

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REGULADORA DE  
CRESCIMENTO VEGETAL DE NOVOS COMPOSTOS  
INDÓLICOS DERIVADOS DO SAFROL E RELACIONADOS  
AO ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO**

**FLÁVIA APARECIDA FERNANDES DA ROSA**

**Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria da Graça Nascimento**

**Orientadora**

**Prof. Dr. Ricardo Andrade Rebelo**

**Co-Orientador**

**Florianópolis  
Santa Catarina – Brasil  
2002**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REGULADORA DE  
CRESCIMENTO VEGETAL DE NOVOS COMPOSTOS  
INDÓLICOS DERIVADOS DO SAFROL E RELACIONADOS  
AO ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO**

**FLÁVIA APARECIDA FERNANDES DA ROSA**

**Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Química, Área de  
Concentração Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Catarina  
como Parte dos Requisitos para a Obtenção do Grau de Doutor em Química**

**Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria da Graça Nascimento**

**Orientadora**

**Prof. Dr. Ricardo Andrade Rebelo**

**Co-Orientador**

**Florianópolis  
Santa Catarina – Brasil  
2002**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REGULADORA DE CRESCIMENTO  
VEGETAL DE NOVOS COMPOSTOS INDÓLICOS DERIVADOS DO SAFROL E  
RELACIONADOS AO ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO**

**FLÁVIA APARECIDA FERNANDES DA ROSA**

Esta tese foi julgada e aprovada na sua forma final pelo orientador, pelo  
co-orientador e pelos membros da banca examinadora

**Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera**  
**Coordenador**

**Banca Examinadora:**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria da Graça Nascimento**  
Orientadora - UFSC

**Prof. Dr. Ricardo Andrade Rebelo**  
Co-orientador - FURB

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Aurea Echevarria Aznar**  
Depto. de Química - UFRRJ

**Prof. Dr. Aloir Antonio Merlo**  
Instituto de Química - UFRGS

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Áurea Maria Randi**  
Depto. de Botânica - UFSC

**Prof. Dr. Marcus César Mandolesi Sá**  
Depto. de Química - UFSC

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tereza Cristina Rozone de Souza**  
Depto. de Química - UFSC

***“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar. É melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver”.***

**(Martin Luther King)**

***“É com muito amor que dedico este trabalho ao meu esposo Décio, pelo sincero apoio, incentivo e companheirismo e aos meus queridos pais, Salete e José, pelo exemplo de vida e ensinamentos recebidos ao longo da minha existência ”***

***À Profª. Drª. Maria da Graça e ao Prof. Dr. Ricardo Rebelo os meus sinceros agradecimentos pelos preciosos ensinamentos, dedicação, incentivo, apoio, e principalmente pela paciência e amizade ao longo de nossa convivência.***

## AGRADECIMENTOS

- ⇒ Agradeço a Deus pelo dom da vida.
- ⇒ Aos meus familiares, especialmente minha irmã Andréia e aos meus avós pelo carinho e incentivo recebidos.
- ⇒ Aos meus amigos do laboratório 301 (UFSC) e laboratório de Pesquisa (FURB), especialmente à Neide, Elisa, Sandra, Márcia Christen Brehmer e José Roberto Thiesen pelo companheirismo, apoio e colaboração.
- ⇒ Ao Departamento de Química da FURB pelo espaço físico disponibilizado.
- ⇒ As professoras Rosete Pescador (FURB) e Áurea Maria Randi (UFSC) pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.
- ⇒ Ao professor Geraldo Moretto da FURB pela colaboração na parte estatística do trabalho.
- ⇒ Ao professor Edésio L. Simionatto da FURB pela disponibilização do safrol e do ozonizador (IPT).
- ⇒ Aos colegas do Departamento de Química da FURB, em especial Ivani, Antônio, Mauro, Nelson e Jurgen pelo companheirismo.
- ⇒ Aos amigos Rosete, Angela Malheiros, Iêda, Ivonete, Arleide, Morgana, Raquel, Úrsula, Adriana, Deise, Paulo, Ângela e Joni Menegazzi e a todos aqueles que compartilharam os momentos bons e me incentivaram nos difíceis, o meu muito obrigado.
- ⇒ Aos funcionários do Departamento de química da UFSC, Central de Análises e Biblioteca Setorial, pelos serviços prestados, em especial Graça e Jadir.
- ⇒ A todos os professores que colaboraram para minha formação em especial à professora Úrsula Axt Martinelli da FURB.
- ⇒ A Capes e CNPq pelo apoio financeiro.

## ÍNDICE GERAL

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	01
1.1 Importância dos hormônios vegetais em biotecnologia.....	01
1.2 Auxinas.....	03
1.2.1 Biossíntese do ácido indol-3-acético.....	05
1.2.2 Metabolismo das auxinas.....	07
1.2.3 Mecanismo de ação das auxinas.....	09
1.2.4 Ações fisiológicas das auxinas – Respostas.....	12
1.2.4.1 Estímulo no alongamento celular e o crescimento do caule.....	12
1.2.4.2 Estímulo do enraizamento em estacas, caule e do desenvol- vimento lateral de raízes.....	12
1.2.4.3 Promoção do crescimento de frutos.....	13
1.2.4.4 Retardamento do amadurecimento de frutos.....	15
1.2.4.5 Abscisão de folhas e frutos.....	15
1.2.4.6 Dominância apical.....	15
1.2.4.7 Atuação como herbicidas no controle de plantas invasoras de solos agricultáveis.....	17
1.3 Reguladores de crescimento vegetal.....	18
1.4 Relação estrutura química-atividade biológica das auxinas.....	21
1.5 Metodologias para a obtenção de indóis.....	24
1.5.1 Rearranjo sigmatrópico.....	25
1.5.1.1 Síntese de Fischer.....	25
1.5.2 Ciclização nucleofílica.....	26
1.5.2.1 Síntese de Madelung.....	26
1.5.2.2 Síntese de Nenitzescu.....	27
1.5.3 Ciclização eletrofílica.....	28
1.5.3.1 Síntese de Bischler.....	28
1.5.4 Ciclização via nitreno.....	29
1.5.4.1 Síntese de Cadogan-Sundberg.....	30
1.5.4.2 Síntese de Sundberg.....	31



1.5.4.3 Síntese de Hemetsberger.....	31
1.5.5 Ciclização redutiva.....	32
1.5.5.1 Síntese de Reissert.....	32
1.5.5.2 Ciclização redutiva <i>o,b</i> -dinitroestireno.....	33
<b>2. OBJETIVOS</b>	35
2.1 Objetivos gerais.....	35
2.2 Objetivos específicos.....	35
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	37
3.1 Síntese do núcleo metilenodioxiiindólico a partir do safrol.....	38
3.2 Síntese do núcleo metilenodioxiiindólico a partir de um derivado do safrol (Piperonal).....	42
3.2.1 Modificações estruturais.....	47
3.2.1.1 Reações de redução.....	47
3.3 Síntese do núcleo metilenodioxiiindólico não substituído na porção heterocíclica.....	48
3.3.1 Descarboxilação do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanóico.....	48
3.3.2 Ciclização redutiva.....	50
3.4 Síntese do núcleo metilenodioxiiindólico substituído na posição 3 do anel heterocíclico.....	56
3.4.1 Síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-acético.....	56
3.4.2 Proposta de síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-metanóico.....	67
3.4.3 Proposta de síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-propiónico.....	70
3.5 Avaliação de atividade reguladora de crescimento vegetal.....	73
3.5.1 Promoção de crescimento de radículas de <i>Lactuca sativa</i> e <i>Sorghum</i> <i>bicolor</i> .....	74
3.5.2 Indução de enraizamento caulinar.....	79
3.5.3 Bioteste de pecíolos em <i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão de vagem).....	83
3.5.4 Dominância apical em <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	85
<b>4. CONCLUSÕES</b>	89
<b>5. PARTE EXPERIMENTAL</b>	91
5.1 Técnicas e caracterização.....	91
5.2 Solventes e reagentes.....	92
5.3 Síntese do núcleo metilenodioxiiindólico a partir do safrol.....	93

5.4 Síntese do núcleo metilenodioxindólico.....	96
5.5 Síntese do núcleo metilenodioxindólico substituído na porção heterocíclica.....	102
5.5.1 Síntese dos compostos substituídos na posição 2 do anel heterocíclico.....	102
5.5.1.1 Tentativas de redução do 5,6-metilenodioxindol-2-il-carboxilato de metila.....	105
5.5.1.2 Tentativas de obtenção do 5,6-metilenodioxindol-2-il-formaldeído....	107
5.6 Síntese dos compostos substituídos na posição 3 do anel heterocíclico.....	107
5.6.1 Tentativas de preparação direta do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético.....	112
5.6.2 Tentativas de oxidação do 5,6-metilenodioxindol-3-il-formaldeído	116
5.7 Avaliação da atividade reguladora de crescimento vegetal.....	118
5.7.1 Promoção de crescimento de radículas.....	118
5.7.2 Indução do enraizamento caulinar.....	119
5.7.3 Bioteste de pecíolos em <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	120
5.7.4 Dominância apical em <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	122
<b>6. PERSPECTIVAS</b>	123
<b>7. ANEXO I</b>	124
<b>8. ANEXO II</b>	127
<b>9. ANEXOS III</b>	128
<b>10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	130

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Rotas de respostas hormonais.....	11
<b>Figura 2</b>	Formação de raízes nos pecíolos das folhas de violeta africana.....	13
<b>Figura 3</b>	Influência de auxinas no crescimento do morango.....	14
<b>Figura 4</b>	Influência na dominância apical.....	16
<b>Figura 5</b>	Efeito do 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-carboxilato de metila (47a) no crescimento radicular de <i>L. sativa</i> .....	75
<b>Figura 6</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) no crescimento radicular de <i>L. sativa</i> .....	76
<b>Figura 7</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) no crescimento radicular de <i>S. bicolor</i> .....	77
<b>Figura 8</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) nas concentrações de $10^{-6}$ e $10^{-3}$ M e ensaio controle, respectivamente, no crescimento radicular de <i>S. bicolor</i> .....	77
<b>Figura 9</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55) no crescimento radicular de <i>S. bicolor</i> .....	78
<b>Figura 10</b>	Ação herbicida do 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) em plantas de <i>P. vulgaris</i> (feijão).....	79
<b>Figura 11</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) na indução de enraizamento caulinar em estacas de <i>M. arboreus</i> .....	80
<b>Figura 12</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55) na indução de enraizamento caulinar em estacas de <i>M. arboreus</i> .....	81

<b>Figura 13</b>	Efeito dos ácidos 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) e 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55) na indução de enraizamento caulinar em estacas de <i>M. arboreus</i> .....	81
<b>Figura 14</b>	Produção de raízes em estacas de limoeiro tratadas com ácido indol-3-acético .....	82
<b>Figura 15</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) no bioteste de pecíolos de <i>P. vulgaris</i> .....	84
<b>Figura 16</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55) no bioteste de pecíolos de <i>P. vulgaris</i> .....	85
<b>Figura 17</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48) na manutenção da dominância apical de <i>P. vulgaris</i> .	86
<b>Figura 18</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55) na produção de gema lateral em <i>P. vulgaris</i> .....	87
<b>Figura 19</b>	Efeito do ácido indolbutírico (AIB) na manutenção da dominância apical em <i>P. vulgaris</i> .....	87
<b>Figura 20</b>	Efeito do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55) na manutenção da dominância apical em <i>P. vulgaris</i> .....	88
<b>Figura 21</b>	Planta utilizada nos ensaios de indução de enraizamento caulinar em estacas.....	119
<b>Figura 22</b>	Peça em forma de y utilizada no bioteste de pecíolos em <i>P. vulgaris</i> .....	121

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Resumo das condições experimentais testadas na reação de ozonólise do safrol.....	40
<b>Tabela 2</b>	Dados estatísticos do teste de desenvolvimento radicular de plântulas de <i>L. sativa</i> na presença do 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-carboxilato de metila ( <b>47a</b> ).....	124
<b>Tabela 3</b>	Dados estatísticos do teste de desenvolvimento radicular de plântulas de <i>L. sativa</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico ( <b>48</b> ).....	124
<b>Tabela 4</b>	Dados estatísticos do teste de desenvolvimento radicular de plântulas de <i>S. bicolor</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico. ( <b>48</b> ).....	125
<b>Tabela 5</b>	Dados estatísticos do teste de desenvolvimento radicular de plântulas de <i>S. bicolor</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético ( <b>55</b> ).....	125
<b>Tabela 6</b>	Dados estatísticos do teste de indução do enraizamento caulinar em <i>M. arboreus</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico ( <b>48</b> ).....	125
<b>Tabela 7</b>	Dados estatísticos do teste de indução do enraizamento caulinar em <i>M. arboreus</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético ( <b>55</b> ).....	126
<b>Tabela 8</b>	Dados estatísticos do bioteste do pecíolos em <i>P. vulgaris</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico ( <b>48</b> ).....	126
<b>Tabela 9</b>	Dados estatísticos do bioteste do pecíolos em <i>P. vulgaris</i> na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético ( <b>55</b> ).....	126

## ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>BuLi</b>	Butil Lítio
<b>NaOEt</b>	Etóxido de sódio
<b>Ph</b>	Fenila
<b>Me</b>	Metila
<b>Et</b>	Etila
<b>EtOK</b>	Etóxido de potássio
<b>AcOH</b>	Ácido acético
<b>Et<sub>2</sub>O</b>	Éter etílico
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>(EtO<sub>2</sub>C)<sub>2</sub></b>	Dietiloxalato
<b>EtOAc</b>	Acetato de etila
<b>t.a.</b>	Temperatura ambiente
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<b>M<sup>+</sup></b>	Íon Molecular
<b><i>δ</i></b>	Deslocamento químico
<b><i>J</i></b>	Constante de acoplamento
<b>s</b>	Singleto
<b>d</b>	Dubleto
<b>dd</b>	Duplo dubleto
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio deuterado
<b>DMSO-<i>d</i><sub>6</sub></b>	Dimetilsulfóxido deuterado
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>p.f.</b>	Ponto de fusão
<b>p.e.</b>	Ponto de ebulição
<b>c.c.d</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>THF</b>	Tetraidrofurano

## RESUMO

No presente trabalho explorou-se a reatividade do safrol (**36**) e de seu derivado piperonal (**35**) como materiais de partida para a síntese de novos compostos indólicos 5,6-metilenodioxissubstituídos, estruturalmente relacionados ao ácido indol-3-il-acético (**AIA**, **1**).

Na preparação do núcleo indólico (**50**) foi explorada a química das azidas, preparando-se inicialmente o éster 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-carboxilato de metila (**47a**) via reação de inserção de nitreno, sendo esta altamente regioespecífica. Hidrólise alcalina seguida de acidificação forneceu o ácido 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanóico (**48**), análogo ao **AIA**. Finalmente, o núcleo indólico (**50**) foi obtido analiticamente puro mediante descarboxilação do composto (**48**) na presença hidróxido de bário sob vácuo. A ciclização redutiva do *o,b*-dinitroestireno (**53**) também demonstrou ser uma metodologia eficiente na construção do núcleo indólico (**50**).

A molécula alvo, o ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-acético (**55**) foi preparada utilizando-se reações clássicas descritas na literatura, destacando-se a eficiente reação de Mannich para a introdução da cadeia lateral alquílica. A rota sintética empregada englobou 8 etapas e conduziu a formação de (**55**) com rendimento total de 26%.

Os compostos (**47a**), (**48**) e (**55**) foram testados quanto as suas propriedades reguladoras de crescimento vegetal, utilizando-se ensaios específicos para determinação de atividade auxínica.

Os testes empregados na avaliação da atividade reguladora de crescimento vegetal foram realizados através de ensaios biológicos “*in vitro*”, em câmara de germinação, e “*in vivo*”, em casa de vegetação.

Empregaram-se sementes de *Lactuca sativa* (alface crespa) e *Sorgum bicolor* nos ensaios de promoção de crescimento de radículas, estacas de *Malvaviscus arboreus* na indução de enraizamento caulinar e plantas de *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem) no bioteste de pecíolos e dominância apical.

O composto (**47a**) foi empregado somente no teste de promoção de crescimento de radículas.

Os resultados observados nos ensaios de atividade biológica foram bastante promissores e demonstraram que os ácidos indólicos 5,6-metileno-dioxissubstituídos, especialmente a molécula alvo (**55**), podem ser considerados candidatos em potencial a reguladores de crescimento vegetal.



## ABSTRACT

The present work describes the use of safrole (**36**) and its derivative piperonal (**35**) as starting materials for the synthesis of new 5,6-methylenedioxy-substituted indole carboxylic acids structurally related to the indol-3-yl acetic acid (**IAA**, **1**).

In the preparation of the indole nucleus (**50**) it was exploited the azide chemistry, where the ester 5,6-methylenedioxy-indol-2-yl-carboxylate (**47a**) was prepared via nitrene insertion reaction which shown to be highly regio-specific. Alkaline hydrolysis followed by acidic work up gave the 5,6-methylenedioxy-indol-2-yl-methanoic acid (**48**), an analogous of **IAA**. Finally, the indole nucleus (**50**) was obtained as an analytically pure compound by means of decarboxylation of (**48**) in the presence of barium hydroxide under vacuum. The reductive cyclization of the *o*-**b**-dinitrostyrene (**53**) can also be regarded as an efficient methodology in the construction of the indole (**50**).

The target molecule 5,6-methylenedioxy-indol-3-yl-acetic acid (**55**) was prepared employing classical literature reactions, where should be emphasis the efficient Mannich reaction to the introduction of the alkyl side chain. The route comprised eight steps giving (**55**) in 26% overall yield.

Compounds (**47a**), (**48**) and (**55**) were tested towards their plant growth regulator properties in bioassays specific for auxine activity.

The "*in vitro*" assays were performed in germination chamber whereas the "*in vivo*" were conducted in green house.

The experiments employed seeds of *Lactuca sativa* and *Sorgum bicolor* to promote the roots grow, stakes of *Malvaviscus arboreus* for the induction of rooting stem and *Phaseolus vulgaris* in the petiole and apical dominance tests. Compound (**47a**) was submitted only to the root growth test.

The observed results from the biological assays were very promising and showed that the 5,6-methylenedioxy-substituted indole acids, specially the molecule (**55**), can be regarded as a potential plant growth regulators.

## **1. INTRODUÇÃO**

No desenvolvimento das plantas, o comum torna-se extraordinário e o mundano torna-se miraculoso. Percebe-se que as sementes germinam, os ramos crescem, os frutos amadurecem e as folhas amarelam e caem. No entanto, quando tenta-se entender os mecanismos envolvidos nesses eventos de desenvolvimento, depara-se com processos tão intrínsecos, complexos e súbitos que não se consegue compreender seus detalhes. No epicentro do crescimento e do desenvolvimento vegetal estão os hormônios – pequenas moléculas orgânicas que funcionam como sinais químicos altamente específicos entre as células. São capazes de regular o crescimento e o desenvolvimento, em parte, devido ao fato de produzirem efeitos amplificados. <sup>1</sup>

### **1.1 Importância dos Hormônios Vegetais em Biotecnologia**

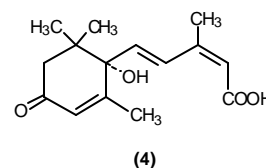
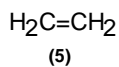
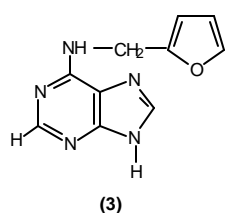
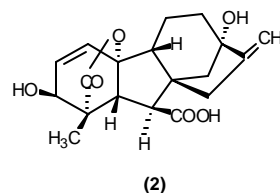
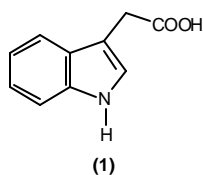
Uma planta para crescer necessita de luz, a partir do sol, dióxido de carbono a partir do ar, água e sais minerais, incluindo nitrogênio, a partir do solo. A planta faz muito mais do que simplesmente aumentar sua massa e o volume para crescer, ela diferencia-se, desenvolve-se e adquire formas, criando uma variedade de células, tecidos e órgãos. Muitos dos detalhes de como estes processos são regulados não são conhecidos, mas tornou-se claro que o desenvolvimento normal depende da interação de vários fatores internos e externos. Os principais fatores internos que regulam o crescimento da planta são de natureza química, nos quais atuam os hormônios vegetais. Fatores externos como luz, temperatura, ou comprimento do dia, afetam o crescimento da planta. <sup>1</sup>

A maioria dos especialistas em fisiologia vegetal aceita uma definição para hormônios vegetais similar à elaborada para hormônios animais. Os hormônios vegetais, também conhecidos como fitohormônios, são compostos orgânicos produzidos naturalmente em alguma parte da planta e transportados para outra, causando respostas fisiológicas específicas, e outros agem no próprio local onde são produzidos. Em ambos os casos, os hormônios atuam influenciando nos

processos fisiológicos de crescimento, diferenciação e de desenvolvimento das plantas. Devido a essas propriedades, estes compostos representam função essencial no controle do crescimento e desenvolvimento vegetal, apresentando atividade em concentrações muito baixas. Estima-se que a massa do hormônio em relação ao caule de uma planta é comparável a de uma agulha em 20 toneladas.<sup>2-5</sup>

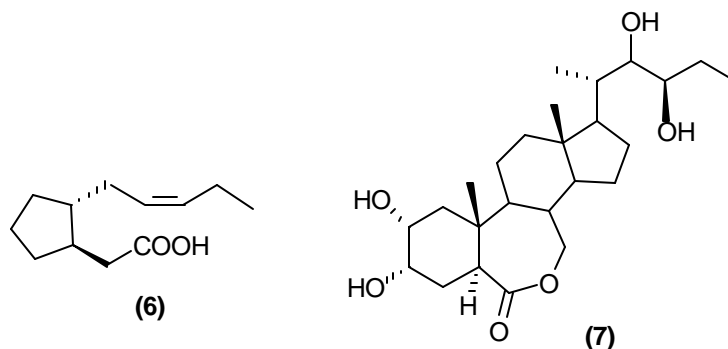
A palavra hormônio originou-se do grego *horman*, que significa estímulo. Porém, sabe-se que alguns possuem efeitos inibitórios. Devido a este fato, é mais adequado considerar os hormônios como reguladores químicos, e não apenas estimulantes. No entanto, as respostas a um determinado regulador não dependem somente da estrutura química do composto, mas também da forma como ele é reconhecido pelo tecido alvo. Um mesmo hormônio pode agir de modo diferente em tecidos ou em diferentes fases do desenvolvimento num mesmo tecido, e estes podem requerer diferentes concentrações de hormônios. Essas variações são referidas como diferenças na sensibilidade. Dessa forma, os sistemas vegetais podem variar a intensidade do sinal hormonal pela alteração nas concentrações dos hormônios, ou pela mudança na sensibilidade aos hormônios que já se encontram presentes.

Os hormônios vegetais mais conhecidos são as auxinas derivadas do ácido indolacético-**AIA**, (1), giberelinas (2), citocininas (3), ácido abscísico (4) e o etileno (5), e estas cinco classes de compostos pertencem aos hormônios vegetais considerados clássicos. Os efeitos destes hormônios têm sido descritos e caracterizados nos últimos cinquenta anos.<sup>6</sup>



No entanto, mais recentemente foram isoladas novas substâncias de diversificada estrutura molecular que também apresentam atividade reguladora de crescimento vegetal, e vêm sendo estudadas intensivamente nos últimos anos. Entre elas encontram-se os jasmonatos (derivados do ácido jasmônico) (6), que são compostos voláteis amplamente reconhecidos como componentes das fragrâncias florais, os brassinosteróides (7) (moléculas orgânicas complexas relacionadas aos esteróides animais), o ácido salicílico que tem sido relacionado como um sinal de defesa contra patógenos vegetais, oligossacarídeos (carboidratos complexos) e poliaminas, estes considerados hormônios vegetais não clássicos.<sup>7-9</sup>

Dentre os hormônios vegetais, as giberelinas e o ácido indolacético são os mais empregados comercialmente.<sup>10</sup>

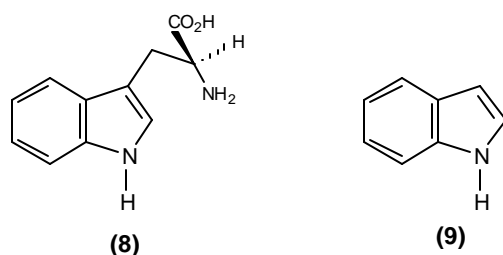


## 1.2 Auxinas

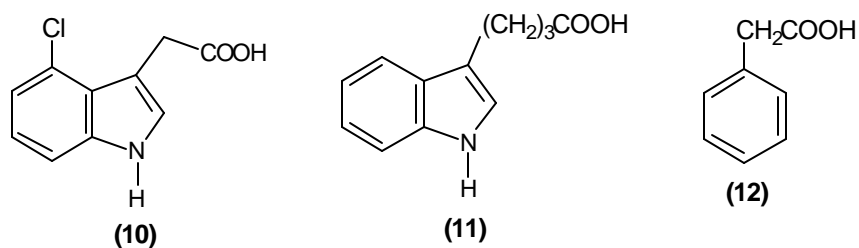
O termo auxina é originário da palavra grega “*auxein*”, que significa crescer. Dentre os reguladores de crescimento vegetal, as auxinas constituem o mais estudado e de ação fisiológica mais variada na planta.

As auxinas foram os primeiros hormônios vegetais a serem descobertos, aproximadamente em 1880 por Charles Darwin e seu filho Francis, somente nove anos depois do descobrimento da testosterona, o primeiro hormônio animal conhecido. O ácido indolacético (**AIA**) foi a primeira auxina identificada, mas somente isolada em 1928 pelo fisiologista vegetal Frits W. Went, e até hoje é o principal representante natural desta classe de compostos. Como pode ser observado, o **AIA** é estruturalmente relacionado ao aminoácido triptofano (8), e

tanto (1) como (8) possuem suas estruturas baseadas no heterociclo indol (9). Acredita-se que os vegetais são capazes de produzir esse regulador essencial de crescimento por diversas vias. A auxina é produzida nos ápices de cotilédones, em ápices caulinares, em folhas jovens e também é encontrada em flores, frutos e sementes.<sup>11</sup>



Estudos posteriores, mostraram que o **AIA** não é o único composto com atividade auxínica presente nas plantas. Além deste, também foram descobertos outros compostos com esta atividade, como por exemplo o ácido 4-cloro-indolacético (**4-CI-AIA**, **10**) encontrado em plantas leguminosas e que em alguns testes apresentou atividade dez vezes maior que o **AIA**. Outros compostos endógenos são o ácido indolbutírico (**AIB**, **11**) muito usado no enraizamento de estacas, e o ácido fenilacético (**12**) dentre outros.<sup>11-13</sup>

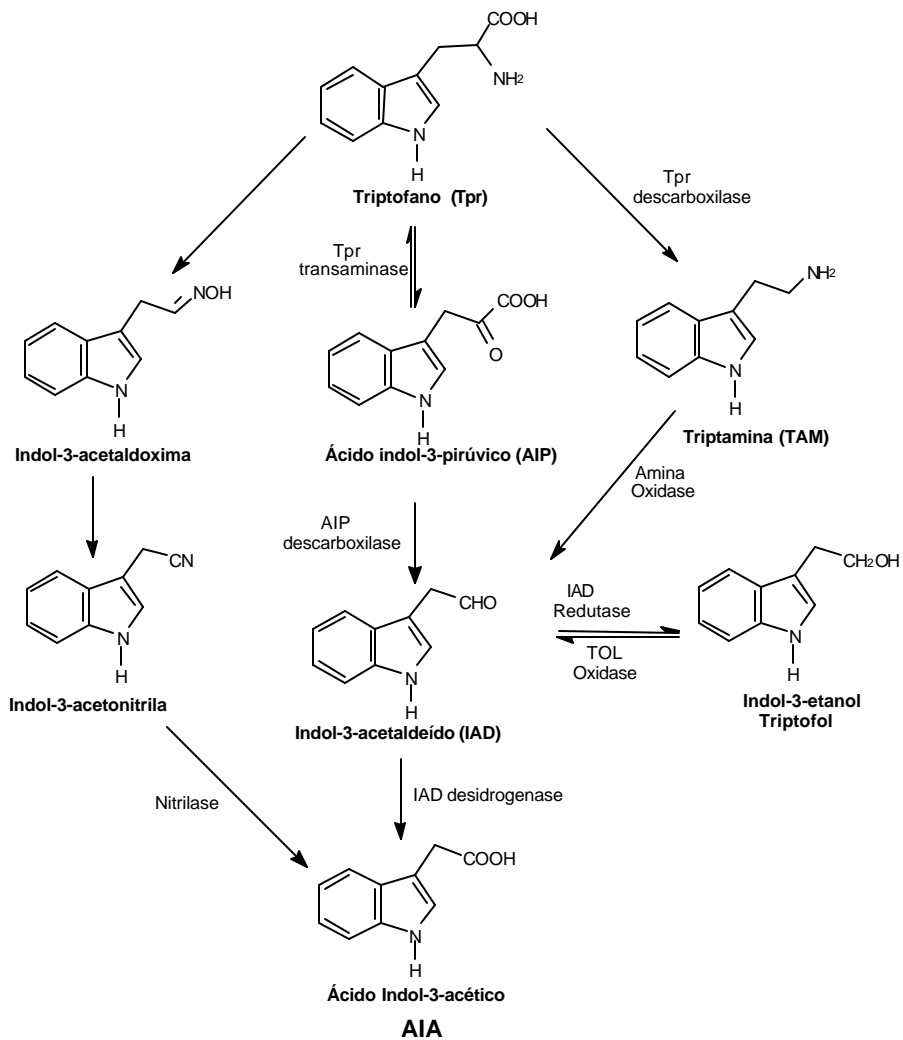


### 1.2.1 Biossíntese do Ácido Indol-3-Acético

As vias de biossíntese do **AIA** têm sido estudadas há muito tempo. Porém ainda existem algumas dúvidas quanto à contribuição de cada uma delas. O **AIA** é quimicamente semelhante ao triptofano (**8**), sendo este muito provavelmente o seu precursor.<sup>1-5</sup>

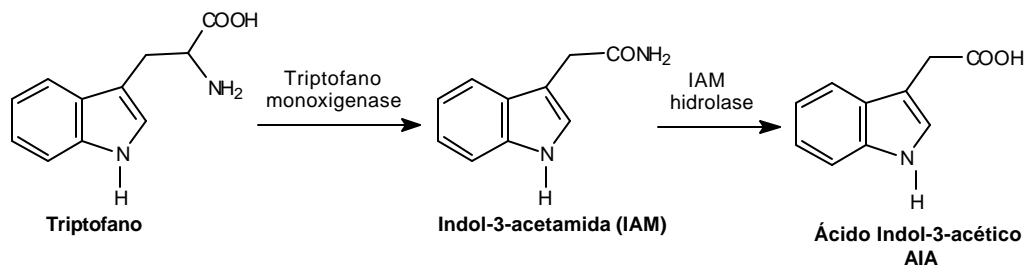
A biossíntese do **AIA** a partir do triptofano tem sido o objeto de intensa pesquisa nas últimas décadas. Embora vários caminhos tenham sido propostos, o que envolve o ácido indol-3-pirúvico (**AIP**) é o mais provável. Desta forma, dependendo da sequência destes caminhos, o produto desaminado, o ácido indol-3-pirúvico ou o produto descarboxilado, a triptamina (**TAM**), são os primeiros intermediários formados. A conversão subsequente do ácido indol-3-pirúvico em indol-3-acetaldeído ocorre por meio de uma reação de descarboxilação. O aldeído é então oxidado para ácido indol-3-acético pela enzima indolacetaldeído desidrogenase ou pela indolacetaldeído oxidase, dependendo da espécie da planta envolvida. O caminho no qual a triptamina é o primeiro intermediário, é similar ao caminho do **AIP**. No entanto, a ordem das reações de desaminação e descarboxilação são inversas, e diferentes enzimas estão envolvidas.<sup>14</sup>

Em um terceiro caminho, o triptofano é primeiramente convertido em indol-3-acetaldoxima, e posteriormente em indol-3-acetonitrila, seguido pela perda do nitrogênio amino do triptofano através da hidrólise da nitrila para ácido, que acontece pela ação de uma nitrilase (**Esquema 1**).<sup>14</sup>



**Esquema 1**

Finalmente, o triptofano pode ser convertido em **AIA**, pela ação de bactérias patogênicas como por exemplo as fitopatógenas *Pseudomonas savastanoi* e *Agrobacterium tumefaciens*. Inicialmente a triptofano monoxigenase converte o triptofano em indol-3-acetamida (**IAM**) e posteriormente este composto é hidrolisado pela enzima hidrolase, formando o **AIA** (Esquema 2).<sup>14</sup>



**Esquema 2**

### 1.2.2 Metabolismo das Auxinas

A concentração de **AIA** em um determinado tecido ou célula vegetal pode ser afetada tanto pela taxa de inativação, quanto pela de biossíntese. A inativação é reversível quando ocorre uma reação de conjugação da auxina com compostos de baixo ou alto pesos moleculares. Os compostos de baixo peso molecular incluem os açúcares, aminoácidos e o inositol. Os de alto peso molecular são o glucano (7 a 50 unidades de glicose por **AIA**) e as glicoproteínas-**AIA**, encontradas em sementes de cereais.

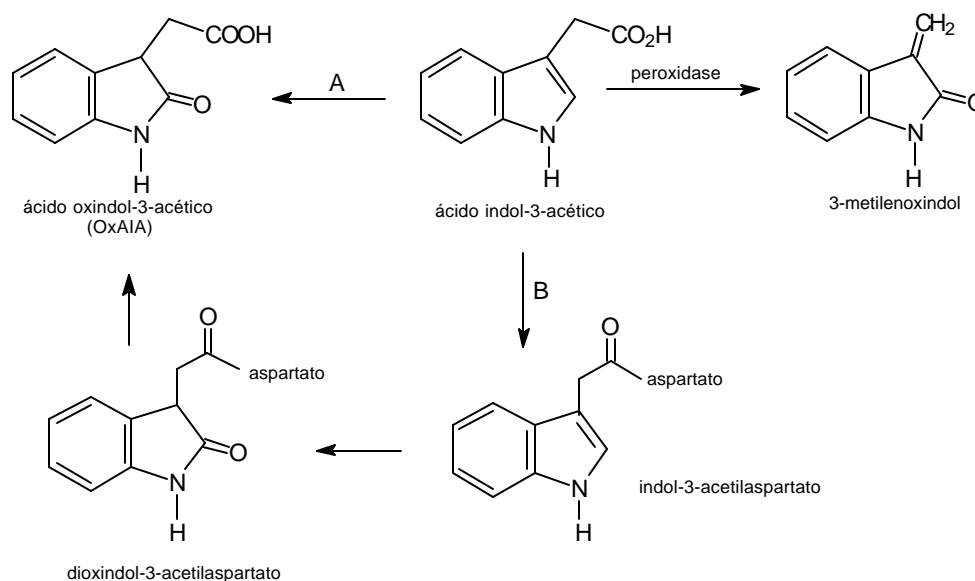
Os produtos da conjugação do **AIA** com outras moléculas formam um "pool" ou reserva de auxina, onde somente o **AIA** livre é ativo nos processos fisiológicos. A grande maioria das auxinas nas plantas é encontrada no estado conjugado, mas podem ser rapidamente disponibilizadas pela ação de enzimas que desdobram esta forma. Altas concentrações de auxinas livres em plantas vivas são encontradas no meristema apical de raízes, ápices caulinares e folhas jovens, sendo estes os sítios primários da síntese de auxinas. Entretanto, as auxinas são amplamente distribuídas nas plantas. O metabolismo das auxinas conjugadas pode ser o fator de maior contribuição na regulação dos níveis de auxina livres. Por exemplo, durante a germinação de sementes de *Zea mays*, o *myo*-inositol-**AIA** é transportado do endosperma para o coleóptilo. Acredita-se que pelo menos uma parte do **AIA** livre produzido no ápice do coleóptilo de *Zea mays* deve ter sido formado a partir da hidrólise do *myo*-inositol-**AIA**. A formação dos conjugados de auxina pode ser vista como uma maneira de proteção e armazenagem de auxina livre, já que sua forma conjugada não sofre degradação oxidativa.<sup>15</sup>

Como na biossíntese do AIA a quebra enzimática pode envolver mais de uma rota, acreditou-se por muito tempo que as enzimas peroxidativas eram as principais responsáveis pela oxidação do AIA, principalmente porque elas estão presentes nas plantas e são capazes de degradar o AIA. A rota via peroxidase conduz ao produto oxidado, o 3-metilenoxindol no qual a cadeia lateral (ácido acético) é reduzida em um carbono. Entretanto, esta rota é fisiologicamente bastante confusa.



Com base na marcação isotópica e identificação de metabólitos, duas outras rotas oxidativas têm sido propostas. Estas, provavelmente estão envolvidas no controle da degradação do AIA, com o ácido oxindol-3-acético (OxAIA), como produto final. <sup>15</sup>

Na rota A, o AIA é oxidado sem descarboxilação conduzindo ao OxAIA. Na B, o AIA-aspartato conjugado é inicialmente oxidado no intermediário dioxindol-3-acetilaspártato, e posteriormente forma o OxAIA. Estas rotas diferem da peroxidase, devido ao fato de que a oxidação ocorre sem descarboxilação mantendo a cadeia lateral (ácido acético) intacta (Esquema 3). <sup>15</sup>



**Esquema 3**

Os mecanismos de biossíntese e degradação das moléculas de auxina são importantes para o futuro da agricultura. Informações sobre o metabolismo possibilitarão manipulações genéticas e químicas dos níveis de hormônio endógeno, resultando em crescimento e diferenciação desejáveis de importantes colheitas. Atualmente, existe a possibilidade de regular o crescimento de plantas sem o uso de fertilizantes e herbicidas tóxicos. <sup>16</sup>

### 1.2.3 Mecanismos de Ação das Auxinas

Qualquer tentativa para esclarecer o mecanismo de ação do **AIA** deveria explicar como este hormônio modifica a plasticidade da parede celular permitindo sua extensão. O aumento na plasticidade, que permite a expansão celular, talvez seja um fenômeno comum que serve de base a muitos, senão para todos os efeitos do **AIA**.<sup>1</sup>

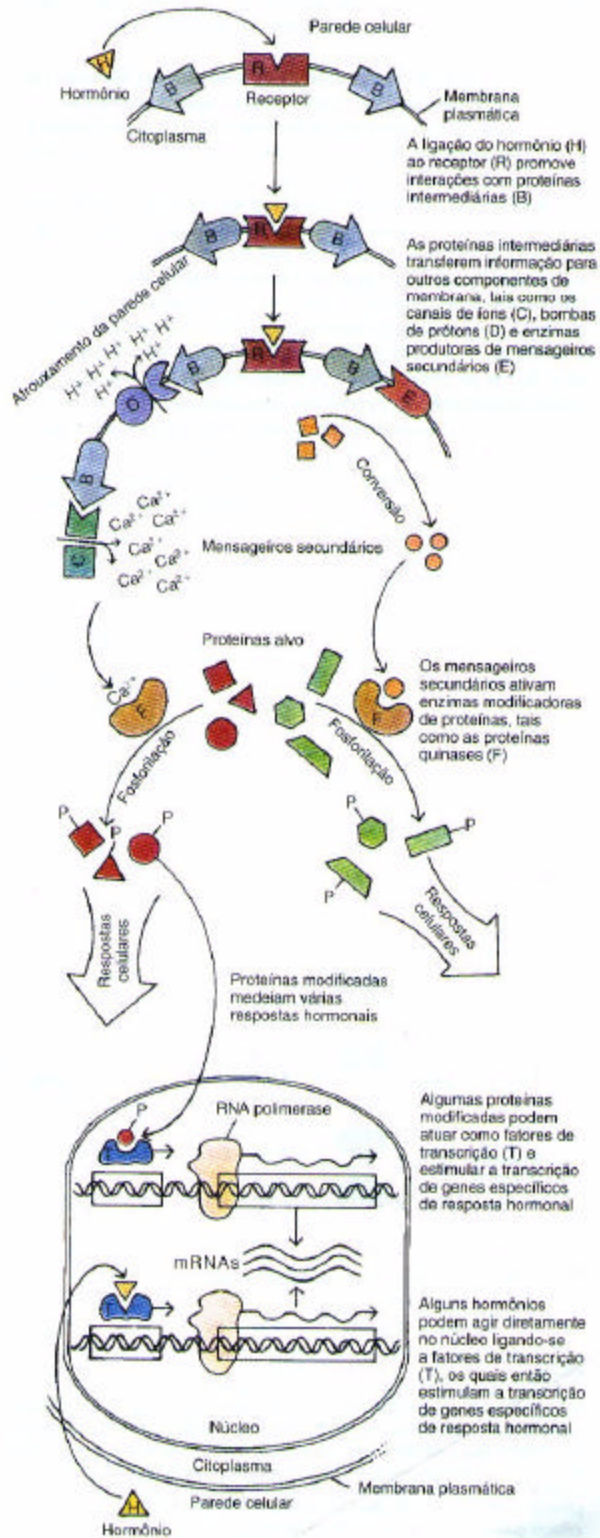
Para que os hormônios operem como sinais químicos entre as células, as moléculas alvo devem possuir mecanismos para: identificar o hormônio específico, medir a quantidade que está presente, transferir essa informação via rotas metabólicas e converter a informação em um conjunto complexo de mudanças no desenvolvimento. As células reconhecem os hormônios vegetais utilizando proteínas denominadas receptores. Cada proteína receptora contém um sítio de ligação que é específico para um hormônio. Os sinais são freqüentemente amplificados e traduzidos em rotas bioquímicas por compostos intermediários chamados mensageiros secundários.

A ligação do hormônio com o receptor ativa uma rota específica de resposta na célula. A ligação de um hormônio em seu receptor, resulta em uma mudança na conformação da proteína receptora. Esta mudança conformacional altera a proteína receptora, levando-a a interagir com outros componentes na célula. Por exemplo, o receptor ativado pode interagir diretamente com sequências regulatórias do DNA para estimular a transcrição de genes específicos, ativados por hormônios. Os hormônios esteroidais dos animais operam dessa forma.

Outros tipos de receptores hormonais estão localizados na membrana plasmática. Mediante sua interação com outras proteínas da membrana, alguns desses receptores podem ativar bombas de íons, como as de prótons; e outros podem conduzir à abertura de canais de íons na membrana.<sup>1</sup>

O íon cálcio, é de particular interesse na ação hormonal. Geralmente, os níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma são muito baixos. O estímulo hormonal de canais de íons cálcio resulta em uma elevação temporária nos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$ . A ligação do  $\text{Ca}^{2+}$  em sítios específicos para cálcio de certas proteínas promove uma alteração da atividade protêica, similar ao modo como os hormônios alteram as proteínas

receptoras. As quinases são uma classe de enzimas que podem ser ativadas por  $\text{Ca}^{2+}$  ou outros “mensageiros secundários”. As quinases podem modificar as proteínas “alvo” transferindo grupos fosfato para certos aminoácidos da proteína alvo, alterando sua atividade (**Figura 1**).<sup>1, 14</sup>



**Figura 1** - Rotas de respostas hormonais: os hormônios agem ligando-se a proteínas denominadas receptores. <sup>1</sup>

## 1.2.4 Ações Fisiológicas das Auxinas – Respostas

As auxinas apresentam variadas respostas fisiológicas nas plantas, e as mais importantes serão discutidas.

### 1.2.4.1 Estímulo no Alongamento Celular e no Crescimento do Caule

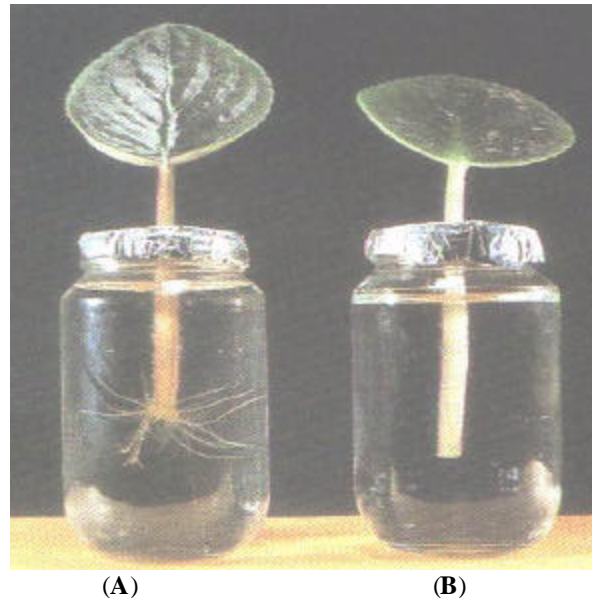
Em muitos casos, as auxinas têm um efeito marcante no alongamento celular. Por exemplo, pedaços de caules de ervilha e feijoeiro têm seu crescimento estimulado e multiplicado quando mergulhados em solução aquosa de auxina. No entanto, isto não é observado quando o mesmo procedimento é realizado somente em água. A forma pela qual o alongamento é estimulado, ainda não está esclarecida. Como o crescimento celular é provocado pela entrada de água na célula, qualquer teoria proposta deve apoiar-se ou em um aumento das forças que favorecem a entrada da água (absorção ativa de água, aumento na permeabilidade da parede celular à água), ou na diminuição das causas que impedem a entrada (redução na pressão da parede).<sup>4</sup>

### 1.2.4.2 Estímulo do Enraizamento em Estacas, Caule e do Desenvolvimento Lateral de Raízes.

A primeira aplicação prática da auxina envolveu seu efeito promotor na indução de raízes em estacas, que é altamente estimulada por estes compostos **(Figura 2)**.<sup>1</sup>

Nas espécies cujos teores endógenos de auxina são suficientes e as outras características favorecem o processo, o enraizamento ocorre sem aplicação de auxina exógena. Em outras espécies, o enraizamento só ocorre com a aplicação de uma auxina como o **AIB**, misturado com talco ou dissolvido em solução aquosa ou alcoólica. A prática de tratar estacas com auxinas tem importância comercial, especialmente para a propagação vegetativa de plantas

lenhosas. <sup>1</sup> Na **Figura 2** está demonstrada a formação de raízes em violeta africana na presença e ausência da auxina sintética o ácido naftalenoacético - **ANA (13)**. <sup>1</sup>



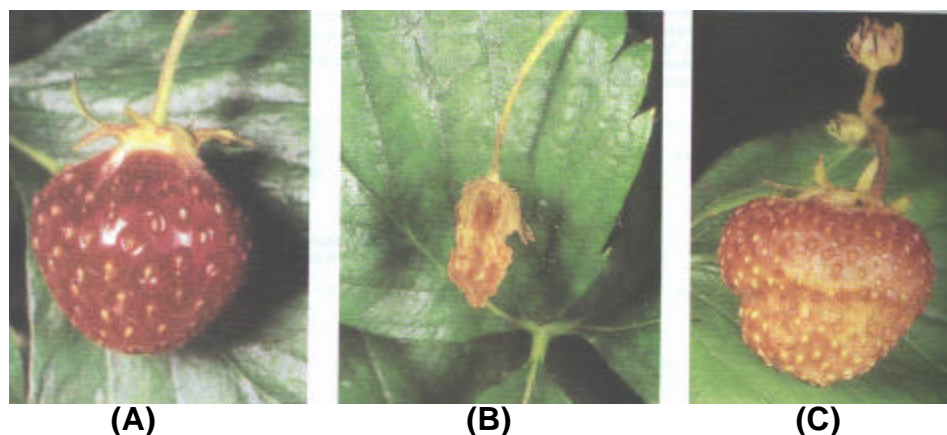
**Figura 2** - Formação de raízes nos pecíolos das folhas de violeta africana. <sup>1</sup>**A)** O pecíolo da folha foi colocado em uma solução contendo (**ANA**) por 10 dias. **B)** O pecíolo da folha foi colocado em água pura também por 10 dias.

#### 1.2.4.3 Promoção do Crescimento de Frutos

As auxinas também estão envolvidas na formação dos frutos. O desenvolvimento do ovário para formar o fruto é um processo intimamente relacionado com as auxinas. Na natureza, o início do desenvolvimento do fruto está relacionado com a fertilização. Neste processo, não só o ovário receberá uma pequena quantidade de auxina fornecida pelo grão de pólen como também a fertilização irá liberar auxinas existentes como precursores nas partes femininas da flor. Nessa liberação, parece que o grão de pólen age ativando a síntese do ácido indol-3-acético, a partir do triptofano existente no gineceu. Esta auxina libertada pela fertilização é responsável pelo início do desenvolvimento do ovário, sendo a seguir suplementada com grandes quantidades produzidas pela

semente. Normalmente, se a flor não for polinizada e a fertilização não ocorrer, o fruto não irá desenvolver-se. Em algumas plantas a fertilização de uma osfera é suficiente para o desenvolvimento normal do fruto, mas em outras como as maçãs ou melões, os quais possuem muitas sementes, várias devem ser fertilizadas para a parede do ovário amadurecer e tornar-se carnosa. Tratando as estruturas femininas (carpelos) de certas espécies, é possível produzir frutos partenocárpicos, que são produzidos sem fertilização, por exemplo, tomates, pepino e berinjela sem sementes.<sup>1</sup>

Contudo, em muitos ou na maioria desses frutos sem sementes, existem óvulos imaturos. O tratamento da parte feminina da flor não polinizada de algumas espécies com auxinas, possibilita a produção de frutos como o tomate. Existe uma íntima correlação entre o número de sementes e o tamanho do fruto. Sementes em desenvolvimento são fontes de auxina. No caso do morango, a retirada de todas as sementes (aquênios) provoca a paralização do crescimento **(B)**. Se um estreito anel de sementes for retirado, o fruto forma uma cinta na área das sementes **(C)**. Se auxina for aplicada ao receptáculo sem sementes, o crescimento prossegue normalmente **(A)**. Cada “semente” de morango é um fruto não carnoso do tipo aquênio. A auxina produzida pelos embriões contidos em cada aquênio promove o desenvolvimento do receptáculo da inflorescência do morangueiro formando o pseudofruto carnoso que é denominado de morango. No caso de frutos sem sementes, o crescimento provavelmente é controlado pela auxinas, que estão invariavelmente em altas concentrações nos botões florais **(Figura 3)**.<sup>1</sup>



**Figura 3** – Influência de auxinas no crescimento do morango.<sup>1</sup>

#### **1.2.4.4 Retardamento do Amadurecimento de Frutos.**

A concentração de auxina diminui durante o amadurecimento dos frutos, formando camadas de abscisão no caule que permitem a queda do fruto. Os fruticultores freqüentemente pulverizam suas plantações com auxina sintética, a fim de manter os frutos maduros nas árvores até que possam ser colhidos.<sup>5</sup>

#### **1.2.4.5 Abscisão de Folhas e Frutos.**

A queda de folhas é um processo periódico e comum em muitas árvores e arbustos. Esta, chamada de abscisão pode ser induzida por diferentes fatores do meio; falta de água, baixas temperaturas, intensidade solar reduzida e variações no comprimento do fotoperíodo, mas é em última análise controlada pelo gradiente de auxinas. A auxina produzida na folha inibe a abscisão da mesma, bem como a produzida no fruto inibe a sua abscisão. Quando o teor de auxina no órgão diminui, forma-se a conhecida camada de abscisão na base do pecíolo da folha, ou na base do pedúnculo do fruto, e com o balançar do vento ocorre a abscisão do órgão.<sup>1</sup>

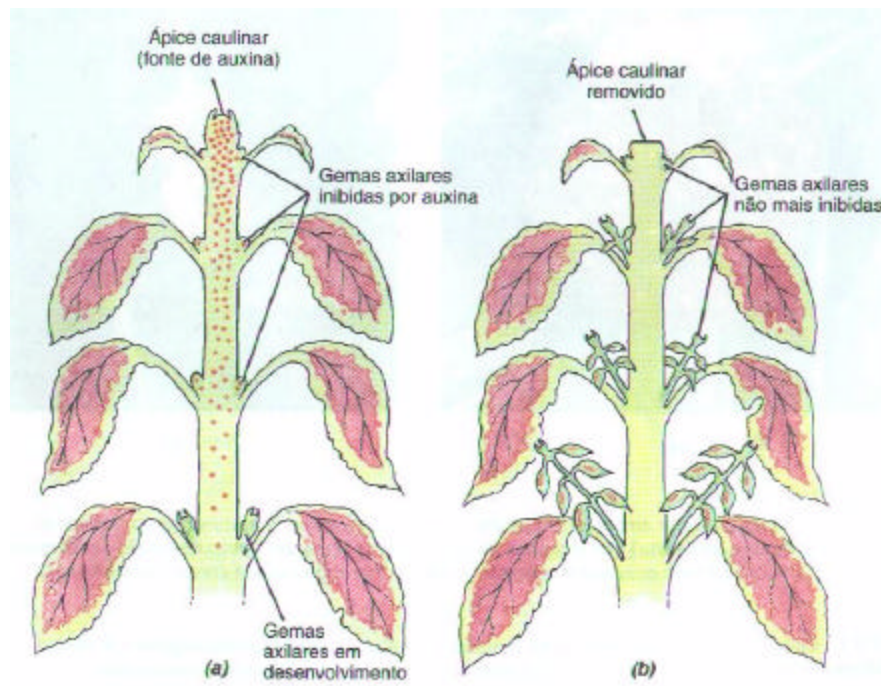
#### **1.2.4.6 Dominância Apical.**

Muito antes da descoberta da regulação através dos hormônios no crescimento das plantas, a dominância apical, isto é a habilidade que a gema apical (ápice) tem de inibir o desenvolvimento das gemas laterais (gemas axilares), já era bem conhecida pelos fisiologistas. Entre os vegetais, há desde gemas apicais com dominância muito acentuada, com a conseqüente formação de plantas eretas e não ramificadas como as palmeiras, até plantas como os arbustos em que a dominância apical é mínima ou nula. O papel da auxina na dominância apical pode ser demonstrado experimentalmente. Por exemplo, quando a gema apical de uma planta de feijão é removida, as gemas laterais



começam a crescer. Contudo, quando auxina é aplicada no lugar da gema apical removida, a inibição do crescimento das gemas laterais permanece inalterada.<sup>1</sup>

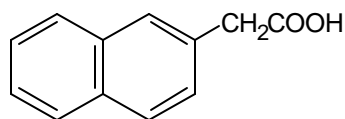
A **Figura 4** mostra que, **(A)** a auxina produzida no ápice caulinar move-se de modo descendente no caule, inibindo o crescimento de ramos laterais a partir de gemas axilares. À medida que a distância entre o ápice caulinar e as gemas axilares aumenta – e a concentração de auxina diminui – as gemas são gradualmente liberadas da inibição. **(B)** Se o ápice caulinar for removido, eliminando a produção posterior de auxina, as gemas axilares não são mais inibidas e começam a crescer vigorosamente.<sup>1</sup>



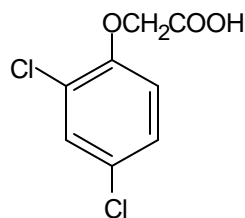
**Figura 4** – Influência na dominância Apical: **A) ápice caulinar (fonte de auxina)** – gemas axilares inibidas por auxina, **B) ápice caulinar removido** – gemas axilares em desenvolvimento.<sup>1</sup>

### 1.2.4.7 Atuação como Herbicidas no Controle de Plantas Invasoras de Solos Agricultáveis.

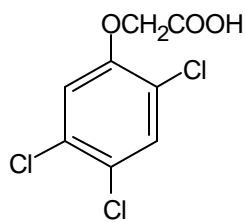
As auxinas sintéticas como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (**2,4-D**, **14**), ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (**2,4,5-T**, **15**), e derivados do ácido picolínico (**16**) como o picloramo (**17**) - que é vendido com o nome comercial de Tordon, têm sido usadas extensivamente como herbicidas na agricultura. Como esses herbicidas matam as ervas daninhas ainda não é completamente elucidado. O 2,4-D é degradado nas plantas como as auxinas naturais.



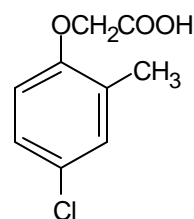
(13)



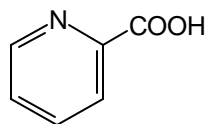
(14)



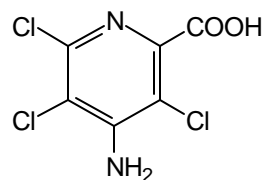
(15)



(18)



(16)



(17)

Os mecanismos pelos quais os herbicidas matam apenas certas ervas daninhas são também pouco conhecidos. A seletividade desses compostos contra ervas de folhas largas é devida em parte as maiores taxas de absorção dessas folhas quando comparadas as estreitas folhas das gramíneas.<sup>5</sup>

O estímulo do alongamento celular é a principal ação fisiológica das auxinas. Uma observação importante, é que as auxinas causam respostas

fisiológicas, somente quando presentes em baixas concentrações. No entanto, se a auxina estiver presente em altas concentrações agirá como herbicida inibindo o crescimento. <sup>4</sup>

### 1.3 Reguladores de Crescimento Vegetal

Além dos cinco grupos de hormônios vegetais clássicos e dos não clássicos, são também conhecidos os chamados reguladores de crescimento vegetal, os quais são produtos sintéticos não endógenos, porém, são tão ou mais ativos que os hormônios, causando respostas fisiológicas, e influenciando no crescimento e desenvolvimento das plantas. <sup>5</sup>

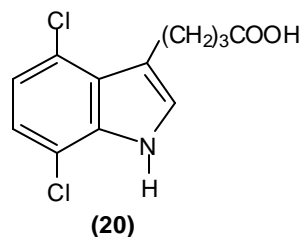
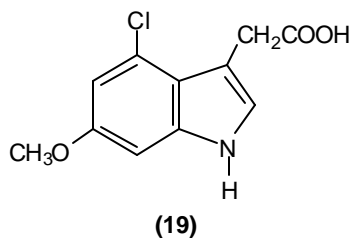
Os reguladores de crescimento vegetal formam um grupo com mais de quarenta compostos de uso comercial, cujas estruturas variam amplamente resultando numa série de classes químicas. Dada a importância desta classe de compostos com ampla aplicação na agricultura e na biotecnologia vegetal, inúmeros reguladores de crescimento vegetal foram desenvolvidos.

Estes compostos imitam os efeitos do **AIA** em diferentes testes fisiológicos, e dentre eles destacam-se os ácidos naftalenoacético (**ANA, 13**), 2,4-diclorofenoxiacético (**2,4-D, 14**), 2,4,5-triclorofenoxiacético (**2,4,5-T, 15**) 2-metil-4-clorofenoxiacético (**AMCP, 18**), AIB (**11**), mencionados anteriormente. A maioria deles são utilizados amplamente na agricultura como herbicidas e pesticidas. Em termos econômicos, esse pode ser o principal uso prático para os reguladores de crescimento vegetal.

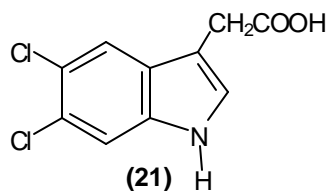
O Agente Laranja recebeu atenção considerável, pois foi o herbicida mais comumente utilizado como desfolhante durante a Guerra do Vietnã. Este composto é uma mistura de ésteres n-butílicos de 2,4-D e 2,4,5-T, ou outra auxina sintética. Ele também contém a dioxina 2,3,7,8-TCDD, um contaminante do 2,4,5-T, que é tóxico para animais e seres humanos. Em seres humanos, este contaminante causa uma grave lesão de pele que ocorre sobre a cabeça e na superfície do corpo. Evidências positivas baseadas em estudos animais, mostram que este composto provavelmente é carcinogênico em seres humanos. A fabricação e o uso do 2,4,5-T foram proibidos nos Estados Unidos.

Uma série de reguladores de crescimento vegetal disponíveis comercialmente permitem avaliar a influência no desenvolvimento e crescimento da planta em todos os estágios; desde o enraizamento até o amadurecimento. Um modo de ação importante é o alongamento celular, formando plantas mais compactas e vistosas. Os trabalhos sobre estes compostos concentram-se basicamente na descoberta, eficácia e atividade biológica. O destino de aplicação, bem como a toxicidade, geralmente não são divulgados.<sup>10</sup>

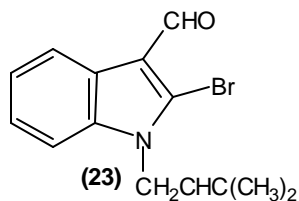
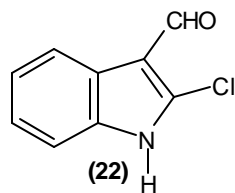
Marumo e Katayama sintetizaram os ácidos 4-cloro-6-metoxi-indol-3-acético e o 4,7-dicloro-indol-3-isobutírico (**19**, **20**) e realizaram ensaios biológicos, verificando que estes compostos são potentes reguladores de crescimento vegetal.<sup>17, 18</sup>



Torii e colaboradores sintetizaram o ácido 5,6-dicloroindol-3-acético (**21**) e derivados com alto rendimento e pureza, e estes compostos também apresentaram atividade reguladora de crescimento vegetal.<sup>19</sup>



Visando obter um regulador de crescimento vegetal efetivo na promoção de brotos e germinação de sementes pelo uso de um ou mais tipos de derivados indólicos como componente ativo, Somei e colaboradores sintetizaram novos derivados indólicos. Dentre eles, o 2-cloroindol-3-carboxialdeído e o 2-bromo-1-(3-metil-2-butenil)indol-3-carboxialdeído (**22**, **23**), foram eficazes quando aplicados em arroz, trigo, pepino e tomate.<sup>20</sup>



## 1.4 Relação Estrutura Química-Atividade Biológica das Auxinas

Uma vez conhecida a estrutura do **AIA**, buscou-se compostos estruturalmente relacionados, que pudessem ser sintetizados de forma mais efetiva e econômica, com a finalidade de comercialização.<sup>21</sup>

Estes estudos permitiram detectar a atividade herbicida do 2,4-D (**14**) e de vários derivados do ácido indol-3-acético.

Os estudos da relação estrutura-atividade são de grande importância para a síntese de novos reguladores de crescimento vegetal com atividade auxínica e herbicida, pois o objetivo é compreender o mecanismo dos efeitos fisiológicos a nível molecular, bem como conhecer a forma e as propriedades do receptor das auxinas.<sup>22</sup>

A atividade hormonal é um mecanismo complexo influenciado por vários fatores, como a afinidade do receptor em relação as auxinas, estabilidade metabólica, lipofilicidade, distribuição do hormônio nos tecidos, densidade eletrônica no núcleo indólico, distribuição eletrônica e da carga no sistema do anel aromático, estereoquímica e outros parâmetros físico-químicos.<sup>22, 23</sup>

Nenhuma correlação simples de ambas propriedades físico-químicas ou parâmetros estruturais para derivados do ácido indol-3-acético com bioatividade tem sido estabelecida. A fim de compreender as propriedades moleculares essenciais de um substrato ou inibidor para a interação com a ligação auxina-proteína **ABP** ("auxin binding protein"), o receptor putativo, e a estrutura tridimensional dessas proteínas devem ser conhecidos. Estas pesquisas estão progredindo, e quando a topologia do sítio interação-hormônio da ligação auxina-proteína for conhecida, dados estruturais completos para uma variedade de substratos ou inibidores serão necessários. Uma classificação sistemática de um conjunto de aproximadamente 50 compostos foi necessária para distinguir auxinas de compostos inativos, através da interação dos índices de propriedades similares.

A cristalografia de raios-X e métodos espectroscópicos de RMN são extremamente importantes nos estudos da relação estrutura-atividade. Esta abordagem baseada nas propriedades moleculares, pode ser utilizada para

predizer a atividade de novos reguladores de crescimento vegetal e dos herbicidas.<sup>22, 23</sup>

Inúmeros compostos análogos ao **AIA** ou com atividade auxínica foram sintetizados e analisados com o objetivo de obter maiores informações sobre a relação estrutura-atividade.

Thomas e colaboradores, prepararam e analisaram a atividade biológica de três derivados 5-substituídos da auxina sintética ANA (**13**). Os derivados foram os ácidos 5-nitro, 5-azido e 5-amino naftalenoacético. Os derivados foram testados em bioensaios de alongamento de caule, utilizando ervilha e milho. Enquanto o 5-amino-ANA foi completamente inativo em uma faixa de concentração de 1-300µM, o 5-azido-ANA foi ativo em ambas as espécies, demonstrando estímulo favorável a 30µM para ervilha e 100µM para milho. O derivado 5-nitro-ANA também foi ativo na promoção da elongação do caule de ervilha, mas foi inativo ou inibidor em altas concentrações sobre o milho.

A falta de atividade para o milho pode estar relacionada a bases metabólicas, porém esse fato não foi explorado. No entanto, o fracasso do 5-nitro-ANA em promover o alongamento do caule do milho não parece resultar da incapacidade de ligação da auxina ao receptor.<sup>24</sup>

Magnus e colaboradores estudaram o efeito de derivados halogenados do ácido indol acético. O **AIA** e o ácido 4-cloro-3-indolacético (4-Cl-**AIA**) ocorrem naturalmente em frutos de ervilha. Entretanto, suas atividades biológicas são diferentes, e somente a aplicação de 4-Cl-**AIA** estimula o crescimento do pericarpo de ervilha. A falta de atividade do **AIA** sobre o tecido do pericarpo de ervilha reflete sua instabilidade química ou bioquímica.

Na análise dos derivados halogenados do **AIA** sobre pericarpo de ervilha, observou-se que o 4-Cl-**AIA**, e em uma menor amplitude o 5-Cl-**AIA**, promoveram o crescimento. O **AIA**, 4-, 5-, 6- e 7-Cl-**AIA** e 5-F-**AIA** foram todos ativos. Não existem dados preliminares disponíveis sobre a atividade auxínica de 4-, 5-, 6- e 7-F-**AIA**. A mudança de flúor para cloro na posição 4 em auxinas resultou em uma diminuição acentuada no crescimento.<sup>25</sup>

Uma série de derivados do ácido-3-indol-acético fluorados foi examinados por Biserka e colaboradores. A substituição no anel benzênico nas posições 4, 5, 6 e 7 resultou em 4 compostos, os quais foram analisados em biotestes baseados

no alongamento do caule de aveia e ervilha. A atividade dos compostos fluorados foi equivalente ou mais efetiva do que as auxinas não substituídas originais. Os resultados para a aveia mostraram que o 5-F-**AIA** e o 7-F-**AIA** apresentaram a mesma atividade. No entanto, o 4-F-**AIA** e o 6-F-**AIA** foram mais ativos, sendo a atividade do primeiro mais expressiva. Já para a ervilha o 5-F-**AIA** demonstrou maior atividade.<sup>26, 27</sup>

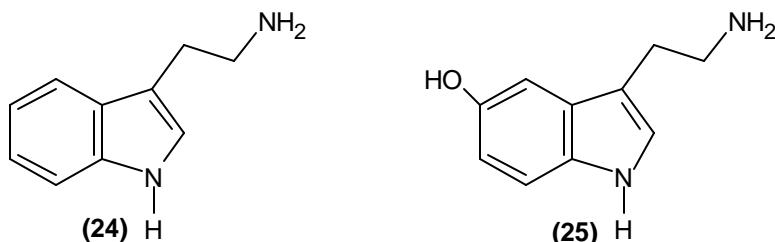


## 1.5 METODOLOGIAS PARA A OBTENÇÃO DE INDÓIS

A investigação química dos indóis tem sido, e continua sendo, uma das áreas da química dos heterociclos mais estudadas. A palavra indol é derivada da palavra índia, um importante corante azul da Índia conhecido como índigo.

Os indóis são provavelmente dos compostos heterocíclicos, os mais amplamente distribuídos na natureza, sendo conhecidos mais de mil alcalóides indólicos, muitos deles apresentando atividade biológica importante.

Alguns indóis naturais são derivados simples monossubstituídos, como o triptofano (**8**), que é um aminoácido essencial e constituinte de muitas proteínas. Ele também é precursor biossintético da triptamina (**24**), serotonina (**25**) e metabólitos secundários contendo o núcleo indólico, como por exemplo o ácido-3-indolacético (**1**), o principal representante natural dos hormônios vegetais.



Devido a importância dos indóis nos produtos naturais e na síntese de fármacos, um grande número de novas rotas sintéticas para a sua obtenção e melhoramento de antigas reações têm sido desenvolvidas.

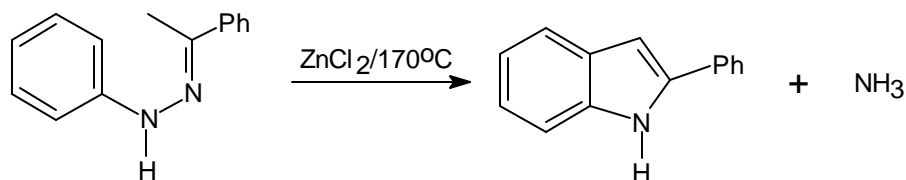
Os indóis são usualmente preparados a partir de precursores não heterocíclicos, por reações de ciclização com benzenos devidamente substituídos. Outros métodos gerais para a síntese do núcleo indólico são os baseados na ciclização de isonitrilas e via nitreno.<sup>28, 29</sup>

Aqui, serão discutidos os métodos gerais mais importantes para a obtenção de indóis.

## 1.5.1 REARRANJO SIGMATRÓPICO

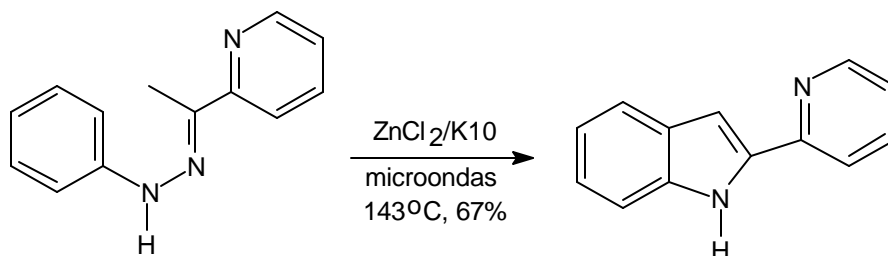
### 1.5.1.1 SÍNTESE DE FISCHER

A síntese de Fischer foi estabelecida em 1883, sendo até hoje a rota mais amplamente utilizada na preparação de indóis. A reação consiste no aquecimento de uma fenilhidrazona, com ácido clorídrico ou ácido de Lewis em um solvente inerte, com liberação de amônia durante a formação do núcleo indólico. No **Esquema 4** está representada a preparação do 2-fenilindol. Este método é acessível e pode ser utilizado na obtenção de indóis com vários substituintes e com cadeias laterais nas posições 2 e 3.<sup>30, 31</sup>



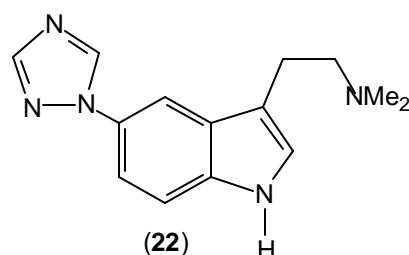
**Esquema 4**

Uma variação desta metodologia consiste em preparar indóis a partir de hidrocloreto de fenilhidrazonas e cetonas em ácido acético com irradiação de microondas. Esta metodologia apresenta melhorias em muitos casos (altos rendimentos e reações com tempo menor que um minuto) sobre condições termais convencionais. Baixos rendimentos foram obtidos devido a decomposição do substrato exposto a altas temperaturas durante aproximadamente três horas. O uso de montmorilonita K10 e cloreto de zinco na presença de microondas, a temperaturas mais baixas e com solvente livre de ácido forma o 2-(2-piridil)indol em bom rendimento, um composto cuja unidade básica estrutural faz parte de muitos produtos naturais (**Esquema 5**).<sup>32, 33</sup>



**Esquema 5**

A síntese de Fischer é amplamente utilizada na preparação de indóis e derivados. Exemplos incluem a síntese de alcalóides e alcalóides marinhos, derivados da triptamina (**22**) e novas estruturas indólicas com anéis fusionados. Também tem sido utilizada em escala industrial, na obtenção de intermediários farmacêuticos.<sup>33</sup>

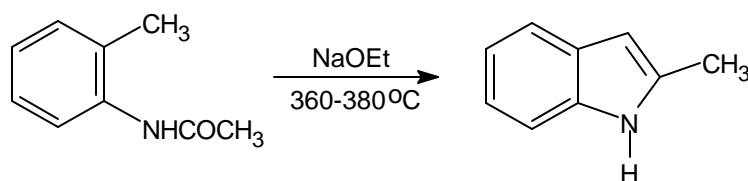


## 1.5.2 CICLIZAÇÃO NUCLEOFÍLICA

### 1.5.2.1 SÍNTESE DE MADELUNG

Em 1912, Madelung mostrou que o 2-metilindol podia ser preparado com 60% de rendimento, aquecendo-se a *o*-aceto-toluidina com etóxido de sódio a 360-380°C em atmosfera inerte. O emprego desta metodologia exige condições severas para realizar catálise básica intramolecular na condensação entre um grupo metila aromático não ativado e um substituinte *o*-acilamino (**Esquema 6**).<sup>34,</sup>

35

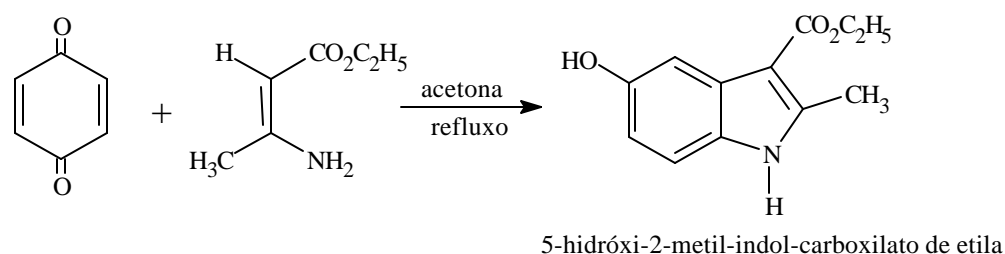


**Esquema 6**

Embora a síntese clássica de Madelung seja raramente empregada, uma modificação excelente na qual é utilizado *n*-butilítio (*n*-BuLi) como base sob condições mais brandas do que a síntese original, foi estudada por Houlihan. A variação Madelung-Houlihan, a qual foi demonstrada primeiramente por Clark e colaboradores, tem sido utilizada na síntese de novos agentes dopaminérgicos.<sup>33-36</sup>

### 1.5.2.2 SÍNTESE DE NENITZESCU

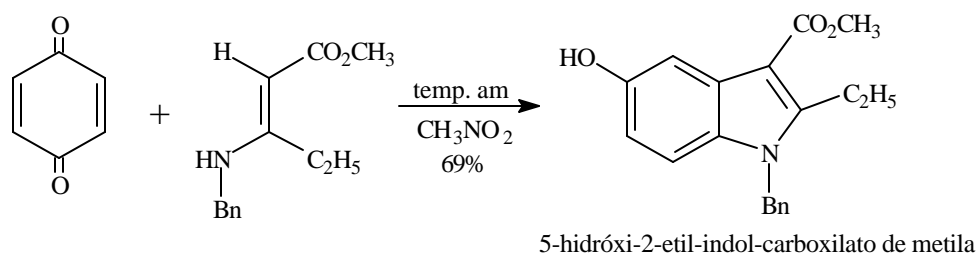
A reação de Nenitzescu é um método importante utilizado na obtenção de indóis 5-substituídos. A reação ocorre via condensação de 1,4-benzoquinonas com aminoacrilato de etila, sob refluxo, utilizando acetona como solvente (**Esquema 7**).<sup>33</sup>



**Esquema 7**

Os ésteres indol-3-carboxilato resultantes são facilmente descarboxilados, embora o rendimento global seja geralmente baixo.<sup>35</sup>

Este método foi utilizado na preparação do 5-hidroxi-2-etil-3-carboxilato de metila, um intermediário chave na síntese de uma indolquinona com atividade antitumoral (**Esquema 8**).<sup>33</sup>

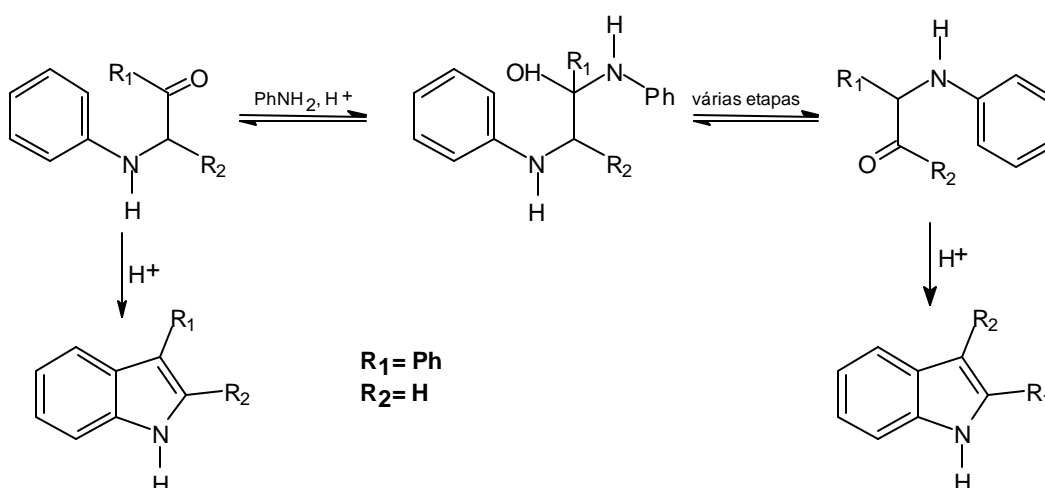


**Esquema 8**

## 1.5.3 CICLIZAÇÃO ELETROFÍLICA

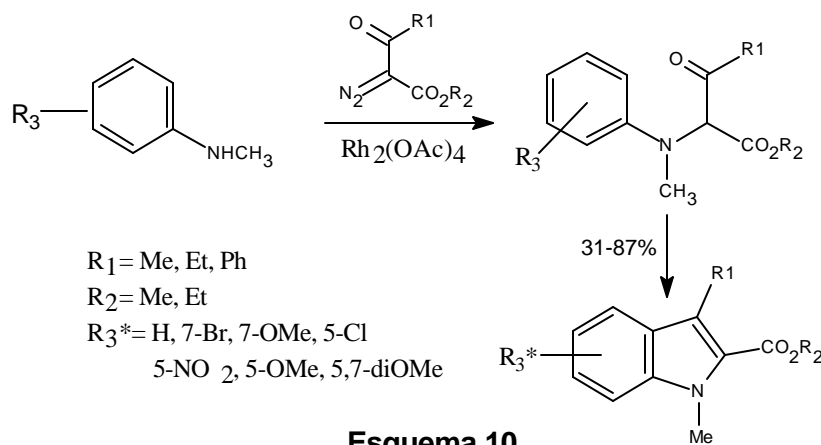
### 1.5.3.1 SÍNTESE DE BISCHLER

A reação de Bischler é um método geral para a preparação de indóis substituídos. A reação compreende essencialmente a ciclização catalisada por ácido de  $\alpha$ -halo,  $\alpha$ -aril e  $\alpha$ -hidroxicetonas. No **Esquema 9** está representado um exemplo desta metodologia, no qual a 2-fenilaminoacetofenona é aquecida na presença de anilina e ácido bromídrico, formando preferencialmente o 2-fenilindol ao 3-fenilindol.<sup>28</sup>



**Esquema 9**

Moody e Swann descreveram uma modificação da síntese de Bischler, na qual o intermediário  $\alpha$ -(N-arilamino) cetona é gerado a partir de um composto diazocarbonila, através da reação de inserção N-H catalisada por ródio (Rh) (**Esquema 10**).<sup>37</sup>

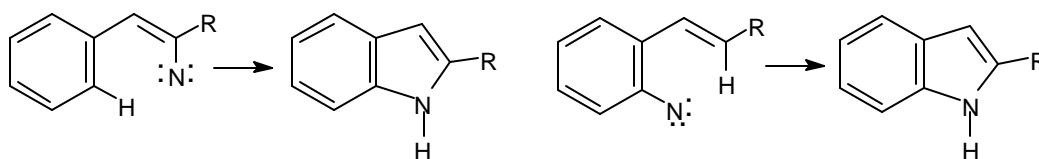


**Esquema 10**

## 1.5.4 CICLIZAÇÃO VIA NITRENO

Além das rotas sintéticas clássicas, o núcleo indólico pode também ser obtido através de metodologias alternativas baseadas no emprego da espécie nitreno como intermediário.

No **Esquema 11**, está representada uma reação protótipo para a obtenção de indóis na qual a espécie nitreno é empregada na forma de nitrogênio eletrofílico.<sup>31</sup>

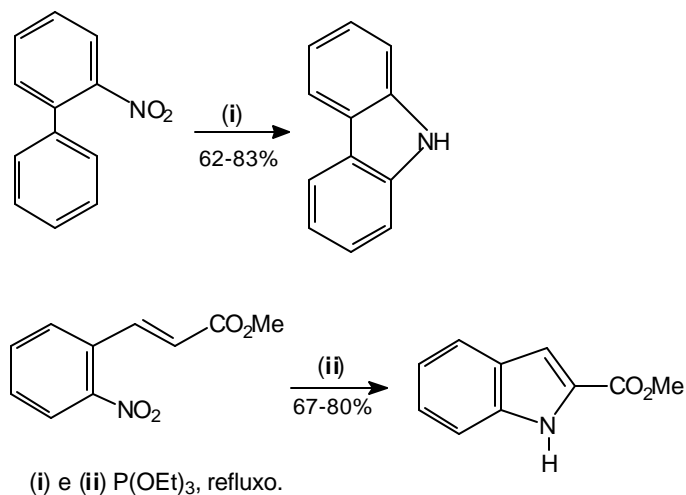


**Esquema 11**

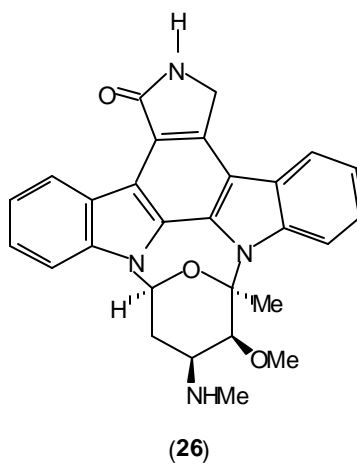
### 1.5.4.1 SÍNTESE DE CADOGAN-SUNDBERG

Um método bastante vantajoso na formação do núcleo indólico, envolve a deoxigenação de *o*-nitroestirenos ou *o*-nitroestilbenos na presença de trietilfosfito, e posterior ciclização do nitreno resultante para a formação do núcleo indólico. Cadogan, Sundberg e colaboradores estudaram amplamente estas reações durante a década de 60.<sup>38-41</sup>

Mais recentemente, Holzapfel e Dwyer têm utilizado esta metodologia para sintetizar carbazóis a partir de 2-nitrobifenilas apropriados e também vários indóis carbonilados, a partir do *o*-nitrocinaamatos de metila (**Esquema 12**).<sup>42</sup> Outros grupos têm empregado esta metodologia na síntese de vários 2,2'-bisindóis, intermediários potenciais de compostos com atividade fungicida, antimicrobiana, antibiótica e antitumoral como por exemplo, o Staurosporin (**26**).<sup>43</sup>



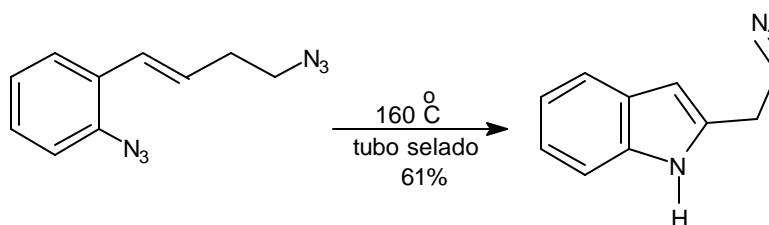
Esquema 12



#### 1.5.4.2 SÍNTESE DE SUNDBERG

Esta metodologia envolve a termólise de *o*-azidoestirenos e ciclização do nitreno resultante para formação do núcleo indólico.

Molina e colaboradores empregaram a síntese de Sundberg para preparar 2-(2-azidoetil)indol a partir da bis (azida) (**Esquema 13**).<sup>44, 45</sup>

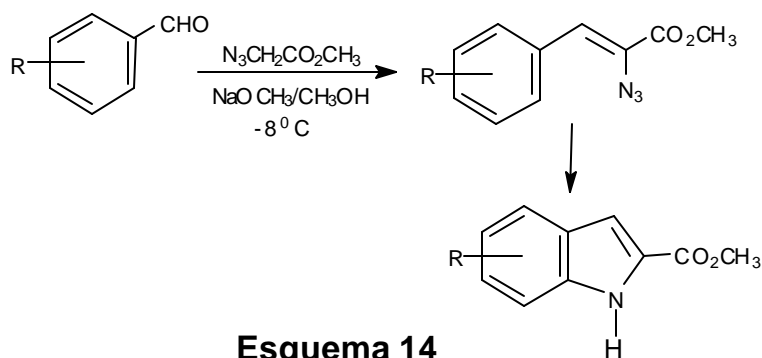


Esquema 13

### 1.5.4.3 SÍNTESE DE HEMETSBERGER

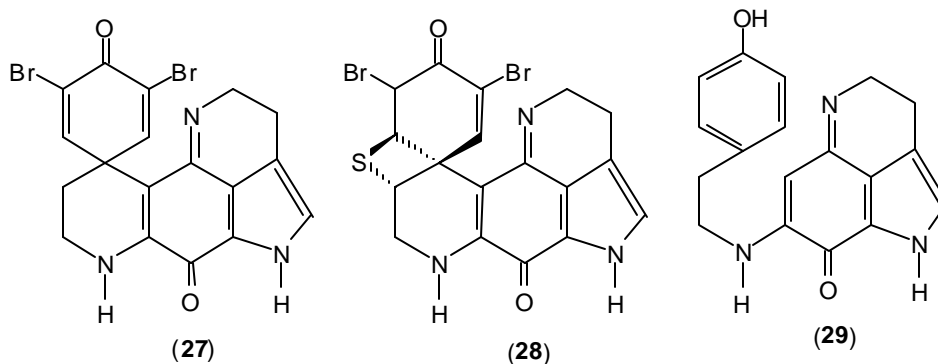
O método mais seguro para gerar nitreno é pela eliminação térmica ou fotoquímica de nitrogênio das aril ou vinil azidas.

A aplicação mais geral desta metodologia tem sido na síntese de anéis indólicos 2-substituídos, que são preparados a partir da azida acetato de metila que sofre imediata condensação com aldeídos aromáticos, na presença de base forte seguida da ciclização em xileno, formando o indol correspondente com bons rendimentos (**Esquema 14**).



Esta metodologia tem sido extensivamente estudada por Moody e Rees, e amplamente utilizada na obtenção do núcleo indólico presente em vários compostos biologicamente ativos, como exemplo o Discorhabdin (**27**), Prianosin (**28**) e Makaluvamina (**29**) que apresentam significativa atividade anticancerígena.

46-52



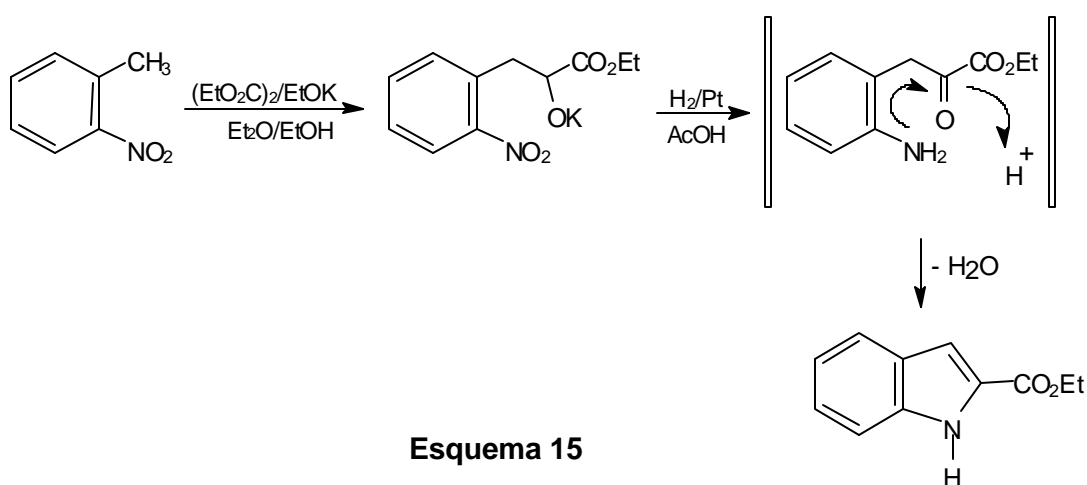


## 1.5.5 CICLIZAÇÃO REDUTIVA

Como na síntese de Fischer, a ciclização de Madelung e suas modificações, a ciclização reductiva de nitro compostos aromáticos é um método eficiente para a preparação de indóis, e progressos na metodologia foram descritos recentemente.<sup>33</sup>

### 1.5.5.1 SÍNTESE DE REISSERT

A síntese clássica de Reissert foi descoberta em 1897. Esta metodologia envolve a condensação de *o*-nitrotolueno com dietiloxalato, na presença de base forte, formando o *o*-nitrofenilpiruvato de etila. Após a hidrólise do éster, o ácido *o*-nitrofenilpirúvico é reduzido ao intermediário ácido aminofenilpirúvico, que sofre ciclização com eliminação de água, sob condições de redução. O produto formado é o ácido indol-2-carboxílico, que pode sofrer descarboxilação, formando o indol (**Esquema 15**).<sup>34</sup>

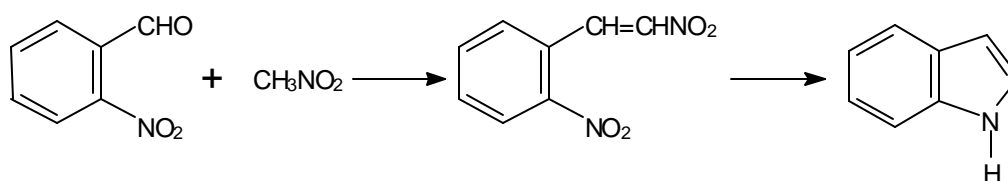


**Esquema 15**

Kraus e Selvakumar têm empregado a ciclização redutiva de nitro aldeído para sintetizar um indol tricíclico relacionado ao pirroloiminoquinona, um produto natural marinho.<sup>53</sup>

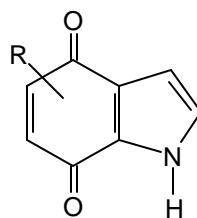
### 1.5.5.2 CICLIZAÇÃO REDUTIVA DE *o,b*-DINITROESTIRENO

Esta metodologia envolve a redução parcial de *o,b*-dinitroestirenos que podem ser preparados por meio da condensação em meio básico de *o*-nitrobenzaldeídos e nitrometano (**Esquema 16**).<sup>31</sup>



**Esquema 16**

Corey e colaboradores<sup>54</sup> utilizaram a metodologia de ciclização redutiva de *o,b*-dinitroestirenos, modificada por Borchardt (Fe-HOAc-sílica gel-tolueno-refluxo)<sup>55</sup> para preparar 6,7-dimetoxiindol para a síntese total da aspidofitina. Esta mesma metodologia foi empregada na preparação do 7-acetoxi-6-metoxiindol e do 4-acetoxi-5-metoxiindol, os quais foram utilizados na síntese de indolquinonas (**28**) que apresentam atividade moderada antimicrobial para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*.<sup>56</sup>

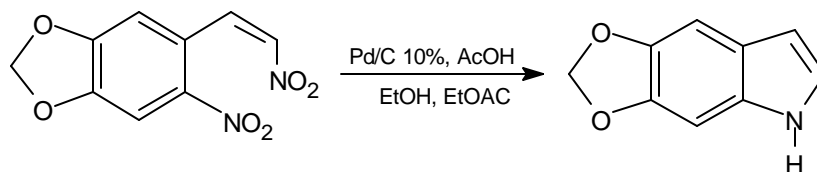


**(28)**

R= 5-Me, 5-OMe e 6-OMe

Fukuyama e Chen utilizaram a ciclização redutiva de *o,b*-dinitroestirenos para preparar um potencial precursor indólico para a síntese de hapalindol G.<sup>57</sup>

Esta metodologia foi utilizada com sucesso na síntese do 5,6-metilenodioxindol, que foi obtido com 94% de rendimento a partir do *o,b*-dinitroestireno correspondente (**Esquema 17**).<sup>58, 59</sup>



**Esquema 17**

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos Gerais

- ⇒ Sintetizar novos compostos indólicos análogos ao ácido indol-3-acético, utilizando-se como material de partida o safrol e derivados.
- ⇒ Avaliar a atividade biológica desses análogos quanto as suas propriedades reguladoras de crescimento vegetal
- ⇒ Intensificar as atividades científicas conjuntas entre os Departamentos de Química da UFSC e FURB.
- ⇒ Contribuir para a consolidação da linha de pesquisa “Síntese de Compostos Orgânicos e o Estudo de suas Propriedades” do Departamento de Química da FURB, mediante a obtenção de substâncias com propriedades biológicas potenciais no âmbito da fisiologia vegetal.

### 2.2 Objetivos Específicos

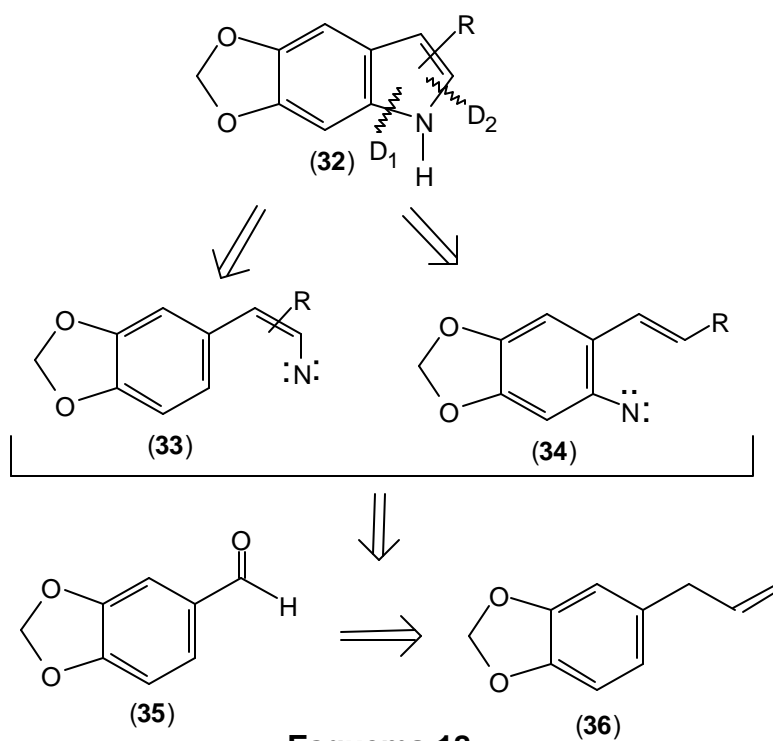
- ⇒ Sintetizar estruturas indólicas 5,6-metilenodioxissubstituídas empregando-se alternativamente, na construção do anel heterocíclico reações via inserção de nitreno e ciclização reductiva.
- ⇒ Utilizar reações clássicas de substituição aromática eletrofílica para a funcionalização das posições 2 e 3.
- ⇒ Caracterizar os compostos sintetizados através de métodos espectroscópicos no IV, espectrométricos de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , massas e análise elementar.
- ⇒ Avaliar a atividade reguladora de crescimento vegetal dos ácidos 5,6-metilenodioxi-indólicos por intermédio de experimentos “*in vitro*” e “*in vivo*”.
- ⇒ Empregar ensaios “*in vitro*” de promoção de crescimento de radículas, sementes de *Lactuca sativa* (alface) e *Sorgum bicolor* (sorgo), e nos biotestes de pecíolos, plantas de *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem).

- ➔ Avaliar a atividade reguladora de crescimento vegetal em experimentos “*in vivo*” utilizando-se ensaios de indução de enraizamento caulinar em estacas de *Malvaviscus arboreus* (espécie de cerca viva), e o ensaio de dominância apical em plantas de *Phaseolus vulgaris*.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de sintetizar análogos do ácido 3-indolacético (**1**), principal representante natural dos reguladores de crescimento vegetal, utilizaram-se metodologias clássicas e alternativas de síntese, bem como o uso de compostos naturais e de baixo custo como material de partida.

Na síntese de compostos com a estrutura geral (**32**), duas desconexões (**D<sub>1</sub>** e **D<sub>2</sub>**) alternativas foram consideradas, conduzindo aos intermediários pivotais (**33**) e (**34**). Esses intermediários são espécies nitreno gerados por termólise de aril ou vinil azidas, ou mediante a deoxigenação de aril *o*-nitroestirenos e *b*-nitroestirenos. Os mesmos foram preparados mediante reações clássicas de substituição eletrofílica aromática e condensação, respectivamente (**Esquema 18**).



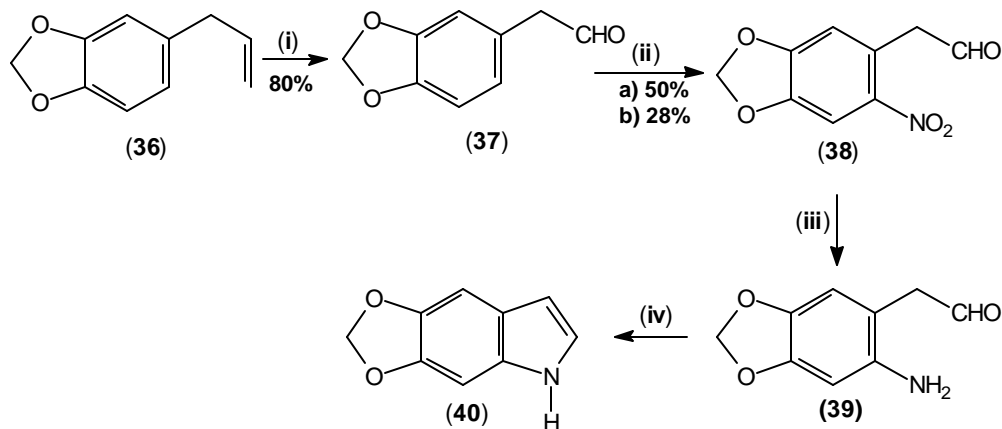
**Esquema 18**

### 3.1 Síntese do Núcleo Metilenodioxindólico a partir do Safrol

O safrol (**36**) é um alilbenzeno presente em espécies das famílias *Aristolochiaceae*, *Lauraceae* e *Piperaceae* em quantidades apreciáveis. Ocorre como principal componente do óleo essencial de *Sassafras albidum* (Nuttal) Nees, uma *Lauraceae* encontrada na região oriental dos Estados Unidos. Uma outra espécie de *Lauraceae*, a *Ocotea pretiosa*, era bastante abundante no vale do rio Itajaí-Açú, no estado de Santa Catarina, sendo que de seu tronco e lenho, por arraste de vapor, obtinha-se o óleo de Sassafras cujo teor em (**36**) é superior a 90%.<sup>60</sup>

A família Piperaceae apresenta-se hoje como a mais promissora fonte deste metabólito secundário, notadamente as espécies *Piper hispidinervium* e *mikanianum*.

Para a preparação do núcleo indólico, inicialmente foi escolhida a rota sintética representada no **Esquema 19**. Nesta rota, além de utilizar o safrol (**36**) como material de partida, um composto natural de distribuição ampla no reino vegetal e de baixo custo, ainda foi prevista a obtenção do núcleo indólico não substituído no anel heterociclo.



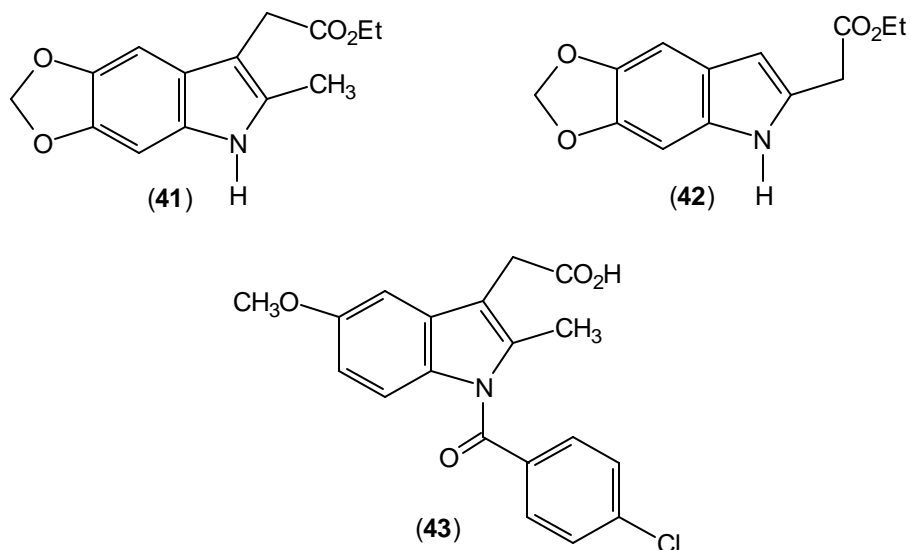
(i) 1. AcOH glacial, O<sub>3</sub>, - 2 °C, 2. Zn, AcOEt, NaHCO<sub>3</sub> 20%;

(ii) a) AcOH glacial, HNO<sub>3</sub>, banho de gelo, NaHCO<sub>3</sub> 20% b) CHCl<sub>3</sub>, HNO<sub>3</sub>, banho de gelo, NaHCO<sub>3</sub> 20%;

(iii) Fe, AcOH glacial, EtOH, Ar; (iv) Ciclização.

**Esquema 19**

O núcleo indólico (40) que seria obtido por meio desta rota sintética é um análogo de (41) e (42) sintetizados por Barreiro e colaboradores, que em função de suas semelhanças estruturais com a indometacina (43) podem ser considerados como antiinflamatórios não esteroidais em potencial.<sup>61</sup>



Salienta-se que o composto (37) somente foi obtido com a otimização das condições reacionais, as quais foram alcançadas após um longo período de trabalho, onde muitos problemas foram enfrentados, principalmente no que se refere à reação de ozonólise, pois o equipamento gerador de ozônio apresentou diversos problemas. Na **Tabela 1** estão demonstradas as condições experimentais testadas.



**Tabela 1** : Resumo das condições experimentais testadas na reação de ozonólise de **(36)**.

Estequiometria (Safrol:ácido acético mol)	<b>Temperatur</b> <b>a</b> (°C)	Tempo de Reação (h)	Zinco em pó (g)	<b>Neutralização</b> <b>(NaHCO<sub>3</sub> 20%)</b> <b>pH</b>	Isolamento (solvente)
1:4	0	7	1,4	8	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O
1:2	0	13	1,3	8	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
1:4	-2	11	4,0	7	CHCl <sub>3</sub>
1:4	-30	10	4,0	7	CHCl <sub>3</sub>

Finalmente, através de uma reação de ozonólise do safrol **(36)** em ácido acético glacial, foi obtido o intermediário químico **ozonídeo** “*in situ*”, que posteriormente foi reduzido na presença de zinco em pó a temperatura de – 2 °C. O produto foi isolado por extração com acetato de etila e purificado por cromatografia em coluna, utilizando como eluente diclorometano, obtendo-se assim, o 3,4-metilenodioxifenil acetaldeído **(37)** em 80% de rendimento.

O composto **(37)** foi caracterizado por análises no IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

O espectro no IV (KBr) demonstrou bandas características em 2898 (CH), 1722 (CO), 1248 (COC) e 1040 cm<sup>-1</sup> (COC).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub> apresentou na região de 3,59 ppm um dubleto (*J* 2,2 Hz) de integração dois prótons referente aos hidrogênios do grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-), em 5,94 ppm um singleto de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), em 6,67 ppm, um dubleto (*J* 7,7 Hz) de integração um próton atribuído ao H-6 do anel benzênico, em 6,67 ppm um singleto de integração um próton atribuído ao H-2 do anel benzênico, em 6,81 ppm um dubleto (*J* 7,7 Hz) de integração um próton atribuído ao H-5 do anel benzênico e em 9,69 ppm um singleto de integração um próton, atribuído ao hidrogênio do grupo funcional aldeído (CHO).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C em CDCl<sub>3</sub> apresentou nove sinais nas regiões de 49,98 a 199,27 ppm, que correspondem a nove átomos de carbono não equivalentes presentes na molécula. Em 49,98 ppm aparece um sinal referente ao carbono do grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-), em 101,03 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), na região de 108,58 a 148,02 ppm seis sinais

relativos aos carbonos do anel benzênico, C-5, C-2, C-6, C-1, C-4 e C-3, respectivamente, e em 199,27 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo funcional aldeído (CHO). Os dados espectroscópicos de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram condizentes com a estrutura proposta.

A nitração de **(37)** foi mais eficiente na presença de ácido nítrico concentrado e clorofórmio, fornecendo nestas condições o 3,4-metilenodioxi-fenil-2-nitro acetaldeído **(38)** de forma mais cristalina e pura do que, quando preparado em ácido nítrico concentrado e ácido acético glacial, embora em menor rendimento (28%, p.f 78,2-80,2 °C).

O composto **(38)** foi caracterizado por análises no IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e também por análise elementar de C, H e N.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 2914 (CH), 1769 (CO), 1510 ( $\text{NO}_2$ ), 1332 ( $\text{NO}_2$ ) e 1248  $\text{cm}^{-1}$  (COC).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  apresentou na região de 4,04 ppm um singlete de integração dois prótons referente aos hidrogênios do grupo metileno ( $-\text{CH}_2-$ ), 6,14 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxi ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,7 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-2 do anel benzênico, 7,67 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-5 do anel benzênico e em 9,81 ppm um singlete de integração um próton referente ao hidrogênio do grupo funcional aldeído (CHO).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  apresentou nove sinais na região de 48,76 a 196,77 ppm, que correspondem a nove átomos de carbono diferentes presentes na molécula. Em 48,76 ppm aparece um sinal referente ao carbono do grupo metileno ( $-\text{CH}_2-$ ), em 103,13 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxi ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), na região de 106,09 um sinal relativo ao C-5 do anel benzênico, 111,84 ppm um sinal relativo ao C-2 do anel benzênico, 125,40 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-1 do anel benzênico, 142,68 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-6 do anel benzênico, 147,65 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-4 do anel benzênico, 152,19 um sinal relativo ao carbono quaternário C-3 do anel benzênico e em 196,77 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo funcional aldeído (CHO). Os dados das análises de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  são condizentes com a estrutura proposta.

A análise elementar apresentou o seguinte resultado, para (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>) a análise calculada foi C, 51,59 %; H, 3,35%; N, 6,68%; e a encontrada: C, 52,22%; H, 3,16% e N, 6,38%. Estes valores estão muito próximos quando comparados entre si.

A estratégia sintética proposta no **Esquema 19** não pode ser concluída, pois já na terceira etapa da rota escolhida não foi possível obter o produto de redução (**39**) do grupo nitro (NO<sub>2</sub>) ao amino (NH<sub>2</sub>). Todas as tentativas de redução na presença de ferro em pó, etanol e ácido acético e/ou em ferro em pó, cloreto de amônio e água não resultaram na obtenção do composto desejado (**39**).<sup>62-64</sup>

Sem o grupo amino presente na estrutura proposta (**39**) a ciclização posterior se torna totalmente inviável, devido a ausência de um centro nucleofílico capaz de atacar o carbono eletrofílico da carbonila para a obtenção do núcleo indólico desejado (**40**). Portanto, esta rota sintética foi abandonada, e novas metodologias para a preparação do núcleo indólico foram exploradas.

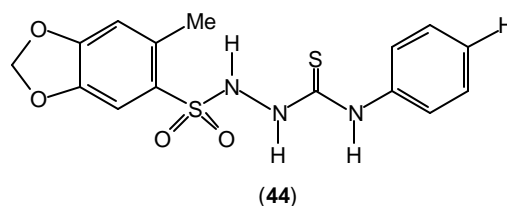
### 3.2 Síntese do Núcleo Metilenodioxindólico a partir de um Derivado do Safrol (Piperonal)

O **Esquema 20** apresenta a estratégia sintética estudada para a preparação do núcleo metilenodioxindólico substituído na posição 2 do anel heterocíclico, utilizando-se como material de partida o 3,4-metilenodioxibenzaldeído (**35**), que é um derivado do safrol (**36**), conhecido pelo nome de piperonal. O piperonal é um composto de distribuição mais restrita e menos abundante no reino vegetal.<sup>60</sup> Entretanto, é facilmente preparado por isomerização da dupla ligação em (**36**), seguida pela oxidação e é também, desta forma um produto relativamente barato, de fácil acesso e disponível comercialmente, muito utilizado na indústria de cosméticos.<sup>65, 66</sup>

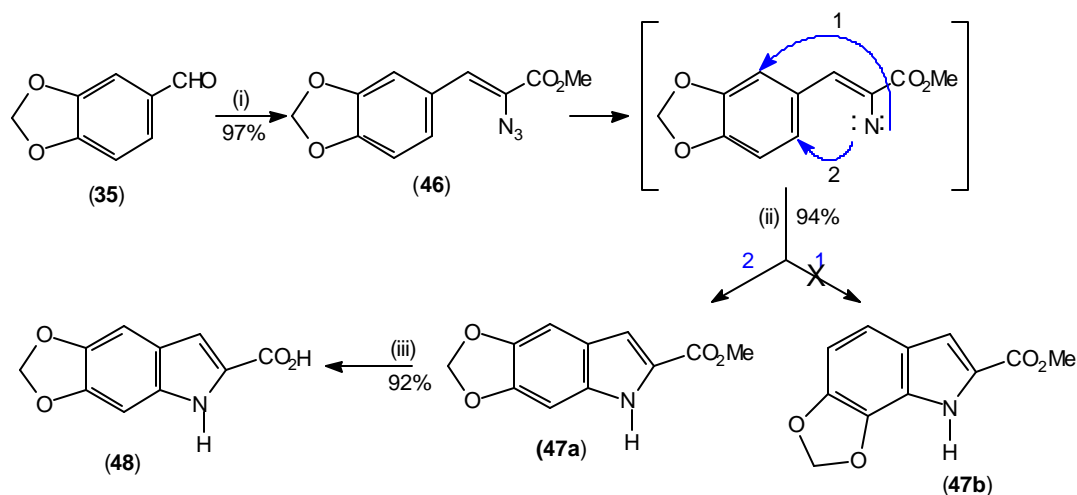
Tanto (**35**) como o (**36**) são intermediários importantes em síntese orgânica. Quando as moléculas alvo possuem em suas estruturas anéis aromáticos contendo a porção metilenodioxibenzeno, o uso destas substâncias como matérias-primas é estrategicamente vantajoso. Desta forma, (**35**) e (**36**) têm

sido amplamente empregados na preparação de diversos grupos de produtos naturais biologicamente ativos, como lignanas,<sup>67, 68</sup> neo-lignanas e diversos tipos de alcalóides,<sup>69</sup> bem como substâncias sintéticas originárias de projetos de desenvolvimento planejado de fármacos, como por exemplo o anti-trombótico, 6-metil-3,4-metilenodioxifenilsulfonil-*N*-feniltiosemicarbazida (**44**).<sup>70</sup>

Barreiro, Costa e colaboradores foi o grupo de pesquisadores brasileiros que mais estudou a reatividade de (**36**) e derivados, possibilitando o uso destas matérias-primas naturais abundantes na síntese de diversos produtos naturais e compostos biologicamente ativos.<sup>71-75</sup>



Na rota sintética apresentada no **Esquema 20**, foi explorada a química das azidas empregada com sucesso por Moody e colaboradores, que permitiu a construção do núcleo indólico de uma maneira simples e eficiente, através da reação de Hemetsberger.<sup>46, 47, 76</sup>



(i)  $\text{N}_3\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$  (**45**), NaOMe, MeOH, (-8 °C); (ii) xileno, refluxo, 1h;  
 (iii) 1) NaOH 2M, refluxo, 1h, 2) HCl 6M.

**Esquema 20**

Inicialmente, preparou-se o azido acetato de metila (**45**). Este foi facilmente preparado utilizando como material de partida o bromoacetato de metila recentemente destilado, e azida de sódio que foram refluxados durante quatro horas na presença de metanol e água. O produto final foi purificado por destilação sob pressão reduzida, fornecendo o azido acetato de metila na forma de um líquido claro em 99% de rendimento. O composto (**45**) foi caracterizado por espectroscopia no IV (KBr), sendo observadas as bandas características em 2110 (N<sub>3</sub>) e 1748 cm<sup>-1</sup> (CO). O espectro de RMN <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub> apresentou um singlete em 3,8 ppm com integração três prótons referente aos hidrogênios do grupo metila (-CH<sub>3</sub>) e em 3,9 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-).

Após a preparação e a caracterização de (**45**), realizou-se a reação de condensação de (**35**) com o azidoacetato de metila. Esta foi inicialmente efetuada à temperatura ambiente e a 0 °C, verificando-se a decomposição de (**45**), pois todas as vezes que a reação foi executada nestas condições houve o escurecimento do meio reacional, num processo fortemente exotérmico.

Posteriormente, a reação foi realizada à temperatura mais baixa, na qual, uma solução de (**35**) e (**45**) em metanol foi gotejada em metóxido de sódio a - 8 °C. O produto final 2-azido-3-(3,4-metilenodioxifenil)-propenoato de metila (**46**) foi obtido na forma de cristais amarelos em 97% de rendimento, e utilizado sem prévia purificação na próxima etapa de síntese.

O composto (**46**) foi caracterizado por análises no IV e RMN de <sup>1</sup>H.

No espectro no IV (KBr) foram observadas as bandas características em 2124 cm<sup>-1</sup> (N<sub>3</sub>), 1710 cm<sup>-1</sup> (CO) e 1256 cm<sup>-1</sup> (COC).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub> apresentou em 3,90 ppm um singlete de integração três prótons referentes ao grupo metoxila (OCH<sub>3</sub>), em 6,01 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 6,80 ppm um dubleto (*J* 8,4 Hz) de integração um próton atribuído ao H-2 do anel benzênico, 6,84 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-6 do anel benzênico, 7,16 ppm um dubleto (*J* 8,0 Hz) de integração um próton atribuído ao H-3 do anel benzênico e em 7,58 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-8 da cadeia lateral.

Na etapa que visa a obtenção do núcleo indólico foi investigada a termólise da vinil azida (**46**). Esta induziu a eliminação de nitrogênio (N<sub>2</sub>) com formação da espécie nitreno altamente reativa, fornecendo desta maneira condição favorável para a ciclização. A princípio os dois isômeros **47a** e **47b** poderiam ter sido formados, conforme mostrado no **Esquema 20**.

O núcleo indólico substituído na posição 2 do anel heterocíclico, foi obtido através de uma reação via inserção de nitreno, na qual o 2-azido-3-(3,4-metilenodioxifenil)-propenoato de metila na presença de xileno foi refluxado durante uma hora. A evolução de N<sub>2</sub> para a formação da espécie nitreno, foi observada por meio de um medidor de vazão de gás acoplado ao condensador de refluxo. O xileno foi removido do meio reacional por destilação sob pressão reduzida, e o sólido formado foi purificado por cromatografia em coluna, fornecendo o 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-carboxilato de metila (**47a**) como produto único da reação na forma de cristais amarelos puros em 94% de rendimento e p.f: 173,2-174,6 °C.

O composto (**47a**) foi caracterizado por análises no IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou as bandas características em 3324 (NH), 3072 (CH), 1696 (CO), e 1248 cm<sup>-1</sup> (COC).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub> forneceu sinais em 3,88 ppm um singleto de integração três prótons referente aos hidrogênios do grupo metoxila (OCH<sub>3</sub>), 5,93 ppm um singleto de integração dois prótons referente aos hidrogênios do grupo metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), 6,91 ppm um dubleto (*J* 0,4 Hz) de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 6,94 ppm um dubleto (*J* 0,4 Hz) de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 7,02 ppm um duplo dubleto (*J* 0,9 e 0,8 Hz) de integração um próton atribuído ao H-3 do anel heterocíclico e 11,03 ppm um singleto de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C em CDCl<sub>3</sub> apresentou onze sinais na região de 51,4 a 162,1 ppm, que correspondem aos onze átomos de carbono diferentes presentes na molécula. Em 51,4 ppm aparece um sinal referente ao carbono do grupo metila (-CH<sub>3</sub>), em 92,4 ppm um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico, 99,2 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), 108,5

um sinal relativo ao C-3 do anel heterocíclico, 121,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-4a, 125,1 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-2 do anel heterocíclico, 133,5 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-7a, 143,8 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-6, 147,4 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-5 e 162,1 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo funcional éster (CO<sub>2</sub>Me).

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 219 (M<sup>+</sup>, 76%), 187 (100%), 159 (67%), 133 (25%), 101 (34%), 93 (22%), 75 (25%), 50 (27%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado, para (C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>) a análise calculada foi C, 60,27%; H, 4,13%; N, 6,39%; e a encontrada C, 59,98%; H, 4,28% e N, 6,26%; sendo estes valores muito próximos entre si.

Com o objetivo de obter compostos análogos ao **AIA**, o ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) foi preparado através da reação de hidrólise básica, na qual, (**47a**) foi refluxado em uma solução de hidróxido de sódio 2M (NaOH) e o produto precipitado em ácido clorídrico 6M (HCl). O composto (**48**) foi purificado por recristalização em metanol sob refluxo suave, obtendo-se o ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico na forma de cristais marrons em 92% de rendimento e p.f: 250,9 °C com decomposição.

O composto (**48**) foi caracterizado por análises no IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 3344 (NH), 2914 (OH), 1706 (CO) e 1288 cm<sup>-1</sup> (COC).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H em DMSO-*d*<sub>6</sub> mostrou sinais em 5,93 ppm um singlete de integração dois prótons referente aos hidrogênios do grupo metilenodioxí (-OCH<sub>2</sub>O-), 6,91 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 6,94 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 7,02 ppm um duplo dubleto (*J* 0,8 e 0,5 Hz) de integração um próton atribuído ao H-3 do anel heterocíclico, e 11,6 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C em DMSO-*d*<sub>6</sub> apresentou dez sinais na região de 92,4 a 163,2 ppm, que correspondem a dez átomos de carbono diferentes presentes na molécula. Em 92,4 ppm um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico,

98,2 ppm um sinal relativo ao C-4 do anel benzênico, em 100,8 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxí (-OCH<sub>2</sub>O-), 108,3 um sinal relativo ao C-3 do anel heterocíclico, 121,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-4a, 125,0 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-2 do anel heterocíclico, 133,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-7a, 143,6 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-6, 147,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-5 e 163,2 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo funcional ácido carboxílico (CO<sub>2</sub>H).

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 205 (M<sup>+</sup>, 80%), 187 (100%), 159 (90%), 129 (20%), 101 (50%), 93 (27%), 75 (33%), 50 (45%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado: para (C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>) a análise calculada foi C, 58,54%; H, 3,44%; N, 6,83 %; e a encontrada C, 58,53%; H, 3,42% e N, 6,83%.

### 3.2.1 Modificações Estruturais

#### 3.2.1.1 Reações de Redução

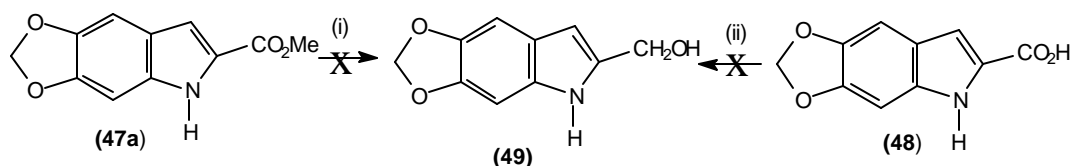
Com o intuito de obter outros derivados indólicos, buscou-se realizar modificações estruturais empregando-se reações de redução dos grupos funcionais éster (CO<sub>2</sub>Me) e ácido carboxílico (CO<sub>2</sub>H) presentes nos compostos (**47a**) e (**48**), visando a obtenção do 5,6-metilenodioxí-indol-2-il-metanol (**49**).

No **Esquema 21** estão representadas algumas das tentativas de reações utilizadas para a obtenção de (**49**).<sup>77-79</sup> Todas as reações executadas foram realizadas com tetra hidrofurano (THF) seco, conforme procedimento descrito na literatura.<sup>80</sup> Todas as vidrarias foram devidamente secas em estufa e purgadas com N<sub>2</sub> medicinal antes do início das reações.

Entretanto, todos os esforços foram em vão, pois nenhuma das reações testadas não foram eficientes na obtenção de (**49**). Em todos os experimentos os materiais de partida (**47a**) e (**48**), foram recuperados em 80-98%.



Novas metodologias devem ser estudadas para explorar a reatividade destes compostos frente a reações de redução.



(i) a) NaBH<sub>4</sub>, THF, 0 °C, AlCl<sub>3</sub>, refluxo; b) NaBH<sub>4</sub>, THF, 0 °C/AlCl<sub>3</sub>, refluxo, N<sub>2</sub>;  
c) LiAlH<sub>4</sub>, THF, 0 °C, N<sub>2</sub>, t. a.; d) LiAlH<sub>4</sub>, THF, t. amb.

(ii) LiAlH<sub>4</sub>, THF, 0 °C, pentano, NH(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, t. amb.

Esquema 21

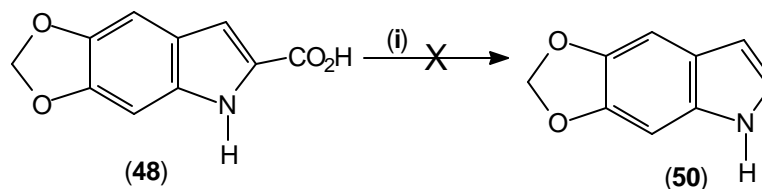
### 3.3 Síntese do Núcleo Metilenodioxindólico não Substituído na Porção Heterocíclica

#### 3.3.1 Descarboxilação do Ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico

O emprego do núcleo indólico não substituído na porção heterocíclica é fundamental para a preparação dos derivados 3-substituídos. Desta maneira, a hidrólise de (47a) e a posterior descarboxilação de (48) conduziram à estrutura precursora desses derivados.

Diferentes métodos de descarboxilação são descritos na literatura.<sup>50,51</sup>

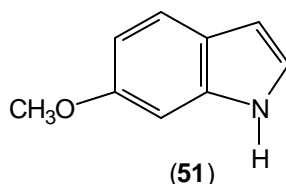
Nesta etapa de síntese, o método escolhido para a obtenção do núcleo indólico 5,6-metilenodioxindol (50) foi descrito por Allen<sup>50</sup> e colaboradores, no qual o ácido (48) foi refluxado durante 3 horas em quinolina recentemente destilada, na presença de cobre em pó, sob atmosfera de argônio, conforme mostrado no Esquema 22.



(i) quinolina, Cu, refluxo, Ar.

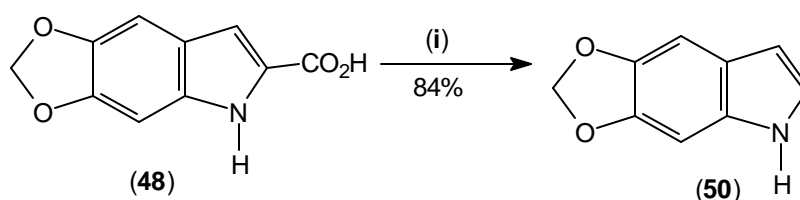
Esquema 22

Embora esta reação tenha sido utilizada com sucesso na preparação de um análogo, o núcleo indólico (**51**) em grande escala 40 g, 98% de rendimento,<sup>51</sup> para o composto (**48**) descrito no **Esquema 22**, o método utilizado não foi eficiente, pois o material de partida foi recuperado em 95% de rendimento.



Outro método utilizado na obtenção de núcleos indólicos não substituídos na porção heterocíclica, descrito na literatura por Sadanandan, Lown e colaboradores,<sup>50, 51</sup> trata-se da descarboxilação através da termólise do ácido carboxílico na presença de hidróxido de bário ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ) sob pressão reduzida, fornecendo o núcleo indólico por sublimação em bons rendimentos (73-95%). Este método ainda é pouco conhecido e explorado.<sup>50, 52</sup>

O método descrito acima<sup>50,51</sup> foi empregado com sucesso na descarboxilação de (**48**), na qual uma mistura deste ácido e  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  finamente pulverizados foi termolisada sob pressão reduzida em aparelho do tipo “dedo frio”, usando como fonte de aquecimento o bico de Bunsen. O 5,6-metilenodioxindol (**50**) foi obtido por sublimação na forma de um sólido amarelo claro, analiticamente puro em 84% de rendimento, apresentando p.f 109,4-110,0 °C, estando concordante com dados da literatura;<sup>64</sup> sendo de 108-110 °C (**Esquema 23**).



(i)  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , aquecimento em bico de Bunsen

**Esquema 23**

O 5,6-metilenodioxindol (**50**) foi totalmente caracterizado por análises no IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e massas.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 3410 (NH), 3072 (CH) e  $1206\text{ cm}^{-1}$  (COC).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  apresentou sinais em 5,92 ppm um singlete de integração dois prótons referente aos hidrogênios do grupo metilenodioxi ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,42 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-2 do anel heterocíclico, 6,84 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 7,00 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 7,06 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-3 do anel heterocíclico e 8,0 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  forneceu sinais em 91,8 a 144,9 ppm referentes aos nove carbonos diferentes presentes na estrutura de (**50**). Em 91,8 ppm aparece um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico, 99,1 ppm sinal relativo ao C-4 do anel benzênico, 100,5 ppm sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxi ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 102,8 ppm sinal relativo ao C-3 do anel heterocíclico, 121,6 ppm sinal relativo ao carbono quaternário C-4a do anel benzênico, 122,7 ppm sinal relativo ao carbono quaternário C-2 do anel heterocíclico, 130,6 ppm sinal relativo ao carbono quaternário C-7a do anel benzênico, 143,0 ppm sinal relativo ao carbono quaternário C-6 do anel benzênico, 144,9 ppm sinal relativo ao carbono quaternário do C-5 do anel benzênico.

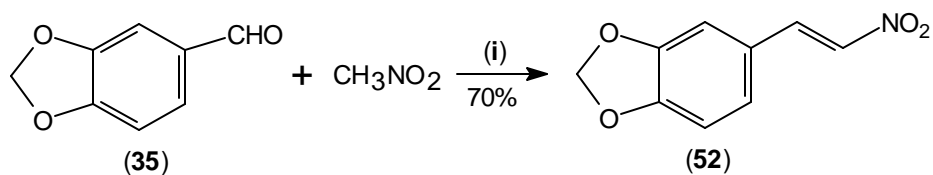
O espectro de massas apresentou como principais fragmentações os sinais em 161 ( $\text{M}^+$  100%), 103 (38%), 76 (33%) e 50 (23%).

### 3.3.2 Ciclização Redutiva

A obtenção do composto *b*-nitroestireno (**52**) é de grande importância, pois análogos a ele, segundo a literatura são precursores na construção de núcleos indólicos não substituídos na porção heterocíclica.<sup>81</sup>

A preparação do 3,4-metilenodioxi-*b*-nitroestireno (**52**) foi conduzida por meio de uma reação de condensação, refluxando-se o piperonal com nitrometano na presença de ácido acético e acetato de amônio durante quatro horas, (**Esquema 24**).<sup>82</sup> O composto (**52**) foi obtido em 70% de rendimento apresentando p.f 158-159,2 °C, estando de acordo com dados descritos na literatura, 159-161 °C.<sup>64</sup>

O 3,4-metilenodioxi-*b*-nitroestireno foi caracterizado por análises no IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, massas e análise elementar, e utilizado na próxima etapa de síntese sem purificação prévia.



(i) AcOH, NH<sub>4</sub>OAc, refluxo

**Esquema 24**

O espectro no IV (KBr) apresentou as bandas características em 1492 (CNO), 1334 (CNO), 1268 cm<sup>-1</sup> (COC).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H em acetona-*d*<sub>6</sub> apresentou sinais em 6,13 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), 6,99 ppm um dubleto (*J* 8,0 Hz) de integração um próton referente ao H-3 do anel benzênico, 7,37 ppm um dubleto (*J* 8,0 Hz) de integração um próton atribuído ao H-2 do anel benzênico, 7,38 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-6 do anel benzênico, 7,9 ppm um dubleto (*J* 13,5 Hz) de integração um próton atribuído ao H-7, 8,05 ppm um dubleto (*J* 13,5 Hz) de integração um próton atribuído ao H-8.

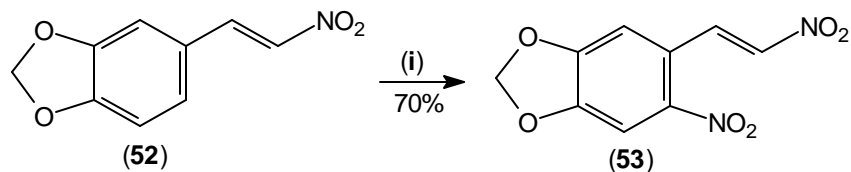
O espectro de RMN de <sup>13</sup>C em acetona-*d*<sub>6</sub> apresentou nove sinais na região de 102,5 a 151,3 ppm, que correspondem a nove átomos de carbono diferentes presentes na molécula. Em 102,5 ppm observou-se um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), 106,9 ppm um sinal relativo ao C-3 do anel benzênico, em 109,0 ppm um sinal relativo ao C-6 do anel benzênico, 124,1

ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-1 do anel benzênico, 126,6 ppm um sinal relativo ao C-2, 135,2 ppm um sinal relativo ao C-7, 139,0 ppm um sinal relativo ao C-8, 148,7 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-4 e 151,3 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-5.

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 193 ( $M^+$ , 100%), 146 (100%), 117 (20%), 89 (100%), 65 (26%), 63 (90%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado, para ( $C_9H_7NO_4$ ) análise calculada foi C, 55,96%; H, 3,65%; N, 7,26 %; e a encontrada: C, 55,74%; H, 3,67% e N, 7,26%; sendo estes valores muito próximos quando comparados entre si.

O o-nitro-3,4-metilenodioxib-nitroestireno (**53**) foi preparado a partir de (**52**) através de uma reação de nitração conforme demonstrado no **Esquema 25**. Uma mistura de ácido nítrico e ácido acético glacial resfriada a 5 °C foi gotejada sobre o composto (**52**). O produto formado foi purificado por recristalização em etanol, fornecendo (**53**) em 70% de rendimento e p.f 119-120 °C, estando concordante com dados descritos na literatura (121-122 °C).<sup>64</sup>



(i)  $HNO_3$ ,  $AcOH$ , 0 °C

### Esquema 25

O composto (**53**) foi caracterizado por análises no IV, RMN  $^1H$  e  $^{13}C$ , massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 1506 (CNO), 1324 (CNO)  $1270\text{ cm}^{-1}$  (COC).

O espectro de RMN  $^1H$  em acetona- $d_6$  apresentou sinais em 6,35 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 7,43 ppm um singlete de integração um próton referente ao H-6 do anel benzênico, 7,69 ppm um singlete de integração um próton

atribuído ao H-3 do anel benzênico, 7,91 ppm um dubleto ( $J$  13,4Hz) de integração um próton atribuído ao H-7, 8,49 ppm um dubleto ( $J$  13,4 Hz) de integração um próton atribuído ao H-8.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  em acetona- $d_6$  apresentou sete sinais na região de 105,6 a 153,7 ppm, e os outros dois carbonos não foram detectados na análise. Em 105,6 ppm observou-se um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxí (-OCH<sub>2</sub>O-), 106,9 ppm um sinal relativo ao C-3 do anel benzênico, em 108,9 ppm um sinal relativo ao C-6 do anel benzênico, 123,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-1 do anel benzênico, 136,3 ppm um sinal relativo ao C-7, 141,0 ppm um sinal relativo ao C-8, e 153,7 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário do C-5. Os sinais referentes aos C-2 e C-4 não foram detectados nesta análise.

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 238 ( $M^+$ , 15%), 162 (20%), 161 (25%), 136 (55%), 106 (45%), 78 (47%), 76 (70%) e 62 (100%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado, para ( $\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_6$ ) a análise calculada foi C, 45,39%; H, 2,53%; N, 11,76%; e a encontrada: C, 45,78%; H, 2,67% e N, 11,65%.

A metodologia alternativa que pode ser empregada para a obtenção do núcleo indólico não substituído é a ciclização redutiva, que envolve a redução parcial de um composto do tipo *o*,*b*-dinitroestireno.<sup>31, 56-59, 64, 83</sup>

Segundo a literatura, esta rota sintética depende de uma redução parcial do nitroetileno e a aromatização ocorre pela eliminação de amônia ou hidroxilamina. A redução parcial do nitroetileno pode ser realizada conforme diversos procedimentos descritos na literatura, como já mencionado anteriormente.<sup>31, 56-59</sup>

A metodologia da ciclização redutiva somente foi empregada com sucesso na preparação do 5,6-metilenodioxiiindol (**50**) após a otimização das condições experimentais. No **Esquema 26** estão representadas as condições empregadas na otimização da reação de ciclização redutiva.

Inicialmente, a ciclização redutiva foi realizada em ácido acético glacial e ferro em pó, conforme procedimento descrito na literatura por Dallacker e colaboradores.<sup>64</sup> O núcleo indólico foi obtido na forma de um sólido escuro, que

depois de isolado, foi purificado por cromatografia em coluna, fornecendo o composto (**50**) puro em baixo rendimento de 28%, apresentando p.f 109,2-109,9 °C, estando de acordo com o citado na literatura (p.f 108-110 °C).<sup>64, 83</sup>

Outra tentativa de ciclização reductiva empregando o *o*-nitro-3,4-metilenodioxib-nitroestireno foi refluxando-se uma mistura deste composto, com Pd/C como catalisador, etanol absoluto e ciclohexeno durante três horas.<sup>84</sup> O sólido escuro depois de isolado, foi purificado por cromatografia em coluna, fornecendo o indol (**50**) puro em baixo rendimento de 37%, apresentando p.f de 108,6-109,8 °C, estando de acordo com o citado na literatura (p.f 108-110 °C).<sup>64, 83</sup>

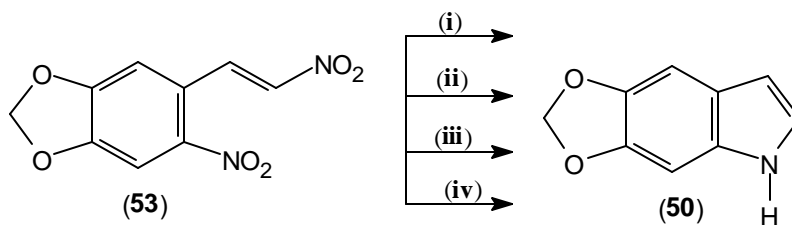
O núcleo indólico (**50**) também foi preparado a partir de uma mistura de (**53**), sílica gel 60 para cromatografia em coluna, ferro em pó, ácido acético glacial e tolueno. Esta mistura foi refluxada sob atmosfera de argônio durante duas horas. Depois de isolado, o sólido escuro obtido foi purificado através de várias lavagens com hexano a quente, formando o indol (**50**) puro em baixo rendimento de 21%, apresentando p.f 108,2-109,4 °C conforme o citado na literatura (p.f 108-110 °C).<sup>64, 83</sup>

De acordo com o procedimento descrito por Sinhababu e colaboradores,<sup>83</sup> o composto (**50**) finalmente foi obtido com sucesso e em bom rendimento (72%).

Nesta metodologia, o *o*,*b*-dinitroestireno (**53**) foi refluxado na presença de sílica gel 60 para cromatografia em coluna, ferro em pó, ácido acético glacial, benzeno e ciclo hexano durante duas horas sob atmosfera de nitrogênio. Depois de devidamente isolado, o sólido escuro formado foi purificado por diversas lavagens com hexano a quente, fornecendo o indol (**50**) puro em 72% de rendimento e p.f 108,7-109,2 °C, estando de acordo com o citado na literatura (p.f 108-110 °C).<sup>64, 83</sup>

Comparando-se as quatro condições reacionais diferentes empregadas na preparação do núcleo indólico (**50**), é possível afirmar que a descrita por Sinhababu e colaboradores foi a mais eficiente, pois ao utilizar esta metodologia, o indol foi obtido com rendimento de 72%, enquanto que as demais forneceram o produto esperado em 28, 37 e 21% de rendimento, respectivamente. Pode-se verificar que embora estas metodologias estejam descritas na literatura, o

composto **(50)** foi obtido em bom rendimento utilizando-se a rota **iv** do **Esquema 26**.<sup>58</sup>

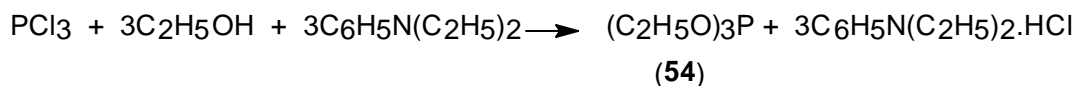


- (i) AcOH, Fe, refluxo, (28%);
- (ii) Pd/C 10%, EtOH absoluto, ciclo hexeno, refluxo, (37%)
- (iii) sílica gel 60, Fe, AcOH, tolueno, refluxo, Ar (21%);
- (iv) sílica gel 60, Fe, AcOH, benzeno, ciclo hexano, refluxo, N<sub>2</sub> (72%)

### Esquema 26

Na tentativa de obter o indol **(50)** com rendimentos acima de 72%, um método alternativo foi explorado. Esta metodologia, bastante vantajosa para gerar a espécie nitreno, é a deoxigenação de nitro compostos aromáticos na presença de um composto trivalente de fósforo. Em geral, emprega-se o trietilfosfito **(54)**.<sup>38-41</sup>

Inicialmente o trietilfosfito **(54)** foi preparado de acordo com o procedimento descrito na literatura,<sup>85</sup> no qual à uma solução (resfriada em banho de gelo) de etanol absoluto, *N,N*-dietilanilina recentemente destilada e éter de petróleo, foi gotejada uma solução de tricloreto de fósforo em éter de petróleo. Esta mistura foi refluxada suavemente durante uma hora. O produto foi isolado e purificado sob pressão reduzida, apresentando p.e de 115 °C a 85 mmHg (lit.<sup>85</sup> 156 °C 760 mmHg), cheiro adocicado, irritante e impregnante, conforme descrito na literatura.<sup>85</sup> Este não foi caracterizado por técnicas espectroscópicas (**Esquema 27**).



### Esquema 27



A ciclização foi realizada refluxando-se o composto **(53)** na presença de **(54)** durante seis horas sob atmosfera de nitrogênio. Embora o indol **(50)** não tenha sido detectado por cromatografia em camada delgada, depois de isolado, o sólido formado foi submetido a cromatografia em coluna na tentativa de separá-lo e purificá-lo. O material de partida foi recuperado em 90% de rendimento. Outras reações foram executadas alterando-se o tempo e a concentração dos reagentes. Portanto, após todas as tentativas, constatou-se que esta metodologia não foi eficiente para a obtenção do produto desejado.

Como não foi possível obter o indol empregando-se o trietilfosfito, a metodologia descrita por Sinhababu e colaboradores foi eleita como sendo a mais eficiente na preparação do núcleo indólico **(50)**, obtendo-se o composto em somente 3 etapas em 72% de rendimento. No método descrito por Sadanandan, Lown e colaboradores,<sup>50, 51</sup> o indol **(50)** foi obtido em maior rendimento (84%), mas após cinco etapas, duas a mais que no citado acima, e portanto sendo uma desvantagem deste quando comparado com o anterior.

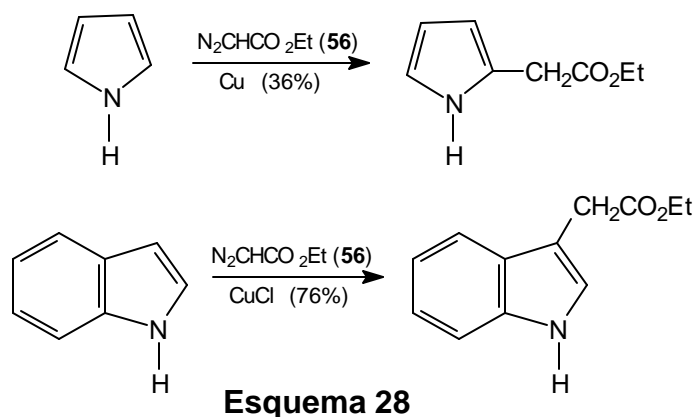
### **3.4 Síntese do Núcleo Metilenodioxindólico Substituído na Posição 3 do Anel Heterocíclico**

#### **3.4.1 Síntese do Ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-acético**

Com o intuito de sintetizar o ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-acético **(55)**, análogo mais próximo do ácido 3-indolacético **(1)**, empregaram-se metodologias clássicas de substituição do núcleo metilenodioxindol **(50)**.

A metodologia escolhida inicialmente para a síntese de **(55)**, baseou-se na utilização do diazoacetato de etila **(56)**. Sabe-se que pirróis e indóis reagem com ésteres diazoacéticos fornecendo compostos com uma cadeia lateral ácido acético (depois de hidrolisado) ligada as posições 2 (**a**-) ou 3 (**b**-).

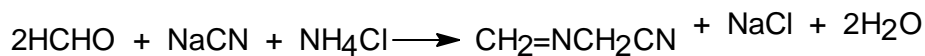
Os pirróis normalmente sofrem substituição fornecendo derivados 2- ou **a**-substituídos, quando esta posição está disponível, enquanto que os indóis fornecem produtos 3- ou **b**-substituídos (**Esquema 28**).<sup>86-88</sup>



Jackson e Manske investigaram a reatividade dos indóis na presença de diazoacetato de etila e cobre como catalisador, com o intuito de averiguar se os produtos dessas reações eram mesmo os derivados 3-substituídos inicialmente descobertos por Piccinini, ou se havia a possibilidade de derivados 2-substituídos serem também produtos destas reações. Eles verificaram que os derivados 2-substituídos realmente não eram formados, e que esta reação é um método excelente para preparar derivados indólicos substituídos na posição 3.<sup>87</sup>

Mais tarde, Badger e colaboradores também estudaram esta reação. No entanto, não utilizaram catálise, e verificaram os mesmos resultados encontrados por Jackson e Manske. Segundo Badger e colaboradores, o produto esperado desta reação seria o de adição, um ciclo propano e não um derivado 3-substituído. Eles deixaram claro, também, que a presença de cobre não afeta a reação. Estes estudos demonstraram que o ciclopropano pode ser um intermediário neste tipo de reação.<sup>88, 89</sup>

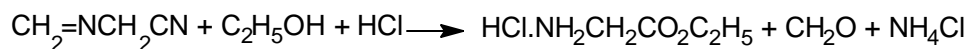
Embora o diazoacetato de etila (**56**) esteja disponível comercialmente, este foi sintetizado em três etapas de reação de acordo com o procedimento descrito na literatura.<sup>91-93</sup> Inicialmente, foi preparado o metilenoamino acetonitrila (**57**) a partir de uma mistura de formaldeído, cloreto de amônio, cianeto de sódio e ácido acético glacial. O sólido formado foi devidamente isolado, o produto final foi obtido em 30% de rendimento e apresentou p.f de 127,4 °C, estando de acordo com o citado na literatura (128-129 °C).<sup>90</sup> Este composto foi utilizado na próxima etapa de reação sem purificação prévia (**Esquema 29**).



(57)

### Esquema 29

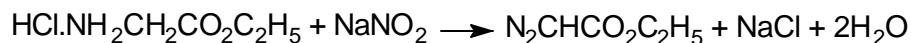
Na segunda etapa da reação foi preparado o éster hidrocloreto de etil glicina (58), refluxando-se o composto (57) na presença de etanol absoluto saturado com ácido clorídrico durante três horas. Depois de isolado, o sólido formado forneceu o produto final bruto em 55% de rendimento, que foi utilizado na próxima etapa reacional sem purificação prévia (Esquema 30). O composto (58) apresentou p.f de 141,3-142,6 °C, estando de acordo com o descrito na literatura (142-143 °C).<sup>92</sup>



(58)

### Esquema 30

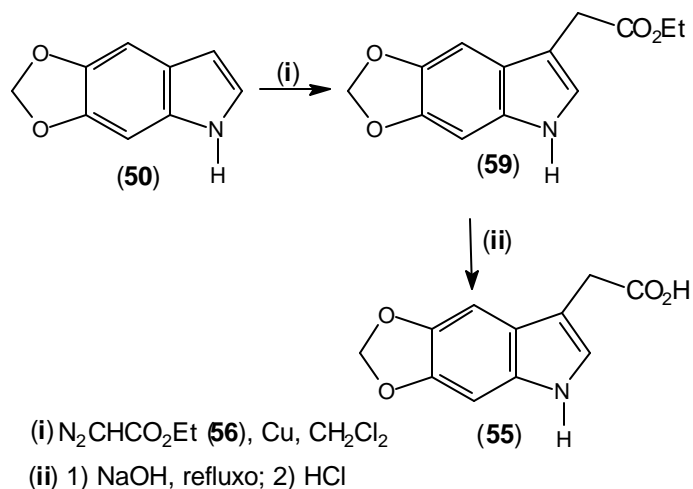
Finalmente o diazoacetato de etila (56) foi preparado partindo-se de uma mistura de (58), água, diclorometano resfriada a – 5 °C e gotejada à uma solução de nitrito de sódio em água e ácido sulfúrico. O produto formado foi devidamente isolado, fornecendo o composto (56) em 28% de rendimento. Este foi utilizado nas reações de alquilação do composto (50) sem purificação prévia, devido ao alto risco de explosão que apresenta quando aquecido. Por este motivo, não teve seu p.e determinado (Esquema 31).<sup>93</sup>



(56)

### Esquema 31

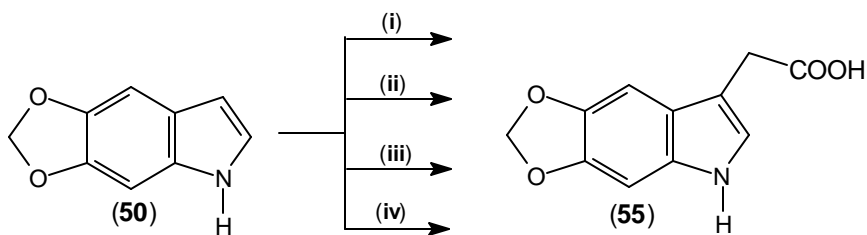
A rota sintética utilizada na preparação de **(55)** empregando-se azidoacetato de etila está representada no **Esquema 32**.



**Esquema 32**

À uma mistura do composto **(50)** e cobre em pó seco foi adicionada, muito lentamente, uma solução de **(56)** em diclorometano. A mistura depois de aquecida sob atmosfera inerte a 100 °C, foi cromatografada em coluna na tentativa de separar os compostos detectados previamente na cromatografia em camada delgada. No entanto, a tentativa foi realizada sem sucesso pois não foi possível separar os compostos presentes na mistura reacional. Acredita-se que parte do material sofreu decomposição na coluna cromatográfica.

Outras reações foram realizadas na tentativa de obter **(55)**, e estas estão representadas no **Esquema 33**.



- (i)  $\text{N}_2\text{CHCO}_2\text{Et}$  **(56)**,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , T. a.; (ii)  $\text{N}_2\text{CHCO}_2\text{Et}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , -5 °C;  
 (iii) 1.  $\text{N}_2\text{CHCO}_2\text{Et}$ , Cu, banho d'água, 2. refluxo 60 °C; (iv)  $\text{N}_2\text{CHCO}_2\text{Et}$ , Cu, refluxo

**Esquema 33**

Na tentativa (i), ao gotear o diazoacetato de etila em (50) houve escurecimento do meio reacional, provavelmente devido a decomposição de (56). No entanto, foi possível verificar que houve reação, embora o material de partida não tivesse sido totalmente consumido.

A adição de (56) na tentativa (ii), foi realizada a  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  para evitar a sua decomposição. Da mesma forma que em (i), houve reação com a formação de um sólido escuro, mas no entanto o material de partida não foi completamente consumido. Este sólido foi previamente cromatografado em coluna, e a fração que poderia ser o produto desejado foi caracterizada por análises no IV e RMN de  $^1\text{H}$ . Infelizmente, os espectros apresentavam vários sinais sobrepostos, estes impossíveis de serem analisados.

Já na tentativa (iii) a reação foi realizada na presença de cobre em pó como catalisador, e após a adição de (56) o banho de água foi removido e o meio reacional refluxado suavemente a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante duas horas. Nesta reação foi observado que o indol (50) também não foi completamente consumido, embora tenha sido detectado o aparecimento de várias manchas por cromatografia em camada delgada. Foram realizadas pelo menos quatro cromatografias em coluna, no intuito de separar os compostos presentes na mistura obtida. No entanto não foi possível fazer esta separação, pois sempre haviam frações com mais de um composto presente. Estas frações foram cromatografadas mais de uma vez, e todas sem sucesso.

A adição de (56) na tentativa (iv) foi realizada novamente sem resfriamento da solução. Foi observado o mesmo resultado obtido na reação anterior, ou seja por ccd foram detectadas várias manchas. O material de partida (50) não foi totalmente consumido, e a cromatografia em coluna não foi eficiente na separação dos compostos presentes na mistura final.

Apesar de todas as alterações executadas nas condições experimentais, utilização ou não de cobre em pó como catalisador e de todas as tentativas realizadas com o objetivo de separar os compostos presentes na mistura obtida, não foi possível preparar o análogo (55) do **AIA** empregando-se esta metodologia.

Inicialmente, postulou-se que poderia ter havido a polialquilação nas posições 2 e 3 do heterociclo, bem como no heteroátomo deste mesmo anel devido as várias manchas detectadas por ccd. Como já foi citado anteriormente,

existem relatados na literatura vários exemplos de indóis alquilados na posição 3, preparados empregando-se o diazoacetato de etila sem a polialquilação do material de partida.<sup>86-89</sup>

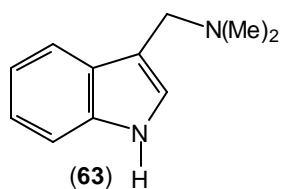
No entanto, o problema desta reação parece ser mesmo a utilização do reagente na forma bruta, sem purificação devido ao alto risco de explosão quando aquecido.

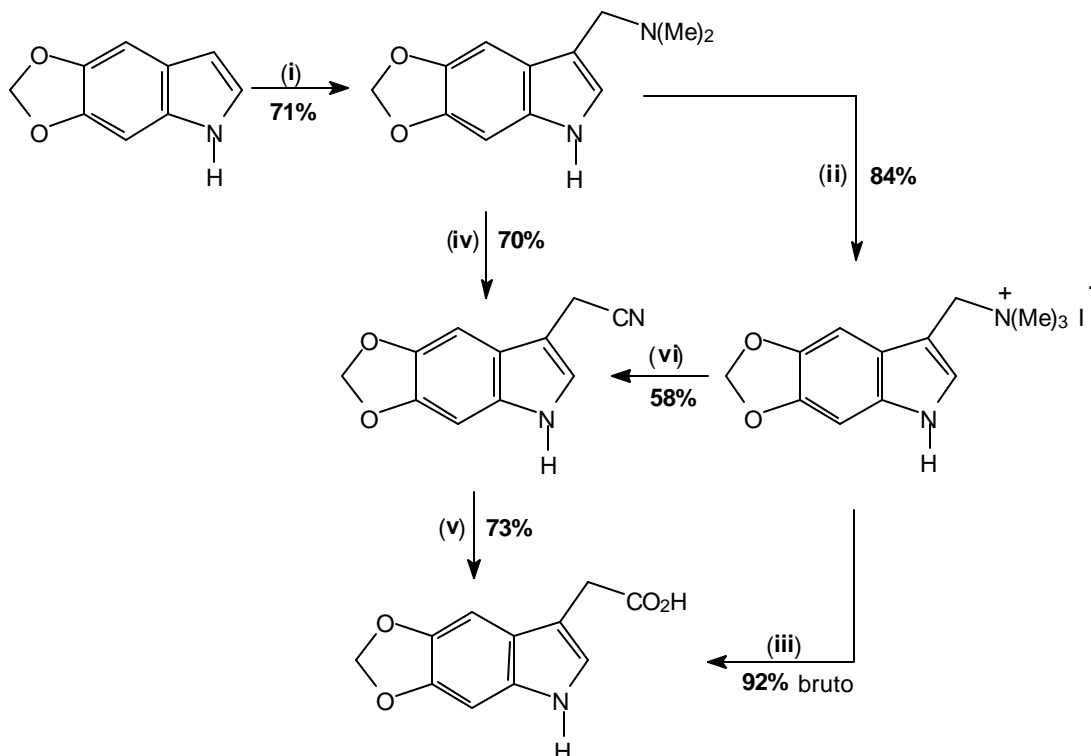
Como o ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-acético não foi obtido com sucesso através da alquilação direta de **(50)** na presença de **(56)**, empregou-se, por analogia estrutural, a mesma rota sintética utilizada na preparação do **AIA**, que consiste na utilização de reações clássicas descritas na literatura.<sup>93, 94</sup>

A primeira etapa da rota sintética representada no **Esquema 34** baseia-se na preparação do 5,6-metilenodioxi-3-(*N,N*-dimetilaminometileno)indol **(60)** utilizando condições da reação de Mannich, na qual ocorre inicialmente a formação do íon eletrofílico imínio ( $\text{H}_2\text{C}=\text{N}^+(\text{Me})_2$ ), através de uma reação entre o aldeído (formaldeído) e a amina (dimetilamina), que posteriormente reage com o indol através de uma substituição eletrofílica.

A reação de Mannich foi realizada a partir de uma mistura de dimetilamina, ácido acético e formaldeído vertida no indol **(50)** a 5 °C, formando um sólido escuro, quando uma solução de hidróxido de sódio foi adicionada à mistura reacional. O intermediário **(60)** foi obtido em 71% de rendimento apresentando p.f 128,7-130,0 °C com decomposição, e utilizado na próxima etapa de reação sem purificação prévia (**Esquema 34**).

A gramina **(63)**, importante constituinte da cevada, análoga ao composto **(60)** foi preparada empregando-se a mesma metodologia.<sup>95, 96</sup>





(i) HCHO, (Me)<sub>2</sub>NH, AcOH; (ii) EtOH, MeI; (iii) 1. AgNO<sub>3</sub>, KCN, H<sub>2</sub>O, refluxo, 2. KOH 20%, 3. HCl 2M  
 (iv) NaCN, MeOH, DMF, H<sub>2</sub>O, MeI; (v) 1. NaOH 20%, 2. HCl 2M; (vi) NaCN, MeOH, DMF, H<sub>2</sub>O

O intermediário (**60**) foi caracterizado por análises no IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou as bandas características em 1380 (NCH<sub>3</sub>), 1194 (COC) e 1098 cm<sup>-1</sup>(CNC).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H em acetona-*d*<sub>6</sub> forneceu sinais em 2,17 ppm um singlete de integração seis prótons referentes aos hidrogênios dos dois grupos metila (-CH<sub>3</sub>) ligados ao nitrogênio da cadeia lateral, 3,48 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metileno (-CH<sub>2</sub>) da cadeia lateral, 5,88 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 6,85 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 7,04 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 7,07 um singlete de integração um próton atribuído ao H-2 do anel heterocíclico e aproximadamente em 9,9-10,0 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  em acetona- $d_6$  apresentou nove sinais na região de 45,8 a 145,8 ppm e os outros dois carbonos não foram detectados na análise. Em 45,8 ppm um sinal relativo ao carbono dos dois grupos metilas ( $-\text{CH}_3$ ) da cadeia lateral, 69,7 ppm um sinal relativo ao grupo metileno ( $-\text{CH}_2$ ) da cadeia lateral, 93,1 ppm um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico, 99,2 ppm um sinal relativo ao C-4 do anel benzênico, 101,8 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxí ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 101,6 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-3 do anel benzênico, 123,8 ppm um sinal relativo ao C-2 do anel benzênico, 128,0 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-7a do anel benzênico, 145,8 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-6 do anel benzênico, os sinais referentes aos carbonos quaternários C-4a e C-5 não foram detectados nesta análise.

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 218 ( $\text{M}^+$ , 10%), 173 (100%), 88 (12%), 62 (25%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado, para ( $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ ) a análise calculada foi C, 66,03%; H, 6,46%; N, 12,83%; e a encontrada: C, 64,90%; H, 6,58% e N, 12,61%; sendo estes valores semelhantes quando comparados entre si. Embora a porcentagem de carbono encontrada seja menor do que a calculada, esta diferença pode estar relacionada com impurezas presentes no composto, já que este não foi purificado.

Dois rotas sintéticas foram exploradas para a preparação da molécula alvo (**55**), sendo o núcleo indólico (**50**) empregado como material de partida nos dois caminhos diferentes.

Inicialmente o composto (**60**) foi convertido no sal de amônio quaternário, o iodeto de 5,6-metilenodioxí-3-trimetilamôniometilenoindol (**61**), que é mais reativo do que o seu precursor. Este sal foi facilmente preparado através da adição de iodeto de metila à uma suspensão de (**60**) em etanol absoluto, sendo obtido em 84% de rendimento, e usado na próxima etapa da reação sem purificação prévia.

Nesta rota sintética, a molécula alvo (**55**) foi preparada de maneira direta na presença de uma solução aquosa de cianeto de prata e potássio, na qual o intermediário nitrila foi hidrolisado em hidróxido de potássio 20%, não sendo isolado previamente no estado puro e formando (**55**) por acidificação com ácido clorídrico 2M. Obteve-se o produto em 92% de rendimento. No entanto, as



tentativas de purificação por recristalização e em cromatografia em coluna não foram realizadas com sucesso provavelmente devido ao não isolamento da nitrila, acumulando dessa forma muitas impurezas. A molécula alvo na forma bruta, apresentou p.f 173,3-174,5 °C (**Esquema 34**).

Com o intuito de facilitar a purificação de (**55**), em um segundo caminho da rota sintética, a nitrila (**62**) foi preparada através da reação de substituição nucleofílica a partir de uma suspensão do sal de amônio quaternário (**61**), cianeto de sódio em metanol, dimetilformamida e água. O sólido formado por precipitação em água gelada foi devidamente isolado, seco, e purificado por cromatografia em coluna formando o 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acetonitrila (**62**) na forma de um sólido marrom em 58% de rendimento e apresentando p.f 145,2-146,5 °C (**Esquema 34**).

A nitrila (**62**) foi acessada também, a partir do gotejamento lento de iodeto de metila à uma suspensão do intermediário (**60**), cianeto de sódio em metanol, dimetilformamida e água. O produto foi obtido por precipitação quando a mistura reacional foi vertida em água gelada, isolado e purificado por cromatografia em coluna, fornecendo a nitrila na forma de um sólido acinzentado em 70% de rendimento e apresentando p.f 145,4-146,3 °C. Esta segunda metodologia empregada na preparação da nitrila, na qual o sal de amônio quaternário (**61**) não é isolado, foi mais eficiente, pois obteve-se o produto em maior rendimento, de maneira mais pura e economizando uma etapa de reação.

A nitrila (**62**) foi caracterizada por análises no IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 3416 (NH), 2240 (CN) e 1314 (COC)  $\text{cm}^{-1}$

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em acetona- $d_6$  apresentou sinais em 3,76 ppm um singleto de integração dois prótons referentes aos hidrogênios do grupo metileno (-CH<sub>2</sub>) da cadeia lateral, 5,96 ppm um singleto de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 6,84 ppm um singleto de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 6,94 ppm um singleto de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 7,10 um singleto de integração um próton atribuído ao H-2 do anel heterocíclico e

aproximadamente em 8,02 ppm um singleto de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH) do anel heterocíclico.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  em acetona- $d_6$  apresentou dez sinais na região de 14,5 a 146,3 ppm, sendo que o sinal responsável pelo C-7a não foi detectado na análise. Em 14,5 ppm um sinal relativo ao grupo metileno (-CH<sub>2</sub>) da cadeia lateral, 93,5 ppm um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico, 97,8 ppm um sinal relativo ao C-4 do anel benzênico, 101,8 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 106,0 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-3 do anel benzênico, 123,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-4a do anel benzênico, 123,3 ppm um sinal relativo ao C-2 do anel benzênico, 144,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-6 do anel benzênico, 146,3 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-5 do anel benzênico.

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 200 (M<sup>+</sup>, 100%), 174 (%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado, para (C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a análise calculada foi C, 65,99%; H, 4,02%; N, 13,99%; e a encontrada: C, 65,50%; H, 4,11% e N, 13,65%.

Na segunda rota sintética escolhida para a preparação da molécula alvo (**55**), empregou-se a nitrila (**62**) purificada como precursor. Nesta etapa, a nitrila foi hidrolisada sob refluxo com hidróxido de sódio 20%, sendo o ácido obtido por meio de acidificação em ácido clorídrico 2M. O sólido escuro formado foi purificado por recristalização em água, fornecendo o produto na forma cristalina em 73% de rendimento e apresentando p.f 176,0-176,6 °C (**Esquema 34**).

Embora nesta rota sintética, a molécula alvo (**55**) tenha sido obtida em menor rendimento (73%) quando comparada com o da primeira (93%), esta última ainda foi mais eficiente pois o produto da hidrólise pode ser purificado sem problemas por recristalização.

O ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (**55**) foi caracterizado por análises no IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 3400 (NH), 2908 (OH), 1698 (CO) e 1320 cm<sup>-1</sup> (COC).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em acetona- $d_6$  (**Espectro 1** - anexos) apresentou sinais em 3,66 ppm um singlete de integração dois prótons referente aos hidrogênios do grupo metileno ( $-\text{CH}_2$ ) da cadeia lateral, 5,89 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxí ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,86 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 7,01 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 7,12 um singlete de integração um próton atribuído ao H-2 do anel heterocíclico e 9,92 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH) do anel heterocíclico.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  em acetona- $d_6$  (**Espectro 2** - anexos) apresentou onze sinais na região de 31,59 a 173,3 ppm. Em 31,59 ppm um sinal relativo ao grupo metileno ( $-\text{CH}_2$ ) da cadeia lateral, 92,8 ppm um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico, 98,2 ppm um sinal relativo ao C-4 do anel benzênico, 101,1 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxí ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 109,2 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-3 do anel benzênico, 122,4 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-4a do anel benzênico, 123,0 ppm um sinal relativo ao C-2 do anel benzênico, 132,3 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-7a do anel benzênico, 143,4 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-6 do anel benzênico, 145,5 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-5 do anel benzênico e 173,3 ppm um sinal relativo ao carbono da carbonila do grupo funcional ( $\text{CO}_2\text{H}$ ).

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 219 ( $\text{M}^+$ , 60%), 174 (100%).

A análise elementar apresentou o seguinte resultado, para ( $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_4$ ) a análise calculada foi C, 60,27%; H, 4,13%; N, 6,39%; e a encontrada: C, 60,58%; H, 4,67% e N, 6,36%; sendo que estes valores são bastante próximos quando comparados entre si.

Todos os dados obtidos nas análises espectrométricas e espectroscópicas foram condizentes com a estrutura proposta.

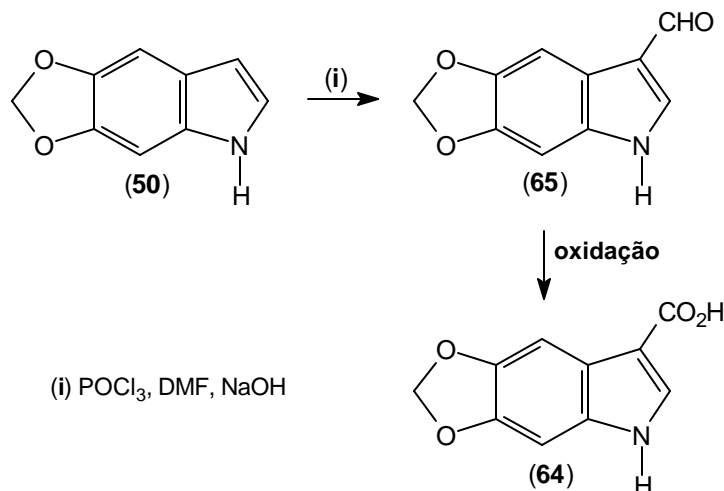
### 3.4.2 Proposta de síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-metanóico

A síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-metanóico (**64**) é de grande importância, já que seu análogo o ácido indol-3-metanóico apresenta atividade reguladora de crescimento vegetal.<sup>4</sup>

A reação de Vilsmeier-Haack é um método bastante utilizado na formilação de anéis aromáticos, e baseia-se no emprego de tricloreto de fosforila e *N,N*-dimetilformamida como agente de formilação.<sup>97</sup>

Na preparação do aldeído (**65**) esta metodologia foi explorada com sucesso, sendo este aldeído um precursor importante na obtenção de (**64**) por meio de sua oxidação.

O aldeído (**65**) foi preparado a partir de uma solução do núcleo indólico (**50**) em *N,N*-dimetilformamida, adicionada à uma mistura resfriada de *N,N*-dimetilformamida, tricloreto de fosforila a 10-20 °C. O sólido formado após a mistura reacional ser vertida em gelo picado e tratada com hidróxido de sódio, foi filtrado, lavado com água gelada e purificado por cromatografia em coluna, obtendo-se o 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-formaldeído (**65**) em 74% de rendimento, apresentando p.f 222,2 °C com decomposição da amostra (**Esquema 35**).



**Esquema 35**

O aldeído foi caracterizado por análises no IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , massas e análise elementar.

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características em 3194 (NH), 2886 (CH) 1632 (CO) e  $1294\text{ cm}^{-1}$  (COC).

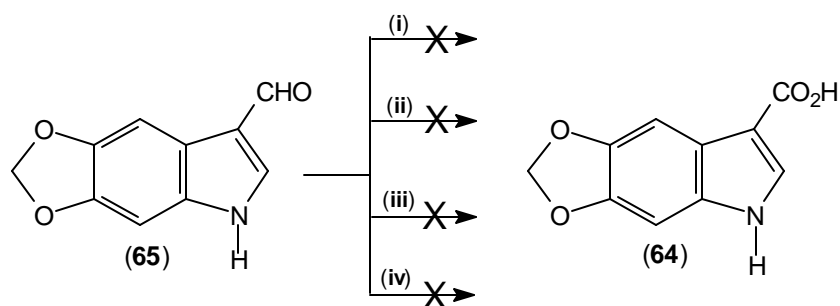
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  apresentou sinais em 5,99 ppm um singlete de integração dois prótons atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 7,01 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-7 do anel benzênico, 7,6 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-4 do anel benzênico, 8,01 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao H-2 do anel heterocíclico e 9,93 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo amino (NH) do anel heterocíclico e aproximadamente em 11,0 ppm um singlete de integração um próton atribuído ao hidrogênio do grupo aldeído (CHO).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  apresentou dez sinais na região de 93,66 a 185,24 ppm. Em 93,6 ppm um sinal relativo ao C-7 do anel benzênico, 100,6 ppm um sinal relativo ao C-4 do anel benzênico, 101,8 ppm um sinal relativo ao carbono do grupo metilenodioxo (-OCH<sub>2</sub>O-), 119,5 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-3 do anel benzênico, 120,3 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-4a do anel benzênico, 136,3 ppm um sinal relativo ao C-2 do anel benzênico, 133,1 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-7a do anel benzênico, 145,7 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-6 do anel benzênico, 146,8 ppm um sinal relativo ao carbono quaternário C-5 do anel benzênico e 185,2 ppm um sinal relativo ao carbono da carbonila do grupo funcional aldeído (CHO).

O espectro de massas forneceu como principais fragmentações os picos em 189 ( $\text{M}^+$ , 100%), 76 (13%), 76 (33%) 50 (30%).

A análise elementar forneceu o seguinte resultado, para ( $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_3$ ) a análise calculada foi C, 63,49%; H, 3,72%; N, 7,40%; e a encontrada: C, 65,10%; H, 3,82% e N, 7,54%, sendo que estes valores são bastante próximos quando comparados entre si.

Com o objetivo de sintetizar o ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-metanóico (**64**), foram realizadas várias tentativas de oxidação do aldeído (**65**) **Esquema 36**.



(i)  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{CO}(\text{Me})_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ; (ii)  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , t. a.;  
 (iii)  $\text{Bu}_4\text{NMnO}_4$ , benzeno, t. a.; (iv)  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{CO}(\text{Me})_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , refluxo

### Esquema 36

Inicialmente preparou-se o permanganato de tetrabutilamônio, utilizado como agente oxidante na tentativa (ii). Este reagente foi obtido facilmente em 90% de rendimento, conforme procedimento descrito na literatura apresentando p.f de  $125\text{ }^\circ\text{C}$  com decomposição, condizente com o da literatura ( $127\text{-}129\text{ }^\circ\text{C}$  - decomposição).<sup>98</sup>

Surpreendentemente, todas as tentativas de oxidação representadas no **Esquema 36** com suas devidas modificações, foram realizadas sem sucesso. Em todas as reações o aldeído (65) empregado como material de partida foi recuperado aproximadamente em 90%.

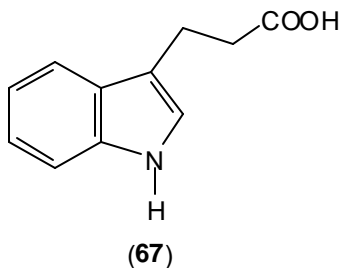
Os resultados destas reações realmente chamam a atenção, já que estes procedimentos são geralmente empregados para oxidar grupos aldeídicos presentes em compostos aromáticos a ácidos carboxílicos em bons rendimentos.

99, 100

Até o presente momento, não foi possível detectar as causas dos problemas apresentados nas reações de oxidação. Desta forma torna-se evidente a importância de ampliar estes estudos, priorizando a otimização das metodologias já utilizadas e/ou buscando novas alternativas de reação.

### 3.4.3 Proposta de síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-propiónico

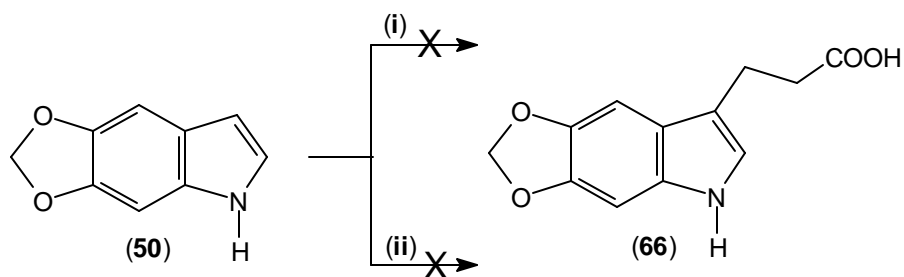
A síntese do ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-propiónico (**66**) é de grande importância, já que seu análogo o ácido indol-3-il-propiónico (**67**) apresenta atividade reguladora de crescimento vegetal.<sup>4</sup>



Dois estratégias sintéticas diferentes foram empregadas no intuito de preparar o composto (**66**), conforme representado no **Esquema 37**.

A primeira estratégia (i) baseia-se na reação do núcleo indólico (**50**) e ácido acrílico, um método bastante utilizado na preparação de (**67**) e seus derivados.<sup>101</sup> Nesta metodologia, uma solução de 5,6-metilenodioxi-indol (**50**) em ácido acético, contendo anidrido acético e ácido acrílico foi aquecida a 90 °C durante três horas, formando um líquido viscoso e escuro. Ao líquido formado foi adicionado a uma solução de hidróxido de sódio, formando-se assim, um sólido insolúvel que foi removido por filtração, sendo o filtrado acidificado com ácido clorídrico concentrado, fornecendo um sólido escuro em 93% de rendimento bruto após isolamento (**Esquema 37**).

Com base na técnica de c.c.d. que foi utilizada no acompanhamento da reação, foi possível afirmar que houve reação, pois o material de partida (**50**) foi completamente consumido. Entretanto, as duas tentativas de purificação do produto obtido (recristalização e cromatografia em coluna) foram realizadas sem sucesso, ficando dessa forma, inviável a caracterização do mesmo.

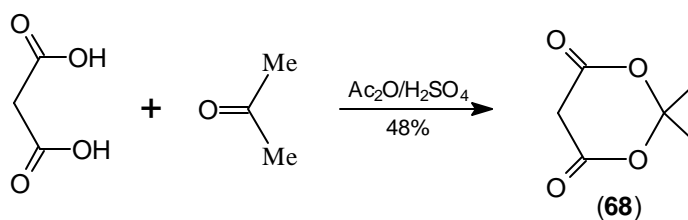


- (i)  $\text{CH}_2=\text{CHCO}_2\text{H}$ ,  $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ , AcOH, 90 °C, NaOH 3,6M, HCl 37%.  
(ii) 1) HCHO, ácido de Meldrum (**68**),  $\text{CH}_3\text{CN}$ , t a., 2) EtOH, piridina, Cu, refluxo.

### Esquema 37

A segunda estratégia sintética (ii) consistiu em uma condensação tipo Mannich, na qual três diferentes compostos, o ácido de Meldrum (**68**), formaldeído e indol são condensados simultaneamente, e posteriormente descarboxilado. Esta estratégia sintética é bastante utilizada na preparação de ésteres indólicos com atividade biológica e seus respectivos ácidos, bem como na obtenção de (**67**).<sup>102-107</sup>

Inicialmente o ácido de Meldrum (**68**), foi preparado adicionando-se acetona à uma suspensão de ácido malônico em anidrido acético acidificada com ácido sulfúrico concentrado. Depois de vinte e quatro horas de repouso em refrigerador, os cristais formados foram filtrados, lavados com água e purificados por recristalização, fornecendo o produto puro em 48% de rendimento, apresentando p.f 90-92 °C, condizente com o citado na literatura 94-95 °C (**Esquema 38**).<sup>108</sup>



Esquema 38



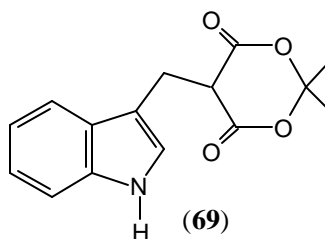
O composto (**68**) foi caracterizado pelas técnicas de IV e RNM  $^1\text{H}$ .

O espectro no IV (KBr) apresentou bandas características nas regiões de 1731,4 (CO) e 1286,4  $\text{cm}^{-1}$  (COC).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  forneceu sinais em 1,77 ppm um singleto de integração seis prótons atribuído aos hidrogênios das duas metilas, 3,61 ppm um singleto de integração dois prótons atribuídos ao grupo metileno ( $-\text{CH}_2-$ ).

Na metodologia (ii) uma mistura de (**68**), núcleo indólico (**50**), formaldeído e prolina (catalisador) em acetonitrila foi agitada por vinte e quatro horas a temperatura ambiente. Houve formação de um sólido escuro, que em uma tentativa de purificá-lo foi solubilizado em metanol e sua precipitação induzida pela adição de água. No acompanhamento da reação foi utilizada a técnica de ccd, sendo observado que houve reação, embora o material de partida (**50**) não tenha sido totalmente consumido. A tentativa de purificação do sólido formado foi realizada sem sucesso, pois as manchas observadas por ccd foram idênticas para o sólido bruto e “purificado”. Nesta rota, o problema parece estar no isolamento e purificação do produto formado, embora não tenha sido possível afirmar que o sólido obtido foi o composto esperado (**66**). Esta rota deve ter suas condições experimentais revisadas, pois para o intermediário (**69**) a literatura cita dois p.f diferentes (106-108  $^\circ\text{C}$  e 119-122  $^\circ\text{C}$ ), <sup>102, 103</sup> sendo ainda que, este mesmo composto apresentou um terceiro p.f (159-159,2  $^\circ\text{C}$ ) quando obtido neste estudo, para a avaliação do procedimento.

Devido a estas observações, é evidente a importância da busca de soluções para o problema apresentado, priorizando desta forma a otimização das condições experimentais empregadas, bem como a exploração de novas alternativas para a preparação de (**66**).



### 3.5 Avaliação de Atividade Reguladora de Crescimento Vegetal

Os eventos fisiológicos de crescimento e desenvolvimento que ocorrem nos vegetais representam um processo integrado, complexo e pouco conhecido, havendo entretanto, uma estreita relação desses eventos com a ação de substâncias conhecidas como hormônios vegetais.<sup>4</sup>

Conforme citado anteriormente, inúmeros compostos sintéticos reproduzem os efeitos dos hormônios vegetais, dentre eles destacam-se os ácidos indol-3-il-butírico (**AIB, 11**) e o 2,4-diclorofenoxiacético (**2,4-D, 14**), pertencentes a classe das auxinas, sendo o ácido indol-3-il-acético (**AIA, 1**) o seu representante natural mais importante.<sup>2</sup>

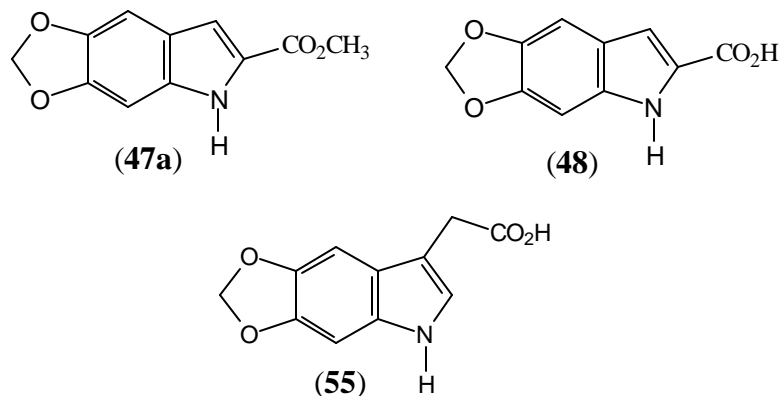
Na agricultura a utilização de compostos análogos ao **AIA** constitui uma prática rentável e bastante difundida, encontrando também grande aplicação no âmbito da biotecnologia vegetal.<sup>5</sup> Devido a ampla aplicação dos hormônios vegetais, bem como a reconhecida vocação agrícola brasileira, tornou-se evidente a importância do estudo da atividade biológica dos compostos indólicos sintetizados, visando a avaliação da propriedade reguladora de crescimento vegetal.

Todos os testes realizados na determinação da atividade reguladora de crescimento vegetal foram específicos para auxinas, com o objetivo de avaliar se os compostos testados pertencem ou não à essa classe.

### 3.5.1 Promoção de Crescimento de radículas de *Lactuca sativa* e *Sorgum bicolor*

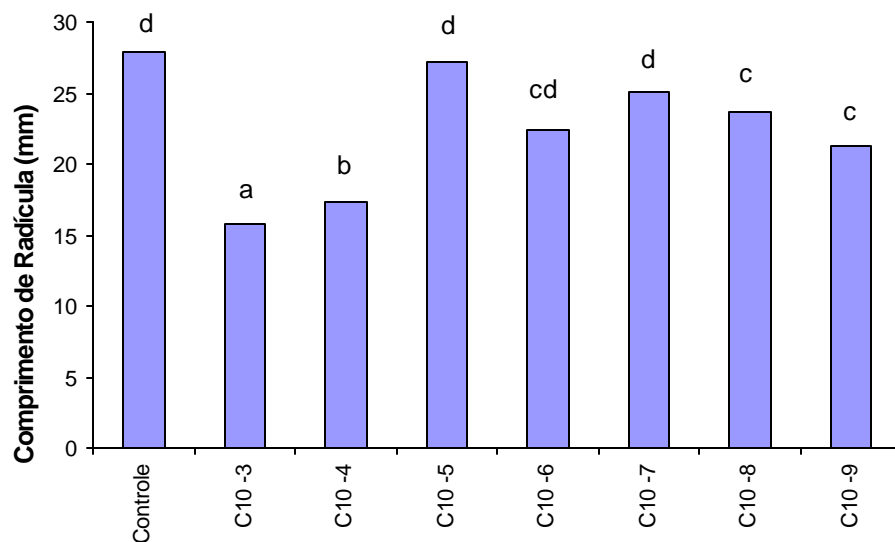
A avaliação da promoção de crescimento de radícula foi realizada através de ensaios biológicos “*in vitro*”, e baseia-se na medida do comprimento das radículas.

Os ensaios foram conduzidos com sementes de *Lactuca sativa* variedade Grand Rapids (alface crespa) e *Sorgum bicolor* (sorgo) com os compostos **47a**, **48** e **55**.



No ensaio conduzido com o composto **(47a)** não foi observado nenhum efeito de estimulação de crescimento radicular, pois as medidas de comprimento radicular foram menores estatisticamente em todas as concentrações quando comparadas com o ensaio controle (**Figura 5**), (dados estatísticos apresentados na **Tabela 2** em anexo).

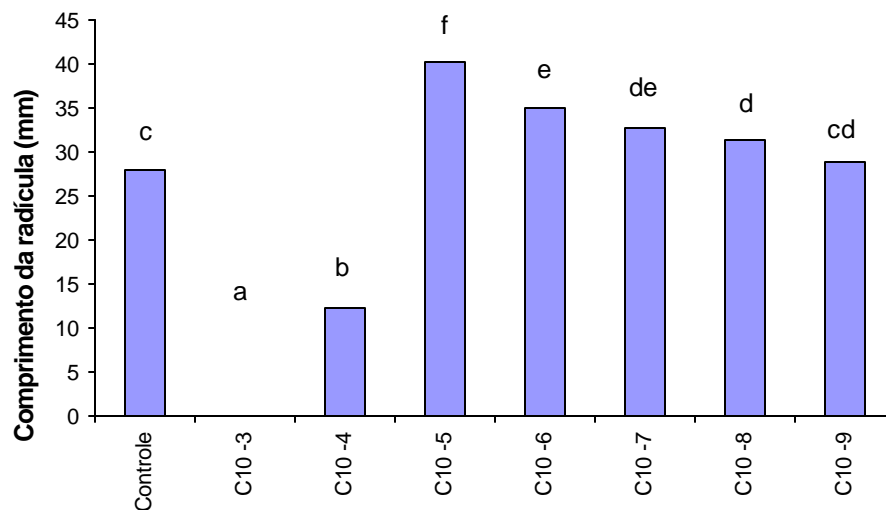
Pelo fato deste composto não ter apresentado atividade em sementes *L. sativa* variedade Grand Rapids (alface crespa) no ensaio que é utilizado para uma avaliação inicial da atividade, este não foi empregado nos ensaios específicos.



**Figura 5:** Efeito do 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-carboxilato de metila (**47a**) no crescimento radicular de *L. sativa*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A **Figura 6** (dados estatísticos apresentados na **Tabela 3** em anexo), mostra que nos ensaios de crescimento de radícula de *L. sativa*, o ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (**48**) nas concentrações de  $10^{-5}$  a  $10^{-8}$  M apresentou atividade, estimulando o crescimento radicular, atingindo um valor máximo a  $10^{-5}$  M.

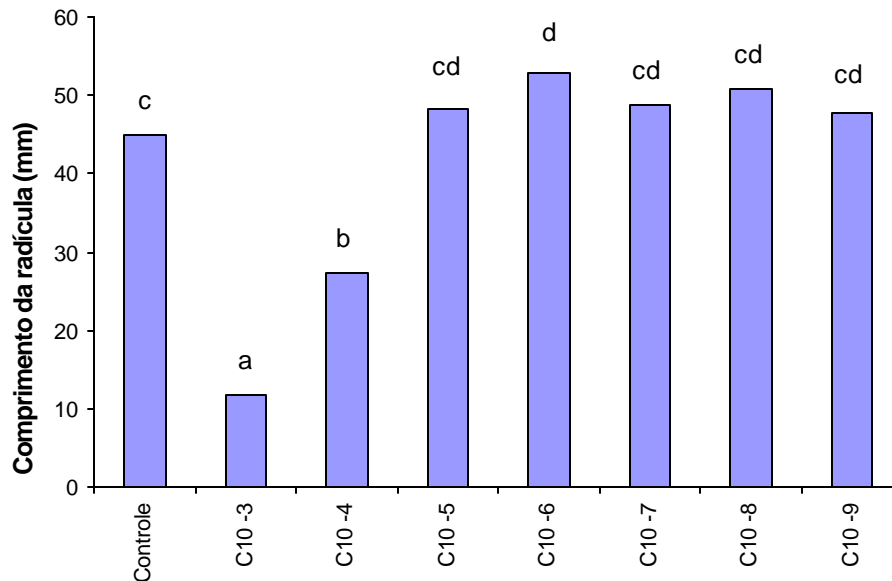
Entretanto, as concentrações de  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  M foram inibidoras do crescimento radicular, sendo que na concentração de  $10^{-3}$  M as sementes germinaram e necrosaram.



**Figura 6:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-metanóico (**48**) no crescimento radicular de *L. sativa*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

Como o composto (**48**) apresentou atividade de estimulação no crescimento de radícula em sementes de alface, este ensaio foi realizado também em sementes de sorgo.

Na **Figura 7** (dados estatísticos apresentados na **Tabela 4** em anexo), observa-se que as concentrações de  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  M demonstraram forte inibição no crescimento radicular, sendo que à  $10^{-3}$  M o comprimento da radícula foi o menor observado. A concentração de  $10^{-6}$  M promoveu o crescimento radicular máximo do sorgo.



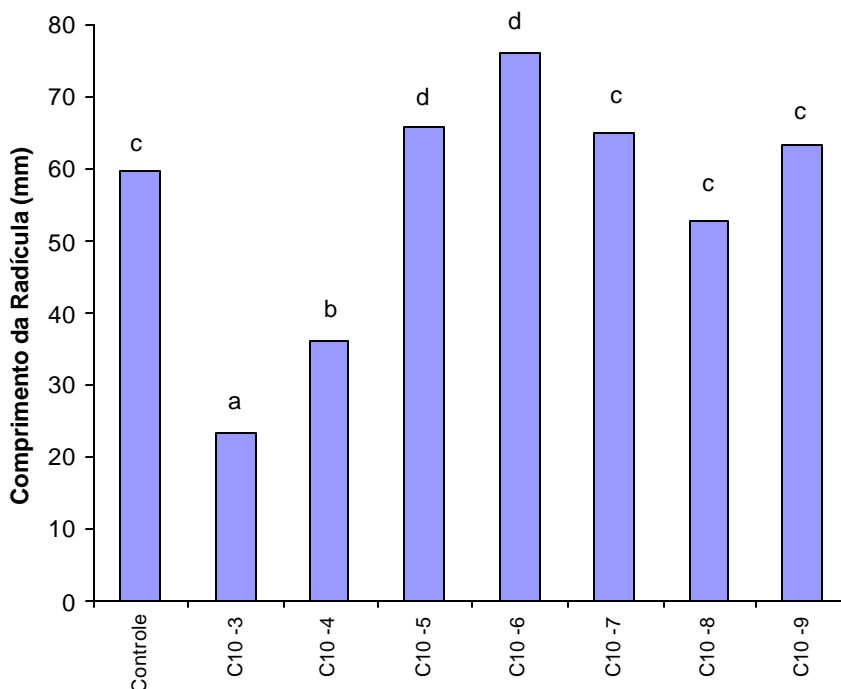
**Figura 7:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) no crescimento radicular de *S. bicolor*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A **Figura 8** ilustra os resultados apresentados na **Figura 7**, onde é possível observar a diferença expressiva nos comprimentos das radículas nas concentrações de  $10^{-6}$ ,  $10^{-3}$  M e no ensaio controle, respectivamente.



**Figura 8:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) nas concentrações de  $10^{-6}$ ,  $10^{-3}$  M e ensaio controle, respectivamente, no crescimento radicular de *S. bicolor*.

A **Figura 9** (dados estatísticos apresentados na **Tabela 5** em anexo), mostra que os ensaios de crescimento radicular com o composto **(55)** em semente de *S. bicolor* demonstraram que nas concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M houve estimulação no crescimento radicular. Entretanto, as concentrações de  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  M inibiram o desenvolvimento da radícula, sendo que a  $10^{-3}$  M a atividade inibidora foi bastante expressiva.



**Figura 9:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético **(55)** no crescimento radicular de *S. bicolor*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

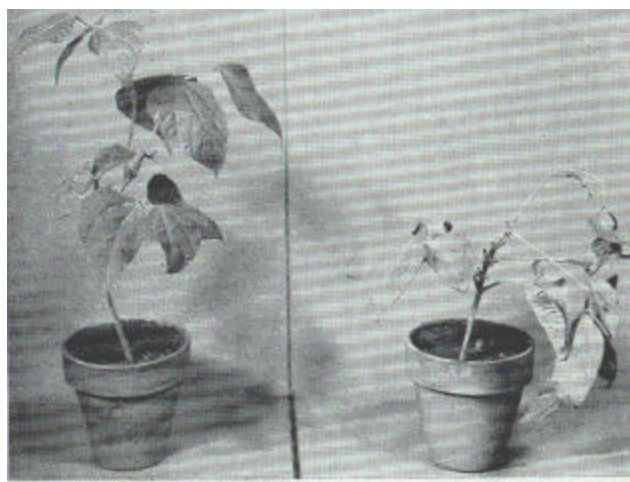
O estudo do efeito do composto **(55)** no crescimento de radículas de *L. sativa* ficou prejudicado, pois as sementes de 5 lotes diferentes não apresentaram desenvolvimento radicular, embora o hipocótilo tenha crescido.

Com base nos resultados apresentados empregando-se os compostos **(48)** e **(55)** observou-se que estes apresentaram forte estimulação no crescimento radicular em sementes de *L. sativa* e *S. bicolor* nas concentrações de  $10^{-5}$  e

$10^{-6}$  M. Entretanto, as concentrações de  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  M inibiram o crescimento radicular.

Estes dados estão de acordo com os da literatura, onde é relatado que as auxinas em altas concentrações causam inibição do crescimento radicular.

Investigações realizadas no Instituto Boyce Thompson de Nova York por volta de 1940 estabeleceram que o **2,4-D (14)** em altas concentrações e algumas outras auxinas sintéticas são eficazes como herbicidas (**Figura 10**). A popularidade destes compostos se baseia na elevada fitotoxicidade, baixo custo e seletividade, já que afetam somente ervas daninhas dicotiledôneas.<sup>5, 109, 110</sup>



**Figura 10:** Ação herbicida do **2,4-D (14)** em plantas de *Phaseolus vulgaris* (feijão). Esquerda: planta normal; direita: planta tratada.

### 3.5.2 Indução de Enraizamento Caulinar

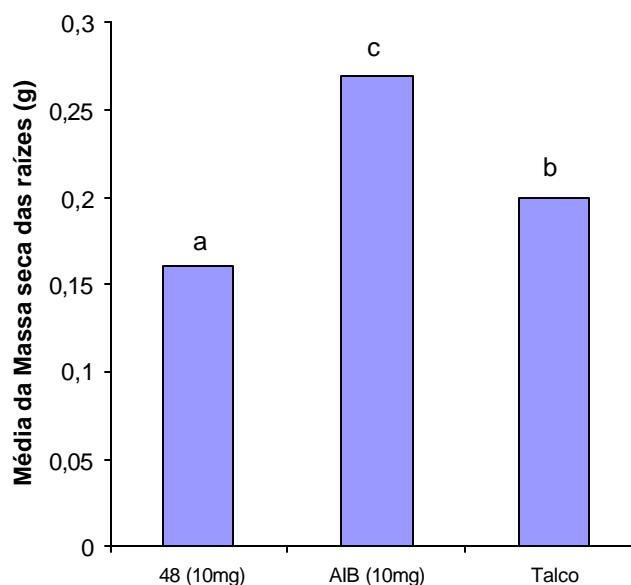
A avaliação da indução de enraizamento caulinar foi realizada através de ensaios biológicos “*in vivo*”, e baseia-se na determinação da massa seca das raízes produzidas.

Neste ensaio foram utilizadas estacas caulinares de *Malvaviscus arboreus*, na presença dos compostos **(48)** e **(55)** na concentração de 10mg/g de talco, **AIB (11)** na mesma concentração como padrão e talco puro de uso medicinal como controle.



O composto **(48)** foi testado no inverno, durante os meses de julho a setembro.

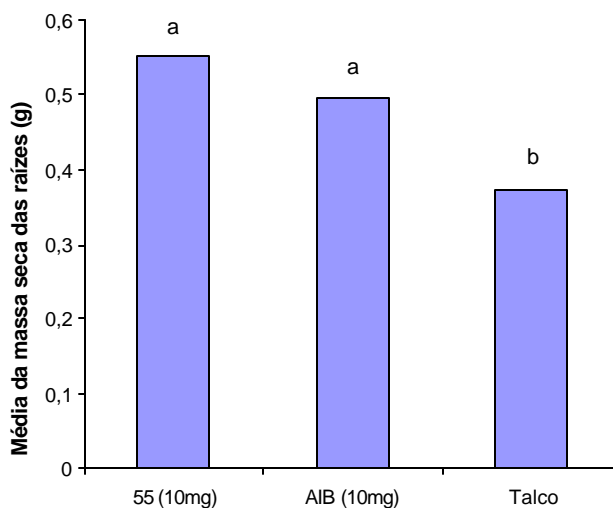
Neste ensaio morreram seis estacas na presença de **(48)**, uma na presença do **AIB** e duas no controle. O enraizamento caulinar com **(48)** foi inferior ao padrão **AIB** e ao controle (**Figura 11**, dados estatísticos apresentados na **Tabela 6** em anexo).



**Figura 11:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-metanóico (**48**) na indução de enraizamento caulinar em estacas de *M. arboreus*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas de acordo com os intervalos de confiança das médias.

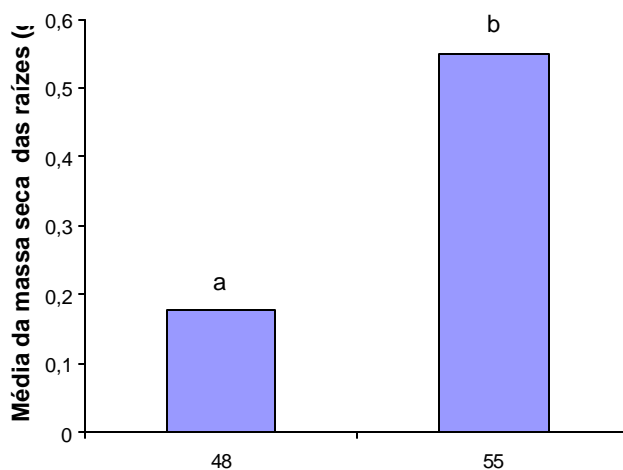
O composto **(55)** foi testado na primavera, durante os meses de outubro a dezembro. O efeito induzido por este composto foi mais pronunciado demonstrando atividade semelhante ao padrão **AIB** e superior ao controle na promoção de raízes, conforme ilustrado na **Figura 12**, (dados estatísticos apresentados na **Tabela 7** em anexo).

Embora os resultados não tenham apresentado diferença estatística em relação ao **AIB** houve uma forte tendência na promoção de enraizamento com o composto **(55)**.



**Figura 12:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**) na indução de enraizamento caulinar em estacas de *M. arboreus*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas de acordo com os intervalos de confiança das médias.

A **Figura 13** ilustra a comparação feita entre os resultados obtidos nos ensaios conduzidos com os compostos (**48**) e (**55**).



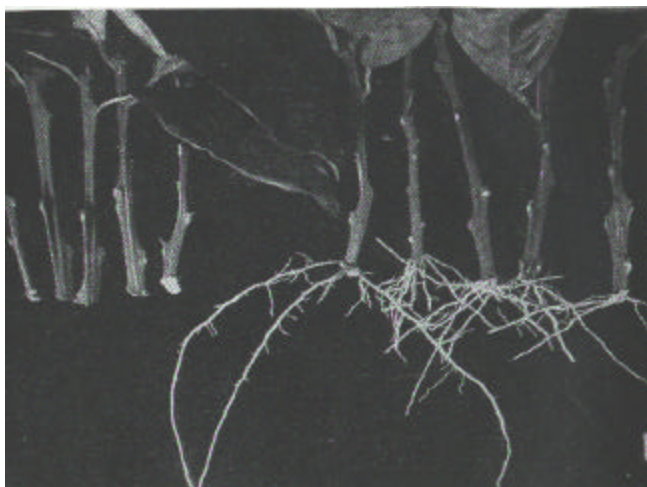
**Figura 13:** Efeito dos ácidos (**48**) e (**55**) na indução de enraizamento caulinar em estacas de *M. arboreus*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas de acordo com os intervalos de confiança das médias.

**Aparentemente, a primavera foi mais favorável na realização deste ensaio, pois não foi observada a morte de nenhuma estaca, enquanto que no inverno nove morreram, considerando todos os tratamentos.**

Até o presente momento não se pode afirmar qual dos dois compostos foi o mais ativo na indução do enraizamento caulinar, pois para o ensaio com o composto (48) muitas estacas não sobreviveram, ficando difícil uma comparação precisa. Assim, fica evidente a importância da realização de novos ensaios, em todas as estações do ano, para verificar se de fato existe a dependência sazonal ou se o composto (55) é realmente o mais ativo.

Este ensaio sugere a possibilidade do uso desse composto como indutor de enraizamento caulinar. No entanto, torna-se necessário o seu teste com outras espécies vegetais. <sup>110, 111</sup>

As auxinas comumente usadas para induzir o enraizamento são **AIB (11)** e **ANA (13)**, ambas sintéticas e com a vantagem de serem mais estáveis na planta (**Figura 14**).



**Figura 14:** Produção de raízes em estacas de limoeiro tratadas com ácido indol-3-il-acético.

Como foi observado nos ensaios descritos acima, o sucesso do enraizamento não depende apenas da auxina. Devem ser levados em consideração outros fatores, como idade da estaca (juvenil, madura), presença de folhas, época do ano, composição do meio de enraizamento e grau de umidade,

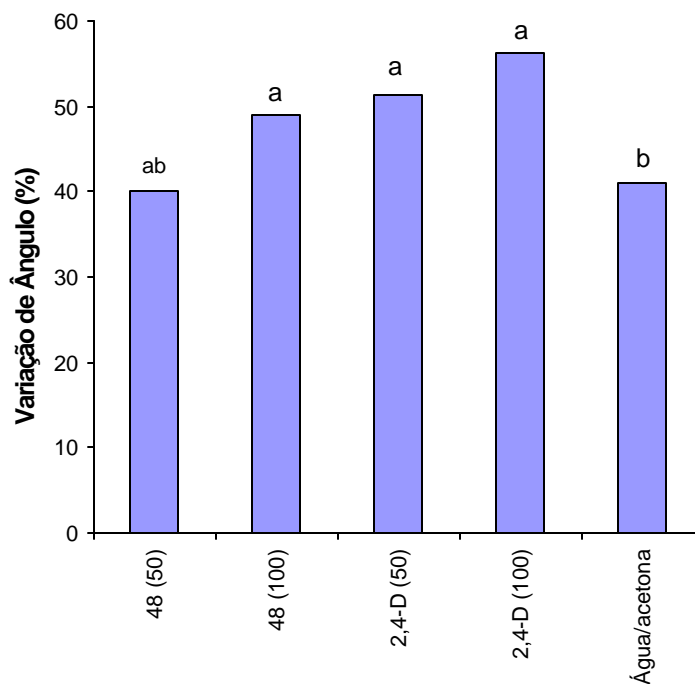
bem como a concentração de auxina para a estaca em estudo. O uso de altas concentrações de auxinas pode induzir a uma formação abundante de raízes, mas pode também inibir o crescimento posterior tanto das raízes como do próprio caule.

### 3.5.3 Bioteste de Pecíolos em *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem)

A avaliação do bioteste de pecíolos foi realizada através de ensaios biológicos “*in vitro*”, e baseia-se na determinação da porcentagem de variação entre os ângulos dos pecíolos.

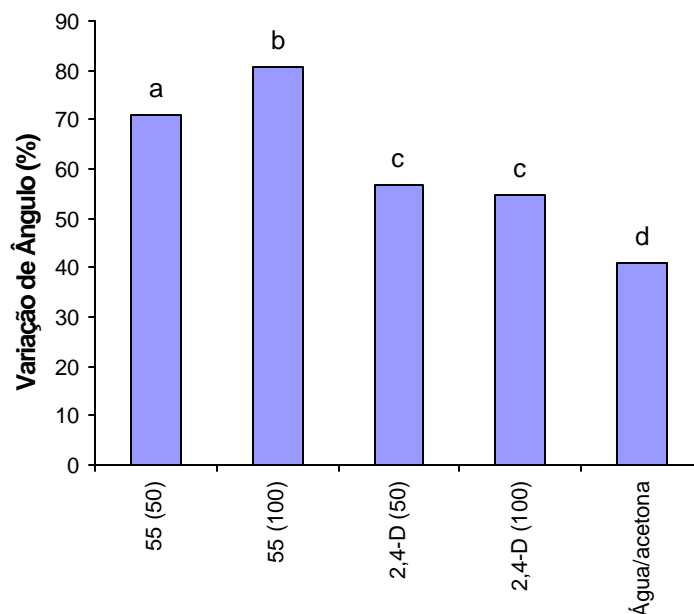
Neste ensaio foram utilizados caules de *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem) na presença de soluções dos compostos (48) e (55) nas concentrações de 50 e 100 ppm, 2,4-D (14) nas mesmas concentrações como padrão e água/acetona como controle, sendo as soluções preparadas de acordo com o procedimento descrito na parte experimental.

A **Figura 15** (dados estatísticos apresentados na **Tabela 8** em anexo), ilustra que o composto (48) na concentração de 100 ppm foi tão ativo quanto o 2,4-D nas concentrações de 50 e 100 ppm.



**Figura 15:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-metanóico (**48**) no bioteste de pecíolos de *P. vulgaris*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas de acordo com os intervalos de confiança das médias.

Na **Figura 16** (dados estatísticos apresentados na **Tabela 9** em anexo), observou-se que nos ensaios conduzido com o composto (**55**) houve uma variação na porcentagem dos ângulos inicial e final bastante expressiva, quando comparada com o padrão **2,4-D** e o controle água/acetona. Estes resultados indicam que o composto (**55**) apresenta forte atividade reguladora de crescimento vegetal como auxina.



**Figura 16:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-acético (55) no bioteste de pecíolos de *P. vulgaris*. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas de acordo com os intervalos de confiança das médias.

### 3.5.4 Dominância Apical em *Phaseolus vulgaris*

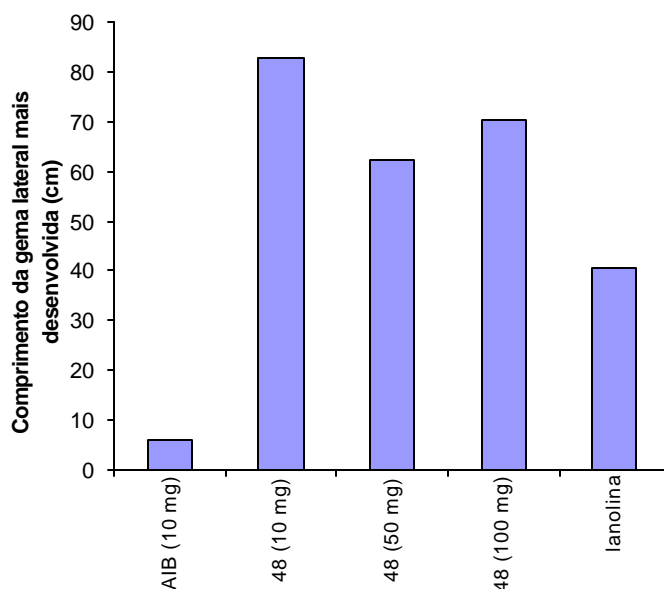
O fenômeno em que, na grande maioria das espécies vegetais, a gema apical inibe o desenvolvimento das gemas laterais, é denominado dominância apical. A remoção da gema apical provoca o desenvolvimento das gemas laterais. Adicionando-se auxina à superfície decapitada de uma planta, cuja gema apical foi removida, a dominância é mantida, o que leva à conclusão de que as auxinas estão envolvidas no controle do fenômeno. Parece que as folhas novas da gema apical produzem grande quantidade de auxinas, que seriam o sinal correlativo da dominância apical.<sup>111</sup>

A avaliação da dominância apical foi realizada através de ensaios biológicos “*in vivo*”, e baseia-se na produção e crescimento de gemas laterais.

Neste ensaio foram utilizadas plantas de *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem) na presença dos compostos **(48)** e **(55)** nas concentrações de 10, 50 e 100 mg/g de lanolina, **AIB (11)** na concentração de 10 mg/g de lanolina como padrão e lanolina pura como controle.

O composto **(48)** não foi efetivo em manter a dominância apical de *P. vulgaris*, induzindo a produção e o crescimento de gemas laterais. O padrão **AIB** produziu somente uma gema lateral em cada planta apresentando comprimento máximo de 1 cm, mantendo-se parcialmente a dominância apical (**Figura 17**).

Em todos os tratamentos houve produção e o crescimento de gemas laterais, embora, na presença do padrão **AIB** o número observado foi menor, e no controle maior.



**Figura 17:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-metanóico **(48)** na manutenção da dominância apical de *P. vulgaris*.

O composto **(55)** em todas as concentrações induziu a produção e o crescimento de apenas uma gema lateral em cada planta, sendo os comprimentos determinados posteriormente (**Figura 18 e 20**).



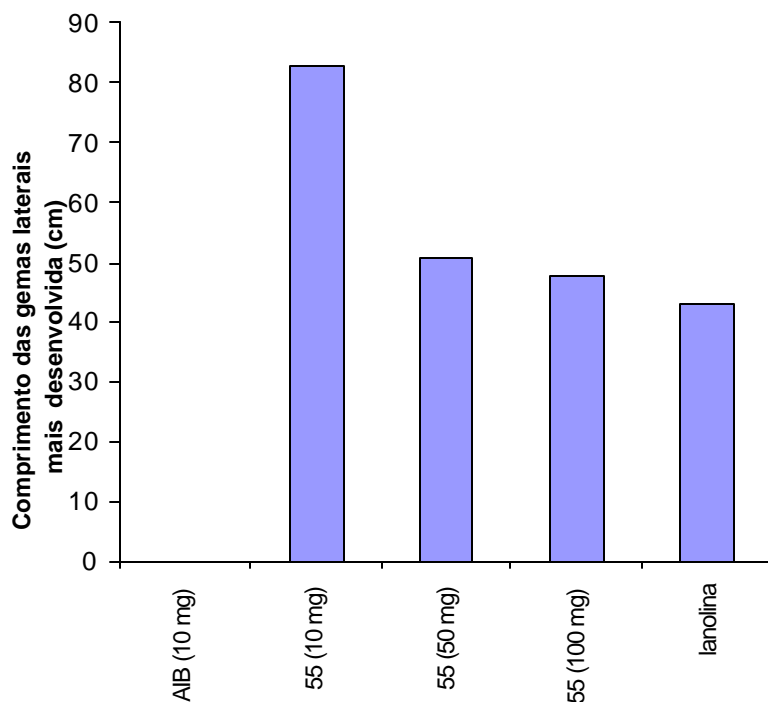
**Figura 18:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-acético (**55**) na produção de gema lateral em *P. vulgaris* .

Neste mesmo ensaio, o padrão **AIB** manteve a dominância apical, não havendo a produção de gemas laterais (**Figura 19**). Entretanto, no controle de pasta de lanolina observou-se a produção de várias gemas em cada planta, sendo apenas considerado o valor da gema de maior comprimento (**Figura 20**).



**Figura 19:** Efeito do **AIB** na manutenção da dominância apical em *P. vulgaris*.





**Figura 20:** Efeito do ácido 5,6-metilenodioxil-3-il-acético (**55**) na manutenção da dominância apical em *P. vulgaris*.

Estes resultados indicam que o composto (**55**) não foi eficiente em manter a dominância apical completa de *P. vulgaris*. No entanto, induziu a produção e o crescimento de apenas uma das gemas laterais enquanto que as plantas controle apresentaram crescimento de várias gemas laterais, mostrando quebra completa de dominância apical.

Sugere-se que o composto (**55**) demonstrou certa atividade auxínica, tendo ativado a produção e o crescimento de apenas uma das gemas laterais, que passou a atuar como a gema apical.

Já, o composto (**48**) não demonstrou nenhuma atividade, o que poderia ser atribuído à sua baixa solubilidade, dificultando sua absorção e transporte pela planta.

## 4. CONCLUSÕES

A metodologia na qual foi explorada a química das azidas via inserção de nitreno, demonstrou ser simples, eficiente e regioseletiva na construção do núcleo indólico substituído.

A descarboxilação de (**48**) realizada na presença de hidróxido de bário sob vácuo e aquecimento em aparelho do tipo “dedo frio” foi um método eficiente, pois permitiu a obtenção do núcleo indólico (**50**) analiticamente puro por sublimação.

A obtenção do núcleo indólico (**50**) via ciclização redutiva do *o,b*-dinitroestireno (**53**) foi bastante vantajosa quando comparada com o citado anteriormente, já que economizou-se uma etapa de síntese.

A estratégia sintética utilizada na síntese dos precursores, bem como da molécula alvo (**55**) foi empregada com sucesso.

Os ácidos 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**), o 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**) e o 5,6-metilenodioxindol-2-il-carboxilato de metila (**47a**), bem como alguns de seus precursores são compostos inéditos.

Todos os ácido 5,6-metilenodioxindólicos e intermediários foram caracterizados por análises no IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , massas, análise elementar e ponto de fusão, apresentando dados compatíveis com as estruturas propostas.

Quanto à atividade biológica, os ensaios de promoção de crescimento de radículas conduzidos com o 5,6-metilenodioxindol-2-il-carboxilato de metila (**47a**) demonstraram que este não apresenta atividade de estimulação. No entanto, os ácidos 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) e o 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**) nas concentrações de  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  M inibiram o crescimento da radícula e as concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M apresentaram forte estimulação, quando comparadas com o ensaio controle.

Os ensaios de indução de enraizamento caulinar demonstraram atividade reguladora associada aos ácido 5,6-metilenodioxindólicos testados, sendo mais pronunciada na presença do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético, que foi tão eficiente quanto o **AIB**, que é um regulador de crescimento vegetal disponível comercialmente para este fim.

Nos ensaios dos pecíolos de feijão, o ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) somente na concentração de 100 ppm foi tão ativo quanto o 2,4-D nas concentrações de 50 e 100 ppm. Entretanto, os ensaios conduzidos com o ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**) demonstraram uma variação na porcentagem dos ângulos inicial e final bastante expressiva, indicando atividade reguladora de crescimento vegetal.

Os resultados observados nos ensaios de dominância apical indicaram que o ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) quebra a dominância apical, promovendo a produção e o crescimento de gemas laterais. Por sua vez, pode-se considerar que o ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**) manteve parcialmente a dominância apical, pois promoveu o surgimento e o crescimento de uma única gema lateral, que passou a atuar como gema apical.

Estes resultados demonstraram que os dois novos ácidos indólicos podem ser considerados potenciais candidatos quanto a utilização como reguladores de crescimento vegetal.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Técnicas de Caracterização

Os compostos foram todos analisados no Infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ), análise elementar e massas, além do ponto de fusão e cromatografia em camada delgada.

Os espectros de IV foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo FT-IR 16PC, empregando-se pastilhas de KBr para sólidos ou filme em cela de NaCl para líquido.

As análises espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas em espectrômetros BRUCKER AC-200F ( $^1\text{H}$  200 MHz;  $^{13}\text{C}$  50 MHz) na Universidade Federal de Santa Catarina, ou VARIAM GEMINI 300 ( $^1\text{H}$  300 MHz;  $^{13}\text{C}$  75 MHz) da Universidade Católica de Sacro Cuore/Roma. Os deslocamentos químicos são dados em partes por milhão (ppm), utilizando-se tetrametilsilano (TMS) como referência interna.

As análises elementares foram realizadas em um analisador de C, H, N Perkin-Elmer 2400.

As análises de massas foram realizadas em espectrômetro CGMS-QP-2000-A Shimadzu com impacto de elétrons de 70ev.

As medidas de ponto de fusão foram efetuadas em aparelho de chapa quente tipo Koffler (MicroQuímica APF-301) e não foram corrigidas.

No acompanhamento de reações foi empregada a técnica de ccd utilizando-se como suporte sílica gel 60GF<sub>254</sub> com os compostos visualizados por irradiação UV (254nm) e vapor de iodo, quando necessário. Esta técnica também foi empregada para avaliar o grau de pureza dos reagentes e produtos .

Alguns compostos foram purificados pela técnica de cromatografia em coluna utilizando-se como suporte sílica gel 70-230 mesh, e diferentes eluentes, indicados nos procedimentos.

## 5.2 Solventes e Reagentes

Os reagentes e solventes empregados foram de pureza analítica e de procedência Aldrich, Merck, Carlo Erba, Sigma, Riedel-de-Haën, Vetec, Reagen, Grupo Química e Nuclear.

Os solventes orgânicos foram secos e/ou purificados quando necessário de acordo com os métodos tradicionais descritos na literatura.<sup>80, 112</sup>

Os reagentes de partida utilizados foram: 4-alil-1,2-metilenodioxibenzeno (safrol), 3,4-metilenodioxibenzaldeído (piperonal), nitrometano, bromoacetato de metila, dietilamina, *N,N*-dietilanilina, formaldeído, iodeto de metila, *N,N*-dimetilformamida, ácido acrílico, ácido malônico, dentre outros. Os reagentes: azido acetato de metila, trietilfosfito, ácido de Meldrum e diazoacetato de etila foram preparados em laboratório.

Os reagentes inorgânicos utilizados foram: bicarbonato de sódio, hidróxidos de sódio e bário, acetato de amônio, tricloreto de fósforo, cloretos de sódio e amônio, azida de sódio, borohidreto de sódio, hidreto de lítio e alumínio, cianetos de sódio, prata e potássio, permanganato de potássio, sódio metálico, ferro, cobre, e zinco em pó, ácidos inorgânicos tradicionais (ácido clorídrico, nítrico, bromídrico, sulfúrico), e os agentes dessecantes cloreto de cálcio e sulfato de magnésio de procedências variadas.

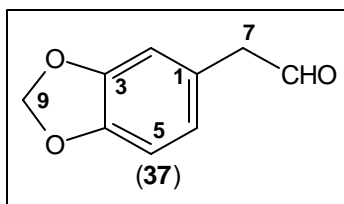
Os reagentes utilizados como padrões nos ensaios de avaliação da propriedade reguladora de crescimento vegetal foram os ácidos 2,4-diclorofenóxiacético, naftalenoacético e indol-3-il-butírico todos de procedência Aldrich.

## 5.3 síntese do Núcleo Metilenodioxifenil-acetaldeído a partir do Safrol

### 3,4-metilenodioxifenil-acetaldeído (37) (Ozonólise)

Uma solução de 4-alil-1,2-metilenodioxibenzeno (10,43 g, 64,3 mmol) em ácido acético glacial (15 mL) foi adicionada em um tubo de vidro. Este foi mantido em uma jaqueta termostatzada a temperatura de  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A dispersão de  $\text{O}_3$  na solução foi realizada através de um tubo de vidro, e o próprio borbulhamento de  $\text{O}_3$  promoveu a agitação da mistura. Inicialmente a solução apresentava coloração amarelo clara, que posteriormente mudou para amarelo escuro tornando-se uma solução bastante viscosa. A reação foi mantida sob borbulhamento de  $\text{O}_3$  até o desaparecimento do safrol (24 horas).

Após ozonização foi adicionado no meio reacional mais ácido acético glacial (25 mL), e a solução foi mantida em banho de gelo e água em atmosfera de argônio sob agitação magnética durante a adição lenta do zinco em pó (4 g, 61,17 mmol). A mistura foi mantida sob refrigeração por 2 horas adicionais, removendo-se posteriormente o banho e mantendo-se a agitação por mais 2 horas adicionais, quando foi adicionado acetato de etila (40 mL) na mistura, sendo esta filtrada e lavada com o mesmo solvente. O filtrado foi lavado com água destilada (4x 40 mL), bicarbonato de sódio (20%, 2x40 mL) e novamente com água até neutralidade. A fase orgânica foi seca com cloreto de cálcio, filtrada e o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando como eluente diclorometano. Após a evaporação do solvente, obteve-se o produto semi sólido puro em 80% de rendimento.



IV (KBr)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 2898 (CH), 1722 (CO), 1248 (COC) e 1040 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,59 (d,  $J$  2,2 Hz, 2H, H-7), 5,94 (s, 2H, H-9), 6,67 (d,  $J$  7,7 Hz, 1H, H-6), 6,67 (s, 1H, H-2), 6,81 (d,  $J$  7,7 Hz, 1H, H-5), 9,69 (s, 1H, CHO).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  49,98 ( $\text{CH}_2$ , C-7); 101,03 ( $\text{CH}_2$ , C-9); 108,58 (CH, C-5); 109,77 (CH, C-2); 122,66 ( $\text{CH}_2$ , C-6); 125,16 ( $\text{C}_0$ , C-1); 146,85 ( $\text{C}_0$ , C-4); 148,02 ( $\text{C}_0$ , C-3); 199,27 (CH, CHO).

**Para a obtenção do 3,4-metilenodioxifenil-acetaldeído várias reações foram realizadas, alterando-se as condições experimentais como: tempo, temperatura, concentração dos reagentes e solventes, etc. No entanto, todas fracassaram com exceção da citada anteriormente.**

### **3,4-metilenodioxifenil-2-nitro-acetaldeído (38)**

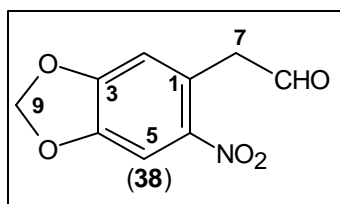
#### **Procedimento 1**

À uma solução de 3,4-metilenodioxifenil-acetaldeído (0,59 g, 3,6 mmol) e ácido acético glacial (5 mL), mantida em banho de gelo, foi gotejado ácido nítrico concentrado (0,2 mL). Ao término da adição, o banho de gelo foi removido e a solução mantida sob agitação por 3 horas adicionais. Foi adicionado clorofórmio à solução (20 mL) e esta foi lavada com água destilada (3x15 mL), bicarbonato de sódio (20%, 3x20 mL) e novamente com água até neutralidade. A fase orgânica foi seca com cloreto de cálcio, filtrada e o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O produto foi purificado por solubilização em acetato de etila e posterior precipitação em éter etílico, obtendo-se um sólido amorfo com 50% de rendimento.

**p.f** 78,8-80,3 °C.

## Procedimento 2

À uma solução de 3,4-metilenodioxifenil-acetaldeído (0,85 g, 5,17 mmol) e clorofórmio (10 mL) mantida em banho de gelo, foi gotejado ácido nítrico concentrado (0,35 mL). Ao término da adição, o banho de gelo foi removido e a solução foi mantida sob agitação por 6 horas adicionais. A solução foi lavada com água destilada (3x15 mL), bicarbonato de sódio (20%, 3x20 mL) e novamente com água até neutralidade. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando como eluente clorofórmio. Após evaporação do solvente o produto foi obtido puro com 28% de rendimento.



**p.f** 78,2 - 80,2 °C.

**IV** (KBr)  $n_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 2914 (CH), 1726 (CO), 1510 (NO<sub>2</sub>), 1332 (NO<sub>2</sub>) e 1248 (COC).

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4,04 (s, 2H, H-7), 6,14 (s, 2H, H-9), 6,7 (s, 1H, H-2), 7,67 (s, 1H, H-5), 9,81 (s, 1H, CHO).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz), CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  48,76 (CH<sub>2</sub>, C-7); 103,13 (CH<sub>2</sub>, C-9); 106,09 (CH, C-5); 111,84 (CH, C-2); 125,40 (C<sub>0</sub>, C-1); 142,68 (C<sub>0</sub>, C-6); 147,65 (C<sub>0</sub>, C-4); 152,19 (C<sub>0</sub>, C-3); 196,77 (C, CHO).

**Anal. Calcd.** para C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>: C, 51,59%; H, 3,35%; N, 6,68%. Encontrado: C, 52,22%; H, 3,16%; N, 6,38%.



## 5.4 Síntese do Núcleo Metilenodioxiindólico

Para a síntese do 5,6-metilenodioxi-indol foram utilizados os três procedimentos descritos a seguir.

### A) 5,6-metilenodioxi-indol (50)

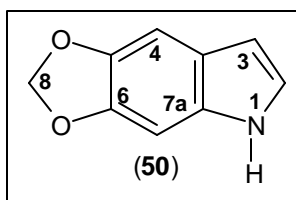
Uma mistura de 3,4-metilenodioxifenil-2-nitro-acetaldeído (0,16 g, 0,77 mmol), ferro em pó (0,16 g, 2,9 mmol), ácido acético glacial (0,5 mL) e etanol absoluto (3 mL) foi refluxada sob agitação vigorosa durante 3 horas sob atmosfera de argônio. À mistura foi adicionada água (8 mL) e o produto extraído com diclorometano (6x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, sendo a solução resultante lavada com uma solução de cloreto de sódio (20%, 4x10 mL) e água destilada (4x10 mL), seca com sulfato de magnésio e o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O produto foi obtido em 56% de rendimento bruto. Todas as tentativas de purificação (recristalização e cromatografia em coluna) do produto fracassaram.<sup>64</sup>

### B) 5,6-Metilenodioxi-indol (50)

Uma mistura de ácido 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanóico (0,3 g, 1,46mmol), cobre em pó (0,077 g, 1,21 mmol) e quinolina (5 mL) recentemente destilada, foi refluxada sob atmosfera de argônio durante 3 horas. Posteriormente a mistura foi resfriada a temperatura ambiente e o cobre em pó removido por filtração. O filtrado foi vertido em gelo picado, e a suspensão assim obtida, acidificada a pH 4 com ácido clorídrico concentrado. Extraído com acetato de etila (4x25 mL). A fase orgânica foi lavada com ácido clorídrico (1M, 3x20 mL), bicarbonato de sódio (20%, 2x20 mL) e cloreto de sódio (20%, 2x20 mL). Em seguida, seca com carbonato de sódio, filtrada e o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O reagente de partida foi recuperado em aproximadamente 95%.<sup>50</sup>

### C) 5,6-Metilenodioxindol (50)

O ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (0,716 g, 3,5 mmol) e hidróxido de bário (0,174 g, 0,55 mmol) foram misturados e finamente pulverizados. Em aparelho do tipo "dedo frio" a mistura foi aquecida usando bico de Bunsen sob pressão reduzida. O 5,6-metilenodioxindol sublimou na forma de um sólido amarelo claro analiticamente puro em 84% de rendimento.<sup>50, 51</sup>



**p.f** 109,4-110,0 °C (Lit.<sup>64</sup> 108-110 °C).

**IV** (KBr)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3410 (NH), 3072 (CH), 1206 (COC).

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ , 5,92 (s, 2H, H-8), 6,42 (s, 1H, H-2), 6,84 (s, 1H, H-7), 7,00 (s, 1H, H-4), 7,06 (s, 1H, H-3), 8,0 (s, 1H, NH).

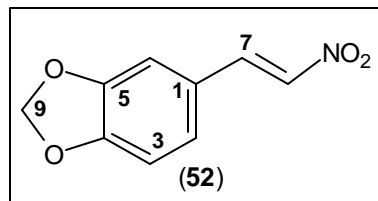
**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  91,8 (CH, C-7), 99,1 (CH, C-4), 100,5 (CH<sub>2</sub>, C-8), 102,8 (CH, C-3), 121,6 (C<sub>0</sub>, C-4a), 122,7 (CH, C-2), 130,6 (C<sub>0</sub>, C-7a), 143 (C<sub>0</sub>, C-6), 144,9 (C<sub>0</sub>, C-5).

**MS**:  $m/z$  (intensidade relativa) 161 (M<sup>+</sup>, 100%), 103 (38%), 76 (33%) e 50 (23%).

### 3,4-Metilenodioxib-nitroestireno (52)

Uma mistura de 3,4-metilenodioxibenzaldeído - piperonal (1,78 g, 11,87 mmol), nitrometano (2,25 g, 36,9 mmol), acetato de amônio (2,48 g, 31,76 mmol) e ácido acético (35 mL) foi refluxada durante 4 horas. A suspensão foi resfriada a temperatura ambiente e vertida em água gelada. O sólido amarelo formado foi filtrado, lavado com água gelada e secado em estufa a vácuo a 70 °C. O produto

foi obtido em 70% de rendimento e utilizado na próxima etapa sem purificação prévia.



**p.f** 158,6-159,2 °C (Lit.<sup>64</sup> 159-161 °C).

**IV** (KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3420 (NH), 1492 (NO), 1334 (NO) e 1268 (COC).

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  6,13(s, 2H, H-9), 6,99 (d, *J* 8,0 Hz, 1H, H-3), 7,37 (d, *J* 8,0 Hz, 1H, H-2), 7,38 (s, 1H, H-6), 7,9 (d, *J* 13,5 Hz, 1H, H-7), 8,05 (d, *J* 13,5 Hz, 1H, H-8).

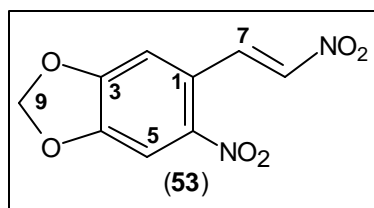
**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  102,5 (CH<sub>2</sub>, C-9), 106,9 (CH, C-3), 109,0 (CH, C-2), 124,1 (C<sub>0</sub>-C-1), 126,6 (CH, C-2), 135,3 (CH, C-7), 139,0 (CH, C-8), 148,7 (C<sub>0</sub>, C-4), 151,3 (C<sub>0</sub>, C-5).

**MS**: *m/z* (intensidade relativa) 193 (M<sup>+</sup>, 100%), 146 (100%), 117 (20%), 89 (100%), 65 (26%), 63 (90%).

**Anal. Calcd.** para C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>: C, 55,96%; H, 3,65%; N, 7,26%. Encontrado: C, 55,74%; H, 3,67%; N, 7,26%.

### **o-Nitro-3,4-metilenodioxib-nitroestireno (53)**

Uma mistura de ácido nítrico (12 mL) e ácido acético glacial (9 mL) foi resfriada a 5 °C e adicionada gota a gota à 3,4-metilenodioxib-nitroestireno (3,4 g, 15,53 mmol) em banho de gelo. Ao término da adição o banho de gelo foi removido, a mistura agitada por 3 horas adicionais e vertida em gelo e água. O sólido formado foi filtrado, lavado com água gelada até neutralização e secado em estufa a vácuo. A recristalização com etanol forneceu o produto puro em 70% de rendimento.



**p.f** 119-120 °C (Lit.<sup>64</sup> 121-122 °C).

**IV** (KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3450 (NH), 1506 (NO), 1324 (NO), e 1270 (COC).

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  6,35 (s, 2H, H-9), 7,43 (s, 1H, H-6), 7,69 (s, 1H, H-3), 7,91 (d, *J* 13,4 Hz, 1H, H-7), 8,49 (d, *J* 13,4 Hz, 1H, H-8).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  105,6 (CH<sub>2</sub>, C-9), 106,9 (CH, C-3), 108,9 (CH, C-6), 123,2 (C<sub>0</sub>, C-1), 136,3 (CH, C-7), 141 (C<sub>0</sub>, C-8), 153,7 (C<sub>0</sub>, C-5).

**MS**: *m/z* (intensidade relativa) 238 (M<sup>+</sup>, 15%), 206 (2%), 162 (25%), 161 (20%), 136 (55%), 106 (45%), 78 (47%), 76 (70%), 62 (100%).

**Anal. Calcd.** para C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 45,39%; H, 2,53%; N, 11,76%. Encontrado: C, 45,78%; H, 2,67%; N, 11,65%.

### Preparação do Trietilfosfito (54)

À uma solução de etanol absoluto (9,2 g, 200 mmol), *N,N*-dietilanilina recentemente destilada (29,6 g, 200 mmol) e éter de petróleo (66,7 mL, 30-60 °C), resfriada em banho de gelo e água foi gotejada uma solução de tricloreto de fósforo (9,2 g, 66 mmol) em éter de petróleo (27 mL, 30-60 °C). Ao término da adição, a mistura foi aquecida sobre refluxo brando durante 1 hora. A mistura reacional contendo um precipitado branco de hidrocloreto de *N,N*-dietilanilina foi resfriada e filtrada em funil de Büchner. A massa de sal de amina foi comprimida e lavada com éter de petróleo gelado (4x20 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados por destilação fracionada. O trietilfosfito foi purificado por destilação sob pressão reduzida (p.e 115 °C a 85 mmHg, Lit.<sup>85</sup> 156 °C a 760 mmHg).

## 5,6-Metilenodioxi-indol (50)

### (Via ciclização redutiva)

#### Procedimento 1

Uma suspensão de *o*-nitro-3,4-metilenodioxi-**b**-nitroestireno (0,3 g, 1,55 mmol) e trietilfosfito (1,5 g, 9 mmol) foi refluxada durante 6 horas sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Posteriormente a suspensão foi filtrada. O sólido resultante foi cromatografado em coluna usando como eluente diclorometano. Nas condições testadas não houve a separação do produto.

#### Procedimento 2<sup>64</sup>

Uma mistura de *o*-nitro-3,4-metilenodioxi-**b**-nitroestireno (0,219 g, 0,92 mmol), ácido acético glacial (1,7 mL) e ferro em pó (0,86 g, 15,3 mmol) foi agitada e mantida em banho de água até o término da reação exotérmica. Após este período a mistura foi refluxada suavemente durante 1 hora e resfriada a temperatura ambiente. O produto foi extraído com éter etílico (4x10 mL), a fase orgânica combinada e secada com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente removido em evaporador rotatório. O sólido escuro obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente diclorometano, obtendo-se o indol em 28% de rendimento e **p.f** 109,2-109,9 °C.

#### Procedimento 3<sup>84</sup>

Uma mistura de *o*-nitro-3,4-metilenodioxi-**b**-nitroestireno (0,1 g, 0,42 mmol), catalisador Pd/C 10% (0,54 g), etanol absoluto (12 mL) e ciclo hexeno (0,5 mL) foi refluxada durante 3 horas. A mistura foi resfriada e filtrada e o sólido lavado com diclorometano. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada, e o solvente removido em evaporador rotatório. O sólido escuro foi purificado por cromatografia em

coluna utilizando como eluente diclorometano, obtendo-se o indol em 37% de rendimento e **p.f** 108,6-109,8 °C. <sup>84</sup>

#### **Procedimento 4** <sup>56</sup>

Uma mistura de *o*-nitro-3,4-metilenodioxib-nitroestireno (0,23 g, 1,05 mmol), sílica gel 60 para cromatografia em coluna (2,6 g, 70-230 mesh), ferro em pó (1,01 g, 18,14 mmol), ácido acético glacial (5,8 mL) e tolueno (11,6 mL) foi refluxada sob atmosfera de argônio durante 2 horas. A mistura foi resfriada a temperatura ambiente, filtrada e o sólido lavado com acetato de etila (5 mL) e posteriormente com diclorometano. A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de cloreto de sódio (5 mL), secada com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O sólido escuro resultante foi purificado com hexano a quente, fornecendo o indol em 21% de rendimento e **p.f** 108,2-109,4 °C (Lit <sup>64</sup> 108,0-110,0 °C).

#### **Procedimento 5** <sup>55</sup>

Uma mistura de *o*-nitro-3,4-metilenodioxib-nitroestireno (0,47 g, 2 mmol), sílica gel 60 para cromatografia em coluna (2,0 g, 70-230 mesh), ferro em pó (1,7 g, 30,44 mmol), ácido acético glacial (12 mL), benzeno (5 mL) e ciclo hexano (15 mL) foi refluxada sob atmosfera de N<sub>2</sub> durante 2 horas. A mistura foi resfriada a 25 °C, diluída com diclorometano e filtrada. O sólido foi lavado com uma solução 10% de éter etílico em diclorometano, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com metabissulfito de sódio (10%), bicarbonato de sódio (20%), cloreto de sódio (20%) e secadas com sulfato de magnésio. A fase orgânica seca foi filtrada e o solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida. O sólido escuro foi purificado com hexano a quente fornecendo o indol em 72% de rendimento e **p.f** 108,7-109,2 °C (Lit <sup>64</sup> 108,0-110,0 °C).

## 5.5 Síntese do Núcleo Metilenodioxindólico Substituído na Porção Heterocíclica

### 5.5.1 Síntese dos Compostos Substituídos na Posição 2 do Anel Heterocíclico

#### Azidoacetato de metila (45)

Uma mistura de azida de sódio (26,1 g, 400 mmol) em água (24 mL) foi adicionada com agitação à uma solução de bromoacetato de metila (50 g, 330 mmol) em metanol (50,2 mL). A mistura resultante foi refluxada durante 4 horas, resfriada a 25 °C, e o metanol removido em evaporador rotatório. O produto final foi purificado por destilação sob pressão reduzida (p.e 72-76 °C, 30 mmHg), fornecendo o azidoacetato de metila na forma de um líquido claro em 99% de rendimento.

Obs. O bromoacetato de metila foi purificado por destilação sob pressão reduzida, na qual foi observada uma faixa de ebulição entre 83-86 °C, 100mmHg (Lit. <sup>113</sup> 130-133 °C, 750 mmHg).

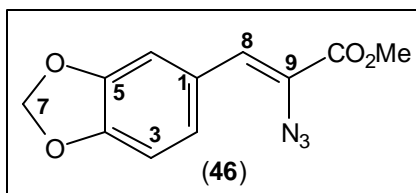
IV  $n_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$  2110 (N<sub>3</sub>), 1748 (CO).

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) *d* 3,80 (s, 3H), 3,90 (s, 2H).

#### 2-Azido- 3-(3,4-metilenodioxifenil)-propenoato de metila (46)

Uma solução de 3,4-metilenodioxibenzaldeído (5,0 g, 33 mmol) em metanol (20 mL) e azido acetato de metila (15,3 g, 133 mmol) foi gotejada em uma solução de metóxido de sódio (preparado a partir de sódio metálico (3,41 g, 133 mmol) em metanol (40 mL) a -8 °C sob agitação magnética. Após o término do gotejamento, a mistura foi agitada por mais 2 horas, mantendo-se a temperatura abaixo de 5 °C. A mistura heterogênea foi vertida em gelo picado (400 mL) e agitada

manualmente. O precipitado amarelo foi filtrado, lavado com água gelada até neutralidade e seco em estufa a vácuo durante 12 horas a 70 °C. O sólido amarelo foi obtido em 97% de rendimento e usado sem purificação prévia na próxima etapa.

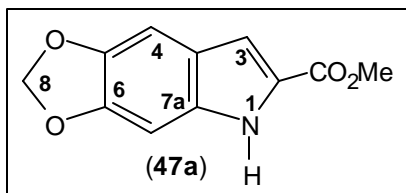


**IV**  $n_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$  2124 ( $\text{N}_3$ ), 1710 (CO), 1256 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,90 (s, 3H), 6,01 (s, 2H, H-7), 6,80 (d,  $J$  8,4 Hz, 1H, H-2), 6,84 (s, 1H, H-6), 7,16 (d,  $J$  8,0 Hz, 1H, H-3), 7,58 (s, 1H, H-8).

### 5,6-Metilenodioxi-indol-2-il-carboxilato de metila (47a)

Uma mistura de (Z)-2-azido-3-(-3,4-metilenodioxifenil)-propenoato de metila (2 g, 8,1 mmol) e xileno (75 mL) foi refluxada durante 1 hora. A evolução de  $\text{N}_2$  foi observada através de um medidor de vazão de gás acoplado ao condensador. O refluxo foi mantido por 2 horas adicionais depois de ter cessado a evolução de  $\text{N}_2$ . O xileno foi removido por destilação sob pressão reduzida e o sólido formado cromatografado em coluna, utilizando como eluente uma mistura de diclorometano e acetato de etila (4:1), obtendo-se cristais amarelos puros em 94% de rendimento.





p.f 173,2-174,6 °C.

IV (KBr)  $n_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3446 (NH), 3072 (CH), 1696 (CO), e 1248 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,88 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5,93 (s, 2H, H-8), 6,91 (d,  $J$  0,4 Hz, 1H, H-7), 6,94 (d,  $J$  0,4 Hz, 1H, H-4), 7,02 (dd,  $J$  0,9 Hz,  $J$  0,9 Hz, 1H, H-3) 11,03 (s, 1H, NH).

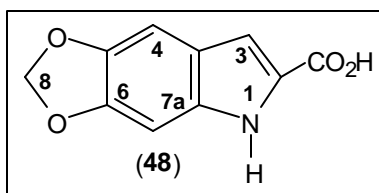
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  51,4 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 92,4 (CH, C-7), 99,2 (CH, C-4), 100,7  $\text{CH}_2$ , C-8), 108,5 (CH, C-3), 121,2 ( $\text{C}_0$ , C-4a), 125,1 ( $\text{C}_0$ , C-2), 133,5 ( $\text{C}_0$ , C-7a), 143,8 ( $\text{C}_0$ , C-6), 147,4 ( $\text{C}_0$ , C-5), 162,1 ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ).

**MS:**  $m/z$  (intensidade relativa) 219 ( $\text{M}^+$ , 76%), 187 (100%), 159 (67%), 133 (25%), 101 (34%), 93 (22%), 75 (25%), 50 (27%).

**Anal. Calcd.** para  $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_4$ : C, 60,27%; H, 4,13%; N, 6,39%. Encontrado: C, 59,98%; H, 4,28%; N, 6,26%.

### Ácido 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanóico (48)

Uma mistura de 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-carboxilato de metila (2,32 g, 10 mmol) e hidróxido de sódio 2M (50 mL) foi refluxada durante 1 hora, resfriada a temperatura ambiente e acidificada com uma solução de HCl (60 mL, 6M). O precipitado formado foi filtrado, lavado com água gelada e seco em estufa sob vácuo a 70 °C. O sólido resultante foi recristalizado em metanol sob refluxo, fornecendo o ácido 3,4-metilenodioxiindol-2-carboxílico puro na forma de cristais marrons em 92% de rendimento.



p.f 250,9 °C com decomposição.

**IV** (KBr)  $n_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3456 (NH), 3140 (OH, larga), 1706 (CO), e 1288 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  5,93 (s, 2H, H-8), 6,91 (s, 1H, H-7), 6,94 (s, 1H, H-4), 7,02 (dd,  $J$  0,8 Hz,  $J$  0,5 Hz, 1H, H-3), 11,6 (s, 1H, NH).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  92,4 (CH, C-7), 98,2 (CH, C-4), 100,8 (CH<sub>2</sub>, C-8), 108,3 (CH, C-3), 121,2 (C<sub>0</sub>, C-4a), 125,0 (C<sub>0</sub>, C-2), 133,2 (C<sub>0</sub>, C-7a), 143,6 (C<sub>0</sub>, C-6), 147,2 (C<sub>0</sub>, C-5), 163,2 (CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H).

**MS:**  $m/z$  (intensidade relativa) 205 (M<sup>+</sup>), 187 (100%), 159 (90%), 129 (20%), 101 (50%), 93 (27%), 75 (33%), 50 (45%).

**Anal. Calcd.** para C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>: C, 58,54%; H, 3,44%; N, 6,83%. Encontrado: C, 58,53%; H, 3,42%; N, 6,83%.

#### 5.5.1.1 Tentativas de Redução do 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-carboxilato de metila

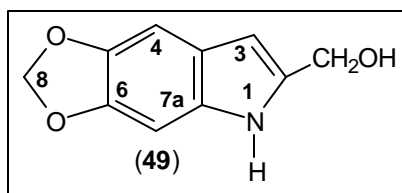
Foram realizadas diversas tentativas para reduzir o ácido 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanóico no correspondente álcool. Três delas são descritas a seguir:

#### 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanol (49)

##### Procedimento 1: Redução com borohidreto de sódio <sup>78</sup>

À uma mistura de borohidreto de sódio (0,04 g, 1 mmol) e tetra hidrofurano seco (2 mL) foi adicionado 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-carboxilato de metila (0,2 g, 0,91 mmol). A mistura foi agitada vigorosamente e resfriada em banho de gelo e água durante a adição de uma solução de tricloreto de alumínio (0,044 g, 0,33 mmol) em tetra hidrofurano seco (1 mL). A mistura foi refluxada por 4 horas, e após resfriada a temperatura ambiente, foi adicionado gelo picado (20 mL) e ácido clorídrico concentrado (0,11 mL). O produto foi extraído com acetato de etila (3x10 mL). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido formado

purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente diclorometano. O material de partida foi recuperado em 98%.



### Procedimento 2: Redução com Borohidreto de sódio, em atmosfera de N<sub>2</sub>

À uma suspensão de borohidreto de sódio (0,04 g, 1 mmol) e tetra hidrofurano seco (1 mL) foi adicionado 5,6-metilenodioxindol-2-il-carboxilato de metila (0,2 g, 0,91 mmol). A mistura foi agitada vigorosamente e resfriada em banho de gelo e água durante a adição de tricloreto de alumínio (0,044 g, 0,33 mmol). A seguir foi refluxada por 4 horas sob atmosfera de N<sub>2</sub>, resfriada a temperatura ambiente, adicionado gelo picado (20 g) e ácido clorídrico concentrado (0,11 mL). A mistura foi extraída com acetato de etila (3x10 mL) e a fase orgânica combinada evaporada sob pressão reduzida. O sólido formado foi cromatografado em coluna utilizando como eluente diclorometano, fornecendo um sólido amarelo pálido com p.f 176,6–178,0 °C, identificado como material de partida, sendo recuperado em 95%.

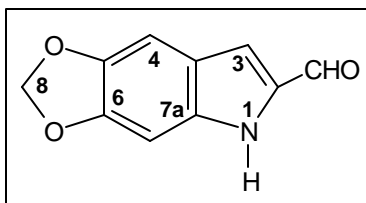
### Procedimento 3: Redução com Hidreto de Lítio e Alumínio

À uma suspensão de hidreto de lítio e alumínio (0,021 g, 0,05 mmol) em tetra hidrofurano seco (1 mL) foi adicionada uma solução de 5,6-metilenodioxindol-2-il-carboxilato de metila (0,22 g, 1 mmol) em tetra hidrofurano seco (2 mL). A mistura foi agitada sob atmosfera de N<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante 1 hora. Como não houve formação de produto, a mistura foi a seguir refluxada sob atmosfera de N<sub>2</sub> durante 24 horas, sendo resfriada, filtrada e lavada com diclorometano. O material de partida foi recuperado em 80%.

Outras reações foram realizadas na tentativa de reduzir o ácido carboxílico para álcool, fazendo-se algumas alterações nas condições experimentais tais como; temperatura, tempo, atmosfera inerte, agente redutor, concentração de reagentes, e solventes. Porém todas foram sem sucesso.

#### 5.5.1.2 Tentativa de obtenção do 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-formaldeído<sup>77</sup>

À uma suspensão de hidreto de lítio e alumínio (0,04 g, 1 mmol) e tetra hidrofurano seco (1 mL) foi adicionado pentano (1 mL), dietilamina (0,145 g, 2 mmol) e sob vigorosa agitação magnética o ácido 5,6-metilenodioxi-indol-2-il-metanóico (0,22 g, 1 mmol). A mistura foi mantida sob agitação e sob atmosfera de N<sub>2</sub> durante 7 horas. A mistura foi filtrada e lavada com tetra hidrofurano seco. O material de partida foi recuperado em 81% por extração em diclorometano.

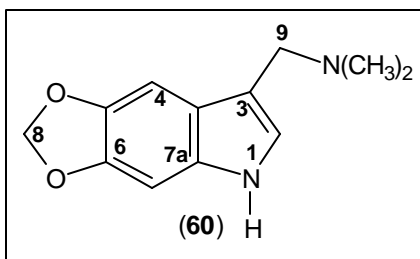


### 5.6 Síntese dos Compostos Substituídos na Posição 3 do Anel Heterocíclico

#### 5,6-Metilenodioxo-3-(*N,N*-dimetilaminometileno)indol (60)

À uma mistura de dimetilamina 35% (0,87 g, 19,3 mmol) e ácido acético glacial (1,69 g, 28 mmol) a 5 °C foi adicionado formaldeído 37% (0,64 g, 21,4 mmol). A mistura foi agitada e vertida em um frasco contendo 5,6-metilenodioxo-

indol (1,0 g, 6,2 mmol), e mantida sob agitação magnética por 5 horas, sendo posteriormente adicionada vagarosamente ao meio reacional uma solução de hidróxido de sódio 3,4M (9 mL;). A suspensão formada foi filtrada, lavada com água gelada e secada em estufa a vácuo a 70 °C. O composto foi usado na próxima etapa sem purificação prévia, sendo obtido em 71% de rendimento.



**p.f** 128,7-130,0 °C com decomposição.

**IV** (KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 1380 (NCH<sub>3</sub>), 1468 (C=C), 1194 (COC) e 1098 (CNC).

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>) **d** 2,17 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3,48 (s, 2H, H-9), 5,88 (s, 2H, H-8), 6,85 (s, 1H, H-7), 7,04 (s, 1H, H-4), 7,07 (s, 1H, H-2), ~9,9-10,0 (s, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, acetona-*d*<sub>6</sub>) **d** 43, 45,7 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 45,8 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 56,2, (CH<sub>2</sub>, C-9), 93,1 (CH, C-7), 99,2 (CH, C-4), 101,4 (CH<sub>2</sub>, C-8), 113,5 (C<sub>0</sub>, C-3), 123,8 (C<sub>0</sub>, C-4a), 128,0 (C<sub>0</sub>, C-7a), 145,8 (C<sub>0</sub>, C-5), os demais (carbonos) não foram detectados pela análise.

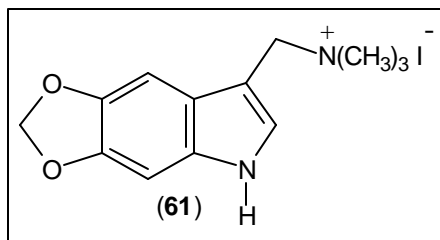
**MS**: *m/z* (intensidade relativa) 218 (M<sup>+</sup>, 10%), 173 (100%), 88 (12%), 62 (25%).

**Anal. Calcd.** para C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: C, 66,03%; H, 6,46%; N, 12,83%. Encontrado: C, 64,90%; H, 6,58%; N, 12,61%.

### Iodeto de 5,6-metilenodioxo-3-trimetilamôniometilenoindol (61)<sup>96</sup>

À uma suspensão de 5,6-metilenodioxo-3-dimetilaminometilenoindol (0,504 g, 2,3 mmol) e etanol absoluto (2,5 mL) foi adicionado lentamente iodeto de metila (0,9 g, 6,4 mmol). A suspensão foi agitada suavemente durante 2 horas e armazenada em geladeira por 24 horas. O sólido formado foi filtrado, lavado com etanol absoluto e éter

etílico e secado em estufa a vácuo. O produto foi obtido em 84% de rendimento e utilizado na próxima etapa sem purificação prévia.

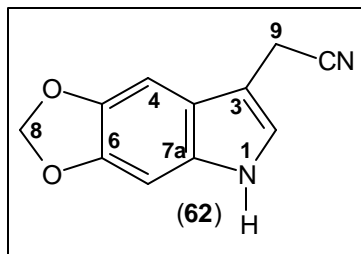


### 5,6-Metilenodioxindol-3-il-acetonitrila (62)

À uma suspensão de iodeto de 5,6-metilenodioxindol-3-trimetilamôniometilenoindol (0,45 g, 1,23 mmol) e cianeto de sódio (0,39 g, 7,95 mmol) em metanol (6,2 mL), foram adicionadas dimetilformamida (0,3 mL) e água (0,3 mL). A suspensão foi mantida sob agitação por 2 horas adicionais e depois vertida em água gelada. O precipitado formado foi filtrado, lavado com água gelada e secado em estufa a vácuo a 70 °C. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando como eluente diclorometano, fornecendo um sólido marrom em 58% de rendimento.

### 5,6-Metilenodioxindol-3-il-acetonitrila (62)

À uma suspensão de 5,6-metilenodioxindol-3-dimetilaminometilindol (0,93 g, 4,26 mmol) e cianeto de sódio (0,9 g, 18,36 mmol) em metanol (13 mL), dimetilformamida (0,6 mL) e água (0,6 mL), sob agitação magnética foi gotejado lentamente iodeto de metila (14 mL, 22 mmol). A suspensão foi mantida sob agitação por 2 horas adicionais e depois vertida em água gelada. O precipitado formado foi filtrado, lavado com água gelada e secado em estufa sob vácuo a 70 °C. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna usando como eluente acetato de etila e diclorometano (4:1), fornecendo um sólido marrom em 70% de rendimento.



**p.f** 145,4-146,3 °C.

**IV** (KBr)  $n_{\max}/\text{cm}^{-1}$  : 3416 (NH), 2240 (CN) e 1296 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **d** 3,76 (s, 2H, H-9), 5,96 (s, 2H, H-8), 6,84 (s, 1H, H-7), 6,94 (s, 1H, H-4), 7,10 (s, 1H, H-2), 8,02 (s, 1H, NH).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **d** 14,5 ( $\text{CH}_2$ , C-9), 93,5 (CH, C-7), 97,8 (CH, C-4), 101,8 ( $\text{CH}_2$ , C-8), 106 ( $\text{C}_0$ , C-3), 119,8 (CN), 123,2 ( $\text{C}_0$ , C-4a), 123,3 ( $\text{C}_0$ , C-7a), 144,2 ( $\text{C}_0$ , C-6).

**MS:**  $m/z$  (intensidade relativa) 200 ( $\text{M}^+$ , 100%), 174 (25%).

**Anal. Calcd.** para  $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$ : C, 65,99%; H, 4,02%; N, 13,99%. Encontrado: C, 65,50%; H, 4,11%; N, 13,65%.

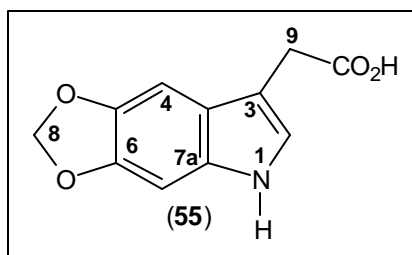
### Ácido 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-acético (55)<sup>96</sup>

À uma solução de cianeto de prata e potássio, preparada a partir de nitrato de prata (0,05 g, 0,3 mmol) e cianeto de potássio (0,04 g, 0,6 mmol) em água destilada (0,4 mL) foi adicionado iodeto de 5,6-metilenodioxil-3-trimetilamôniometilenoindol (0,12 g, 0,3 mmol). Esta mistura foi refluxada durante 3 horas, resfriada e durante uma lavagem com éter etílico houve formação de um sólido que foi refluxado com hidróxido de potássio 20% (10 mL) durante 10 horas. A mistura foi resfriada e acidificada com ácido clorídrico (2M) até precipitação completa do produto. O produto bruto foi obtido em 93% de rendimento. Todas as tentativas de purificação foram fracassadas (recristalização e cromatografia em coluna).

**p.f** 173,3-174,5 °C.

### Ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il acético (55)

À uma solução de hidróxido de sódio (10 mL, 20%) foi adicionado 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-acetonitrila (0,93 g, 4,8 mmol). A mistura foi refluxada durante 5 horas, resfriada e acidificada com ácido clorídrico (2M). O precipitado formado foi filtrado, lavado com água gelada até neutralidade e secado em estufa sob vácuo a 70 °C. O sólido foi recristalizado com água, fornecendo o ácido puro na forma cristalina em 73% de rendimento.



**p.f** 176-176,6 °C.

**IV** (KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3400 (NH), 2908 (OH), 1698 (CO) e 1320 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz, acetona- $d_6$ )  $\delta$  3,66 (s, 2H, H-9), 5,89 (s, 2H, H-8), 6,86 (s, 1H, H-7), 7,01 (s, 1H, H-4), 7,12 (s, 1H, H-2), 9,92 (s, 1H, NH).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz, acetona- $d_6$ )  $\delta$  31,59 (CH<sub>2</sub>, C-9), 92,8 (CH, C-7), 98,2 (CH, C-4), 101,1 (CH<sub>2</sub>, C-8), 109,2 (C<sub>0</sub>, C-3), 122,4 (C<sub>0</sub>, C-4a), 123 (CH, C-2), 132,3 (C<sub>0</sub>, C-7a), 143,4 (C<sub>0</sub>, C-6), 145,5 (C<sub>0</sub>, C-5), 173,3 (CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H).

**MS**:  $m/z$  (intensidade relativa) 219 (M<sup>+</sup>, 60%), 174 (100%).

**Anal. Calcd.** para C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>: C, 60,27%; H, 4,13%; N, 6,39%. Encontrado: C, 60,58%; H, 4,67%; N, 6,36%.



### 5.6.1 Tentativas de Preparação Direta do Ácido 5,6-metilenodixi-indol-3-il-acético

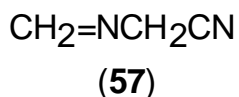
Estas reações foram baseadas na alquilação do 5,6-metilenodioxindol empregando-se reagente diazoacetato de etila.

#### Preparação do Diazoacetato de etila (56)

#### Metilenoamino Acetonitrila (57) (cianeto de $\alpha$ -hidroformamina)

À uma mistura de formaldeído (162 g, 5,4 mol) e cloreto de amônio (54 g, 1 mol) resfriada a 0 °C, foi gotejada uma solução de cianeto de sódio (49 g, 1 mol) em água (85 mL). Quando metade da solução havia sido gotejada, foi adicionado lentamente ácido acético glacial (38 mL). Após a adição dos reagentes a mistura foi agitada por 2 horas adicionais. Ao término da reação o precipitado formado foi filtrado. O sólido foi transferido para um béquer e agitado com água (200 mL). O sólido foi novamente filtrado, lavado com água gelada e secado em estufa sob vácuo. O produto foi obtido em 30% de rendimento e utilizado na próxima etapa sem purificação prévia.

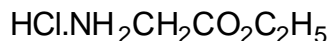
p.f 127,4 °C (Lit. <sup>90</sup> 129 °C).



#### Cloridrato de $\alpha$ -amino acetato de etila (58)

Ao etanol absoluto (50 mL) saturado com ácido clorídrico foram adicionados etanol (95%, 87 mL) e metilenoamino acetonitrila (7 g, 103 mmol). A mistura foi refluxada durante 3 horas e filtrada a quente para separar um sólido branco insolúvel no meio reacional. O excesso de solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O sólido formado foi filtrado, lavado com etanol gelado e secado em estufa sob vácuo. O produto bruto foi obtido em 55% de rendimento, e

utilizado na próxima etapa sem purificação prévia, apresentando p.f 141,3-142,6 °C (Lit. <sup>91</sup> 142-143 °C).



(58)

### Diazoacetato de Etila (56)

Uma mistura de cloridrato de  $\alpha$ -amino acetato de etila (4,8 g, 34 mmol) água (8,4 mL) e diclorometano (20 mL) foi resfriada em gelo seco e acetona a  $-10$  °C. À esta mistura foi gotejada uma solução de nitrito de sódio (2,8 g, 40 mmol) em água (8,4 mL), a temperatura foi reduzida para aproximadamente  $-30$ °C e ácido sulfúrico (5%, 3,2 mL) foi adicionado lentamente. A mistura foi vertida em gelo picado. A fase orgânica foi separada e lavada com bicarbonato de sódio (5%, 3x10 mL) até neutralidade, secada com sulfato de sódio, filtrada e o excesso de solvente removido por evaporação sob pressão reduzida. O produto foi obtido em 28% de rendimento e utilizado nas reações sem prévia purificação, pois é um reagente altamente explosivo. <sup>92</sup>



(56)

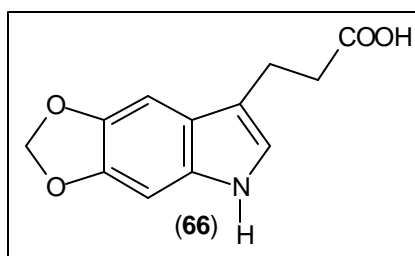
### A) Ácido 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-acético (55) <sup>87, 89</sup>

À uma mistura de 5,6-metilenodioxil-indol (0,16 g, 984  $\mu$ mol) e traços de cobre em pó seco, foi adicionada muito lentamente uma solução de diazoacetato de etila (0,11 g, 112,6  $\mu$ mol) em diclorometano (1 mL). A mistura foi a  $100$  °C durante 10 minutos em atmosfera inerte, posteriormente adicionado diclorometano (5 mL), sendo então submetida à cromatografia em coluna na tentativa de isolar o produto formado. Porém o procedimento não foi eficiente.

**Várias outras reações foram realizadas alterando-se as condições de reação como: tempo, temperatura, concentração de reagentes, solvente, etc, e portanto, todas as tentativas foram fracassadas, não conduzindo a formação do produto desejado.**

### Ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-propiónico (66) <sup>101</sup>

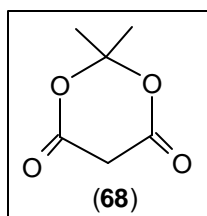
Uma solução de 5,6-metilenodioxi-indol (0,1 g, 0,62 mmol) em ácido acético (0,3 mL), contendo anidrido acético (0,12 mL) e ácido acrílico (0,2 mL) foi aquecida a 90 °C durante 3 horas. A mistura foi deixada em repouso durante a noite a temperatura ambiente. Ao resíduo escuro e viscoso formado foi adicionado hidróxido de sódio (0,01g, 2,25 mmol) em água (0,6 mL). A mistura foi resfriada e o material insolúvel foi removido por filtração. O filtrado foi acidificado com ácido clorídrico concentrado e o produto precipitou na forma de um sólido escuro, que foi filtrado e lavado com água, fornecendo um sólido em 93% de rendimento bruto, pois todas as tentativas de purificação fracassaram.



### Preparação do Ácido de Meldrum (68)

À uma suspensão de ácido malônico (52 g, 500 mmol) em anidrido acético (60 mL, 600 mmol), foi adicionado ácido sulfúrico concentrado (1,5 mL). À mistura reacional foi adicionada, sob agitação, acetona (40 mL), mantendo-se à temperatura entre 20-25 °C. A mistura foi mantida em repouso por 24 horas em refrigerador. Os cristais formados foram filtrados e lavados com água gelada. A purificação foi realizada por recristalização, dissolvendo-se o produto em acetona e precipitando-o em água, em uma relação de 1:2, respectivamente. O produto puro foi obtido em 48% de rendimento.

p.f 90-92 °C (Lit.<sup>108</sup> 94-95 °C).



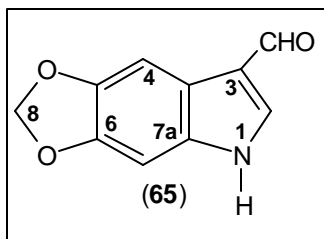
### Ácido 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-propiónico (66) <sup>102-104</sup>

Uma solução de ácido de Meldrum (0,133 g, 0,95 mmol), 5,6-metilenodioxi-indol (0,2 g, 0,91 mmol), formaldeído (37%, 0,08 g, 2,7 mmol) e traços de prolina em acetonitrila (5,0 mL) foi agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida. O sólido escuro formado foi obtido em 54% de rendimento bruto. Todas as tentativas de purificação fracassaram.

**Outras reações foram realizadas variando-se as condições como: tempo, temperatura, concentração de reagentes, solvente, catalisador, adição de reagentes, etc. No entanto, todas as tentativas não à levaram a formação do produto desejado.**

### 5,6-metilenodioxi-indol-3-il-formaldeído (65)

*N,N*-dimetilformamida (2,0 mL) foi resfriada à temperatura entre 10-20 °C e tratada gota a gota com tricloreto de fosforila (0,6 mL). Após 15 minutos uma solução de 5,6-metilenodioxi-indol (0,97 g, 6 mmol) em dimetilformamida (0,3 mL) foi adicionada lentamente, mantendo-se a temperatura entre 20-30 °C. A mistura reacional foi então agitada durante 2 horas e vertida em gelo picado. A solução resultante foi tratada lentamente com a metade do volume de uma solução de hidróxido de sódio (1,12 g, 28 mmol) em água (5,4 mL), e o restante desta solução foi adicionado de uma só vez. O sólido formado foi filtrado, lavado com água gelada e secado em estufa sob vácuo. O sólido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente diclorometano, formando o produto puro em 74% de rendimento.



p.f 222,2 °C com decomposição.

**IV** (KBr)  $n_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3194 (NH), 2886 (CH), 1632 (CO), 1294 (COC).

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,99 (s, 2H, H-8), 7,01 (s, 1H, H-7), 7,60 (s, 1H, H-4), 8,01 (s, 1H, H-2), 9,93 (s, 1H, CHO), ~11,0 (s, 1H, NH).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz),  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  93,66 (CH, C-7), 100,67 (CH, C-4), 101,88 ( $\text{CH}_2$ , C-8), 119,50 ( $\text{C}_0$ , C-4a), 120,32 ( $\text{C}_0$ , C-3), 133,12 ( $\text{C}_0$ , C-7a), 136,14 (CH, C-2), 145,75 ( $\text{C}_0$ , C-6), 146,87 ( $\text{C}_0$ , C-5), 185,24 (CH, CHO).

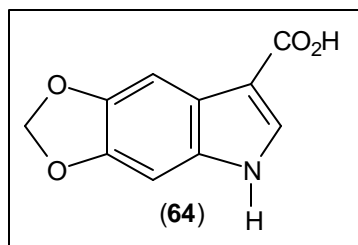
**MS**:  $m/z$  (intensidade relativa) 289 ( $\text{M}^+$ , 100%), 160 (13%), 76 (33%), 50 (30%).

**Anal. Calcd.** para  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_3$ : C, 63,49%; H, 3,72%; N, 7,40%. Encontrado: C, 65,10%; H, 3,82%; N, 7,54%.

### 5.6.2 Tentativas de Oxidação do 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-formaldeído

#### Procedimento 1: Oxidação com Permanganato de Potássio <sup>99</sup>

Uma solução de permanganato de potássio (0,16 g, 1,0 mmol) em água (0,4 mL) e acetona (2,3 mL) foi gotejada lentamente ao 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-formaldeído (0,14 g, 0,71 mmol) dissolvido em acetona (1,8 mL). A mistura resultante foi agitada durante 3 horas a 40 °C, recuperando-se 90% do aldeído de partida.



**Procedimento 2: Oxidação com Nitrato de Prata**<sup>100</sup>

À uma solução de nitrato de prata (0,27 g, 1,6 mmol) em água (0,53 mL) foi adicionado 5,6-metilenodioxindol-3-il-formaldeído (0,1 g, 0,53 mmol) em etanol (0,2 mL). À mistura resultante foi gotejada uma solução aquosa de hidróxido de sódio (0,15 g, 3,17 mmol, 0,50 mL), e mantida sob agitação por 4 horas. A mistura reacional foi filtrada e lavada com uma solução de hidróxido de sódio (0,1M). O filtrado foi extraído com acetato de etila (extrações de 10 mL cada), a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio, filtrada e o excesso de solvente removido por evaporação sob pressão reduzida, recuperando-se 90% do 5,6-metilenodioxindol-3-il-formaldeído.

**Vários outros experimentos foram realizados variando-se as condições de reação como: tempo, temperatura, concentração de reagentes, solvente etc e empregando-se diversos agentes oxidantes. Portanto, todas as tentativas fracassaram não conduzindo ao produto desejado.**

## 5.7 Avaliação da Atividade Reguladora de Crescimento Vegetal

Todos os testes realizados são específicos para determinação da atividade reguladora de crescimento vegetal de auxinas.

Os testes empregados na avaliação da atividade reguladora de crescimento vegetal dos ácidos 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) e 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**) foram realizados através de ensaios biológicos “*in vitro*” utilizando-se câmara de germinação e “*in vivo*” utilizando-se casa de vegetação.

Os testes biológicos foram realizados em colaboração com a Prof<sup>ª</sup> Rosete Pescador do Departamento de Ciências Naturais da FURB e Prof<sup>ª</sup> Áurea Maria Randi do Departamento de Botânica da UFSC.

### 5.7.1 Promoção de Crescimento de Radículas

#### Procedimento Geral

Os ensaios para a avaliação do desenvolvimento de radícula foram conduzidos com sementes de *Lactuca sativa* variedade Grand Rapids (alface crespa) e *Sorgum bicolor*. As soluções dos compostos (**47a**), (**48**) e (**55**) foram preparadas nas concentrações de  $10^{-3}$  a  $10^{-9}$ M utilizando acetona como solvente. Os ensaios foram realizados em placas de Petri esterilizadas, sendo que para cada concentração utilizou-se 1 placa contendo 4 discos de papel filtro. Em cada disco de papel foi adicionado 1mL de solução nas diferentes concentrações, sendo o solvente (acetona) evaporado antes da adição de 1,5mL de Tween 80 (0,01%) , seguida da inoculação de 50 (alface) ou 20 (sorgo) sementes em cada disco, num total de 200 sementes em cada placa. As sementes antes de serem inoculadas foram submetidas ao processo de assepsia em hipoclorito de sódio 40%, etanol 70% e água destilada. As placas foram incubadas em câmara de germinação, com temperatura controlada a  $25 \pm 2$  °C e foto período de 16h/luz durante 5 dias sendo distribuídas ao acaso. Diariamente foram observados o número de sementes germinadas e no quinto dia após a inoculação das sementes

foi realizada a coleta de dados, onde foram determinados os comprimentos em milímetros das radículas. Como controle foi utilizado ensaio similar, empregando-se somente acetona. Os dados foram tratados estatisticamente utilizando-se o teste de Tuckey a 5% de probabilidade (statgraf).

## 5.7.2 Indução de Enraizamento Caulinar

### Procedimento Geral

Na execução deste teste foram utilizadas estacas caulinares jovens de *Malvaviscus arboreus* (flor vermelha tipo cerca viva).



**Figura 21:** Planta utilizada nos ensaios de indução de enraizamento caulinar em estacas.

Os compostos sintetizados utilizados para os testes de indução de enraizamento foram os ácidos 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-metanóico (**48**) e o 5,6-metilenodioxil-indol-3-il-acético (**55**). Foram utilizados também talco puro de uso medicinal e o ácido indol-3-butírico (**AIB, 11**) como controles.

Para cada teste foram utilizadas 60 estacas, sendo estas divididas em três lotes com vinte exemplares cada. Um teste é constituído de três tratamentos, onde cada lote de estacas recebeu respectivamente: talco puro, **AIB**/talco e os compostos (**48** e **55**)/talco.



As estacas foram coletadas pela manhã, desfolhadas quase totalmente e cortadas para que apresentassem tamanhos aproximados. A base de cada estaca foi umedecida com água, submersa na substância presente em cada tratamento e transplantada para vasos de polietileno utilizando como substrato terra orgânica misturada com casca de arroz. As estacas foram armazenadas em casa de vegetação com umidade e ventilação controladas, durante dois meses. Após este período foram cortadas as raízes presentes nas estacas com o auxílio de uma lâmina. As raízes foram lavadas e secadas em papel toalha. As raízes foram colocadas separadamente em placas de Petri pré pesadas e mantidas em estufa na temperatura de  $60 \pm 5$  °C durante 78 horas. Posteriormente foram determinadas as massas secas das raízes.

Os dois compostos foram testados na concentração de 10 mg/g de talco e o **AIB** foi utilizado na mesma concentração.

O ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico foi testado durante os meses de julho a setembro (inverno).

O ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético foi testado durante os meses de outubro a dezembro (primavera). Os dados do ensaio foram tratados estatisticamente de acordo com o intervalo de confiança obtido da média das massas secas pelo Excel.

### **5.7.3 Bioteste de Pecíolos em *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem)**

Os compostos sintetizados utilizados para o bioteste de pecíolos foram o ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) e o ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**). Foram utilizados também água/acetona e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (**2,4-D**) como controle. Os compostos sintetizados e o 2,4-D foram testados nas concentrações de 50 e 100 ppm. No preparo de cada solução foram utilizados 5mL de acetona devido a baixa solubilidade destes compostos em água. As soluções de 2,4-D foram preparadas da mesma maneira, mesmo sendo este completamente solúvel em água, já que foi utilizado como controle.

As sementes de *Phaseolus vulgaris* foram inoculadas em placas de Petri sobre discos de papel filtro umedecidos com água destilada. As placas de Petri

foram incubadas em câmara de germinação com temperatura controlada a  $25 \pm 2$  °C e foto período de 16h/luz durante 4 dias, sendo distribuídas ao acaso . As sementes germinadas foram transplantadas para vasos de polietileno utilizando como substrato terra orgânica misturada com cascas de arroz. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com umidade e ventilação controladas durante 10 a 15 dias.

Os caules das plantas foram cortados próximos ao ponto de inserção dos pecíolos das folhas primárias. As lâminas foliares foram retiradas. Foram obtidas assim, peças em forma de y com mais ou menos 1 cm de cada lado (**Figura 22**). O contorno de cada peça foi desenhado em uma folha de papel e os ângulos entre os pecíolos foram medidos.



**Figura 22:** Peça em forma de y utilizada no bioteste de pecíolos em *P. vulgaris*.

As peças foram colocadas em placas de Petri (1 peça cada placa), com 5mL de solução conforme os tratamentos: água/acetona, ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético, e os compostos a serem avaliados. As plantas foram separadas por tratamento, sendo que cada um é constituído de 15 a 20 exemplares. As placas foram mantidas em câmara de germinação com temperatura controlada a  $25 \pm 2$  °C e foto período de 16h/luz durante 24 horas, sendo distribuídas ao acaso. Após este período foi desenhado o contorno de cada peça, medidos os ângulos entre os pecíolos e calculada a porcentagem de variação em relação à média dos ângulos iniciais para cada tratamento. Os dados do ensaio foram tratados estatisticamente de acordo com intervalo de confiança obtido da média das variações angulares pelo programa computacional Excel for Windows.

#### 5.7.4 Dominância Apical em *Phaseolus vulgaris* (feijão de vagem)

##### Procedimento Geral

As sementes de *Phaseolus vulgaris* foram inoculadas em placas de Petri sobre discos de papel filtro umedecidos com água destilada. As placas de Petri foram incubadas em câmara de germinação com temperatura controlada a  $25 \pm 2$  °C e foto período de 16h/luz durante 4 dias, sendo distribuídas ao acaso. As sementes germinadas foram transplantadas para vasos de polietileno utilizando como substrato terra orgânica misturada com cascas de arroz. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com umidade e ventilação controladas durante 10 a 15 dias. As plantas foram separadas em lotes, sendo que cada um recebeu 15 exemplares. Os ápices das plantas foram removidos com o auxílio de uma lâmina.

Para cada teste realizado foram utilizados 3 lotes de plantas, sendo que um lote corresponde a um tratamento. Cada planta recebeu na região do corte os respectivos tratamentos: lanolina pura, ácido indol-3-butírico (**AIB**)/lanolina e o composto/lanolina a ser avaliado, estes três tratamentos equivalem a um teste. As plantas foram observadas uma vez por semana durante 21 dias, e no último dia foram medidos o comprimento dos ramos a partir do corte do ápice.

Os compostos sintetizados utilizados para os testes de dominância apical foram o ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (**48**) e o ácido 5,6-mtilenodioxindol-3-il-acético (**55**). O ácido indol-3-butírico (**AIB**) e a lanolina pura de uso medicinal, foram utilizados como controle.

Os dois compostos foram testados nas concentrações de 10, 50 e 100 mg/g de lanolina e o AIB foi utilizado somente na concentração de 10 mg/g de lanolina.

## 6. PERSPECTIVAS

- Avaliar o 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-formaldeído (**65**) e o 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acetonitrila (**62**) quanto as suas propriedades reguladoras de crescimento vegetal.
- Otimizar as condições experimentais e/ou identificar reações alternativas de oxidação e redução dos intermediários (**47a**), (**48**) e (**65**).
- Otimizar as condições experimentais e/ou identificar reações alternativas para a preparação do ácido 3-(5,6-metilenodioxo-indol-3-il)-propiónico (**66**).
- Preparar o ácido 4-(5,6-metilenodioxo-indol-3-il)-butanóico.
- Estabelecer a relação estrutura química-atividade biológica dos ácidos indolil alifáticos em ensaios de indução de enraizamento caulinar.
- Ampliar os testes para avaliação da atividade reguladora de crescimento vegetal empregando diferentes espécies.

## 7. ANEXO I

**Tabela 2:** Dados estatísticos do teste de promoção de crescimento radicular de plântulas de *L. sativa* na presença do 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-carboxilato de metila (**47a**).

Número de Tratamentos	Tratamentos (M)	Média do comprimento (mm) das raízes	Desvio Padrão
1	Controle	27,58	0,92
2	$10^{-3}$	15,81	1,05
3	$10^{-4}$	17,19	1,28
4	$10^{-5}$	27,21	1,47
5	$10^{-6}$	22,46	1,27
6	$10^{-7}$	25,11	1,11
7	$10^{-8}$	23,64	1,08
8	$10^{-9}$	21,30	1,34

**Tabela 3:** Dados estatísticos do teste de promoção de crescimento radicular de plântulas de *L. sativa* na presença do ácido 5,6-metilenodioxil-indol-2-il-metanóico (**48**).

Número de Tratamentos	Tratamentos (M)	Média do comprimento (mm) das raízes	Desvio Padrão
1	Controle	27,95	0,85
2	$10^{-3}$	0,00	0,00
3	$10^{-4}$	12,35	0,69
4	$10^{-5}$	40,30	1,15
5	$10^{-6}$	35,05	0,95
6	$10^{-7}$	32,65	0,73
7	$10^{-8}$	31,35	1,28
8	$10^{-9}$	28,85	1,73

**Tabela 4:** Dados estatísticos do teste de promoção de crescimento radicular de plântulas de *S. bicolor* na presença do ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (48).

Número de Tratamentos	Tratamentos (M)	Média do comprimento (mm) das raízes	Desvio Padrão
1	Controle	45,00	2,04
2	$10^{-3}$	11,86	1,54
3	$10^{-4}$	27,32	1,63
4	$10^{-5}$	48,15	2,56
5	$10^{-6}$	52,97	1,61
6	$10^{-7}$	48,65	2,62
7	$10^{-8}$	50,70	1,74
8	$10^{-9}$	47,85	2,29

**Tabela 5:** Dados estatísticos do teste de promoção de crescimento radicular de plântulas de *S. bicolor* na presença do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (55).

Número de Tratamentos	Tratamentos (M)	Média do comprimento (mm) das raízes	Desvio Padrão
1	Controle	59,17	2,10
2	$10^{-3}$	20,75	0,85
3	$10^{-4}$	29,82	1,85
4	$10^{-5}$	60,40	2,70
5	$10^{-6}$	65,00	2,86
6	$10^{-7}$	57,97	2,61
7	$10^{-8}$	55,30	3,03
8	$10^{-9}$	56,45	2,62

**Tabela 6:** Dados estatísticos do teste de indução de enraizamento caulinar em *Malvaviscus arboreus* na presença do ácido 5,6-metilenodioxindol-2-il-metanóico (48).

Número de Tratamento	Tratamentos (10mg/g talco)	Média da massa seca (g) das raízes	Intervalo de confiança	Desvio Padrão
1	2-IDM	0,17	0,0106	0,058
2	IBA	0,33	0,0172	0,111
3	Talco	0,27	0,0154	0,097

**Tabela 7:** Dados estatísticos do teste de indução de enraizamento caulinar em *Malvaviscus arboreus* na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55).

Número de Tratamentos	Tratamentos (10mg/g talco)	Média da massa seca (g) das raízes	Intervalo de confiança	Desvio Padrão
1	3-IDA	0,55	0,026	0,176
2	IBA	0,49	0,046	0,305
3	Talco	0,37	0,070	0,467

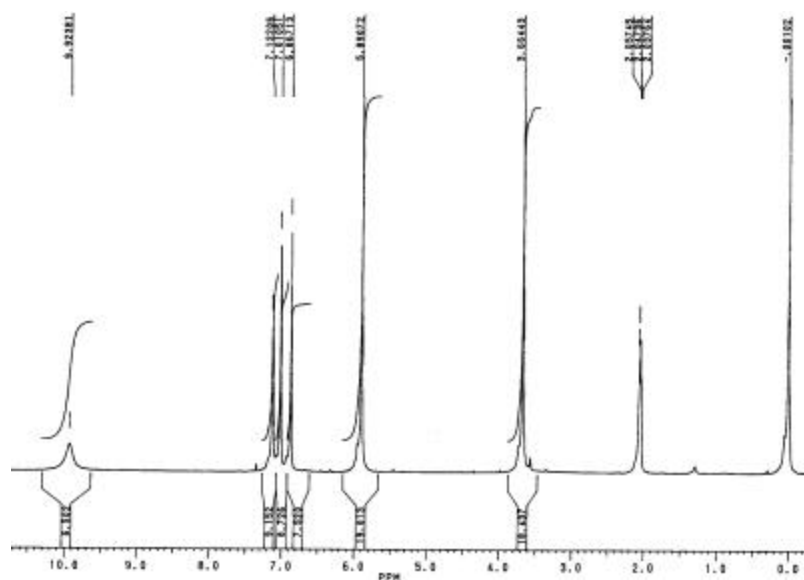
**Tabela 8:** Dados estatísticos do bioteste do pecíolos em *P. vulgaris* na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-2-il-metanóico (48).

Número de Tratamentos	Tratamentos (ppm)	Média da variação de ângulo (%)	Intervalo de confiança	Desvio Padrão
1	2-IDM (50)	45,92	3,52	23,40
2	2-IDM (100)	49,00	1,53	10,21
3	2,4-D (50)	51,24	5,46	36,26
4	2,4-D (100)	56,27	4,34	28,82
5	Controle	40,92	3,43	22,77

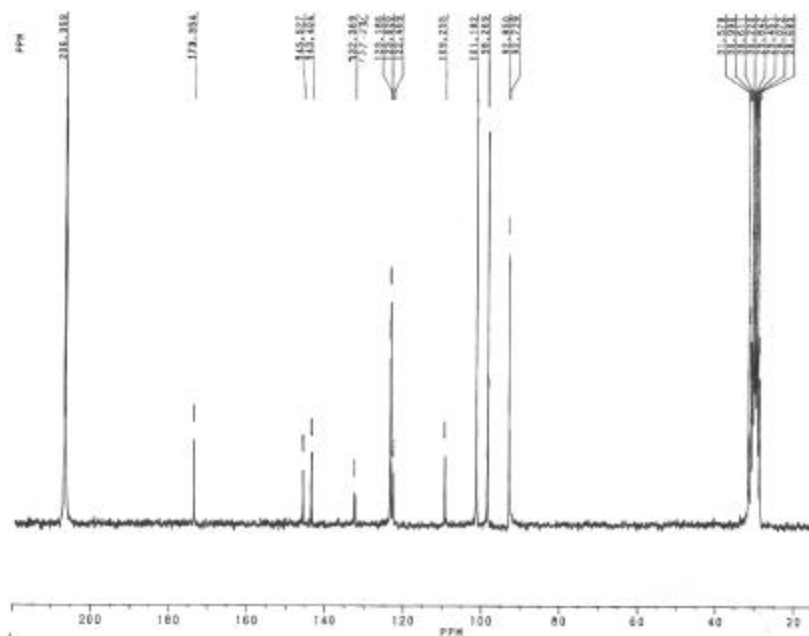
**Tabela 9:** Dados estatísticos do bioteste do pecíolos em *P. vulgaris* na presença do ácido 5,6-metilenodioxo-indol-3-il-acético (55).

Número de Tratamentos	Tratamentos (ppm)	Média da variação de ângulo (%)	Intervalo de confiança	Desvio Padrão
1	3-IDA (50)	70,75	4,40	29,16
2	3-IDA (100)	80,85	3,65	24,20
3	2,4-D (50)	61,3	5,40	35,83
4	2,4-D (100)	54,67	4,65	30,88
5	Controle	40,92	3,43	22,77

## 8. ANEXO II



**Espectro 1** – Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**). (200 MHz, acetona- $d_6$ ).



**Espectro 2** – Espectro de ressonância magnética nuclear de carbonos do ácido 5,6-metilenodioxindol-3-il-acético (**55**). (200 MHz, acetona- $d_6$ )



## 9. ANEXO III

### 9.1 Publicação em Periódico

⇒ ROSA, F. A. F.; NASCIMENTO, M. G.; REBELO, R. A.; “***Synthesis of New Indolecarboxylic Acids Related to the Plant Hormone Indoleacetic Acid AIA***”, Journal Brazilian Chemical Society, **14**, 1, 11-15, (2003).

### 9.2 Comunicações em Congressos

⇒ ROSA, F. A. F.; NASCIMENTO, M. G.; REBELO, R. A.; Síntese de Novos Reguladores de Crescimento Vegetal Relacionados ao Ácido Indol Acético, 23<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG, 23 a 26/05, QO-156, **2000**.

⇒ ROSA, F. A. F.; NASCIMENTO, M. G.; REBELO, R. A.; PESCADOR, R.; Avaliação da Atividade Regulatória de Crescimento de Compostos Análogos ao Ácido Indolacético em Sementes de Alface, 23<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG, 23 a 26/05, QB-10, **2000**.

⇒ ROSA, F. A. F.; NASCIMENTO, M. G.; REBELO, R. A.; PESCADOR, R.; Avaliação da Atividade Regulatória de Crescimento Utilizando Composto Análogo ao Ácido Indolacético em Sementes de Sorgo, 51<sup>o</sup> Congresso Nacional de Botânica, Brasília, DF, **2000**.

⇒ ROSA, F. A. F.; NASCIMENTO, M. G.; REBELO, R. A.; PESCADOR, R.; Synthesis of Potential Plant Growth Regulators Related to Indolacetic Acid, 9<sup>th</sup> Brazilian Meeting on Organic Synthesis, Curitiba, PR, 20 a 24/08, PS-122, **2001**.

⇒ ROSA, F. A. F.; NASCIMENTO, M. G.; REBELO, R. A; RANDI, A. M.; Indução do Enraizamento em Estacas de *Hibiscus sinencis* por Ácidos Indólicos Derivados do Safrol, 25<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG, 20 a 23/ 05, QB-15, **2002**.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RAVEN, Peter H.; EVERT, Ray F.; EICHHORN, Susan E.; ***Biologia vegetal. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: Os hormônios vegetais***. Cap. 26, Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 648-675, **2001**.
2. [www. \*\*Plant Hormones.bbsrc.ac.uk/education/keni.htm\*\*](http://www.PlantHormones.bbsrc.ac.uk/education/keni.htm) – Importance of plant hormones in biotechnology, **1999**.
3. [www. \*\*Plant Hormones.bbsrc.ac.uk/education/keni.htm\*\*](http://www.PlantHormones.bbsrc.ac.uk/education/keni.htm) – Plant hormones and plant growth regulators, **1999**.
4. PETER, D. J.; ***Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology***. 2ª edição, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1-65, **1995**.
5. SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W.; ***Fisiologia vegetal***. Cap. 17, Grupo Editorial Iberoamérica, México, 395-410, **1994**.
6. KENDE, H.; ZEEVAART, J. A. D.; The five classical plant hormones. ***The Plant Cell***, 9, 1197-1210, **1997**.
7. CREELMAN, A. Robert; MULLET, E. John; Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development and gene expression. ***The Plant Cell***., 9, 1211-1223, **1997**.
8. CREELMAN, A. Robert; MULLET; Biosynthesis and action of jasmonates in plants. ***Annu. Rer. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.***, 48, 355-81, **1997**.
9. GALSTON, W. A.; SAWHNEY, K. Ravindar; Polyamines in plant physiology. ***Plant Physiol.***, 94, 406-410, **1990**.

10. TERRY, Roberts; ***Metabolic pathways of agrochemicals-part 1: herbicides and plant growth regulators***. Royal Society Chemistry, Cambridge, UK. 775, **1998**.
11. COHEN, J. R.; BANDURSKI, R. S.; Chemistry and physiology of the bounds auxins. ***Annu. Rev. Plant Physiol.*** 33, 403, 430.
12. MAcMILLAN, J.; Hormonal regulation of development I. Molecular aspects of plant hormones. ***Encyclopedia of plant physiology***. New Series, Springer, Berlin, 9, 681, **1980**.
13. ROBERTS, J. A.; HOOLEY, R.; ***Plant growth regulators***. Blackie, Glasgow, 190, **1988**.
14. TAIZ, Lincon; ZEIGER, Eduardo; ***Plant physiology***. 2<sup>a</sup> edição, Sinauer, Sunderland, Massachussetts, 549-551, **1998**.
15. HOOYKAAS, P. J. J.; HALL, M. A.; LIBBENGA, K. R.; ***Biochemistry and molecular biology of plant hormones***. Elsevier Science B. V., 116-119, **1999**.
16. <http://www.bio.metu.edu.tr/~e068741/project/aixin.html>, **2000**.
17. SHINGO, Marumo; MASATO, Katayama; Indoleacetic acid derivative and production thereof. ***Patent Abstracts of Japan***. 62077366 A, **1987**.
18. SHINGO, Marumo; MASATO, Katayama; Novel indoleacetic acid derivative. ***Patent Abstracts of Japan***. 01228962 A, **1989**.
19. SHIGERU, Torii; HIDEO, Tanaka; YASUO, Murakami; et al.; Production of dichloroindoleacetic acid derivative. ***Patent Abstracts of Japan***. 01047763 A, **1989**.

20. MASANORI, Somei; YASUICHI, Hirai; SEIICHI, Fujii; et al.; Plant growth regulator. ***Patent Abstracts of Japan***. 02085251 A, **1990**.
21. NORMAN, A. G.; New growth-regulating compounds. Summary of growth inhibitory activities of some organic compounds as determined by three test. ***Botanical Gazette***. 107, 476-507, **1946**.
22. KATEKAR, G. F.; GEISSLER, A. E.; Auxins II: The effect of chlorinated indolacetic acid on pea stems. ***Phytochemistry***, 21, 257-260, **1982**.
23. KOJIC-PRODIC, Biserka; MAGNUS, Volker; ANTOLIC, Snjezana; TOMIC, Sanja; SALOPEK-SONDI, Branka; Structure/activity correlations for auxins. ***Acta Bot. Croat.***, 58, 27-37, **1999**.
24. VENIS, Michael, A.; THOMAS, Emrys W.; Synthesis and auxin activity of 5-substituted 1-naphthaleneacetic acid. ***Phytochemistry***, 29, 2, 381-383, **1990**.
25. REINECKE, Dennis, M.; OZGA, Jocelyn A.; MAGNUS, Volker; Effect of halogens substitution of indole-3-acetic acid on biological activity in pea fruit. ***Phytochemistry***, 40, 5, 1361-1366, **1995**.
26. NIGOVIC, Biljana; ANTOLIC, Snjezana; KOJIC-PRODIC, Biserka; KIRALJ, Rudolf; MAGNUS, Volker; SALOPEK-SONDI, Branka; Correlations of structural and physico-chemical parameters with the bioactivity of alkylated derivatives of indole-3-acetic acid, a phytohormone (auxin). ***Acta Crystallographica Section B***, 56, 94-111, **2000**.

27. ANTOLIC, Snjezana; KOJIC-PRODIC,; TOMIC, Sanja; NIGOVIC, Biljana; MAGNUS, Volker; COHEN, Jerry D.; Structural studies on monofluorinated derivatives of the phytohormone indole-3-acetic acid (Auxin). **Acta Cryst. B 52**, 651-661, **1996**.
28. GILCHRIST, T. L.; **Heterocyclic chemistry**. Cap. 6, Longman Scientific & Technical, New York, 161, 165, **1985**.
29. JOULE, J. A.; SMITH, G. F.; **Heterocyclic chemistry**. Cap.21, 2ª edição, Van Nostrand Reinhold (International), London, , 257, **1978**.
30. JOULE, J. A.; MILLS, K.; SMITH G. F.; **Heterocyclic chemistry**. Cap. 17, 3ª edição, Chapman & Hall, Londres, 305, **1995**.
31. KATRITZKY, Alan R.; REES, Charles W.; **Comprehensive heterocyclic chemistry**. Cap.3, 1ª edição, Londres, 319, 320, 334, **1984**.
32. LIPINSKA, T.; GUIBÉ-AMPEL, E.; PETIT, A.; LOUPY, A.; 2-(2-Pyridyl)indole derivatives preparation via Fischer reaction on montmorillonite K10/zinc chloride under microwave irradiation. **Synth. Commun.**, 29, 1349-1354, **1999**.
33. GRIBBLE, G. W.; Recent developments in indoles ring synthesis- methodology and applications. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. I**, 1045-1075, **2000**.
34. ELDERFIELD, Robert C.; **Heterocyclic compounds**. Cap. 1, vol. 3, Editora John Wiley & Sons, Inc., New York, 16, 18, **1952**.
35. PAQUETTE, Leo A.; **Modern heterocyclic chemistry**. Cap. 5, W. A. Benjamin, Inc., Nova York, 155, 157, **1968**.

36. MEWSHAW, R. E.; MARQUIS, K. L.; Shi, X.; McGAUGHEY, G.; STACK, G.; WEBB, J. A.; ABOU-GHARBIA, M.; WASIK, R. S.; SPANGLER, T.; BRENNAN, J. A.; MAZANDARANI, H.; COUPET, J.; ANDREE, T. H.; New generation dopaminergic agents 4. Exploiting the 2-methyl chroman scaffold. Synthesis and evaluation of two novel series of 2-(aminomethyl)-3,4,7,9-tetrahydro-2H-pyrano[2,3-e]indole and indol-8-one derivatives. ***Tetrahedron***, 54, 7081-7108, **1998**.
37. MOODY, C. J.; SWANN, E.; N-H Insertion reactions of rhodium carbenoids: a modified Bischler indole synthesis. ***Synlett***, 135-136, **1998**.
38. SUNDBERG R. J.; Deoxygenation of nitro groups by trivalent phosphorus. indoles from *o*-nitrostyrenes. ***J. Org. Chem.***, 30, 3604, **1965**.
39. SUNDBERG R. J.; Indoles from *o*-nitrostyrenes. Synthesis and reactions of 2-indolyl 4-piperidylmethylketone. ***J. Org. Chem.***, 33, 2, 487, **1968**.
40. CADOGAN, J. I. G.; CAMERON-WOOD, M., Mackie, R. K.; SEARLE, R. J. G.; The reactivity of organophosphorus compounds. Part XIX. Reduction of nitro-compounds by triethylphosphite: a convenient new route to carbazoles, indoles, indazoles, triazoles, and related compounds. ***J. Chem. Soc.***, 4831, **1965**.
41. SUNDBERG R. J.; YAMAZAKI, Toshio; Rearrangements and ring expansions during the deoxygenation of *b,b*-disubstituted *o*-nitrostyrenes. ***J. Org. Chem.***, 32, 290, **1967**.
42. HOLZAPFEL, C. W.; DWYER, C.; Stille and Suzuki cross coupling reactions of *o*-nitrophenyl triflates: A versatile route to a variety of heterocycles. ***Heterocycles***, 48, 1513-1518, **1998**.

43. JESUDOSS, K.; SRINIVASAN, P. C.; Synthesis of 2,2'-biindolyls; potential intermediates for indolcarbazole alkaloids. ***Synth. Commun.***, 24, 1701-1708, **1994**.
  
44. MOLINA, P.; ALCÁNTARA, J.; LÓPEZ-LEONARDO, C.; Regiospecific intramolecular ring-closure of heterocumulene-substituted indoles: formation of *g*-carbolines and pyrimido[3,4-*a*]indoles. ***Tetrahedron Lett.***, 36, 953-956, **1995**.
  
45. MOLINA, P.; ALCÁNTARA, J.; LÓPEZ-LEONARDO, C.; Regiospecific preparation of *g*-carbolines and pyrimido[3,4-*a*]indole derivatives by intramolecular ring-closure of heterocumulene-substituted indoles. ***Tetrahedron***, 52, 5833-5844, **1996**.
  
46. HICKEY, Deirdre M. B.; MOODY, Christopher J.; REES, Charles W.; Vinyl azides in heterocyclic synthesis. Part 2. Selectivity in the decomposition of azidocinnamates with olefinic ortho-substituents. ***J. Chem. Soc. Perkin Trans. I***, 113, **1986**.
  
47. HENN, Lothar; HICKEY, Deirdre M. B.; MOODY, Christopher J.; REES, Charles W.; Formation of indoles, isoquinolines, and other fused pyridines from azidoacrylates. ***J. Chem. Soc. Perkin Trans I***. 2189, **1984**.
  
48. MOODY, Christopher J.; Regioselective claisen rearrangements in indoles. ***J. Chem. Soc. Perkin Trans. I***, 1333, **1984**.
  
49. LABARCA, Carmen V.; MACKENZIE, A. Roderick; MOODY, Christopher J.; REES, Charles W.; VANQUERO, Van J.; Vinyl azides in heterocyclic synthesis. Part 7. Synthetic studies on the cytotoxic marine alkaloid amphimedine. ***J. Chem. Soc. Perkin Trans. I***, 927, **1987**.



50. SADANANDAN, Eyyani V.; PILLAI, Sasi K.; LAKSHMIKANTHAM, M. V.; et. al; Efficient synthesis of the marine alkaloids makaluvamine D and discorhabdin C: the 4,6,7-trimethoxyindole approach. **J. Org. Chem.**, 60, 1800-1805, **1995**.
51. ALLEN, Michael S.; HAMAKER, Linda K.; LOGGIA, Anthony J. La; COOK, James M.; Entry into 6-methoxy-D(+)-tryptophans. Stereospecific synthesis of 1-benzenesulfonyl-6-methoxy-D(+) tryptophan ethyl ester. **Synthetic Communications**, 22 (14), 2077-2102, **1992**.
52. DING, Qizhu; CHICHAK, Kelly; LOWN, J. William; Pyrroloquinoline and pyridoacridine alkaloids from marine sources. **Current Medicinal Chemistry**, 6, 1-27, **1999**.
53. KRAUS, G. A.; SELVAKUMAR, N.; Preparation of a key tricyclic intermediate for the synthesis of pyrroloiminoquinone natural products. **Synlett**, 845-846, **1998**.
54. HE, F.; BO, Y.; ALTOM, J. D.; COREY, E. J.; Enantioselective total synthesis of aspidophytine. **J. Am. Chem. Soc.**, 121, 6771, **1999**.
55. HUEBNER, C., F.; TROXELL, H., A.; SCHROEDER D., C.; A Dimethoxy substituted harman and other compounds derived from 5,6-dimethoxyindole. **J. Am. Chem. Soc.**, 75, 5887-5890, **1953**.
56. FUKUYAMA, A. K.; IWATSUKI, C.; KODAMA, M.; OCHI, M.; KATAOKA, K.; Antimicrobial indolequinones from the mid-intestinal gland of the muricid gastropod *drupella fragum*. **Tetrahedron**, 54,10007, **1998**.
57. FUKUYAMA, T.; CHEN, X.; Stereocontrolled synthesis of (-)-hapalindole G. **J. Am. Chem. Soc.**, 116, 3125, **1994**.

58. YANG, L. -M.; CHEN, C. -F.; LEE, K. -H.; Synthesis of rutaecarpine and cytotoxic analogues. ***Bioorg. Med. Chem. Lett.***, 5, 465, **1995**.
59. NOVELLINO, L.; D'ISCHIA M.; PROTA, G.; Expedient synthesis of 5,6-dihydroxyindole and derivatives via an improved Zn(II)-assisted 2,*b*-dinitrostyrene approach. ***Synthesis***, 793, **1999**.
60. COSTA, P. R. R.; Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. ***Química Nova***, 23 (3), 357-369, **2000**.
61. BARREIRO, E. J.; COSTA, P.R. R.; BARROS, P. R. V. R.; QUEIROZ, W. M.; An improved synthesis from natural safrole of indole derivatives related to indomethacin. ***J. Chem. Research (S)***, 102-103, **1982**.
62. REBELO, Ricardo A.; ***Synthetic approaches to cytotoxic pyridoacridine alkaloids***. East Anglia, Norwich, Inglaterra; Tese de Doutorado, 99, **1992**
63. RAMADAS, Krishnamurthy; SRINIVASAN, Natarajan; Iron-ammonium chloride a convenient and inexpensive reductant. ***Synthetic Communications***, 22 (22), 3189-3195, **1992**.
64. DALLACKER, F.; BERNABEI, D.; Derivative des methylenedioxybenzols, 22. Mitt.1: Über die synthese von indol derivaten der methylenedioxybenzolreihe. ***D. Monatsh. Chem.***, 98, 785, **1967**.
65. TORSSEL, K. B. G.; ***Natural product chemistry***. John Wiley & sons, Chichester, **1983**.
66. WEISS, V. EDWARDS, J. M.; ***The biosynthesis of aromatic compounds***. John Wiley & Sons, Chichester, **1983**.

67. WARD, R. S.; *Nat. Prod. Rep.*, 10, 183, 1993.
68. MACARAE, W. D.; TOWERS, G. H. N.; Biological activities of lignans. *Phytochemistry*, 23, 1207-1220, 1984.
69. SHAMMA, M.; *The isoquinoline alkaloids*. Academic Press, New York, 1972.
70. LIMA, L. M.; ORMELLI, C. B.; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J.; New antithrombotic aryl-sulfonylthiosemicarbazide derivatives synthesized from natural safrole. *J. Braz. Chem. Soc.*, 10, 5, 421-428, 1999.
71. COSTA, P. R. R.; BARREIRO, E. J.; BARROS, P. R. V. R.; QUEIROZ, W. M.; An improved synthesis from natural safrole of indole derivatives related to indomethacin. *J. Chem. Res. (M)*, 1142, 1982.
72. COSTA, P. R. R.; BARREIRO, E. J.; FARIAS, F. M. C.; COELHO, F. A.S.; Prostaglandin analogues; the synthesis of new prostanoids from natural safrole. *Química Nova*, 5, 112, 1984.
73. BARREIRO, E. J.; FRAFA, C. A. M.; A Utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafráz, na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: anti-inflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos. *Química Nova*, 22 (5), 744-759, 1999.
74. PEREIRA, E. F. R.; PEREIRA, N. A.; LIMA, M. E. F.; COELHO, F. A. S.; BARREIRO, E. J.; Anti-inflammatory properties of new bioisosteres of indomethacin synthesized from safrole which are sulindac analogues. *Brazilian J. Med. Bio. Res.*, 22, 1415-1419, 1989.

75. BARREIRO, E. J.; COSTA, P. R. R.; MELLO, R. T.; BARROS, P. R. R. V.; Utilização de sintons naturais na preparação de compostos biologicamente ativos. II: anti-inflamatórios. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, 53, 1, 65-67, **1981**.
76. GILCHRIST, T. L.; Activated 2H-Azirines as Dienophiles and electrophiles. **Aldrichimica Acta**, 34, 2, 51-55 **2001**.
77. ZWEIFEL, G.; HAHN, G.R.; SHOUP, T. M.; Exceptionally facile reduction of carboxylic esters to aldehydes by lithium aluminum hydride in the presence of diethylamine. **J. Org. Chem.**, 52, 5486-5487, **1987**.
78. BROWN, H. C.; RAO, B. C. S.; A new powerful reducing agent-sodium borohydride in the presence of aluminum chloride and other polyvalent metal halides. **J. Am. Chem. Soc.**, 78, 2582, **1956**.
79. BECKER, H.; BERGER, W.; DOMSCHKE, G.; FANGHÄNEL, E.; et al.; **Organikum, Química Orgânica Experimental**, 5<sup>a</sup> edição, Fundação Calouste Gulbenkian, 634-638, **1965**.
80. Vogel, A.; **Vogel's Textbook of practical organic chemistry**. New York, Longman, **1978**.
81. CADOGAN, J. I. G.; Redution of nitro-and nitroso compounds by tervalent phosphorus reagents. **Quart. Reviews**, 22, 222, 232, **1986**.
82. CHI-MING, C.; YU-FEI, F.; TSANG-HSIUNG, Y.; Synthesis of (±)-annonelliptine and (±) anomoline. **J. Of Natural Products**, 58, 11, 1767-1771, **1995**.
83. SINHABABU, A. K.; BORCHARDT, R. T.; Silica gel assisted reductive cyclization of alkoxy-2,*b*-dinitrostyrenes to alkaxyindoles. **J. Org. Chem.**, 48, 3347, **1983**.

84. BONTEMPS, N.; DELFOURNE, E.; BASTIDE, J.; FRANCISCO, C.; BRACHER, F.; Total synthesis of the marine pentacyclic alkaloid meridine. *Tetrahedron*, 53, 5, p. 1743-1750, **1997**.
85. FORD-MOORE, A. H.; PERRY, B. J.; *Org. Syn. Coll.*, IV, 111-113, **1963**.
86. DAVE, V.; WARNHOFF, E. W.; The reactions of diazoacetic esters with alkenes, alkynes, heterocyclic and aromatic compounds. *Org. React.*, 18, 3, 238-239, **1970**.
87. JACKSON, R. W.; MANSKE, R. H.; The reaction products of indoles with diazoesters. *Can. J. Res., Sect B*, 13, 170, **1935**.
88. BADGER, G. M.; CHRISTIE, B. J.; RODDA, H. J.; PRYKE, J. M.; Polynuclear heterocyclic systems. The reaction of ethyl diazoacetate with naphthalene and its heterocyclic analogues. *J. Chem. Soc.*, 1179-1184, **1958**.
89. WENKERT, E.; ALONSO, M. E.; GOTTIEB, H.E.; SANCHEZ, E. L.; Reactions of ethyl diazoacetate with thianaphthene, indoles and benzofuran. *J. Org. Chem.*, 42, 3945-3949, **1977**.
90. ADAMS, R.; LANGLEY, W. D.; *Org. Syn. Coll.*, 1, 355-357, **1941**.
91. MARVEL, C. S.; *Org. Syn. Coll.*, 2, 310-312, **1943**.
92. SEARLE, N. E.; *Org. Syn. Coll.*, 4, 424-426, **1963**.
93. SNYDER, H. R.; SMITH, C. W.; STEWART, J. M.; Carbon-alkylation with quaternary ammonium salts. A new approach to the synthesis of compounds containing the *b*-indolemethylene group. *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 200-204, **1944**.

94. SNYDER, H. R.; PILGRIM, F.; The preparation of 3-indoleacetic acid; a new synthesis of tryptophol. **J. Am. Chem. Soc.**, 70, 3770-3771, **1948**.
95. KÜHN, H.; STEIN, O.; Über kondensationen von indolen mit aldehyden und sekundären aminen, I. Mitteil.: eine neue gramin-synthese. **Ber.**, 70, 567-569, **1937**.
96. SNYDER, H. R.; SMITH, C.W.; A convenient synthesis of *dl*-tryptophan. **J. Am. Chem. Soc.**, 66, 350-351, **1944**.
97. FLAUGH, M.E.; CROWEL, T. A.; CLEMENS, J. A.; SAWYER, B. D.; Synthesis and evaluation of the antiovolatory activity of a variety of melatonin analogues. **J. Med. chem.**, 22, 63-69, **1979**.
98. SCHMIDT, J.; SCHÄFER, H. J.; Oxidation of hydrocarbons with benzyl(triethyl)ammonium permanganate. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, 1, 18, 68-69, **1979**.
99. WEBER, E.; CSÖREGH, I.; STENSLAND, B.; CZUGLER, M.; A novel clathrate desing: selective inclusion of uncharged molecules via the binaphthyl hinge and appended coordinating rroups. X-ray, crystal structures and binding modes of 1,1'-binaphthyl-2,2'-dicarboxylic acid host/ hydroxylic guest inclusions. **J. Am. Chem. Soc.**, 106, 3297-3306, **1984**.
100. HUDLICKY, M.; **Oxidations in organic chemistry**. American Chemical Society: Washington, DC, 176-177, 220, 279-280, **1990**.
101. JOHNSON, H. E.; CROSBY, D. G.; 3-Indolepropionic acid. **J. Org. Chem.**, 25, 569-570, **1960**.
102. OIKAWA, Y.; HIRASAWA, H.; YONEMITSU, O.; Meldrum's acid in organic synthesis. 1. A convenient one-pot synthesis of ethyl indolepropionates. **Tetrahedron Letters**, 20, 1759-1762, **1978**.

103. FARLOW, D. S.; FLAUGH, M. E.; HORVATH, S. D.; LAVAGNINO, E. R.; PRANC, P.; Two efficient synthesis of indole-3-propionic esters and acids. further applications of Meldrum's acid. ***Organic Preparations and Procedures Int.***, 13, 39-48, 1981.
104. OIKAWA, Y.; HIRASAWA, H.; YONEMITSU, O.; Meldrum's acid in organic synthesis. V. Versatile one-pot synthesis of indolepropionic esters via simultaneous condensation of three different carbon components, indole, aldehydes and Meldrum's acid. ***Chem. Pharm. Bull.***, 30, 3092-3096, 1982.
105. JEANNIN, L.; NAGY, T.; VASSILEVA, E.; SAPI, J.; LARONZE, J. Y.; A general preparation of *b*-substituted tryptophan esters. ***Tetrahedron Lettres***, 36, 2057-2058, 1995.
106. NEMES, C.; LARONZE, J. Y.; Trimolecular condensation of substituted indoles with paraformaldehyde and Meldrum's acid. Convective heating versus microwave irradiation: comparative study. ***Synthesis***, 2, 254-257, 1999.
107. RAJESWARAN, W. G.; LABROO, R. B.; COHEN, L. A.; Synthesis of 5-[(indol-2-on-3-yl)methyl]-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-diones and spiro-cyclopropyloxindole derivatives. Potential aldose reductase inhibitors. ***J. Org. Chem.***, 64, 1369-1371, 1999.
108. DAVIDSON, D.; BERNHARD, S.; The structure of Meldrum's supposed *b*-lactonic acid. ***J. Chem. Soc.***, 70, 3426, 1948.
109. GEORGE, E. F.; ***Plant propagation by tissue culture, Part 1 the technology***. 2<sup>a</sup> edição, Exegetics limited, Inglaterra, 420-434, 1993.
110. MILLER, E. V.; ***Fisiologia vegetal***. Union Tipografica Editorial Hispano Americana, México, 205-214, 1967.

111. MAESTRI, M.; ALVIM, P. T.; SILVA, M. A. P.; MOSQUIM, P. R.; PUSCHMANN, R.; CANO, M. A. O.; BARROS, R. S.; ***Fisiologia vegetal (Exercícios Práticos)***, 1ª edição, 2ª reimpressão, Editora UFV, Viçosa, MG, 84-85, **1998**.
  
112. LOEWENTHAL, H. J. E.; ZASS, E.; ***A guide for the perplexed organic experimentalist***, Cap. 6, 2ª edição, John Wiley & Sons Ltda, New York, 160-173, **1990**.
  
113. ***Aldrich handbook of fine chemicals and laboratory equipment***, 260, **2000-2001**.



