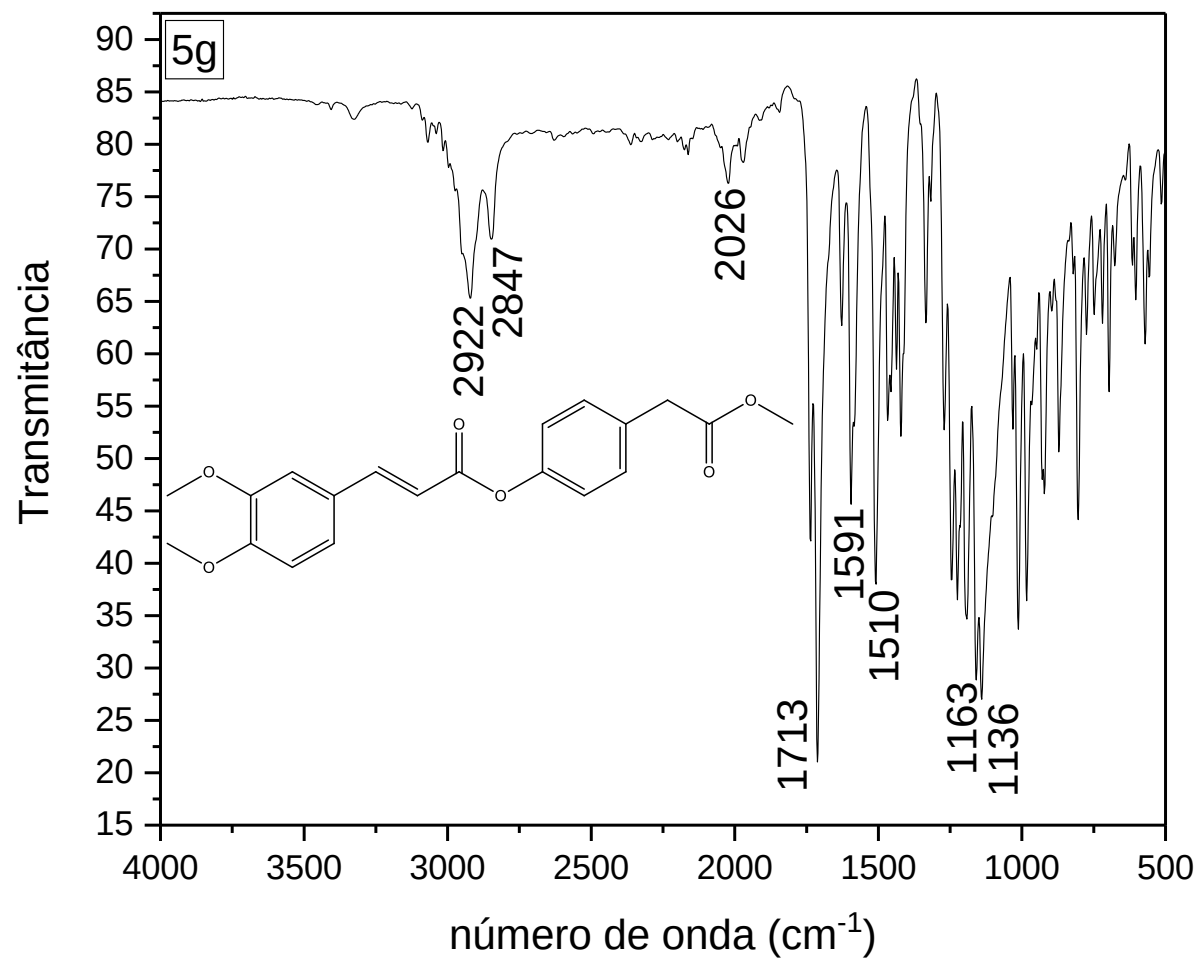


Figura 83: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-(3,4-dimetóxiifenil)prop-2-etanoato de fenila (**5g**)

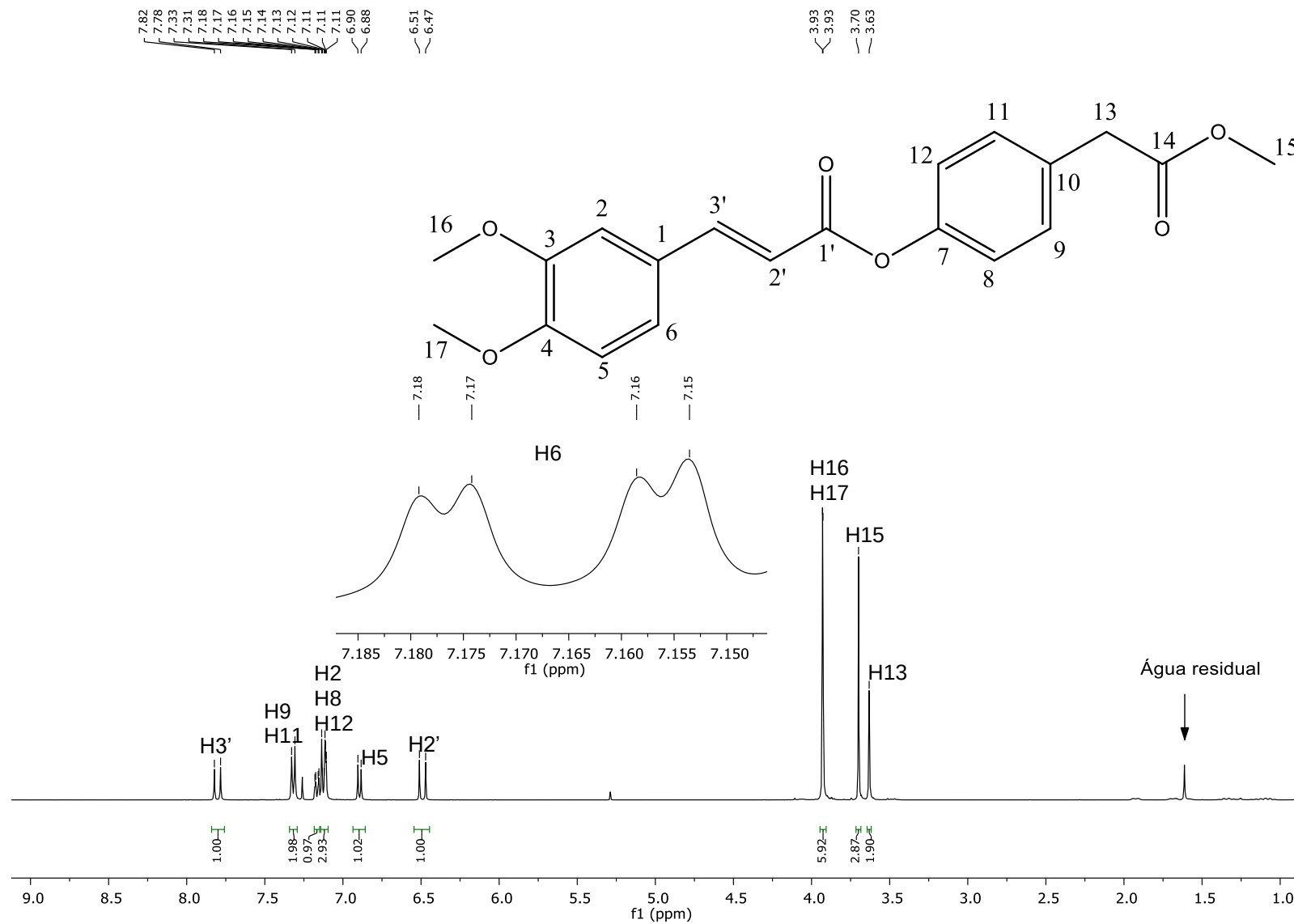


Figura 84: Espectro de RMN de ^1H do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2*E*)-3-(3,4-dimetóxiifenil)prop-2-etanoato de fenila (**5g**)

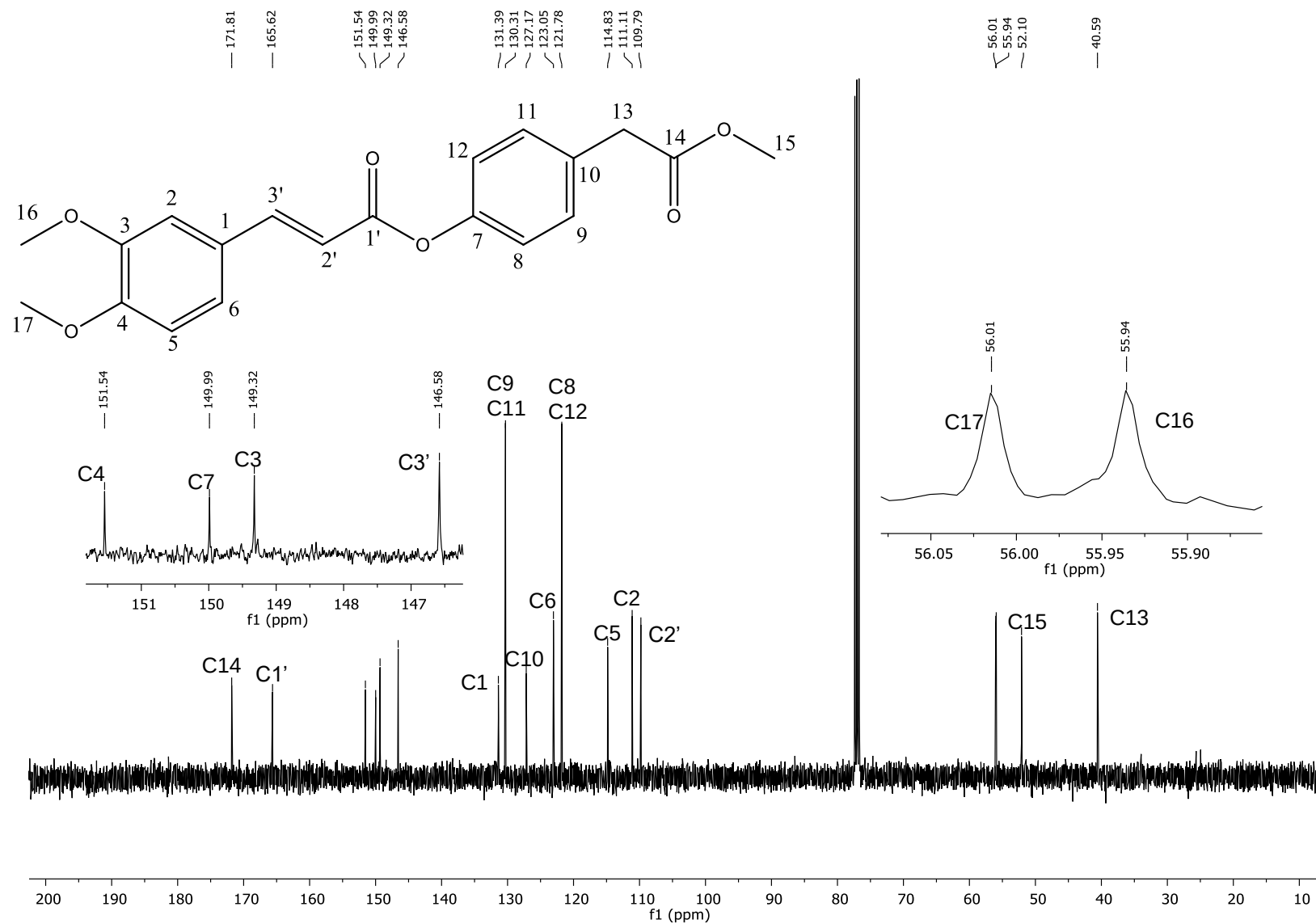


Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-(2E)-3-(3,4-dimetóxfenil)prop-2-etanoato de fenila (**5g**)

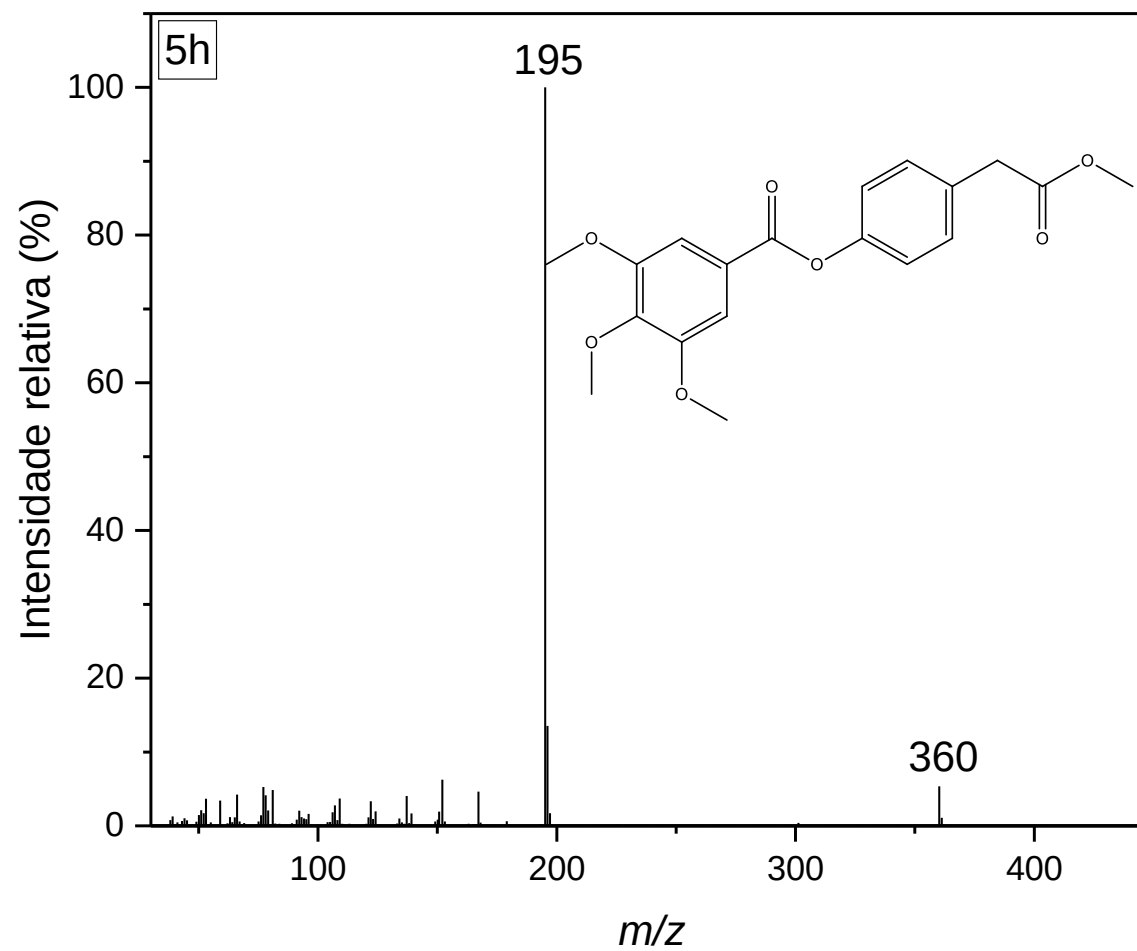


Figura 86: Espectro de massas (IE, 70 eV) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-3,4,5-trimetóxi benzoato de fenila (**5h**)

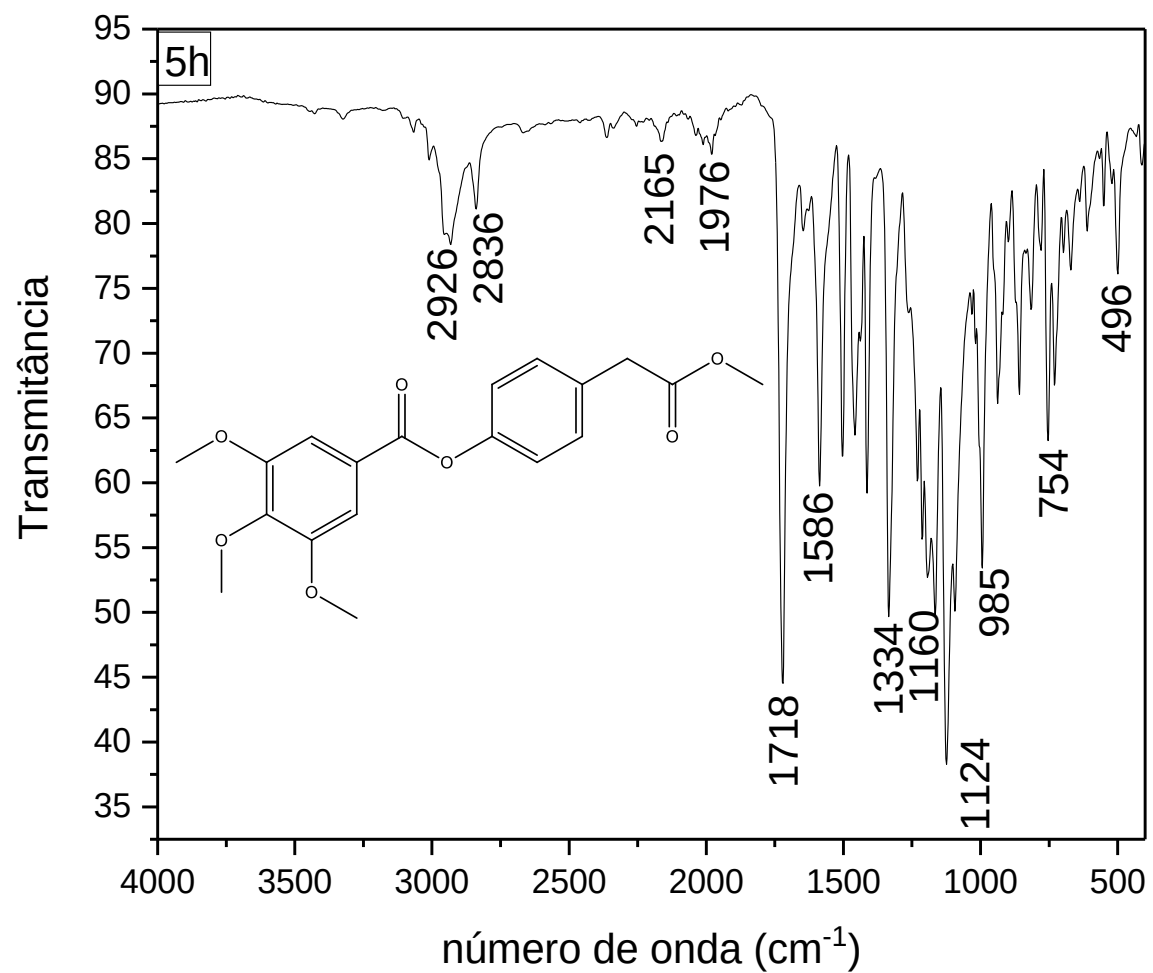


Figura 87: Espectro de IV (FTIR-ATR) do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-3,4,5-trimetóxi benzoato de fenila (**5h**)

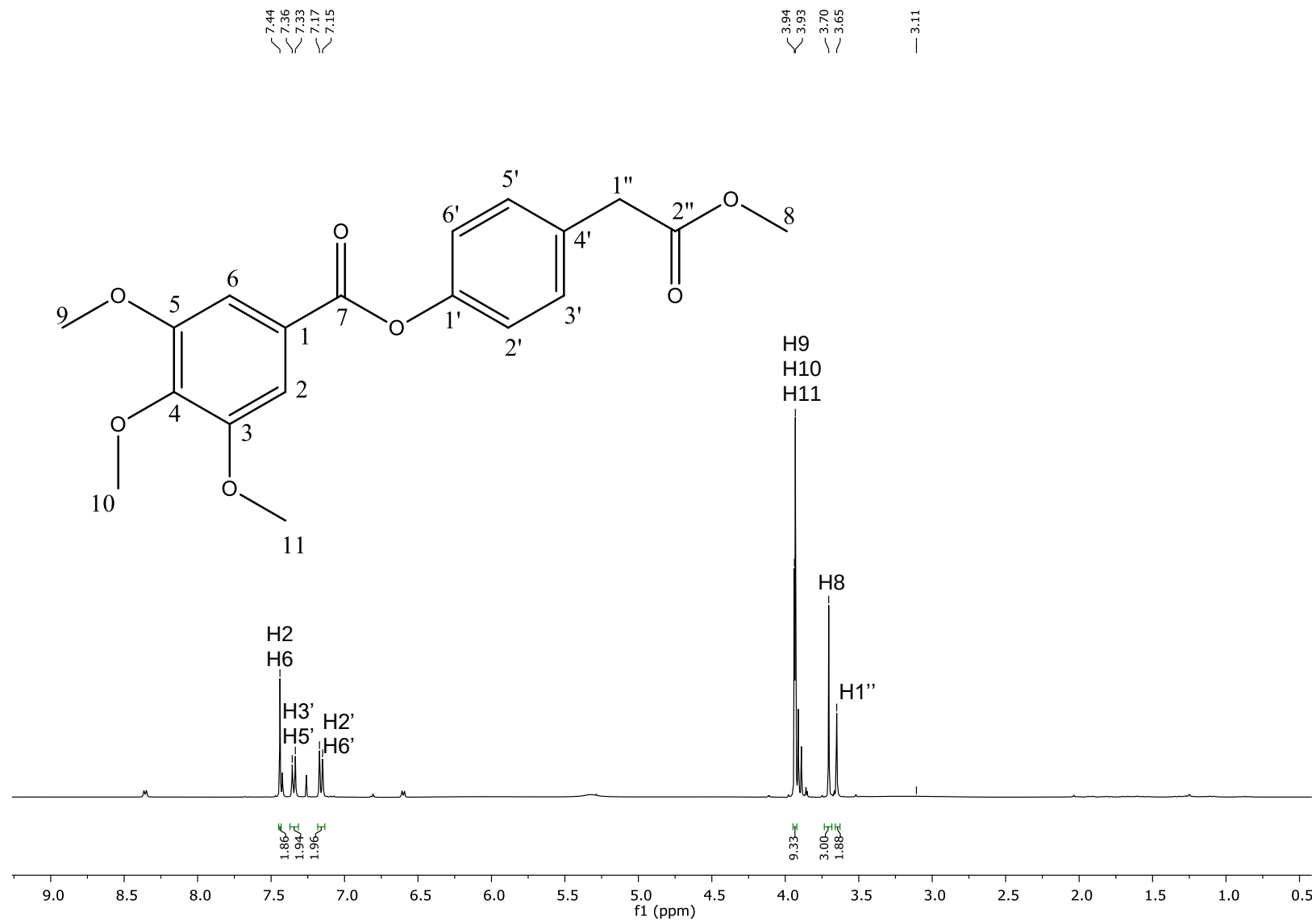


Figura 88: Espectro de RMN de ^1H do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-3,4,5-trimetóxi benzoato de fenila (**5h**)

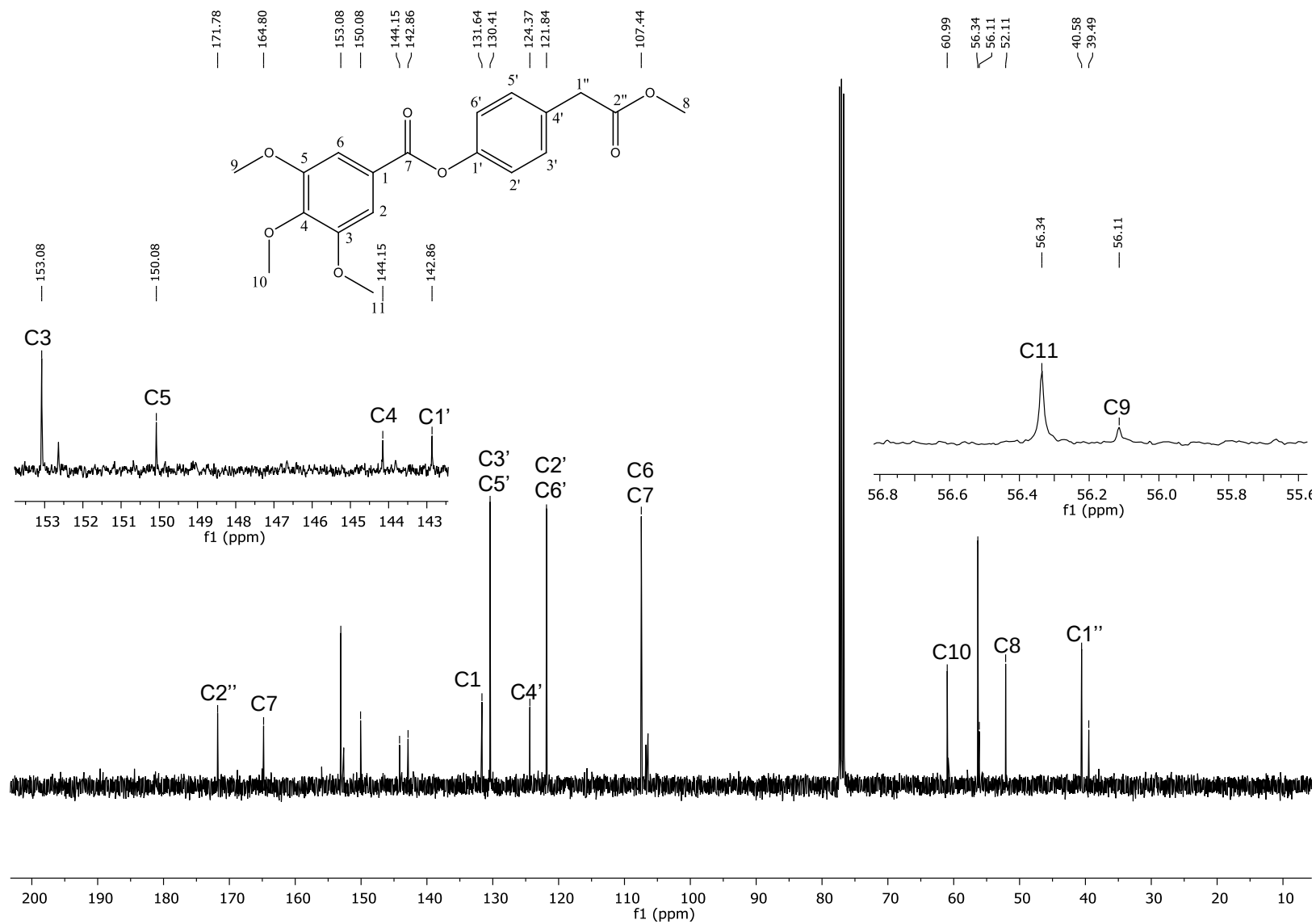


Figura 89: Espectro de RMN de ^{13}C do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-3,4,5-trimetóxi benzoato de fenila (5h)

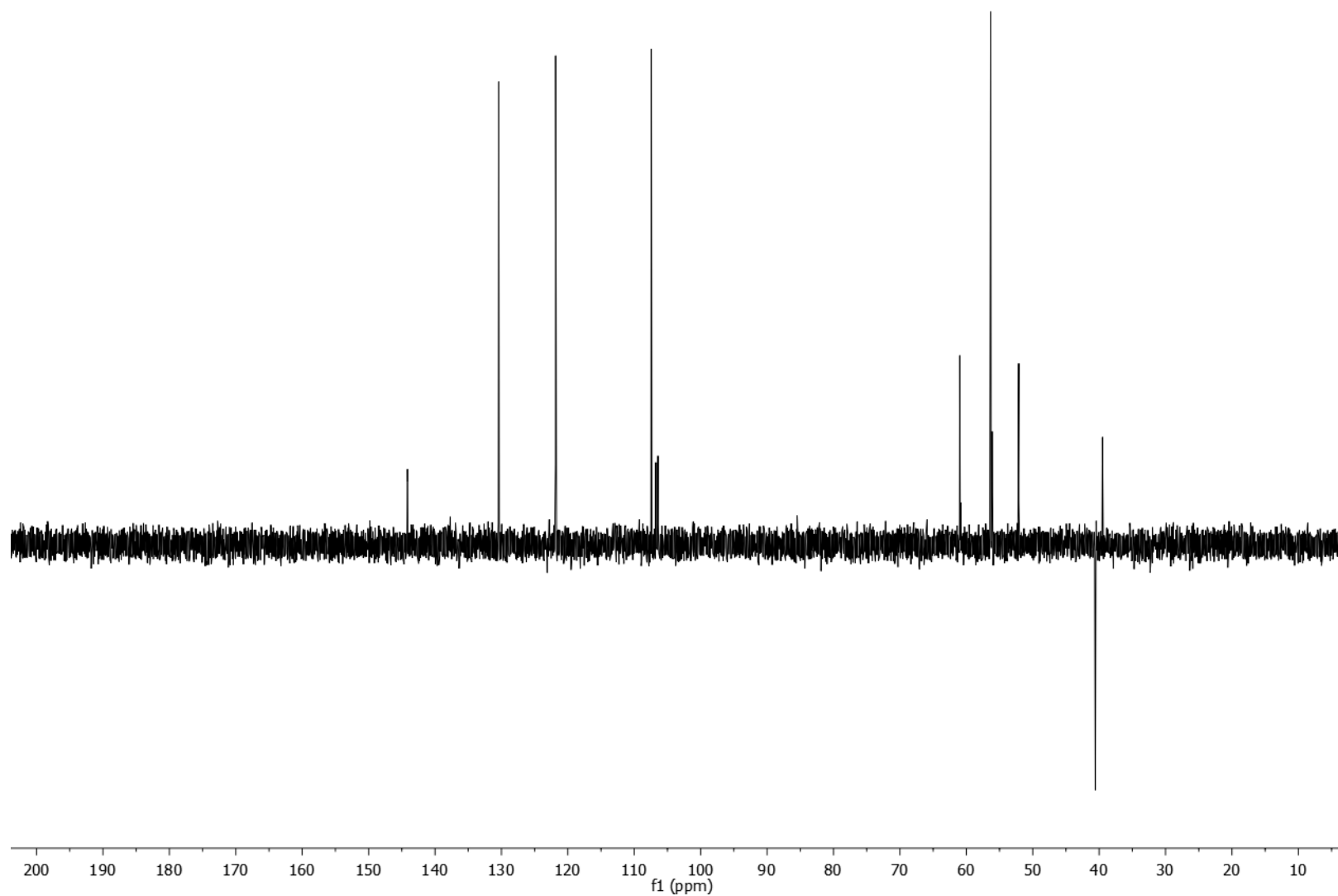


Figura 90: Espectro DEPT 135 do éster 4-(2-metóxi-2-oxoetil)-3,4,5-trimetóxi benzoato de fenila (**5h**)