

Eclética Química

Print version ISSN 0100-4670 *On-line version* ISSN 1678-4618

Eclet. Quím. vol.26 São Paulo 2001

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702001000100002>

SÍNTESE E ATIVIDADE FITOTÓXICA DE AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO 6a,7b-DI-HIDROXIVOUACAPAN-17b-ÓICO*

Valdenir José BELINELO**

Dorila PILÓ-VELOSO**

Eduardo Euclides de Lima e BORGES***

Dalton Luiz Ferreira ALVES****

Genuína Teixeira REIS*****

RESUMO: O ácido 6a,7b-di-hidroxivouacapan-17b-óico foi isolado das sementes de *Pterodon polygalaeiflorus* Benth (Leguminosae) e então dez novas amidas derivadas deste ácido foram preparadas. Os efeitos destas amidas na germinação de sementes de *Sorghum bicolor* L. e *Cucumis sativus* L. foram avaliados. Nove compostos, a uma concentração de 100 ppm, mostraram um efeito inibitório (5-21%) no crescimento radicular de *C. sativus* L.. A N-(t-butil)-6a,7b-di-hidroxivouacapan-17b-amida mostrou a maior ação inibitória (33%) para *S. bicolor* L.. Somente a N-benzil-6a,7b-di-hidroxivouacapan-17b-amida mostrou efeito estimulatório no crescimento radicular para *C. sativus* L. e *S. bicolor* L., de 16% e 34% respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Diterpeno; amida; herbicida.

Introdução

Desde a descoberta do herbicida sintético, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), em 1946, a indústria de agroquímicos se desenvolveu enormemente, e hoje há um grande número de herbicidas seletivos para diversas culturas.³² O mercado mundial de agroquímicos movimenta em torno de US\$ 30 bilhões e, no Brasil, essa indústria tem crescido continuamente, sendo que em 1997 as vendas desses produtos atingiram US\$ 2.1 bilhões.^{1,14}

Um dos principais problemas associados ao uso de herbicidas é o aparecimento de espécies

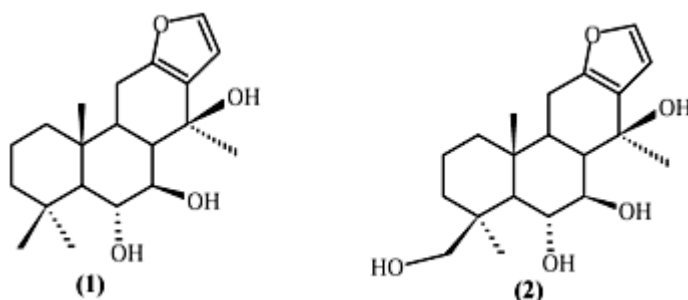
resistentes aos mesmos e, como consequência disso, existe uma demanda crescente por novos compostos, que possuam mecanismos de ação diferentes dos herbicidas em uso.^{15,16}

Os produtos naturais se constituem fontes de novas estruturas com diversas atividades biológicas, e têm servido de modelo para o desenvolvimento de novos agroquímicos.^{6,9,10}

Dentre as diversas classes de produtos naturais, observa-se que muitos monoterpenos e sesquiterpenos possuem atividade alelopática e, portanto, podem servir de modelo para o desenvolvimento de novos herbicidas. Entretanto, pouca informação sobre atividade alelopática causada por diterpenos é encontrada na literatura.^{12,13,23,25,32}

Dentro de um programa que visa o desenvolvimento de novos herbicidas a partir de produtos naturais, mostrou-se recentemente que os compostos (1) e (2), furanoditerpenos isolados de *Pterodon polygalaeiflorus* Benth, juntamente com o ácido 6a,7b-di-hidroxivouacapanóico (ADV) (C₂₀H₂₈O₅) (3), possuem atividade fitotóxica sobre plantas de sorgo e pepino.^{7,8} O ADV e seus derivados também apresentam atividades anti-inflamatória e analgésica.^{17,18,19,21,26,27}

Dando continuidade à pesquisa por novos derivados do ADV com potencial atividade herbicida, neste trabalho é apresentada a síntese de novas amidas e os resultados dos ensaios biológicos realizados.



Experimental

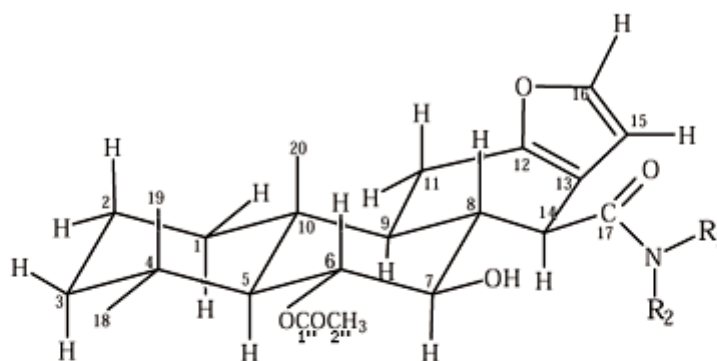
Os pontos de fusão dos compostos sintetizados foram determinados em aparelho METTLER FP82HT e não foram corrigidos. As análises por cromatografia em camada delgada foram realizadas utilizando placas de sílica-gel (MERCK Kieselgel 60, com 0,25 mm) ou placas preparadas com sílica-gel 60 G. Para todas as análises cromatográficas em coluna foi utilizada sílica-gel 60 (70-230 Mesh-ASTM, Merck) como fase estacionária. Nas reações foram utilizados solventes de grau P.A. devidamente purificados e adequadamente armazenados, segundo PERRIN & ARMAREGO.²² As análises elementares foram efetuadas no aparelho PERKIN ELMER 2400. Os espectros no infravermelho foram obtidos nos espectrômetros MATTSON FTIR 3000 e SHIMADZU IR 40 por meio de pastilhas em KBr ou emulsão em nujol. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (400 e 200 MHz) e carbono 13 (100 e 50 MHz) foram obtidos, respectivamente, nos espectrômetros BRUKER *AVANCE* DRX 400 e DPX 200. Os solventes utilizados foram CDCl₃, D₂O ou piridina-d₅, e o tetrametilsilano (TMS) foi utilizado

como padrão interno de referência ($d=0$).

Procedimento sintético geral para o preparo de amidas

A um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados THF (25 mL), a lactona (4) (186 mg; 0,5 mmol) e a amina apropriada (5 mmol). O sistema foi mantido sob agitação magnética à temperatura ambiente, de 1,5 a 12 horas, até que análise da mistura reacional por cromatografia em camada delgada revelasse o completo consumo do material de partida. A mistura foi então vertida sobre água (25 mL) e deixada em repouso para volatilização do THF e consequente precipitação do produto desejado. Após filtração, o precipitado obtido foi secado e purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se como eluente éter dietílico e diclorometano (2:3). Todos os compostos sintetizados foram obtidos como sólidos brancos. As estruturas, tempos de reação, rendimentos e temperaturas de fusão dos mesmos são apresentados na [Tabela 1](#).

Tabela 1 – Estruturas, dados físicos e parâmetros específicos das reações de obtenção das amidas sintetizadas



Composto	R ₁	R ₂	Tempo de reação(h)	Fórmula molecular	Rendimento (%)	T _f (C)
5	H	Et	1,5	C ₂₄ H ₃₅ NO ₅	88	112-113
6	H	Pr	3	C ₂₅ H ₃₇ NO ₅	81	95-98
7	H	<i>i</i> -Pr	6	C ₂₅ H ₃₇ NO ₅	85	172-176
8	Et	Et	12	C ₂₆ H ₃₉ NO ₅	85	231-233
9	Me	Me	1,5	C ₂₄ H ₃₅ NO ₅	62	220-222
10	H	Bu	6	C ₂₆ H ₃₉ NO ₅	75	143-146
11	H	<i>t</i> -Bu	8	C ₂₆ H ₃₉ NO ₅	92	201-205
12	H	Benzil	8	C ₂₉ H ₃₇ NO ₅	65	110-112
13	H	-CH ₂ CH ₂ NH ₂	4	C ₂₄ H ₃₆ N ₂ O ₅	80	120-122
14	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -		6	C ₂₇ H ₃₉ NO ₅	69	227-228

N-Etil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (5): IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3300, 2920, 2850, 1750, 1660, 1550, 1520, 1300, 1270, 1220, 1250, 1140, 1080, 1050, 1030, 970, 910, 850. RMN de

^1H (CDCl_3 , 400 MHz) d: 0,93 (s, CH_3 - 20), 1,02 (s, CH_3 - 19), 1,08 (s, CH_3 - 18), 1,16 (t, $J_{2,1} = 7,2$ Hz, H2), 0,90-1,80 (m, H1, 2, 3, 5 e 9), 2,10 (s, OCOCH_3), 2,22-2,33 (ddd, $J_{8,14} = 8,6$ Hz, $J_{8,7} = 10,0$ Hz, $J_{8,9} = 12,0$ Hz, H8), 2,33-2,44 (ddd, $J_{\text{gem}} = 16,1$ Hz, $J_{11a,9} = 11,5$ Hz, $J_{11a,14} = 2,3$ Hz, H11a), 2,62-2,72 (dd, $J_{\text{gem}} = 16,1$ Hz, $J_{11e,9} = 5,2$ Hz, H11e), 3,13-3,18 (d, $J_{\text{OH},7} = 7,6$ Hz, OH), 3,18-3,23 (dl, $J_{14,8} = 8,6$ Hz, H14), 3,25-3,34 (ql, $J_{1,2} = 7,2$ Hz, H1), 3,36-3,45 (ddd, $J_{7,\text{OH}} = 7,6$ Hz, $J_{7,6} = 9,2$ Hz, $J_{7,8} = 10,0$ Hz, H7), 5,20-5,30 (dd, $J_{6,7} = 9,2$ Hz, $J_{6,5} = 11,7$ Hz, H6), 5,70 (dd, $J_{\text{NH},10} = 5,41$ Hz, $J_{\text{NH},10} = 5,38$ Hz, NH), 6,15 (d, $J_{15,16} = 1,8$ Hz, H15), 7,25 (d, $J_{16,15} = 1,8$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 100 MHz) d: 14,66 (CH_3 -2), 15,43 (CH_3 -20), 18,31 (CH_2 -2), 22,07 (CH_2 -11), 21,87 (CH_3 -2"), 22,35 (CH_3 -19), 33,08 (C-4), 34,80 (CH_2 -1), 36,06 (CH_3 -18), 38,56 (C-10), 39,37 (CH_2 -1), 43,05 (CH-8), 43,42 (CH_2 -3), 48,52 (CH-14), 48,80 (CH-9), 54,84 (CH-5), 75,33 (CH-6), 80,86 (CH-7), 108,60 (CH-15), 113,84 (C-13), 141,55 (CH-16), 151,38 (C-12), 171,33 (C-1"), 175,42 (C-17). (Encontrado: C: 68,37%, H: 8,32%, N: 3,39%, $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_5$ requer C: 69,06%, H: 8,39%, N: 3,36%).

N-Propil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (6): **IV** (nujol, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3300, 2940, 2860, 1730, 1650, 1580, 1505, 1250, 1140, 1120, 1080, 1050, 1030, 970, 960, 905, 850, 790, 730.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) d: 0,87 (t, $J_{3,2} = 7,4$ Hz, H3), 0,91 (s, CH_3 - 20), 1,02 (s, CH_3 - 19), 1,08 (s, CH_3 - 18), 1,17-1,80 (m, H1, 2, 3, 5, 9 e H2), 2,10 (s, OCOCH_3), 2,17-2,50 (m, H8, H11a), 2,60-2,77 (dd, $J_{\text{gem}} = 16,4$ Hz, $J_{11e,9} = 5,2$ Hz, H11e), 3,15-3,30 (m, H14, H11e OH), 3,32-3,52 (ddd, $J_{7,\text{OH}} = 7,0$ Hz, $J_{7,6} = 9,1$ Hz, $J_{7,8} = 9,5$ Hz, H7), 5,18-5,33 (dd, $J_{6,7} = 9,1$ Hz, $J_{6,5} = 11,6$ Hz, H6), 5,62-5,77 (dd, $J_{\text{NH},10} = 5,3$ Hz, $J_{\text{NH},10} = 5,5$ Hz, NH), 6,08 (d, $J_{15,16} = 1,9$ Hz, H15), 7,22 (d, $J_{16,15} = 1,9$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 50 MHz) d: 11,42 (CH_3 -3), 15,49 (CH_3 -20), 18,35 (CH_2 -2), 21,92 (CH_3 -2"), 22,13 (CH_2 -2), 22,74 (CH_2 -11), 22,38 (CH_3 -19), 33,12 (C-4), 36,09 (CH_3 -18), 38,59 (C-10), 39,43 (CH_2 -1), 41,70 (CH_2 -1), 43,26 (CH-8), 43,47 (CH_2 -3), 48,62 (CH-14), 48,94 (CH-9), 54,87 (CH-5), 75,37 (CH-6), 80,86 (CH-7), 108,71 (CH-15), 113,82 (C-13), 141,62 (CH-16), 151,53 (C-12), 171,34 (C-1"), 175,65 (C-17). (Encontrado: C: 69,37%, H: 8,64%, N: 3,30%, $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{NO}_5$ requer C: 69,60%, H: 8,58%, N: 3,25%).

N-Isopropil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (7): **IV** (nujol, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3250, 2920, 2860, 1720, 1650, 1550, 1320, 1310, 1270, 1250, 1210, 1170, 1140, 1120, 1080, 1020, 970, 950, 850. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) d: 0,95 (s, CH_3 - 20), 1,00 (s, CH_3 - 19), 1,06 (s, CH_3 - 18), 1,15-1,20 (d, $J_{1,2} = 6,6$ Hz, H1 e H3), 0,80-1,95 (m, H1, 2, 3, 5, 9 e H2), 2,10 (s, OCOCH_3), 2,17-2,50 (m, H8, H11a), 2,60-2,77 (dd, $J_{\text{gem}} = 16,4$ Hz, $J_{11e,9} = 5,2$ Hz, H11e), 3,15-3,30 (m, H14, H11e OH), 3,32-3,52 (ddd, $J_{7,\text{OH}} = 7,0$ Hz, $J_{7,6} = 9,1$ Hz, $J_{7,8} = 9,5$ Hz, H7), 5,18-5,33 (dd, $J_{6,7} = 9,1$ Hz, $J_{6,5} = 11,6$ Hz, H6), 5,62-5,77 (dd, $J_{\text{NH},10} = 5,3$ Hz, $J_{\text{NH},10} = 5,5$ Hz, NH), 6,08 (d, $J_{15,16} = 1,9$ Hz,

H15), 7,22 (d, $J_{16,15} = 1,9$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 50 MHz) d: 11,42 (CH_3 -3), 15,49 (CH_3 -20), 18,35 (CH_2 -2), 21,92 (CH_3 -2"), 22,13 (CH_2 -2), 22,38 (CH_3 -19), 22,74 (CH_2 -11), 33,12 (C-4), 36,09 (CH_3 -18), 38,59 (C-10), 39,43 (CH_2 -1), 41,70 (CH_2 -1), 43,26 (CH-8), 43,47 (CH_2 -3), 48,62 (CH-14), 48,94 (CH-9), 54,87 (CH-5), 75,37 (CH-6), 80,86 (CH-7), 108,71 (CH-15), 113,82 (C-13), 141,62 (CH-16), 151,53 (C-12), 171,34 (C-1"), 175,65 (C-17). (Encontrado: C: 69,9%, H: 8,53%, N: 3,32%, $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{NO}_5$ requer C: 69,60%, H: 8,58%, N: 3,25%).

N,N-Diethyl-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (**8**): **IV** (nujol, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3320, 2920, 2860, 1730, 1620, 1510, 1250, 1180, 1130, 1080, 1060, 1020, 980, 960, 920, 900, 850, 730. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 200MHz) d: 0,94 (s, CH_3 - 20), 1,02 (s, CH_3 - 19), 1,08 (s, CH_3 - 18), 1,08-1,18 (t, $J_{4,3} = 7,0$ Hz, H2), 1,23-1,34 (t, $J_{2,3} = 7,0$ Hz, H4), 0,80-1,80 (m, H1, 2, 3, 5, 9 e OH), 2,10 (s, OCOCH_3), 2,35-2,75 (m, H8, H11), 3,05-3,25 (m, H3), 3,26-3,50 (m, H7), 3,50-3,59 (dl, $J_{14,8} = 8,3$ Hz, H14), 3,52-3,78 (m, H1), 5,15-5,33 (dd, $J_{6,7} = 9,3$ Hz, $J_{6,5} = 11,5$ Hz, H6), 6,03 (d, $J_{15,16} = 1,8$ Hz, H15), 7,22 (d, $J_{16,15} = 1,8$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 50MHz) d: 12,84 (CH_3 -2), 14,55 (CH_3 -4), 15,45 (CH_3 -20), 18,35 (CH_2 -2), 21,99 (CH_3 -2"), 22,07 (CH_2 -11), 22,48 (CH_3 -19), 33,12 (C-4), 36,24 (CH_3 -18), 38,82 (C-10), 39,39 (CH_2 -1), 41,00 (CH_2 -3), 42,06 (CH-8), 42,45 (CH_2 -1), 42,72 (CH-14), 43,49 (CH_2 -3), 48,22 (CH-9), 55,21 (CH-5), 75,60 (CH-6), 81,49 (CH-7), 107,92 (CH-15), 114,25 (C-13), 141,39 (CH-16), 150,88 (C-12), 171,29 (C-1"), 174,54 (C-17). (Encontrado: C: 69,37%, H: 8,83%, N: 3,23%, $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5$ requer C: 70,11%, H: 8,76%, N: 3,15%).

N,N-Dimetil-6a-acetoxi-7b-hidroxivouacapan-17b-amida (**9**): **IV** (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3440, 3000, 2940, 2850, 1750, 1640, 1540, 1520, 1470, 1420, 1380, 1330, 1310, 1250, 1240, 1170, 1180, 1140, 1090, 1070, 1020, 980, 970, 950, 910, 870, 850, 830, 720, 660, 600. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 400MHz) d: 0,97 (s, CH_3 - 20), 1,03 (s, CH_3 - 19), 1,10 (s, CH_3 - 18), 1,28-1,34 (d, $J_{5,6} = 11,6$ Hz, H5), 1,37-1,45 (m, H3), 1,45-1,66 (m, H2, H9 e OH), 1,69-1,80 (m, H1), 2,12 (s, OCOCH_3), 2,42-2,51 (ddd, $J_{\text{gem}} = 15,3$ Hz, $J_{11a,9} = 10,5$ Hz, $J_{11a,14} = 2,4$ Hz, H11a), 2,57-2,67 (ddd, $J_{8,14} = 8,6$ Hz, $J_{8,7} = 10,2$ Hz, $J_{8,9} = 12,0$ Hz, H8), 2,65-2,72 (dd, $J_{\text{gem}} = 15,3$ Hz, $J_{11e,9} = 5,6$ Hz, H11e), 3,20-3,33 (ddd, $J_{7,\text{OH}} = 9,0$ Hz, $J_{7,6} = 9,2$ Hz, $J_{7,8} = 10,2$ Hz, H7), 3,69-3,74 (dd, $J_{14,11a} = 2,4$ Hz, $J_{14,8} = 8,6$ Hz, H14), 5,20-5,28 (dd, $J_{6,7} = 9,2$ Hz, $J_{6,5} = 11,6$ Hz, H6), 6,05 (d, $J_{15,16} = 2,0$ Hz, H15), 7,25 (d, $J_{16,15} = 2,0$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 100MHz) d: 15,45 (CH_3 -20), 18,33 (CH_2 -2), 21,87 (CH_3 -2"), 22,04 (CH_2 -11), 22,46 (CH_3 -19), 33,11 (C-4), 36,20 (CH_3 -2), 36,31 (CH_3 -18), 37,76 (CH_3 -1), 38,81 (C-10), 39,35 (CH_2 -1), 42,33 (CH-8), 43,46 (CH_2 -3), 48,31 (CH-9 e CH-14), 55,20 (CH-5), 75,47 (CH-6), 81,59 (CH-7), 107,94 (CH-15), 113,97 (C-13), 141,44 (CH-16), 150,84 (C-12), 171,30 (C-1"), 174,96 (C-17). (Encontrado: C: 69,19%, H: 8,42%, N: 3,39%, $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_5$ requer C: 69,06%, H: 8,39%, N: 3,35%).

N-Butil-6a-acetoxi-7b-hidroxiouacapan-17b-amida (**10**): **IV** (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3400, 2940, 2860, 1720, 1660, 1540, 1510, 1470, 1440, 1380, 1290, 1260, 1150, 1120, 1090, 1070, 1050, 1030, 970, 960, 900, 840, 730, 650, 600. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) d: 1,03 (s, CH_3 - 20), 1,05 (s, CH_3 - 19), 1,15 (s, CH_3 - 18), 0,90-1,80 (m, H1, 2, 3, 5, 9, 2', 3', 4' e OH), 2,07 (s, OCOCH_3), 2,32-2,76 (m, H8 e H11), 2,90-3,11 (m, H14 e H1'), 3,40-3,70 (m, H1), 3,78-3,95 (m, $J_{7,\text{OH}} = 7,0$ Hz, $J_{7,6} = 9,0$ Hz, $J_{7,8} = 9,5$ Hz, H7), 4,70-4,90 (dd, $J_{6,7} = 9,0$ Hz, $J_{6,5} = 11,3$ Hz, H6), 5,50-5,65 (dd, $J_{\text{NH},10} = 4,8$ Hz, $J_{\text{NH},10} = 4,5$ Hz, NH), 6,07 (d, $J_{15,16} = 1,7$ Hz, H15), 7,22 (d, $J_{16,15} = 1,7$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 50 MHz) d: 13,75 (CH_3 -4), 15,43 (CH_3 -20), 18,45 (CH_2 -2), 20,15 (CH_2 -3), 21,30 (CH_3 -2"), 22,02 (CH_2 -11), 22,20 (CH_3 -19), 31,87 (CH_2 -2), 33,64 (C-4), 36,61 (CH_3 -18), 38,31 (C-10), 39,20 (CH-8), 39,42 (CH_2 -1), 39,68 (CH_2 -1), 43,56 (CH_2 -3), 48,02 (CH-14), 48,57 (CH-9), 56,95 (CH-5), 73,25 (CH-6), 83,46 (CH-7), 108,08 (CH-15), 114,13 (C-13), 141,50 (CH-16), 150,71 (C-12), 172,91 (C-1"), 173,21 (C-17). (Encontrado: C: 69,41%, H: 8,84%, N: 3,18%, $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5$ requer C: 70,11%, H: 8,76%, N: 3,15%).

N-(*t*-Butil)-6a-acetoxi-7b-hidroxiouacapan-17b-amida (**11**): **IV** (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3450, 3120, 3000, 2920, 2850, 1740, 1640, 1540, 1510, 1470, 1430, 1380, 1330, 1310, 1250, 1240, 1170, 1160, 1130, 1090, 1060, 1030, 990, 970, 940, 900, 840, 790, 760, 730, 620. **RMN de ^1H** (Pi-d_5 , 200 MHz) d: 0,84 (s, CH_3 - 20), 1,04 (s, CH_3 - 19), 1,07 (s, CH_3 - 18), 1,30 (s, CH_3 - *t*-butil), 0,70-1,60 (m, H1, 2, 3, 5 e 9), 2,13 (s, OCOCH_3), 2,10-2,40 (m, H8 e H11a), 2,43-2,67 (dd, $J_{11e,9} = 5,2$ Hz, $J_{\text{gem}} = 15,8$ Hz, H11e), 2,67-2,92 (m, H14 e OH), 3,55-3,90 (m, H6 e H7), 5,55-6,10 (m, NH), 6,81 (d, $J_{15,16} = 1,7$ Hz, H15), 7,50 (d, $J_{16,15} = 1,7$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (Pi-d_5 , 50 MHz) d: 15,09 (CH_3 -20), 18,65 (CH_2 -2), 22,17 (CH_3 -2"), 22,49 (CH_3 -19), 22,54 (CH_2 -11), 29,86 (CH_2 -2), 33,26 (C-4), 36,22 (CH_3 -18), 38,62 (C-10), 39,33 (CH_2 -1), 42,61 (CH-8), 43,80 (CH_2 -3), 48,74 (CH_2 -1), 49,42 (CH-14), 49,42 (CH-9), 54,94 (CH-5), 76,90 (CH-6), 80,91 (CH-7), 110,96 (CH-15), 116,88 (C-13), 140,97 (CH-16), 150,38 (C-12), 170,79 (C-1"), 179,31 (C-17). (Encontrado: C: 69,76%, H: 8,91%, N: 3,13%, $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5$ requer C: 70,11%, H: 8,76%, N: 3,15%).

N-Benzil-6a-acetoxi-7b-hidroxiouacapan-17b-amida (**12**): **IV** (nujol, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3300, 2920, 2860, 1730, 1650, 1520, 1320, 1250, 1140, 1120, 1080, 1050, 1020, 970, 950, 920, 900, 850, 720, 700. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 400 MHz) d: 0,96 (s, CH_3 - 20), 1,02 (s, CH_3 - 19), 1,07 (s, CH_3 - 18), 0,80-1,80 (m, H1, 2, 3, 5 e 9), 2,10 (s, OCOCH_3), 2,35 (ddd, $J_{8,14} = 8,8$ Hz, $J_{8,9} = 9,6$ Hz, $J_{8,7} = 16,1$ Hz, H8), 2,38 (ddd, $J_{11a,14} = 2,0$ Hz, $J_{11a,9} = 9,6$ Hz, $J_{\text{gem}} = 16,3$ Hz, H11a), 2,60-2,75 (dd, $J_{11e,9} = 5,4$ Hz, $J_{\text{gem}} = 16,3$ Hz, H11e), 2,93-3,08 (d, $J_{\text{OH},7} = 7,6$ Hz, OH), 3,22-3,33 (dl, $J_{14,8} = 8,8$ Hz, H14), 3,35-3,52 (ddl, $J_{7,6} = 9,2$ Hz, $J_{7,8} = 16,1$ Hz, H7), 4,30-4,45 (dd, $J_{1\text{NH}} = 5,3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 14,8$ Hz, H1), 4,45-4,6 (dd, $J_{1\text{NH}} = 5,8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 14,8$ Hz, H1), 5,20-5,30 (dd, $J_{6,7} = 9,2$ Hz, $J_{6,5} = 12,0$ Hz, H6), 5,93-6,3 (dd, $J_{\text{NH},10} = 5,3$ Hz, $J_{\text{NH},10} = 5,8$ Hz, NH), 6,12 (d, $J_{15,16} = 1,8$ Hz, H15), 7,20 (d,

$J_{16,15} = 1,8$ Hz, H16), 7,25-7,35 (m, H3 e H4 e H5). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 100 MHz) d: 15,47 (CH_3 -20), 18,32 (CH_2 -2), 21,87 (CH_3 -2"), 22,08 (CH_2 -11), 22,38 (CH_3 -19), 33,11 (C-4), 36,09 (CH_3 -18), 38,60 (C-10), 39,37 (CH_2 -1), 43,12 (CH-8), 43,43 (CH_2 -1), 43,43 (CH_2 -3), 48,56 (CH-14), 48,76 (CH-9), 54,87 (CH-5), 75,41 (CH-6), 80,96 (CH-7), 108,55 (CH-15), 113,73 (C-13), 127,57 (CH-3), 127,98 (CH-4), 128,71 (CH-5), 138,02 (C-2), 141,60 (CH-16), 151,39 (C-12), 171,43 (C-1"), 175,41 (C-17). (Encontrado: C: 72,65%, H: 7,69%, N: 2,97%, $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{NO}_5$ requer C: 72,65%, H: 7,72%, N: 2,92%).

N-(2-aminoetil)-6a-acetoxi-7b-hidroxiouacapan-17b-amida (**13**): **IV** (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3370, 2920, 2850, 1720, 1650, 1580, 1510, 1480, 1420, 1380, 1330, 1250, 1140, 1080, 1050, 1030, 980, 810, 800, 770, 730, 650, 600. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) d: 0,95 (s, CH_3 - 20), 1,00 (s, CH_3 - 19), 1,05 (s, CH_3 - 18), 0,80-1,80 (m, H1, 2, 3, 5 e 9), 1,97-2,25 (m, H8, NH_2 e OH), 2,07 (s, OCOCH_3), 2,25-2,52 (m, H11a e H14), 2,57-2,75 (dd, $J_{\text{gem}} = 16,1$ Hz, $J_{11e,9} = 5,2$ Hz, H11e), 3,10-3,50 (m, H7, H1 e H2), 5,15-5,32 (dd, $J_{6,7} = 9,2$ Hz, $J_{6,5} = 11,5$ Hz, H6), 6,18 (d, $J_{15,16} = 1,7$ Hz, H15), 6,31-6,47 (dd, $J_{\text{NH},10} = 5,7$ Hz, $J_{\text{NH},10} = 5,9$ Hz, NH), 7,24 (d, $J_{16,15} = 1,8$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 50 MHz) d: 15,51 (CH_3 -20), 18,37 (CH_2 -2), 22,01 (CH_3 -2"), 22,08 (CH_2 -11), 22,45 (CH_3 -19), 33,14 (C-4), 38,64 (CH_3 -18), 38,64 (C-10), 39,39 (CH_2 -2), 41,00 (CH_2 -1), 41,93 (CH_2 -1), 42,83 (CH-8), 43,48 (CH_2 -3), 48,62 (CH-14), 48,76 (CH-9), 54,98 (CH-5), 75,62 (CH-6), 80,84 (CH-7), 108,62 (CH-15), 114,22 (C-13), 141,47 (CH-16), 151,16 (C-12), 171,46 (C-1"), 175,83 (C-17). (Encontrado: C: 66,34%, H: 8,40%, N: 6,61%, $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5$ requer C: 66,67%, H: 8,33%, N: 6,48%).

N-(6a-acetoxi-7b-hidroxiouacapan-17b-ol)piperidina (**14**): **IV** (nujol, cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3330, 2920, 2860, 1730, 1620, 1290, 1250, 1230, 1210, 1140, 1080, 1060, 1020, 960, 920, 850. **RMN de ^1H** (CDCl_3 , 400 MHz) d: 0,94 (s, CH_3 - 20), 1,02 (s, CH_3 - 19), 1,08 (s, CH_3 - 18), 0,90-1,80 (m, H1, 2, 3, 5, 8, 9, 3 e 4 e 5), 2,10 (s, OCOCH_3), 2,3-2,5 (ddd, $J_{11a,14} = 2,4$ Hz, $J_{11a,9} = 11,4$ Hz, $J_{\text{gem}} = 16,1$ Hz, H11a), 2,52-2,73 (m, H11e, H14), 3,17-3,33 (ddl, $J_{7,6} = 9,5$ Hz, $J_{7,8} = 16,5$ Hz, H7), 3,4-3,77 (m, H6 e H2 e OH), 5,17-5,27 (dd, $J_{6,7} = 9,5$ Hz, $J_{6,5} = 11,6$ Hz, H6), 6,08 (d, $J_{15,16} = 2,0$ Hz, H15), 7,22 (d, $J_{16,15} = 2,0$ Hz, H16). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3 , 100 MHz) d: 15,48 (CH_3 -20), 18,33 (CH_2 -2), 21,94 (CH_3 -2"), 22,05 (CH_2 -11), 22,45 (CH_3 -19), 24,65 (CH_2 -4), 25,42 (CH_2 -3), 26,23 (CH_2 -5), 33,09 (C-4), 36,19 (CH_3 -18), 38,77 (C-10), 39,36 (CH_2 -1), 42,27 (CH-8), 43,45 (CH_2 -3), 43,65 (CH_2 -2), 47,15 (CH_2 -6), 48,46 (CH-14), 48,46 (CH-9), 55,16 (CH-5), 75,53 (CH-6), 81,35 (CH-7), 108,18 (CH-15), 114,25 (C-13), 141,28 (CH-16), 150,69 (C-12), 171,32 (C-1"), 173,20 (C-17). (Encontrado: C: 71,1%, H: 8,70%, N: 3,11%, $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_5$ requer C: 70,90%, H: 8,53%, N: 3,06%).

Ensaios Biológicos

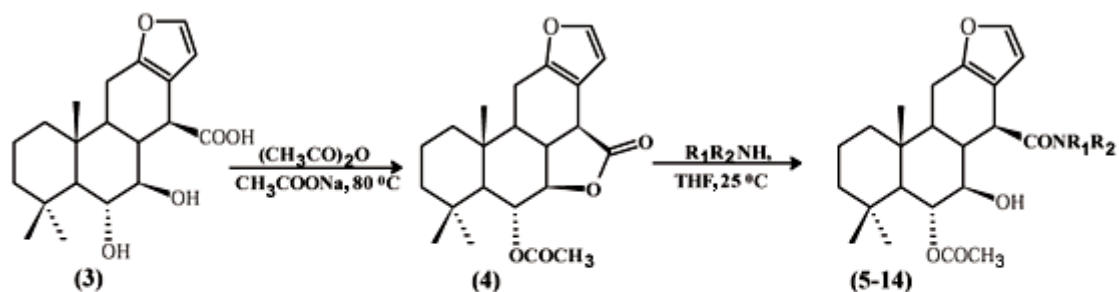
Os ensaios biológicos foram realizados de acordo com a metodologia descrita na literatura¹¹, com

sementes de *Sorghum bicolor* L. (sorgo) e *Cucumis sativus* L. (pepino). Foram preparadas soluções dos compostos (5) a (14) em diclorometano, na concentração de 100 mg.mL⁻¹. Os experimentos foram conduzidos em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, nas quais foram colocadas duas folhas de papel de filtro. Cada placa, após receber 2 mL da solução do composto a ser estudado, foi deixada à temperatura ambiente até evaporação total do solvente. Em seguida, adicionaram-se 2 mL de água e 10 sementes da planta teste, previamente esterilizadas por imersão durante 10 minutos em solução a 20% de hipoclorito de sódio. As placas foram incubadas a 25 °C, sob luz fluorescente (8 x 40 W), por um período de três dias, quando os comprimentos das raízes foram, então, medidos. As porcentagens de inibição foram calculadas com base nos dados obtidos nos experimentos de controle, realizados sem solução de amida e mantidas as outras condições descritas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados foram analisados utilizando-se o teste de Scott-Knott²⁸, a 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

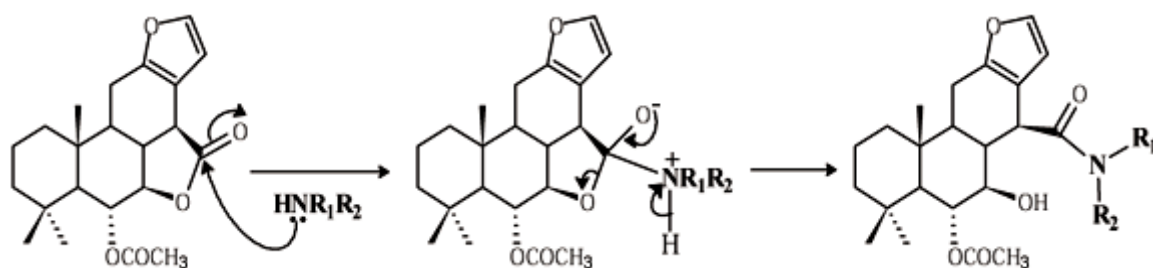
Síntese

Com o objetivo de estudar a relação estrutura-atividade biológica de derivados de (3), foi sintetizado o intermediário 6a-acetoxivouacapano-7b,17b-lactona (4)^{26, 27} que foi convertido nos derivados inéditos de (5) a (14), conforme o esquema abaixo.



NR₁R₂ = etilamina (5), propilamina (6), isopropilamina (7), dietilamina (8),
 dimetilamina (9), butilamina (10), t-butilamina (11),
 benzilamina (12), 2-aminoetilamina (13), piperidina (14),

A formação das respectivas amidas ocorre envolvendo ataque nucleofílico da amina (R₁R₂NH) ao carbono carbonílico da lactona (4) para obtenção dos compostos de (5) a (14).³⁰



Todas as amidas sintetizadas foram caracterizadas por meio de seus dados físicos e espectroscópicos (T_f , análises de C,H,N, IV, RMN de ^1H e de ^{13}C , DEPT 135, COSY ^1H - ^1H e HMQC).^{3, 4, 5, 18, 24, 29}

Todas as substâncias sintetizadas apresentam, nos espectros no infravermelho (IV), duas bandas de estiramento C=O (carbonila), sendo uma de amida na região de $1620\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$ e outra de éster na região de $1720\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$, o que as distinguem do material de partida (4) que também apresenta duas bandas de estiramento C=O, porém uma devida ao éster em 1730 cm^{-1} e outra devida à lactona de cinco membros em 1810 cm^{-1} . O desaparecimento desta última nos espectros das amidas (5) a (14) foi importante para confirmar a regioseletividade do ataque da amina à carbonila do anel de cinco membros, mais reativa devido à tensão do ciclo.

Dos espectros de RMN, é interessante ressaltar que o mapa de contornos HMQC possibilitou verificar uma proteção relativa dos respectivos H14 das substâncias (8) e (9) quando comparados a H7, inversamente do verificado para as outras substâncias. Por exemplo, para a substância (5) tem-se um duplo duplo devido a H7 entre δ 3,36-3,45 e um duplo largo devido a H14 entre δ 3,18-3,23; enquanto para (9) observou-se o sinal de H7 entre δ 3,20-3,33 (ddd) e o sinal de H14 entre δ 3,69-3,74 (dd). Isto indica uma modificação de conformação do grupo amido, dependente do grupo N-alkil substituinte. Pela análise dos modelos de dreiding pode-se verificar a possibilidade de uma conformação onde a carbonila do grupo amido fica paralela ao hidrogênio axial H14. Neste caso, este hidrogênio estaria mais blindado, devido às correntes anisotrópicas da carbonila.^{4,29} Assim, esta seria a conformação predominante em (8) e (9).

Ensaio Biológicos

Na pesquisa por novas moléculas com atividade fitotóxica, normalmente utilizam-se, em ensaios preliminares, plantas que apresentam respostas visíveis, mesmo na presença de baixas concentrações das substâncias que estão sendo avaliadas. As plantas com crescimento rápido são preferidas, como *Latuca sativa* L. (alface), *Sorghum bicolor* L. (sorgo) e *Cucumis sativus* L. (pepino).²

Neste trabalho foram utilizadas plantas de sorgo (monocotiledônea) e de pepino (dicotiledônea). Os efeitos dos compostos (5) a (14) no crescimento radicular são mostrados na [Figura 1](#).

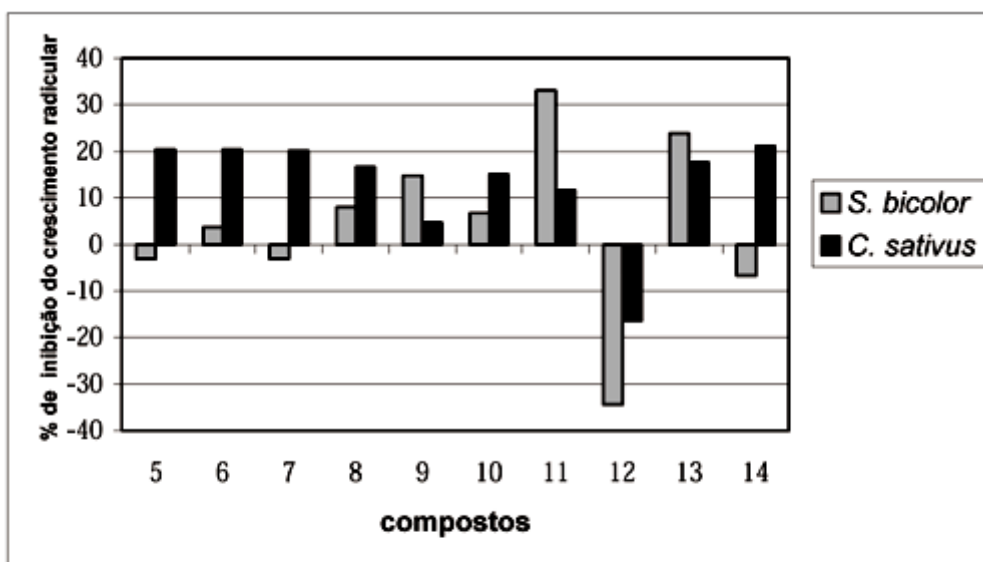


Fig. 1. Efeito das amidas (5) a (14) no crescimento radicular de *S. bicolor* L. e *C. sativus* L. a 100 µg.mL⁻¹, após 3 dias de incubação a 25 °C. O efeito inibitório (+) e estimulatório (-) é expresso em porcentagem.

A substância (12) apresentou efeito estimulatório tanto para *S. bicolor* L. quanto para *C. sativus* L., de 34% e 16% respectivamente, enquanto (5), (7) e (14) apresentaram efeito inibitório de aproximadamente 20% para *C. sativus* L. e um pequeno efeito estimulatório para *S. bicolor* L. (menor que 10%). Os compostos (6), (8), (9), (10), (11) e (13) mostraram efeito inibitório tanto para *S. bicolor* L. quanto para *C. sativus* L. Os compostos (11) e (13) foram os que apresentaram maior efeito inibitório para *S. bicolor* L., respectivamente 33% e 24%.

É interessante ressaltar o comportamento diferente das N-alquilaminas (5 a 11 e 13 a 14) daquela apresentando um substituinte N-aromático (12). Esta última, contendo o grupo N-benzil, foi a única que apresentou efeito estimulatório significativo para os dois tipos de sementes. As demais amidas, todas com substituintes N-alifáticos, apresentaram efeito inibitório para *C. sativus* L. ou, em maioria, para *S. bicolor* L.. Estes resultados são indicativos de atividade fitotóxica quando comparados com os da literatura para uso como herbicida.^{7,8,9,10,16,31} Portanto, permitem inferir um potencial de substância protótipo para modificações estruturais, visando a busca por novas moléculas com atividade fitotóxica mais potente.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de Pesquisa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro.

BELINELO, V. J. et al. Synthesis and phytotoxic activity of new amide derivatives of 6a,7b-Di-hydroxyvouacapan-17b-oic acid. *Ecl. Quím.* (São Paulo), v.26, p. , 2001.

ABSTRACT: The 6a,7b-Di-hydroxyvouacapan-17b-oic acid was isolated from the seeds of *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) and, then, ten new amide derivatives of this acid were prepared. The effects of these amides on the radicle growth of *Sorghum bicolor* L. and *Cucumis sativus* L. were evaluated. Nine compounds, at a concentration of 100 ppm, showed an inhibitory effect (5-21%) on the radicle growth of the *C. sativus* L.. The N-(t-butyl)-6a,7b-di-hydroxyvouacapan-17b-amide showed the most effective inhibitory action (33%) for *S. bicolor* L.. Only the N-benzil-6a,7b-di-hydroxyvouacapan-17b-amide showed stimulatory growth effect both for *C. sativus* L. and *S. bicolor* L. of 16% and 34% respectively.

KEYWORDS: Diterpene; amide; herbicide.

Referências Bibliográficas

- 1 ANDEF – Associação Nacional de Defesa Vegetal, Informação pessoal.
- 2 BARUAH, N. C.; SARMA, J. C.; SARMA, S.; SARMA, R. P. Seed germination and growth cadinenes from *Eupatorium adenophorum* Spreng, *J. Chem. Ecol.*, v. 20, n. 8, p. 1885-92, 1994.
[[Links](#)]
- 3 BREITMAIER, E.; BAUER, G. *¹³C NMR spectroscopy – a working manual with exercises*, London: Harwood Academic Publishers, 1988, 356p. [[Links](#)]
- 4 BREITMAIER, E. *Structure elucidation by NMR in organic chemistry – a practical guide*, Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1993, 265p. [[Links](#)]
- 5 BREITMAIER, E.; VOELTER, W. *Carbon-13 NMR spectroscopy*. 3. ed. New York: VCH, 1987. 515 p. [[Links](#)]
- 6 COPPING, L. G. *Crop protection agents from nature: natural products and analogues*. Cambridge:U.K. SCI. 1996. 501 p. [[Links](#)]
- 7 DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; PILO-VELOSO, D.; ALVES, D. L. F; HOWARTH, O. W. Structure and plant growth regulatory activity of new diterpenes from *Pterodon Polygalaeflorus*, *J. Nat. Prod.*, v. 59, p. 770-2, 1996. [[Links](#)]
- 8 DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; PILO-VELOSO, D.; ALVES, D. L. F; HOWARTH, O. W. Synthesis and plant growth regulatory activity of 6a,7b-di-hydroxyvouacapan-17b-oic acid derivatives. *Aust. J. Chem.*, v. 51, p. 61-6, 1998. [[Links](#)]
- 9 DUKE, S. O.; ABBAS, H. K. Natural products with potential use as herbicides. *ALLELOPATHY - Organisms, processes and applications*. American Chemical Society Simposium Serie 582. p.350-62. 1995. [[Links](#)]
- 10 DUKE, S. O.; LYDON, J. Herbicides from natural compounds. *Weed Technology*, v. 1, p. 122-8, 1987. [[Links](#)]

- 11 EINHELLIG, F. A.; SCHAN, M. K.; RASMUNSEM, J. A. Synergistic effects of four cinnamic acid compounds against sorghum. *Plant Growth Regulators*, p. 251-7, 1983. [[Links](#)]
- 12 ELAKOVICH, S. D. In: *Terpenoids as model for new agrochemicals* Washington: Ed H. G. Cutler - American Chemical Society. 1988. [[Links](#)]
- 13 FISCHER, N. H.; WILLIAMSON, G. B.; WEIDENHAMER, J. D.; RICHARDSON, D. R. In search of allelopathy in the Florida scrub: the role of terpenoids, *J. Chem. Ecol.*, v. 20, n.6, p. 1355-80, 1994. [[Links](#)]
- 14 FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Press Release 98/19 UNEP/FAO. http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS_NE/PRESSENG/1998/pren9819.htm [[Links](#)]
- 15 HEAP, T. M. The occurrence of herbicide resistant weeds worldwide. *Pestic. Sci.*, v. 51, p. 235-43, 1997. [[Links](#)]
- 16 JASIENIUK, M.; BRÛLÉ-BABEL, A. L.; MORRISON, I. N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Science*, v. 44, p. 176-93, 1996. [[Links](#)]
- 17 MALTHA, C. R. A. *Estudo da síntese de amidas e aminas derivadas do ácido 6a,7b-di-hidroxyvouacapan-17b-óico*, Belo Horizonte, 1994, 268p. Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais. [[Links](#)]
- 18 MALTHA, C. R. A.; STEFANI, G. M.; PILÓ-VELOSO, D. The synthesis of 6a,7b-di-hydroxyvouacapan-17b-óic acid derivatives. Part II: carbamate and amine derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 6, n. 4, p. 357-60, 1995. [[Links](#)]
- 19 MALTHA, C. R. A.; STEFANI, G. M.; FERREIRA-ALVES, D. L.; PILÓ-VELOSO, D. Synthesis of 6a,7b-di-hydroxyvouacapan-17b-óic acid derivatives. Part III: synthesis and ¹H, and ¹³C of amide derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 8, n. 1, p. 203-7, 1997. [[Links](#)]
- 20 NAKANISHI, K. *One-dimensional and two-dimensional NMR spectra by modern pulse techniques*. Tokyo: Kodansha Ltd. 1990. 234 p. [[Links](#)]
- 21 NUNAN, E. A.; PILÓ-VELOSO, D.; TURCHETTI, R. M. M.; ALVES, D. L. F. Furane diterpenes with anti-inflammatory and "pro-inflammatory activities". *Braz. J. Med. Exp. Sc.*, v. 15, n. 6, p. 450-1, 1982. [[Links](#)]
- 22 PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. *Purification of laboratory chemicals*. 4th ed. Londres: Butterworth-Heinemann Ltd. 1996. 529 p. [[Links](#)]
- 23 PICMAN, A. K.; PICMAN, J. Effect of selected pseudoguaianolides on survival of the flour beetle, *Tribolium confusum*, *Biochem. Syst. Ecol.*, v. 12, n. 1, p. 89-93, 1984. [[Links](#)]
- 24 PRETSCH, E.; SIMON, W.; SEIBL, J.; CLERC, T. *Tables data for structure determination of organic compounds*. 2nd ed. Cambridge: Springer-Verlag. 1989. [[Links](#)]
- 25 RODRIGUES, E.; TOWERS, G. H. N.; MITCHELL, J. C. Biological activities of sesquiterpenes lactones, *Phytochemistry*, v. 15, p. 1573-80, 1976. [[Links](#)]
- 26 RUBINGER, M. M. M. *Síntese de derivados nitrogenados do ácido 6a,7b-di-*

hidroxivouacapan-17b-óico, Belo Horizonte, 1991, 246p. Tese (Mestrado) – Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais. [[Links](#)]

27 RUBINGER, M. M. M.; PILÓ-VELOSO, D.; STEFANI, G. M. Synthesis of 6a,7b-dihydroxyvouacapan-17b-oic acid derivatives. Part I: hydroxamic acid and amide derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 2, n. 3, p. 124-8, 1991. [[Links](#)]

28 SCOTT, A. J.; KNOTT, M., A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v. 30, n. 3, p. 507-12, 1974. [[Links](#)]

29 SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. *Spectrometric identification of organic compounds*. 5. ed. New York: John Wiley & Sons. 1991. 419 p. [[Links](#)]

30 SMITH, M. B. *Organic synthesis*. New York: McGRAW-HILL. 1994. 1595p. [[Links](#)]

31 TOMLIN, C. *The pesticide manual*, 10th ed. RSC, Cambridge: RSC(UK). 1994. 341p. [[Links](#)]

32 VAUGHN, S. F.; SPENCER, G. F. Volatile monoterpenes as potencial parent structures for new herbicides. *Weed Science*, v. 41, p. 114-19, 1993. [[Links](#)]

Recebido em 26.7.2000.

Aceito em 2.10.2000.

*-Parte da Tese de Doutorado a ser apresentada pelo primeiro autor ao Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais - 31270-901 – Belo Horizonte – MG – Brasil.

**-Departamento de Química – ICEX – Universidade Federal de Minas Gerais – 31270-901 – Belo Horizonte – MG - Brasil.

***-Departamento de Engenharia Florestal – Universidade Federal de Minas Gerais - 36571-000 – Viçosa – MG - Brasil.

****-Departamento de Farmacologia – ICB – Universidade Federal de Minas Gerais – 31270-901 – Belo Horizonte - MG - Brasil.

*****-Departamento de Ciências – Universidade de Itaúna – 35680-033 – Itaúna – MG - Brasil.