

ESTUDO DA ATIVIDADE ALOMONAL HERBICIDA DOS
FEROMÔNIOS DE TRILHA DE FORMIGAS CORTADEIRAS.
ESTUDO DA SÍNTESE DO FEROMÔNIO 4-METILPIRROL-2-
CARBOXILATO DE METILA

LEONARDO MUNALDI LUBE

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ
FEVEREIRO DE 2007

ESTUDO DA ATIVIDADE ALOMONAL HERBICIDA DOS
FEROMÔNIOS DE TRILHA DE FORMIGAS CORTADEIRAS.
ESTUDO DA SÍNTESE DO FEROMÔNIO 4-METILPIRROL-2-
CARBOXILATO DE METILA

LEONARDO MUNALDI LUBE

Dissertação apresentada ao Centro de
Ciência e Tecnologia da Universidade
Estadual do Norte Fluminense, como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciências Naturais.

Orientador: Prof. Paulo Cesar Muniz de Lacerda Miranda

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ
FEVEREIRO DE 2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCT / UENF

16/2007

Lube, Leonardo Munaldi

Estudo da atividade alomonal herbicida dos feromônios de trilha de formigas cortadeiras: estudo da síntese do feromônio 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila / Leonardo Munaldi Lube. – Campos dos Goytacazes, 2007.

113 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) --Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências Químicas. Campos dos Goytacazes, 2007.

Orientador: Paulo Cesar Muniz de Lacerda Miranda.

Área de concentração: Síntese orgânica.

Bibliografia: f. 52-53, cap.1 - 86-89, cap.2

1. Formigas cortadeiras 2. Feromônio de trilha 3. Herbicida I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências Químicas II. Título

CDD 595.796

ESTUDO DA ATIVIDADE ALOMONAL HERBICIDA DOS
FEROMÔNIOS DE TRILHA DE FORMIGAS CORTADEIRAS. ESTUDO
DA SÍNTESE DO FEROMÔNIO 4-METILPIRROL-2-CARBOXILATO DE
METILA

LEONARDO MUNALDI LUBE

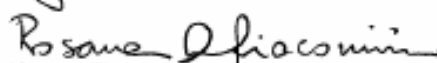
Dissertação apresentada ao Centro de
Ciência e Tecnologia da Universidade
Estadual do Norte Fluminense, como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciências Naturais.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2007

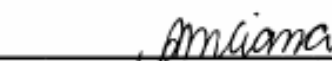
Comissão Examinadora:



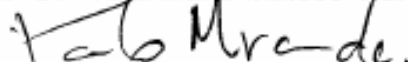
Prof. Dr. Luiz Antonio Mazzini Fontoura - ULBRA



Prof.ª Dr.ª Rosana Aparecida Giacomini - UENF



Prof.ª Dr.ª Ana Maria Matoso Viana-Bailez - UENF



Prof. Dr. Paulo Cesar Muniz de Lacerda Miranda - UENF

(Orientador)

Aos meus pais Vionilson e Elizabeth

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Paulo Miranda pelo suporte material e intelectual, pela valiosa orientação e descontraídas conversas que trouxeram tanto incentivo.

À prof^a. Rosana pelo interesse, ajuda em todos os momentos além da grande contribuição na realização deste trabalho.

À prof^a. Ana Maria, ao prof. Omar e à Denise do CCTA por toda atenção dispensada.

À prof^a. Cristina que em várias vezes colaborou abrindo as portas do seu almoxarifado.

Ao prof. Silvério e ao Luís Maurício pela ajuda nos testes em pepino e milho.

Ao apoio dos técnicos e funcionários que ajudaram neste trabalho: Edson, Robson, e todos os demais.

À FAPERJ/UENF pela bolsa concedida.

Aos grandes amigos Lindomar e Mendelssolm pela ajuda, troca de idéias, presteza e companheirismo.

À Karla pela enorme ajuda.

Aos amigos Ceará, Diogo, Érika, Fabiele, Felipe e Luís Carlos pela boa convivência.

Aos amigos de laboratório Almir, Carol, Juliana, Letícia, Marlon, Neide, Max e Patrícia.

Aos colegas e professores da pós-graduação do programa Ciências Naturais.

Aos meus irmãos Vinícius e Bárbara por todo apoio e carinho.

E, é claro, agradeço muito à Sarah por todo amor, companheirismo e paciência.

“A imaginação é mais importante do que o conhecimento”

Albert Einstein

RESUMO

As das trilhas de forrageamento das formigas cortadeiras *Acromyrmex* e *Atta*, os dois gêneros mais derivados das formigas pertencentes à tribo Attini, são geralmente livres de vegetação o que sugeriu uma investigação para a possível atividade alomonal herbicida relacionada ao feromônio de trilha utilizado por esses insetos. Dessa forma, avaliou-se a atividade alomonal herbicida dos dois principais componentes do feromônio de trilha, os compostos 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila e a 3-etil-2,5-dimetilpirazina; uma mistura destes; e o ácido 2-pirazinocarboxílico, análogo a um possível produto de biotransformação da 3-etil-2,5-dimetilpirazina. O potencial herbicida desses compostos foi avaliado em comparação com herbicidas comerciais: o alaclor, a atrazina e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

A síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila foi baseada na reação proposta por Barton e Zard (1990), na qual se emprega uma reação de anelação entre o 2-nitropropeno, gerado *in situ* a partir do acetato de 2-nitropropila, e o isocianoacetato de metila, obtendo-se rendimentos razoáveis. A 3-etil-2,5-dimetilpirazina, o ácido 2-pirazinocarboxílico, o alaclor, a atrazina e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético foram adquiridos comercialmente e empregados sem maiores purificações.

Os resultados obtidos mostraram que os compostos testados possuem potencial inibidor contra sorgo, grama e pepino. A possibilidade do feromônio de trilha possuir alguma atividade herbicida, implicando na economia de tempo e energia em função da limpeza da trilha, gerada pela sua função alomonal, reforçariam as justificativas para o grande sucesso evolutivo das formigas cortadeiras da tribo Attini.

ABSTRACT

The foraging trails of leaf-cutting ants *Acromyrmex* and *Atta*, the two highest derived genera of ants included at Attini tribe, are generally free of vegetation suggested an investigation for the possible alomonal herbicide activity related to the trail pheromone by this insect. Therefore, the alomonal herbicide activity of two main components of trail pheromone, methyl 4-methylpyrrole-2-carboxylate and 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; a mixture of them; and 2-pyrazinecarboxylic acid, an analogous to a possible biotransformation product of 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine were evaluated. The herbicide potential of these compounds was evaluated in comparison with commercial herbicides: alachlor, atrazine and 2,4-dichlorofenoxyacetic acid.

The synthesis of methyl 4-methylpyrrole-2-carboxylate was based on the Barton and Zard reaction (1990), which uses an annulation reaction between a nitroalkene and an alkyl isocyanoester with reasonable yields. The 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine, 2-pyrazinecarboxylic acid, alachlor, atrazine and 2,4-dichlorofenoxyacetic acid were commercially obtained and were used as purchased.

The obtained results showed that the tested compounds have exhibited growing inhibiting potential at sorgo, grass and cucumber harvests. The possibility of trail pheromone of leaf-cutting ant to have same herbicide activity, implying in time and energy economy to clean the trail, for its alomonal function, would strengthen affirmation about the great evolutive success of leaf-cutting ants of Attini tribe.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Estrutura do pirrol (1) com numeração das posições.....	15
Figura 1.2 – Multiplicidade do H ² no espectro do nitropropan-1-ol (22) (a) experimental e (b) simulado.	29
Figura 1.3 - Curva de calibração usada para determinação quantitativa do pirrol (10).	41
Figura 1.4 - Super-bases que podem ser futuramente testadas	44
Figura 2.1 - Especialização de funções relacionadas ao tamanho da cabeça das operárias de <i>Atta sexdens</i>	58
Figura 2.2 - Vista lateral do corpo de (a) <i>Acromyrmex</i> e (b) <i>Atta</i>	59
Figura 2.3 - 4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) e 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39), componentes principais do feromônio de trilha de espécies de <i>Atta</i> e <i>Acromyrmex</i> . 63	
Figura 2.4 - Trilha de formiga cortadeira no campo.....	66
Figura 2.5 - Compostos pirrólicos inibidores da enzima IGPD.	68
Figura 2.6 - Estrutura do derivado de pirazina inibidora fotossintética.	69
Figura 2.7 - Médias de massa seca por área da parte aérea na rebrota da grama em trilha artificial tratada com diferentes compostos em pós-emergência após quarenta e dois dias de confecção da trilha.	77
Figura 2.8 - Estrutura do alachlor (47), atrazina (48) e 2,4-D (49).....	81
Figura 2.9 - Trilha de forrageamento artificial.....	84
Figura 2.10 - Amostras da trilha retirada onde foi observada a rebrota após quarenta e dois dias de tratamento com solução veículo.....	85

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.1 - Reação de Knorr.....	16
Esquema 1.2 - Reação de Paal-Knorr.....	16
Esquema 1.3 - Reação de Hantzsch.....	17
Esquema 1.4 - Reação de Kenner.	17
Esquema 1.5 - Reação de Barton-Zard.....	18
Esquema 1.6 - Formação de nitroalquenos via β -eliminação de β -acetoxinitroalcanos.....	18
Esquema 1.7 - Uso da super-base não iônica P ₄ - <i>t</i> -Bu (4) na reação de Barton-Zard	19
Esquema 1.8 - Uso da super-base não iônica de Verkade (6) na reação de Barton-Zard.....	20
Esquema 1.9 - Reação de Barton-Zard usando carbonato de potássio como base.	20
Esquema 1.10 - Abordagem sintética para o pirrol (10) feita por Rapoport e Bordner.	22
Esquema 1.11 - Abordagem sintética para obtenção do pirrol (10) feita por Sonnet.	22
Esquema 1.12 - Abordagem sintética na obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) feita por Barton-Zard.	23
Esquema 1.13 - Rota sintética para a obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10).	25
Esquema 1.14 - Síntese do 2-nitropropan-1-ol (22).	26
Esquema 1.15 - Mecanismo proposto para a reação de adição aldólica entre nitroetano (20) e formaldeído (21).....	26
Esquema 1.16 - Síntese do acetato de 2-nitropropila (17).	30
Esquema 1.17 - Possível fragmentação no espectrômetro de massas proposta para o composto (17).	30
Esquema 1.18 - Síntese do cloridrato do éster metílico da glicina (24).....	31
Esquema 1.19 - Síntese do éster metílico da <i>N</i> -formilglicina (25).	32
Esquema 1.20 - Síntese do isocianoacetato de metila (18).	35
Esquema 1.21 - Síntese do composto (10).	37
Esquema 1.22 - Mecanismo da reação de síntese do composto (10).....	38
Esquema 2.1 - Classificação dos semioquímicos.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Principais sinais do espectro de massas do composto (22).....	27
Tabela 1.2 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto (22) em CDCl_3	28
Tabela 1.3 - Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) e obtidos para o composto (17)	31
Tabela 1.4 - Principais sinais do espectro de massas do composto (25).....	33
Tabela 1.5 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) obtidos para o composto (25) em CDCl_3	34
Tabela 1.6 - Principais sinais do espectro de massas do composto (18).....	35
Tabela 1.7 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (APT, 100 MHz) obtidos para o composto (18) em CDCl_3	36
Tabela 1.8 - Principais sinais do espectro de massas do composto (10).....	39
Tabela 1.9 - Dados de RMN de ^1H obtidos para o composto (10)	40
Tabela 1.10 - Resultados das reações para o estudo do efeito da variação da base na reação de Barton-Zard para obtenção do pirrol (10).	42
Tabela 1.11 - Valores obtidos na construção da curva para análise quantitativa do pirrol (10).....	51
Tabela 2.1 - Principais diferenças entre os gêneros <i>Acromyrmex</i> e <i>Atta</i>	59
Tabela 2.2 - Medidas de comprimento radicular na germinação de sorgo após 60 horas tratadas com diferentes compostos.....	72
Tabela 2.3 - Médias de massa seca da plântula de milho tratada com diferentes compostos em pré-emergência após 20 dias de plantio.	74
Tabela 2.4 - Médias de massa seca da plântula de pepino tratada com diferentes compostos em pré-emergência após 20 dias de plantio.	74
Tabela 2.5 - Médias de massa seca da plântula de milho tratada com diferentes compostos em pós-emergência após 40 dias de plantio.....	75
Tabela 2.6 - Médias de massa seca da plântula de pepino tratada com diferentes compostos em pós-emergência após 40 dias de plantio.....	76
Tabela 2.7 - Médias da razão de massa seca por área da parte aérea correspondente a rebrota da grama em trilha artificial tratada com diferentes compostos em pós-emergência após quarenta e dois dias de confecção da trilha...	77

LISTA DE ABREVIATURAS

2,4-D - Ácido 2,4-diclorofenoxiácetico

APT - *Attached Proton Test*

ccd - cromatografia em camada delgada

CDCl_3 - clorofórmio deuterado

CG-EM - cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

CG-DIC - cromatografia gasosa com detector de ionização por chama

d - duplete

DBU - 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

dd - duplo duplete

ddq – duplo duplo quatrimeto

DMAP - 4-(N,N-dimetilamino)piridina

IE - impacto eletrônico

IV – espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier

IGPD - imidazol glicerol fosfato desidratase

m - múltiplo

MIP - manejo integrado de pragas

q - quatrimeto

RMN - ressonância magnética nuclear

s - simpleto

THF – tetraidrofurano

TIC - cromatograma de íons totais

TosMIC - *p*-toluenossulfonilissocianeto

SUMÁRIO:

CAPÍTULO 1: ESTUDO DA REAÇÃO DE BARTON-ZARD NA SÍNTESE DO FEROMÔNIO 4-METILPIRROL-2-CARBOXILATO DE METILA	14
1.1 - INTRODUÇÃO	15
1.1.1 - Métodos clássicos para obtenção de pirróis substituídos	15
1.1.2 - Variações e melhorias na reação de Barton-Zard	18
1.1.3 - Abordagens sintéticas para obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila ..	21
1.2 - OBJETIVOS.....	24
1.3 - METODOLOGIA	25
1.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
1.4.1 - Preparação 2-nitropropan-1-ol (22)	26
1.4.2 - Obtenção do acetato de 2-nitropropila (17)	29
1.4.3 - Obtenção do cloridrato do éster metílico da glicina (24)	31
1.4.4 - Obtenção do éster metílico da <i>N</i> -formilglicina (25).....	32
1.4.5 - Obtenção do isocianoacetato de metila (18)	34
1.4.6 - Reação de ciclização entre o acetato de 2-nitropropila (17) e o isocianoacetato de metila (18)	36
1.4.7 - Estudo sistemático da reação de Barton-Zard na síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10).....	40
1.6 - CONCLUSÕES.....	43
1.6.1 – Perspectivas futuras	43
1.7 - PARTE EXPERIMENTAL.....	45
1.7.1 - Geral.....	45
1.7.2 - Procedimentos experimentais	47
1.7.2.1 - Preparação 2-nitropropan-1-ol (22)	47
1.7.2.2 - Preparação acetato de 2-nitropropila (17)	48
1.7.2.3 - Preparação do cloridrato do éster metílico da glicina (24)	48
1.7.2.4 - Preparação do éster metílico da <i>N</i> -formilglicina (25).....	49
1.7.2.5 - Preparação do isocianoacetato de metila (18)	49
1.7.2.6 - Preparação 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10).....	50
1.7.2.7 - Construção da curva de calibração para análise quantitativa do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	50
1.7.2.7 - Estudo da variação da base na síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	51
1.8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
CAPÍTULO 2: ATIVIDADE ALOMONAL HERBICIDA DOS FEROMÔNIOS DE TRILHA DE FORMIGAS CORTADEIRAS.....	54

2.1 - INTRODUÇÃO	55
2.1.1 - As formigas cortadeiras	55
2.1.2 - Comunicação química em insetos sociais	59
2.1.3 - Feromônios de trilha de formigas cortadeiras	61
2.1.4 - Síntese orgânica e a aplicação dos semioquímicos	64
2.1.5 - Possível atividade aleloquímica herbicida do feromônio de trilha	66
2.2 - OBJETIVOS	70
2.3 - METODOLOGIA	71
2.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
2.4.1 - Bioensaios para verificação da atividade alomonal herbicida em sorgo	72
2.4.2 - Bioensaios para verificação da atividade alomonal herbicida em milho e pepino	73
2.4.3 - Bioensaios para verificação da atividade alomonal herbicida em grama	76
2.5 - CONCLUSÕES	79
2.5.1 – Perspectivas futuras	79
2.6 - PARTE EXPERIMENTAL	80
2.6.1 - Geral	80
2.6.2 - Bioensaios para testes de atividade alomonal herbicida em sorgo	81
2.6.3 - Bioensaios para testes de atividade alomonal herbicida em milho e pepino em pré-emergência	82
2.6.4 - Bioensaios para testes de atividade alomonal herbicida em grama	83
2.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
3 - APÊNDICES	90

**CAPÍTULO 1: ESTUDO DA REAÇÃO DE BARTON-
ZARD NA SÍNTESE DO FEROMÔNIO 4-
METILPIRROL-2-CARBOXILATO DE METILA**

1.1 - INTRODUÇÃO

1.1.1 - Métodos clássicos para obtenção de pirróis substituídos

Os compostos heterocíclicos são alvos de uma grande quantidade de estudos em química orgânica (GILCHRIST, 2001). Atualmente existem cerca de 20 milhões de compostos químicos registrados, dos quais metade possui sistemas heterocíclicos em sua estrutura. Esses compostos estão intimamente ligados ao desenvolvimento de novas drogas, pesticidas e outros materiais de importância tecnológica, tais como, anti-corrosivos, corantes, antibióticos e estabilizantes (EICHER e HAUPTMANN, 2003). Eles também são isolados de vários insetos e vegetais, além de serem intermediários sintéticos de muitos produtos naturais (LIPSHUTZ, 1986).

Dentro da classe dos heterocíclicos está o pirrol (1), um composto aromático mononitrogenado de cinco membros, figura 1, presente em algumas substâncias de interesse biológico, tais como, pigmentos biliares, hemoglobinas e clorofilas. A presença de subunidades pirrólicas em substâncias de tal natureza impulsionou o interesse em sua química e de seus derivados, principalmente em metodologias sintéticas objetivando pirróis polisubstituídos que pudessem ser usados na construção de blocos porfirínicos (JONES e BEAN, 1977).

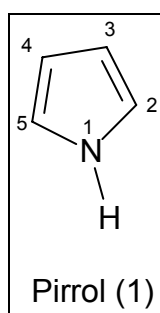
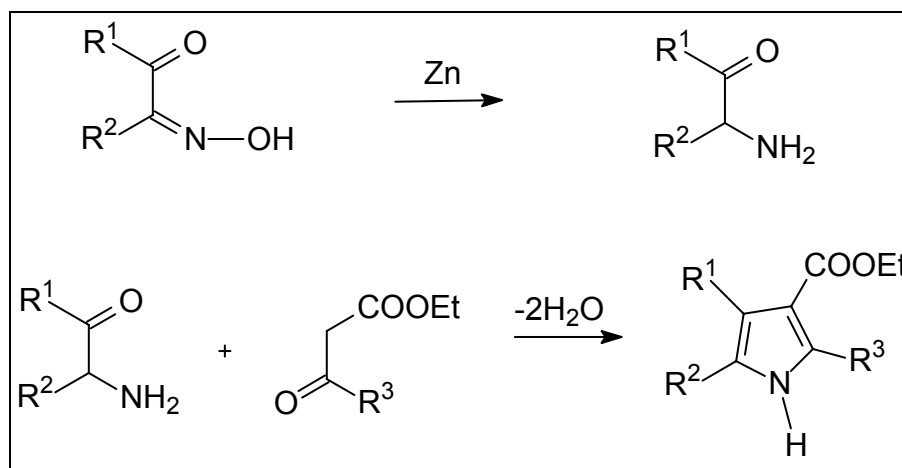


Figura 1.1 - Estrutura do pirrol (1) com numeração das posições.

A síntese de pirróis polissubstituídos vem do final século XIX e o desenvolvimento de metodologias sintéticas para essa classe de compostos orgânicos vem se aperfeiçoando desde então. Métodos clássicos para a obtenção desses compostos seguem geralmente por reações de ciclização a partir de β -aminocetonas com

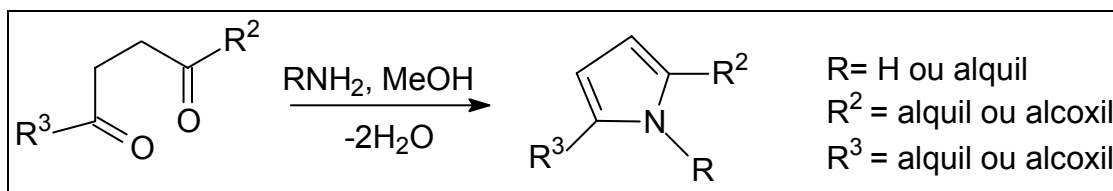
compostos β -dicarbonílicos (JONES e BEAN, 1977). Contudo, outras metodologias também são interessantes de acordo com o padrão de substituição necessário. Alguns métodos clássicos para a síntese de pirróis substituídos são mostrados a seguir (LI e COREY, 2005).

a) A reação de Knorr fornece uma enorme variedade de pirróis substituídos que podem ser preparados pela condensação de α -aminocetonas com compostos carbonílicos contendo hidrogênio α ativo, tais como β -dicetonas e β -cetoésteres. Nessa reação as α -aminocetonas geralmente são geradas *in situ* pela redução com zinco em pó a partir da oxima correspondente, esquema 1.1.



Esquema 1.1 - Reação de Knorr.

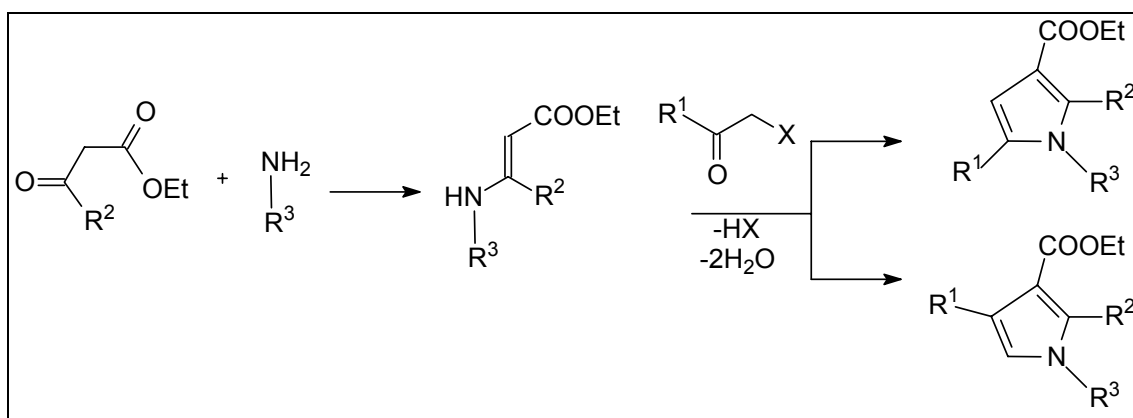
b) Outro procedimento clássico para a obtenção de pirróis é a reação de Paal-Knorr, na qual compostos α,γ -dicarbonílicos tratados com amônia ou aminas primárias em metanol ou ácido acético resultam em pirróis 2,5-disubstituídos, esquema 1.2.



Esquema 1.2 - Reação de Paal-Knorr.

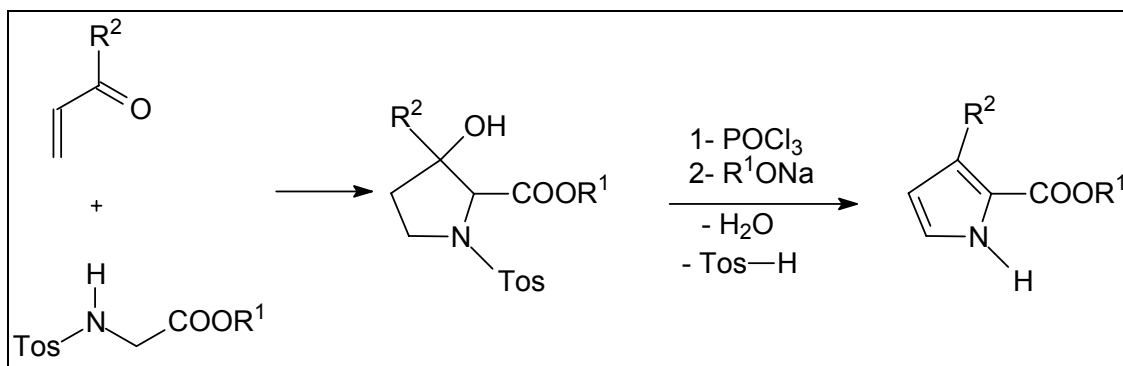
c) A síntese de Hantzsch é baseada na reação de β -cetoésteres com amônia ou aminas primárias, resultando no éster β -aminoacrílico que em seguida, reage com compostos α -halocarbonílicos gerando 3-alcoxycarbonilpirróis, esquema

1.3. A C-alkilação da enamina pelo composto α -halocarbonílico produz pirróis 1,2,3,5-substituídos, já a N-alkilação fornece produtos 1,2,3,4-substituídos.



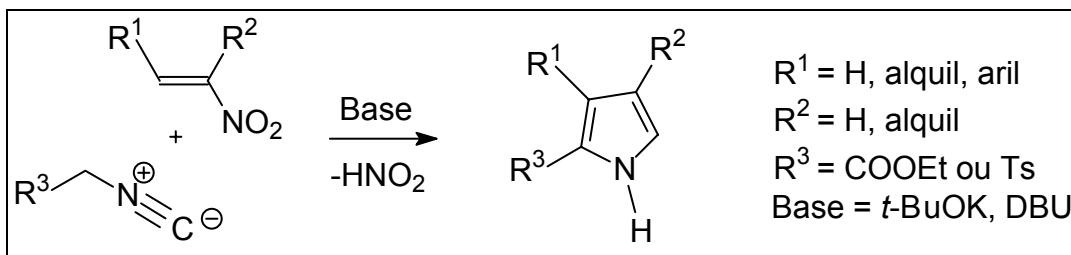
Esquema 1.3 - Reação de Hantzsch.

d) A reação de Kenner leva à 2-alcoxicarbonilpirróis substituídos na posição 3 através da adição de Michael seguida de adição aldólica intramolecular, gerando 2-alcoxicarbonilpirrolidinas, que em seguida sofrem eliminação de água e ácido *p*-toluenossulfínico, esquema 1.4.



Esquema 1.4 - Reação de Kenner.

A síntese de Barton-Zard é baseada na condensação entre nitro-alquenos e isocianoésteres, com hidrogênio α ativo, em presença de uma base forte, geralmente 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), que leva à formação de 2-alcoxicarbonilpirróis ou 2-tosilpirróis, padrão de substituição ideal para a síntese de porfirinas, esquema 1.5. Os grupos substituintes das posições 3 e 4 são provenientes do nitro-alqueno e podem ser variados em função da excepcional química do grupo nitro.

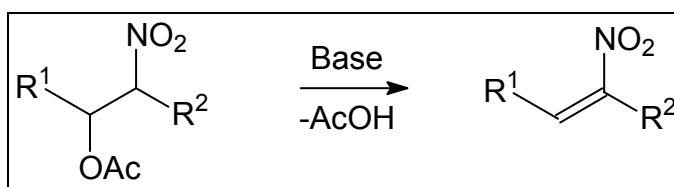


Esquema 1.5 - Reação de Barton-Zard.

1.1.2 - Variações e melhorias na reação de Barton-Zard

A reação de Barton-Zard, descrita na década de 1980, vem sendo muito estudada pois se tornou uma das principais metodologias para obtenção de 2-alcoxicarbonilpirróis substituídos, intermediários sintéticos de extrema importância na obtenção de porfirinas. Entretanto, em algumas reações nas quais foram observados baixos rendimentos e formação de subprodutos não desejados houve algumas variações com intuito de aperfeiçoar o método.

Grandes problemas são enfrentados quando um nitroalqueno muito reativo é usado. Além disso, existe uma grande dificuldade de manipular e armazenar nitroolefinas, que são sensíveis à polimerização sob condições básicas (BLOMQUIST; TAPP; JOHNSON, 1945). Tendo em vista esse fato, Barton e colaboradores (1990), propuseram o uso de β -acetoxinitroalcanos que, sob as condições básicas do meio reacional, geram o nitroalqueno correspondente *in situ* por β -eliminação do grupo acetato, esquema 1.6.

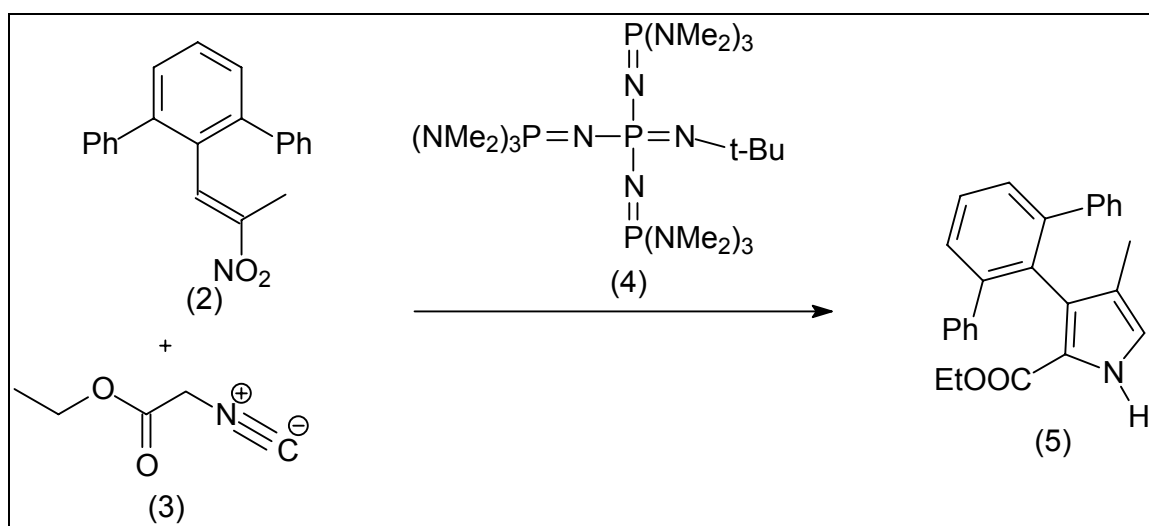


Esquema 1.6 - Formação de nitroalquenos via β -eliminação de β -acetoxinitroalcanos.

Com esse método, o problema de polimerização induzida pelas condições básica do meio é minimizado, já que assim a concentração da nitroolefina é suficientemente

baixa para reduzir a formação de agregados poliméricos. Contudo, seria gasto um equivalente molar de base a mais para neutralização do ácido formado.

Em alguns casos o uso de diferentes bases pode promover a formação dos produtos quando o uso de DBU não leva ao resultado desejado. Bag e colaboradores (1995) tentaram obter 4-metil-3-arylpirrol-2-carboxilatos de etila (5) usando DBU, para serem utilizados na síntese de porfirinas. Contudo, os produtos desejados só foram obtidos com o uso de uma base extremamente forte e impedida, cerca de 10^{18} vezes mais básica que DBU (KOVACEVIC e MAKŠIĆ, 2006): o 1-*t*-butil-4,4,4-tris(dimetilamino)-2,2-bis[tris(dimetilamino)-fosforanilidenoamino]-2,1⁵,4,1⁵-catenadi(fosfazeno) (4), uma super-base não iônica P₄-*t*-butilada da classe dos fosfazenos, esquema 1.7.

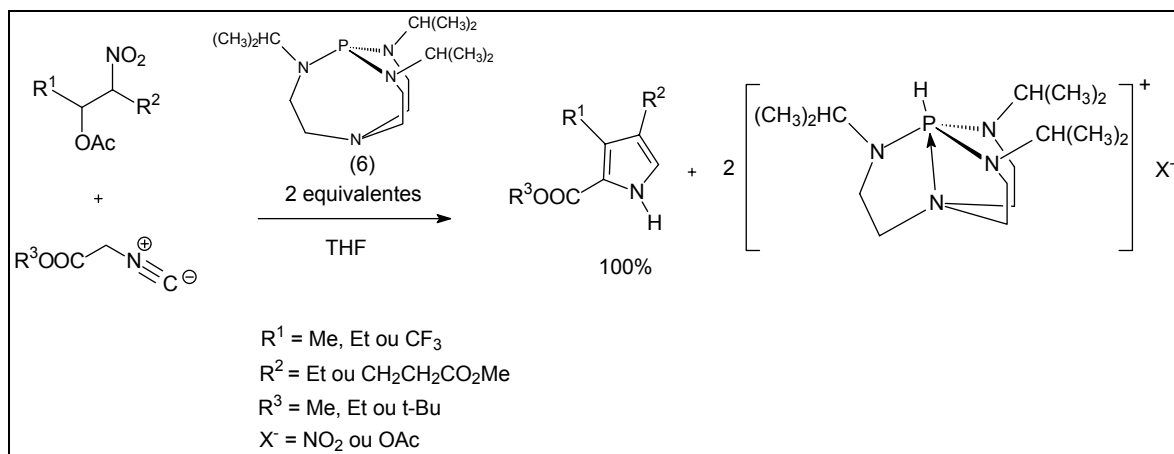


Esquema 1.7 - Uso da super-base não iônica P₄-*t*-Bu (4) na reação de Barton-Zard

Outra super-base empregada é o 2,8,9-trisopropil-2,5,8,9-tetraaza-1-fosfabiciclo-[3.3.3]undecano (6), a base de Verkade (TANG; DOPKE; VERKADE, 1993), cerca de 10^{17} vezes mais básica que o DBU. O uso dessa base traz algumas vantagens frente ao DBU e as guanidinas empregadas por Barton, tal como a não formação de subprodutos decorrentes de reações laterais. Isso evita processos de separação cromatográfico, que geram perdas e diminuem o rendimento reacional.

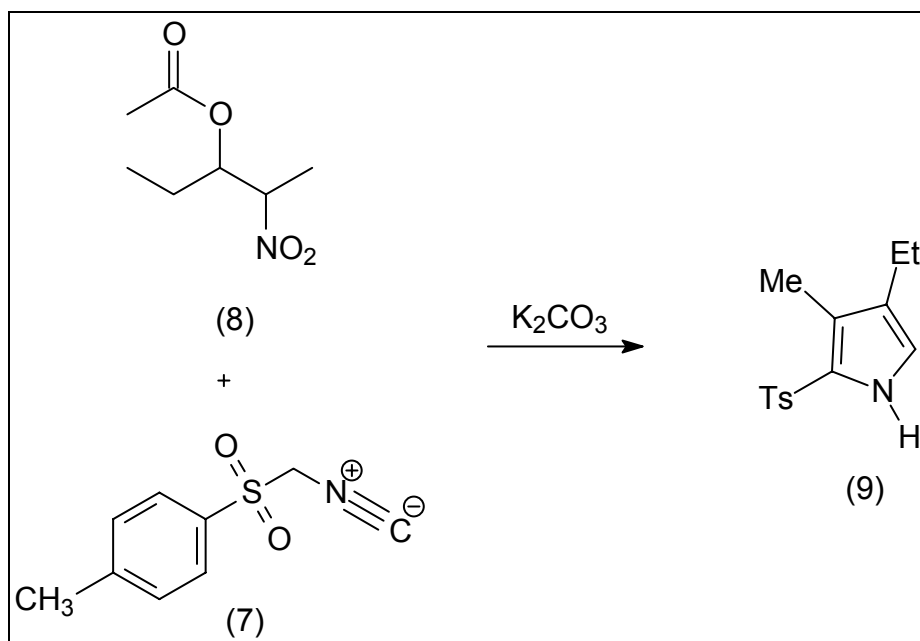
Verkade e Tang (1994) obtiveram alguns 2-alcóxicarbonilpirróis substituídos nas posições 3 e 4, empregados como intermediários sintéticos de porfirinas, através da reação de Barton-Zard substituindo o DBU e as guanidinas pela base de Verkade (6), o que resultou em rendimentos quantitativos, esquema 1.8. Além disso, o nitrito e o acetato gerados formam precipitados salinos com o ácido conjugado da base.

Assim, com a grande diferença de solubilidade desse sal e o único pirrol formado no solvente utilizado, torna-se possível separar unicamente por filtração e possibilitando a recuperação da base através de uma desprotonação subsequente com *t*-butóxido de potássio em alto rendimento.



Esquema 1.8 - Uso da super-base não iônica de Verkade (6) na reação de Barton-Zard.

Em alguns casos isocianoésteres com hidrogênios α mais ácidos que isocianoacetatos podem ser desprotonados com o uso de carbonato de potássio. A reação entre o *p*-toluenossulfonilisocianeto (TosMIC) (7) e o acetato de 1-etil-2-nitropropila (8) em meio a K₂CO₃ fornece o pirrol trissubstituído (9) com 92% de rendimento, esquema 1.9.



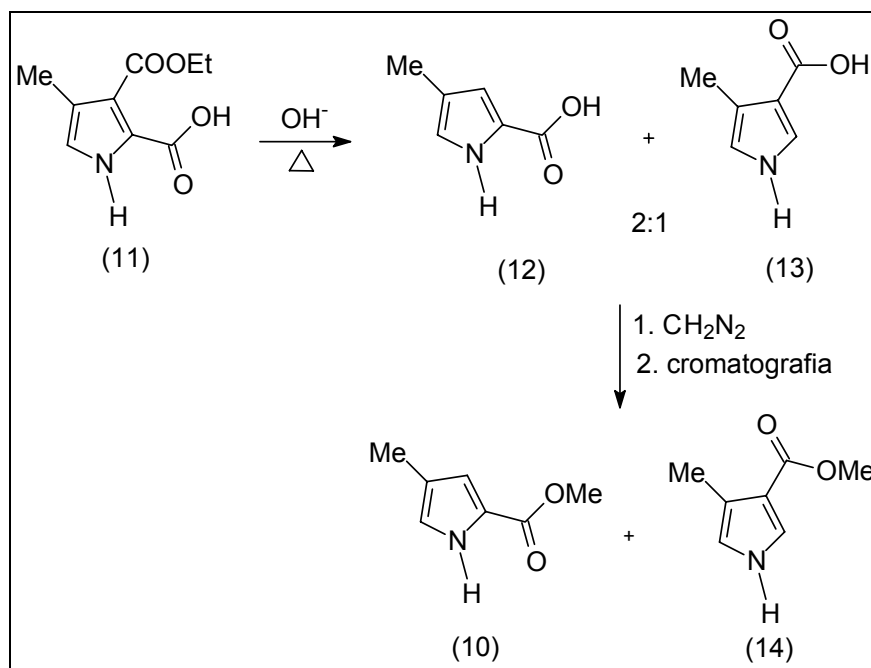
Esquema 1.9 - Reação de Barton-Zard usando carbonato de potássio como base.

A reação de Barton-Zard, em alguns casos, pode apresentar baixos rendimentos e subprodutos indesejados. Contudo, esse método de obtenção de α -alcoxicarbonilpirróis substituídos nas posições 3 e 4 é mais eficiente e versátil se comparado com os outros métodos clássicos. Isso se deve ao fato dos reagentes utilizados serem bastante acessíveis e existir possibilidade de arranjos estruturais que resultem em produtos com substituintes altamente diversificados.

1.1.3 - Abordagens sintéticas para obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila

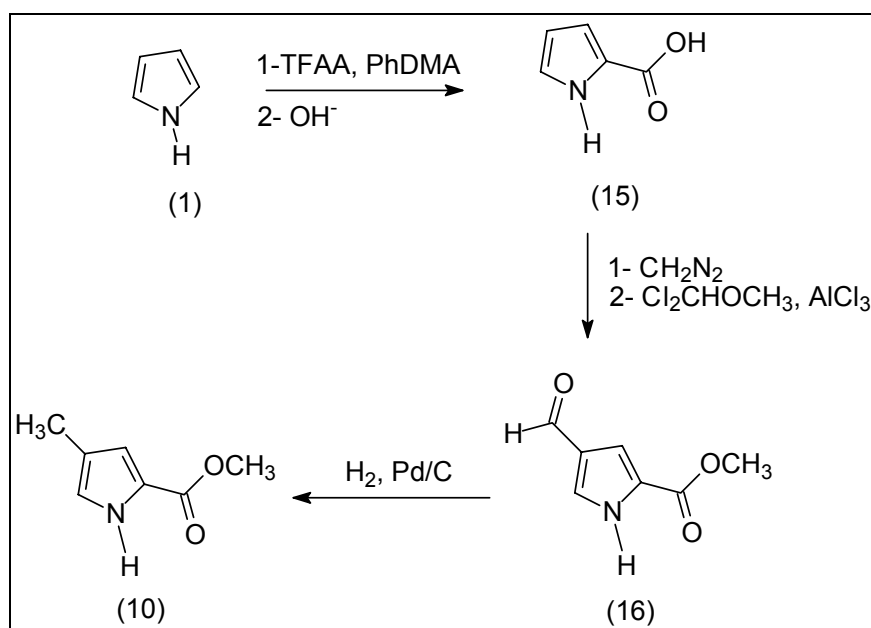
Na década de 1950 surgiu um grande interesse no estudo de feromônios e o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) foi o primeiro feromônio de trilha de formigas a ser isolado e identificado. Tumlinson e colaboradores (1971) extraíram substâncias voláteis e não voláteis da glândula de veneno de operárias de *Atta texana* e identificaram o pirrol dissubstituído (10) como sendo o componente principal do feromônio de trilha desse inseto.

Algumas abordagens sintéticas o composto (10) são descritas na literatura. A primeira síntese desse feromônio foi relatada por Rapoport e Bordner (1964), quando nem se sabia que era um feromônio de trilha. A partir do ácido 3-etoxicarbonil-4-metilpirrol-2-carboxílico (11), uma descarboxilação gerada em meio alcalino e aquecimento forneceu uma mistura 2:1 dos ácidos (12) e (13) que foram esterificados com diazometano e separados por cromatografia, resultando no composto (10) como um dos produtos.



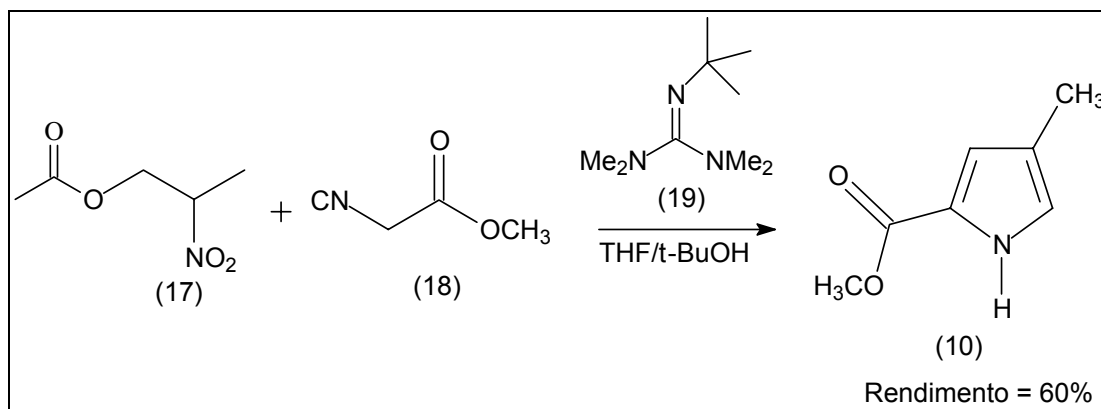
Esquema 1.10 - Abordagem sintética para o pirrol (10) feita por Rapoport e Bordner.

Sonnet (1972) descreveu a obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) partindo do pirrol (1). Nessa abordagem a geração do ácido pirrol-2-carboxílico ocorre pela formação do intermediário 2-trifluoroacetilpirrol, que sofre hidrólise gerando o ácido (15). Em seguida (15) sofre esterificação com diazometano seguida de formilação na posição 4, gerando (16), que é reduzido cataliticamente com hidrogênio resultando no pirrol (10) com rendimento global de 66%, esquema 1.11.



Esquema 1.11 - Abordagem sintética para obtenção do pirrol (10) feita por Sonnet.

Barton e colaboradores (1990) obtiveram o composto (10) partindo do acetato de 2-nitropropila (17) e isocianoacetato de metila (18) utilizando a *N*-*tert*-butil-*N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (19) em uma reação de uma etapa com rendimento razoável, 60%, esquema 1.12. A base (19), que é fundamental para a conversão, é uma guanidina com grande impedimento estérico e é conhecida como base de Barton (BARTON; ELLIOTT; GÉRO, 1981).



Esquema 1.12 - Abordagem sintética na obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) feita por Barton-Zard.

Embora o rendimento obtido pelo método de Barton-Zard seja inferior ao método de Sonnet, este procedimento é o mais conveniente já que é realizado a partir de compostos de simples obtenção, em uma única etapa rápida e sem maiores dificuldades no isolamento. Um outro fator interessante neste protocolo é a possibilidade do uso de diferentes bases, tornando possível otimizar a reação para uma determinada situação variando-se a força ou o impedimento estérico da base.

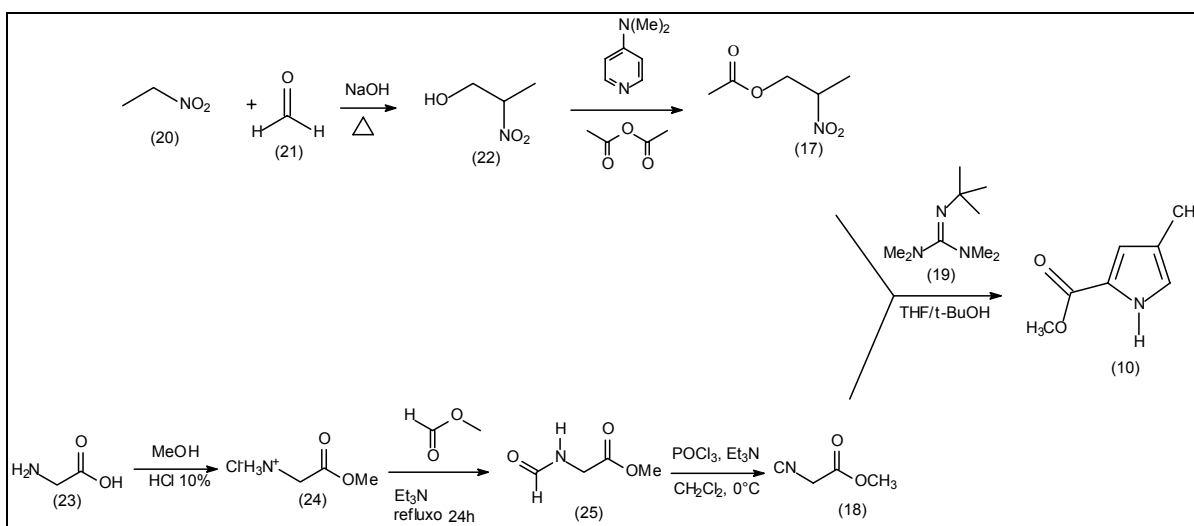
1.2 - OBJETIVOS

Diante da flexibilidade da reação de Barton-Zard na síntese de pirróis e do rendimento razoável descrito para obtenção de 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10), resolvemos empregar esta metodologia para a obtenção do composto (10). O objetivo desta parte do trabalho foi obter o pirrol dissubstituído (10) em quantidades apreciáveis para sua caracterização e para realização dos testes de avaliação do potencial alomonal herbicida a serem descritos no próximo capítulo.

O alto custo da base de Barton (19) e a possibilidade de emprego de diferentes bases na reação de Barton-Zard justificam um estudo dessa metodologia através de modificações nas condições reacionais e utilização de outras bases. Assim, outro objetivo desta seção do trabalho foi verificar a alteração no rendimento da reação de Barton-Zard para síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10), por cromatografia gasosa, com a utilização de diferentes bases orgânicas não iônicas de fácil acesso e baixo custo.

1.3 - METODOLOGIA

A síntese de um dos principais componentes do feromônio de trilha de formigas cortadeiras, o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10), foi baseada no trabalho escrito por Barton, Kervagoret e Zard (1990). Partindo do nitroetano (20) e formaldeído (21), passando por duas etapas, chega-se ao acetato de 2-nitropropila (17). O isocianoacetato de metila (18) é obtido a partir da glicina (23) em três etapas, esquema 1.13.

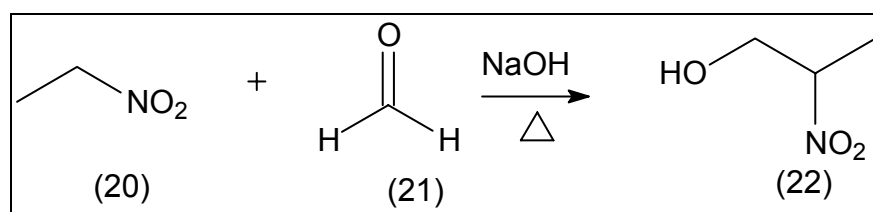


Esquema 1.13 - Rota sintética para a obtenção do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10).

1.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

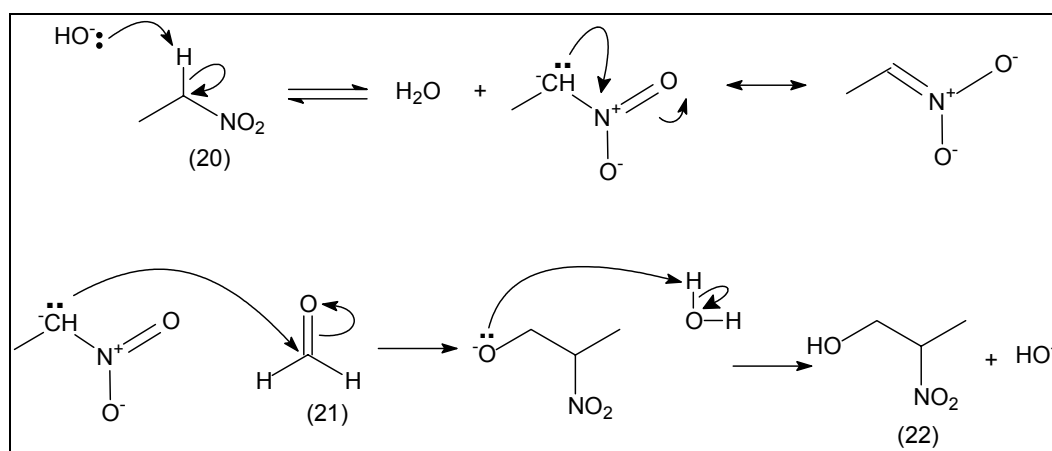
1.4.1 - Preparação 2-nitropropan-1-ol (22)

A síntese do 2-nitropropan-1-ol (22) constituiu a primeira etapa de obtenção do acetato de 2-nitropropila (17). A obtenção do 2-nitroálcool (22) é baseada na adição, catalisada por base, do nitroetano (20) com o formaldeído (21) (FEUER e MILLER, 1961), esquema 1.14.



Esquema 1.14 - Síntese do 2-nitropropan-1-ol (22).

Nessa reação, paraformaldeído é dissolvido em uma solução de NaOH e água quente, em seguida é adicionado a uma solução de nitroetano (20) em NaOH e água, ocorrendo uma adição aldólica do sal nitroato na carbonila do formaldeído (SYKES, 1985), esquema 1.15. Visualmente não ocorre alteração no meio reacional, o produto é facilmente isolado através de uma extração por solvente e purificado por destilação. O rendimento da reação foi de 58%.

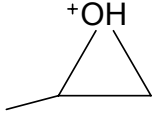
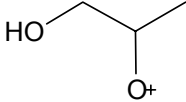


Esquema 1.15 - Mecanismo proposto para a reação de adição aldólica entre nitroetano (20) e formaldeído (21)

O 2-nitropropan-1-ol (22) foi caracterizado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM), infravermelho por transformada de Fourier (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

A análise cromatográfica mostra um único sinal em 3,92 min, que juntamente com o espectro de massas indica a pureza do produto. A tabela 1.1 mostra os valores dos principais sinais com as intensidades relativas e seus possíveis fragmentos iônicos no espectro de massas do 2-nitropropan-1-ol (22) (APÊNDICE A).

Tabela 1.1 - Principais sinais do espectro de massas do composto (22).

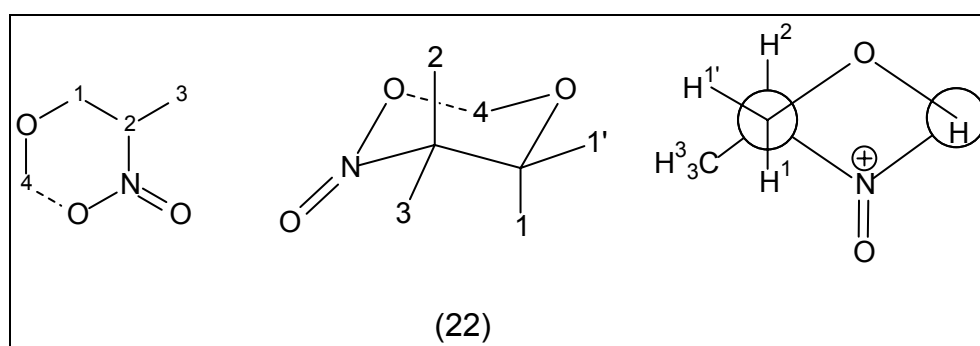
Íons (m/z)	% do pico base	Fragmento iônico
41	100	$\text{H}_2\overset{+}{\text{C}}-\text{CH}=\text{CH}_2$
59	78	
75	24	

A intensidade do sinal está diretamente relacionada à estabilidade do fragmento iônico correspondente. Como se pode observar, o sinal relativo ao fragmento iônico com m/z igual a 41 é o sinal base. Nesse caso, a espécie em questão é mais estável que as outras devido à ressonância eletrônica proporcionada pelo arranjo dos orbitais sp^2 . Outro fato importante é a ausência do sinal do íon molecular, característica de compostos com grupo nitro em sua estrutura.

Na Tabela 1.2 tem-se a correlação dos dados obtidos a partir dos espectros de RMN de ^1H (APÊNDICE B) e ^{13}C (APÊNDICE C) do composto (22).

Tabela 1.2 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto (22) em CDCl_3 .

H	δ (ppm)	C	δ (ppm)
H ¹	3,93 - 4,02 (m; 1H)	C ¹	64,0 (CH ₂)
H ^{1'}	3,85 - 3,93 (m; 1H)		
H ²	4,6 (ddq; $J_{2-3} = 7,0$ Hz; $J_{2-1'} = 3,3$ Hz; $J_{2-1} = 7,7$ Hz; 1H)	C ²	84,3 (CH)
H ³	1,52 (d; $J_{2-3} = 7,0$ Hz; 3H)	C ³	15,0 (CH ₃)
H ⁴	3,28 (dd; $J_{1-4} \approx J_{1'-4} = 5,9$ Hz; 1H)	-	-



O metileno β ao grupo nitro e α a hidroxila, é caracterizado pelo multipletto apresentado entre 3,85 e 4,02 ppm no espectro de ^1H e o sinal em 64,0 ppm no espectro de ^{13}C .

O metino ligado na posição α ao grupo nitro é caracterizado pelo ddq em 4,64 ppm no espectro de ^1H e 84,3 ppm no espectro de ^{13}C . A constante de acoplamento entre os hidrogênios da metila e o H² é 6,96 Hz, valor típico para esse tipo de acoplamento. De acordo com a relação entre o ângulo de diedro e a constante de acoplamento proposta por Karplus (1963), o valor de $J_{2-1'}$ (posição axial-equatorial) estaria entre 2 e 3 Hz, o valor observado foi de 3,3 Hz, próximo ao esperado. Já o valor de J_{2-1} (posição axial-axial) estaria entre 8 e 10 Hz, o valor observado foi 7,7 Hz. Esse pequeno desvio é previsto por Karplus em moléculas que possuam grupos eletronegativos posicionados próximos aos núcleos em questão.

A multiplicidade do sinal relativo à H² assim como a constante de acoplamento J_{2-1} foram obtidas a partir da simulação de acoplamento utilizando o programa DNMR[®]

versão 7.1 em comparação com o espectro obtido experimentalmente, sendo os valores utilizados na simulação atribuídos ao acoplamento experimental, figura 1.2.

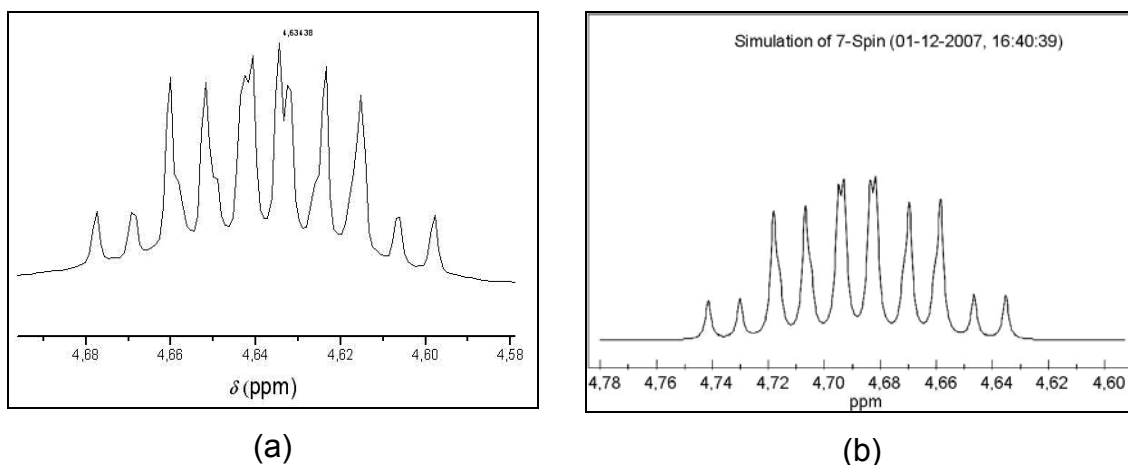


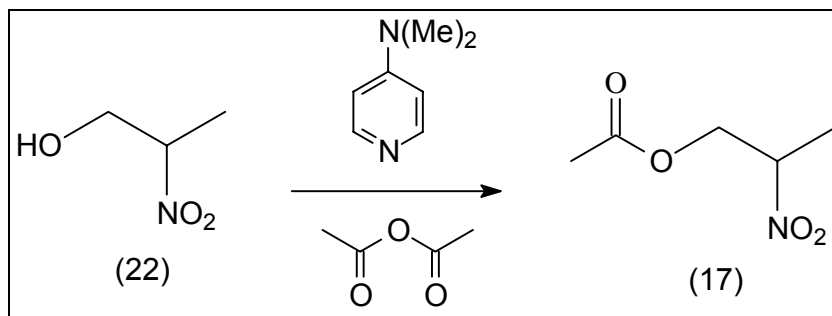
Figura 1.2 – Multiplicidade do H² no espectro do nitropropan-1-ol (22) (a) experimental e (b) simulado.

O espectro no infravermelho por transformada de Fourier (IV) (APÊNDICE D), mostra a presença de um sinal largo, característico da função álcool, em 3415 cm⁻¹, além dos sinais de deformação axial da ligação C-NO₂ em 858 cm⁻¹ e deformação axial simétrica e assimétrica das ligações O=N⁺-O⁻ em 1358 e 1560 cm⁻¹ respectivamente.

Dessa forma, o composto (22) foi caracterizado como sendo o 2-nitropropan-1-ol, o qual foi usado nas etapas reacionais seguintes.

1.4.2 - Obtenção do acetato de 2-nitropropila (17)

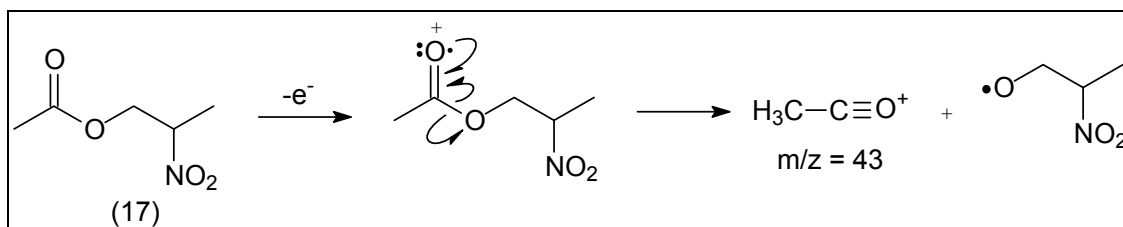
A acetilação do 2-nitropropan-1-ol (22), com anidrido acético e 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina (DMAP), produziu o derivado β-acetilado (17), como pode ser visto no esquema 1.16.



Esquema 1.16 - Síntese do acetato de 2-nitropropila (17).

Nessa reação o produto é facilmente isolado através de uma extração por solvente e purificado e purificado por destilação sob pressão reduzida. O rendimento da reação foi de 72% do produto puro.

O acetato de 2-nitropropila (17) foi caracterizado por CG-EM, IV e RMN de ^1H . O cromatograma mostra um único sinal em 4,59 min, que juntamente com o espectro de massas indica a pureza do produto. Um único sinal relevante foi observado no espectro de massas (APÊNDICE E) e a sua possível fragmentação, esquema 1.17, resultou numa espécie de m/z 43.



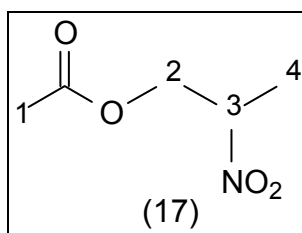
Esquema 1.17 - Possível fragmentação no espectrômetro de massas proposta para o composto (17).

Os dados de infravermelho (APÊNDICE F) mostram a presença de um sinal intenso, característico de carbonila, em 1751 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação $\text{C}=\text{O}$, além dos sinais de deformação axial da ligação $\text{C}-\text{O}$, em 1229 cm^{-1} , de deformação axial da ligação $\text{C}-\text{NO}_2$ em 856 cm^{-1} e deformação axial simétrica e assimétrica das ligações $\text{O}=\text{N}^+-\text{O}^-$ em 1361 e 1560 cm^{-1} respectivamente. Além disso, é constatada a ausência de um sinal largo, característico da função álcool, na região de $3400-3500\text{ cm}^{-1}$, evidenciando o sucesso da acetilação.

A tabela 1.3 expõe os deslocamentos químicos obtidos a partir do espectro de RMN de ^1H (APÊNDICE G) para o composto (17).

Tabela 1.3 - Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) e obtidos para o composto (17)

H	δ (ppm)
H ¹	2,05 (s, 3H)
H ²	4,38 (d; $J_{3-4} = 5,13$ Hz; 2H)
H ³	4,77 (m; 1H)
H ⁴	1,54 (d; $J_{3-4} = 6,96$ Hz; 3H)

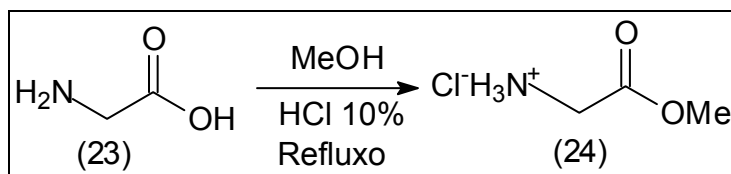


O singlete em 2,05 ppm é característico de metila do grupo acetato. O metino α ao grupo nitro é caracterizado pelo sinal em 4,77 ppm. Os dupletos em 1,54 ppm e 4,38 ppm correspondem respectivamente à metila e ao metileno β ao grupo nitro.

Assim, o composto (17) foi caracterizado como sendo o acetato de 2-nitropropila, sendo usado na próxima etapa reacional.

1.4.3 - Obtenção do cloridrato do éster metílico da glicina (24)

A síntese do cloridrato do éster metílico da glicina (24) se constituiu na primeira etapa de obtenção do isocianoacetato de metila (18). A obtenção do sal do éster da glicina (24) começa com a esterificação da glicina (23) por metanol acidificado com ácido clorídrico gasoso (FURNISS *et al*, 1989), esquema 1.18.



Esquema 1.18 - Síntese do cloridrato do éster metílico da glicina (24).

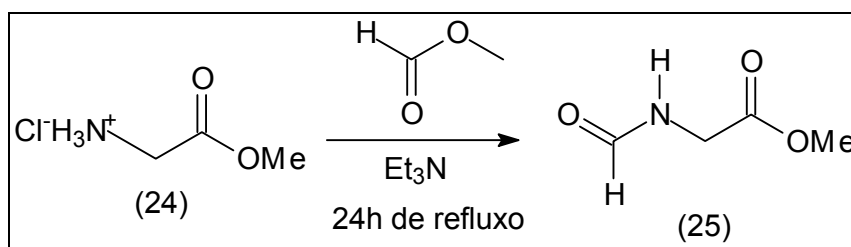
O produto é detectado pela formação de um precipitado branco ao resfriar mistura reacional em banho de gelo e isolado por filtração. O rendimento alcançado foi de 61% do produto purificado por recristalização. O composto (24) foi caracterizado por ponto de fusão e IV. A faixa de fusão medida foi de 174-176°C, muito próxima da faixa descrita para o produto comercializado pela *Acros Organics*, 173-177°C.

Os dados de infravermelho (APÊNDICE H) mostram a presença de um sinal intenso e largo, característico de NH_3^+ , em 2970 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação N-H, além dos sinais de deformação axial da ligação C=O, em 1755 cm^{-1} , de deformação axial da ligação C-NO₂ em 856 cm^{-1} e deformação axial assimétrica acoplada das ligações C-C(=O)-O em 1259 cm^{-1} .

Assim, o composto (24) foi caracterizado como sendo o cloridrato do éster metílico da glicina, com pureza apropriada para ser usado na próxima etapa reacional sem necessidade de maiores purificações.

1.4.4 - Obtenção do éster metílico da *N*-formilglicina (25)

A segunda etapa da obtenção do isocianoacetato de metila consiste na obtenção do composto (25) através de uma reação de *N*-formilação do composto (24) promovida com formiato de metila em meio basicado por trietilamina e refluxo. Nestas condições observou-se a formação de um precipitado, provavelmente um sal de amônio, e do produto *N*-formilado (HARTMAN e WEINSTOCK, 1988), esquema 1.19. Após filtração e remoção do excesso de trietilamina, por destilação sob pressão reduzida (95°C a 1mmHg), obteve-se um óleo em 75% de rendimento.



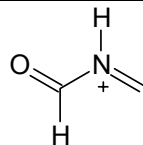
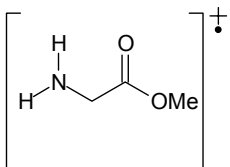
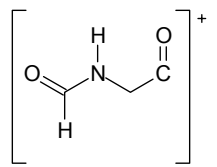
Esquema 1.19 - Síntese do éster metílico da *N*-formilglicina (25).

O composto (24) foi caracterizado por IV, CG-EM e RMN de ^1H e ^{13}C .

O espectro de infravermelho (APÊNDICE I) apresenta um sinal intenso e largo em 3408 cm^{-1} característico de amida secundária, referente à deformação axial da ligação N-H. Observaram-se também os sinais de deformação axial das ligações C=O, em 1742 cm^{-1} , referente à carboxila da função éster, e em 1664 cm^{-1} , referente à carbonila da função amida. Ainda foram notados um sinal de deformação angular da ligação N-H em 1589 cm^{-1} e a deformação axial assimétrica acoplada das ligações C-C(=O)-O em 1227 cm^{-1} .

A análise cromatográfica mostrou um único sinal em 13,26 min, que juntamente com o espectro de massas indica a pureza do produto. A tabela 1.4 mostra os valores dos principais sinais com as intensidades relativas e seus possíveis fragmentos iônicos no espectro de massas do composto (25) (APÊNDICE J).

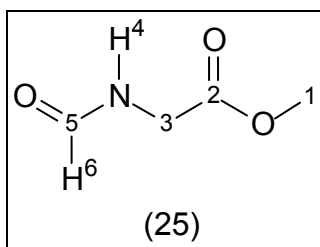
Tabela 1.4 - Principais sinais do espectro de massas do composto (25).

Íons (m/z)	% do pico base	Fragmento iônico
58	100	
89	47	
86	11	

Na Tabela 1.5 tem-se a correlação dos dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H (APÊNDICE K) e ^{13}C (APÊNDICE L) para o composto (25).

Tabela 1.5 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) obtidos para o composto (25) em CDCl_3 .

H	δ (ppm)	C	δ (ppm)
H ¹	3,79 (s, 3H)	C ¹	52,5
-	-	C ²	170,0
H ³	4,11 (d; $J_{3-4} = 3,51$ Hz; 2H)	C ³	39,8
H ⁴	6,41 (sinal largo, 1H)	-	-
-	-	C ⁵	161,2
H ⁶	8,26 (s, 1H)	-	-

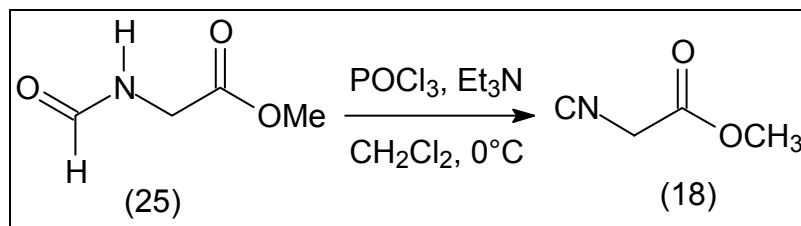


O sinal largo em 6,41 ppm no espectro de ^1H caracteriza a presença de hidrogênio ligado à nitrogênio. Já o sinal em 8,26 ppm é característico de hidrogênio ligado à carboníla. No espectro de ^{13}C os sinais, em 161,2 ppm e 170,0 ppm, correspondem respectivamente a carboníla da formíla e a carboxila da função éster.

Desse modo, o composto (25) foi caracterizado como sendo o éster metílico da N-formilglicina, de pureza adequada para ser usado na próxima etapa reacional.

1.4.5 - Obtenção do isocianoacetato de metila (18)

A obtenção do isocianoacetato de metila (18) consiste na desidratação do composto (25) com POCl_3 em meio básico de trietilamina sob atmosfera inerte de N_2 (HARTMAN e WEINSTOCK, 1988), esquema 1.20. Nessa reação o meio se torna vermelho ao longo do tempo.



Esquema 1.20 - Síntese do isocianoacetato de metila (18).

O produto pôde ser extraído com CH_2Cl_2 e destilado sob pressão reduzida ($75\text{-}76^\circ\text{C}$ a 10 mmHg), resultando em um líquido claro, que foi armazenado sob atmosfera inerte e sob temperaturas abaixo de 4°C . O composto (18) foi obtido em um rendimento de 56% após destilação.

O composto (18) foi caracterizado por CG-EM e RMN de ^1H e ^{13}C (APT).

A análise cromatográfica mostra um único sinal em 6,42 minutos, indicando a pureza do produto. A tabela 1.6 mostra os valores dos principais sinais com as intensidades relativas e seus possíveis fragmentos iônicos no espectro de massas do composto (18) (APÊNDICE M).

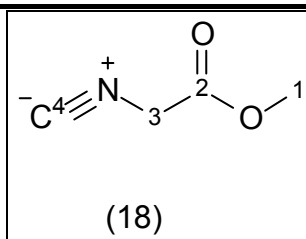
Tabela 1.6 - Principais sinais do espectro de massas do composto (18).

Íons (m/z)	% do pico base	Fragmento iônico
59	100	
68	33	

Na Tabela 1.7 são mostradas as correlações dos dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H (APÊNDICE N) e ^{13}C (APT) (APÊNDICE O) para o composto (18).

Tabela 1.7 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (APT, 100 MHz) obtidos para o composto (18) em CDCl_3 .

H	δ (ppm)	C	δ (ppm)
H ¹	3,84 (s, 3H)	C ¹	53,4 (CH ₃)
-	-	C ²	164,5 (CH ₀)
H ³	4,27 (s, 2H)	C ³	43,4 (CH ₂)
-	-	C ⁴	161,4 (CH ₀)



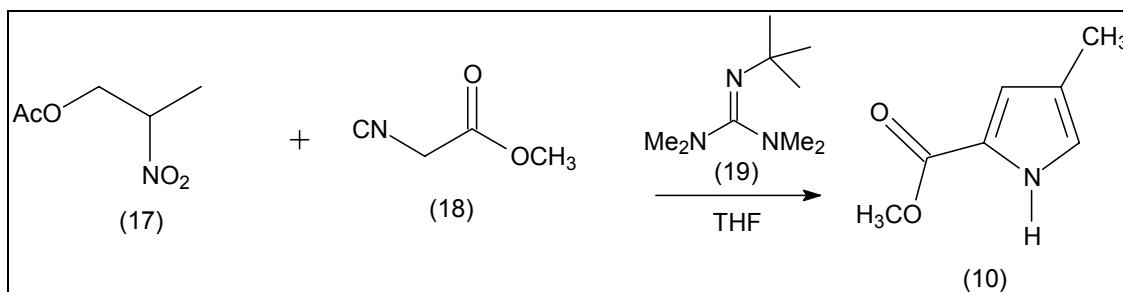
A metoxila da função éster é caracterizada pela presença de um singlete correspondente a 3 hidrogênios em 3,84 ppm no espectro de ^1H , e um sinal positivo no espectro de APT em 53,4 ppm. A caracterização do metileno α -carbonílico se dá através da observação de um singlete em 4,27 ppm no espectro de ^1H e um sinal negativo no espectro de APT em 43,4 ppm.

Assim, o composto (18) foi caracterizado como sendo o isocianoacetato de metila, e usado na próxima etapa reacional.

1.4.6 - Reação de ciclização entre o acetato de 2-nitropropila (17) e o isocianoacetato de metila (18)

O produto da reação, esquema 1.22, foi obtido em 50% de rendimento. Esse rendimento foi considerado razoável, já que, o descrito na literatura é de 60% (BARTON; KERVAGORET; ZARD, 1990). Diante dos processos de purificação aos quais o produto foi submetido: cromatografia em coluna de sílica gel e recristalização, a obtenção de melhores rendimentos foi prejudicada. Um outro ponto a ser considerado é a alta volatilidade do produto obtido, assim certamente também

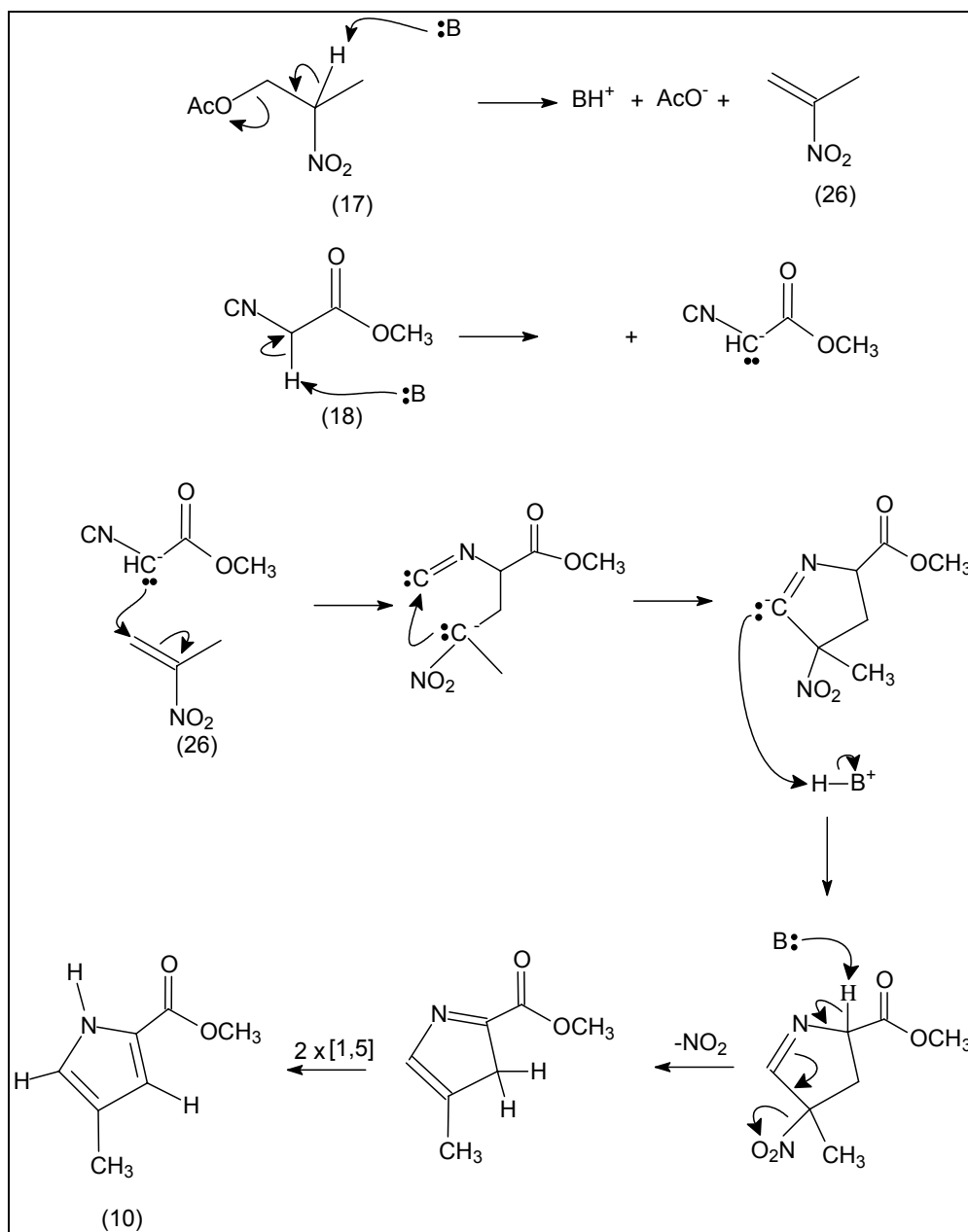
houve perdas durante os processos de concentração aplicados. Contudo, um sólido branco com odor característico foi obtido em quantidade suficiente, possibilitando a sua caracterização e a avaliação de sua atividade alomonal herbicida contra sorgo, milho, pepino e grama de jardim na segunda etapa do trabalho.



Esquema 1.21 - Síntese do composto (10).

Essa ciclização ocorre através de uma adição de Michael do nucleófilo, gerado a partir do isocianoacetato de metila (18), ao 2-nitropropeno (26), gerado a partir do acetato de 2-nitropropila (17) pela eliminação de ácido acético. Após a adição de Michael, ocorre a migração de um par de elétrons do carbono α -NO₂, fechando o anel, o processo segue com eliminação de nitrito e um duplo rearranjo [1,5] sigmatrópico.

Nas condições básicas do meio reacional, nitroacetatos sofrem β -eliminação gerando, *in situ*, o nitroalqueno de interesse. Desse modo, a baixa concentração aliada à competição do ataque nucleofílico do carbânion derivado de (18), minimizaria a polimerização, induzida pelo meio básico, do 2-nitropropeno (26), um problema comum quando nitroalquenos são diretamente utilizados, esquema 1.21.



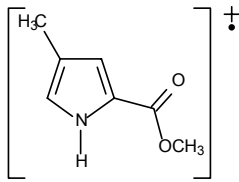
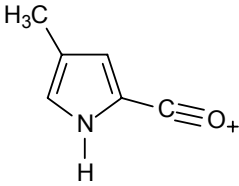
Esquema 1.22 - Mecanismo da reação de síntese do composto (10).

O composto (10) foi caracterizado por medida de ponto de fusão, IV, CG-EM e RMN de ^1H . O ponto de fusão medido, $71,5\text{-}72,5\text{ }^\circ\text{C}$ foi muito próximo do descrito na literatura, $72,5\text{-}73,5\text{ }^\circ\text{C}$ (SONNET, 1972). Os dados obtidos no espectro de infravermelho (APÊNDICE P) mostram a presença de um sinal intenso, característico de carboxila, em 1674 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação $\text{C}=\text{O}$, além da deformação axial assimétrica acoplada das ligações $\text{C}(\text{O})-\text{O}$, em 1213 cm^{-1} e de deformação axial da ligação $\text{N}-\text{H}$ em 3285 cm^{-1} . Além disso, a

ciclização é evidenciada pelas absorções 1448, 1489 e 1578 cm^{-1} , que podem ser atribuídas aos estiramentos das ligações C-C do anel aromático.

A análise cromatográfica mostra um único sinal em 6,31 min, que juntamente com o espectro de massas indica a pureza do produto. A tabela 1.8 mostra os valores dos principais sinais com as intensidades relativas e seus possíveis fragmentos iônicos no espectro de massas do composto (10) (APÊNDICE Q). O sinal observado em m/z 139 corresponde ao sinal do íon molecular.

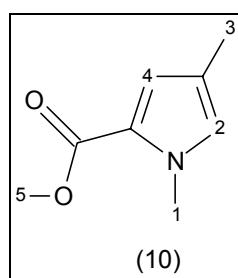
Tabela 1.8 - Principais sinais do espectro de massas do composto (10).

Íons (m/z)	% do pico base	Fragmento iônico
139	100	
108	57	

Na tabela 1.9 observa-se dos dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H (APÊNDICE R) para o composto (10).

Tabela 1.9 - Dados de RMN de ^1H obtidos para o composto (10)

H	δ (ppm)
H ¹	8,91 (sinal largo e baixo, 1H)
H ² e H ⁴	6,69-6,73 (sinal largo, 2H)
H ³	2,09 (s, 3H)
H ⁵	3,82 (s, 3H)



O sinal largo e baixo em 8,91 ppm é característico de hidrogênio ligado ao nitrogênio de anel pirrólico. Os sinpletos em 2,09 ppm e 3,82 ppm correspondem respectivamente à metila, ligada na posição 4 do anel pirrólico, e a metoxila de éster. Os sinais dos hidrogênios das posições 2 e 4 do anel pirrólico aparecem muito próximos, resultando em um sinal alargado na faixa entre 6,69 à 6,73 ppm.

Assim, o composto (10) foi caracterizado como sendo o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila, podendo ser usado na etapa de testes biológicos.

1.4.7 - Estudo sistemático da reação de Barton-Zard na síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)

Os rendimentos razoáveis, obtidos nas reações de síntese do pirrol (10), motivaram o início de um estudo detalhado sobre a influência do impedimento estérico e a força da base que atua na formação do produto. Nesse trabalho, foram testadas oito bases além da base de Barton (19).

No estudo dos efeitos causados pela mudança da base, as condições reacionais foram fixadas, de modo que, a única variável fosse a base orgânica utilizada. Os

rendimentos de cada reação foram avaliados por cromatografia gasosa, através do método de padronização interna.

O método de padronização interna faz uso de uma curva de calibração. Essa curva deve ser construída injetando misturas de quantidades conhecidas do composto de interesse e de um padrão interno. A curva é obtida a partir da correlação entre a concentração do composto de interesse e a razão de áreas, que é o quociente entre a área do composto de interesse e a área do padrão interno (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

Através do método de padronização interna, os pequenos desvios de sensibilidade do detector, que ocorrem entre corridas diferentes, não geram interferências significativas nos resultados, já que se usa a razão entre as áreas. Da mesma forma, os erros devido às variações no volume de injeção, o que representa um problema maior em cromatografia gasosa, também não interferem.

A curva de calibração foi construída a partir de soluções do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10), em 10 diferentes concentrações, e uma solução do padrão interno de comparação, nesse caso a N-metilpirrolidona,

A figura 1.3 mostra a curva de calibração construída para determinação de rendimentos no estudo da Reação de Barton-Zard na síntese do pirrol (10).

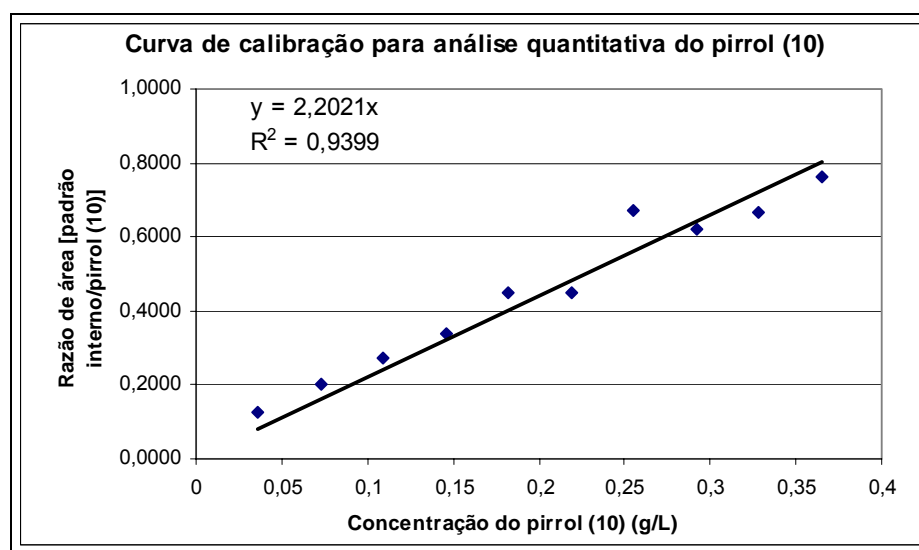
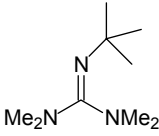
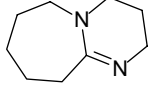
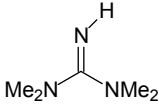
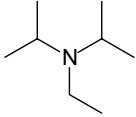
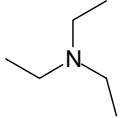
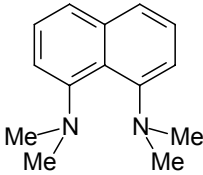
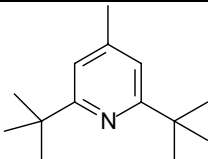
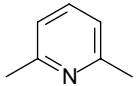



Figura 1.3 - Curva de calibração usada para determinação quantitativa do pirrol (10).

As diferentes bases utilizadas, e respectivos rendimentos são descritos na tabela 1.10.

Tabela 1.10 - Resultados das reações para o estudo do efeito da variação da base na reação de Barton-Zard para obtenção do pirrol (10).

Base	${}^{\text{MeCN}}\text{p}K_{\text{BH}^+}$	Rendimento (%)
 N' - <i>tert</i> -Butil- N,N,N' -tetrametilguanidina (19)	-	50-52
 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (27)	24,33*	13-15
 N,N,N',N' -Tetrametilguanidina (28)	23,3*	17-24
 N,N -Diisopropiletilamina (29)	-	<1
 Trietilamina (30)	18,46*	<1
 N,N,N',N' -Tetrametil-1,8- naftalenodiamina (31)	18,2**	<1
 2,6-Di- <i>tert</i> -butil-4-metilpiridina (32)	-	<1
 2,6-Lutidina (33)	13,92*	<1
 Piridina (34)	12,33*	<1

* (SIGMA-ALDRICH, 2003); ** (RAAB *et al*, 2005)

Os rendimentos observado no estudo dessa reação foram obtidos a partir de pelo menos duas repetições das reações para cada base testada.

1.6 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos referente à parte de síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) foram satisfatórios, já que o composto foi obtido em quantidade suficiente para ser caracterizado e ter sua atividade alomonal herbicida testada na etapa seguinte do trabalho.

O estudo sistemático da variação da base, na obtenção do pirrol (10), pela reação de Barton-Zard, revelou que a elevada força básica nas bases utilizadas é de fundamental importância. As reações que utilizaram bases com valor de pK_{BH}^+ menor que 23,3, da base (28), não levaram à formação do produto desejado em quantidades detectáveis pelo método utilizado. Isso se deve ao fato do valor do pK_a do $H\alpha$ ao grupo isociano do composto (18) estar, provavelmente, entre 19 e 23.

1.6.1 – Perspectivas futuras

Reações utilizando bases mais fortes que a base de Barton (19) e com impedimento estérico suficiente para permitir apenas a captura do $H\alpha$ ao grupo isociano do composto (18), provavelmente levarão a rendimentos mais significativo. Com isso, algumas bases que serão futuramente testadas são apresentadas na figura 1.4, com destaque para base de Verkade (6), que além de ter alto valor de pK_{BH}^+ , é facilmente recuperada.

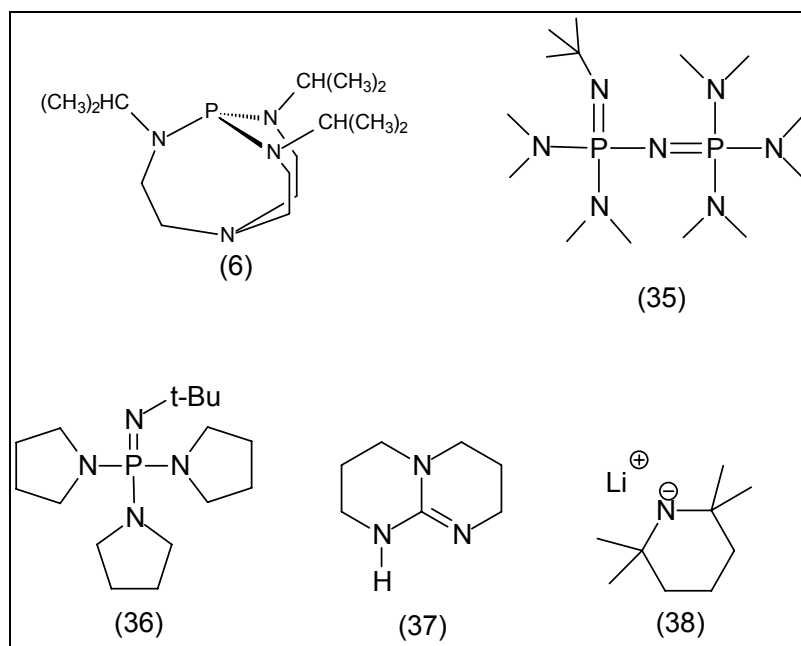


Figura 1.4 - Super-bases que podem ser futuramente testadas

1.7 - PARTE EXPERIMENTAL

1.7.1 - Geral

Durante a realização das etapas desse trabalho, todas as reações químicas foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (ccd), sendo utilizadas cromatofolhas de alumínio MERCK com sílica gel 60 GF₂₅₄ como fase estacionária.

Todos os solventes utilizados nas reações e separações foram de grau técnico, tendo sido previamente tratados de acordo como é indicado por Perrin e Armarego (1988). Os solventes foram evaporados em um evaporador rotatório FISATOM, operando à pressão reduzida.

As análises de CG-EM dos compostos foram feitas em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas SHIMADZU modelo QP5050A (LCQUI-UFENF) utilizando-se um método com as seguintes especificações:

- Coluna: DB-5, 30 metros, DI 0,25 mm.
- Gás de arraste: Hélio.
- Temperatura do injetor: 200 °C.
- Programa de temperatura para a coluna:
 - Temperatura inicial: 50 °C (1 min).
 - Temperatura final: 230 °C (7 min).
 - Gradiente de temperatura: 15 °C/min (12 min).
- Temperatura do detector: 230 °C.
- Programa de pressão:
 - Pressão inicial: 87,5 kPa (1 min).

- Pressão final: 171 kPa (7 min).
- Gradiente de Pressão: 7,0 kPa/min (12 min).
- Ionização por impacto eletrônico (IE) 70 eV.
- Obtenção do cromatograma de íons totais (TIC)

As análises de CG-DIC dos compostos foram feitas em um cromatógrafo gasoso acoplado a detector de ionização por chama SHIMADZU modelo 17A (LCQUI-UENF) utilizando-se um método com as seguintes especificações:

- Coluna: DB-1, 30 metros, DI 0,25 mm .
- Gás de arraste: Hidrogênio.
- Temperatura do injetor: 200 °C.
- Programa de temperatura para a coluna:
 - Temperatura inicial: 50 °C.
 - Temperatura final: 200 °C (5 min).
 - Gradiente de temperatura: 15 °C/min (10 min).
- Temperatura do detector: 230 °C.
- Programa de pressão:
 - Pressão inicial: 50 kPa.
 - Pressão final: 65 kPa (5 min).
 - Gradiente de Pressão: 1,0 kPa/min (10 min).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos nas frequências de 400 MHz e 100 MHz respectivamente em um espectrômetro JEOL Eclipse+ 400 (LCQUI-UENF), utilizando como solvente clorofórmio deuterado.

As análises na região do infravermelho foram realizadas em um espectrômetro SHIMADZU, modelo FTIR 8300 (LCQUI-UENF). As amostras sólidas foram analisadas em pastilha de KBr, já as amostra líquidas foram analisadas na forma de filme entre pastilhas de NaCl. As medidas de ponto de fusão foram realizada em um aparelho Fisher-Jonhs, sem correção.

1.7.2 - Procedimentos experimentais

Os procedimentos experimentais relatados a seguir referem-se aos melhores resultados obtidos.

1.7.2.1 - Preparação 2-nitropropan-1-ol (22)

Em um balão de fundo redondo de 500 mL, equipado com agitação magnética e banho de gelo, foram dissolvidos 26,80 g de hidróxido de sódio e 57,85 g de nitroetano (20) em 150 mL água destilada. Após a completa dissolução desses reagentes a solução foi deixada sob temperatura ambiente durante 20 min.

Paralelamente, em um Erlenmeyer de 250 mL, equipado com agitação magnética e aquecimento, foram dissolvidos 19,43 g de paraformaldeído em 20 mL de água destilada, aquecida a 50°C, formando uma suspensão. Em seguida, adicionaram-se 10,0 mL de uma solução de hidróxido de sódio 1 mol/L, dissolvendo todo o precipitado.

Em seguida, a solução de nitroetano (20) foi resfriada sob banho de gelo e depois sofreu adição lenta (30 min) da solução de formaldeído. Ao final da adição a solução resultante foi levada à temperatura ambiente e mantida assim por três horas. Ao final desse tempo, resfriou-se a solução sob banho de gelo e adicionaram-se lentamente (30 min) 50 mL de ácido acético glacial. Em seguida, a solução resultante foi novamente levada à temperatura ambiente e mantida assim por três horas. Após

esse tempo, adicionou-se cloreto de sódio ao meio reacional até a saturação da solução resultante a qual foi extraída com éter etílico (3 vezes de 70 mL). A fase orgânica resultante da extração foi lavada com água destilada gelada (3 vezes de 70 mL), seca com sulfato de sódio anidro, filtrada, e filtrado obtido foi levado ao rota-evaporador para eliminação do solvente, obtendo-se um líquido incolor, o qual foi destilado (1 mmHg, 73°C), resultando 39,56 g de produto puro correspondente ao composto (22).

1.7.2.2 - Preparação acetato de 2-nitropropila (17)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, equipado com agitação magnética, foram dissolvidos 5,00 g de 2-nitropropan-1-ol (20), 8,00 g de anidrido acético e 200 mg de 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina (DMAP) em diclorometano (25 mL). A mistura foi mantida sob agitação durante 15 h. Ao fim desse tempo, foram adicionados 5,0 mL de metanol e a mistura foi agitada por mais 2 h. Em seguida, a solução resultante foi transferida para um funil de separação, onde após receber a adição de 60,0 mL de uma solução de bicarbonato de sódio aquoso (2,0 mol/L), foi extraída com diclorometano (3 vezes de 30 mL). A fase orgânica foi reunida e filtrada em uma pequena coluna de sílica gel. O filtrado recolhido foi levado ao evaporador rotatório para eliminação do solvente, resultando em um líquido incolor, o qual foi destilado (1 mmHg, 60°C) resultando em 5,04 g de produto puro.

1.7.2.3 - Preparação do cloridrato do éster metílico da glicina (24)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL, equipado com aquecimento e agitação magnética, foram dissolvidos 10,00 g de glicina (23) em 100 mL de metanol acidificado com HCl gasoso (10%, m/m). A mistura resultante foi mantida sob agitação e refluxo durante 10 min. Em seguida, a solução foi resfriada em banho de gelo e sal, deixando-a em repouso por cerca de uma hora. Ao final desse tempo, foi obtido um precipitado branco, que foi filtrado em um funil de Büchner, lavado com 10 mL de metanol gelado e seco ao ar, resultando em 10,25 g de produto puro.

1.7.2.4 - Preparação do éster metílico da *N*-formilglicina (25)

Em um balão de duas bocas de 100 mL contendo 45 mL de formiato de metila e equipado com agitação magnética, placa de aquecimento, funil de adição com pressão equalizada e condensador de refluxo, foram adicionados 9,17 g do cloridrato do éster metílico da glicina (24). O sistema foi aquecido à temperatura de refluxo e então 15 mL de trietilamina foram adicionados lentamente. A temperatura do banho foi mantida em cerca de 50°C por 20 h. Ao final desse tempo a mistura resultante foi filtrada em um funil de Büchner, o precipitado foi lavado com 10 mL de diclorometano, e a fração líquida foi levada ao evaporador rotatório para remover o solvente. Em seguida, o óleo obtido foi destilado sob pressão reduzida (1mmHg-95°C), resultando em 6,47 g do produto puro.

1.7.2.5 - Preparação do isocianoacetato de metila (18)

Em um balão de duas bocas de 100 mL equipado com agitação magnética, banho de gelo e sal, atmosfera de nitrogênio e funil de adição com pressão equalizada, foram dissolvidos 6,00 g do éster metílico da *N*-formilglicina (25) e 18,00 mL de trietilamina em 50 mL de diclorometano. Em seguida, 5,00 mL de oxicloreto de fósforo foram adicionados lentamente, durante 30 min, de modo que a temperatura do meio reacional não ultrapassasse 0°C. Durante a adição a mistura foi se tornando marrom avermelhada. Ao final da adição, o banho de gelo e sal foi substituído por um banho de gelo e água e a mistura foi mantida sob agitação por mais uma hora. Ao final desse tempo foi adicionada lentamente uma solução de 10 g de carbonato de sódio em 40 mL de água destilada de modo que a temperatura do meio reacional não ultrapassasse 30°C. As duas fases da mistura foram mantidas sob agitação por mais 30 minutos. Em seguida, foram adicionados 50 mL de água destilada e a fase aquosa foi separada da fase orgânica. A solução resultante foi transferida para um funil de separação onde foi extraída com diclorometano (2 vezes de 25 mL). Em seguida, a fase orgânica foi reunida, lavada com 50 mL de uma solução saturada de

cloreto de sódio, seca com carbonato de potássio anidro e filtrada. O filtrado recolhido foi levado ao evaporador rotatório para eliminação do solvente, resultando em um óleo marrom que foi destilado sob pressão reduzida (55°C, 1 mmHg), fornecendo 2,37 g do produto puro.

1.7.2.6 - Preparação 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL equipado com agitação magnética, contendo 2 mL de uma mistura de THF e *terc*-butanol (1:1) foram adicionados 220,0 mg isocianoacetato de metila (18) e 760,0 mg de *N'*-*terc*-butil-*N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (19). A mistura foi agitada e em seguida uma solução de 450,0 mg acetato de 2-nitropropila (17) em 6 mL da mesma mistura de THF e *terc*-butanol foi adicionada lentamente (45 min). A solução resultante foi mantida sob agitação durante 30 min. Ao final desse tempo o solvente foi evaporado em um evaporador rotatório e o líquido obtido purificado por cromatografia em coluna de sílica eluída com pentano. O solvente foi evaporado e o produto obtido foi recristalizado em hexano, resultando em 201,0 mg de um sólido branco.

1.7.2.7 - Construção da curva de calibração para análise quantitativa do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)

Foram preparados 10 mL de uma solução 0,73 g L⁻¹ do composto (10) e 10 mL de uma solução 0,78 g L⁻¹ da *N*-metilpirrolidona, ambas em diclorometano. A partir dessas soluções, foram feitas 10 soluções em diclorometano de diferentes composições, como é mostrado na tabela 1.11.

Tabela 1.11 - Valores obtidos na construção da curva para análise quantitativa do pirrol (10).

Composição da solução			C (g L ⁻¹) pirrol (10)	Razão de área [pirrol (10)/padrão interno]
V (μL) pirrol (10) (0,73 g L ⁻¹)	V (μL) N-metilpirrolidona (0,78 g L ⁻¹)	V (μL) solvente		
10	50	140	0,0365	0,0365
20	50	130	0,073	0,073
30	50	120	0,1095	0,1095
40	50	110	0,146	0,146
50	50	100	0,1825	0,1825
60	50	90	0,219	0,219
70	50	80	0,2555	0,2555
80	50	70	0,292	0,292
90	50	60	0,3285	0,3285
100	50	50	0,365	0,365

1.7.2.7 - Estudo da variação da base na síntese do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)

As condições reacionais foram padronizadas, sendo as seguintes:

- Temperatura ambiente;
- Volume total de 10 mL;
- As quantidades molares do isocianoacetato de metila (18), do acetato de 2-nitropropila (17) e de base testada, foram respectivamente cerca de 1 mmol, 2 mmol e 2 mmol;

Em um balão de fundo redondo de 25 mL equipado com agitação magnética e contendo 2 mL THF foram adicionados 1 mmol isocianoacetato de metila (18) e 2 mmol da base a ser testada, Em seguida, foi lentamente adicionada, durante uma hora, uma solução de 2 mmol acetato de 2-nitropropila (17) em uma quantidade de solvente necessária para que o volume final atingisse 10 mL. A solução resultante foi mantida sob agitação durante 30 min à uma temperatura de 25°C. Ao final desse tempo foram coletados 20 μL em um frasco contendo 50 μL da solução padrão de N-metilpirrolidona e 130 μL de diclorometano. A solução resultante foi analisada por CG-DIC e os valores das áreas foram utilizados para cálculo do rendimento.

1.8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAG, N.; CHERN, S.-S.; PENG, S.-M.; CHANG, C. K. **Bis-Pocket Porphyrins without meso-Substituents:** Tetramethyltetra(2,4,6-triisopropylphenyl)porphyrin I and Tetramethyltetra(terphenyl)porphyrin I. *Tetrahedron Letters*, v. 36, p. 6409-6412, 1995.
- BARTON, D. H. R.; ELLIOTT, J. D.; GÉRO S. D. **The synthesis and properties of a series of strong but hindered organic bases.** *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, p. 1136 -1137, 1981.
- BARTON, D. H. R.; KERVAGORET, J.; ZARD, S. Z. **A Useful Synthesis of Pyrroles From Nitroolefins.** *Tetrahedron*, v. 21, p. 7587-7598, 1990.
- BLOMQUIST, A. T.; TAPP, W. J.; JOHNSON, J. R. **Polymerization of Nitroolefins. The Preparation of 2-Nitropropene Polymer and of Derived Vinylamine Polymers.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 67, p.1519-1524, 1945.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos.** 7. ed. Campinas: Ed. Unicamp, 1997. p. 171.
- EICHER, T.; HAUPTMANN, S. (Ed.). **The Chemistry of Heterocycles**, 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. p. 7.
- FEUER, H.; MILLER, R. **Michael Type Additions with Secondary Nitro Olefins Prepared *In Situ*.** *Journal of Organic Chemistry*, v. 26, p. 1348-1357, 1961.
- FURNISS, B. S.; HANNAFORD, A. J.; SMITH, P. W. G.; TATCHELL, A. R. (Rev.). **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry.** 5th ed. London: Logman, 1989. p. 762.
- GILCHRIST, T. L. **Synthesis of Aromatic Heterocycles.** *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, p. 2491-2515, 2001.
- HARTMAN, G. D.; WEINSTOCK, L. M. **Thiazoles From Ethyl Isocyanoacetate And Thiono Esters: Ethyl Thiazole-4-Carboxylate.** *Organic Syntheses*, v. 6, p. 620, 1988.
- JONES, R. A.; BEAN, G. P. **The Chemistry of Pyrroles.** London: Academic Press, 1977. p. 1, 51-67.
- KARPLUS, M. **Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance,** *Journal of the American Chemical Society*, v. 85, p. 2870-2871, 1963.
- KOVACEVIC, B.; MAKSIC, Z. B. **High basicity of tris-(tetramethylguanidinyl)-phosphine imide in the gas phase and acetonitrile - a DFT study.** *Tetrahedron Letters*, v. 47, p. 2553-2555, 2006.
- LI, J.; COREY, E. J. (Ed.). **Name Reactions in Heterocyclic Chemistry.** Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. p. 70-78.

LIPSHUTZ, B. H. **Five-Membered Heteroaromatic Rings as Intermediates in Organic Synthesis**. *Chemical Reviews*, v. 86, p. 795-819, 1986.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**, 3rd ed. Oxford: Pergamon, 1988. p. 67, 107, 145, 217, 284.

RAAB, V.; GAUCHENOVA, E.; MERKOULOV, A.; HARMS, K.; SUNDERMEYER, J.; KOVACEVIC, B.; MAKSIC, Z. B. **1,8-Bis(hexamethyltriaminophosphazanyl)naphthalene, HMPN: A Superbasic Bisphosphazene "Proton Sponge"**. *Journal of the American Chemical Society*, v. 127, p. 15738-15743, 2005.

RAPOPORT, H.; BORDNER, J. **Synthesis of Substituted 2,2'-Bipyrroles**. *Journal of Organic Chemistry*, v. 29, p. 2727, 1964.

SIGMA-ALDRICH. **Strong and Hindered Bases in Organic Synthesis**. *Aldrich Chemfiles*, v. 3, n. 1, 2003.

SONNET, P. E. **Synthesis of the Trail Marker of the Texas Leaf-Cutting Ant, *Atta texana* (Buckley)**. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 15, p. 97-98, 1972.

SYKES, P. **A guidebook to mechanism in organic chemistry**. 6th ed. Cambridge: Logman, 1985. p. 283.

TANG, J.; DOPKE, J.; VERKADE, J. G. **Synthesis of New Exceedingly Strong Non-Ionic Bases: $RN=P(MeNCH_2CH_2)_3N$** . *Journal of the American Chemical Society*, v. 115, p. 5015-5020, 1993.

TANG, J.; VERKADE, J. G. **Nonionic Superbase-Promoted Synthesis of Oxazoles and Pyrroles: Facile Synthesis of Porphyrins and α -C-Acyl Amino Acid Esters**. *Journal of Organic Chemistry*. V. 59, p. 7793-7802, 1994.

TUMLINSON, J. H.; SILVERSTEIN, R. M.; MOSER, J. C.; BROWNLEE R. G.; RUTH, J. M. **Identification of the Trail Pheromone of a Leaf-cutting Ant, *Atta texana***, *Nature*, v. 234, p. 348-349, 1971.

**CAPÍTULO 2: ATIVIDADE ALOMONAL HERBICIDA
DOS FEROMÔNIOS DE TRILHA DE FORMIGAS
CORTADEIRAS**

2.1 - INTRODUÇÃO

2.1.1 - As formigas cortadeiras

As formigas são insetos encontrados em quase todas as partes do planeta. Estima-se que sua biomassa esteja entre 15 a 20% da biomassa terrestre animal. Nas regiões tropicais, onde são mais abundantes, esse valor passa dos 25% (SCHULTZ, 2000). Atualmente, são conhecidas cerca de 10 mil espécies de formigas, e estima-se que ainda existam mais de 5 mil desconhecidas (GRIMALDI e AGOSTI, 2000).

Um tipo de formiga que atrai a atenção de vários pesquisadores é a formiga cortadeira. As formigas cortadeiras estão classificadas taxonomicamente da seguinte forma:

Reino: Animalia;

Filo: Arthropoda;

Classe: Insecta;

Ordem: Hymenoptera;

Família: Formicidae (abrange todas as formigas);

Subfamília: Myrmicinae;

Tribo: Attini;

Gêneros: *Atta* e *Acromyrmex*.

A tribo attini contém doze gêneros de formigas. Nesta tribo os gêneros mais derivados, também chamados de atines superiores, incluem as formigas cortadeiras. Destas, cerca de cinquenta espécies são dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*. Esses insetos são, provavelmente, os organismos ecologicamente dominantes na região tropical do continente americano (MIKHEYEV; MUELLER; ABBOT, 2006).

Os indivíduos da tribo attini cultivam fungo utilizando diferentes substratos, tais como: folhas verdes ou secas, flores, frutos, fezes e insetos mortos. Entretanto, os gêneros *Atta* e *Acromyrmex* são os únicos que cultivam seu fungo exclusivamente a partir de folhas frescas (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990).

Ao contrário do que se pensa à primeira vista, uma colônia de formigas cortadeiras não se alimenta diretamente das folhas que cortam, mas sim do fungo que cultivam (LIMA; DELLA LÚCIA; SILVA, 2001). O material vegetal cortado é carregado para o interior do formigueiro, onde é subdividido em pedaços menores e serve de substrato para o fungo, caracterizando uma relação simbiótica. Contudo, a dieta das operárias adultas é baseada principalmente na seiva que é liberada quando as folhas são cortadas, e é somente suplementada pelo fungo cultivado (ROCKWOOD e HUBBEL, 1987). As larvas se alimentam exclusivamente do fungo e a rainha se alimenta de ovos específicos para alimentação, que são postos por operárias em intervalos regulares de tempo (QUINLAN e CHERRETT, 1979 *apud* HÖLLDOBLER e WILSON, 1990).

Devido à importância econômica, os gêneros *Atta* e *Acromyrmex* são muito estudados no Brasil, onde são conhecidas respectivamente pelas denominações de Saúvas e Quenquéns. As formigas cortadeiras são pragas de significativa interferência na agricultura do continente americano. Estima-se que somente as espécies de *Atta* são responsáveis pelo corte de aproximadamente 15% das folhas produzida nas florestas tropicais da América (CHERRET, 1986 *apud* HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). O desfolhamento de monoculturas gera uma diminuição significativa na produtividade. Um formigueiro adulto pode desfolhar uma árvore em menos de 24 horas e consumir até uma tonelada de folhas por ano (MENDES FILHO, 1981).

As formigas cortadeiras são divididas em castas: rainha, operárias e aladas. Cada casta possui atividades diferentes na colônia. A rainha dá origem ao ninho e, após gerar as primeiras operárias, passa a ter como tarefa exclusiva a postura de ovos. As operárias são divididas em jardineiras, cortadeiras e soldados. Existem ainda as castas temporárias, que são aladas e têm a função de formar novos formigueiros. No gênero *Atta*, fêmeas e machos alados são chamados respectivamente de içás e bitus (LIMA; DELLA LÚCIA; SILVA, 2001).

Esses insetos vivem em colônias subterrâneas, popularmente chamadas de formigueiros. Os formigueiros são formados por uma ou mais câmaras, que por sua vez são vulgarmente denominadas de painéis. O ciclo de vida das colônias de formigas cortadeiras se divide em três etapas (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990):

- 1- Estágio de fundação – Começa com o vôo nupcial da rainha virgem e dos machos reprodutores a partir da sua colônia de origem. No vôo, a rainha é inseminada por um ou mais machos, que morrem logo em seguida. Após ser fecundada, a rainha encontra um lugar propício no solo para iniciar a construção da colônia. Ao se fixar, dá início ao jardim de fungo por meio de um micélio, que é trazido do seu ninho de origem, em uma cavidade infrabucal. Ela também deposita os primeiros ovos a partir de suas reservas energéticas. Quando as primeiras operárias chegam à maturidade passam a ter funções de manutenção e crescimento da colônia, cuidado com a prole e forrageamento, enquanto a rainha fica dedicada à postura de ovos. Em poucas semanas a população de operárias aumenta consideravelmente. O tamanho das operárias também aumenta, ocorrendo a divisão de tarefas de acordo com a idade e a morfologia de cada operária. A colônia atinge outro estágio de desenvolvimento.
- 2- Estágio ergonômico – Nesse estágio, todo trabalho realizado no ninho é direcionado ao crescimento da colônia.
- 3- Estágio de reprodução – Após um determinado período a colônia atinge uma relação favorável entre o número de indivíduos adultos e larvas, de forma que esteja energeticamente estabilizada. No momento que uma estação quente passa a vigorar começa a reprodução dos indivíduos sexuais. As novas rainhas virgens e machos alados saem para copular e iniciar novas colônias, fechando o ciclo de vida do formigueiro.

Tanto no gênero *Acromyrmex*, quanto no gênero *Atta* ocorre alto grau de polimorfismo nas operárias. No início do desenvolvimento da colônia a população de operárias mostra pequena diferença de tamanho. Contudo, ao atingir estágio de maturidade, cresce o número de operárias maiores. No gênero *Acromyrmex* o polimorfismo é menos acentuado se comparado com o gênero *Atta* (FOWLER *et al*, 1986).

A diferença de tamanho acentuada na casta operária evidencia a divisão das funções. As operárias jardineiras, ou mínimas, são os menores indivíduos da colônia e têm como tarefa a manutenção direta da colônia de fungos, além de dar assistência à rainha. As carregadeiras são maiores que as jardineiras e têm como

função a localização, corte e transporte do material vegetal para o interior do formigueiro. Os soldados são maiores que as carregadeiras e têm a função de proteção da colônia. A figura 2.1 (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990) apresenta a especialização das funções na manutenção do jardim de fungos relacionada ao tamanho da cabeça das operárias.

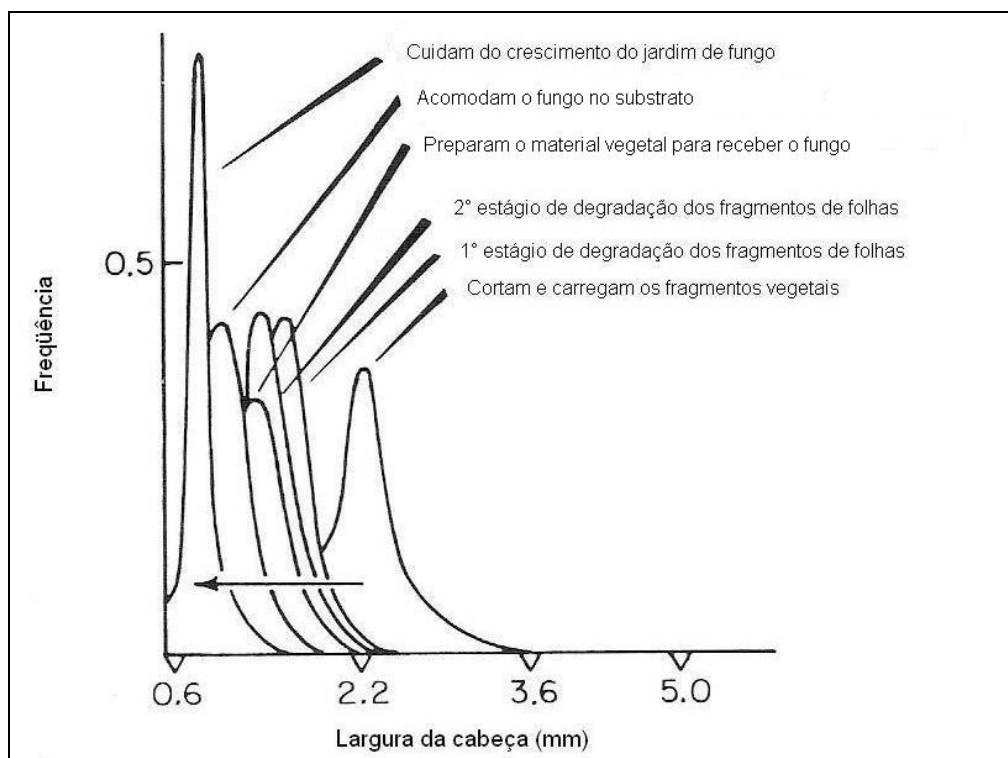


Figura 2.1 - Especialização de funções relacionadas ao tamanho da cabeça das operárias de *Atta sexdens*.

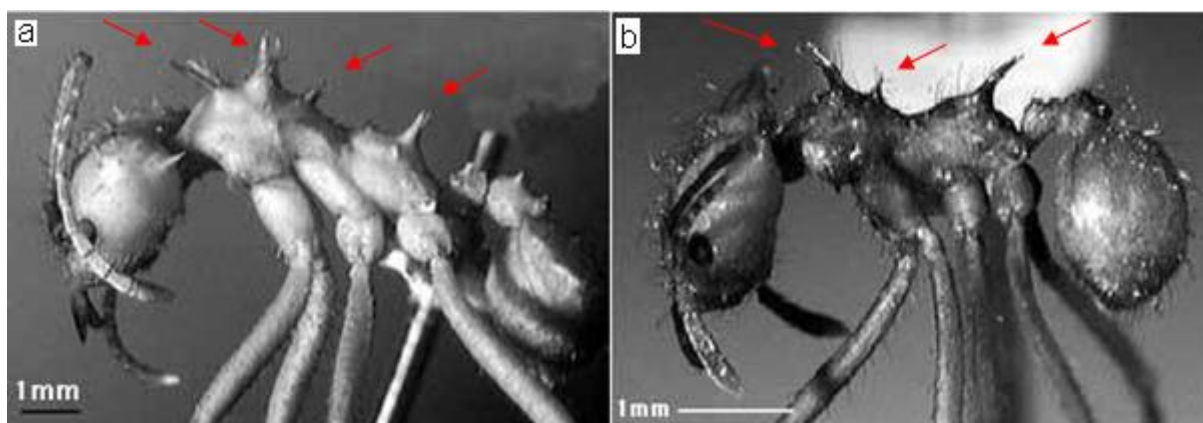
As operárias das cortadeiras se organizam nas diferentes funções do processo de cultivo do fungo. As tarefas que demandam maior força, como a obtenção do material vegetal, são efetuadas pelos indivíduos de maior porte. Já as tarefas de recorte e implantação do material vegetal ao jardim de fungos, que são realizadas dentro da colônia onde o espaço é menor, são executadas por indivíduos menores.

Embora apresentem características em comum, algumas diferenças entre os gêneros de *Acromyrmex* e *Atta* são descritas na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Principais diferenças entre os gêneros *Acromyrmex* e *Atta*.

<i>Acromyrmex</i> spp. (quenquéns)	<i>Atta</i> spp. (saúvas)
Operárias medindo de 8 a 10 mm e com quatro ou cinco pares de espinhos dorsais (figura 2.2a).	Operárias medindo de 12 a 15 mm e com três pares de espinhos dorsais (figura 2.2b).
Ninhos superficiais ou pouco profundos, geralmente constituídos de uma ou duas painelas. Na parte exterior não apresentam monte de terra solta sobre a sede aparente, podendo estar cobertos por restos vegetais secos.	Ninho profundo com inúmeras painelas. Na parte exterior apresenta uma sede aparente constituída de um monte de terra solta.
Colônias que podem ser poligínicas (ter duas ou mais rainhas)	Colônias monogínicas (apenas uma rainha)
28 espécies e subespécies no Brasil	13 espécies no Brasil

Fonte: LIMA; DELLA LÚCIA; SILVA (2001).



Fonte: Longino (2004).

Figura 2.2 - Vista lateral do corpo de (a) *Acromyrmex* e (b) *Atta*.

2.1.2 - Comunicação química em insetos sociais

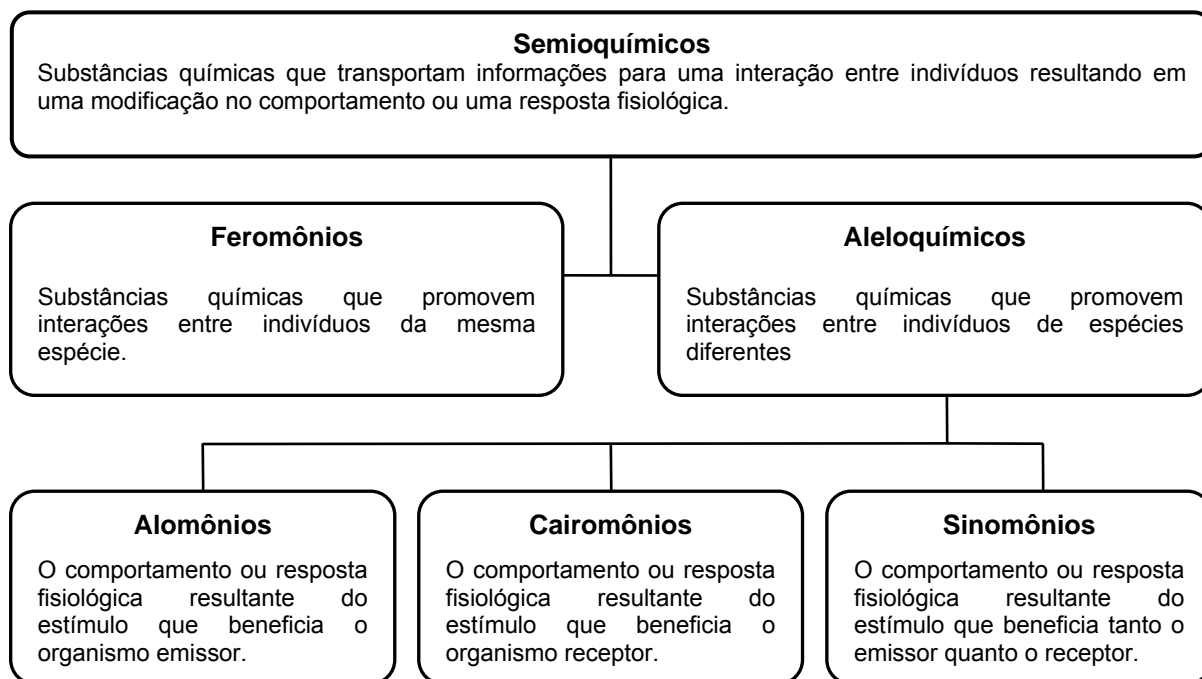
Os insetos possuem um sistema olfativo muito desenvolvido. Esse fato os permite depender desse sentido para desenvolver atividades importantes. A comunicação química através de odores fornece informações e desencadeia comportamentos necessários para a sobrevivência, tais como: agressividade,

defesa, corte e acasalamento, escolha de locais de oviposição, localização de presas, organização das atividades sociais e outros tipos de comportamento (VILELA e DELLA LÚCIA, 1987).

As substâncias químicas envolvidas na comunicação entre organismos, e que resulta em uma modificação no comportamento ou uma resposta fisiológica, são chamadas de semioquímicos (NORDLUND e LEWIS, 1976) ou infoquímicos (DICKE e SABELIS, 1988). Nesse trabalho o termo escolhido para abordar esses compostos foi semioquímicos.

Os semioquímicos são largamente estudados pela Ecologia Química, um ramo interdisciplinar da ciência que trata da química e da biologia inerente às interações intra e interespecíficas entre organismos, que vem se desenvolvendo desde a década de 1970. A essência do termo “semio” é grega, e significa sinal ou marca, portanto, o palavra semioquímicos é sinônima de sinais químicos (MORI, 2000).

Os semioquímicos são divididos em aleloquímicos, que são substâncias de ação interespecíficas, e feromônios, de ação intraespecífica. Os aleloquímicos ainda são subdivididos em alomônios, cairomônios e sinomônios, esquema 2.1.



Esquema 2.1 - Classificação dos semioquímicos.

Os insetos sociais, particularmente as formigas, podem ser considerados como o grupo de insetos mais bem sucedidos do reino animal. A grande diversidade e o domínio ecológico das formigas são, em grande parte, devidos à organização social suportada pelo seu sistema de comunicação (HÖLLDOBLER, 1995).

As formigas se comunicam através de sinais táteis e químicos. A comunicação química, através de feromônios, é a principal forma de integração da colônia de insetos sociais (YAMAGATA *et al*, 2005). Todas as espécies de formigas são capazes de usar essa comunicação química, a qual fornece uma informação adicional através do olfato.

Feromônios são substâncias químicas secretadas de um indivíduo para o exterior e recebidas por um segundo indivíduo, da mesma espécie, provocando uma reação definida (comportamento específico) ou um processo de desenvolvimento fisiológico definido (SCHWEITZER *et al*, 1997). Tais comportamentos podem ter várias funções, tais como: acasalamento, orientação para fonte de alimento, alarme contra predador, entre outros (KARLSON e LÜSCHER, 1959 *apud* VILELA e DELLA LUCIA, 2001).

As formigas cortadeiras utilizam os feromônios para diversas funções. As operárias usam feromônios na identificação dos membros da colônia e sua casta, orientação e recrutamento para exploração de fontes de alimento, regularização da reprodução ou para alarmar os membros sobre alguma situação de perigo e identificar o estágio de vida da prole.

2.1.3 - Feromônios de trilha de formigas cortadeiras

Os feromônios conhecidos nas formigas cortadeiras são, principalmente, os de alarme, reconhecimento individual das operárias e da rainha, marcação de trilha e recrutamento, marcação de folhas e de território (VILELA e DELLA LUCIA, 2001).

Os feromônios de trilha são substâncias utilizadas pelos insetos sociais para orientar outros insetos pertencentes à mesma colônia na direção da fonte de alimento, de

novos sítios de moradia, no retorno ao ninho ou para exploração de novas áreas (ATTYGALLE e MORGAN, 1985). As trilhas de feromônios é a forma mais elaborada de comunicação química conhecida (WILSON, 1971 *apud* ATTYGALLE e MORGAN, 1985).

A primeira evidência de que a trilha é composta por uma substância de odor foi proposta por Bonnet em 1779 (*apud* ATTYGALLE e MORGAN, 1985). Ao passar o dedo repetidas vezes no meio de uma trilha de uma determinada espécie de formiga, o pesquisador verificou que as operárias ficaram desorientadas e incapazes de prosseguir seu caminho por algum tempo.

A utilização do feromônio de trilha pelas formigas na busca e exploração de novas fontes de substrato garante uma eficiência extraordinária nessa atividade. Os feromônios de trilhas de formigas cortadeiras resultam em uma alta eficiência comportamental, pois o depósito de pequenas quantidades, na faixa de picograma, leva ao recrutamento de um grupo massivo de formigas.

As formigas cortadeiras recrutam os membros da colônia para fonte de material vegetal depositando o feromônio de trilha no caminho de volta para o ninho. Essa trilha incita as outras operárias a seguir o odor até a fonte de substrato. As operárias retornam ao ninho carregando o material coletado e reforçando a trilha (MOSER, 1967 *apud* KLEINEIDAM *et al*, 2005).

As formigas exibem o comportamento de seguir trilha marcada quimicamente, movendo-se através do vapor criado pela difusão do feromônio no ar. A qualidade e quantidade do alimento encontrado são informadas através das trilhas formadas pelas forrageiras (SCHWEITZER; LAO; FAMILY, 1997). As formigas detectam a trilha movimentando suas antenas de um lado para outro, testando a concentração das moléculas do odor. Assim elas evitam a habituação ao feromônio, sendo capazes de identificar gradientes de concentração, essa orientação é chamada de quimiotropotaxia (WILSON, 1971 *apud* VILELA e DELLA LUCIA, 2001).

Moser e Silverstein (1967) descobriram que o feromônio de trilha de *Atta texana* era composto por, no mínimo, duas substâncias, uma muito volátil e outra menos volátil. Posteriormente, dois compostos voláteis foram identificados como feromônios de trilhas em formigas cortadeiras:

- O 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10), em *Atta texana* (TUMLINSON *et al*, 1972);

- A 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39), em *Atta sexdens roborpilosa* (CROSS *et al*, 1979).

Atualmente sabe-se que a maioria das formigas cortadeiras utiliza o pirrol (10) e a pirazina (39), figura 2.3, como componentes do feromônio de trilha. A proporção de cada composto varia de acordo com as espécies.

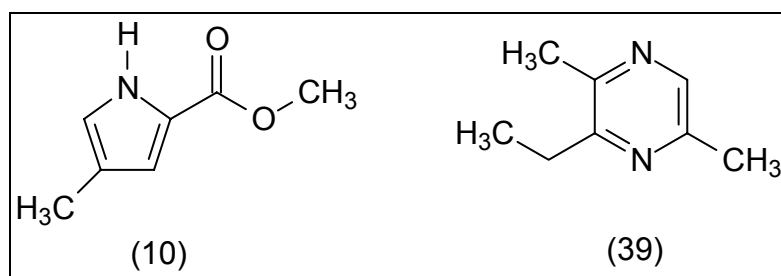


Figura 2.3 - 4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) e 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39), componentes principais do feromônio de trilha de espécies de *Atta* e *Acromyrmex*.

Geralmente os feromônios de trilha de formigas são misturas de composição múltipla, onde cada espécie pode diferenciar sua trilha química com a adição, em proporções bem definidas, de diferentes compostos, e assim atraindo somente membros de sua própria espécie (ATTYGALLE e MORGAN, 1985). Um exemplo disto acontece com todas as espécies dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, as quais produzem o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) na sua glândula de veneno. Contudo, uma espécie pode evitar prontamente a trilha de outra pela diferença na concentração dos componentes da mistura feromonal. Algumas espécies utilizam a 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39) como principal composto do feromônio de trilha, como por exemplo, o produzido pela espécie *Atta sexdens* (CROSS *et al*, 1979).

O recrutamento das operárias para o forrageamento pode ser feito por apenas uma única operária escoteira. As características principais para o recrutamento em massa nas espécies de *Atta* e *Acromyrmex* foram listadas por Jaffé e Howse (1979):

- a) O recrutamento é induzido e regulado unicamente por sinais químicos (feromônio de trilha);
- b) O número de operárias que deixam o ninho é regulado pela quantidade de substância química depositada na trilha;

- c) O feromônio orienta as operárias até a fonte de alimento bem como o retorno ao ninho;
- d) O feromônio de trilha é constituído de uma mistura de compostos voláteis e, por isto, necessita ser permanentemente reforçado sobre a trilha.

As formigas cortadeiras também podem usar outras referências direcionais, tais como: marcas físicas, posição do sol e outros fatores espaciais quando se deparam com deterioração ou destruição da trilha química, quando se perdem ou mesmo durante a formação da trilha (BANKS e SRYGLEY, 2003). Entretanto, o principal mecanismo orientador para a exploração de fontes alimentares é o feromônio de trilha.

2.1.4 - Síntese orgânica e a aplicação dos semioquímicos

Atualmente, o crescente interesse em alimentos produzidos sem o uso de agrotóxicos vem intensificando as pesquisas na área de semioquímicos objetivando sua aplicação na agricultura.

O uso de semioquímicos como forma alternativa aos pesticidas tradicionais no controle de pragas, proporciona uma série de vantagens, tais como: simplicidade, economia e um menor impacto ambiental (NAVARRO *et al*, 2002). Contudo, o sucesso no emprego desses compostos para o controle de pragas que afetam a agricultura depende da interação mais efetiva entre entomólogos, químicos, agrônomos, engenheiros florestais e agricultores (VILELA e DELLA LÚCIA, 1987).

O uso de feromônios na agricultura, principalmente feromônios sexuais, pode se dar isoladamente ou também de forma associada aos pesticidas tradicionais. Esta estratégia de controle é chamada de “manejo integrado de pragas” (MIP).

Os promissores métodos que usam feromônios para o controle de pragas são basicamente três (FERREIRA; CORRÊA; VIEIRA, 2001 *apud* BARALDI e CORRÊA, 2004):

- Monitoramento da praga – o uso de armadilhas contendo feromônio fornece informações, tais como: o momento em que os insetos infestam a lavoura, como reagem aos inseticidas e quais são os seus ciclos de vida. Essas informações permitem a redução significativa do número de aplicações do inseticida.
- Confundimento – essa técnica se baseia na aplicação, em um momento crítico de crescimento da população da praga na lavoura, de uma grande quantidade de feromônio sexual. Isto impede que o inseto encontre a trilha de feromônio natural que está sendo emitido por um indivíduo de sexo oposto, impedindo assim que haja o acasalamento.
- Captura massal – uma quantidade significativa de armadilhas, contendo feromônios, é estrategicamente disposta ao longo da lavoura, reduzindo o nível de infestação. Nessa técnica as armadilhas devem dispor de manutenção periódica.

A utilização de feromônios no controle de formigas segue em duas vertentes (VILELA, 1994):

- A desorganização do sistema social levando a morte da colônia;
- Incorporação de veneno em iscas com feromônios, na tentativa de que as operárias as carreguem para o ninho com maior intensidade, o que poderia gerar uma diminuição significativa das doses aplicadas.

Entretanto, o avanço nessa área tem sido muito lento, por ser um tema recente e existirem poucos dados sobre essa aplicação na literatura. Isso vem atrasando o emprego dessas substâncias em estratégias de controle das formigas saúvas e quenquéns.

Os compostos químicos de origem antropogênica estruturalmente semelhante a algum feromônio, e que de alguma forma, afetam fisiologicamente ou comportamentalmente a comunicação entre insetos são chamados de paraferomônios. A utilização de análogos de feromônios aumenta a possibilidade de atuação da síntese orgânica em programas de gerenciamento de pragas e em estudos sobre a resposta olfativa de insetos (RENOU e GUERRERO, 2000).

Sonnet e Moser (1972) prepararam grande quantidade de análogos estruturais do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10), e testaram a atividade. Os resultados mostram que alguns análogos não resultaram em nenhuma atividade, outros mostraram atividade menor e um composto com a metila substituída por cloro apresentou atividade similar ao composto (10). Diante do observado eles indicaram que a atividade está intimamente ligada ao padrão de substituição dos compostos.

2.1.5 - Possível atividade aleloquímica herbicida do feromônio de trilha

Uma característica das trilhas de formigas cortadeiras *Atta* e *Acromyrmex* é o fato de que o local é sempre livre de vegetação. Colônias adultas chegam a manter simultaneamente 30 trilhas, que possuem até 30 cm de largura e vários metros de comprimento, que são criadas e ampliadas de acordo com o nível de atividade do formigueiro. Nesses locais não é observado a rebrota de qualquer vegetação durante um longo tempo, figura 2.4.



Figura 2.4 - Trilha de formiga cortadeira no campo.

Tal fato levanta as seguintes hipóteses:

- 1) Um dos componentes do feromônio de trilha possui dupla função, podendo agir também como alomônio, demonstrando atividade herbicida e impedindo a germinação das sementes que estão na área de ação do feromônio;
- 2) Um produto não volátil, componente do feromônio ou proveniente do metabolismo das formigas, é depositado na trilha e atua como herbicida;
- 3) As formigas realizam a limpeza mecânica da área da trilha impedindo o crescimento de vegetação.

A primeira possibilidade sugere uma investigação para a possível atividade alomonal herbicida relacionada ao feromônio de trilha.

A segunda hipótese é baseada na possibilidade de existência de metabólitos que possam ser produzidos dentro da glândula de veneno, por exemplo, através da oxidação dos compostos feromonais. Tais metabólitos poderiam ter atividade herbicida e estariam sendo depositados juntamente com o feromônio. Contudo, a não identificação destes metabólitos até o momento, seria justificada pelo fato de não serem voláteis nas condições usadas para análise, já que os componentes do feromônio foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM).

Quanto ao terceiro ponto, um detalhado estudo sobre o custo de manutenção e limpeza de trilhas ativas foi feito por Howard (2001). Nesse estudo, realizado em colônia de *Atta columbica*, ele relatou a existência de indivíduos responsáveis exclusivamente pela tarefa de limpar a trilha. Esses indivíduos têm tamanho intermediário, entre as carregadeiras e os soldados, estando entre 4 e 5% da população de operárias forrageiras. A destinação específica de um grupo, com essas características morfológicas, para limpeza da trilha pode resultar em um gasto significativo de energia.

Tais fatos foram suficientes para induzir-nos a uma investigação mais detalhada da primeira hipótese.

Na literatura, alguns trabalhos citam a ação herbicida de diferentes pirróis e pirazinas. Church e colaboradores (1973) revelaram que alguns ésteres e amidas, derivados de ácidos pirrol-2,4-dicarboxílicos substituídos apresentaram atividade herbicida em pós-emergência contra algumas plantas daninhas. Em outro trabalho Schweitzer e colaboradores (2002) apontam compostos heterocíclicos pirrólicos como inibidores da enzima imidazol-glicerol-fosfato-desidratase (IGPD). A enzima IGPD é crucial no caminho biossintético da histidina, um aminoácido de suma importância para o crescimento de plantas. Há significativa semelhança estrutural entre os inibidores da enzima IGPD, figura 2.5, e o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10).

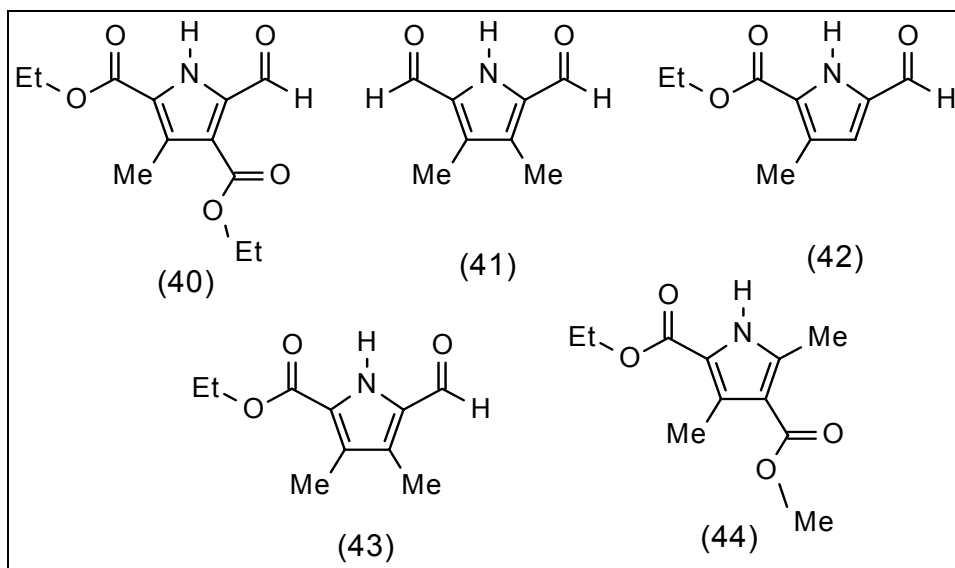


Figura 2.5 - Compostos pirrólicos inibidores da enzima IGPD.

De modo semelhante alguns compostos derivados da pirazina são reportados como herbicidas por Dolezal e colaboradores (1999). Eles testaram a inibição fotossintética em espinafre, usando pirazinas substituídas nas posições 2, 3 e 5 e compararam com a atividade biológica da atrazina, um herbicida comercial. Os resultados mostraram que a *N*-(2-hidroxi-5-cloro)fenil-6-cloropirazino-2-carboxiamida (45), figura 2.6, derivada do ácido 6-cloropirazino-2-carboxílico, na concentração de 8 $\mu\text{mol/L}$ é tão ativa quanto a atrazina na concentração de 1 $\mu\text{mol/L}$.

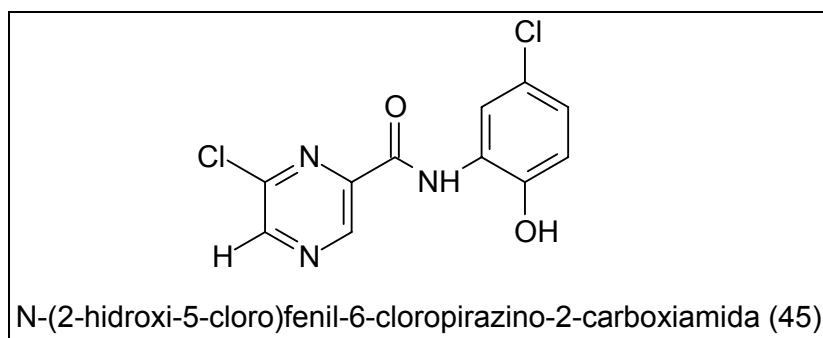


Figura 2.6 - Estrutura do derivado de pirazina inibidora fotossintética.

A limpeza da trilha, seja através de capina mecânica ou química, resulta inicialmente em um alto gasto energético. Porém, calcula-se que haja um retorno de energia de 4 a 10 vezes devido à redução do tempo e da energia gasta nas viagens quando comparados com viagens realizadas por formigas que caminham sob superfície com vegetação ou outros detritos (ROCKWOOD e HUBBELL, 1987).

Uma eventual atividade herbicida relacionada ao feromônio de trilha, resultando na economia de tempo e energia, poderia fornecer a esses compostos utilizados na atividade forrageira "status" de alomônio. Dessa forma as argumentações para o grande sucesso evolutivo das formigas cortadeiras frente a outros insetos seria reforçado.

2.2 - OBJETIVOS

O intuito deste trabalho foi a verificação da atividade herbicida dos componentes do feromônio de trilha de formigas cortadeiras: o 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) e a 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39).

2.3 - METODOLOGIA

Os testes de verificação da ação alomonal herbicida dos componentes do feromônio de trilha de formigas cortadeiras foram executados junto ao Setor de Semioquímicos e o Setor de Plantas Daninhas e Medicinais do Centro de Ciência e Tecnologia Agrária – CCTA.

Os testes avaliaram a inibição do crescimento radicular em sementes de sorgo, sob condições controladas de temperatura e luz em câmara de germinação. Também foram avaliados o desenvolvimento aéreo e radicular de milho e pepino, em estágios de pré- e pós-emergência, em casa de vegetação. Além disso, o efeito dos compostos (10) e (39) foram testados contra a rebrota de grama de jardim, sobre trilha de forrageamento artificial.

2.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 - Bioensaios para verificação da atividade alomonal herbicida em sorgo

Os testes realizados com sementes de sorgo visaram avaliar o efeito dos compostos testados no estágio inicial de desenvolvimento da planta. As sementes foram alojadas em placa de Petri forrada com duas folhas de papel de filtro, contendo o composto a ser testado em uma solução veículo. Ao final de 60 horas, o comprimento radicular era medido.

Como pode ser observado na tabela 2.2, todos os outros tratamentos apresentaram inibição superior à solução veículo. Os tratamentos com os dois componentes do feromônio de trilha apresentam certa inibição semelhante entre si e comparável ao tratamento com atrazina (48), herbicida menos eficiente. Já o tratamento com o ácido 2-pirazinocarboxílico (46) apresentou inibição superior aos componentes do feromônio de trilha e comparável ao alachlor (47), herbicida mais eficiente. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (apêndice S) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2.2 - Medidas de comprimento radicular na germinação de sorgo após 60 horas tratadas com diferentes compostos.

Tratamentos	Média do comprimento radicular (mm)*	Desvio padrão (mm)
Solução veículo	12,8 a	± 8,8
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	10,7 b	± 8,6
3-Etil-2,5-dimetilpirazina (39)	10,8 b	± 7,8
Ácido 2-pirazinocarboxílico (46)	8,3 c	± 6,7
Atrazina (48)	10,3 b	± 8,4
Alachlor (47)	7,0 c	± 6,3

* As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O alto desvio padrão observado é decorrente do retardo na germinação de algumas sementes, contudo, é um efeito que se repete em todos os tratamentos, e assim, não interfere nos resultados.

2.4.2 - Bioensaios para verificação da atividade alomonal herbicida em milho e pepino

Os testes realizados em milho e pepino visaram avaliar o efeito dos compostos testados, no estágio inicial de desenvolvimento da planta, experimento em pré-emergência, e também com a planta já formada, experimento em pós-emergência. Em ambos os testes, as sementes foram plantadas em vasos com 10 cm de diâmetro contendo areia lavada. A dose utilizada para cada tratamento foi de 250 g de composto ativo por hectare. Em todos os testes com milho e pepino foi realizado outro tratamento, que consistiu em uma composição com metade da dose do pirrol (10) e metade da dose da pirazina (39).

No testes de pré-emergência, as aplicações dos compostos a serem testados foram feitas imediatamente após o plantio. Após 20 dias, as plantas eram coletadas e secas em estufa, então era medida a massa de cada planta.

Como pode ser observado na tabela 2.3, todos os tratamentos apresentaram inibição indiferente à solução veículo e diferente ao controle feito com o herbicida comercial. A não observação de um efeito inibitório relacionado ao feromônio de trilha, provavelmente se deve a alta resistência do milho, que não sofreu inibição significativa inclusive no tratamento com 2,4-D (49). Os resultados obtidos para os ensaios realizados com milho foram submetidos à análise de variância (apêndice T) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2.3 - Médias de massa seca da plântula de milho tratada com diferentes compostos em pré-emergência após 20 dias de plantio.

Tratamentos	Média da massa seca (g)*	Desvio padrão (g)
Solução veículo	0,9384 a	± 0,1405
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	1,1885 a	± 0,1654
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) + 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39)	1,0288 a	± 0,1631
3-Etil-2,5-dimetilpirazina (39)	1,0198 a	± 0,1252
Ácido 2-pirazinocarboxílico (46)	1,0317 a	± 0,2333
2,4-D (49)	0,5784 b	± 0,1259

* As média seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Do mesmo modo que o teste realizado em milho, o teste em pepino não apresentou diferenciação estatística entre os tratamentos e a solução veículo. Contudo observou-se que o controle realizado com o herbicida 2,4-D (49) inibiu fortemente o crescimento das plantas. A grande inibição de crescimento referente ao herbicida 2,4-D (49) se deve à alta sensibilidade do pepino a este composto. Os resultados obtidos nos ensaios realizados com pepino foram submetidos à análise de variância (apêndice U) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Médias de massa seca da plântula de pepino tratada com diferentes compostos em pré-emergência após 20 dias de plantio.

Tratamentos	Média da massa seca (g)*	Desvio padrão (g)
Solução veículo	0,6217 a	± 0,0766
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	0,5178 a	± 0,1229
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) + 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39)	0,5684 a	± 0,0654
3-Etil-2,5-dimetilpirazina (39)	0,6283 a	± 0,1452
Ácido 2-pirazinocarboxílico (46)	0,4062 a	± 0,0526
2,4-D (49)	0,0965 b	± 0,1118

* As média seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nos testes em pós-emergência as aplicações dos compostos a serem testados foram feitas 20 dias após o plantio e refeitas 3 vezes em intervalos de 5 dias. Após 5 dias da última aplicação, as plantas foram coletadas e secas em estufa, então era medida a massa de cada planta.

Os resultados referentes ao teste com milho em pós-emergência mostram que não há diferenciação estatística entre os tratamentos. O milho nesse estágio de desenvolvimento não sofreu com ação de nenhum composto aplicado, inclusive frente ao herbicida 2,4-D (49), isso provavelmente se deve à sua alta resistência. Os resultados obtidos para os ensaios realizados com milho foram submetidos à análise de variância (apêndice V) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, tabela 2.5.

Tabela 2.5 - Médias de massa seca da plântula de milho tratada com diferentes compostos em pós-emergência após 40 dias de plantio.

Tratamentos	Média da massa seca (g)*	Desvio padrão (g)
Solução veículo	1,3069 a	± 0,1029
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	1,7657 a	± 0,3473
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) + 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39)	1,7215 a	± 0,3478
3-Etil-2,5-dimetilpirazina (39)	1,7940 a	± 0,1892
Ácido 2-pirazinocarboxílico (46)	1,6534 a	± 0,2627
2,4-D (49)	1,3346 a	± 0,2573

* As média seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos no experimento utilizando pepino em pós-emergência mostraram um efeito inibitório significativo, decorrente dos tratamentos utilizando a composição pirrol (10) + pirazina (39) e ácido 2-pirazinocarboxílico (46). Os tratamentos com o pirrol (10) e a pirazina (39), separadamente não resultaram em diferenciação estatística comparado com a solução veículo. O 2,4-D (49) causou a mortalidade das plantas nas primeiras aplicações, resultando em um valor muito abaixo dos outros tratamentos que apenas causaram a inibição do crescimento. Os resultados para os ensaios realizados com pepino pós-emergência foram submetidos à análise de variância (apêndice W) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, tabela 2.6.

Tabela 2.6 - Médias de massa seca da plântula de pepino tratada com diferentes compostos em pós-emergência após 40 dias de plantio.

Tratamentos	Média da massa seca (g)*	Desvio padrão (g)
Solução veículo	0,9061 a	± 0,1297
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	0,8869 ab	± 0,0649
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) + 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39)	0,7131 c	± 0,0372
3-Etil-2,5-dimetilpirazina (39)	0,9939 a	± 0,0912
Ácido 2-pirazinocarboxílico (46)	0,7315 bc	± 0,0243
2,4-D (49)	0,0982 d	± 0,0158

* As média seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.4.3 - Bioensaios para verificação da atividade alomonal herbicida em grama

Nos testes em grama de jardim, as aplicações dos compostos a serem testados foram feitas imediatamente após a confecção da trilha e refeitas dez vezes, em intervalos de quatro dias. Após dois dias da última reaplicação foram amostradas seções de aproximadamente 16 cm² do centro da trilha. A parte aérea do material amostrado foi retirada e seca em estufa. Então, a massa de cada seção foi medida. Como a área era conhecida, os resultados foram expressos em massa por área. Assim como para o experimento com milho e pepino, nos teste com grama foi utilizado o tratamento com uma composição contendo metade da dose do composto (10) e metade da dose da pirazina (39).

Os resultados obtidos com os compostos testados na trilha artificial em grama apresentaram valores relevantes. Os componentes do feromônio de trilha apresentaram efeito inibitório comparável ao herbicida alaclor (47), sendo a pirazina (39) mais ativa. Já o ácido 2-pirazinocarboxílico (46) apresentou inibição superior ao herbicida alaclor (47) e à pirazina (39), entretanto, os efeitos são estatisticamente comparáveis entre si. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância

(apêndice X) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, tabela 2.7.

Tabela 2.7 - Médias da razão de massa seca por área da parte aérea correspondente a rebrota da grama em trilha artificial tratada com diferentes compostos em pós-emergência após quarenta e dois dias de confecção da trilha.

Tratamentos	Massa da parte aérea por área (mg/cm ²)*	Desvio padrão (g)
Solução veículo	9,0733 a	± 0,6956
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10)	4,8723 b	± 1,4972
4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) + 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39)	4,1527 bc	± 0,8485
3-Etil-2,5-dimetilpirazina (39)	3,0987 bc	± 0,3248
Ácido 2-pirazinocarboxílico (46)	2,7862 c	± 0,5177
Alaclor (47)	4,1028 bc	± 1,3412

* As média seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A grande inibição da rebrota na trilha artificial promovida pelos compostos aplicados se apresenta como os primeiros indícios de propriedades alomonais herbicida, associadas aos componentes do feromônio de trilha.

Esses resultados são expressos de forma mais evidente na figura 2.7.

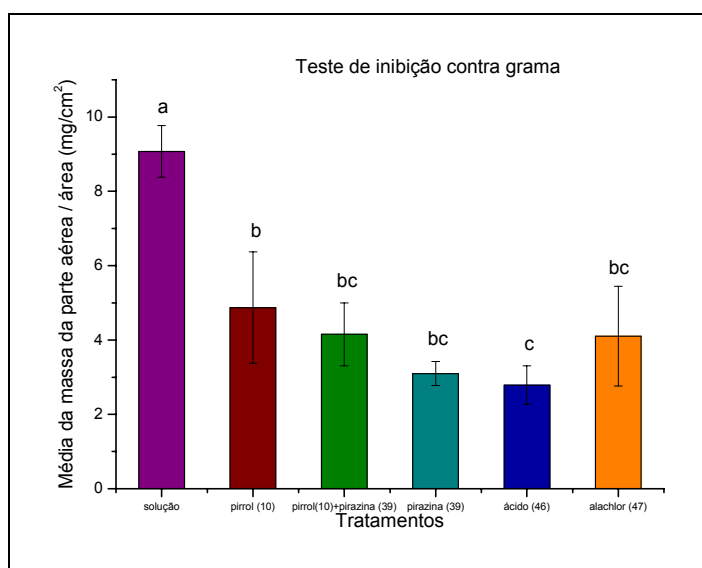


Figura 2.7 - Médias de massa seca por área da parte aérea na rebrota da grama em trilha artificial tratada com diferentes compostos em pós-emergência após quarenta e dois dias de confecção da trilha.

Estas observações satisfazem a hipótese sugeridas de que um dos componentes do feromônio de trilha possui dupla função, podendo agir também como alomônio, demonstrando atividade herbicida e impedindo o desenvolvimento dos vegetais que estão na área de ação do feromônio. Além disso, estão em acordo com o favorecimento evolutivo das formigas dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, pois a possibilidade do efeito herbicida, decorrente de uma substância que já é empregada pelo inseto como componente do feromônio de trilha, atinge duas necessidades na atividade de forrageamento:

- A contribuição na limpeza da trilha, decorrente de uma interação alomonal;
- A orientação para exploração do substrato vegetal, que constitui a função feromonal.

Assim, o uso de uma mesma mistura para executar estas duas funções sugere em um balanço energético bastante favorável.

2.5 - CONCLUSÕES

Os testes de verificação da possível ação herbicida dos componentes do feromônio de trilha representam o primeiro passo na comprovação, ou não, da capina química nas trilhas de forrageamento desses insetos. Além disso, os dados obtidos poderão vir a contribuir nos estudos de balanço energético da atividade forrageira dessas formigas.

A avaliação da atividade alomonal herbicida dos componentes do feromônio de trilha mostrou, nos teste em sorgo, pepino em pós-emergência e grama de jardim, inibição no desenvolvimento das plantas. Essa inibição é superior nos tratamentos com o ácido 2-pirazinocarboxílico (46).

2.5.1 – Perspectivas futuras

A observação de atividade herbicida relacionada ao ácido 2-pirazinocarboxílico (46), superior aos componentes do feromônio de trilha de formigas cortadeiras (10) e (39), incentiva uma investigação mais detalhada por compostos químicos mais polares e, portanto menos voláteis presentes na glândula de veneno desses insetos. A expectativa criada em torno da presença de um composto químico mais polar, não detectável através de CG-EM sem a devida derivatização, análogo ou derivado do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) ou da 3-etil-2,5-dimetilpirazina (39), serve como proposta para futuras investigações. Estas poderiam ser feitas através de micro-derivatizações, de uma função ácido carboxílico por exemplo, em glândula de veneno de formigas cortadeiras com posterior análise em CG-EM.

2.6 - PARTE EXPERIMENTAL

2.6.1 - Geral

A avaliação do potencial herbicida, dos compostos (10) e (39) em todas as plantas testadas, foi feita de acordo com metodologias tradicionais (BRASIL, 1992; BARBOSA, 2003;) para testes de herbicidas. A única exceção foi o teste realizado em grama de jardim, que foi projetado especificamente para essa investigação, objetivando aproximar-se ao máximo das condições reais de uma trilha de forrageamento.

Também foi testado o ácido 2-pirazinocarboxílico (46), por ser um análogo estrutural da pirazina (39), que eventualmente possa possuir alguma semelhança com algum derivado ácido presente na glândula de veneno das formigas, local onde é armazenado o feromônio de trilha.

Os herbicidas serviram como forma de controle experimental. Todos os compostos testados foram dissolvidos em soluções-veículo. Em cada teste essas soluções foram utilizadas separadamente como tratamento em branco.

Os reagentes e padrões empregados, assim como sua origem e pureza, foram:

- 3-Etil-2,5(6)-dimetilpirazina, *Acros Organics*, 99%.

- Ácido 2-pirazinocarboxílico, *Acros Organics*, 99%.

Os seguintes herbicidas comerciais foram aplicados, figura 2.7:

- Alachlor (47), *Agan Chemical Manufacturers LTD*, 99%, nos testes realizados com sorgo e grama;

- Atrazina (48), origem desconhecida, 97%, nos testes realizados com sorgo;

- 2,4-D (49), *Fluka*, $\geq 90\%$, nos testes realizados com milho e pepino.

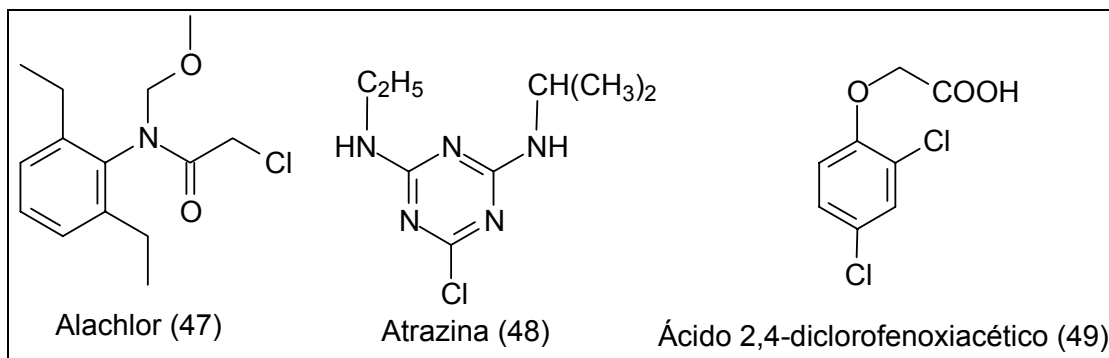


Figura 2.8 - Estrutura do alachlor (47), atrazina (48) e 2,4-D (49).

Os cálculos estatísticos de análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey foram realizados utilizando do programa Origin[®], versão 7.0 (*OriginLab Corporation*).

2.6.2 - Bioensaios para testes de atividade alomonal herbicida em sorgo

Os testes de verificação do potencial alomonal herbicida contra sorgo foram realizados em condições controladas de temperatura e fotoperíodo em câmara de germinação. Foram utilizadas sementes de sorgo de variedade híbrido Volumax (AGROCERES) com germinação mínima de 90%.

Utilizaram-se placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel filtro de 7 cm de diâmetro (VETEC). Cada placa de Petri recebeu vinte e cinco sementes, as quais eram umedecidas com 4 mL de solução do composto a ser testado. As placas foram lacradas com filme de PVC e mantidas na câmara de germinação por 60 h com fotoperíodo de 12 h começando e terminando com escuro, sendo as temperaturas de simulação diurna e noturna eram 30 e 20°C respectivamente.

Cada tratamento químico foi realizado em cinco placas com vinte e cinco sementes cada, totalizando cento e vinte cinco sementes por tratamento. Os seguintes tratamentos foram realizados:

- Solução veículo composta por acetona (0,05%) e tween 20 (0,05%) em água destilada: como tratamento testemunha;

- 4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10): feromônio;
- 2,5-Dimetil-3-etilpirazina (39): feromônio;
- Ácido 2-pirazinocarboxílico (46);
- Atrazina (48): herbicida comercial como controle;
- Alaclor (47): herbicida comercial como controle;

Foram realizados quatro repetições para cada tratamento. As medidas eram efetuadas com uma régua comum de 20 cm, com subdivisões de um milímetro.

2.6.3 - Bioensaios para testes de atividade alomonal herbicida em milho e pepino em pré-emergência

Na verificação do potencial alomonal herbicida contra milho e pepino, usaram-se sementes de milho da variedade híbrida UENF 506-6 e sementes de pepino da variedade Aodai (Feltrin), ambas com germinação mínima de 95%.

Os testes foram conduzidos em casa de vegetação. Utilizaram-se vasos plásticos de 10 cm de diâmetro e 12 cm de altura, contendo areia previamente tratada com solução de HCl 1,0 mol/L e lavada com água até atingir pH 6,0. Cada vaso recebia 5 sementes e foram irrigados diariamente com 30 mL da solução nutritiva de Clark (1975). Após dez dias do plantio, quatro plantas foram eliminadas de cada vaso, restando apenas a planta mais saudável.

Cada vaso era borrifado com 2,0 mL de uma solução veículo contendo 1,0 g/L do composto a ser testado, atingindo uma dose de aproximadamente 250 g de composto ativo por hectare. Nos tratamentos em pré-emergência, os vasos eram borrifados uma única vez, imediatamente após o plantio. Já nos tratamentos em pós-emergência, os vasos receberam os tratamentos após vinte dias do plantio e três reaplicações a cada cinco dias. Os seguintes tratamentos foram realizados:

- Solução veículo composta por butanona (200 μ L), xileno (200 μ L) e tween 80 (200 μ L) em água destilada (1 L): como tratamento testemunha;
- 4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10): feromônio;

- 2,5-Dimetil-3-etilpirazina (39): feromônio;
- Ácido 2-pirazinocarboxílico (46);
- 2,4-D (49): herbicida comercial como controle;

Os experimentos de pré-emergência foram finalizados após trinta dias do plantio e os de pós-emergência após quarenta dias do plantio. Foram feitas quatro repetições para cada tratamento. Após o término do experimento, as plantas tinham a parte aérea separada da parte radicular. Ambas as partes eram colocadas em embalagem de papel e levadas para secagem em estufa, à 70°C durante quatro dias. Então as massas eram medidas separadamente em balança analítica. As massas secas de cada parte da planta eram somadas e os valores analisados estatisticamente.

2.6.4 - Bioensaios para testes de atividade alomonal herbicida em grama

Para os testes de verificação do potencial alomonal herbicida contra rebrota na trilha artificial em grama, usaram-se placas de grama do tipo Santo Agostinho, espécie *Stenotaphrum secundatum* (ITOGRASS).

Os testes foram conduzidos em casa de vegetação. As placas de grama eram cortadas nas medidas de 18 cm de comprimento por 15 cm de largura e plantadas em bandejas de alumínio nas mesmas dimensões contendo solo natural, coletado no campus da UENF à profundidade de 0 a 25 cm. Após quinze dias, foram confeccionadas trilhas artificiais medindo 15x4cm utilizando tesoura e um gabarito, apenas a parte aérea foi cortada, figura 2.14.



Figura 2.9 - Trilha de forrageamento artificial.

As aplicações foram realizadas imediatamente após a confecção das trilhas e repetidas a cada quatro dias, totalizando dez aplicações. Os seguintes tratamentos foram testados:

- Solução veículo composta por butanona (200 μL), xileno (200 μL) e tween 80 (200 μL) em água destilada (1 L): como tratamento testemunha;
- 4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila (10): feromônio;
- 2,5-Dimetil-3-etilpirazina (39): feromônio;
- Ácido 2-pirazinocarboxílico (46);
- Alaclor (47): herbicida comercial como controle;

Foram efetuadas cinco repetições para cada tratamento. Após quarenta e dois dias, foram amostrados do centro de cada trilha, uma parte medindo aproximadamente 16 cm^2 , figura 2.15. Coletaram-se as partes aéreas de cada uma dessas porções e estas foram levadas a estufa, a 70°C durante quatro dias. As massas das folhas de cada porção foram medidas separadamente em balança analítica. As massas secas de cada porção juntamente com a medida de sua respectiva área de amostragem foram analisadas estatisticamente.



Figura 2.10 - Amostras da trilha retirada onde foi observada a rebrota após quarenta e dois dias de tratamento com solução veículo.

2.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATTYGALLE, A. B.; MORGAN, E. D. **Ant Trail Pheromones**. *Advances in Insect Physiology*, v. 18, p. 1-30, 1985.
- BANKS, A. N.; SRYGLEY, R. B. **Orientation by magnetic field in leaf-cutter ants, *Atta colombica* (Hymenoptera: Formicidae)**. *Ethology*, v. 109, p. 835-846, 2003.
- BARBOSA, L. C. de A.; DEMUNER, A. J.; MALTHA, C. R. Á.; SILVA, P. S. da; SILVA, A. A. da. **Síntese e avaliação da atividade fitotóxica de novos análogos oxigenados do ácido helmintospórico**. *Química Nova*, v. 26, p. 655-660, 2003.
- BONNET, C. **Sur un Procédé des Fourmis, Oeuvres d'Histoire Naturelle et de Philosophie: Observation XLIII**. Neuchatel, v. 1, 1779. p. 535-536 *apud* ATTYGALLE, A. B.; MORGAN, E. D. **Ant Trail Pheromones**. *Advances in Insect Physiology*, v. 18, p. 1-30, 1985.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. p. 85-138.
- CHERRET, J. M. **History of the leaf-cutting ant problem** *In* LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (Ed.). **Fire ants e leaf-cutting ants: biology and management**. Boulder: Westview Press, 1986. p. 10-17 *apud* HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The Ants**, Cambridge: Belknap, 1990.
- CHURCH, A. R.; HUPPI, G. A.; MOON, M. W.; STEINHARDS, A.; VOSTRA, H. J. **Herbicidal Activity of Ester and Amide Derivatives of Substituted Pyrrole-2,4-dicarboxylic Acids**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 21, p. 763-767, 1973.
- CLARK, R. B. **Characterization of phosphates in intact maize roots**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, p. 458-460, 1975.
- CROSS, J. H.; BYLER, R. C.; RAVID, U.; SILVERSTEIN, R. M.; ROBINSON, S. W.; BAKER, P. M.; de OLIVEIRA, J. S.; JUTSUM, A. R.; CHERRETT, M. J. **The major component of the trail pheromone of the leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa* Forel. 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine**. *Journal of Chemical Ecology*, v. 5, p. 187-203, 1979.
- DICKE, M.; SABELIS, M. W. **Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds**. *Functional Ecology*, v. 2, p. 131-139, 1988.
- DOLEZAL, M.; HARTL, J.; MILETÍN, M.; MACHÁČEK, M.; KRÁLOVÁ, K. **Synthesis and photosynthesis-inhibiting activity of some anilides of substituted pyrazine-2-carboxylic acids**. *Chemical Papers*, v. 53, p. 126-130, 1999.
- FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C.; **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. São Carlos: EdUFSCar, 2001 *apud* BARALDI, P. T.;

CORRÊA A. G. **O emprego de fermento de pão, *Saccharomyces cerevisiae*, na síntese de feromônios**, *Química Nova*, v. 27, p. 421-431, 2004.

FOWLER, H. G.; PEREIRA-DA-SILVA, V.; FORTI, L. C.; SAES, N. B. **Population Dynamics of Leaf-Cutting Ants: A Brief Review** In LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (Ed.). **Fire ants e leaf-cutting ants: biology and management**. Boulder: Westview Press, 1986. p. 123-146.

GRIMALDI, D.; AGOSTI, D. **A formicine in New Jersey Cretaceous amber (Hymenoptera: Formicidae) and early evolution of the ants**. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 97, p. 13678-13683, 2000.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The Ants**. Cambridge: Belknap, 1990. p. 326, 596, 600,.

HÖLLDOBLER, B. **The chemistry of social regulation: Multicomponent signals in ant societies**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 92, p. 19-22, 1995.

HOWARD, J. J. **Costs of trail construction and maintenance in the leaf-cutting ant *Atta columbica***. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, v. 49, p. 348-356, 2001.

JAFFÉ, K.; HOWSE, P. E. **The mass recruitment system of leaf-cutting ant *Atta cephalotes***. *Animal Behavior*, v. 27, p. 930-939, 1979.

KARSON, P.; LÜSCHER, M. **Pheromones, a new term for a class of biologically active substances**. *Nature*, v. 183, p. 55-56, 1959.

LIMA, C. A.; DELLA LÚCIA, T. M. C.; SILVA, N. dos A. **Formigas Cortadeiras: Biologia e Controle**. Viçosa: UFV - Pró-Reitoria de Extensão e Cultura (Boletim de Extensão, 44), 2001, p. 1-28.

LONGINO, J. T., **Picture Guide to the Ant Genera of Costa Rica: Genus Guide of Attini Ants**. 2004. <<http://www.evergreen.edu/ants/genusguide/attini1.html>>. Acesso em: 9 de jan. de 2007.

LUGO, A. E.; FARNSWORTH, E. G.; POOL, D.; JEREZ, P.; KAUFMAN, G. **The impact of the leaf cutter ant *Atta colombica* on the energy flow of a tropical wet forest**. *Ecology*, 54, p. 1292-1301, 1973.

MENDES FILHO, J. M. de A. **Ação Danosa de Pragas Desfolhadoras Sobre as Florestas de *Eucalyptus***. CIRCULAR TÉCNICA – IPEF, n. 131, 1981.

MIKHEYEV, A. S.; MUELLER, U. G.; ABBOT, P. **Cryptic sex and many-to-one coevolution in the fungus-growing ant symbiosis**. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 103, p. 10702-10706, 2006.

MORI, K. **Organic synthesis and Chemical Ecology**. *Accounts of Chemical Research*, v. 33, p. 102-110, 2000.

MOSER, J. C. **Trails of the leafcutters.** *Natural History*, v. 76, p. 32-35, 1967 *apud* KLEINEIDAM, C. J.; OBERMAYER, M.; HALBICH, W.; RÖSSLER, W. A **Macroglomerulus in the Antennal Lobe of Leaf-cutting Ant Workers and its Possible Functional Significance.** *Chemical Senses*, v. 30, p. 383-392, 2005.

MOSER, J.C.; SILVERSTEIN, R. M. **Volatility of trail marking substance of the town ant.** *Nature*, v. 215, p. 206-207, 1967.

NAVARRO, D. M. do A. F.; MURTA, M. M.; DUARTE, A. G.; de LIMA, I. S.; do NASCIMENTO, R. R.; SANT'ANA, A. E. G. **Aspectos práticos relacionados ao uso do rincoforol, o feromônio de agregação da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (coleoptera: curculionidae) no controle de pragas do coqueiro. Análise de sua eficiência em campo.** *Química Nova*, v. 25, p. 32-36, 2002.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J. **Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions,** *Journal of Chemical Ecology*, v. 2, p. 211-220, 1976.

QUINLAN, R. J.; CHERRETT, J. M., **The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.).** *Ecological Entomology*, 1979, v. 4, p. 151-160 *apud* HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The Ants.** Cambridge: Belknap, 1990, p. 598.

RENOU, M.; GUERRERO, A. **Insect parapheromones in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies.** *Annual Review of Entomology*, v. 48, p. 605-630, 2000.

ROCKWOOD, L. L.; HUBBELL, S. P. **Host-plant selection, diet diversity, and optimal foraging in a tropical leafcutting ant.** *Oecologia*, v. 74, p. 55-61, 1987.

SCHULTZ, T. R. **In search of ant ancestors.** *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 97, p. 14028-14029, 2000.

SCHWEITZER, B. A.; LOIDA, P. J.; CAJACOB, C. A.; CHOTT, R. C.; COLLANTES, E. M.; HEGDE, S. G.; MOSIER, P. D.; PROFETA S. **Discovery of Imidazole Glycerol Phosphate Dehydratase Inhibitors through 3-D Database Searching.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 12, p. 1743-1746, 2002.

SCHWEITZER, F.; LAO, K.; FAMILY, F. **Active random walkers simulate trunk trail formation by ants.** *BioSystems*, v. 41, p. 153-166, 1997.

SONNET, P. E.; MOSER, J. C. **Synthetic analogs of the trail pheromone of the leaf-cutting ant, *Atta texana* (Buckley).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 20, p. 1191-1194, 1972.

TUMLINSON, J. H.; MOSER, J. C.; SILVERSTEIN, R. M.; BROWNLEE, R. G.; RUTH, J. M. **A Volatile trail pheromone of the leaf-cutting ant, *Atta texana*.** *Journal of Insect Physiology*, v. 18, p. 809-814, 1972.

VILELA, E. F. **Feromônios no controle de formigas cortadeiras** *In* Anais do III Curso de Atualização no Controle de Formigas Cortadeiras. p. 11-13, 1994.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Aplicação**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p. 11, 74 e 77.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de Insetos**; Biologia, Química e emprego no manejo de pragas, Viçosa: UFV - Imprensa Universitária, 1987. p. 4, 95.

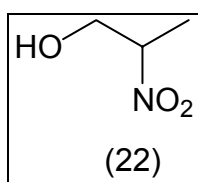
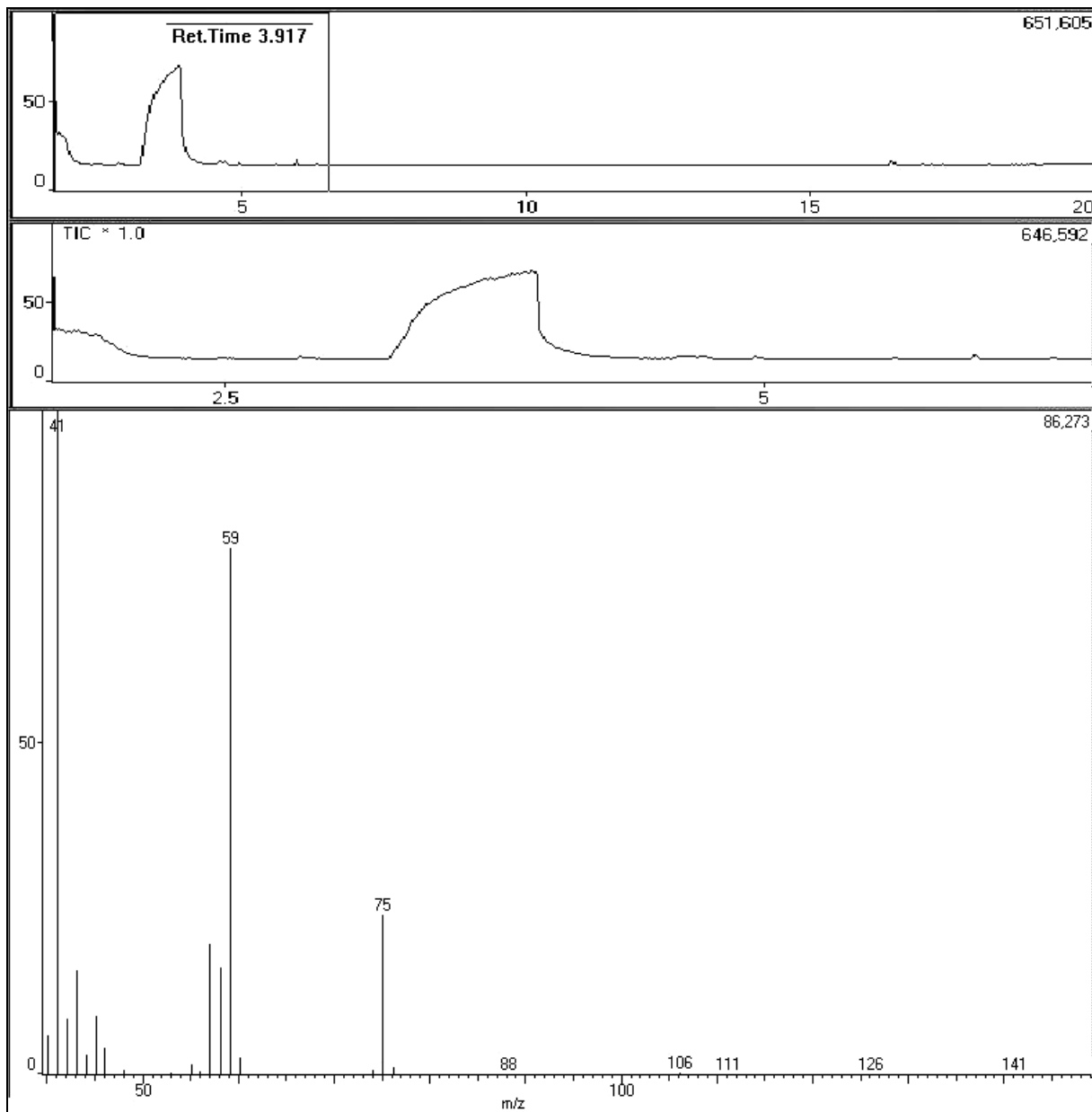
WILSON, E.O., **The Insects Societies**. Cambridge: Havard University Press, 1971
apud ATTYGALLE, A. B.; MORGAN, E. D. **Ant Trail Pheromones**. *Advances in Insect Physiology*, v. 18, p. 1-30, 1985.

WILSON, E.O. **The Insects Societies**. Cambridge: Havard University Press, 1971
apud VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Aplicação**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p. 74.

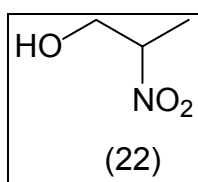
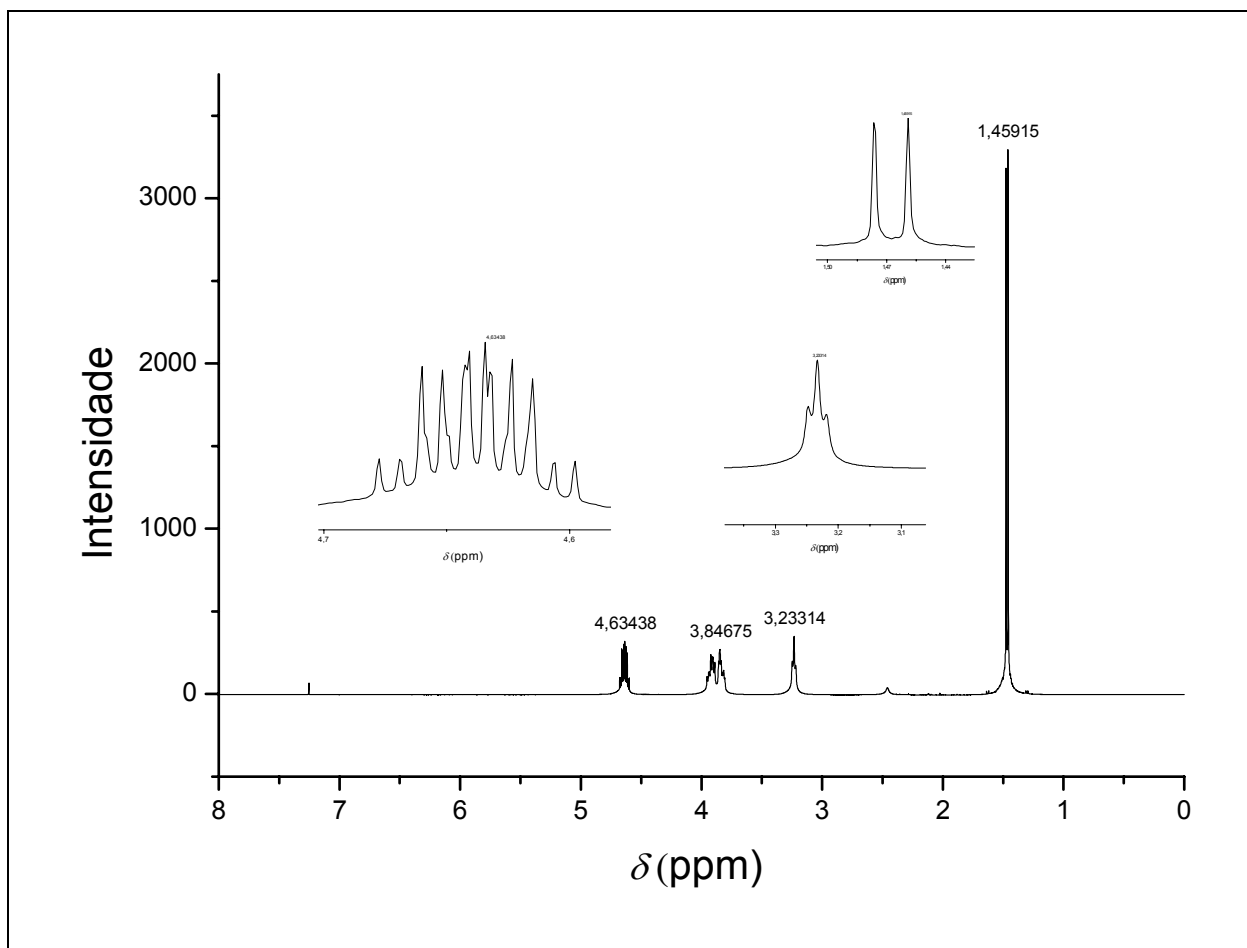
YAMAGATA, N.; FUJIWARA-TSUJII, N.; YAMAOKA, R.; MIZUNAMI M. **Pheromone communication and the mushroom body of the ant, *Camponotus obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae)**, *Naturwissenschaften*, v. 92, p. 532-536, 2005.

3 - APÊNDICES

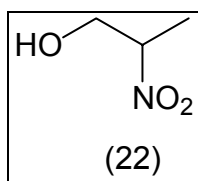
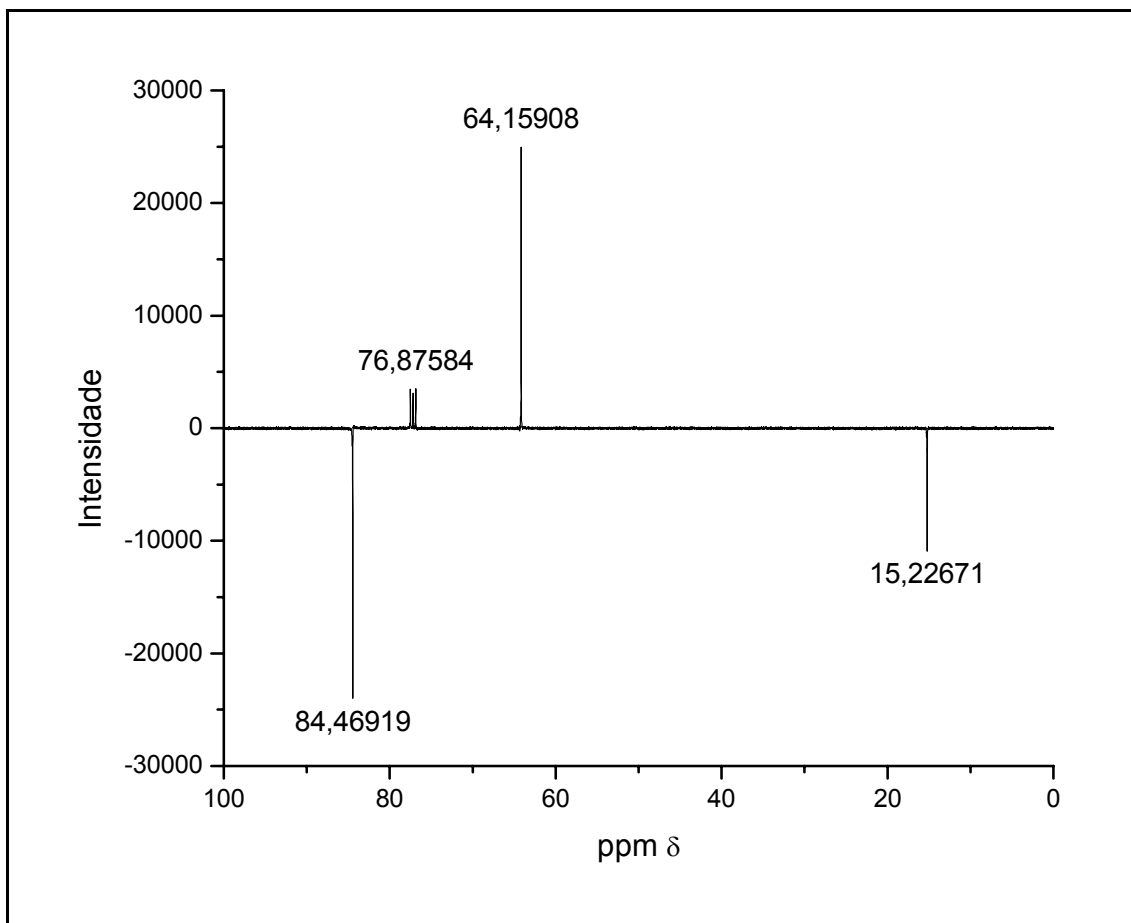
APÊNDICE A - Cromatograma e espectro de massas do 2-nitropropan-1-ol (22) (IE 70 eV, TIC).



APÊNDICE B – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-nitropropan-1-ol (22).



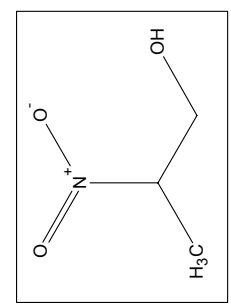
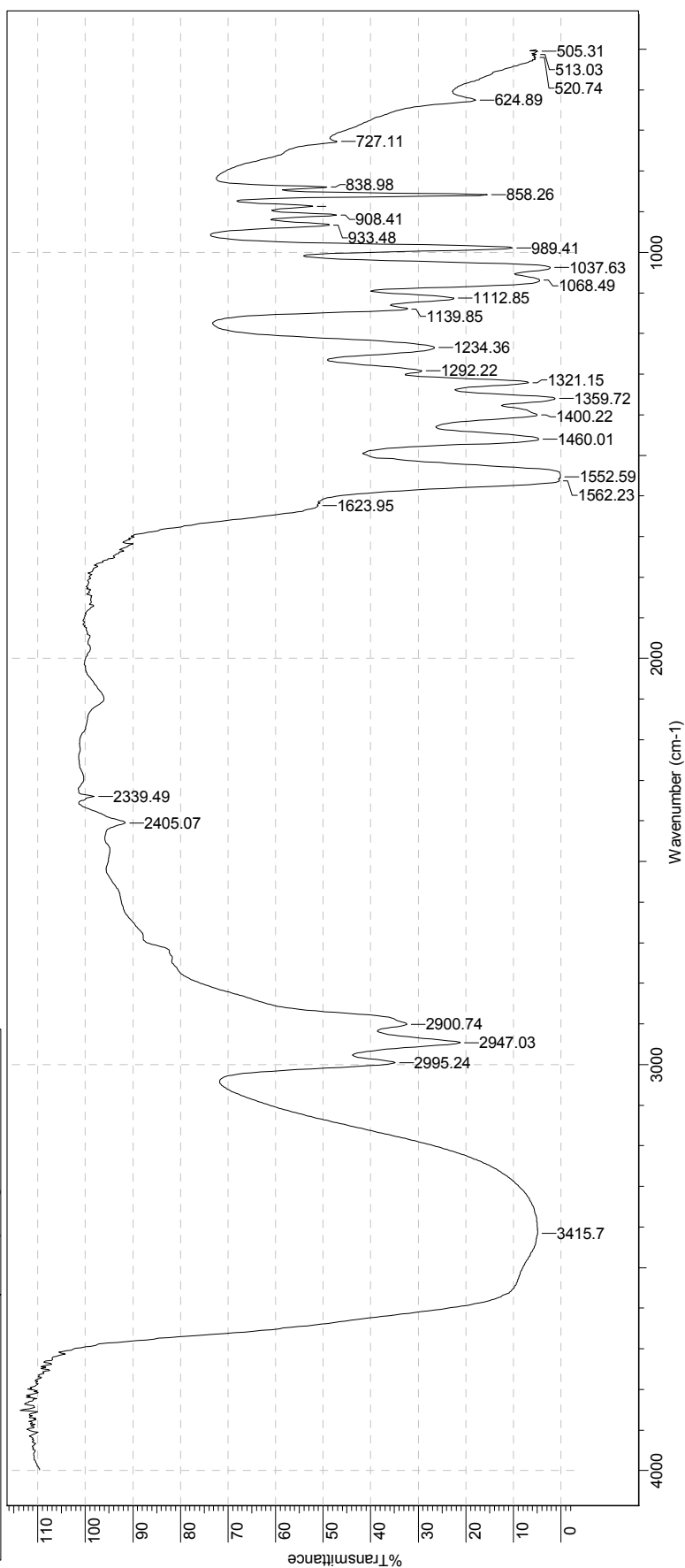
APÊNDICE C – Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 100 MHz) do 2-nitropropan-1-ol (22).



APÊNDICE D – Espectro de infravermelho do 2-nitropropan-1-ol (22) (filme líquido).

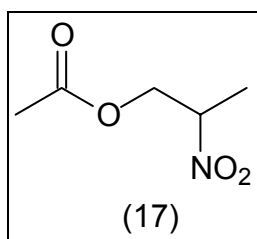
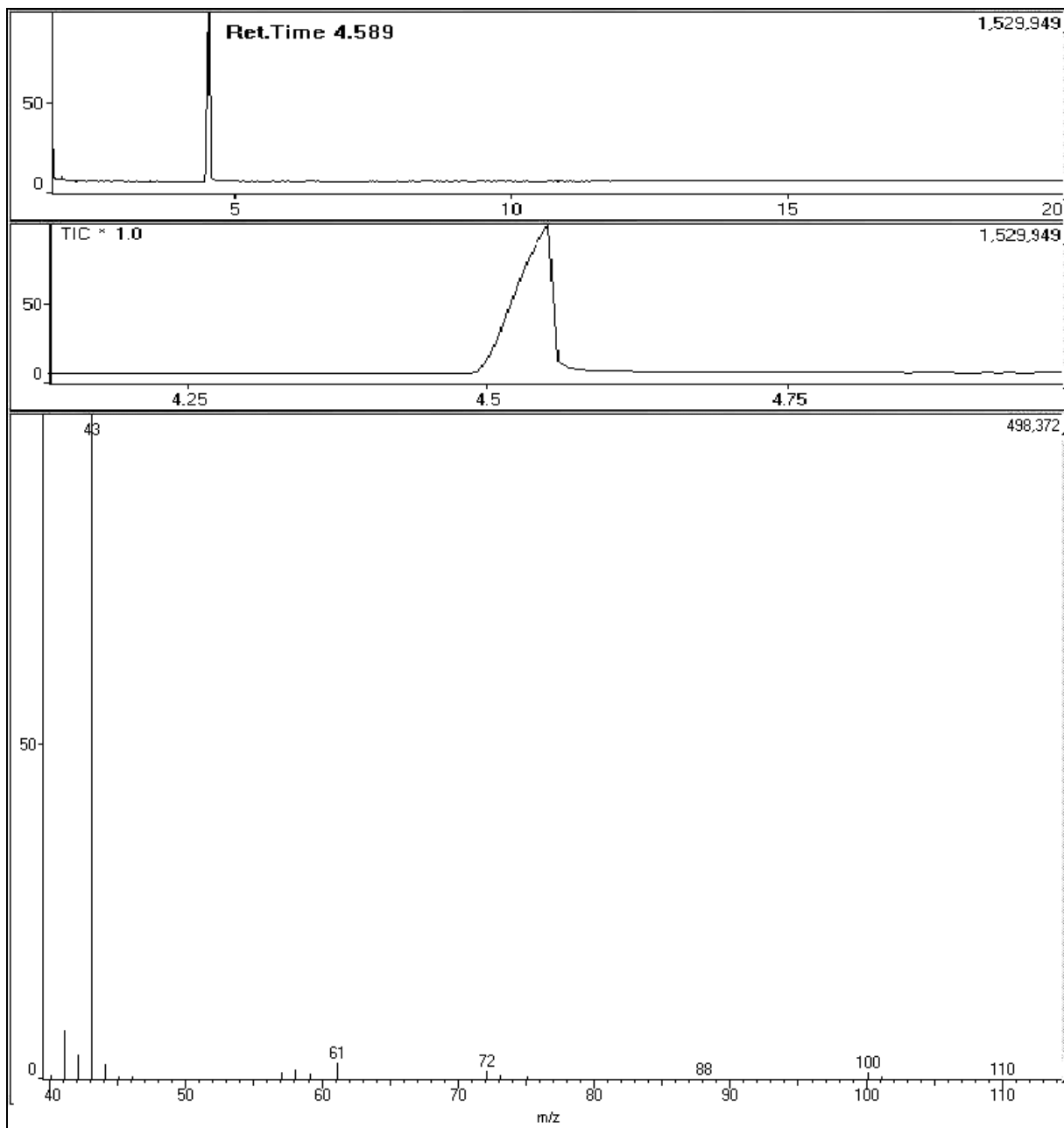
16 Nov 2003

Title	2-nitropropan-1-ol	File Name	G:\VLEO002
Date	04 Nov 2005 11:02:42	Comment	IV de líquido em pastilha de NaCl
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Technique	Infrared
Points Count	1814	Instrument	Shimadzu
	Data Spacing	Spectral Region	IR
	1.9287	Spectrum Range	501.4575 - 3998.1602

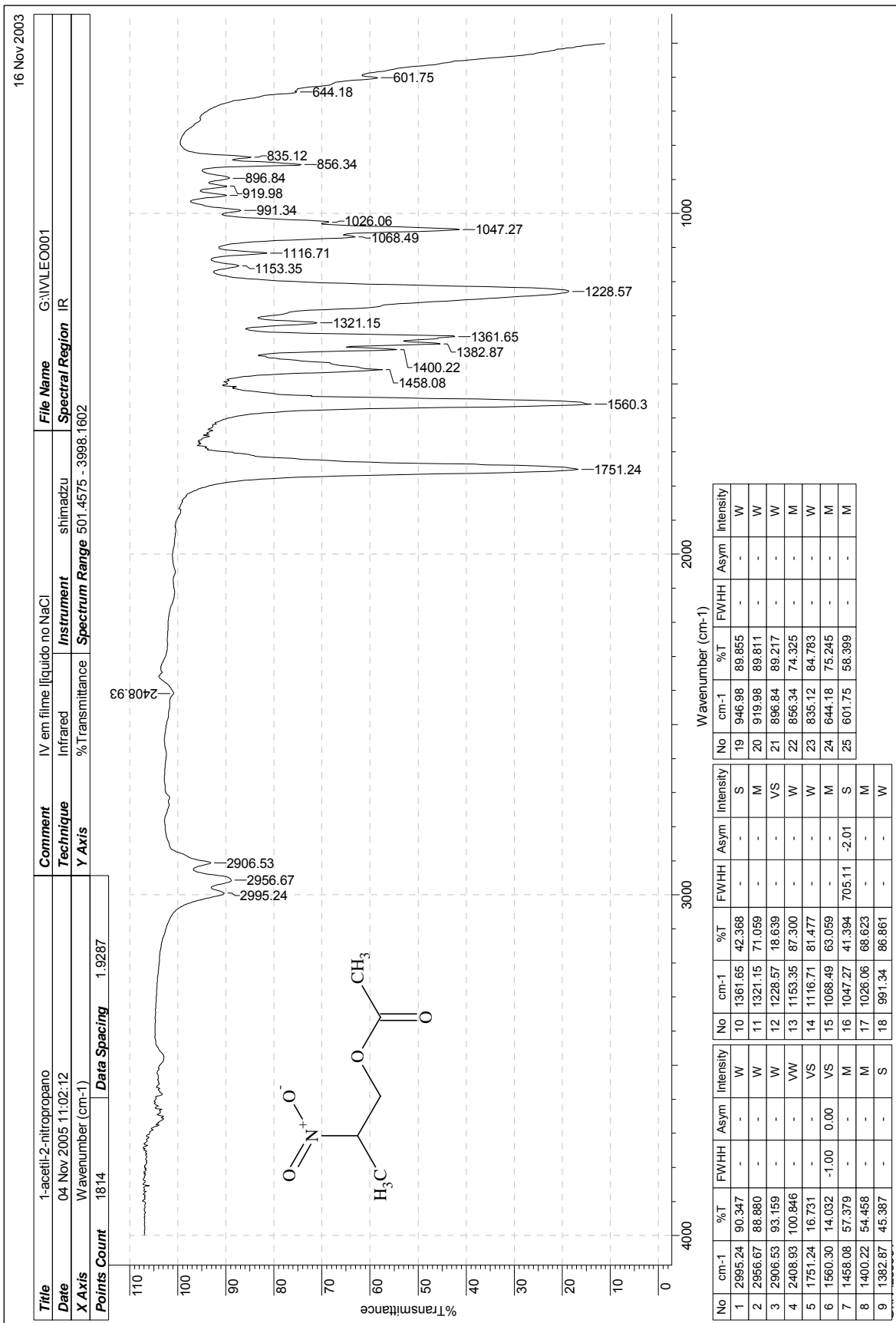


No	cm-1	%T	Intensity	No	cm-1	%T	Intensity	No	cm-1	%T	Intensity
1	3415.70	4.925	VS	11	1400.22	5.030	VS	21	933.48	48.668	M
2	2995.24	34.863	S	12	1359.72	1.205	VS	22	908.41	47.191	M
3	2947.03	21.163	S	13	1321.15	6.800	VS	23	887.19	52.151	M
4	2900.74	32.363	S	14	1292.22	29.240	S	24	858.26	15.485	S
5	2405.07	91.620	W	15	1234.36	26.570	S	25	838.98	49.249	M
6	2339.49	98.076	W	16	1139.85	32.271	S	26	727.11	47.073	M
7	1623.95	51.077	M	17	1112.85	22.544	S	27	624.89	17.957	S
8	1562.23	0.367	VS	18	1068.49	4.484	VS	28	520.74	5.284	VS
9	1552.59	0.089	VS	19	1037.63	2.211	VS	29	513.03	5.170	VS
10	1460.01	4.688	VS	20	989.41	10.191	VS	30	505.31	4.919	VS

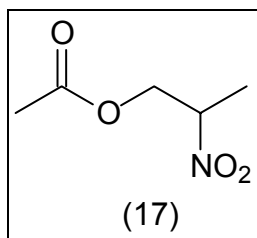
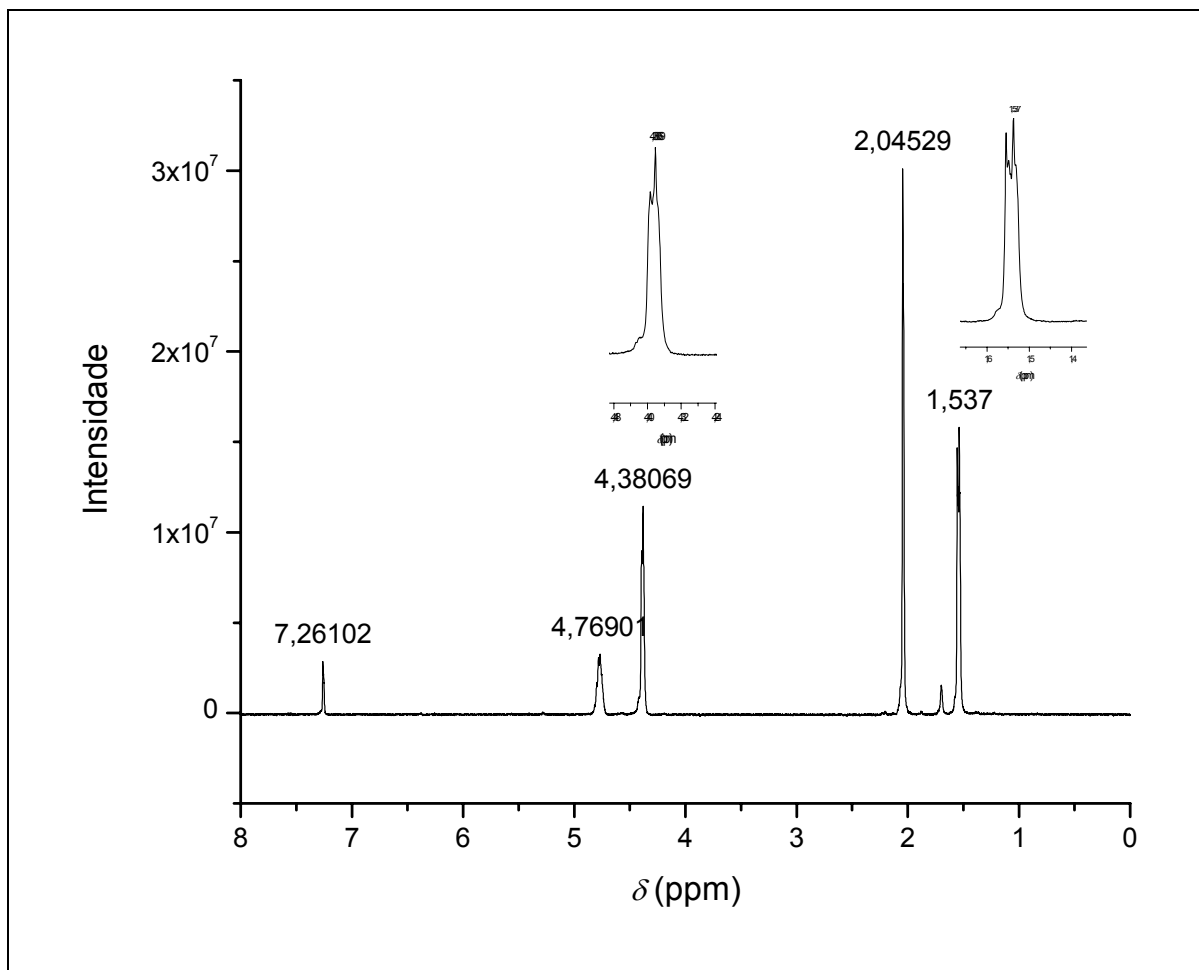
APÊNDICE E – Cromatográfica com espectro de massas do composto (17) (IE 70 eV, TIC).



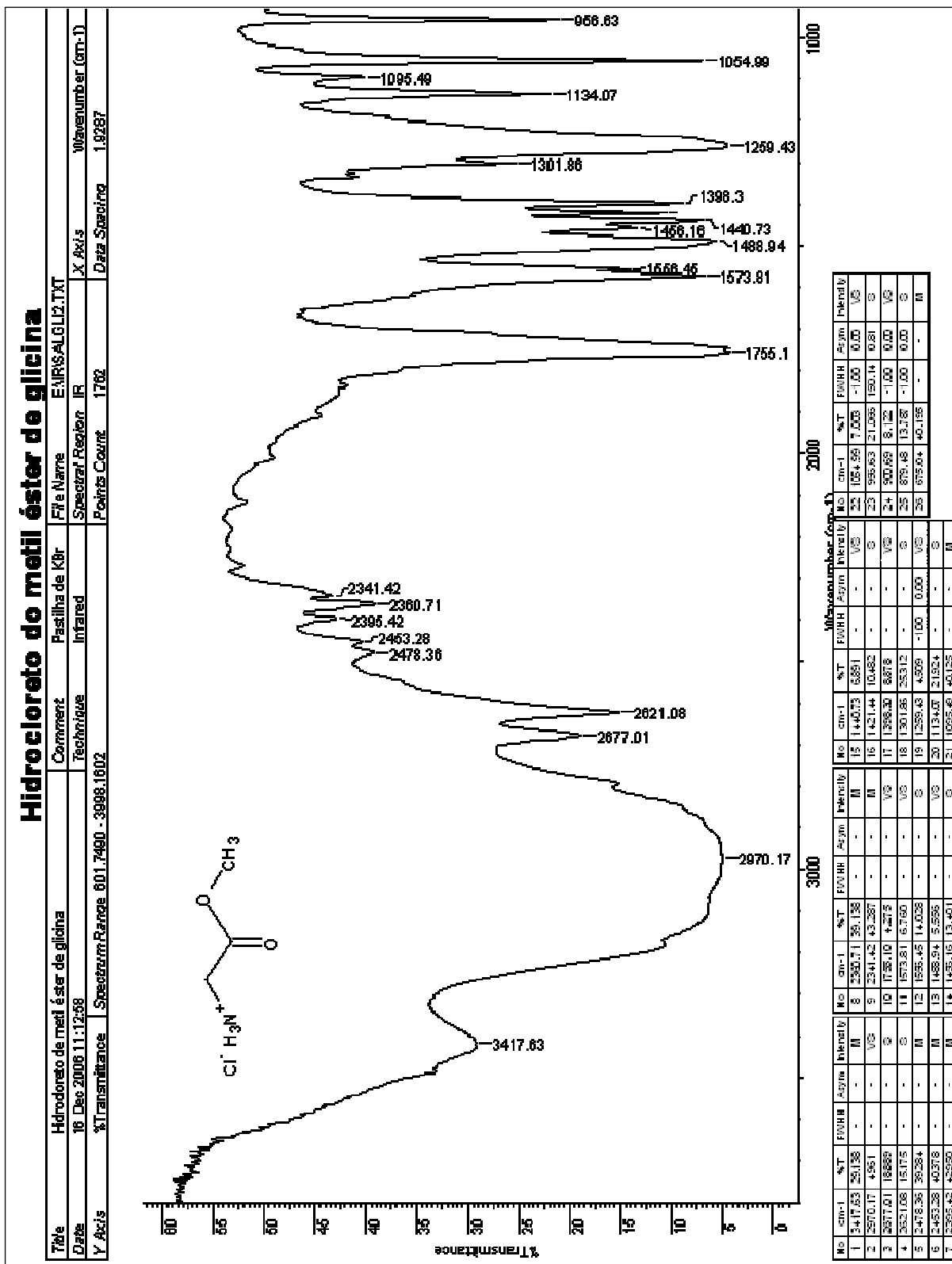
APÊNDICE F – Espectro de infravermelho do acetato de 2-nitropropila (17) (filme líquido).



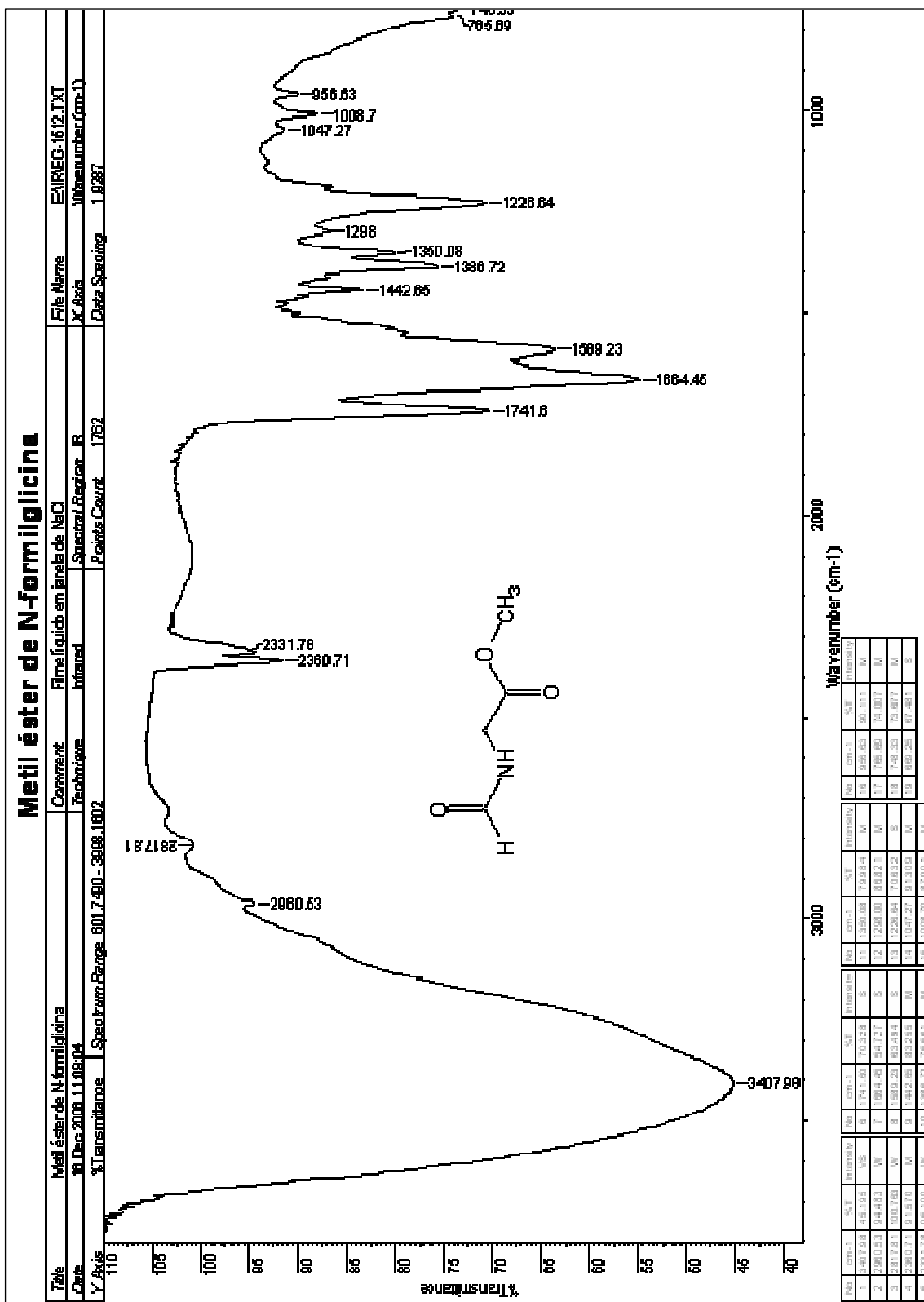
APÊNDICE G – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do acetato de 2-nitropropila (17).



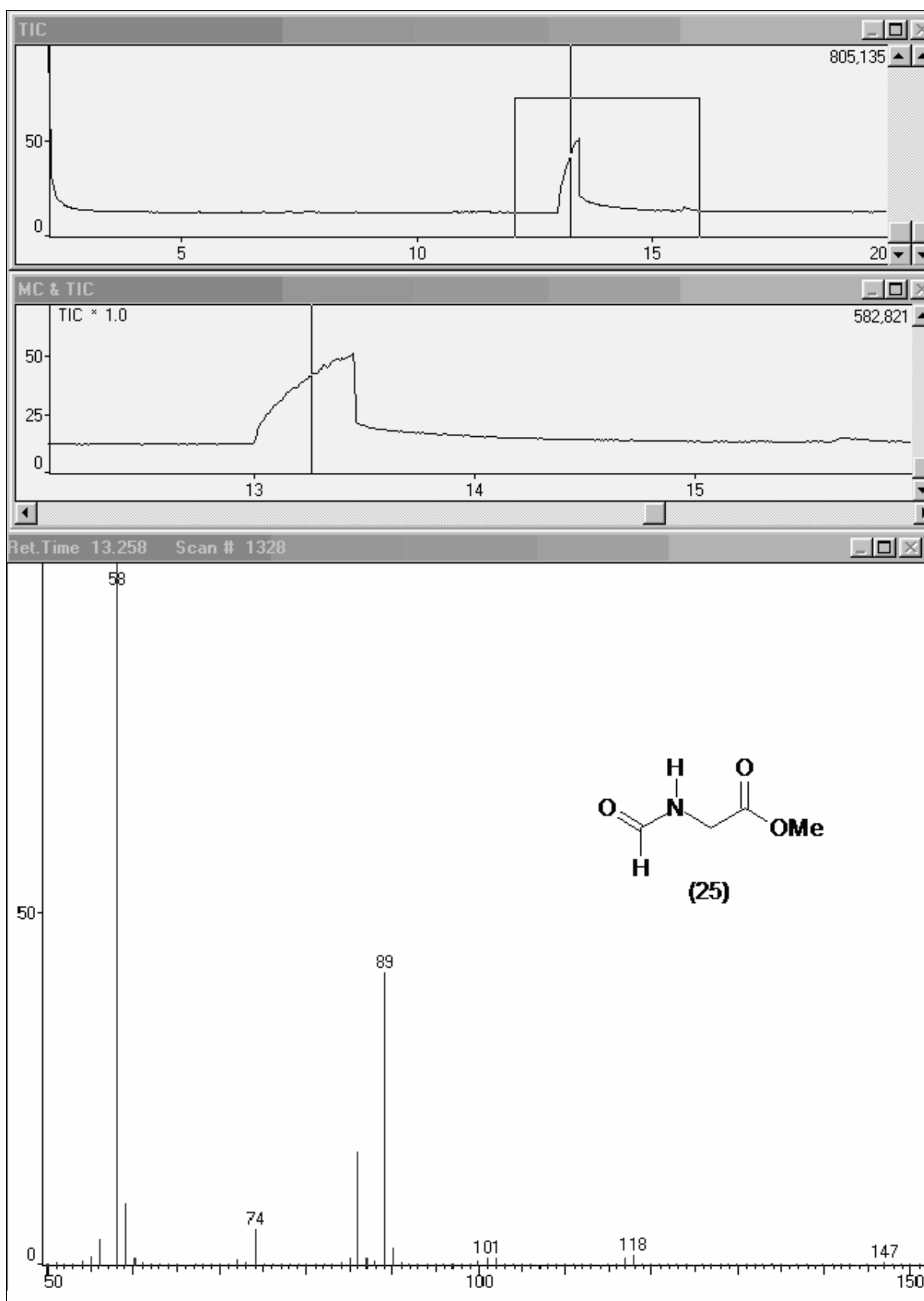
APÊNDICE H – Espectro de IV do cloridrato do éster metílico da glicina (24) (pastilha de KBr).



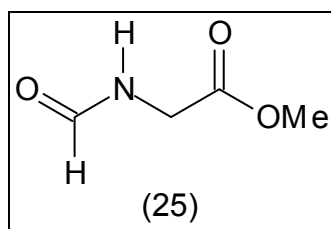
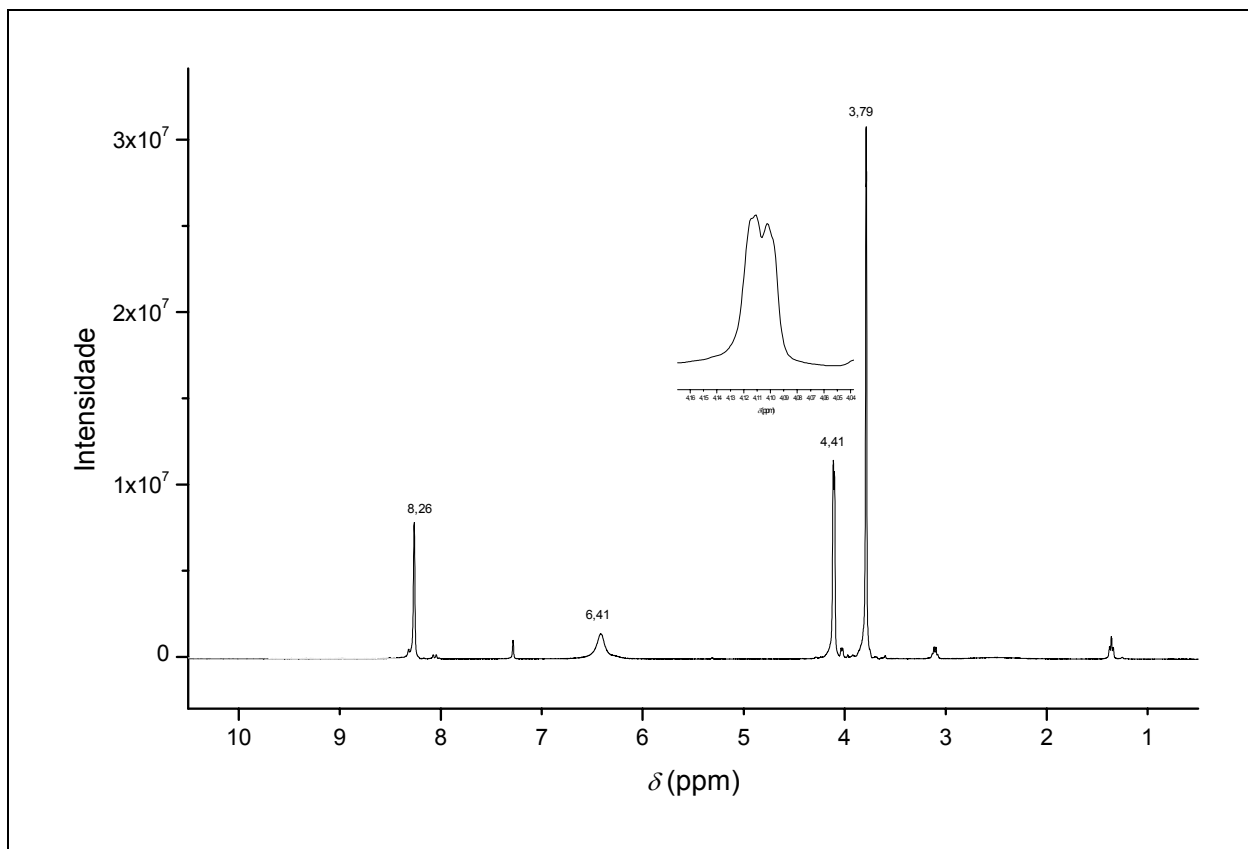
APÊNDICE I – Espectro de IV do éster metílico da N-formilglicina (25) (filme líquido).



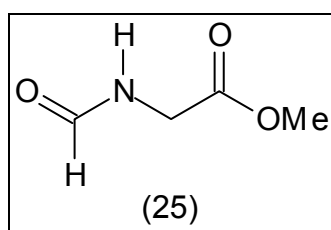
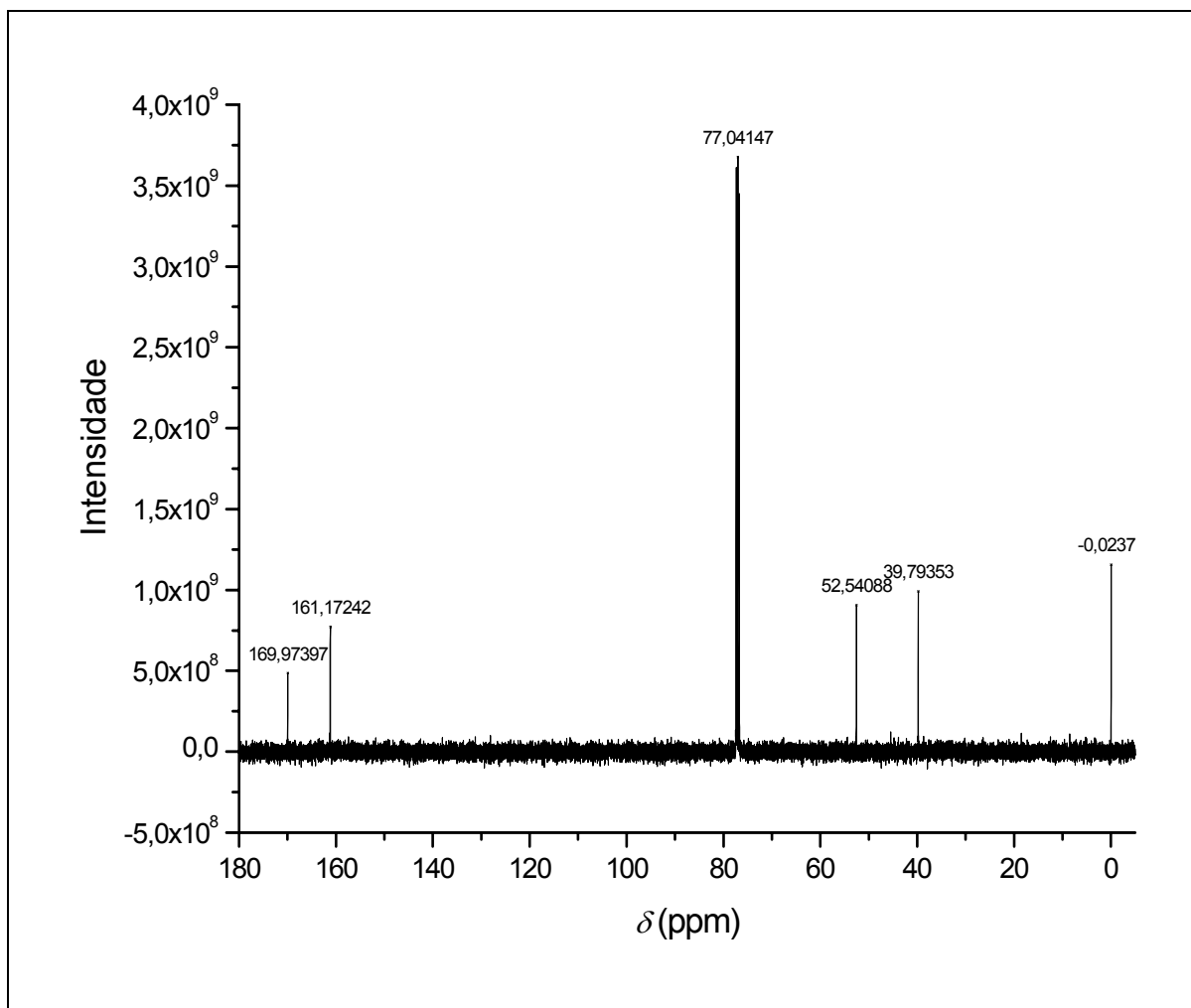
APÊNDICE J – Cromatográfica com espectro de massas do composto (25) (IE 70 eV, TIC).



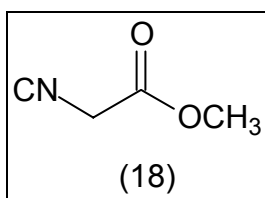
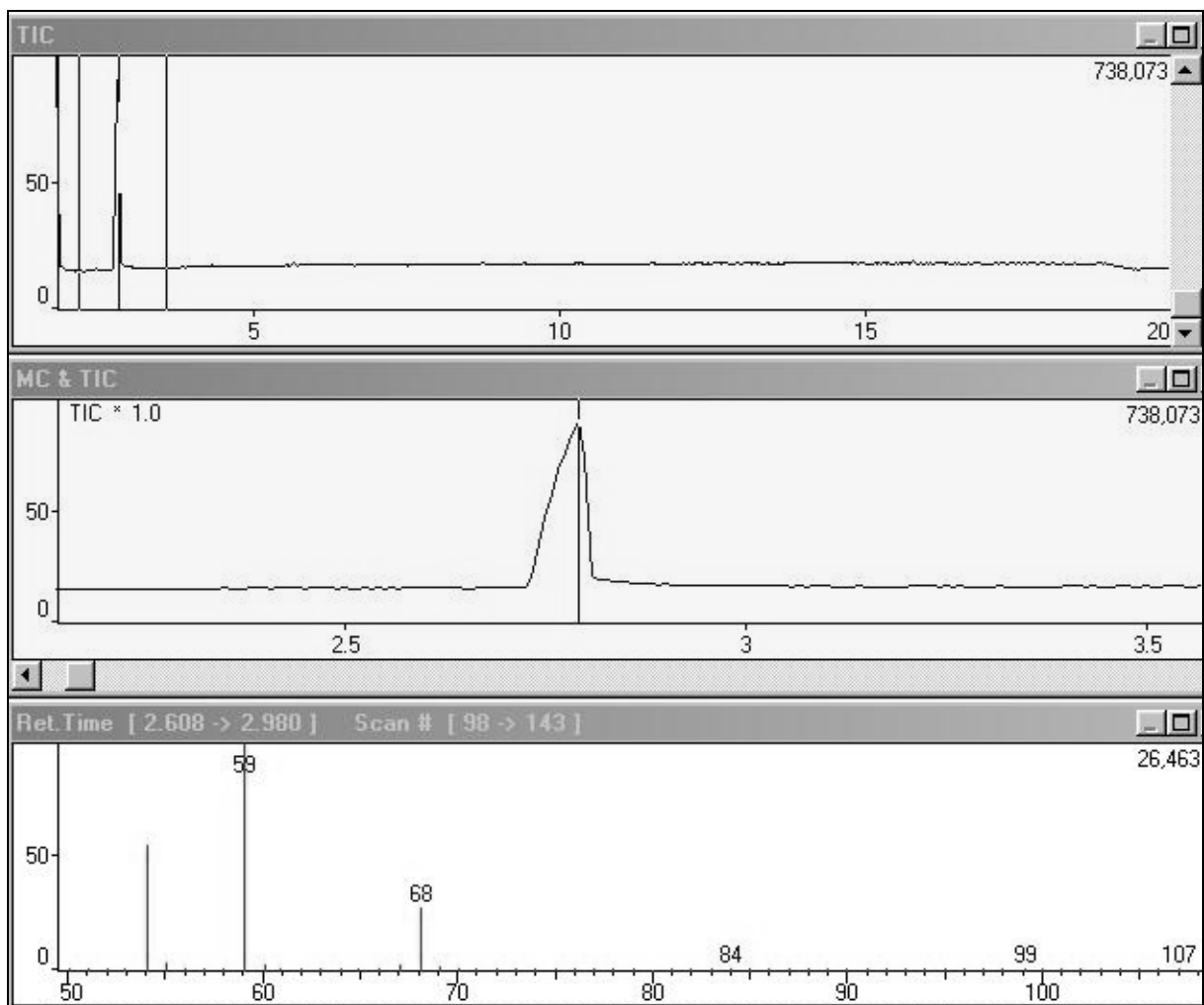
APÊNDICE K – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do éster metílico da N-formilglicina (25).



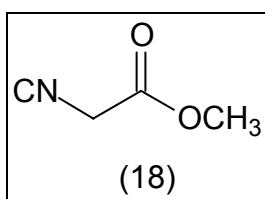
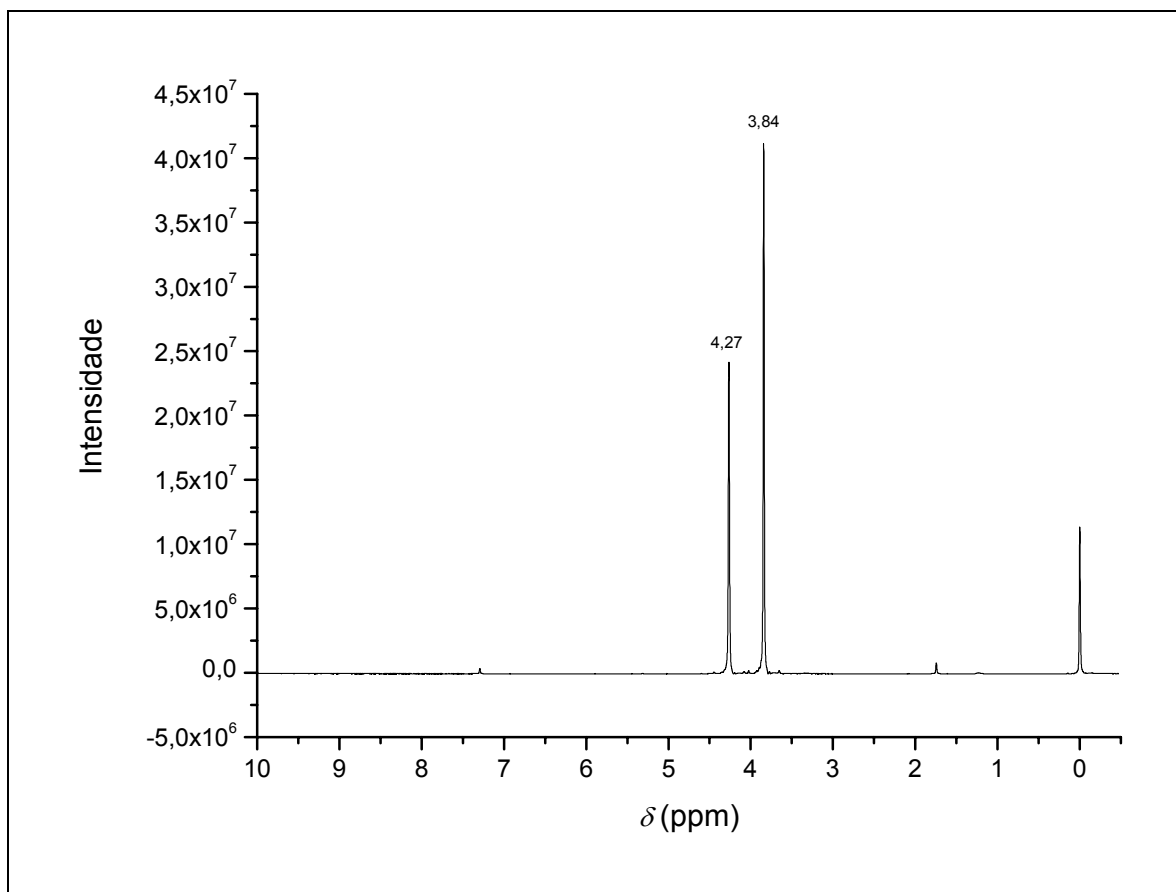
APÊNDICE L – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do éster metílico da N-formilglicina (25).



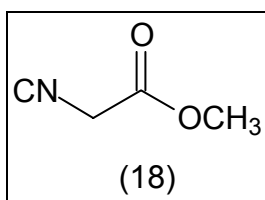
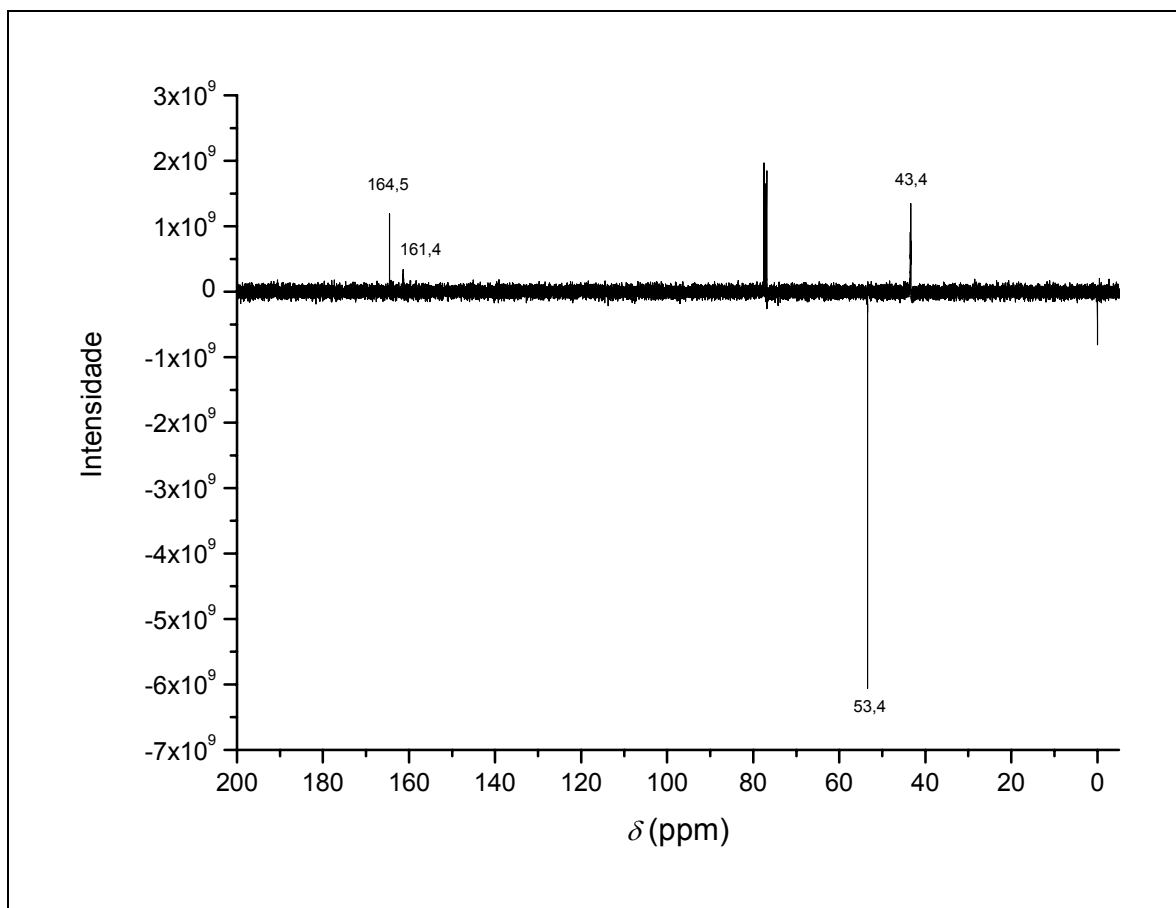
APÊNDICE M – Cromatográfica com espectro de massas do composto (18) (IE 70 eV, TIC).



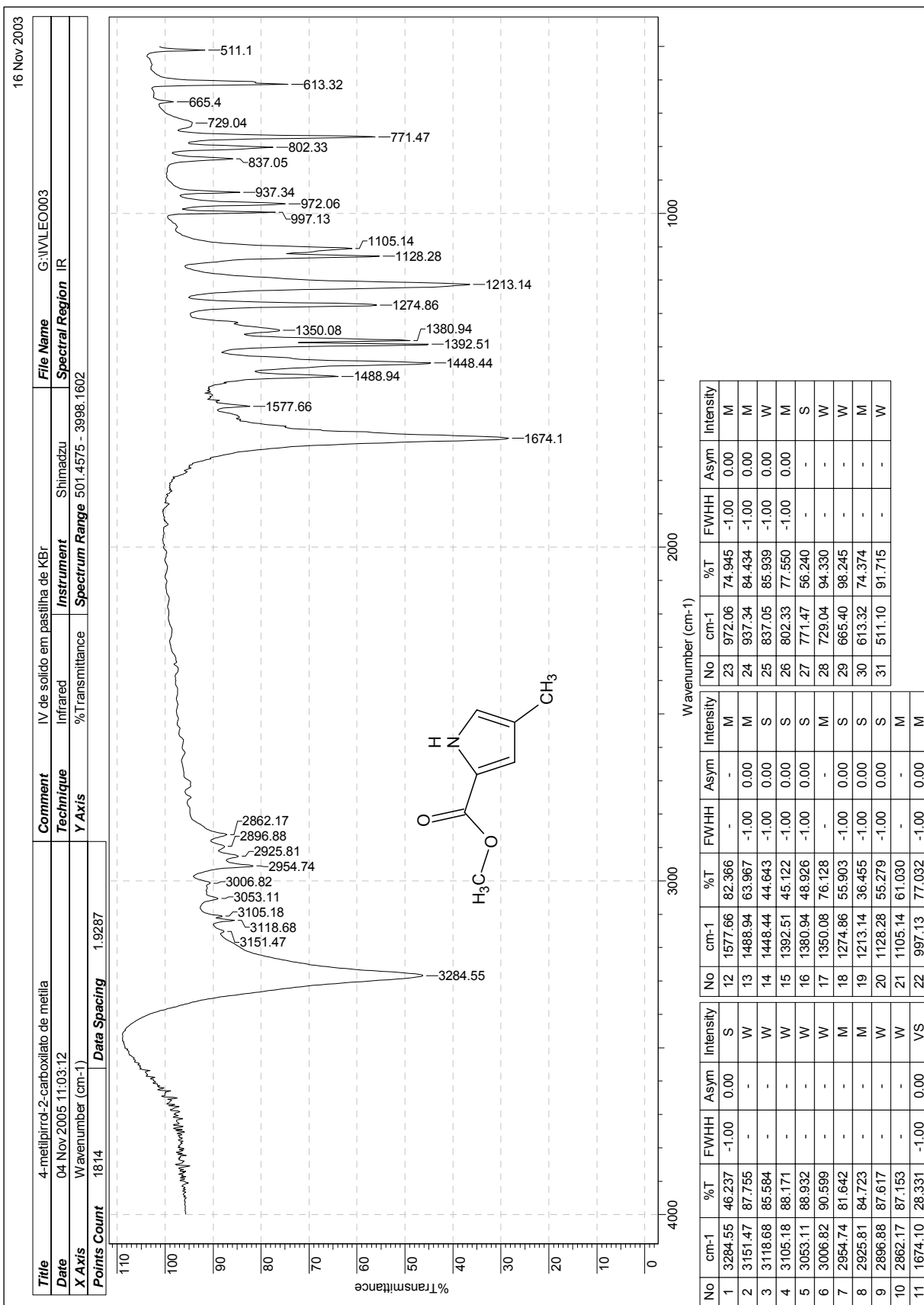
APÊNDICE N – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do isocianoacetato de metila (18).



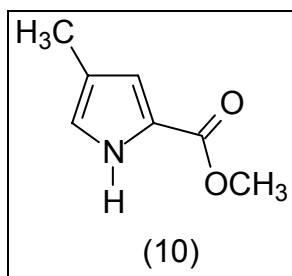
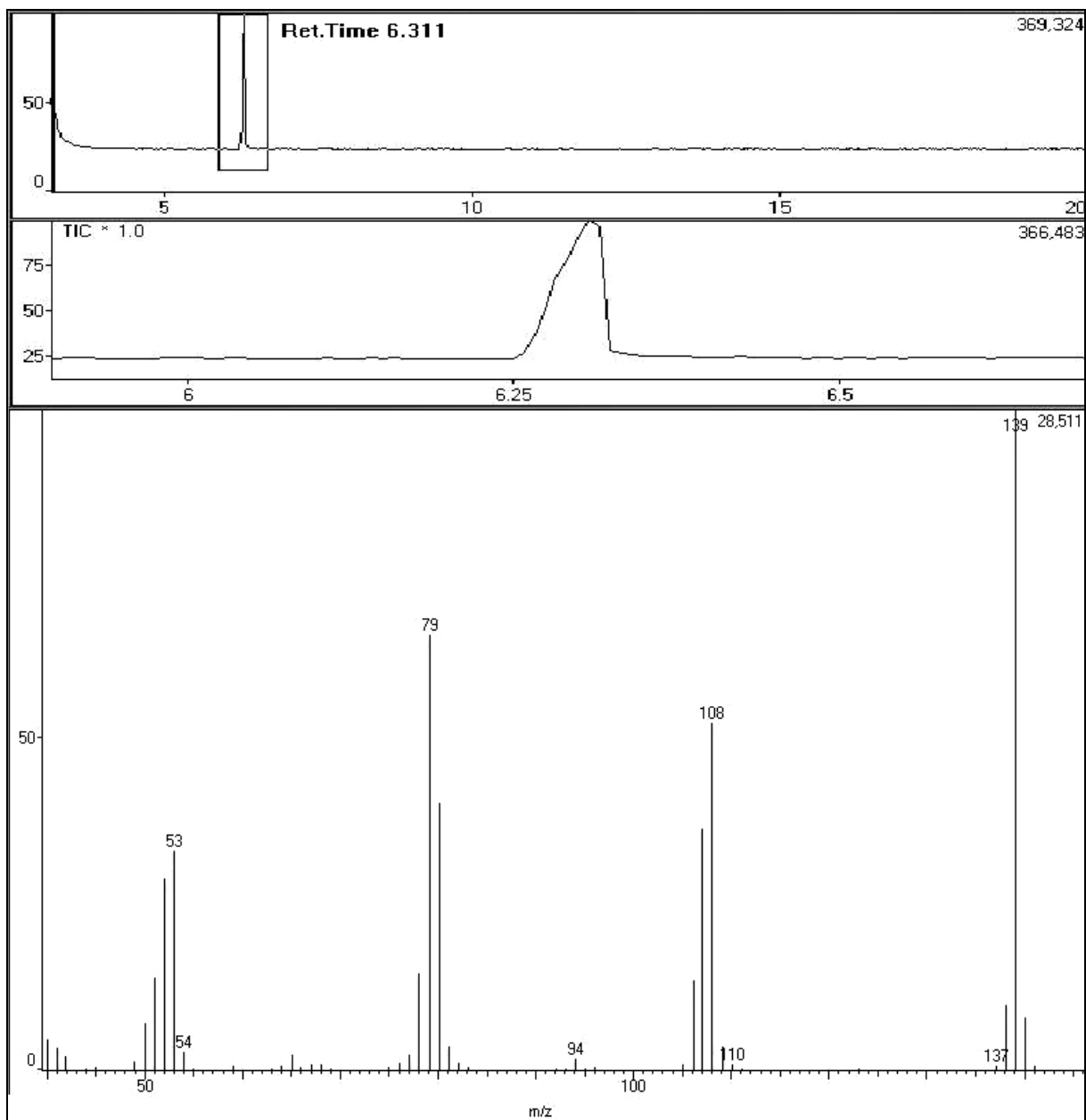
APÊNDICE O – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do isocianoacetato de metila (18).



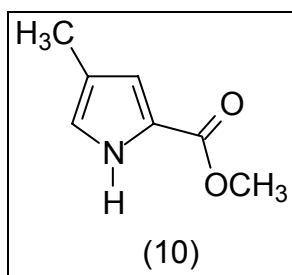
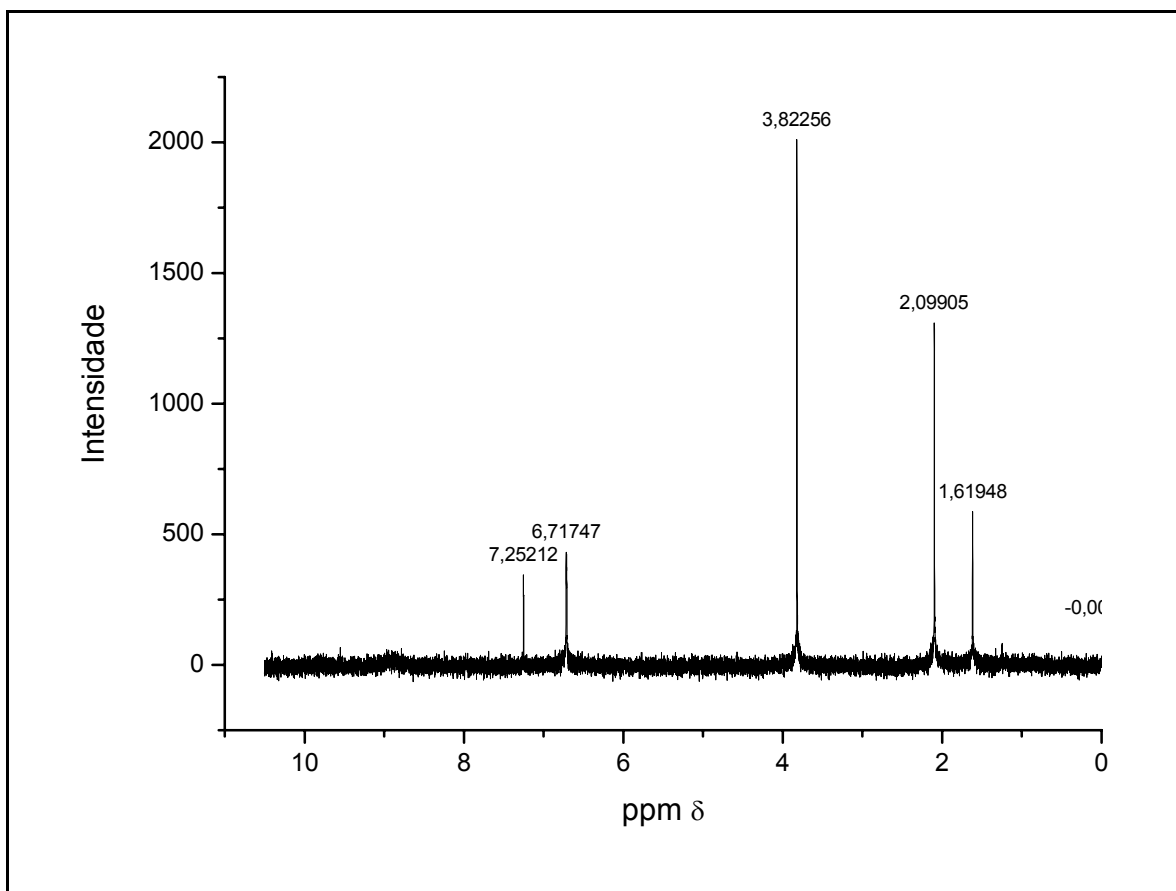
APÊNDICE P – Espectro de IV do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10) (pastilha de KBr).



APÊNDICE Q – Cromatográfica com espectro de massas do composto (10) (IE 70 eV, TIC).



APÊNDICE R – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila (10).



APÊNDICE S – Dados referentes à análise de variância e teste de Tukey para o experimento utilizando sorgo.

Resumo estatístico					
Dataset	N	Mean	SD	SE	
Sorgo solução	411	12,81995	8,79893	0,43402	
Sorgo pirazina	417	10,84412	7,77707	0,38084	
Sorgo pirrol	421	10,68171	8,59116	0,41871	
Sorgo atrazina	420	10,3	8,42377	0,41104	
Sorgo ácido	403	8,26303	6,73783	0,33564	
Sorgo alachlor	416	6,98798	6,34413	0,31105	

Null Hypothesis: The means of all selected datasets are equal
Alternative Hypothesis: The means of one or more selected datasets are different

ANOVA

Source	DoF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
Model	5	8788,50929	1757,70186	28,59079	0
Error	2482	152588,153	61,4779020		

At the 0,05 level, the population means are significantly different.
Means Comparison using Tukey Test

Dataset	Mean	Difference between Means	Simultaneous Confidence Intervals	Significant at 0,05 Level	
			Lower Limit	Upper Limit	
<u>Sorgo solução</u>	12,81995				
sorgo_pirazina	10,84412	1,97583	0,42127	3,53039	Yes
sorgo_pirrol	10,68171	2,13824	0,58735	3,68913	Yes
sorgo_atrazina	10,3	2,51995	0,96815	4,07175	Yes
sorgo_ácido	8,26303	4,55692	2,98902	6,12483	Yes
sorgo_alachlor	6,98798	5,83197	4,27648	7,38746	Yes
<u>sorgo_pirazina</u>	10,84412				
sorgo_pirrol	10,68171	0,16241	-1,38282	1,70765	No
sorgo_atrazina	10,3	0,54412	-1,00203	2,09027	No
sorgo_ácido	8,26303	2,5811	1,01878	4,14341	Yes
sorgo_alachlor	6,98798	3,85614	2,3063	5,40599	Yes
<u>sorgo_pirrol</u>	10,68171				
sorgo_atrazina	10,3	0,38171	-1,16075	1,92417	No
sorgo_ácido	8,26303	2,41868	0,86002	3,97734	Yes
sorgo_alachlor	6,98798	3,69373	2,14756	5,2399	Yes
<u>sorgo_atrazina</u>	10,3				
sorgo_ácido	8,26303	2,03697	0,4774	3,59654	Yes
sorgo_alachlor	6,98798	3,31202	1,76494	4,8591	Yes
<u>sorgo_ácido</u>	8,26303				
sorgo_alachlor	6,98798	1,27505	-0,28819	2,83828	No

Power Analysis

Alpha	Total Sample Size	Power
0,05	2488	1,00000 (actual)
0,05	100	0,39247
0,05	200	0,73342
0,05	300	0,90863

APÊNDICE T – Dados referentes à análise de variância e teste de Tukey para o experimento utilizando milho em pré-emergência.

Resumo estatístico					
Dataset	N	Mean	SD	SE	
milhop_pirrol	4	1,18853	0,16535	0,08268	
milhop_ácido	4	1,03173	0,23325	0,11663	
milhop_pirrol+pirazina	4	1,02878	0,16308	0,08154	
milhop_pirazina	4	1,01977	0,1252	0,0626	
milhop_solução	4	0,93835	0,14047	0,07024	
milhop_2,4-D	4	0,5784	0,12593	0,06297	

Null Hypothesis: The means of all selected datasets are equal
Alternative Hypothesis: The means of one or more selected datasets are different

ANOVA

Source	DoF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
Model	5	0,846598738	0,169319748	6,36491	0,00143
Error	18	0,478837000	0,0266020556		

At the 0,05 level, the population means are significantly different.
Means Comparison using Tukey Test

Dataset	Mean	Difference between Means	Simultaneous Confidence Intervals	Significant at 0,05 Level
			Lower Limit Upper Limit	
<u>milhop_pirrol</u>	<u>1,18853</u>			
milhop_ácido	1,03173	0,1568	-0,20972 0,52332	No
milhop_pirrol+pirazina	1,02878	0,15975	-0,20677 0,52627	No
milhop_pirazina	1,01977	0,16875	-0,19777 0,53527	No
milhop_solução	0,93835	0,25018	-0,11635 0,6167	No
milhop_2,4-D	0,5784	0,61013	0,2436 0,97665	Yes
<u>milhop_ácido</u>	<u>1,03173</u>			
milhop_pirrol+pirazina	1,02878	0,00295	-0,36357 0,36947	No
milhop_pirazina	1,01977	0,01195	-0,35457 0,37847	No
milhop_solução	0,93835	0,09337	-0,27315 0,4599	No
milhop_2,4-D	0,5784	0,45332	0,0868 0,81985	Yes
<u>milhop_pirrol+pirazina</u>	<u>1,02878</u>			
milhop_pirazina	1,01977	0,009	-0,35752 0,37552	No
milhop_solução	0,93835	0,09042	-0,2761 0,45695	No
milhop_2,4-D	0,5784	0,45037	0,08385 0,8169	Yes
<u>milhop_pirazina</u>	<u>1,01977</u>			
milhop_solução	0,93835	0,08142	-0,2851 0,44795	No
milhop_2,4-D	0,5784	0,44137	0,07485 0,8079	Yes
<u>milhop_solução</u>	<u>0,93835</u>			
milhop_2,4D	0,5784	0,35995	-0,00657 0,72647	No

Power Analysis

Alpha	Total Sample Size	Power
0,05	24	0,97781 (actual)
0,05	100	1,00000
0,05	200	1,00000
0,05	300	1,00000

APÊNDICE U – Dados referentes à análise de variância e teste de Tukey para o experimento utilizando pepino em pré-emergência.

Resumo estatístico				
Dataset	N	Mean	SD	SE
pepino_pirazina	4	0,62833	0,14522	0,07261
pepino_solução	4	0,6217	0,07658	0,03829
pepino_pirrolpirazina	4	0,5684	0,0654	0,0327
pepino_pirrol	4	0,51775	0,12288	0,06144
pepino_ácido	4	0,40622	0,05263	0,02631
pepino_24D	4	0,09653	0,11179	0,05589

Null Hypothesis: The means of all selected datasets are equal
Alternative Hypothesis: The means of one or more selected datasets are different

ANOVA

Source	DoF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
Model	5	0,814133807	0,162826761	15,86081	4,76249E-6
Error	18	0,184787652	0,0102659807		

At the 0,05 level, the population means are significantly different.
Means Comparison using Tukey Test

Dataset	Mean	Difference between Means	Simultaneous Confidence Intervals	Significant at 0,05
			Lower Limit Upper Limit	Level
pepino_pirazina	0,62833			
pepino_solução	0,6217	0,00662	-0,22106 0,23431	No
pepino_pirrol+pirazina	0,5684	0,05993	-0,16776 0,28761	No
pepino_pirrol	0,51775	0,11057	-0,11711 0,33826	No
pepino_ácido	0,40622	0,2221	-0,00559 0,44979	No
pepino_2,4-D	0,09653	0,5318	0,30411 0,75949	Yes
pepino_solução	0,6217			
pepino_pirrol+pirazina	0,5684	0,0533	-0,17439 0,28099	No
pepino_pirrol	0,51775	0,10395	-0,12374 0,33164	No
pepino_ácido	0,40622	0,21548	-0,01221 0,44316	No
pepino_2,4-D	0,09653	0,52518	0,29749 0,75286	Yes
pepino_pirrol+pirazina	0,5684			
pepino_pirrol	0,51775	0,05065	-0,17704 0,27834	No
pepino_ácido	0,40622	0,16218	-0,06551 0,38986	No
pepino_2,4-D	0,09653	0,47188	0,24419 0,69956	Yes
pepino_pirrol	0,51775			
pepino_ácido	0,40622	0,11153	-0,11616 0,33921	No
pepino_2,4-D	0,09653	0,42123	0,19354 0,64891	Yes
pepino_ácido	0,40622			
pepino_2,4-D	0,09653	0,3097	0,08201 0,53739	Yes

Power Analysis

Alpha	Total Sample Size	Power
0,05	24	1,00000 (actual)
0,05	100	1,00000
0,05	200	1,00000
0,05	300	1,00000

APÊNDICE V – Dados referentes à análise de variância e teste de Tukey para o experimento utilizando milho em pós-emergência.

Resumo estatístico				
Dataset	N	Mean	SD	SE
milhop_pirazina	4	1,794	0,18918	0,09459
milhop_pirrol	4	1,76565	0,34733	0,17366
milhop_pirrol+pirazina	4	1,7215	0,34782	0,17391
milhop_ácido	4	1,65335	0,26265	0,13133
milhop_2,4-D	4	1,33455	0,25729	0,12864
milhop_solução	4	1,30685	0,10293	0,05147

Null Hypothesis: The means of all selected datasets are equal
Alternative Hypothesis: The means of one or more selected datasets are different

ANOVA

Source	DoF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
Model	5	0,955952873	0,191190575	2,71078	0,05378
Error	18	1,26953662	0,0705298122		

At the 0,05 level, the population means are significantly different.
Means Comparison using Tukey Test

Dataset	Mean	Difference between Means	Simultaneous Confidence Intervals	Significant at 0,05 Level
			Lower Limit Upper Limit	
milhop_pirazina	1,794			
milhop_pirrol	1,76565	0,02835	-0,56845 0,62515	No
milhop_pirrol+pirazina	1,7215	0,0725	-0,5243 0,6693	No
milhop_ácido	1,65335	0,14065	-0,45615 0,73745	No
milhop_2,4-D	1,33455	0,45945	-0,13735 1,05625	No
milhop_solução	1,30685	0,48715	-0,10965 1,08395	No
milhop_pirrol	1,76565			
milhop_pirrol+pirazina	1,7215	0,04415	-0,55265 0,64095	No
milhop_ácido	1,65335	0,1123	-0,4845 0,7091	No
milhop_2,4-D	1,33455	0,4311	-0,1657 1,0279	No
milhop_solução	1,30685	0,4588	-0,138 1,0556	No
milhop_pirrol+pirazina	1,7215			
milhop_ácido	1,65335	0,06815	-0,52865 0,66495	No
milhop_2,4-D	1,33455	0,38695	-0,20985 0,98375	No
milhop_solução	1,30685	0,41465	-0,18215 1,01145	No
milhop_ácido	1,65335			
milhop_2,4-D	1,33455	0,3188	-0,278 0,9156	No
milhop_solução	1,30685	0,3465	-0,2503 0,9433	No
milhop_2,4-D	1,33455			
milhop_solução	1,30685	0,0277	-0,5691 0,6245	No

Power Analysis

Alpha	Total Sample Size	Power
0,05	24	0,68209 (actual)
0,05	100	0,99999
0,05	200	1,00000
0,05	300	1,00000

APÊNDICE W – Dados referentes à análise de variância e teste de Tukey para o experimento utilizando pepino em pós-emergência.

Resumo estatístico					
Dataset	N	Mean	SD	SE	
pepino_pirazina	4	0,9939	0,0912	0,0456	
pepino_solução	4	0,90612	0,12965	0,06483	
pepino_pirrol	4	0,8869	0,06492	0,03246	
pepino_ácido	4	0,73152	0,02432	0,01216	
pepino_pirrol+pirazina	4	0,71313	0,03719	0,0186	
pepino_2,4-D	4	0,0982	0,01576	0,00788	

Null Hypothesis: The means of all selected datasets are equal
Alternative Hypothesis: The means of one or more selected datasets are different

ANOVA

Source	DoF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
Model	5	2,09727497	0,419454993	79,73015	1,21843E-11
Error	18	0,0946968025	0,00526093347		

At the 0,05 level, the population means are significantly different.
Means Comparison using Tukey Test

Dataset	Mean	Difference between Means	Simultaneous Confidence Intervals	Significant at 0,05 Level
			Lower Limit Upper Limit	
pepino_pirazina	0,9939			
pepino_solução	0,90612	0,08778	-0,07522 0,25077	No
pepino_pirrol	0,8869	0,107	-0,056 0,27	No
pepino_ácido	0,73152	0,26238	0,09938 0,42537	Yes
pepino_pirrol+pirazina	0,71313	0,28078	0,11778 0,44377	Yes
pepino_2,4-D	0,0982	0,8957	0,7327 1,0587	Yes
pepino_solução	0,90612			
pepino_pirrol	0,8869	0,01922	-0,14377 0,18222	No
pepino_ácido	0,73152	0,1746	0,0116 0,3376	Yes
pepino_pirrol+pirazina	0,71313	0,193	0,03 0,356	Yes
pepino_2,4-D	0,0982	0,80793	0,64493 0,97092	Yes
pepino_pirrol	0,8869			
pepino_ácido	0,73152	0,15538	-0,00762 0,31837	No
pepino_pirrol+pirazina	0,71313	0,17378	0,01078 0,33677	Yes
pepino_2,4-D	0,0982	0,7887	0,6257 0,9517	Yes
pepino_ácido	0,73152			
pepino_pirrol+pirazina	0,71313	0,0184	-0,1446 0,1814	No
pepino_2,4-D	0,0982	0,63333	0,47033 0,79632	Yes
pepino_pirrolpirazina	0,71313			
pepino_2,4-D	0,0982	0,61493	0,45193 0,77792	Yes

Power Analysis

Alpha	Total Sample Size	Power
0,05	24	1,00000 (actual)
0,05	100	1,00000
0,05	200	1,00000
0,05	300	1,00000

APÊNDICE X – Dados referentes à análise de variância e teste de Tukey para o experimento utilizando grama de jardim.

Resumo estatístico				
Dataset	N	Mean	SD	SE
massaseca_solução	5	9,07333	0,69557	0,31107
massaseca_pirrol	5	4,87229	1,49721	0,66957
massaseca_pirrol+pirazina	5	4,15273	0,84847	0,37945
massaseca_pirazina	5	3,0987	0,32481	0,14526
massaseca_alachlor	5	4,10275	1,34117	0,59979
massaseca ácido	5	2,78622	0,51766	0,23151

Null Hypothesis: The means of all selected datasets are equal
Alternative Hypothesis: The means of one or more selected datasets are different

ANOVA

Source	DoF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
Model	5	130,182451	26,0364902	27,80886	3,01474E-9
Error	24	22,4703827	0,936265945		

At the 0,05 level, the population means are significantly different.
Means Comparison using Tukey Test

Dataset	Mean	Difference between Means	Simultaneous Confidence Intervals		Significant at 0,05 Level
			Lower Limit	Upper Limit	
massaseca solução	9,07333				
massaseca_pirrol	4,87229	4,20105	2,30888	6,09322	Yes
massaseca_pirrol+pirazina	4,15273	4,92061	3,02844	6,81277	Yes
massaseca_pirazina	3,0987	5,97463	4,08246	7,8668	Yes
massaseca_alachlor	4,10275	4,97058	3,07841	6,86275	Yes
massaseca ácido	2,78622	6,28712	4,39495	8,17928	Yes
massaseca_pirrol	4,87229				
massaseca_pirrolpirazina	4,15273	0,71956	-1,17261	2,61173	No
massaseca_pirazina	3,0987	1,77358	-0,11858	3,66575	No
massaseca_alachlor	4,10275	0,76953	-1,12264	2,6617	No
massaseca ácido	2,78622	2,08607	0,1939	3,97824	Yes
massaseca_pirrol+pirazina	4,15273				
massaseca_pirazina	3,0987	1,05403	-0,83814	2,9462	No
massaseca_alachlor	4,10275	0,04997	-1,84219	1,94214	No
massaseca ácido	2,78622	1,36651	-0,52566	3,25868	No
massaseca_pirazina	3,0987				
massaseca_alachlor	4,10275	-1,00405	-2,89622	0,88812	No
massaseca ácido	2,78622	0,31248	-1,57968	2,20465	No
massaseca_alachlor	4,10275				
massaseca ácido	2,78622	1,31654	-0,57563	3,2087	No

Power Analysis

Alpha	Total Sample Size	Power
0,05	30	1,00000 (actual)
0,05	100	1,00000
0,05	200	1,00000
0,05	300	1,00000