

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA RENORBIO

Vanderson Barbosa Bernardo

Elucidação estrutural e síntese de feromônios sexuais de insetos: Avanços no controle de pragas agrícolas e do vetor da Leishmaniose Visceral

> Maceió, AL 2017

Vanderson Barbosa Bernardo

Elucidação estrutural e síntese de feromônios sexuais de insetos: Avanços no controle de pragas agrícolas e do vetor da Leishmaniose Visceral

Tese apresentada à Rede Nordeste de Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências com ênfase em Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Silva Porto

Catalogação na fonte Universidade Federal de Alagoas Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janis Christine Angelina Cavalcante - CRB:1664

B518e Bernardo, Vanderson Barbosa. Elucidação estrutural e síntese de feromônios sexuais de insetos: avanços no controle de pragas agrícolas e do vetor da Leishmaaniose Visceral. / Vanderson Barbosa Bernardo. – 2017. 162 f. : il. color., grafs., tabs.
Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana. Co-orientador: Ricardo Silva Porto. Tese (doutorado na Rede Nordeste de Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. RENORBIO. Maceió, 2017. Bibliografia: f. 136-139.
1. Controle de pragas agrícolas. 2. Feromônios. 3. Anacampsis phytomiella. 4. Migdolus fryanus. 5. Lutzomyia. I. Título.

VANDERSON BARBOSA BERNARDO

Elucidação estrutural e síntese de feromônios sexuais de insetos: Avanços no controle de pragas agrícolas e do vetor de Leishmaniose Visceral

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Alagoas, Focal Ponto Federal de Alagoas, como requisito parcialpara a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia, Área de Biotecnologia em Concentração: Recursos Naturais.

Aprovada em: 17/02/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Euzébio Goulart Santana(Orientador/Presidente) Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima

Universidade Federal de Goiás- UFAL

Prof. Dr. Jefferson Luiz Princival Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart Universidade Federal de Alagoas – UFAL

Prof. Or. Josealdo Tonholo Universidade Federal de Alagoas - UFAL

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

À toda a minha família, em especial, aos meus pais, Eduardo e Valquíria, ao meu irmão, Eduardo, e ao meu avô, seu Dedé pelo apoio oferecido ao longo de todos esses anos

À minha amada Tainan, companheira para toda a vida

Aos meus amigos que tanto contribuíram para a realização deste trabalho

A todos do LPqRN

Aos amigos do LASQ, vocês transformaram essa jornada tão difícil em algo incrível

To all my friends at Rothamsted Research

To Dr. Tony Hooper, my overseas supervisor, who taught how to do real chemistry

Ao meu orientador, Prof. Euzébio, pela orientação e amizade e por proporcionar inúmeras oportunidades para o meu crescimento profissional

A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram durante esta jornada

RESUMO

Insetos podem causar graves prejuízos ao homem, seja pelo ataque a culturas agrícolas ou através da transmissão de micro-organismos causadores de doenças. O agronegócio movimenta bilhões de dólares por ano e gera emprego e renda, sobretudo nas regiões mais pobres do país. O dano provocado por insetos é uma das maiores causas da redução na produção das principais culturas da cana-de-açúcar e do cajueiro no Brasil. Já no contexto da saúde pública, mosquitos são responsáveis pela transmissão de agentes etiológicos de doenças negligenciadas em regiões subdesenvolvidas de países tropicais, com destaque para a leishmaniose visceral, que pode culminar no óbito, tanto do homem como de outros mamíferos. Os agrotóxicos continuam sendo os principais recursos utilizados para o controle insetos em áreas rurais. Contudo, formas alternativas de combate têm sido buscadas, visando reduzir o risco imposto à saúde humana, manter qualidade do meio ambiente e produzir alimentos livres de agrotóxicos. A redução da população do inseto representa uma ferramenta útil no combate à propagação da doença e, neste âmbito, pode-se ressaltar o uso de feromônios como ferramentas de controle eficiente e ecologicamente segura. O presente trabalho tem como objetivo propor rotas sintéticas para a produção do Acetato de 9-decenila, do Acetato de (E)-7-decenila e do Acetato de (Z)-7decenila, feromônios sexuais da traca das castanhas, Anacampsis phytomiella, e da 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida, feromônio sexual do coleóptero Migdolus fryanus. Descreve-se também a identificação do diterpeno (3E,8Z)-4,8,12,15,15-Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno, um novo feromônio sexual do mosquito palha, Lutzomyia longipalpis, vetor da leishmaniose visceral, além da síntese da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)cicloexanona, precursor do feromônio.

Palavras-chave: Feromônios; Síntese; *Anacampsis phytomiella*; *Migdolus fryanus*; *Lutzomyia longipalpis*.

ABSTRACT

Insects are able to cause severe damages to men, either by attacking crops or by transmitting disease causative agents. Agribusiness deals with billions of dollars per year and generates jobs and income, especially in the poorest parts of the country. The attack of pest insects is a major cause of the yield reduction of main crops of sugarcane and cashew tree in Brazil. In the context of public health, mosquitoes are responsible for spreading protozoa, which cause neglected diseases in underdeveloped regions of tropical countries, highlighting visceral leishmaniasis, which may lead to death of the host, either human or other mammals. Pesticides are still the main resource used to control insects in rural areas. Nevertheless, the search for alternatives is required, aiming to reduce health hazard, to maintain environment security and to produce pesticide-free food. Reducing insect population represents a useful tool in the fight against the disease and, in this sphere, it's possible to highlight the use of pheromones as an efficient and environmentally safe control instrument. The present work aims to propose synthetic pathways to produce 9-Decenyl, (E)-7-Decenyl and (Z)-7-Decenyl acetates, sex pheromones of cashew nut borer, Anacampsis phytomiella, and 2'-Methylbutanoyl-2-methylbutylamine, sex pheromone of *Migdolus fryanus*. We also describe the identification of diterpene (3E,8Z)-4,8,12,15,15-Pentamethybicyclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-triene, a new sex pheromone of sanfly, Lutzomyia longipalpis, vector of visceral leishmaniasis. Furthermore, we synthetized its precursor, (E)-2-Alil-3,3-dimethyl-4-(3,7-dimethylocta-2,7-dienyl)-cycloexanone.

Key words: Pheromones; Synthesis; *Anacampsis phytomiella*; *Migdolus fryanus*; *Lutzomyia longipalpis*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Produção de castanhas de caju <i>in natura</i> , safra 2014/2015 (em toneladas). A)	
Distribuição por região do país; B) Distribuição por estado.	17
Figura 2. Danos causados por A. phytomiella à castanha. A) Larvas no interior da castan	ha;
B) Orifício de saída da praga na castanha.	20
Figura 3. Estruturas dos inseticidas usados na cultura do caju no Brasil. A) Deltametrina Triclorfom.	ı; B)
Figura 4. Estruturas dos principais precursores dos feromônios de lepidópteros. A) Ácid	0
Esteárico: B) Ácido Palmítico	25
Figura 5. Esquema geral para a síntese de feromônios de lepidónteros a partir de	
bromoálcoois protegidos a) Acontamento com alcino: b) Redução parcial da ligação	h
tripla: c) Desproteção da hidroxila: d) Oxidação do álcool a aldeído: e) Acetilação	, 27
Figura 6. Estruturas dos prováveis feromônios sexuais da espécie <i>Anacampsis Phytomie</i>	lla.
Figura 7. Esquema geral para a síntese dos feromônios de A. phytomiella.	31
Figura 8. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do Acetato de 9-decenila	39
Figura 9. A) Espectro de RMN ¹ H do Acetato de 9-decenila. B) Expansão do espectro R	MN
¹ H na região de 3,8-6,0 ppm.	40
Figura 10. A) Espectro de 13C DEPTQ do Acetato de 9-decenil. B) Expansão do escreto	ctro
na região de 22-32 ppm.	41
Figura 11. A) Espectro HSQC do Acetato de de 9-decenila. B) Expansão do espectro na	
região de H (4,6-6,0 ppm) e C (100-150 ppm).	42
Figura 12. Espectro HMBC do Acetato de 9-decenila.	42
Figura 13. Cromatograma (A) e Espectro de massas (B) do 6-Bromo-1-hexanol.	44
Figura 14. Espectro de 1RMN do 6-Bromo-1-hexanol.	44
Figura 15. A) Espectro de RMN ¹³ C do 6-Bromo-1-hexanol. B) Expansão do espectro n	a
região de 30-34 ppm.	45
Figura 16. Cromatograma do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano	46
Figura 17. Espectro de massas do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano.	47
Figura 18. A) Espectro de RMN ¹ H do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano. B) Expansão	o do c
espectro na região de 3,3-3,9 ppm.	47
Figura 19. Espectro DEPTQ do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano.	48
Figura 20. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropira	ano. 49
Figura 21. Espectro de RMN ¹ H do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano	50
Figura 22. Mecanismo da síntese do2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano, através do acoplan	nento
entre o 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano e o 1-Butino	51
Figura 23. Espectro HSQC do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.	52
Figura 24. Espectro HMBC do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.	52
Figura 25. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do 7-Decin-1-ol	53
Figura 26. Espectro de RMN ¹ H do 7-Decen-1-ol	55
Figura 27. Espectro HSQC do 7-Decin-1-ol.	55
Figura 28. Espectro HMBC do 7-Decin-1-ol	<u>55</u>
Figura 29. (A) Cromatograma e (B) espectro de massas do (Z)-7-Decen-1-ol.	57

Figura 30. Espectro de RMN ¹ H do (Z)-7-Decen-1-ol.	
Figura 31. Espectro HSQC do (Z)-7-Decen-1-ol	59
Figura 32. Cromatograma (A) e espectro de massas do Acetato de (Z)-7-Decenila.	60
Figura 33. Espectro de RMN ¹ H do Acetato de (Z)-7-decenila	61
Figura 34. Espectro HSQC do Acetato de (Z)-Decenila.	61
Figura 35. Espectro HMBC do Acetato de (Z)-7-Decenila.	62
Figura 36. Mecanisno da reação de redução parcial estereosseletiva da ligação tripl	a63
Figura 37. Cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do (E)-7-Decen-1-ol	63
Figura 38. Espectro de RMN 1H do (E)-7-Decen-1-ol.	64
Figura 39. Espectro HSQC do (E)-7-Decen-1-ol	64
Figura 40. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do (E)-7-Decen-1-ol	65
Figura 41. Espectro de RMN 1H do Acetato de (E)-7-decenila	66
Figura 42. (A) Comparação entre os espectros de RMN 1H dos isômeros Z (vermel	ho) e <i>E</i>
(azul) do Acetato de 7-decenila. (B) Expansão dos espectros na região de 5,25-	5,55 ppm.
Figura 43. Espectro HSQC do Acetato de (E)-7-Decenila.	67
Figura 44.Espectro HSQC do Acetato de (E)-7-Decenila.	67
Figura 45. Cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do 2-(7-Octiniloxi)-tetrai	dropirano
	69
Figura 46. Espectro de RMN ¹ H do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano.	70
Figura 47. Espectro HSQC do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano	71
Figura 48. Espectro HMBC do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano	71

CAPÍTULO II

Figura 2. Número de mortes decorrentes de Leishmaniose visceral reportadas
Figura 3. Feromônios identificados de L. longipalpis82
Figura 4. Exemplos de Verticilanos já identificados
Figura 5. Esquema geral ilustrando a biossíntese do verticileno a partir do Difosfato de
Geranila (GGDP)
Figura 6. Esquema geral para a síntese de diterpenos da classe dos verticilanos85
Figura 7. Esquema geral da rota sintética aplicada90
Figura 8. Cromatograma do extrato dos machos de L. longipalpis97
Figura 9. Espectro de massas do composto com tempo de retenção de 36-38 minutos98
Figura 10. Mecanismo proposto para o rearranjo sigmatrópico do 9-Metilgermacreno B99
Figura 11. Espectro de massas do pico com tempo de retenção de 47,28 minutos99
Figura 12. Espectros de massas dos picos com tempos de retenção de (A) 45,17, (B) 46,16,
(C) 46,9, (D) 47,5 e (E) 48,19 minutos100
Figura 13. A) Espectro de RMN ¹ H do extrato dos machos de L. longipalpis. B) Expansão do
espectro na região de 5,3-6,7 ppm. C) Expansão do espectro na região de 1,0-3,2 ppm.
Figura 14. A) Espectro HSQC do extrato dos machos de <i>L. longipalpis</i> (¹³ C – 10-45 ppm; ¹ H
$-1,0-3,0$ ppm). B) Expansão do espectro ($^{13}C - 118-128$ ppm; $^{1}H - 5,35-5,70$)103
Figura 15. Cembreno A isolado de Boswellia carterii
Figura 16. Espectro COSY do extrato dos machos de <i>L. longipalpis</i> na região dos
hidrogênios ligados a carbono saturados ($^{1}H - 1, 1-3, 5$ ppm; $^{1}H - 1, 1-3, 5$ ppm)105

Figura 17. Espectro COSY do extrato dos machos de L. longipalpis na região dos
hidrogênios ligados a carbonos insaturados (¹ H – 5,0-5,9 ppm; ¹ H – 1,5-5,6 ppm)106
Figura 18. A) Espectro HMBC do extrato de machos de <i>L. longipalpis</i> na região de ¹³ C –
5,0-50,0 ppm; ${}^{1}\text{H}$ – 0,6-3,0 ppm. B) Expansão do espectro na região de ${}^{13}\text{C}$ – 15,0-46,0
ppm; ¹ H – 1.0-2,0 ppm107
Figura 19. A) Expansão do espectro de HMBC do extrato de machos de L. longipalpis na
região de ¹³ C – 115,0-145,0 ppm; ¹ H – 0,8-3,2 ppm. B) Expansão do espectro na região
de 13 C 115,0-145,0 ppm; 1 H – 0,8-3,2 ppm. C) Expansão do espectro na região de 13C –
15-40 ppm; 1H – 5,25-5,60 ppm107
Figure 20 Correlaçãos dos dados da COSV (A) a HMPC (P) 100
Figura 20. Conclações dos dados de COS I (A) e HIVIDC (B)109
Figura 21. Estimuta do 4,6,12,15,15- Pelitametriolecio[9.5.1]pentadeca-5,6,11-
Figure 22 (A) Espectre NOE de extrete des maches de L. longinalnis (P) Espectre
diferencial com pulso para H 0 (8 5 50 ppm); (C) Espectro diferencial com pulso para H
2 (8 5 54 nnm)
5 (0 5,54 ppiii)
A 2 12 15 15 Dentematilhicialo[0,2,1]montedada 2,2,11 triano 112
Figure 24 Pote retrossintático para a obtanção do verticilano, foromônio de <i>I</i>
Figura 24. Rota retrossintetica para a obtenção do verticheno, teromonio de <i>L.</i>
Figure 25 Espectros de PMN 1 H (A) e 13 C (B) de bipoclorite de t butile 114
Figura 25. Espectitos de Kivity II (A) e C (B) do impocionito de <i>t</i> -butila
Figura 20. Reação do Geraniol Com o Impociónio de <i>i</i> -butha
Figura 27. Reação de acethação do Geramon
Figura 20. Espectro de RMN ⁻¹ H do acetato de (<i>E</i>)-6-Cloro-3 7-dimetilocta-2 7-
dienila
Figura 30 Espectro de RMN ¹ H do (E)-3 7-Dimetilocta-2 7-dienol
Figura 31 Espectro de RMN ¹ H do Brometo de (E)-3.7-dimetilocta-2.7-
dienila
Figura 32. Exemplo de mecanismo de alquilação a carbonila com enolato como
intermediário
Figura 33. A) Espectro de RMN ¹ H da (E) -6- $(3.7-Dimetilocta-2.7-dienil)$ -3-Isobutoxi-2-
cicloexenona. B) Expansão do espectro na região de 1.8-2.7 ppm
Figura 34. Espectro de RMN ¹³ C da (E)-6-(3.7-Dimetilocta-2.7-dienil)-3-Isobutoxi-2-
cicloexenona
Figura 35. Mecanismo da reacão de formação da (<i>E</i>)-4-(3.7-Dimetilocta-2.7-dienil)-3-metil-
2-cicloexenona
Figura 36. Espectro de RMN ¹ H da (<i>E</i>)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-
cicloexenona
Figura 37. Espectro de RMN ¹³ C da (<i>E</i>)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-
cicloexenona
Figura 38. Rota inicialmente proposta para a formação da (<i>E</i>)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-
dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona
Figura 39. Cicloexanonas formadas nas primeiras tentativas de alguilação127
Figura 40. Reação de formação da (<i>E</i>)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-
cicloexanona

-

Figura 41. Mecanismo da reação de formação da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimeti	locta-
2,7-dienil)-cicloexanona	128
Figura 42. A) Espectro de RMN ¹ H da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-d	lienil)-
cicloexanona. B) Expansão do espectro na região de 0,8-2,5 ppm	129
Figura 43. Espectro de RMN ¹³ C da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dimetilocta-	nil)-
cicloexanona	129
Figura 44. Ciclo catalítico da reação de RCM	131
Figura 45. Estruturas dos catalisadores usados nas reações de metátese	132
Figura 46. Reação de formação da 4,8,15,15-Tetrametilbiclo[9.3.1]pentadeca-3,8-dien	n-12-
ona	132
Figura 47. Estrutura da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexar	nona
com os substituintes em posição equatorial (A) e axial (B)	133

CAPÍTULO III

Figura 1. Metodologia para a síntese da Metilbutil-2-metilbutilamida, usando o Clo	oreto de 2-
metilbutanoila como intermediário	158
Figura 2. Metodologia para a síntese do Frianol	158
Figura 3. Mecanismo da reação de formação do Frianol	159
Figura 4. Cromatograma do produto da reação de formação do Frianol	159
Figura 5. Espectro de massas do produto da reação de formação do Frianol	160
Figura 6. Proposta de fragmentação do Frianol	160

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais insetos e ácaros associado à cultura do caju no Brasil	18
Tabela 2. Compostos registrados no MAPA para controle de pragas e doenças relaci	onadas à
cajucultura	21
Tabela 3. Principais classes de semioquímicos relacionadas aos tipos de sinais que g	eram24
Tabela 4. Dados de ¹ H e ¹³ C do Acetato de 9-decenila	43
Tabela 5. Dados de ¹ H e ¹³ C do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.	53
Tabela 6. Dados de ¹ H e ¹³ C do 7-Decin-1-ol.	56
Tabela 7. Dados de ¹ H e ¹³ C do álcool	62
Tabela 8. Dados de RMN 1H e 13C do Acetato de (E)-7-Decenila	68
Tabela 1. Dados de HSQC do extrato dos machos de L. longipalpis (em ppm)	
Tabela 2. Dados de COSY do extrato dos machos de L. longipalpis (em ppm)	
Tabela 3. Dados de COSY, HSQC e HMBC do extrato de machos de L. longipalpis	(em
ppm)	
Tabela 4. Dados de NOE diferencial com pulsos em 5,50 e 5,54 ppm	
Tabela 5. Dados de RMN 1H e 13C da (E)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoz	xi-2-
cicloexenona	
Tabela 6. Dados de RMN 1H e 13C da (E)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-	
cicloexenona	
Tabela 7. Dados de RMN ¹ H e ¹³ C da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dimetiloc	dienil)-
cicloexanona	131

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
Síntese dos feromônios sexuais da traça das castanhas, Anacampsis phytomiella (Lepidop	otera:
Gelechiidae)	15
1. REVISÃO DA LITERATURA	16
1.1 Cajucultura	16
1.2 Insetos pragas da cultura do caju	
1.3 Uso de Feromônios no Controle de pragas	23
2. OBJETIVOS	29
2.1 GERAL	29
2.2 ESPECÍFICOS	29
3. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 CONSIDERAÇÕES INCIAIS	
3.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS	
3.3 SÍNTESE DOS FEROMÔNIOS	
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1 Síntese do Acetato de 9-decenila	
4.2 Preparação do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano	43
4.3 Preparação dos Acetatos (E/Z) de 7-decenila	
4.4 Síntese do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano	
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	73
6. REFERÊNCIAS	74
CAPÍTULO II	77
Elucidação estrutural e síntese do feromônio sexual de Lutzomyia longipalpis	77
1. REVISÃO DA LITERATURA	
1.1 LEISHMANIOSE VISCERAL	78
1.2 Lutzomyia longipalpis	
2. OBJETIVOS	
2.1 GERAL	
2.2 ESPECÍFICOS	
3. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 CONSIDERAÇÕES INCIAIS	
3.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS	
3.3. COLETA DOS INSETOS E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS	
3.4 SÍNTESE DOS COMPOSTOS	

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
4.1 IDENTENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DE L. longipalpis	97
4.2 SÍNTESE DO FEROMÔNIO DE L. longipalpis	
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	135
6. REFERÊNCIAS	136
CAPÍTULO III	140
Metodologia para a Síntese do feromônio sexual do besouro da raiz da cana-de-açúo fryanus (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)	car <i>, Migdolus</i> 140
PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER	146
CAMPO DE ATUAÇÃO	149
ESTADO DA TÉCNICA	150
DESCRIÇÃO DA TÉCNICA	152
RESULTADOS OBTIDOS	153
DESCRIÇÃO DAS FIGURAS	154
VANTAGENS DA PATENTE	155
REIVINDICAÇÕES	156
DESENHOS	158
RESUMO	161
ABSTRACT	

CAPÍTULO I

Síntese dos feromônios sexuais da traça das castanhas, *Anacampsis phytomiella* (Lepidoptera: Gelechiidae)

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Cajucultura

O cajueiro (*Anacardium occidentale*) é uma árvore frutífera nativa do Brasil, pertencente à família Anacardiaceae, que produz um fruto rico em nutrientes. É uma planta xerófila, capaz de sobreviver em condições de grande aridez, perene, mesmo durante períodos prolongados de seca. Na região Nordeste do país, as árvores vegetam durante o inverno e frutificam no verão, quando as chuvas são escassas. As brotações podem apresentar sazonalidade diferente em regiões com regime pluvial mais distribuído durante o ano. Normalmente, a brotação ocorre no final do período chuvoso ou no início do período seco, imediatamente antes da floração (MELO; BLEICHER, 1998).

O caju é composto da castanha e do pedúnculo, também chamado de falso fruto. A partir do caju in natura (pedúnculo), grande quantidade de produtos é obtida, seja por meio do processamento industrial ou da culinária caseira. A produção de suco, geleias e licores, além da comercialização de castanhas torradas representam uma importante fonte de renda para populações rurais. A amêndoa, obtida a partir do processamento da castanha, é o principal produto da industrialização do caju e é extensamente exportada, sobretudo para os Estados Unidos, a Europa e o Japão (FREIRE et al, 2002).

O agronegócio do caju movimenta bilhões de dólares por ano e, no Brasil, a safra de 2015 teve aproximadamente 586 mil hectares plantados, com uma produção de castanhas superior a 104 mil toneladas em 2015. A região Nordeste concentra quase todo o cultivo no Brasil (Figura 1A) e os estados do Piauí, Rio Grande do Norte e Ceará se destacam como maiores produtores (Figura 1B). (CONAB, 2016)

Figura 1. Produção de castanhas de caju *in natura*, safra 2014/2015 (em toneladas). A) Distribuição por região do país; B) Distribuição por estado.



Fonte: CONAB, 2016

Apesar de o cajueiro ser nativo do Brasil, o país não é o maior produtor de castanhas do mundo. A Índia lidera o ranking, com uma produção em 2014 de cerca de 164 mil toneladas, seguida pelo Vietnam e pela Costa do Marfim (INC, 2015).

Os pomares de caju, sobretudo em pequenas plantações, ocupam áreas heterogêneas de altas árvores não podadas e com pouco manejo. Aliado a isto, a concentração dos cultivos em regiões carentes de países tropicais, torna a cultura susceptível ao ataque de doenças e pragas. As doenças mais comuns que acometem a espécie *A. occidentale* estão associadas ao ataque de fungo. A antracnose é a mais importante, mas outras infecções fúngicas, como o mofo-preto, também trazem danos às lavouras (FREIRE et al, 2002). Além destas patologias, os insetos causam danos devastadores ao cajueiro.

1.2 Insetos pragas da cultura do caju

Existem cerca de cem espécies de insetos e ácaros associados ao cajueiro registrados no país. As pragas que prejudicam o cajueiro podem ser reunidas em grupos distintos, a depender das partes da planta as quais atacam: 1. Pragas desfolhadoras; 2. Pragas que atacam os ramos; 3. Insetos que atacam a gema apical; 4. Insetos que atacam inflorescências; 5. Pragas dos pseudofrutos e frutos; 6. Pragas dos frutos; 7. Insetos que atacam o tronco; 8. Insetos que atacam a raiz; 9. Pragas que atacam a castanha e/ou a amêndoa; e 10. Ácaros (MELO; BLEICHER, 1998). A tabela 1 relaciona as pragas mais frequentes encontradas na cultura do caju.

Nome Popular	Nome científico	
Insetos que atacam as folhas		
Lagarta-véu-de-noiva	Thagona sp.	
Lagarta-dos-cafezais	Eacles imperialis magnifica	
Lagarta-saia-justa	Cicinnus callipius	
Lagarta-verde	Cerodirphia rubripes	
Lagarta-de-fogo	Megalopyge lanata	
Lagarta-ligadora	Stenoma sp.	
Bicho-mineiro-do-cajueiro	Phyllocnistis sp.	
Besouro-vermelho-do-cajueiro	Crimissa cruralis	
Mané-magro ou bicho-pau	Stiphra robusta	
Cecídia ou verruga-das-folhas	Contarinia sp.	
Mosca-branca	Aleurodicus cocois	
Besouro Colaspis bicolor	Colaspis bicolor	
Insetos que atacam os ramos		
Serrador ou serra-pau Oncideres sp.		
Besouro Psiloptera sp.	Psiloptera sp.	
Insetos que atacam a gema apical		
Larva-do-broto-terminal Contarinia sp.		
Insetos que ataca	m inflorescências	
Broca-das-pontas-do-cajueiro	Anthistarcha binocularis	
Pulgão-das-inflorescências	Aphis gossypii	
Tripes	Selenothrips rubrocinctus	
Cigarrinha-da-inflorescência Gypona sp.		
Insetos que atacam os pseudofrutos e frutos		
Percevejo Sphictyrtus chryseis	Sphictyrtus chryseis	
Percevejo Crinocerus sanctus	Crinocerus sanctus	
Percevejo Leptoglossus stigma	Leptoglossus stigma	
Irapuá	Trigona spinipes	
Pulgão-da-inflorescência	Aphis gossypii	
Tripes-da-cinta-vermelha	Selenothrips rubrocinctus	

Tabela 1. Principais insetos e ácaros associado à cultura do caju no Brasil.

Insetos que atacam os frutos		
Traça das castanhas	Anacampsis sp.	
Percevejo Sphictyrtus chryseis	Sphictyrtus chryseis	
Percevejo Crinocerus sanctus	Crinocerus sanctus	
Percevejo Leptoglossus stigma	Leptoglossus stigma	
Pulgão-da-inflorescência	Aphis gossypii	
Tripes-da-cinta-vermelha	Selenothrips rubrocinctus	
Insetos que atacam o tronco		
Broca-do-tronco Marshallius anacardii		
Insetos que atacam a raiz		
Broca da raiz Marshallius bondari		
Insetos que atacam a castanha e/ou a amêndoa		
Caruncho-das-tulhas Araecerus fasciculatus		
Besouro-castanho	-castanho Tribolium castaneum	
raça indiana Plodia interpunctella		
Ácaros		
Ácaro-amarelo	Tenuipalpus anacardii	
Ácaro-das-flores	Eryophyes rossettonis	

Fonte: MELO; BLEICHER, 1998.

A renda gerada pela cajucultura, em particular para pequenos produtores, representa uma alternativa para famílias em regiões de pouco desenvolvidas no Nordeste brasileiro. Esta renda é, contudo, ameaçada pela baixa produtividade da castanha de caju. Enquanto os países líderes atingem produtividade acima de 1.000 kg de castanha/ha (INC, 2016), o Brasil produziu menos de 180 kg de castanha/ha em 2015 (CONAB, 2016). O ataque de pragas, associado ao baixo nível tecnológico empregado nos cultivos (FREITAS et al, 2014), contribui para esta produtividade reduzida. Dentre estas pragas, destaca-se a traça das castanhas, *Anacampsis cf. phytomiella*, considerada a principal causa de danos durante o período de frutificação do cajueiro (MESQUITA; SOBRINHO, 2013).

1.2.1 Anacampsis phytomiella

A traça das castanhas, *Anacampsis phytomiella* (Lepidoptera: Gelechiidae), é nativa do Brasil e foi descrita pela primeira vez em 1982, no município de São Benedito, no Ceará e hoje também é encontrada nos estados do Rio Grande do Norte e Piauí (MESQUITA; BECKER; SOBRINHO, 1998). Fora do país, o único registro da espécie foi feito no Panamá. (LEE; MERCADO, 2016)

A. phytomiella é um microlepidóptero que mede cerca de 13 mm de envergadura. O adulto apresenta tonalidade escura, com pequenas áreas claras nas asas. Próximo à fase de pupa, a lagarta mede 12 mm de comprimento e tem coloração rosa clara com a cabeça preta. A oviposição é feita nos frutos jovens e a lagarta penetra na castanha jovem (maturi), destruindo a amêndoa no interior do fruto (MESQUITA et al, 2006; SOBRINHO, CARDOSO; FREIRE, 1998; MESQUITA; SOBRINHO, 2013). A figura 2 mostra os danos causados pela traça à castanha.

Figura 2. Danos causados por *A. phytomiella* à castanha. A) Larvas no interior da castanha; B) Orifício de saída da praga na castanha.



http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/caju/arvore/CONT000fyra9xch02wx5ok0pvo4k37fj97ni.html

Pode-se notar na figura 2A que a castanha parasitada perde por completo sua integridade e, por conseguinte, seu valor comercial. No início do ataque pela traça, no entanto, não indícios do parasitismo, a oviposição não deixa vestígios da penetração, quando o orifício circular (Figura 2B) é detectado o dano à amêndoa já é irreversível. (SOBRINHO; CARDOSO; FREIRE, 1998)

Nos últimos anos, tem sido observado mudanças comportamento na praga, que, além de destruir a amêndoa, passou a bloquear a parte central das novas brotações, antes do início do período de frutificação do cajueiro, aumentando ainda mais os danos causados. Não se

conhece até o momento, um hospedeiro alternativo da traça das castanhas. (MESQUITA; SOBRINHO, 2013)

As traças passam os estágios iniciais de seu desenvolvimento no interior da castanha, o que, aliado à dificuldade de detecção antes da fase adulta, torna o controle da praga um desafio.

1.2.2 Controle de A. phytomiella

Os agrotóxicos continuam sendo os principais recursos utilizados para o controle pragas agrícolas, contudo, formas alternativas de combate têm sido buscadas, visando reduzir o risco imposto à saúde humana, manter qualidade do meio ambiente e produzir alimentos livres de agrotóxicos (GOULART et al, 2015), sobretudo em produtos usualmente consumidos *in natura*, como o caju. A tabela 2 relaciona os produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) destinados ao combate de pragas e doenças relacionadas à espécie *A. Occidentale*.

Nome Comum	Classe Química	Classe(s)
Deltametrina	Piretroide	Formicida/Inseticida
Triclorfom	Organofosforado	Acaricida/Inseticida
Enxofre	Inorgânico	Acaricida/Fungicida
Eugenol-Metílico	Éter Aromático	Feromônio
Hidróxido de Cobre	Inorgânico	Bactericida/Fungicida
Oxicloreto de Cobre	Inorgânico	Bactericida/Fungicida
Óxido Cuproso	Inorgânico	Bactericida/Fungicida
Sulfato de Cobre	Inorgânico	Bactericida/Fungicida

 Tabela 2. Compostos registrados no MAPA para controle de pragas e doenças relacionadas à cajucultura.

Fonte: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons

Os pesticidas usados na cultura do caju, e em diversas outras árvores frutíferas tropicais, pertencem às classes dos Piretroides e dos Organofosforados e são aplicados nas partes aéreas da planta (MAPA, 2016). A figura 3 mostra as estruturas dos inseticidas Deltametrina (1) e Triclorfom (2).

Figura 3. Estruturas dos inseticidas usados na cultura do caju no Brasil. A) Deltametrina (1); B) Triclorfom (2).



As duas classes de compostos atuam no sistema nervoso central. Os Organofosforados inibem a ação da Acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável por metabolizar o neurotransmissor Acetilcolina (ACh). O Triclorfom reage com a enzima, e esta, depois de fosforilada, não é mais capaz de hidrolisar a ACh, que acumula na sinapse ou na junção neuromuscular, levando à sua hiperatividade e, por fim, ao colapso do sistema nervoso. (FUKUTO, 1990)

Os piretroides são pesticidas sintéticos derivados estruturais das piretrinas, compostos naturais com conhecida atividade inseticida (DAVIES et al, 2007). Eles atuam modificando a cinética dos canais de sódio sensíveis a voltagem, responsáveis por mediar a permeabilidade transiente ao sódio da membrana celular nervosa, o que culmina na paralisia dos sistemas nervosos Central e Periférico. (SODERLUND et al, 2002)

Os mecanismos de ação dos inseticidas citados os tornam eficazes contra diversas espécies de pragas e por isso são usados em várias culturas tropicais. Contudo, o que os faz tão eficientes contra os insetos, torna-os prejudiciais à saúde humana. Os compostos pertencentes a ambas as classes são absorvidos através dos pulmões ou da pele e são tóxicos aos mamíferos, sobretudo com exposição prolongada. Os Organofosforados apresentam um fator de risco adicional, quando absorvido, atravessam a barreira hematoencefálica e se acumulam, levando a danos crônicos do sistema nervoso, além da toxicidade aguda. (VIJVERBERG; VAN DEN BERCKEN, 1990; SODERLUND et al, 2002; DAVIES et al, 2007; DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D., 2009)

Além do controle químico, inimigos naturais também auxiliam no combate à traça das castanhas. O mais comumente encontrado é o parasitoide *Brachymeria sp.* (Hymenoptera: Calcididae), que ataca as larvas de *A. phytomiella* (MESQUITA; SOBRINHO, 2013). Há ainda espécies de Bracon sp., que parasitam a traça na fase de pupa. O controle biológico, no entanto,

ainda é coadjuvante no combate à praga e não é suficiente para reduzir significativamente o uso dos agrotóxicos. (MESQUITA; FANCELLI; SOBRINHO, 2009)

Os métodos atuais utilizados para restringir a incidência da praga na cultura elevam os custos de produção e geram risco de contaminação do ambiente e dos frutos. No planejamento para a redução do número de insetos presentes em determinada área, técnicas alternativas de controle devem ser buscadas. Neste contexto, o uso de semioquímicos, especialmente de feromônios, que atuam no comportamento dos indivíduos, torna-se extremamente interessante (PICKETT et al, 2014).

1.3 Uso de Feromônios no Controle de pragas

A produção e a liberação de compostos químicos representam papéis cruciais na forma como os insetos se relacionam com o ambiente e com outros indivíduos. Estes compostos, responsáveis por desencadear um comportamento específico no indivíduo receptor, são chamados de semioquímicos. Estes podem ser divididos em compostos que transmitem informação em relações intraespecíficas, os feromônios, e os que envolvem indivíduos de espécies diferentes, os aleloquímicos. (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009; GOULART et al, 2015).

Na comunicação entre espécies distintas, o sinal gerado pelo aleloquímico pode trazer benefício a ambas, sendo conhecido como sinomônio, ou pode beneficiar um organismo e prejudicar outro. Quando o semioquímico favorece a quem emite o sinal ele é chamado de alomônio e quando favorece a quem o recebe, de cairomônio. No caso dos feromônios, os compostos liberados transmitem deferentes tipos de informação, como sinais relacionados à presença de alimento ou de parceiros para acasalamento. (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009; GOULART et al, 2015). A tabela 3 mostra as classes de semioquímicos existentes e as relações entres os emissores e os receptores do sinal.

Aleloquímicos – comunicação interespecífica	
Alomônios	O sinal liberado beneficia o emissor e
	prejudica o receptor
Cairomônios	O sinal liberado beneficia o receptor e
	prejudica o emissor
Sinomônios	Ambos são beneficiados
Feromônios – comunicação intraespecífica	
Sexuais	Liberados para atrair o sexo oposto para
	acasalar
Trilha	Demarcam o espaço, indicando o caminho
	para os demais indivíduos
Agregação	Atraem ambos os sexos para determinado
	local, geralmente indicando fonte de
	alimento
Alarme	Liberado para indicar perigo. Associado à
	presença de predadores.

Tabela 3. Principais classes de semioquímicos relacionadas aos tipos de sinais que geram.

Existem diversas estratégias de uso dos semioquímicos no controle de artrópodes que atacam culturas agrícolas. As principais delas são: Monitoramento – armadilhas são distribuídas na plantação, o número de insetos capturados por armadilha é monitorado e quando o limite, que varia a depender da espécie e da cultura, é atingido o controle com inseticidas é empregado; Coleta massal – captura-se o máximo possível de insetos, de forma a reduzir sua população e, por conseguinte, o dano causado à lavoura; Atrai e mata – o feromônio é usado concomitantemente ao inseticida; Confusão sexual – grande quantidade de feromônio sexual é liberada, de forma a confundir o inseto, que não localiza seu respectivo parceiro, reduzindo a sua proliferação; *Push-pull* – esta técnica combina o uso de repelentes em meio à plantação, que afastam a praga da cultura, com as armadilhas posicionadas no exterior da área, aumentando a eficiência de captura. (COOK; KHAN; PICKETT, 2007; GOULART ET AL, 2015)

Apesar do elevado número de possibilidades na aplicação de semioquímicos para o combate a artrópodes que infestam culturas agrícolas, uso de feromônios sexuais atrai maior

atenção de pesquisadores e produtores (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009). O desenvolvimento de estratégias alternativas, como a junção do uso de feromônios e de inimigos naturais, de forma a reduzir a aplicação de agrotóxicos e o impacto socioeconômico e ambiental, é indispensável para a manutenção da agricultura no mundo. Este tipo de estratégia, conhecida como Manejo Integrado de Pragas (MIP), visa elevar a produtividade da cultura de forma sustentável (COOK; KHAN; PICKETT, 2007). Com isto, a necessidade de pesquisas relacionada aos feromônios sexuais de insetos continua elevada.

1.3.1 Feromônios sexuais de Lepidópteros

Entre os diversos feromônios produzidos por lepidópteros, álcoois primários e seus derivados, sobretudo acetatos e aldeídos, de cadeia longa (C_{10} - C_{18}) representam cerca de 75% dos compostos já identificados. A predominância de cadeias lineares com números pares de átomos de carbono se deve à biossíntese destes compostos, que têm como material de partida ácidos graxos de cadeia longa, sobretudo os ácidos palmítico (C18) e esteárico (C16) (Figura 4) (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2004)

Figura 4. Estruturas dos principais precursores dos feromônios de lepidópteros. A) Ácido Palmítico (3); B) Ácido Esteárico (4).



Estes dois compostos são formados a partir da via comum de biossíntese de ácidos graxos, através da ação das enzimas Acetil-Coenzima A carboxilase e ácido graxo sintase. Os ácidos saturados formados, depois de sofrer a ação de dessaturases que introduzem as duplas ligações nas posições específicas, são reduzidos aos álcoois correspondentes. Por fim, os álcoois podem ser acetilados por acetil transferases ou oxidados a aldeídos. (TILLMAN, 1999; JURENKA, 2004; MORGAN, 2004)

Para que os feromônios possam ser usados no campo é necessário que sejam identificados e sintetizados em larga escala.

1.3.2 Síntese de Feromônios sexuais de Lepidópteros

Uma das premissas para a construção de uma rota sintética de feromônios a serem usados no MIP, sobretudo visando beneficiar os produtores de médio e o pequeno porte, é que o produto seja economicamente viável. Para que isto aconteça, é necessário encontrar materiais de partida com preço acessível e metodologias capazes de produzir o composto em quantidade comercial. (GOULART et al, 2015)

Na síntese de feromônios de lepidópteros, os ω -Bromo-1-álcoois têm se mostrado síntons bastante versáteis para a construção de cadeias carbônicas de comprimentos variados. Além do alongamento da cadeia, é possível introduzir insaturações em posições específicas, através do acoplamento do haleto com um alcino. A ligação tripla pode ser reduzida a uma ligação dupla de configuração conhecida (*E/Z*). O álcool insaturado pode, por fim, ser oxidado a aldeído ou acetilado (MORI, 2004). A figura 5 exemplifica um esquema geral para a síntese dos feromônios de lepidópteros.

Figura 5. Esquema geral para a síntese de feromônios de lepidópteros a partir de bromoálcoois protegidos. a) Acoplamento com alcino; b) Redução parcial da ligação tripla; c) Desproteção da hidroxila; d) Oxidação do álcool a aldeído; e) Acetilação.



A rota descrita na figura 5 inicia com a reação entre o alcino, desprotonado por uma base (n-Butil-Lítio, nBuLi), e o bromoálcool. A hidroxila deve ser previamente protegida para evitar a reação entre esta e o nBuLi. No presente exemplo, o Tetraidropiranil (THP) é usado como grupo (WUTS; GREENE, 2007). Depois do acoplamento, a ligação tripla sofre redução catalítica estereosseletiva usando o catalisador de Lindlar, levando à dupla ligação com configuração *Z* (LINDLAR, 1952). O passo seguinte, uma reação de desproteção com Ácido p-toluenossulfônico (TsOH) leva ao álcool (WUTS; GREENE, 2007). Este, por sua vez, dá origem ao aldeído, através de oxidação com Clorocromato de piridina (PCC), ou ao acetato, após reação com anidrido acético em presença de piridina (MORI, 2004).

O procedimento apresentado fornece uma visão geral da síntese de feromônios monoinsaturados. Com algumas adaptações, pode também ser usado na síntese de compostos com configuração *E* da ligação dupla (MAGOON; SLAUGH, 1967) e com mais de uma insaturação (PUIGMARTÍ; BOSCH; GUERRERO, 2015).

1.3.3 Feromônios sexuais de Anacampsis phytomiella

Não há, até o momento, registro de feromônios sexuais associados à traça das castanhas na literatura. Birkett e colaboradores, em estudo ainda não publicado, encontraram voláteis liberados por fêmeas da espécie *A. phytomiella* que demonstraram atividade atrativa frente a machos submetidos a ensaios em laboratório. As análises iniciais dos pesquisadores sugerem que os compostos Acetato de 9-decenila (5), Acetato de (E)-7-decenila (6), Acetato de (Z)-7-decenila (7), Acetato de (E)-7,9-decadienila (8) e Acetato de (Z)-7,9-decadienila (9) são os prováveis responsáveis pela atividade encontrada. A figura 6 mostra as estruturas dos compostos citados.

Figura 6. Estruturas dos prováveis feromônios sexuais da espécie Anacampsis Phytomiella.



Diante do exposto, visando confirmar a identidade dos feromônios sexuais de *A*. *phytomiella*, faz-se necessária a síntese destes compostos e a confirmação de suas atividades biológicas. Por fim, espera-se que estas moléculas possam ser produzidas e usadas no controle populacional da traça das castanhas.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Desenvolver metodologias sintéticas economicamente viáveis para a síntese dos feromônios sexuais da traça das castanhas, *A. phytomiella*.

2.2 ESPECÍFICOS

- 1. Desenvolver metodologia sintética para a preparação do Acetato de 9-decenila;
- 2. Desenvolver metodologia sintética para a preparação do Acetato de (E)-7-decenila;
- 3. Desenvolver metodologia sintética para a preparação do Acetato de (Z)-7-decenila;
- 4. Desenvolver metodologia sintética para a preparação do Acetato de (E)-7,9decadienila;
- 5. Desenvolver metodologia sintética para a preparação do Acetato de (Z)-7,9decadienila.

3.1.1 Reagentes, Solventes e Vidrarias

As vidrarias foram pré-aquecidas em estufa a 150°C e resfriadas em dessecadores antes do uso. Quando necessário, os solventes (grau PA) utilizados foram secos sob refluxo, usando: Sódio metálico (Na) e Benzofena como indicador (para o Tetraidrofurano, THF) ou Hidreto de Cálcio (CaH₂) (para o Diclorometano, DCM).

3. PARTE EXPERIMENTAL 3.1 CONSIDERAÇÕES INCIAIS

A síntese dos feromônios de *Anacampsis cf. phytomiella* aqui descrita foi realizada no Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) sob a orientação do Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana.

3.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e em Coluna

As placas cromatográficas utilizadas (Merck do tipo AL TLC 20x20 cm Sílica-gel 60 F254) foram eluídas com Hexano, Acetato de etila (ActOEt) ou misturas destes solventes em diferentes proporções. A purificação dos produtos reacionais foi feita em colunas cromatográficas (Merck Sílica-gel 60-240 Mesh) sob pressão atmosférica, usando os mesmos solventes descritos para as CCDs. As placas foram reveladas com solução de Sulfato Cérico ou de Vanilina Sulfúrica.

3.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

3.2.1 Cromatrogafia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

Utilizou-se um cromatrógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A. Foi utilizado Hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1 mL.min-¹. A espectrometria de massas foi realizada em um aparelho Shimadzu, modelo GCMS-QP5050A acoplado ao cromatógrafo gasoso. Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico (IE) a 70 eV.

3.3.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os experimentos de RMN foram realizados em solução de Clorofórmio deuterado (CDC ℓ_3) em equipamento Bruker Avance 400 (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C) no Núcleo de Análises e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) da UFAL. O deslocamento químico (δ) foi expresso em ppm, usando Tetrametilsilano (TMS) ou o Hidrogênio residual do CDC ℓ_3 como padrão interno.

3.3 SÍNTESE DOS FEROMÔNIOS

A Figura 7 mostra as rotas empregadas na síntese dos feromônios de A. phytomiella.



Figura 7. Esquema geral para a síntese dos feromônios de A. phytomiella.

O acetato de 9-decenila foi obtido em uma única etapa. Para os demais feromônios, um mesmo composto foi usado como material de partida.

3.3.1 Acetato de 9-decenila (5)



O 9-decen-1-ol (10) (1 g; 6,4 mmol) foi solubilizado em Acetato de vinila (10 mL) à temperatura ambiente e mantido sob agitação magnética. A Lipase (0,1 g; 10%) foi adicionada e a reação foi acompanhada por CCD.

A mistura foi filtrada para a remoção da lipase e concentrada em evaporador rotatório.

Rendimento: 90 % (1,140 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,28-1,41 (m, 8 H); 1,56-1,66 (m, 4 H); 2,06 (m, 2 H); 2,07 (s, 3 H); 4,05 (t, 2 H, J = 6,76 Hz); 4,93 e 5,02 (dd, 2 H, J = 9,93 e 17,15 Hz); 5,82 (ddd, 1 H, J = 6,92, 9,93 e 17,15 Hz)

RMN ¹³C (em ppm): 21,00; 25,88; 28,59; 28,87; 29,00; 29,17; 29,32; 33,76; 64,64; 114,15; 139,15; 170,10.

CG/EM (m/z): 199 (M+1); 183; 138; 123; 109; 96; 81; 67; 55; 43 (100 %).

3.3.2 6-Bromo-1-hexanol (12)



O 1,6-Hexanodiol (11) (11,817 g; 10 mmol; 1 eq.) foi dissolvido em Iso-octano (300 mL) à temperatura ambiente e mantido sob agitação magnética. Ácido bromídrico (HBr) (22,6 mL; 20 mmol; 2 eq.) foi adicionado, a temperatura foi elevada (110 °C) e a mistura foi mantida sob refluxo por 4 horas.

A mistura foi mantida à temperatura ambiente e o HBr, neutralizado com uma solução saturada de Bicarbonato de sódio (NaHCO₃ sat.) (50mL). A fase aquosa foi extraída com Isooctano (3 x 50 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com água destilada (100 mL) e solução saturada de Cloreto de sódio (NaCl sat.). O produto foi seco em Sulfato de sódio (Na₂SO₄), filtrado e concentrado em evaporador rotatório.

Rendimento: 82,59 % (17,64 g)

RMN ¹H (δ em ppm): 1,39 (qt, 2H, J = 7,02 Hz); 1,47 (qt, 2H, J = 6,88 Hz); 1,58 (qt, 2H, J = 6,88 Hz); 1,87 (qt, 2H, J = 7,56 HZ); 3,41 (t, 2H, J = 6,78 Hz); 3,65 (t, 2H, J = 6,52 Hz).

RMN ¹³C (δ em ppm): 24,94; 27,94; 32,49; 32,71; 33,86; 62,79.

CG-EM (m/z): 181 (M⁺); 162; 134; 107; 83; 69; 55 (100%); 41

3.3.3 2-(6-bromoexiloxi)-Tetraidropirano (13)



O 6-Bromo-1-hexanol (12) (9,81 g; 54,2 mmol; 1 eq.) foi solubilizado em Diclorometano (50 mL) sob agitação magnética. À solução, foram adicionados Di-idropirano (5,44 mL; 59,62 mmol; 1,1 eq.) e Ácido *p*-toluenossulfônico (TsOH) (alguns cristais). A mistura foi agita à temperatura ambiente por 2 horas e a reação foi acompanhada por CCD.

A mistura foi lavada com NaHCO₃ sat. (3 x 50 mL) e NaCl sat. (50 mL). A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄, filtrada e concentrada em evaporador rotatório.

Rendimento: 88,77 % (12,75 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,35-1,46 (m, 3H); 1,46-1,63 (m, 8H); 1,64-1,8 (2H); 1,8-1,91 (m, 3H); 3,38 (m, 1H); 3,35-3,42 (m, 1H); 3,40 (t, 2H, *J* = 6,85 Hz); 3,47-3,54 (m, 1H); 3,70-3,77 (m, 1 H); 3,83-3,90 (m, 1H); 4,57 (dd, 1H, *J* = 3,94 e 4,00 Hz).

RMN ¹³C (em ppm): 19,69; 25,47; 25,49; 28,00; 29,55; 30,77; 32,75; 33,84; 62,38; 67,40; 98,89.

CG-EM (m/z): 265 (M⁺); 165; 101; 85; 67; 55; 41.

3.3.4 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano (14)



O 1-Butino (1,63 g; 30,188 mmol; 2 eq.) foi inserido em um balão previamente refrigerado (-50 °C) e solubilizado em THF seco (30 mL). Sob atmosfera de N_2 , nBuLi (15,1 mL; 37,735 mmol; 2,5 eq.) foi adicionado gota a gota e a reação foi mantida sob agitação magnética por 1 hora.

Hexametilfosforamida (HMPA) (7,88 mL; 45,282 mmol; 3 eq.) foi adicionado à mistura e a agitação foi mantida por 15 minutos. Uma solução de 2-(6-bromoexiloxi)-Tetraidropirano (4 g; 15,094 mmol; 1 eq.) em THF seco (5 mL) foi adicionada gota a gota. A mistura foi lentamente aquecida até a temperatura ambiente e a reação foi mantida sob agitação por 16 horas.

A mistura foi resfriada até 0 °C e adicionou-se água destilada (60 mL). A fase aquosa foi extraída com ActOEt (3 x 50 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com água destilada (5 x 50 mL) e NaCl sat. (50 mL). A fase orgânica foi seca em Na_2SO_4 , filtrada e concentrada em evaporador rotatório.

Rendimento: 98,5 % (3,54 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,13 (t, 3 H, J = 7,33 Hz); 1,35-1,45 (m, 4H); 1,47-1,66 (m, 8 H); 1,68-1,78 (m, 2 H); 2,16 (t, 4 H, J = 6,84 Hz); 3,41(dd, 1 H, J = 6,89 e 9,40 Hz); 3,51 (m, 1 H) 3,74 (dd, 1 H, J = 6,89 e 9,40 Hz); 3,88 (m, 1 H); 4,59 (dd, 1H, J = 3,00 e 4,03 Hz).

RMN ¹³C (em ppm): 12,34; 14,21; 18,8; 19,70; 25,6; 26,10; 28,50; 29,0; 29,70; 30,7; 62,50; 67,60; 79,56; 81,7; 98,89.

CG/EM (m/z): 237 (M - 1); 209; 165; 139; 121; 107; 95; 85 (100%); 67; 55; 41.




O 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano (14) (3,54 g; 14,874 mmol; 1 eq.) foi solubilizado em Metanol (MeOH) (50 mL) à temperatura ambiente sob agitação magnética. TsOH (2,83 g; 14,874 mmol; 1 eq.) foi adicionado e a mistura foi mantida sob agitação por 3 horas. A reação foi acompanhada por CCD.

À mistura, foi adicionada NaHCO₃ sat. (50 mL). A fase aquosa foi extraída com ActOEt (3 x 50 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com NaHCO₃ sat. (50 mL) e NaCl sat. (50 mL), seca em Na₂SO₄, filtrada e concentrada em evaporador rotatório.

Rendimento: 96,04 % (2,2 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,12 (t, 3 H, *J* = 7,42 Hz); 1,34-1,41 (m, 4H); 1,46-1,52 (m, 2H); 1,59 (qt, 2 H, *J* = 6,80 Hz); 2,15 (t, 2 H, *J* = 7,3 Hz); 2,16 (q, 2 H); 3,65 (t, 2 H, *J* = 6,60 Hz). RMN ¹³C (em ppm): 12,46; 14,4; 18,59; 25,3; 28,5; 29,0; 32,7; 62,96; 79,9; 81,2 CG/EM (m/z): 153 (M-1); 139; 121; 107; 93; 79; 67 (100 %); 55; 41.





O catalizador Lindlar (21 mg; 10 %) e Quinolina (0,15 mL) foram suspensos em MeOH (5 mL) sob agitação magnética e atmosfera de H₂. Uma solução de 7-Decinol (20) (210 mg; 1,364 mmol; 1 eq.) em MeOH (1 mL) foi adicionada à suspensão e a mistura foi agitada por 48 horas. A reação foi acompanhada por CCD.

A mistura foi filtrada em Celite com ActOEt (30 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 30 mL) e NaCl sat. (30 mL). O produto foi seco em Na₂SO₄, filtrado e concentrado em evaporador rotatório.

Rendimento: 79,89 % (170 mg)

RMN ¹H (em ppm): 0,98 (t, 3 H, *J* = 7,5 Hz); 1,32-1,42 (m, 6 H); 1,61 (m, 2 H); 2,02-2,10 (m, 4 H); 3,67 (t, 2 H, *J* = 6,56 Hz); 5,36 (m, 1 H); 5,40 (m, 1 H)

RMN ¹³C (em ppm): 14,36; 20,48; 25,72; 27,08; 27,08; 29,05; 29,78; 32,80;63,20; 129,06; 131,63.

CG/EM (m/z): 156 (M⁺); 138; 129; 109; 95; 82; 67 (100 %); 55; 41.

3.3.7 Acetato de (Z)-7-Decenila (7)



O (Z)-7-Decenol (21) (140 mg; 0,897; 1 eq.) foi dissolvido em Acetato de vinila (5 mL) sob agitação magnética. A Lipase (14 mg; 10 %) foi adicionada e a suspensão foi agitada por 12 horas. A reação foi acompanhada por CCD.

A mistura foi filtrada e concentrada em evaporador rotatório.

Rendimento: 90,09 % (160 mg)

RMN ¹H (em ppm): 0,95 (t, 3 H, *J* = 7,56 Hz); 1,30-1,38 (m, 6 H); 1,99-2,06 (m, 4 H); 2,04 (s, 3 H); 4,05 (t, 3 H, *J* = 6,74 Hz); 5,27-5,40 (m, 2 H).

RMN ¹³C (em ppm): 14,35; 20,50; 20,99; 25,81; 26,95; 28,57; 28,83; 29,58; 64,62; 129,04; 131,71; 173,17.

CG/EM (m/z): 138; 109; 95; 82; 67 (100 %); 55; 43; 41.

3.3.8 (*E*)-7-Decen-1-ol (22)



Para a preparação da Amônia (NH₃): Um balão tritubulado contendo NaOH (20 g) e acoplado a uma coluna de vigreux, preenchida com Óxido de Cálcio (CaO), foi conectado ao balão a ser usado na reação através de uma cânula. Adicionou-se solução saturada de Cloreto de Amônio (NH₄Cl sat.) lentamente.

Amônia (NH₃) foi condensada em um bolão sob refrigeração (-78 °C) contendo Sódio (Na) (1 g) sob agitação magnética e atmosfera de N₂. O 7-Decinol (20) (500 mg; 3,246 mmol; 1 eq.) foi adicionado à mistura e esta foi lentamente aquecida até a temperatura ambiente e a reação foi mantida sob agitação por 16 horas.

A mistura foi resfriada a 0 °C e água destilada (50 mL) foi adicionada lentamente. A fase aquosa foi extraída com ActOEt (3 x 30 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (50 mL) e NaCl sat. (50 mL). O produto foi seco em Na₂SO₄, filtrado e concentrado em evaporador rotatório.

Rendimento: 55,29 % (280 mg)

RMN ¹H (em ppm): 0,98 (t, 3 H, *J* = 7,5 Hz); 1,39 (m, 2 H); 1,39 (m, 2 H); 1,39 (m, 2 H); 1,60 (m, 2 H); 2,00 (m, 2 H); 2,04 (m, 2 H); 3,68 (t, 2 H, *J* = 6,60 Hz); 5,39 (m, 1 H); 5,42 (m, 1 H)

RMN ¹³C (em ppm): 14,40; 20,53; 25,75; 27,00; 29,00; 29,81; 32,80; 63,40; 129,25; 131,90.

CG/EM (m/z): 138; 123; 109; 95; 82; 67 (100 %); 55; 43

3.3.9 Acetato de (E)-7-Decenila (6)



O (*E*)-7-Decenol (22) (140 mg; 0,897; 1 eq.) foi dissolvido em Acetato de vinila (5 mL) sob agitação magnética. A Lipase (14 mg; 10 %) foi adicionada e a suspensão foi agitada por 12 horas. A reação foi acompanhada por CCD.

A mistura foi filtrada e concentrada em evaporador rotatório. O produto foi purificado em coluna cromatográfica.

Rendimento: 76,01 % (135 mg)

RMN ¹H (em ppm): 0,98 (t, 3 H, J = 7,44 Hz); 1,34 (m, 2 H); 1,34 (m, 2 H); 1,34 (m, 2 H); 1,62 (m, 2H); 1,99 (m, 2 H); 1,99 (m, 2 H); 2,06 (s, 3 H); 4,06 (t, 2 H, J = 6,76 Hz); 5,40 (m, 1 H); 5,43 (m, 1 H)

RMN ¹³C (em ppm): 13,99; 25,59; 25,78; 28,56; 28,73; 29,47; 32,43; 64,64; 171,25; 129,10; 132,09; 21,01

CG/EM (m/z): 138; 109; 95; 82; 67 (100 %); 55; 43; 41.





O Acetileto de Lítio, em sua forma complexada com Etilenodiamina, (833,05 mg; 9,048 mmol; 1,2 eq.) foi suspenso em Dimetilsulfóxido (DMSO) seco (5 mL) sob N₂ à temperatura ambiente. Uma solução de 2-(6-bromoexiloxi)-Tetraidropirano (2 g; 7,54 mmol; 1 eq.) em DMSO seco (2 mL) foi adicionada à suspensão e a mistura foi agitada por 4 horas.

A mistura foi resfriada a 0 °C e uma solução de Cloreto de amônio saturada (NH₄Cl sat.) (30 mL) foi adicionada. A fase aquosa foi extraída com ActOEt (3 x 30 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com água destilada (3 x 30 mL) e NaCl sat. (30 mL). A fase orgânica foi seca seco em Na₂SO₄, filtrada e concentrada em evaporador rotatório.

Rendimento: 70,73 % (1,12 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,35-1,48 (m, 4 H); 1,50-1,67 (m, 9 H); 1,85 (m, 1 H); 1,95 (t, 1 H, J = 2,65 Hz); 2,20 (t, 2H, J = 6,85 Hz); 3,40 (dd, 1 H, J = 6,89 e 9,40 Hz); 3,51 (m, 1 H); 3,75 (dd, 1 H, J = 6,89 e 9,40 Hz); 3,88 (m, 1 H); 4,59 (dd, 1H, J = 3,00 e 4,03 Hz)

RMN ¹³C (em ppm):18,34; 19,68; 25,50; 25,76; 28,42; 28,56; 29,60; 30,77; 62,34; 67,52; 68,31; 84,80; 98,90.

CG/EM (m/z): 209 (M-1); 109; 101; 85 (100 %); 67; 55; 41.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Acetato de 9-decenila foi preparado a partir do álcool. Para os demais compostos, um intermediário comum foi sintetizado.

4.1 Síntese do Acetato de 9-decenila (5)



O Acetato de 9-decenila foi preparado em uma etapa, através da reação entre o 9-Decen-1-ol e o com Acetato de vinila, catalisada por enzima (YADAV; TRIVEDI, 2003). A esterificação gerou um único produto, que pode ser visto no cromatograma a seguir (Figura 8A).

Figura 8. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do Acetato de 9-decenila.



O espectro de massas (Figura 8B) apresenta a fragmentação do composto esperado, com picos de m/z 199 (M+1) de baixa intensidade, comum em ésteres, e de m/z 138 devido à perda de CH₃COOH. O espectro apresenta também fragmentos característicos da quebra de cadeias carbônicas lineares, com perda sequencial de grupos CH₂ (m/z 81, 67 e 55). O pico de maior intensidade (Pico Base - PB) em m/z 43 se deve à quebra da ligação σ entre carbono carbonílico e o átomo de oxigênio (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). A confirmação da estrutura foi feita a partir dos dados de RMN analisados a seguir. A figura 9 apresenta o espectro de RMN ¹H do Acetato de 9-decenila.





O espectro (Figura 9) mostra os valores de deslocamento para o composto formado: os sinais dos hidrogênios ligados aos carbonos sp² aparecem em δ 5,02 e 4,93 ppm (dd, 2H, J = 9,93 e 17,15 Hz), referentes aos 2 H vicinais ligados ao C-10, e em 5,82 ppm (ddd, 1H, J = 6,92, 9,93 e 17,15 Hz), devido ao hidrogênio do C-9; o tripleto gerado pelos hidrogênios do C-1, ligado ao oxigênio, é visto em 4,05 ppm (t, 2H, J = 6,76 Hz); a metila do grupo acetato forma um simpleto em 2,07 ppm (s, 3H); e os demais hidrogênios, geram dois multipletos em 1,28-1,41 ppm (m, 8 H) e 1,56-1,66 ppm (m, 4 H). A seguir (Figura 10), observa-se o espectro DEPTQ do Acetato de 9-decenila.



Figura 10. A) Espectro de 13C DEPTQ do Acetato de 9-decenil. B) Expansão do espectro na região de 22-32 ppm.

O experimento DEPTQ aponta os átomos de carbono presentes na molécula de forma particular: metilas (CH₃) e metinos (CH) aparecem acima da linha de base e metilenos (CH₂) e carbonos quaternários, abaixo (BURGER; BIGLER, 1998). A partir do espectro acima (Figura 10), pode-se assinalar a posição de alguns dos carbonos do composto: os carbonos da dupla ligação apresentam δ 139,15 (C-9) e 114,15 ppm (C-10); o carbono da ligação C–O aparece em δ 64,64 ppm; a única metila presente na estrutura tem δ 21,00 ppm; os demais CH₂ são vistos entre 25 e 34 ppm. Os espectros HSQC (Figura 11) e HMBC (Figura 12) permitem associar os carbonos aos hidrogênios aos quais estão ligados e suas posições na molécula, respectivamente.



Figura 11. A) Espectro HSQC do Acetato de 9-decenila. B) Expansão do espectro na região de H (4,6-6,0 ppm) e C (100-150 ppm).

Figura 12. Espectro HMBC do Acetato de 9-decenila.



A partir dos espectros (Figuras 11 e 12) acima pode-se relacionar os sinais de todos os átomos e carbono da molécula (Tabela 4). O experimento de HMBC apresenta maior sensibilidade em relação aos demais e pode, além de estabelecer as posições relativas dos carbonos, mostrar o valor de deslocamento químico da carbonila (δ 170,10 ppm).

Nº	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
1	64,64	4,05 (t, 2H, <i>J</i> = 6,76 Hz)
2	28,87	1,64 (m, 2H)
3	25,88	1,36 (m, 2H)
4	29,32	1,31 (m, 2H)
5	29,17	1,33 (m, 2H)
6	29,00	1,42 (m, 2H)
7	28,59	1,66 (m, 2H)
8	33,76	2,06 (m, 2H)
9	139,15	5,82 (ddd, 1H, <i>J</i> = 6,92, 9,93 e 17,15 Hz)
10	114,15	5,02 e 4,93 (dd, 2H, <i>J</i> = 9,93 e 17,15 Hz)
1'	170,10	-
2'	21,00	2,07 (s, 3H)

Tabela 4. Dados de ¹H e ¹³C do Acetato de 9-decenila.

A técnica de esterificação adotada permitiu sintetizar o Acetato de 9-decenila com alto rendimento (90 %). Além da alta eficiência, o método oferece a vantagem de tanto a enzima quanto o Acetato de vinila podem ser recuperados e utilizados em outras reações.

4.2 Preparação do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano

A estratégia sintética adotada com o intuito de preparar os demais feromônios de *A*. *phytomiella* envolve a preparação do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano, intermediário comum entre eles, que está descrita a seguir.

4.2.1 Síntese do 6-Bromo-1-hexanol (12)



A primeira etapa desta rota consiste na reação de monobromação do 1,6-Hexanodiol com HBr em Iso-octano (CHONG; HEUFT; RABBAT, 2000). A figura 13 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do produto obtido na reação.



Figura 13. Cromatograma (A) e Espectro de massas (B) do 6-Bromo-1-hexanol.

A fragmentação (Figura 13B) do 6-Bromo-1-hexanol (m/z 181, M⁺) inicia com a perda da hidroxila (m/z 164). A partir deste, a saída do bromo leva ao pico de m/z 83 e a perda de grupos metileno dá origem aos fragmentos seguintes (m/z 83, 69, 55, 41).

A figura 14 apresenta o espectro de RMN ¹H do 6-Bromo-1-hexanol.



Figura 14. Espectro de 1RMN do 6-Bromo-1-hexanol.

A interpretação do espectro de RMN ¹H (Figura 14) do 6-Bromo-1-hexanol é bastante simples. O bromo e a hidroxila, ambos grupos retiradores de elétrons, levam à desproteção dos núcleos vizinhos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). Assim, os hidrogênios dos carbonos 1 e 6 apresentam δ 3,65 (t, 2H, J = 6,52 Hz) e 3,41 (t, 2H, J = 6,78 Hz), respectivamente. À medida em que se afastam dos átomos mais eletronegativos, o efeito retirador de elétrons diminui e sinais são encontrados em δ : H-2 - 1,87 ppm (qt, 2H, J =7,56 HZ); H-3 – 1,47 ppm (qt, 2H, J = 6,88 Hz); H-4 – 1,39 ppm (qt, 2H, J = 7,02 Hz); H-5 – 1,58 ppm (qt, 2H, J = 6,88 Hz). A figura 15 mostra o espectro de RMN ¹³C do álcool monobromado.





O espectro de ¹³C do 6-Bromo-1-hexanol (Figura 15) mostra os seis carbonos da estrutura e, assim como acontece com os hidrogênios, o átomo de oxigênio desprotege o carbono ligado a ele e o C-1 tem δ 62,79 ppm. O bromo também exerce efeito sobre o núcleo de carbono, embora muito menor do que no RMN ¹H, e o C-6 aparece em δ 33,86 ppm. Os demais átomos de carbono geram os seguintes sinais (em ppm): 32,71 (C-2); 27,94 (C-3); 24,94 (C-4); 32,49 (C-5).

Os ω -Bromo-1-álcoois são intermediários muito importantes na síntese de feromônios. A síntese deste tipo composto, no entanto, normalmente não é completamente seletiva e o produto da reação consiste na mistura do composto monobromado desejado com o diol e o dibromado (CHONG; HEUFT; RABBAT, 2000). O método aqui descrito usa a diferença de solubilidade entre o material de partida (diol) e o bromoálcool correspondente no solvente orgânico. O produto da substituição de uma das hidroxilas do reagente, agora menos polar, passa para a fase orgânica, evitando a segunda substituição pelo bromo. Assim, foi possível preparar o 6-Bromo-1-hexanol e usado na etapa seguinte sem necessidade de purificação.

4.2.2 Síntese do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano (13)



A proteção da hidroxila do bromoálcool, feita com Di-idropirano (DHP), leva ao éter com o grupo Tetraidropiranil (THP). Esta etapa possibilita usar o composto nas reações de acoplamento subsequentes, nas quais o nBuLi é usado, de forma a evitar que este desprotone a hidroxila (WUTS; GREENE, 2007). O cromatograma (Figura 16) e o espectro de massas (Figura 17) da reação de proteção são mostrados a seguir.



Figura 16. Cromatograma do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano



Figura 17. Espectro de massas do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano.

O espectro de massas do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano (Figura 17) (m/z 265, M⁺) mostra o fragmento de baixa intensidade gerado pela quebra da ligação entre o oxigênio e o C-1' (m/z 163). Ambos os fragmentos dão origem a pares de picos. Isto se deve à abundância relativa entre os dois isótopos de bromo, ⁷⁹Br e ⁸¹Br, ser igual (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). O fragmento de m/z 85 (PB) é característico de éteres de tetraidropiranil. A figura 18 mostra o espectro de RMN ¹H do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano.

Figura 18. A) Espectro de RMN ¹H do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano. B) Expansão do espectro na região de 3,3-3,9 ppm.



A reação de proteção de um álcool com o DHP produz o éter de THP em sua forma racêmica, sendo o C-2 do anel o estereocentro da molécula (WUTS; GREENE, 2007), e a presença do carbono quiral torna os hidrogênios a sua volta diastereotópicos. Isto pode ser notado no espectro de ¹H acima (Figura 18), os hidrogênios dos metilenos próximos ao C-2 não são equivalentes entre si, o que dá origem a deslocamentos químicos e acoplamentos diferentes para cada um: H-6 – 3,35-3,42 (m, 1H) e 3,70-3,77 ppm (m, 1 H); H-1' – 3,47-3,54 (m, 1H) e 3,83-3,90 (m, 1H). O hidrogênio do carbono 2, devido à ação dos dois átomos de oxigênio, apresenta maior valor de δ 4,57 ppm (dd, 1H, *J* = 3,94 e 4,00 Hz) e o sinal do metileno ligado ao Br, 3,40 ppm (t, 2H, *J* = 6,85 Hz) tem pouca variação em relação ao valor encontrado antes da reação de proteção. Os demais hidrogênios da molécula originam multipletos na região de 1,35-1,93 ppm. A figura 19 mostra o espectro DEPTQ do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano.



Figura 19. Espectro DEPTQ do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano.

Como no caso do ¹H, o carbono ligado a dois oxigênios apresenta o maior valor de δ 98,89 ppm, seguido pelos átomos de carbonos ligados a um dos dois, C-6 – 67,40 ppm e C1' – 62,38 ppm, e, novamente, o valor de deslocamento do C-6' (δ 33,84 ppm) não sofre influência considerável do grupo THP.

Uma observação importante acerca desta etapa merece destaque. Inicialmente, usou-se o Cloreto de t-butildimetilsilano (TBDMSCl) como agente protetor. Contudo, apesar da esperada estabilidade deste grupo frente a nucleófilos (WUTS; GREENE, 2007), o composto reagiu com nBuLi e impediu a formação do produto desejado. Assim, optou-se pelo uso do DHP.

4.3 Preparação dos Acetatos (E/Z) de 7-decenila

4.3.1 Síntese do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano (14)



Para a síntese do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano, recorreu-se ao acoplamento do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano, preparado na etapa anterior, com 1-Butino. Os hidrogênios acetilênicos, devido à sua natureza ácida, podem ser removidos por bases ou nucleófilos fortes (BUCK; CHONG, 2001). Neste contexto, o 1-Butino, depois de desprotonado com nBuLi, forma um ânion (acetileto) capaz de reagir com o haleto primário. A figura 20 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do produto reacional.



Figura 20. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.

De forma análoga ao que foi visto no espectro de massas do composto bromado (Figura 17), a fragmentação do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano (m/z 237, M-1) (Figura 20B) tem como pico base o fragmento tetraidropiranil (m/z 85). O espectro mostra também os fragmentos de baixa intensidade referentes à perda de um grupo etil (m/z 209) e do grupo THP-O. A figura 21 mostra o espectro RMN ¹H do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.



Figura 21. Espectro de RMN ¹H do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.

O acoplamento com o 1-Butino leva à substituição do bromo, o que explica a ausência do tripleto em δ 3,40 ppm (Figura 21). Os sinais dos hidrogênios próximos aos átomos de oxigênios (H-2, H-1' e H-6) permanecem nas mesmas regiões vistas anteriormente: H-2 – 4,59 (dd, 1H, *J* = 3,00 e 4,03 Hz); H-1' – 3,88 ppm (m, 1 H) e 3,51 (m, 1 H); H-6 – 3,74 ppm (dd, 1 H, *J* = 6,89 e 9,40 Hz) e 3,41 ppm (dd, 1 H, *J* = 6,89 e 9,40 Hz). O tripleto em δ 2,16 apresenta integração para quatro hidrogênios e corresponde aos dois metilenos (C-6' e C-9') ligados aos carbonos sp. O efeito anisotrópico do sistema de elétrons π da ligação tripla afeta os átomos vizinhos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001) e leva ao maior valor de δ destes núcleos. Pode-se notar ainda a presença da metila em δ 1,13 ppm (t, 3 H, *J* = 7,33 Hz) na posição 10'. A figura 21 mostra ainda um dupleto em δ 2,66 ppm (J = 9,28 Hz) que não faz parte da estrutura do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano. O sinal se deve às metilas do HMPA residual. A estrutura do HMPA, uma fosforamida, forma uma região de alta densidade eletrônica capaz de solvatar o átomo de Lítio ligado ao carbono sp, facilitando sua saída, o que eleva o caráter nucleofílico e a reatividade do acetileto (BRATTESANI; HEATHCOCK, 1973) e, por conseguinte, o rendimento da reação. Devido a estas propriedades, o HMPA costumava ser usado como solvente reacional, no entanto, seu potencial efeito carcinogênico (BUCK; CHONG, 2001; MORI, 2004) tem reduzido sua participação, sendo usado como co-solvente em reações em THF (MORI, 2005), como no método aqui descrito. A figura 22 descreve o mecanismo da reação de acoplamento do 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano com o 1-Butino.

Figura 22. Mecanismo da síntese do2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano, através do acoplamento entre o 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano e o 1-Butino



As figuras 23 e 24 mostram os espectros HSQC e HMBC do 2-(7-Deciniloxi)tetraidropirano, respectivamente.





Figura 24. Espectro HMBC do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.



Novamente, como observado no espectro de hidrogênio, os carbonos da porção tetraidropiranil da molécula, além do C-1' (δ 62,50 ppm), não sofrem influência considerável do acoplamento com o alcino (δ em ppm): C-2 – 98,89; C-3 – 19,70; C-4 – 26,10; C-5 – 29,70; C-6 – 67,60. As metilas do HMPA residual aparecem em δ 36,97 ppm.

O que diferencia estes espectros (Figuras 23 e 24) dos do composto anterior é a parte da molécula em torno da ligação tripla. É possível notar a presença da metila (C-10') em δ 14,21 ppm. Os carbonos sp, que por serem quaternários não geram sinais no espectro HSQC (Figura 23) (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001), aparecem em δ 79,56 e 81,70 ppm (C-7' e C-8', respectivamente) no HMBC (Figura 24). O efeito dos Csp sobre os carbonos α é diferente daquele visto para os hidrogênios: os átomos de carbono diretamente ligados à tripla ligação absorvem entre 5-15 ppm à direita no espectro quando comparados alcanos correspondentes (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). Assim, os dois metilenos ligados à ligação tripla, C-6' e C-9', aparecem em δ 18,80 e 12,34 ppm, respectivamente. A tabela 5 relaciona os valores de deslocamentos químicos de RMN ¹H e ¹³C do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.

Nº	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
2	98,89	4,59 (dd, 1H, <i>J</i> = 3,00 e 4,03 Hz)
3	19,70	1,55 (m)
4	26,10	1,41 (m)
5	29,70	1,62 (m)
6	67,60	3,74 e 3,41 (dd, dd, 1 H, 1 H, <i>J</i> = 6,89 e 9,40 Hz
1'	62,50	3,88 e 3,51 (m)
2'	25,60	1,56 (m)
3'	30,70	1,72 (m)
4'	29,00	1,5 (m)
5'	28,50	1,42 (m)
6'	18,8	2,16 (t, 2H, J = 6,85 Hz)
7'	79,56	-
8'	81,70	-
9'	12,34	2,16 (q, 2 H, <i>J</i> = 6,85 Hz
10'	14,21	1,13 (t, 3 H, J = 7,33 Hz)

Tabela 5. Dados de ¹H e ¹³C do 2-(7-Deciniloxi)-tetraidropirano.

4.3.2 Síntese do 7-Decin-1-ol (20)



O 7-Decin-1-ol foi preparado a partir da reação de desproteção em meio ácido do éter de tetraidropiranil (WUTS; GREENE, 2007) obtido anteriormente. A combinação da praticidade com o alto rendimento desta etapa representa mais uma vantagem do uso do DHP como agente protetor para a hidroxila. A figura 25 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do álcool.



Figura 25. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do 7-Decin-1-ol.

A priori, é possível notar no espectro de massas do 7-Decin-1-ol (Figura 25B) (m/z 153, M-1) a ausência do fragmento referente ao THP (m/z 85). O espectro mostra os picos de baixa intensidade referentes à perda da metila na posição 10 (m/z 139) e, a partir deste, de desidratação (m/z 121). O pico base tem origem pela quebra da ligação α à tripla (C-5–C-6), formando o C₅H₇ (m/z 67). A figura 26 mostra o espectro RMN ¹H do 7-Decin-1-ol.

Figura 26. Espectro de RMN ¹H do 7-Decen-1-ol.



O espectro de RMN ¹H (Figura 26) do álcool, com a saída do grupo protetor, apresenta feição bastante simplificada. A ausência de quiralidade na molécula faz com os dois hidrogênios do carbono 1 voltem a ser equivalentes, dando origem a um único sinal em δ 3,65 ppm (t, 2 H, J = 6,60 Hz). Os demais hidrogênios permanecem nas mesmas regiões já discutidas. As figuras 27 e 28 mostram os espectros HSQC e HMBC do 7-Decin-1-ol.

Figura 27. Espectro HSQC do 7-Decin-1-ol.







Os deslocamentos químicos dos carbonos do 7-Decin-1-ol aparecem nas mesmas regiões daqueles vistos para composto protegido. A tabela 6 relaciona os valores de deslocamentos químicos de RMN 1 H e 13 C do álcool.

Nº	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
1	62,96	3,65 (t, 2 H, <i>J</i> = 6,60 Hz)
2	32,7	1,59 (qt, 2 H, J = 6,80 Hz)
3	28,5	1,41 (m, 2H)
4	25,3	1,38 (m, 2H)
5	29,0	1,50 (qt, 2H, J = 6,7 Hz)
6	18,59	2,15 (t, 2 H, <i>J</i> = 7,3 Hz)
7	79,9	-
8	81,2	-
9	12,46	2,16 (q, 2 H)
10	14,4	1,12 (t, 3 H, J = 7,42 Hz)

Tabela 6. Dados de ¹H e ¹³C do 7-Decin-1-ol.

4.3.3 (Z)-7-Decen-1-ol (21)



De posse do 7-Decin-1-ol, é possível reduzir o alcino a alceno, contudo, os métodos mais comumente usados levam à mistura de isômeros (E/Z). Para a redução parcial estereosseletiva do alcino foi utilizado o catalizador Lindlar (LINDLAR, 1952). Acredita-se que o catalizador blinda uma das faces da ligação tripla e restringe a interação com o H₂ à outra, levando à formação quantitativa do diasteroisômero Z (WANG, 2010). A figura 29 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do (Z)-7-Decen-1-ol.



Figura 29. (A) Cromatograma e (B) espectro de massas do (Z)-7-Decen-1-ol.

O espectro de massas do (Z)-7-Decen-1-ol se assemelha ao do alcino. O pico íon molecular não é visto, o que não é incomum para álcoois, e o primeiro fragmento é originado pela perda de H₂O (m/z 138). Álcoois também podem passar pela perda simultânea de água e etileno (m/z 110) e, a partir deste fragmento, perder consecutivamente uma metila (m/z 82) e um metileno (m/z 67) (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). A figura 30 mostra o espectro de RMN ¹H do (Z)-Decen-1-ol.

Figura 30. Espectro de RMN ¹H do (Z)-7-Decen-1-ol.



O efeito anisotrópico dos elétrons π afeta os hidrogênios vinílicos de forma muito mais evidente do que o observado anteriormente para alcinos, visto que estão ligados diretamente aos carbonos sp2 (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). Isto pode ser notado pelo valor de deslocamento dos hidrogênios 7 e 8, δ 5,30-5,43 ppm (m, 2 H). Os hidrogênios α à ligação dupla (H-6 e H-9) sofrem pequena alteração e absorvem em δ 2,06 ppm (m, 4 H). A figura 31 mostra o espectro HSQC do (Z)-7-Decen-1-ol.

A partir do espectro a seguir (Figura 31), pode-se assinalar o deslocamento químico dos carbonos que sofreram alteração com a reação de redução. Os carbonos da dupla ligação apresentam δ 129,06 (C-7) e 131,63 ppm (C-8). E C-6 (δ 27,08 ppm) e C-9 (δ 20,48 ppm), agora ligados a carbonos sp², absorvem em regiões ligeiramente mais desprotegidas.

Depois de preparado o álcool com a dupla ligação na posição adequada, prosseguiu-se à reação de acetilação para a obtenção do segundo feromônio de *A. phytomiella*.





4.3.4 Síntese do Acetato de (Z)-7-Decenila (7)



O Acetato de (Z)-7-decenila foi preparado em uma etapa, do mesmo método apresentado para o Acetato de 9-Decenila, usando uma Lipase para catalisar a reação (YADAV; TRIVEDI, 2003). A figura 32 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas do produto da esterificação.



Figura 32. Cromatograma (A) e espectro de massas do Acetato de (Z)-7-Decenila.

O espectro de massas (Figura 32B) do Acetato de (Z)-7-Decenila guarda várias semelhanças com seu isômero discutido anteriormente neste capítulo (Seção 4.1, Figura 8B). O pico do íon molecular não é visto neste espectro (m/z 198), o que, assim como caso dos álcoois, não é incomum em acetatos. Isto se deve à rápida que perda do fragmento CH₃COOH, gerando o pico m/z 138 (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). O pico devido à quebra da ligação σ entre carbono carbonílico e o átomo de oxigênio (m/z 43) apresenta alta, no entanto, o pico base continua sendo o mesmo do álcool de origem (m/z 67) (Figura 29B). A figura 33 apresenta o espectro de RMN ¹H do Acetato de (*Z*)-7-decenila.

Figura 33. Espectro de RMN 1 H do Acetato de (*Z*)-7-decenila.



O espectro do acetato (Figura 33) apresenta poucas diferenças em relação ao do álcool que o origina (Figura 30). O maior efeito retirador de elétrons do grupo acetil desloca o valor de δ do metileno na posição 1 [4,05 (t, 3 H, *J* = 6,74 Hz)] (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). A metila na posição 2' aparece como um simpleto em δ 2,04 ppm. Os demais hidrogênios da molécula permanecem nas mesmas regiões. As figuras 34 e 35 mostram os espectros HSQC e HMBC do Aceto de (*Z*)-7-Decenila, respectivamente.









De forma análoga ao visto no RMN ¹H, os valores de deslocamento químico da maioria dos carbonos do Acetato de (Z)-7-Decenila não apresentam alteração considerável causada pela esterificação. Pode-se destacar, nos espectros acima, a presença da carbonila (δ 173,17 ppm) e da metila (C-2' – 20,99 ppm) e a mudança no deslocamento do carbono α (C-2 – 28,83 ppm). Os demais carbonos permanecem nas mesmas regiões vistas no álcool. A tabela 7 relaciona os valores de deslocamentos químicos de RMN ¹H e ¹³C do Acetato de (Z)-7-Decenila.

Nº	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
1	64,62	4,05 (t, 3 H, <i>J</i> = 6,74 Hz)
2	28,83	1,62 (m, 2 H)
3	29,58	1,3 (m, 2 H)
4	28,57	1,36 (m, 2 H)
5	25,81	1,35 (m, 2 H)
6	26,95	2,03 (m, 2 H)
7	129,04	5,32 (m, 1 H)
8	131,71	5,36 (m, 1 H)
9	20,50	2,03 (m, 1 H)
10	14,35	0,95 (t, 3 H, <i>J</i> = 7,56 Hz)
1'	173,17	-
2'	20,99	2,04 (s, 3 H)

Tabela 7. Dados de ¹H e ¹³C Acetato de (Z)-7-Decenila.

4.3.5 (E)-7-Decen-1-ol (22)



O 7-Decin-1-ol preparado anteriormente (Seção 4.3.2) também foi usado como substrato para a síntese do isômero (E). Para a redução seletiva da ligação tripla foi usado Na suspenso em NH₃ líquido, formando Amideto de Sódio (NaNH₂). A reação gera o alceno E através de uma adição *anti* e procede via transferência de elétron do Na. Os hidrogênios adicionados provêm do NH₃ (CAREY; SUNDBERG, 2007). A figura 36 ilustra o mecanismo reação de redução do 7-Decin-1-ol.

Figura 36. Mecanismo da reação de redução parcial estereosseletiva da ligação tripla.



A partir da reação descrita acima foi possível obter o (E)-7-Decen-1-ol. A figura 37 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do produto da redução.





O espectro de massas do (*E*)-7-Decen-1-ol (Figura 37B), de acordo com o previsto, apresenta a mesma fragmentação discutida para o isômero *Z*. A figura 38 mostra o espectro de RMN ¹H do (*E*)-7-Decen-1-ol.



Figura 38. Espectro de RMN 1H do (E)-7-Decen-1-ol.

O espectro de ¹H do isômero *E* mostra os mesmos sinais discutidos para o *Z* (Seção 4.3.3), com pequenas variações nos deslocamentos dos hidrogênios em torno da ligação π e os dois átomos ligados aos carbonos sp² absorvem em δ 5,36-5,50 ppm (m, 2H). A figura 39 mostra o espectro HSQC do (E)-7-Decen-1-ol.

Figura 39. Espectro HSQC do (E)-7-Decen-1-ol



Novamente, de forma análoga ao isômero (*Z*), a formação do alceno (*E*) leva a mudanças nos deslocamentos dos carbonos 6-9, quando comparados aos do alcino. Os carbonos da dupla ligação aparecem em δ 129,25 (C-7) e 131,90 ppm (C-8) e os em posição α , em δ 27,00 ppm(C-6) e δ 20,53 ppm (C-9).

De posse do (E)-7-Decen-1-ol, procedeu-se à última etapa para a formação do terceiro feromônio da traça das castanhas.

4.3.6 Acetato de (*E*)-**7**-Decenila (6)



Para esta etapa, mais uma vez se usou a técnica de esterificação por catálise enzimática (YADAV; TRIVEDI, 2003). A figura 40 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas do produto da esterificação do (*E*)-7-Decen-1-ol.



Figura 40. Cromatograma (A) e espectro de massas (B) do (E)-7-Decen-1-ol.

A fragmentação do isômero *E* do Acetato de 7-Decenila é a mesma daquela observada no *Z* (Seção 4.3.4, Figura 32B). O fragmento devido à rápida de CH₃COOH (m/z 138), o pico base (m/z 43) e os demais sinais aparecem nas mesmas posições já discutidas. A figura 41 apresenta o espectro de RMN ¹H do Acetato de (*E*)-7-decenila e a figura 42, uma sobreposição dos espectros de RMN ¹H dos dois isômeros.



Figura 41. Espectro de RMN 1H do Acetato de (E)-7-decenila.

Figura 42. (A) Comparação entre os espectros de RMN 1H dos isômeros *Z* (vermelho) e *E* (azul) do Acetato de 7-decenila. (B) Expansão dos espectros na região de 5,25-5,55 ppm.



O espectro de ¹H do Acetato de (*E*)-7-Decenila (Figura 41) aparenta, à primeira vista, ser igual ao do isômero *Z* (Seção 4.3.4, Figura 33). A comparação entre os dois espectros (Figura 42) demonstra a sobreposição da maioria dos sinais dos dois compostos. A exceção a isto é encontrada nos hidrogênios da ligação dupla (Figura 42B) de configuração E que,

usualmente absorvendo em região ligeiramente mais desprotegida do que sua contraparte geométrica (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001), geram o multipleto em δ 5,33-5,49 ppm. A seguir são mostrados os espectros HSQC (Figura 43) e HMBC (Figura 44) do Acetato de (*E*)-7-Decenila.



Figura 43. Espectro HSQC do Acetato de (E)-7-Decenila.

Figura 44. Espectro HSQC do Acetato de (*E*)-7-Decenila.



De forma análoga ao visto no RMN ¹H, os valores de δ dos carbonos do Acetato de (*E*)-7-Decenila não apresentam alteração em relação ao isômero *Z*, à exceção daqueles em posição α aos Csp². Carbonos diretamente ligados a C=C (*E*) apresentam deslocamento entre 4 e 6 ppm maior do que os do outro estereoisômero (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). No presente caso, C-6 absorve em δ 32,43 ppm e C-9, em δ 25,59 ppm. Assim, foi possível produzir o terceiro dos feromônio de *A. phytomiella*. A tabela 8 relaciona os valores de deslocamentos químicos de RMN ¹H e ¹³C do Acetato de (E)-7-Decenila.

Nº	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
1	64,64	4,06 (t, 2 H, <i>J</i> = 6,76 Hz)
2	28,73	1,62 (m, 2H)
3	28,56	1,34 (m, 2 H)
4	25,78	1,34 (m, 2 H)
5	29,47	1,34 (m, 2H)
6	32,43	1,99 (m, 2 H)
7	129,10	5,40 (m, 1 H)
8	132,09	5,43 (m, 1 H)
9	25,59	1,99 (m, 2 H)
10	13,99	0,98 (t, 3 H, <i>J</i> = 7,44 Hz)
1'	171,25	-
2'	21,01	2,06 (s, 3 H)

Tabela 8. Dados de RMN 1H e 13C do Acetato de (E)-7-Decenila.

4.4 Síntese do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano (15)



O alcino terminal foi preparado de 2-(6-bromoexiloxi)-Tetraidropirano com Acetileto de Lítio em DMSO. O uso de solventes polares apróticos permite alcançar rendimentos mais elevados, mesmo em condições reacionais brandas (BRANDSMA, 2004). A figura 45 mostra o cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do produto da alquilação.



Figura 45. Cromatograma (A) e o espectro de massas (B) do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano.

O espectro de massas do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano (Figura 45) (m/z 209, M-1) mostra o fragmento gerado pela quebra da ligação entre o oxigênio e o C-1' (m/z 101). Como já observado nos compostos protegidos com THP, o fragmento de m/z 85 (PB) mais uma vez aparece como pico de maior intensidade do espectro.

Os acoplamentos envolvendo alcinos como nucleófilos, como visto na reação com o 1-Butino (Seção 4.3.1), normalmente requerem o uso de HMPA (BRATTESANI; HEATHCOCK, 1973). Contudo, no caso do Acetileto de Líto, a combinação do agente complexante, Etilenodiamina, com o solvente (DMSO) aumenta a reatividade do ânion (BRANDSMA, 2004) e torna possível obter o produto desejado, mesmo na ausência da fosforamida.

A figura 46 mostra o espectro de RMN ¹H do alcino terminal.



Figura 46. Espectro de RMN ¹H do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano.

O espectro de ¹H do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano (Figura 46) se assemelha ao observado para o acoplamento com o alcino visto anteriormente (Seção 4.3.1). Dois sinais, no entanto, atraem atenção (Figura 46B). O hidrogênio diretamente ligado ao carbono sp aparece como um tripleto em δ 1,95 ppm (*t*, 1 H, *J* = 2,80 Hz). Alcinos terminais podem apresentar este acoplamento propargílico que, quando presente, é bastante pequeno (2-3 Hz) (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). O segundo sinal de interesse é o metileno na posição 6'. Este acopla com o metileno em 5' e com o hidrogênio da ligação tripla, gerando uma dupleto tripleto em δ 2,20 ppm (dt, 2 H, *J* = 2,80 e 6,80 Hz). As figuras 47 e 48 mostram os espectros HSQC e HMBC do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano, respectivamente.


Figura 47. Espectro HSQC do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano.

Figura 48. Espectro HMBC do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano.



Os carbonos do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano (Figuras 46 e 47) também absorvem nas mesmas regiões já discutidas, com exceção da ligação tripla. O carbono 7' origina um sinal em δ 84,80 ppm, corroborando os dados vistos para alcinos até aqui. O carbono 8', por outro lado, tem um átomo de hidrogênio ligado e não, sendo quaternário como os demais, absorve em região mais protegida do espectro (δ 68,31 ppm). (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001)

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A rota sintética aqui descrita permitiu produzir o 2-(6-Bromoexiloxi)-tetraidropirano, intermediário de compostos insaturados de cadeia longa, que incluem os feromônios de *A*. *phytomiella*, em duas etapas e com alto rendimento.

Foi possível sintetizar e caracterizar os Acetatos de 9-Decenila, (Z)-7-Decenila e (E)-7-Decenila, além do 2-(7-Octiniloxi)-tetraidropirano, intermediário dos dois outros feromônios da espécie estudada.

Estudos posteriores são necessários para concluir a síntese dos demais feromônios. Fazse necessário ainda a produção em larga escala destes compostos, a fim de atestar sua atividade em campo e, posteriormente, de usá-los no controle da traça das castanhas. A metodologia aplicada neste trabalho pode ainda ser adaptada para a produção de feromônios para outros lepidópteros.

6. REFERÊNCIAS

Brandsma, L. Synthesis of Acetylenes, Allenes and Cumulenes: Methods and Techniques. 1^a ed., Elsevier Academic Press, 2004.

Brattesani, D. N.; Heathcock, C. H. A Convenient Procedure for the Alkylation of Acetylenes. **Synthetic Communications**, v. 3, n. 4, p. 245-248, 1973.

BUCK, M.; CHONG, J. M. Alkylation of 1-alkynes in THF. **Tetrahedron Letters**, v. 42, p. 5825–5827, 2001.

BURGER, R.; BIGLER P. DEPTQ: Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer Including the Detection of Quaternary Nuclei. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 135, p. 529–534, 1998.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis. Springer Science, 5th ed., 2007.

CHONG, J. M.; HEUFT, M. A.; RABBAT, PHIL. Solvent Effects on the Monobromination of α, ω -Diols: A Convenient Preparation of ω -Bromoalkanols. **Journal of Organic Chemistry**, v. 65, p. 5837-5838, 2000.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Conjuntura Mensal, Jan 2016. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_17_10_54_07_castanha_de_caj u_-__janeiro_2016.pdf

COOK, S. M.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A. The Use of Push-Pull Strategies in Integrated Pest Management. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 375–400, 2007.

DAVIES, T. G. E.; FIELD, L. M.; USHERWOOD, P. N. R.; WILLIAMSON, M. S. DDT, Pyrethrins, Pyrethroids and Insect Sodium Channels. **IUBMB Life**, v. 59, n. 3, p. 151-162, 2007.

FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; DOS SANTOS, A. A.; VIANA, F. M. P. Diseases of cashew nut plants (*Anacardium occidentale* L.) in Brazil. **Crop Protection**, v. 21, p.489-494, 2002.

FREITAS, B. M.; SILVA, C. I.; LEMOS, C. Q.; ROCHA, E. E. M.; MENDONÇA, K. S. **Plano de Manejo para Polinização da Cultura do Cajueiro**. Rio de Janeiro, 2014.

GOULART, H. F.; LIMA, M. R. F.; MORAIS, R. K. S.; BERNARDO, V. B. Feromônios: Uma Alternativa Verde para o Manejo Integrado de Pragas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1205-1224, 2015.

INC. Global Statistics Review 2014-2015. Disponível em: <u>https://www.nutfruit.org/wp-continguts/uploads/2015/11/global-statistical-review-2014-2015_101779.pdf</u>

JURENKA, R. Insect Pheromone Biosynthesis. **Topics in Current Chemistry**, v. 239, p 97-132, 2004.

LEE, S.; MERCADO, C. The Gelechiidae (Lepidoptera) of Panama. Journal of Asia-Pacific Biodiversity, v. 9, p. 205-207, 2016

LINDLAR, H. Ein neuer Katalysator für selektive Hydrierungen. **Helvetica Chimica Acta**, v. 35, n. 2, p. 446-450, 1952.

MAGOON, E. F; SLAUGH, L. H. Reduction of acetylenes and conjugated diolefins by lithium aluminium hydride. **Tetrahedron**, v. 23, p. 4509-4515, 1967.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Sistema de AgrotóxicosFitossanitários(AGROFIT).http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons

MELO, Q. M. S.; BLEICHER, E. Pragas do Cajueiro. In: SOBRINHO, R. B.; CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O. **Pragas de Fruteiras Tropicais de Importância Agroindustrial**. Brasília, 1998.

MESQUITA, A. L. M.; BECKER, V. O.; SOBRINHO, R. B. Taxonomic identification of Lepidopterous species of cashew plant in Brazil. Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil, v. 27, n. 4, p. 655-656, 1998.

MESQUITA, A. L. M.; FANCELLI, M.; SOBRINHO, R. B. Ocorrência e Importância de Inimigos Naturais de Pragas em Cultivo de Cajueiro Orgânico. **Comunicado Técnico online**, v. 155, p. 1-4, 2009.

MESQUITA, A. L. M.; SOBRINO, R. B. Pragas do Cajueiro In: Agronegócio Caju: Práticas e Inovações. 1ª ed. Brasília, p. 195-215, 2013.

MORGAN, D. E. Biosynthesis in Insects. The Royal Society of Chemistry, 2004.

MORI, K. Organic Synthesis in Pheromone Science. Molecules, v. 10, p. 1023-1047, 2005.

MORI, K. Pheromone Synthesis. Topics in Current Chemistry, n. 239, p. 1-50, 2004.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. Introduction to spectroscopy: A guide for students of organic chamistry, 3^a ed., Thompson Learning, 2001.

PICKETT, J. A.; ARADOTTIR, G. I.; BIRKETT, M. A.; BRUCE, T. J. A.; HOOPER, A. M.; MIDEGA, C. A. O; JONES, H. D. MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; PITTCHAR, J. O.; SMART, L. E.; WOODCOCK, C. M.; KHAN, Z. R. Delivering sustainable crop

protection systems via the seed: exploiting natural constitutive and inducible defence pathways. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 369, p. 1-9, 2014.

PUIGMARTÍ, M.; BOSCH, M. P.; GUERRERO, A. An Improved and Convenient New Synthesis of the Pheromone Components of the Tomato Leafminer *Tuta absoluta*. **Synthesis**, v. 47, p. 961–968, 2015.

RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Organophosphorus Compounds as Chemical Warfare Agents: a Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 3, p. 407-428, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6^a ed. Ed. LTC, 2000.

TILLMAN, J.; SEYBOLD, S. J.; A,1, JURENKA, R. A.; BLOMQUIST, G. J. Insect pheromones - an overview of biosynthesis and endocrine regulation. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29, p. 481–514, 1999.

VIJVERBERG, H. P. M.; VAN DEN BERCKEN, J. Neurotoxicological Effects and the Mode of Action of Pyrethroid Insecticides. **Critical Review in Toxicology**, v. 21, n. 2, p. 105-26, 1990.

WANG, Z. Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents. Ed. John Wileys & Sons, v. 3, 2010.

WUTS, P. G. M.; GREEN, T. W. Greene's Protective Groups in Organic Synthesis. Ed. John Wiley & Sons, 4^a ed., 2007

ZARBIN, P. H.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.

CAPÍTULO II

Elucidação estrutural e estudo visando a síntese do feromônio sexual de *Lutzomyia longipalpis*

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 LEISHMANIOSE VISCERAL

O mosquito palha, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) é o vetor mais importante do agente etiológico da leishmaniose visceral, o protozoário *Leishmania chagasi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), no continente americano e está distribuído desde o sul do México até o norte da Argentina (WHO, 2016; SOARES; TURCO, 2003; CONN; MIRABELLO, 2007). As fêmeas da espécie são responsáveis por transmitir o parasito durante o repasto sanguíneo, necessário antes do período de oviposição.

Existem várias formas clínicas de leishmaniose, cutânea, cutânea difusa, muco-cutânea, visceral, causados por cerca dor cerca de 20 espécies do gênero *Leishmania*. A forma visceral, se não tratada, leva o indivíduo infectado a óbito. A doença, também conhecida como calazar, é caracterizada por acessos irregulares de febre, perda acentuada de peso, esplenomegalia, hepatomegalia e anemia. Levando-se em consideração a gravidade e a duração destes sintomas, o curso da doença pode ser divido em três períodos: inicial, de estado e final. (WHO, 2016; SOUZA, 2010; BRASIL, 2013)

Na fase inicial da doença, a maioria dos pacientes apresenta febre recorrente por algumas semanas, palidez e hepatoesplenomegalia discreta. Este quadro clínico pode evoluir para remissão da doença ou para o estágio seguinte. Na fase de estado, a febre irregular está presente, associada à perda de peso, e os volumes de fígado e baço continuam a aumentar, comprometendo o estado geral do paciente. No último estágio, os sintomas se intensificam, o paciente apresenta desnutrição severa, edema dos membros inferiores, hemorragias, icterícia e ascite, conhecida popularmente como barriga-d'água. Quando atingem esta fase, os indivíduos geralmente vão a óbito em decorrência de infecções oportunistas ou dos sangramentos. (BRASIL, 2013; BRASIL, 2011)

A leishmaniose se propaga nas regiões mais pobres de países em desenvolvimento, nas regiões tropicais e subtropicais, onde as condições de saneamento básico e saúde pública costumam ser precárias. Pequenos mamíferos e cães atuam como reservatórios de parasitas e mantêm a doença presente em regiões endêmicas.

A *L. chagasi* é inoculada pelo mosquito no hospedeiro mamífero durante o repasto sanguíneo, em sua forma extracelular flagelada, denominada promastigota. O sistema imune do hospedeiro envia, então, macrófagos para combater a infecção. Depois de fagocitados pelos

macrófagos, os promastigotas se transformam na forma intracelular do protozoário, os amastigotas. Estes se multiplicam no interior das células infectadas, culminando na ruptura da membrana celular. Outros macrófagos os fagocitam e a infecção continua. Quando novos mosquitos se alimentam do sangue do indivíduo infectado, eles ingerem células contendo amastigotas que, no sistema digestivo do inseto, transformam-se novamente em promastigotas e o ciclo da doença continua, durante o próximo repasto, estas formas livres são regurgitadas pelo mosquito e infectam um novo hospedeiro. (TRACY; WEBSTER, 2005; RANG et al, 2003)

No Brasil, os medicamentos utilizados para o tratamento da leishmaniose visceral são compostos de antimônio pentavalente e anfotericina B. o sistema de tratamento é individualizado, considerando a faixa etária, presença de gravidez e contraindicações, sobretudo, insuficiências renal, hepática ou cardíaca. (BRASIL, 2001; TRACY; WEBSTER, 2005; RANG et al, 2003)

Independentemente do tipo, a leishmaniose se enquadra em um grupo de patologias conhecidas como "negligenciadas". Este termo se refere a um conjunto de doenças causadas por agentes infecciosos e parasitários, sejam vírus, bactérias, protozoários ou helmintos, endêmicas em regiões onde a população tem baixo poder aquisitivo, em países em desenvolvimento na África, Ásia e América. O reduzido apelo comercial destas doenças não desperta o interesse das grandes empresas do setor farmacêutico e o fomento para a pesquisa na área é comprometido. (CONN; MIRABELLO, 2007)

Como já citado, os casos de leishmaniose se distribuem pela América Latina, mas não são restritos a ela. Epidemias recorrentes da forma visceral no leste da África têm causado alta morbimortalidade nas comunidades afetadas. A ocorrência da doença está concentrada, mais de 90% dos casos, em seis países: Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Sudão do Sul e Sudão. (WHO, 2016)

No Brasil, a leishmaniose visceral é predominantemente rural, contudo, nas últimas décadas, tem se expandido para áreas urbanas de médio e grande porte. A maior parte dos casos está concentrada na região Nordeste, particularmente, nos estados da Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí. A doença acomete principalmente crianças, o que pode ser explicado pelo comprometimento da imunidade ocasionado pela desnutrição, comum nas comunidades mais carentes (BRASIL, 2013). O número de casos (Figura 1) e de mortes decorrentes da doença (Figura 2) reportados nos últimos anos têm apresentado pouca variação (BRASIL, 2014).



Figura 1. Número de casos de leishmaniose visceral reportados

Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Leishmaniose Visceral: Situação epidemiológica



Figura 2. Número de mortes decorrentes de Leishmaniose visceral reportadas.

Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Leishmaniose Visceral: Situação epidemiológica

A leishmaniose visceral se apresenta, enfim, como uma patologia com alto impacto na saúde humana, afetando regiões com populações carentes, e os poucos fármacos destinados ao seu combate têm toxicidade considerável. Outas medidas visando reduzir a incidência da doença incluem a eliminação de cães infectados e o uso de inseticidas contra o inseto transmissor. Assim, a busca por novas formas de controle e prevenção da doença é cada vez mais relevante. Neste contexto, há de se destacar o controle do vetor responsável por transmitir o parasito.

A redução da população do inseto vetor pode ser uma ferramenta útil no combate à propagação da leishmaniose em áreas endêmicas e, para isso, a compreensão do ciclo de vida e de seus hábitos alimentares e de reprodução se faz necessária.

1.2 Lutzomyia longipalpis

A espécie *L. longipalpis* se distribui ao longo do continente americano e suas características e hábitos podem variar em função da região onde se encontra, do clima e da alimentação. O ciclo de vida, desde o ovo até o adulto, leva de 28 a 36 dias, a depender da fonte de sangue. Ambos os sexos podem sobreviver se alimentando de fontes de açúcar de origem vegetal, contudo, a fêmea precisa fazer o repasto sanguíneo antes da oviposição. Esta ocorre geralmente no quinto dia após a ingestão de sangue. (SOARES; TURCO, 2003; BAUZER et al, 2007)

Para o controle populacional de insetos, os pesticidas continuam sendo os principais recursos utilizados, contudo, o risco que impõe à saúde humana exige que novas formas de combate sejam encontradas. No planejamento para a redução de número de insetos presentes em determinada área, sejam eles pragas agrícolas ou vetores de doenças, o uso de metabólitos naturais, agindo, de forma não tóxica, no comportamento destes indivíduos se torna cada vez mais interessante. Como exemplo, pode-se citar os semioquímicos, sobretudo os feromônios, como ferramentas de controle de insetos eficientes e ecologicamente seguras. (PICKETT et al, 2014)

1.2.1 Feromônios encontrados em L. longipalpis

Como já citado, a espécie *L. longipalpis* é complexa e apresenta variações entre espécimes de regiões diferentes. Isto se reflete também em seu metabolismo secundário, com quimiotipos e produção de semioquímicos diferentes (SOARES; TURCO, 2003; BAUZER et al, 2007). Até o momento, dois feromônios tiveram suas estruturas elucidadas a partir de quimiotipos diferentes no Brasil: o (S)-9-Metilgermacreno B (23), do quimiotipo Lapinha (Minas Gerais) (HAMILTON; DAWSON; PICKETT, 1996a; HAMILTON et al, 1999a); e o (1S,3S,7R)-3-Metil-α-himachaleno (24), do quimiotipo Jacobina (Bahia) (HAMILTON; DAWSON; PICKETT, 1996b; HAMILTON et al, 1999b) (Figura 3).





Fontes: HAMILTON; DAWSON; PICKETT, 1996a; HAMILTON et al, 1999a; HAMILTON; DAWSON; PICKETT, 1996b; HAMILTON et al, 1999b.

Outros quimiotipos foram encontrados em insetos na região Nordeste do Brasil, porém as estruturas dos metabólitos não foram determinadas. O que se sabe até o momento sobre estes compostos é que apresentam esqueletos de diterpenos, possivelmente relacionados à classe dos cembranos (WATTS et al, 2005; HAMILTON et al, 2005). Em contrapartida, dados encontrados por Hooper e colaboradores, em estudo ainda não publicado, sugerem que os diterpenos encontrados nos extratos de *L. longipalpis* pertencem à classe dos verticilanos.

1.2.2 Diterpenos da classe dos Verticilanos

Os diterpenos das duas classes, cembranos e verticilanos, são biogeneticamente relacionados e, acredita-se, compartilham um precursor comum (KARLSSON; PILOTTI; SODERHOLM, 1978; BASAR; KOCH; KONIG, 2001). O interesse acerca dos verticilanos tem aumentado nos últimos anos devido a seu papel como precursor na biossíntese de taxol, um éster diterpenoide com atividade antineoplásica isolado de *Taxus brevifolia*. (DEWICK, 2009; WANG et al, 2009)

Os verticilanos são produtos naturais que apresentam estrutura bicíclica [9.3.1.] peculiar, onde um grupo homogeranil se encontra ligado (1,3) a um anel de seis membros contendo um grupo dimetil geminal (WANG et al, 2009). Pode-se citar alguns exemplos de compostos pertencentes a esta, como o Verticilol, inicialmente isolado a partir de *Sciadopitys verticillata* (ERDTMAN et al, 1964), e verticilenos isolados de *Jackiella javanica* (ASAKAWA, 1995). A figura 4 ilustra alguns exemplos de estruturas encontradas nesta classe.





Fontes: ERDTMAN et al, 1964; KARLSSON; PILOTTI; SODERHOLM, 1978; ASAKAWA, 1995; BASAR; KOCH; KONIG, 2001; WANG et al, 2009.

1.2.3 Síntese de Verticilanos

O verticilanos são, assim como todos os terpenos, metabólitos secundários formados a partir de derivados de isopreno. Acredita-se que, nos organismos vivos, o mecanismo de para formação desta classe de compostos envolva a ionização do Difosfato de Geranilgeranila (GGDP) (33), precursor dos diterpenos, e uma ciclização catiônica que gera um macrociclo com 14 carbonos. Esta forma um carbocátion terciário, que leva a mais uma adição eletrofílica, com uma segunda ciclização. Por fim, a ligação dupla é regenerada (Dewick, 2009; Wang et al, 2009). A figura 5 mostra um esquema da biossíntese destes compostos.

Figura 5. Esquema geral ilustrando a biossíntese do verticileno a partir do Difosfato de Geranila (GGDP).



Fonte: Dewick, 2009; Wang et al, 2009.

O papel desta classe de compostos na gênese do taxol continua atraindo a atenção de químicos de produtos naturais, no entanto, apesar do verticilol ter sido descoberto há mais de quatro décadas, poucas tentativas de síntese total deste tipo de molécula foram reportadas. As estratégias sintéticas usadas até o momento envolvem alquilações sucessivas de um anel de seis membros e posterior ciclização para a formação do esqueleto bicíclico. Apesar das diferenças entre as estruturas sintetizadas, a presença das insaturações nas posições 3 e 7 se mantêm uma constante. (JACKSON; PATTENDEN, 1985; BEGLEY; JACKSON; PATTENDEN, 1990; KATO et al, 1996)

A figura 6 mostra o esquema geral de uma das rotas descritas para a síntese de um verticileno (JACKSON; PATTENDEN, 1985; BEGLEY; JACKSON; PATTENDEN, 1990). Como visto anteriormente, o maior anel do biciclo é formado por um sínton homogeranil ligado em 1,3 ao anel cicloexil. As duas reações iniciais (Figura 6a, b) consistem na alquilação com um grupo geranila e uma adição a carbonila, seguida de uma eliminação. Na sequência, a segunda metila (c) e um grupo acetal (d) são inseridos. Uma metila é então adicionada à carbonila (e), o que leva à redução desta e à formação de uma hidroxila. A etapa seguinte (f) consiste na forma da ligação dupla, através de desidratação, e na desproteção, formando um aldeído. Uma hidroxila é adicionada ao carbono terminal do grupo geranil (g) e é oxidada (i) a aldeído. Por fim, de posso do composto dicarbonílico, foi possível fechar o segundo anel através do rearranjo descrito por Mcmurry e Kees (1977) e formar o verticileno com quatro insaturações.



Figura 6. Esquema geral para a síntese de diterpenos da classe dos verticilanos.

Fonte: MCMURRY; KEES, 1977; JACKSON; PATTENDEN, 1985; BEGLEY; JACKSON; PATTENDEN, 1990.

Assim, o número de estudos objetivando a identificação e a síntese de compostos desta classe ainda é escasso. Neste contexto, a identificação e a síntese de feromônios de *L. longipalpis* são de extrema relevância, sobretudo, visando o avanço no combate ao inseto vetor da leishmaniose visceral por métodos que não gerem risco ao ambiente ou à saúde humana

2. OBJETIVOS 2.1 GERAL

Identificar o feromônio sexual liberado pelos machos da espécie Lutzomyia longipalpis e estabelecer uma rota para síntese do feromônio a partir de uma fonte renovável.

2.2 ESPECÍFICOS

1. Identificar a estrutura do feromônio sexual de L. longipalpis;

2. Estabelecer a configuração das ligações duplas do feromônio;

3. Sintetizar, a partir de composto renovável de origem natural, o intermediário de cadeia longa do feromônio;

4. Estabelecer rota sintética para a preparação do feromônio.

3. PARTE EXPERIMENTAL 3.1 CONSIDERAÇÕES INCIAIS

A identificação estrutural e a síntese dos compostos aqui descritas foram realizadas no Laboratório de Síntese Orgânica do Instituto Rothamested Research (Harpenden, Hertfordshire, UK) sob a supervisão do Dr. Antony Hooper.

3.1.1 Reagentes, Solventes e Vidrarias

As vidrarias foram pré-aquecidas em estufa a 150°C e resfriadas em dessecadores antes do uso. Quando necessário, os solventes (grau PA) utilizados foram secos sob refluxo, usando: Sódio metálico (Na) e Benzofena como indicador (para o Tetraidrofurano, THF) ou Hidreto de Cálcio (CaH₂) (para o Diclorometano, DCM).

3.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e em Coluna

As placas cromatográficas utilizadas (Merck do tipo AL TLC 20x20 cm Sílica-gel 60 F254) foram eluídas com Hexano, Acetato de etila (ActOEt) ou misturas destes solventes em diferentes proporções. A purificação dos produtos reacionais foi feita em colunas cromatográficas (Merck Sílica-gel 60-240 Mesh) sob pressão atmosférica, usando os mesmos solventes descritos para as CCDs.

3.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

3.2.1 Cromatrogafia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

Utilizou-se um cromatrógrafo a gás Shimadzu VG Autospec Ultima (Manchester, UK). Foi utilizado Hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1 mL.min-¹. A espectrometria de massas foi realizada através de ionização por Impacto Eletrônico a 70 eV.

3.2.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os experimentos de RMN foram realizados em solução de Clorofórmio deuterado (CDC ℓ_3) em equipamento Bruker Avance (500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C) no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto Rothamested Research. O deslocamento químico (δ) foi expresso em ppm, usando Hidrogênio residual do CDC ℓ_3 como padrão interno.

3.3. COLETA DOS INSETOS E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Os insetos foram coletados nos munícipios de Icó e Iguatu-Ceará. A coleta foi realizada no período noturno (17:00-5:00 h), com armadilhas luminosas do tipo CDC, posicionadas a 50 cm do solo. Após a coleta, os insetos foram colocados em caixa térmica com barras de gelo por 15 minutos. Passado este tempo, foram colocados em placas de Petri para a seleção e sexagem dos insetos. Foram coletados 11.710 insetos, sendo 6.698 machos e 5.012 fêmeas.

Logo após a definição do sexo, os insetos foram acondicionados em frascos de vidro com tampa rosqueada contendo 1 mL de Hexano (grau HPLC). Em cada frasco foram colocados 400 insetos.

O extrato dos insetos machos foi purificado em coluna cromatográfica em Florisil[®] e analisado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM).

3.4 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

A Figura 7 mostra as rotas sintéticas empregadas no presente trabalho.



3.4.1 Acetato de Geranila



Geraniol (10 g; 64,83 mmol; 1 eq.) e piridina (13,11 mL; 162,075 mmol; 2.5 eq.) foram dissolvidos em éter dietílico ($Et_2O - 100$ mL) sob atmosfera de nitrogênio (N_2) e resfriados a 0 °C. Cloreto de acetila (9,22 mL; 129,66 mmol; 2 eq.) foi adicionado gota a gota e a reação foi mantida sob agitação por 12 horas.

À mistura foi adiciona água destilada (150 mL), que foi lavada com ácido clorídrico (1N HCl –150 mL) e extraída com Et₂O (3 x 100 mL). A fase orgânica foi seca em sulfato de magnésio (MgSO₄), filtrada e concentrada.

Rendimento: 98,88 % (12,581 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,60 (s, 3 H); 1,68 (s, 3 H); 1,71 (s, 3 H); 2,05 (s, 3 H); 2,06 (t, 2 H, J = 6,90 Hz); 2,11 (m, 2 H); 4,59 (d, 2 H, J = 7,10 Hz); 5,08 (t, 2 H, J = 6,45 Hz); 5,34 (t, 5 H, J = 7,05 Hz)

3.4.2 Hipoclorito de t-butila



Solução de Hipoclorito de sódio (NaClO – água sanitária comercial) (500 mL) foi agitada vigorosamente, resfriada a 10 °C e protegida da luz. Uma solução de Álcool *t*-butílico (37 mL; 0,39 mol) e Ácido acético glacial (24,5 mL; 0,43 mol) foi adicionada e agitada por 3 minutos.

A mistura foi vertida em um funil de separação e a fase aquosa foi descartada. A fase orgânica foi lavada com carbonato de sódio (Na₂CO₃) 10% (50 mL) e água destilada (50 mL). O produto foi seco em cloreto de cálcio (CaCl₂).

Rendimento: 55,00 % (23,26 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,35 (s, 9 H)

3.4.3 Acetato de (E)-6-Cloro-3,7-dimetilocta-2,7-dienila



Acetato de geranila (12,5 g; 63,694 mmol; 1 eq.) e Sílica gel (15 g) foram suspensos em Éter de petróleo (200 mL) e agitados a 0 °C. Hipoclorito de *t*-butila (6,907; 63,694 mmol; 1 eq.) foi adicionado e a mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C, aquecida até a temperatura ambiente e agitada por mais 30 minutos.

A mistura foi filtrada em funil de vidro sinterizado e lavada com Éter de petróleo/Et₂O 20% (200 mL). A fase orgânica foi lavada com soluções de Sulfito de sódio 10% (200 mL) e Cloreto de sódio saturada (NaCl sat. – 100 mL), seca em MgSO₄, filtrada e concentrada.

Rendimento: 79,28 % (11,649 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,72 (s, 3 H); 1,82 (s, 3 H); 2,05 (s, 3 H); 2,08 e 2,10 (m, 2 H); 2,16 e 2,18 (m, 2 H); 4,35 (t, 1 H, *J* = 7,10 Hz); 4,59 (d, 2 H, *J* = 7,10 Hz); 4,91; 5,02 (2 s, 2 H); 5,34 (t, 5 H, *J* = 7,05 Hz)

3.4.4 (*E*)-3,7-Dimetilocta-2,7-dienol



Hidreto de lítio e alumínio (LiAlH₄) (2,989 g; 78,766 mmols; 1,5 eq.) foi suspenso e tetraidrofurano (THF) seco (60 mL) sob atmosfera de N₂ e resfriado a 0 °C. Uma solução de Acetato de (E)-6-Cloro-3,7-dimetilocta-2,7-dienila (11,34 g; 52,51 mmols; 1 eq.) em THF seco (40 mL) foi adiciona lentamente. A mistura foi agitada sob refluxo por 4 horas.

A mistura foi resfriada a 0 °C. A ela foi adicionada água destilada (60 mL) e HCl 3 N (45 mL). Foi extraída com Et₂O (3 x 60 mL) e lavada com NaCl sat. (100 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada.

Rendimento: 88,07 % (7,128 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,59 (qt, 2 H, *J* = 7,6 Hz); 1,69 (s, 3 H); 1,73 (s, 3 H); 2,01 (t, 2 H, *J* = 7,6 Hz); 2,02 (t, 2 H, *J* = 7,6 Hz); 4,17 (d, 2 H, *J* = 6,90 Hz); 4,69; 4,72 (2 s, 2 H); 5,43 (t, 1 H, *J* = 6,90 Hz).

3.4.5 Brometo de (E)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila



(E)-3,7-Dimetilocta-2,7-dienol (7,394 g; 47,97 mmol; 1 eq.) e CBr4 (17,498 g; 52,76; 1,1 eq.) foram dissolvidos em diclorometano (DCM) seco (100 mL) a 0 °C sob atmosfera de N₂. PPh₃ (13,839 g; 52,76 mmol; 1,1 eq.) foi a adicionado lentamente e deixou-se reagir por 3 horas a temperatura ambiente.

A mistura foi concentra em evaporador rotatório, dissolvida em éter de petróleo (100 mL) e filtrada em Celite. A Celite foi lavada com éter de petróleo (300 mL) e a fase orgânica combinada foi concentrada.

Rendimento: 88,80 % (9,25 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,59 (qt, 2 H, J = 7,6 Hz); 1,73 (s, 3 H); 1,74 (s, 3 H); 2,00 (t, 2 H, J = 7,55 Hz); 2,06 (t, 2 H, J = 7,7 Hz); 4,05 (d, 2 H, J = 8,45 Hz); 4,69; 4,73 (2 s, 2 H); 5,56 (t, 1 H, J = 8,45 Hz)

3.4.6 (E)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoxi-2-cicloexenona



Di-isopropilamina (DIP) (3,489 mL; 24,855 mmol; 1,5 eq.) foi dissolvida em THF seco (50 mL) sob N₂ a 0 °C. *n*-Butil-lítio (*n*-BuLi) (9,942 mL; 24,855 mmol; 1,5 eq.) foi adicionado gota a gota. A mistura foi resfriada a -78 °C e uma solução de 3-Isobutoxicicloexen-2-ona

(2,786 g; 16,57 mmol; 1 eq.) em THF seco (10 mL) foi adicionada gota a gota e deixou reagir por 1 hora. Uma solução de Brometo de (E)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila (3,6 g; 16,57 mmol; 1 eq.) in THF seco (10 mL) foi adionada gota a gota e deixou-se reagir por 16 horas.

A mistura foi mantida a 0 °C e adicionou-se solução de cloreto de amônio saturada (NH₄Cl sat. -200 mL) lentamente. Esta foi extraída com Et₂O (3 x 100 mL), lavada com NaCl sat. (200 mL), seca em MgSO₄, filtrada e concentrada.

Rendimento: 37,70 % (1,90 g)

RMN ¹H (em ppm): 0,99 (d, 6 H, *J* = 6,65 Hz); 1,55 (m, 2 H); 1,62; 1,58 (m, 2 H); 1,67 (m, 1H); 1,99 (m, 2 H); 2,02 (m, 2 H); 2,05; 1,97 (dd, 2 H, *J* = 7,6 Hz); 2,14; 2,22 (m, 2 H); 2,57 (m, 1 H); 3,6 (d, 2 H, *J* = 8,75 Hz); 5,15 (t, 1 H, *J* = 6,75 Hz); 5,34 (s, 1 H).

RMN ¹³C (em ppm): 19,10; 25,90; 25,97; 27,73; 27,97; 28,15; 37,40; 39,40; 45,60; 74,70; 102,30; 122,00; 137,00; 177,00; 200,00.

3.4.7 (E)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona



(*E*)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoxi-2-cicloexenona (3,4 g; 11,143 mmols; 1 eq.) foi dissolvida em THF seco (50 mL) a -40 °C sob N₂. Metil-lítio (MeLi) (9,05 mL; 14,486 mmols; 1,3 eq.) foi adicionado gota a gota. Deixou-se reagir por 8 horas.

O balão foi mantido a -5 °C e HCl 2 N (50 mL) foi adicionado lentamente. Deixou-se reagir por 16 horas sob agitação vigorosa. A mistura foi extraída com Et_2O (3 x 50 mL), lavada com água destilada (5 x 60 mL) e NaCl sat. (100 mL), seca em MgSO₄, filtrada e concentrada.

O produto foi purificado através de coluna cromatográfica em sílica gel. Uma solução de éter de petróleo/ acetato de etila (ActOEt) 10 % foi usada como eluente.

Rendimento: 82,75 % (2,27 g)

RMN ¹H (em ppm): 1,54; 1,85 (m, 2 H); 1,56 (qt, 2 H, *J* = 7,45 Hz); 1,64 (s, 3 H); 1,73 (s, 3 H); 2 (m, 2 H); 2 (s, 3 H); 2,02 (m, 2 H); 2,31; 2,21 (m, 2 H); 2,35; 2,32 (m, 2 H); 2,45 (td, 1 H, 5,5 Hz); 4,72; 4,68 (2 s, 2 H); 5,15 (dd, 1 H, *J* = 6,25 e 6,85 Hz); 5,87 (s, 2 H).

RMN ¹³C (em pp): 16,16; 22,40; 23,09; 25,89; 26,53; 29,65; 34,04; 37,39; 39,37; 40,00; 109,89; 121,83; 126,92; 137,66; 145,89; 165,92; 199,75.

3.4.8 (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona



Iodeto de cobre I (CuI) (19,41 mg; 1,015 mmol; 0,5 eq.) foi suspenso em Et₂O seco (10 mL) sob N₂ a -5 °C. MeLi (1,52 mL; 2,437; 1,2 eq.) foi adicionado gota a gota. Uma solução de (E)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona (500 mg; 2,031 mmols; 1 eq.) em Et₂O seco (3 mL) foi adicionada gota a gota e deixou reagir por 2 horas.

O solvente foi retirado sob pressão reduzida. A mistura foi suspensa em 1,2-Dimetoxietano (DME) (4,5 mL) e resfriada a -78°C. Hexametilfosforamida (HMPA) (2,12 mL; 12,186 mmols; 6 eq.) foi adicionada lentamente e deixou-se reagir por 10 minutos. Iodeto de Alila (0,371 mL; 4,062; 2 eq.) foi adicionado gota a gota. Deixou-se reagir por 16 horas.

A reação foi mantida a 0 °C e água destilada (35 mL) foi adicionada. A mistura foi filtrada em Celite. A Celite foi lavada com água destilada (35 mL) e Et_2O (150 mL). A mistura foi extraída com Et_2O (3 x 50 mL), lavada com água destilada e NaCl sat. (50 mL), seca em MgSO₄, filtrada e concentrada.

O produto foi purificado através de coluna cromatográfica em sílica gel e uma solução de éter de petróleo/ Et₂O 10 % foi usada como eluente.

Rendimento: 16,44 % (101,00 mg)

RMN ¹H (em ppm): 0,93 (s, 3 H); 0,99 (s, 3 H); 1,54; 1,98 (m, 2 H); 1,56 (m, 2 H); 1,63 (s, 3 H); 1,68 (m, 1 H); 1,74 (s, 3 H); 1,99 (m, 2 H); 2,01 (m, 2 H); 2,17 (dd, 1 H, *J* = 7,8 Hz); 2,20

e 2,30 (m, 2 H); 2,25 e 2,32 (m, 2 H); 2,30 (m, 1 H); 2,40 (m, 1 H); 4,69 e 4,73 (2 s, 2 H); 4,98 e 5,04 (dd, 2 H, *J* = 5,5 e 10,1 Hz); 5,16 (dd, 1 H, *J* = 6,2 e 7,2 Hz); 5,68 (m, 1 H)

RMN ¹³C (em ppm): 16,16; 22,47; 23,51; 25,92; 25,99; 27,15; 30,95; 37,40; 38,10; 39,40; 40,30; 42,10; 61,44; 65,89; 109,89; 115,95; 126,50; 136,31; 136,35; 146,04; 214,20.

3.4.9 4,8,15,15-Tetrametilbiclo[9.3.1]pentadeca-3,8-dien-12-ona



(E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona (50 mg; 0,165 mmol; 1 eq.) foi dissolvido em tolueno seco (12 mL) sob N₂. O catalisador de Hoveyda-Grubbs (2ª Geração) (10,36 mg; 0,0165 mmol; 0,1 eq.) foi dissolvido em tolueno seco (3 mL) em outro balão.

O balão contendo a cetona foi aquecido até o refluxo do solvente e o catalizador foi transferido via cânula. Deixou-se reagir por 4 horas.

Água destilada (30 mL) foi adicionada e a mistura foi extraída com Et_2O (3 x 20 mL), seca em MgSO₄, filtrada e concentrada. O produto foi purificado através de coluna cromatográfica em sílica gel, sob pressão atmosférica. Uma solução de éter de petróleo/ Et_2O 15 % foi usada como eluente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 4.1 IDENTENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DE *L. longipalpis*

Os machos são os responsáveis pela produção de feromônios da espécie *Lutzomyia longipalpis* (LANE; WARD, 1984; LANE et al, 1985) e em virtude disto, o extrato proveniente dos machos foi usado na investigação do composto a ser identificado. O extrato foi filtrado através de uma pequena coluna, usando sílica gel e submetido a análises por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

O cromatograma do extrato dos machos de *L. longipalpis* (Figura 8) mostra uma mistura de compostos distribuída em duas regiões distintas: tempos de retenção (tR) entre 36 a 38,5 minutos – dois sinais, sendo um deles bastante largo; tR entre 44 a 48,5 minutos – alguns picos, com componente majoritário em 47,28 minutos. O espectro de massas do composto presente na primeira região do cromatograma (Figura 9) também é apresentado a seguir.



Figura 8. Cromatograma do extrato dos machos de L. longipalpis

Figura 9. Espectro de massas do composto com tempo de retenção de 36-38 minutos.



O espectro do composto em questão mostra os fragmentos com razão massa/carga (m/z) a seguir: (M^+ – íon molecular – 218, 203, 189, 175, 161, 147, 135, 121, 107, 93, 79, 67, 55, 41). A análise destes fragmentos aponta para a presença de um hidrocarboneto da classe dos homosesquiterpenos (M^+ 218, $C_{16}H_{26}$), o que corrobora os dados presentes na literatura sobre a produção de semioquímicos pela espécie *L. longipalpis* e confirma o 9-Metilgeramcreno B como uns dos compostos liberados também pela variedade do inseto que habita o estado do Ceará. (HAMILTON; DAWSON; PICKETT, 1996a; HAMILTON et al, 1999a). Além do perfil de fragmentação, é interessante destacar a feição do sinal que, ao contrário dos demais, se assemelha a uma banda larga e não, a um pico. Isto se deve ao rearranjo [3,3]-sigmatrópico (Figura 10) que o 9-Metilgeramcreno B sofre quando submetido a altas temperaturas (HAMILTON; DAWSON; PICKETT, 1996a).



Figura 10. Mecanismo proposto para o rearranjo sigmatrópico do 9-Metilgermacreno B.

Os picos presentes na segunda região do cromatograma (Figura 8) (tR – 44 a 48,5 minutos) apresentam perfis de fragmentação (Figuras 11 e 12) similares. Os espectros de massa do pico majoritário (tR 47,28 minutos) (Figura 11) e dos demais picos (Figura 12) são exibidos a seguir.

Figura 11. Espectro de massas do pico com tempo de retenção de 47,28 minutos.



Figura 12. Espectros de massas dos picos com tempos de retenção de (A) 45,17, (B) 46,16, (C) 46,9, (D) 47,5 e (E) 48,19 minutos.



Os compostos presentes nesta região do cromatograma apresentam os mesmos fragmentos com m/z: M⁺ 272, 257, 243, 229, 201, 189, 174, 161, 147, 136, 121, 107, 93, 81, 67, 55, 41. De forma semelhante ao que foi discutido anteriormente, o perfil de fragmentação destes compostos sugere a presença de hidrocarbonetos, desta vez de uma classe distinta dos feromônios até então identificados para o mosquito.

Os espectros de massas (Figuras 11 e 12) fornecem duas informações importantes. Primeiro, os compostos investigados são diterpenos (M^+ 272, $C_{20}H_{32}$). Hamilton, Brazil e Maingon (2004) encontraram, além dos sesquiterpenos 9-Metilgermacreno B e (1S,3S,7R)-3-Metil- α -himachaleno já descritos para a espécie, dois diterpenos ainda não identificados. Em uma segunda análise, de extratos de *L. longipalpis* de diferentes regiões do Brasil, estes compostos também foram encontrados (HAMILTON et al, 2005). A estrutura dos compostos ainda não foi elucidada, apesar de os autores acreditarem estar diante de isômeros de um cembreno. Em segundo lugar, sabendo-se que os compostos extraídos do inseto são diterpenos, tem-se de investigar se a mistura é formada por isômeros desta classe ou se o mosquito produz um feromônio com esqueleto diterpenoide que sofre rearranjo, como observado para o sesquiterpeno aqui descrito, gerando os diversos picos observados no espectro.

A caracterização do composto (ou compostos) foi feita através de RMN ¹H e ¹³C mono e bidimensionais. O extrato foi filtrado através de uma pequena coluna, usando Florisil[®] como fase estacionária, de forma a purificar o produto e reduzir a contaminação por ácidos graxos secretados pelo inseto e, então, analisadas.

A figura 13 mostra o espectro de RMN ¹H do extrato dos machos de *L. longipalpis*. Em uma análise inicial do espectro, pode-se destacar alguns sinais: dois duplos dupletos (dd) com deslocamentos químicos muito próximos, em δ 5,54 ppm (dd, 1 H, *J* = 5,5 e 6,75 Hz) e 5,50 ppm (dd, 1 H, *J* = 5,25 e 6,30 Hz), indicando que a estrutura contém duas duplas ligações trisubstituídas adjacentes a CH₂; dois dd, em δ 2,89 e 2,95 (dd, 2 H, *J* = 5,25 e 6,30 Hz), de um CH₂ ligado a um carbono de dupla ligação (C_{sp2}); dois duplo duplo dupletos (ddd), em δ 2,12 e (ddd, 1 H, 5,5; 6,75 e 7,20 Hz), sugerindo um CH₂ ligado a um C_{sp2} e a um CH; vários sinais de CH₂ e CH (2,5-1,5 ppm); e cinco simpletos (s) de CH₃, sendo três deles (1,8, 1,74 e 1,68 ppm) característicos de metilas ligadas a carbono de dupla ligação e os outros dois (1,24 e 1,18 ppm), de metilas ligadas a carbonos saturados (C_{sp3}). O fato de haver três metilas ligadas a C_{sp2} sugere ainda que, além das duas já discutidas, há mais uma insaturação, desta vez tretasubstituída, visto que não há outros hidrogênios ligados a carbonos insaturados.



Figura 13. A) Espectro de RMN ¹H do extrato dos machos de *L. longipalpis*. B) Expansão do espectro na região de 5,3-6,7 ppm. C) Expansão do espectro na região de 1,0-3,2 ppm.

O espectro HSQC (Figura 14) e a tabela (Tabela 1) a seguir mostram a relação entre os sinais dos hidrogênios e os carbonos aos quais estão ligados (HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Correlation*).







¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	
16,30	1,66 (s, 3 H)	30,90	1,96 (m, 1 H)	
			2,28 (m, 1 H)	
22,10	1,74 (s, 3 H)	32,40	2,12 e 2,77 (ddd, 1 H,	
			5,5; 6,75 e 7,20 Hz)	
23,10	1,80 (s, 3 H)	32,70	1,18 (s, 3 H)	
24,10	1,51 (m, 1 H)	37,80	2,00 (t, 2 H, <i>J</i> = 7,25	
	1,64 (m, 1 H)		Hz)	
25,00	1,24 (s, 3 H)	43,30	1,68 (m, 1 H)	
27,00	1,62 (m, 1 H)	123,70	5,50 (dd, 1 H, <i>J</i> = 5,25 e	
	2,29 (m, 1 H)		6,30 Hz)	
28,20	2,15 (m, 1 H)	125,00	5,54 (dd, 1 H, <i>J</i> = 5,5 e	
	2,45 (m, 1 H)		6,75 Hz)	
28,20	2,89 e 2,95 (dd, 2 H,			
	<i>J</i> = 5,25 e 6,30 Hz)			

Tabela 4. Dados de HSQC do extrato dos machos de L. longipalpis (em ppm).

Com base no espectro HSQC, pode-se observar que, dos 20 átomos de carbono do diterpeno, cinco não estão ligados a átomos de hidrogênio, sendo dois destes carbonos provenientes das duas duplas tri-substituídas e dois, da dupla tetra-substituída. O quinto carbono sem hidrogênios ligados é um átomo quaternário saturado, o que determina que as duas metilas (C 32,7 ppm, H 1,18 ppm e C 25 ppm, H 1,24 ppm) estão ligadas a este átomo de carbono.

Outro fato a ser observado é que, considerando a estrutura de diterpenos com três insaturações, o composto investigado é um biciclo. Esta afirmação é corroborada pelos dados espectroscópicos apresentados. O sinal de metino (C 43,3 ppm e H 1,68 ppm) é característico de uma cabeça de ponte. A ausência de um segundo sinal deste tipo sugere que um dos carbonos da dupla ligação tetra-substituída faz parte da outra cabeça de ponte. Avançando na análise dos espectros, pode-se afirmar que a estrutura aqui estudada não faz parte da classe dos cembrenos. A figura 15 mostra um exemplo de composto desta classe, o Cembreno A, isolado do óleo essencial de Olíbano-da-Somália (*Boswellia carteri*) (BASAR; KOCH; KONIG, 2001)

Figura 15. Cembreno A isolado de Boswellia carterii.



Fonte: BASAR; KOCH; KONIG, 2001

As figuras a seguir (Figura 16 e 17) mostram a relação de hidrogênio próximos entre si (COSY – *Correlation Spectroscopy*). A figura 16 mostra o espectro de COSY na região dos hidrogênios ligados a carbonos saturados e a figura 17, na região dos ligados a carbonos insaturados e sua relação com os demais. A tabela 2 contém os dados destes espectros.

Figura 16. Espectro COSY do extrato dos machos de *L. longipalpis* na região dos hidrogênios ligados a carbono saturados (¹H – 1,1-3,5 ppm; ¹H – 1,1-3,5ppm).



Figura 17. Espectro COSY do extrato dos machos de *L. longipalpis* na região dos hidrogênios ligados a carbonos insaturados (¹H – 5,0-5,9 ppm; ¹H – 1,5-5,6 ppm).



Tabela 5. Dados de COSY do extrato dos machos de L. longipalpis (em ppm).

¹³ C	$^{1}\mathrm{H}$	COSY	¹³ C	$^{1}\mathrm{H}$	COSY
16,30	1,66 (s, 3 H)	-	30,9	1,96 (m, 1 H)	1,62; 2,28;
				2,28 (m, 1 H)	2,29
22,10	1,74 (s, 3 H)	-	32,4	2,12 e 2,77 (ddd, 1 H,	1,68; 2,77;
				5,5; 6,75 e 7,20 Hz)	5,54
23,10	1,80 (s, 3 H)		32,7	1,18 (s, 3 H)	
24,10	1,51 (m, 1 H)	1,64; 2,00;	37,8	2,00 (t, 2 H, <i>J</i> = 7,25	1,51; 1,64
	1,64 (m, 1 H)	2,15; 2,45		Hz)	
25,00	1,24 (s, 3 H)	-	43,3	1,68 (m, 1 H)	1,68; 2,77;
					5,54
27,00	1,62 (m, 1 H)	1,96; 2,28;	123,7	5,50 (dd, 1 H, <i>J</i> =	2,95; 2,89
	2,29 (m, 1 H)	2,29		5,25 e 6,30 Hz)	
28,20	2,15 (m, 1 H)	1,51; 1,64;	125	5,54 (dd, 1 H, <i>J</i> = 5,5	2,12; 2,77
	2,45 (m, 1 H)	2,45		e 6,75 Hz)	
28,20	2,89 e 2,95 (dd, 2 H,	2,95; 5,5			
	<i>J</i> = 5,25 e 6,30 Hz)	2,89; 5,5			
Os dados de COSY, somados aos dos espectros anteriores, começam a delinear a estrutura do composto. Pode-se deduzir que a estrutura é composta de um ciclo de seis e outro de nove carbonos. Estes resultados sugerem que o terpeno pertence à classe dos verticilanos, (BEGLEY; JACKSON; PATTENDEN, 1990; BASAR; KOCH; KONIG, 2001; CHANG et, 2012). Para confirmar esta suspeita e atribuir os valores dos sinais à estrutura, analisou-se o espectro HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) (Figuras 18 e 19) da amostra.

Figura 18. A) Espectro HMBC do extrato de machos de *L. longipalpis* na região de ${}^{13}C - 5,0-50,0$ ppm; ${}^{1}H - 0,6-3,0$ ppm. B) Expansão do espectro na região de ${}^{13}C - 15,0-46,0$ ppm; ${}^{1}H - 1.0-2,0$ ppm.



Figura 19. A) Expansão do espectro de HMBC do extrato de machos de *L. longipalpis* na região de ${}^{13}C - 115,0-145,0$ ppm; ${}^{1}H - 0,8-3,2$ ppm. B) Expansão do espectro na região de ${}^{13}C - 115,0-145,0$ ppm; ${}^{1}H - 0,8-3,2$ ppm. C) Expansão do espectro na região de 13C - 15-40 ppm; 1H - 5,25-5,60 ppm.



A análise dos espectros HMBC confirmam o esqueleto de verticileno da estrutura. Através destes, é possível atribuir valores de δ aos carbonos quaternários: dois carbonos da dupla tetra-substituída (127,2 e 136,8 ppm); dois carbonos quaternários das duas duplas trisubstituídas (131,2 e 135 ppm); e o carbono (37,5 ppm) ligados a duas metilas (25 e 32,7 ppm). A tabela 3 relaciona os valores encontrados para todos os carbonos e hidrogênios da molécula e a figura 20 mostra as correlações obtidas através do COSY e do HMBC.

N°	¹³ C	¹ H	COSY	HMBC
1	43,30	1,68 (m, 1 H)	1,68; 2,77; 5,54	37,5 (C-15)
			1,68; 2,12; 5,54	
2	32,40	2,12; 2,77 (ddd, 1	1,68; 2,77; 5,54	43,3 (C1); 27 (C14); 125(C3);
		H, 5,5; 6,75 e 7,20 Hz)	1,68; 2,12; 5,54	131,2 (C4)
3	125,00	5,54 (dd, 1 H, <i>J</i> = 5,5 e 6,75 Hz)	2,12; 2,77	
4	131,20	-	-	-
5	37,80	2,00 (t, 2 H, <i>J</i> = 7,25 Hz)	1,51; 1,64	24,1 (C6); 131,2 (C5); 125 (C4)
6	24,10	1,51 (m, 1 H)	1,64; 2; 2,15; 2,45	37,1 (C5); 131,2 (C4)
		1,64 (m, 1 H)	1,51; 2; 2,15; 2,45	
7	28,20	2,15 (m, 1 H)	1,51; 1,64; 2,45	24,1 (C6); 123,4 (C9); 135 (8)
		2,45 (m, 1 H)	1,51; 1,64; 2,15	
8	135,00	-	-	-
9	123,70	5,50 (dd, 1 H, <i>J</i> = 5,25 e 6,30 Hz)	2,95; 2,89	28,2 (C10)
10	28,20	2,89 e 2,95 (dd, 2	2,95; 5,5	123,7 (C9); 135 (C8); 136,8 (C11)
		H, $J = 5,25 e 6,30$ Hz)	2,89; 5,5	
11	136,80	-	-	-
12	127,20	-	-	-
13	30,90	1,96 (m, 1 H)	1,62; 2,28; 2,29	
		2,28 (m, 1 H)	1,62; 1,96; 2,29	
14	27,00	1,62 (m, 1 H)	1,96; 2,28; 2,29	
		2,29 (m, 1 H)	1,62; 1,96; 2,28	
15	37,50	-	-	-
16	16,30	1,66 (s, 3 H)	-	37,8 (C5); 125 (C3); 131,2 (C4)
17	23,10	1,8 (s, 3 H)	-	28,2 (C7); 123,7 (9); 135 (C8)
18	22,10	1,74 (s, 3 H)	-	30,9 (C1); 127,2 (12); 136,8 (11)
19	25,00	1,24 (s, 3 H)	-	32,4 (C2); 43,3 (C1); 37,5 (C15); 136,8 (C11)
20	32,70	1,18 (s, 3 H)	-	43,3 (C1); 37,5 (C15); 136,8 (C11)

Tabela 6. Dados de COSY, HSQC e HMBC do extrato de machos de *L. longipalpis* (em ppm).





Enfim, com a combinação dos dados obtidos por CG/EM e ressonância, foi possível elucidar a estrutura do diterpeno encontrado no extrato dos machos de *L. longipalpis* como 4,8,12,15,15- Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno (Figura 21). Há um fato curioso sobre esta estrutura, diferente do que normalmente é encontrado para os verticilenos (BEGLEY; JACKSON; PATTENDEN, 1990; BASAR; KOCH; KONIG, 2001; CERDA-GARCÍA-ROJAS ET AL, 2007; CHANG et, 2012), a segunda dupla ligação do maior anel do biciclo (12 carbonos) é encontrada na posição 8 e não, na 9. O resultado apresentado nos espectros, sobretudo a relação entre o CH da dupla (δ 127,2 ppm, 5,5 ppm) e o metileno adjacente (δ 28,2 ppm, 2,89 e 2,95 ppm), não deixa dúvidas quanto à posição da insaturação.

Figura 21. Estrutura do 4,8,12,15,15- Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno.



Depois de definir o esqueleto do composto (Figura 21), faz-se necessária a determinação da configuração E/Z das duplas ligações. Para determinar a interação especial entre os átomos de hidrogênio e a configuração das duplas, analisou-se o espectro NOE (*Nuclear Overhauser Effect Spectrocopy*) (Figura 22) da amostra. Este experimento fornece informação sobre a interação espacial entre hidrogênios. Os átomos da dupla ligação foram escolhidos para a análise e os resultados estão sumarizados na tabela 4.





Tabela 7. Dados de NOE diferencial com pulsos em 5,50 e 5,54 ppm.

¹ H (ppm)	¹ H (ppm)
H-9 – 5,50	H-10 – 2,89 e 2,95; H-16 – 1,66; H-17 –
	1,80; H-19 – 1,25
H ₋ 3 – 5 54	H-2 – 2,12 e 2,77; H-5 – 2,00; H-7 – 2,15 e
11 5 5,54	2,45; H-14 – 2,29; H-19 – 1,24

O espectro NOE do hidrogênio ligado ao carbono 9 (Figura 22B) mostra suas interações espaciais com os hidrogênios próximos. Como já esperado, os hidrogênios do carbono 10 aparecem no espectro. As correlações com as metilas mais distantes (C-16 e C-19) podem ser explicadas pela livre rotação das ligações simples que circundam a dupla, o que faz com que os átomos estejam momentaneamente próximos o suficiente para que haja a interação. A correlação com os hidrogênios da metila vicinal (C-17) nos fornece a informação mais importante deste espectro. Para que estes átomos interajam, eles devem estar do mesmo lado da ligação π , determinando a configuração *Z* para esta.

O resultado observado para o H-3 (δ 5,54 ppm) (Figura 22C) não é o mesmo do anterior. De forma semelhante ao H-9, ele interage com os hidrogênios do carbono adjacente (H-2) e com a metila mais distante (C-19), mas a similaridade se resume a isso. As correlações com os hidrogênios dos carbonos 5 e 7 e, principalmente, a ausência de interação com a metila vicinal (C-16) mostram que esta dupla ligação tem configuração *E*. A figura 23 descreve as correlações apontadas pelo espectro NOE e a estrutura do verticileno produzido pelo inseto mosquito palha, o (*3E*,8*Z*)-4,8,12,15,15-Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno.

Figura 23. Correlações dos dados de NOESY (esquerda) e estrutura do (3E,8Z)-4,8,12,15,15-Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno.



Depois de elucidar a estrutura do verticileno, e como forma de comprovar a mesma, faz-se necessária a busca por uma rota sintética adequada para a obtenção do composto em laboratório.

4.2 SÍNTESE DO FEROMÔNIO DE L. longipalpis

A estratégia sintética adotada envolve cinco adições a um sínton cicloexenil por alquilação eletrofílica e nucleofílica, com uma reação chave que consiste em uma adição 1,4 catalizada por cobre, seguida de alquilação. Uma estratégia semelhante tem sido empregada com sucesso na síntese de um verticileno usado para estudar a biossíntese de alcaloides taxânicos (BEGLEY; JACKSON; PATTENDEN, 1990). A figura 24 mostra a análise retrossintética que embasa a estratégia a ser usada.



Figura 24. Rota retrossintética para a obtenção do verticileno, feromônio de L. longipalpis.

O esquema de retrossíntese descrito na figura 24 norteou a estratégia adotada, que foi adaptada ao longo do trabalho, conforme obstáculos surgiram. Inicialmente, foi necessário preparar o sínton de 10 carbonos a partir do Geraniol, um álcool diterpenoide encontrado em óleos essenciais de diversos gêneros de plantas (CHEN; VILJOEN, 2010). O composto a ser usado é um haleto de 3,7-Dimetil-2,7-octadieno e as etapas para sua preparação são descritas a seguir.

4.2.1. Síntese do Acetato de Geranila



Para produzir o sínton em questão, deve-se primeiro isomerizar a ligação π do geraniol do carbono 6 para o 7, através de uma adição eletrofílica à dupla com hipoclorito de *t*-butila, previamente preparado. A figura 25 mostra os espectros do hipoclorito.

Figura 25. Espectros de RMN 1 H (A) e 13 C (B) do hipoclorito de *t*-butila.



Esperava-se que a reação do geraniol com o hipoclorito de *t*-butila (Figura 26) gerasse um único produto, no entanto, uma mistura de compostos, o (E)-6-Cloro-3,7-dimetilocta-2,7dienol e o 2,6-dicloro-7-metil-3-metileno-7-octen-1-ol, foi formada. O efeito eletro-retirador do grupo hidroxila faz com que a densidade eletrônica da ligação π em C-2 seja menor do que em C-6 do Geraniol, mas não o suficiente para que a adição do haleto ocorra exclusivamente no carbono 6.

Figura 26. Reação do Geraniol com o Hipoclorito de t-butila.



Para contornar este problema, um método simples, porém bastante eficiente, foi usado: a hidroxila do álcool foi acetilada (Figura 27). A ideia é usar o grupo acetil para aumentar o efeito retirador sobre a dupla ligação e favorecer a monocloração no carbono 6. A reação é simples e o acetato de Geranila foi obtido de forma quantitativa. A figura 28 ilustra o espectro de RMN ¹H e a estrutura do acetato de geranila.

Figura 27. Reação de acetilação do Geraniol.



Figura 28. Espectro de RMN ¹H e estrutura do acetato de geranila.



O espectro acima (Figura 28) permite determinar a estrutura acetilada como único produto da reação, sem vestígios do material de partida. A elucidação estrutural deste composto é trivial e os sinais de hidrogênio correspondem a: dois tripletos de CH das ligações π (H-2 – δ 5,34 ppm, J = 7,10 Hz e H-6 – δ 5,08 ppm, J = 6,45 Hz); um dupleto do CH₂ ligado ao oxigênio e à dupla (H-1 – δ 4,59 ppm, J = 7,10 Hz); um tripleto (t) de CH₂ ligado à dupla (H-4 – δ 2,06 ppm, J = 6,90 Hz); um duplo tripleto (dt) do carbono entre um metileno e um C_{sp2}–H (H – δ 2,11, m); o simpleto de alta intensidade característico da metila do grupo acetil (δ – 2,05 ppm); e os simpletos das metilas do carbono 8 (δ – 1,71 ppm), e as ligadas aos carbonos 7 (δ 1,68 ppm) e 3 (δ 1,6).

4.2.2 Síntese do (E)-6-Cloro-3,7-dimetilocta-2,7-dienila.



A seguir, procedeu-se à reação do acetato de geranila com o hipoclorito de *t*-butila. A figura 29 ilustra o espectro do produto desta reação.

Figura 29. Espectro de RMN ¹H do acetato de (*E*)-6-Cloro-3,7-dimetilocta-2,7-dienila.



A partir do espectro da figura 29, é possível obter os valores de deslocamento para os hidrogênios do composto clorado: um tripleto de CH de ligação π (H-2 – δ 5,34 ppm, J = 7,10 Hz); dois simpletos de CH₂ de dupla terminal (H-8 – δ 4,91 e 5,02 ppm); um dupleto do carbono 1 (H-1 – δ 4,59 ppm, J = 7,10 Hz); um duplo dupleto do CH ligado ao átomo de cloro (H-6 – δ 4,35 ppm, J = 7,10 Hz); quatro multipletos muito próximos de dois CH₂ (H-4 – δ 2,18 e 2,16 ppm e H-5 – δ 2,1 e 2,08 ppm); o simpleto da metila do grupo acetil (δ – 2,05 ppm); e os simpletos das metilas ligadas aos carbonos 7 (δ – 1,72 ppm) e 3 (δ 1,82).

A isomerização da dupla ligação e a presença do cloro ligado ao carbono 6 confere algumas peculiaridades ao espectro, que não estavam presentes no material de partida. Os sinais em δ 4,91 e 5,02 ppm (H-8) aparecem como dois simpletos, pois o acoplamento entre hidrogênios vinílicos é muito pequeno ou inexistente ($^{2}J = 0-1$) (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). Além disto, agora ligado ao Cl, o carbono 6 é quiral e, por conseguinte, os hidrogênios dos carbonos 4 e 5 são diastereotópicos e geram os multipletos vistos no espectro. O acetato de (*E*)-6-Cloro-3,7-dimetilocta-2,7-dienila foi obtido como único produto, com rendimento de 79%.

4.2.3 Síntese do (*E*)-3,7-Dimetilocta-2,7-dienol.



De posse do composto com as duplas nas posições desejadas, o passo seguinte consiste na redução do acetato ao álcool e saída do átomo de cloro, através da reação com hidreto de lítio e alumínio (LiAlH₄). A figura 30 mostra o espectro do produto formado.

Figura 30. Espectro de RMN ¹H do (E)-3,7-Dimetilocta-2,7-dienol.



Nesta reação, há duas reduções ocorrendo. A primeira, do éster ao álcool, acontece muito rapidamente, após a adição do LiAlH₄. A substituição do cloro por hidrogênio, por outro lado, requer mais tempo e energia, exigindo que a reação seja feita sob refluxo. Os dados espectroscópicos (Figura 30) mostram os seguintes valores de deslocamento para os hidrogênios: um tripleto de CH de ligação π (H-2 – δ 5,43 ppm, J = 6,90 Hz); dois simpletos de CH₂ de dupla terminal (H-8 – δ 4,69 e 4,72 ppm); um dupleto do carbono 1 (H-1 – δ 4,17 ppm, J = 6,90 Hz); os dois tripletos, com deslocamentos quase idênticos, dos hidrogênios ligados aos carbonos 4 e 6 (H-4 – δ 2,01 ppm, J = 7,60 Hz e H-6 – δ 2,02ppm, J = 7,60 Hz); um quinteto (qt) do metileno em posição 5 (H-5 – δ 1,59 ppm, J = 7,60 Hz); e os simpletos das metilas ligadas aos carbonos 7 (δ – 1,69 ppm) e 3 (δ 1,73).

4.2.4 Síntese do Brometo de (E)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila



Para finalizar a preparação do sínton de 10 carbonos, é necessário substituir a hidroxila do álcool por um grupo que permita o acoplamento α à carbonila da cicloexanona, como indicado na retrossíntese (Figura 24). O candidato inicialmente escolhido foi o cloro, contudo, a reação da cetona cíclica com o cloreto de (*E*)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila não ocorreu. Na tentativa de aumentar a reatividade, decidiu-se preparar o brometo, a partir do álcool. A figura 31 mostra o espectro de RMN ¹H do brometo de (*E*)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila.





O espectro do Brometo de (*E*)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila (Figura 31) mostra valores de deslocamento muito semelhantes ao do álcool corresponde: um tripleto de CH de ligação π (H-2 – δ 5,56 ppm, *J* = 8,45 Hz); dois simpletos de CH₂ de dupla terminal (H-8 – δ 4,69 e 4,73 ppm); um dupleto do carbono 1 (H-1 – δ 4,05 ppm, *J* = 8,45 Hz); os dois tripletos dos hidrogênios ligados aos carbonos 4 e 6 (H-4 – δ 2,0 ppm, *J* = 7,60 Hz e H-6 – δ 2,06 ppm, *J* = 7,60 Hz); um quinteto (qt) do metileno em posição 5 (H-5 – δ 1,59ppm, *J* = 7,60 Hz); e os simpletos das metilas ligadas aos carbonos 7 (δ – 1,73 ppm) e 3 (δ 1,74 ppm). O composto bromado foi obtido com bom rendimento (88 %)

4.2.5 Síntese da (E)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoxi-2-cicloexenona



Com o brometo preparado, foi possível seguir para a próxima etapa da síntese: o acoplamento com a cicloexenona. Para as alquilações seguintes, os métodos escolhidos foram semelhantes. Os acoplamentos acontecem na posição α em relação à carbonila, um metal ligado a um grupo alquil é usado para formar um enolato a partir da cetona. A cadeia que se deseja acoplar, ligada a um grupo abandonador, reage com o enol e regenera a dupla ligação da carbonila (KOHLER et al, 2013). A figura 32 ilustra o mecanismo geral para este tipo de acoplamento, usando a enolização da cicloexanona com o di-isopropilamideto de Lítio (LDA) como exemplo.





A primeira tentativa de alquilação à 3-Isobutoxi-2-cicloexenona, como discutido anteriormente, foi feita com o cloreto de (E)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila, mas o rendimento reacional foi baixo (18,28%). O brometo de (E)-3,7-dimetilocta-2,7-dienila, cuja preparação é

descrita anteriormente, foi então usado e a reação é descrita na figura 32. Os espectros de RMN ¹H (Figura 33) e ¹³C (Figura 34) e os dados obtidos a partir destes espectros (Tabela 5) são vistos a seguir.



Figura 33. A) Espectro de RMN ¹H da (*E*)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoxi-2cicloexenona. B) Expansão do espectro na região de 1,8-2,7 ppm.

Figura 34. Espectro de RMN ¹³C da (E)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoxi-2-cicloexenona.



N°	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
1	200	-
2	102,3	5,34 (s, 1 H)
3	177	-
4	28,15	2,05; 1,97 (dd, 2 H, <i>J</i> = 7,6 Hz)
5	25,97	1,62; 1,58 (m, 2 H)
6	45,6	2,57 (m, 1 H)
1'	74,7	3,60 (d, 2 H, <i>J</i> = 8,75 Hz)
2'	27,97	1,67 (m, 1H)
3'	19,1	0,99 (d, 6 H, <i>J</i> = 6,65 Hz)
1"	27,73	2,14; 2,22 (m, 2 H)
2"	122	5,15 (t, 1 H, <i>J</i> = 6,75 Hz)
3''	137	-
4''	37,4	1,99 (m, 2 H)
5''	25,9	1,55 (m, 2 H)
6''	39,4	2,02 (m, 2 H)
7"	1146	-
8''	110	4,68 (s, 1 H) ; 4,71 (s, 1 H)
3''-Me	16,1	1,73 (s, 3 H)
7''-Me	22,4	1,63 (s, 3 H)

Tabela 8. Dados de RMN ¹H e ¹³C da (E)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-Isobutoxi-2-cicloexenona.

Os valores de deslocamento do grupo (*E*)-6-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil) (numeração 1''-7''-Me), já visto no brometo sintetizado anteriormente, apresentam pouca variação em relação à estrutura antes do acoplamento, sendo a mais digna de nota a mudança do tripleto do hidrogênio ligado ao carbono 1 (δ 4,05 ppm) para dois ddd (δ 2,14 e 2,22 ppm), um para cada H do carbono 1''. A saída do átomo de bromo é responsável pela mudança no deslocamento, sem um grupo retirador de elétrons ligado, estes hidrogênios aparecem em região mais protegida do espectro. A multiplicidade, variando de t para ddd, deve-se à quiralidade do carbono 4 do anel, fazendo com que os hidrogênios, agora diastereotópicos, interajam de maneira diferente.

O rendimento desta reação, apesar de relativamente baixo (37,70 %), representa grande avanço em relação ao alcançado com o cloreto corresponde (18,28 %). Esta foi a primeira das cinco alquilações a serem feitas na cicloexenona. A etapa seguinte da rota sintética é descrita a seguir.

4.2.6 Síntese da (E)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona.



A reação a seguir também usa um organolítio (MeLi) para inserir um grupo alquil na estrutura, porém de maneira diferente do que foi visto anteriormente. Neste caso, ocorre uma adição 1,2 à carbonila, onde o grupo metil é adicionado. A reação posterior com o ácido leva à saída do oxigênio, na forma de LiOH, e ao rearranjo do grupo isobutoxi e da ligação π conjugada, com formação de isobutanol (Figura 35).

Figura 35. Mecanismo da reação de formação da (*E*)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2cicloexenona.



Os espectros de RMN (Figuras 36 e 37), e os dados obtidos a partir destes espectros (Tabela 6), para a (E)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona são mostrados a seguir.

Figura 36. Espectro de RMN ¹H da (*E*)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona.



Figura 37. Espectro de RMN ¹³C da (*E*)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona.



Nº	¹ H (ppm)	¹³ C (ppm)
1	-	199,75
2	5,87 (s, 2 H)	126,92
3	-	165,92
4	2,45 (td, 1 H, 5,5 Hz)	40
5	1,54; 1,85 (m, 2 H)	26,53
6	2,35; 2,32 (m, 2 H)	34,04
3-Me	2,00 (s, 3 H)	23,09
1'	2,31; 2,21 (m, 2 H)	29,65
2'	5,15 (dd, 1 H, <i>J</i> = 6,25 e	121,83
	6,85 Hz)	
3'	-	137,66
4'	2,00 (m, 2 H)	37,39
5'	1,56 (qt, 2 H, <i>J</i> = 7,45 Hz)	25,89
6'	2,02 (m, 2 H)	39,37
7'	-	145,89
8'	4,72; 4,68 (2 s, 2 H)	109,89
3'-Me	1,73 (s, 3 H)	16,16
7'-Me	1,64 (s, 3 H)	22,4

Tabela 9. Dados de RMN 1H e 13C da (E)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona.

Como no caso anterior, os dados de RMN da cadeia lateral de 10 carbonos não sofrem grandes modificações. No esqueleto da cicloexenona, o simpleto de H-2, agora conjugado à carbonila, e portanto, mais desprotegido, apresenta maior deslocamento (δ 5,87 ppm). O dd do hidrogênio ligado ao carbono 4 está conjugado à ligação dupla, o que também muda o valor do sinal (δ 2,45 ppm).

A (*E*)-4-(3,7-Dimetilocta-2,7-dienil)-3-metil-2-cicloexenona foi preparada com alto rendimento (82,35%) e elevada pureza, visto que o produto secundário formado (isobutanol) pode ser facilmente retirado da mistura reacional quando está é lavada com água destilada.

4.2.7 Síntese da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona



As duas alquilações seguintes se mostraram o maior desafio até aqui. A proposta inicial envolvia uma adição 1,4 à carbonila, usando um organolítio cuprato como intermediário, com posterior alquilação α carbonila, envolvendo a química de enolatos já discutida. A figura 38 ilustra estas duas reações.

Figura 38. Rota inicialmente proposta para a formação da (*E*)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona.



A primeira etapa da reação descrita acima (Figura 38), apesar de apresentar alguns problemas, sobretudo quanto à estabilidade do enolato, foi realizada sem maiores contratempos. A segunda reação, no entanto, provou-se extremamente complexa. O enol formado com o Trimetilsilano (TMS) deveria ser acoplado ao grupo alil na posição 2 do ciclo. Esta posição, contudo, é estericamente impedida pelos grupos adjacentes e muito pouco reativa. As primeiras tentativas levaram à protonação do enol ou ao rearranjo da dupla ligação do carbono α do lado oposto, com alquilação, mas em posição não desejada (Figura 39).

Figura 39. Cicloexanonas formadas nas primeiras tentativas de alquilação.



Adaptações foram feitas na rota planejada, visando aumentar a reatividade e a régioseletividade da reação. Usou-se, *a priori*, o bromo como grupo abandonador para a alquilação, com o brometo de alila, considerando o melhor rendimento reacional encontrado na alquilação com o isômero do brometo de Geranila. No presente caso, este haleto de alquila não se mostrou suficientemente reativo e a reação foi, então, feita com o iodeto de alila.

A reação com o iodeto aumentou a reatividade, porém, não resolveu o problema da seletividade e a alquilação se dava na posição errada da cadeia. A temperatura é, também, um fator determinante, o maior aporte de energia eleva a reatividade, mas aumenta ainda mais o rearranjo do enol. A adição de um sal de flúor (Fluoreto de benziltrimetilamônio) foi reportada como capaz de estabilizar o enolato e evitar o rearranjo da dupla ligação (KUWAJIMA; NAKAMURA; SHIMIZU, 1982), contudo, no presente estudo esse efeito não foi alcançado.

Finalmente, um método para alquilação desta cetona estericamente impedida foi encontrado. Observou-se que a troca do solvente, de THF para DME, foi possível conseguir a alquilação na posição desejada, ainda que em mistura com os produtos descritos anteriormente. O solvente, associado à temperatura reduzida, limitou o rearranjo do enol, permitindo que o produto esperado fosse formado.

Contudo, a etapa inicial, a adição 1,4, requer o Et₂O como solvente, as reações deste tipo feitas em suspensão em THF e DME não funcionaram. Neste tipo de reação, o MeLi reage com um sal de cobre (CuI) e forma uma estrutura coordenada de Me₄Cu₂Li₂ (YOSHIKAI; NAKAMURA, 2012), dependente do solvente usado, o que leva à adição 1,4, em contraste com a adição 1,2 observada para a reação com o MeLi isolado. Com isto, a primeira reação seria feita em um solvente e a segunda, em outro. A solução encontrada foi realizar a adição 1,4 com o cuprato em éter etílico e, ao fim desta, retirar o éter sob pressão reduzida, suspender a mistura em DME e proceder à segunda etapa da reação.

Mais uma mudança foi feita nesta etapa. Eliminou-se o intermediário com TMS, pois a elaboração da reação, que envolve a lavagem com água destilada, acrescenta o risco de protonação do enol, regenerando a carbonila, o que impossibilitaria a alquilação seguinte. Assim, depois da troca de solventes, o HMPA é adicionado para facilitar a saída do Lítio, e como auxílio na estabilização do enol e na redução do rearranjo (HEICH, H. J; SIKORSKI, W., 1999), e o acoplamento com o iodeto de alila finaliza a reação. Com estas alterações, e após purificação em coluna cromatográfica, foi possível obter o produto desejado. A figura 40 mostra a reação descrita e a figura 41, o mecanismo pelo qual esta acontece.

Figura 40. Reação de formação da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona.



Figura 41. Mecanismo da reação de formação da (*E*)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona.



As figuras 42 e 43 mostram os espectros de ¹H e ¹³C da (*E*)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona e a tabela 7, os dados obtidos a partir destes espectros.





Figura 43. Espectro de RMN ¹³C da (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)cicloexanona.



	cicioexanona.	
Nº	¹³ C	$^{1}\mathrm{H}$
1	214,20	-
2	61,44	2,17 (dd, 1 H, <i>J</i> = 7,8 Hz)
3	65,89	-
4	42,10	1,68 (m, 1 H)
5	27,15	1,54; 1,98 (m, 2 H)
6	39,40	2,01 (m, 2 H)
3-Me	23,51	0,93 (s, 3 H)
3-Me	25,99	0,99 (s, 3 H)
1'	30,95	2,30; 2,40 (m, 2 H)
2'	136,35	5,68 (m, 1 H)
3'	115,95	4,98; 5,04 (dd, 2 H, <i>J</i> = 5,5 e
		10,1 Hz)
1''	40,30	2,20; 2,30 (m, 2 H)
2''	126,50	5,16 (dd, 1 H, <i>J</i> = 6,2 e 7,2
		Hz)
3"	136,31	-
4''	37,40	1,99 (m, 2 H)
5''	25,92	1,56 (m, 2 H)
6''	38,10	2,25; 2,32 (m, 2 H)
7"	146,04	-
8''	109,89	4,69; 4,73 (2 s, 2 H)
3''-Me	16,16	1,63 (s, 3 H)
7" - Me	22,47	1,74 (s, 3 H)

Tabela 10. Dados de RMN ¹H e ¹³C da (*E*)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)cicloexanona.

O produto com a alquilação na posição adequada foi alcançado e, apesar do baixo rendimento encontrado nesta etapa (16,44 %), esta reação representa grande avanço na química de adições em posição α em cetonas estericamente impedidas.

4.2.8 Metátese de Fechamento de Anel

Agora que a cicloexanona apresenta os grupos alquil nas posições desejadas, pode-se seguir para a ciclização do composto, através de reação de metátese de fechamento de anel (RCM – *Ring Closing Metathesis*). Esta consiste em uma reação intramolecular, assistida por um catalisador metálico, onde duas ligações π terminais se condensam em uma, com a perda de um grupo C₂H₄. (GRUBBS, 2006) A figura 44 ilustra o ciclo catalítico da RCM.





Para a reação de metátese foram usados os catalisadores de Grubbs (1ª geração) e de Hoveyda-Grubbs (2ª geração) (Figura 45). A reação de formação do esqueleto do verticileno é apresentada na figura 46.

Figura 45. Estruturas dos catalisadores usados nas reações de metátese.



Figura 46. Reação de formação da 4,8,15,15-Tetrametilbiclo[9.3.1]pentadeca-3,8-dien-12-ona.



A reação de metátese não gerou o produto desejado. Diversas condições reacionais foram testadas: mudou-se o solvente utilizado de Benzeno, ponto de ebulição (p.e.) de 80,1 °C para Tolueno (p.e. = 110,6 °C), a fim de averiguar se a energia extra fornecida durante o refluxo do solvente seria capaz de viabilizar a reação; o tempo de reação também foi variado; e mudou-se o catalisador de 1ª para 2ª geração. Nenhuma das condições, no entanto, levou à formação do produto esperado.

Inicialmente, pensou-se que a ausência de reação entre as duas duplas terminais da estrutura resultou da inespecificidade do catalisador de Grubbs de primeira geração (GOSH; GOSH; SARKAR, 2006). Para testar esta hipótese, foi o usado o catalisador de Hoveyda-Grubbs de segunda geração, desenvolvido a fim de facilitar a formação de ligações duplas trisubstituídas (HOVEYDA; ZHUGRALIN, 2007). Mesmo sob estas condições, o produto não foi obtido. O aumento da temperatura de reação tampouco surtiu o efeito desejado. Para que a reação de metátese ocorra, as duas ligações π precisam estar suficientemente próximas para que haja interação. Isto exige que pelo menos um, se não os dois, dos substituintes no anel a serem ligados, o grupo alil e o grupo 3,7-Dimetil-2,7-octadienil, esteja em posição axial (Figura 47). A ausência de reação sugere que os dois grupos estão afastados e, por conseguinte, em posição equatorial na cicloexanona e que, mesmo com a energia fornecida pelo refluxo do solvente, estas não se convertem para a posição axial.

Figura 47. Estrutura da (*E*)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona com os substituintes em posição equatorial (A) e axial (B).



Diante do exposto, foi possível identificar um novo feromônio sexual do inseto L. longipalpis como o (3E,8Z)-4,8,12,15,15-Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno e realizar a síntese de seu precursor, (E)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona. Estudos posteriores são necessários a fim de encontrar uma metodologia adequada para o fechamento do maior anel do biciclo e conclusão da síntese do verticileno.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Através das técnicas de CG/EM e RMN, foi possível elucidar a estrutura de um novo feromônio sexual do mosquito palha, *L. longipalpis*, vetor do protozoário *Leishmania chagasi*, agente causador da leishmaniose visceral. Foi possível ainda determinar as configurações das duplas ligações presentes e a estereoquímica do composto, o diterpeno (3*E*,8*Z*)-4,8,12,15,15-Pentametilbiciclo[9.3.1]pentadeca-3,8,11-trieno.

A rota sintética utilizada permitiu a obtenção e caracterização do precursor do feromônio, a (*E*)-2-Alil-3,3-dimetil-4-(3,7-dimetilocta-2,7-dienil)-cicloexanona.

Estudos posteriores são necessários a fim de formar o maior anel do biciclo e concluir da síntese do feromônio. Faz-se necessária também a busca por uma fonte renovável de um dos precursores, visando a produção em larga escala do feromônio sexual de *L. longipalpis*.

6. REFERÊNCIAS

ASAKAWA, Y. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**. Springer-Verlag Vienna, 1995.

BASAR, S.; KOCH, A.; KÖNIG, W. A. A verticillane-type diterpene from *Boswellia carterii* essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, p. 315-318, 2001.

BAUZER, L. G. S. R.; SOUZA, N. S.; MAINGON, R. D. C.; PEIXOTO, A. A. Lutzomyia longipalpis in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 1-12, 2007.

BEGLEY, M. J.; JACKSON, B. J.; PATTENDEN, G. Total synthesis of verticillene. A biomimetic approach to the taxane family of alkaloids. **Tetrahedron**, v. 46, p. 4907-4924, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade. Brasília, 2011

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Leishmaniose Visceral: Situação epidemiológica. Brasília, 2014.

CERDA-GARCÍA-ROJAS, C. M.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, H. A.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. D.; ROMÁN-MARÍN, L. U.; JOSEPH-NATHAN, P. Absolute configuration of verticillane diterpenoids by vibrational circular dichroism. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 1167-1172, 2007.

CHANG, J-Y; FAZARY, E. A.; LIN, Y-C; HWANG, T-L; SHEN, Y-C. New verticillane diterpenoids from Cespitularia taeniata. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, p. 654-661, 2012.

CHEN, W.; VILJOEN, A. M. Geraniol – A review of a commercially important fragrance material. **Sauth African of Botany**, v.76, n4, p. 643-651, 2010.

CONN, J. E.; MIRABELLO, L. The biogeography and population genetics of neotropical vector species. **Heredity**, v. 99, p. 245–256, 2007.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. John Wiley & Sons, 3^a ed., 2009.

ERDTMAN, H.; NORIN, T.; SUMIMOTO, M.; MORRISSON, A. Verticillol, A Novel Type of Conifer Diterpene. **Tetrahedron Letters**, v. 51, p. 3879-3886, 1964.

GOSH, S.; GOSH, S.; SARKAR, N. Factors influencing ring closure through olefin metathesis – A perspective. **Journal of Chemical Science**, v. 118, n. 3, p.223-235, 2006.

GRUBBS, R. H. Olefin-Metathesis Catalysts for the Preparation of Molecules and Materials (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, p. 3760-3765, 2006.

HAMILTON, J. G. C.; BRAZIL, R. P; MAINGON, R. A fourth chemotype of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae) from Jaíbas, Minas Gerais, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 1021-1026, 2004,

HAMILTON, J. G. C.; DAWSON, G. W.; PICKETT, J. A. 3-Methyl-α-himachalene: Proposed structure for novel homosesquiterpene from the sex pheromone glands of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) from Jacobina, Brazil. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 2331-2340, 1996b.

HAMILTON, J. G. C.; DAWSON, G. W.; PICKETT, J. A. 9-Methyogermacrene-B: Proposed structure for novel homosesquiterpene from the sex pheromone glands of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) from Lapinha, Brazil. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 1477-1491, 1996a.

HAMILTON, J. G. C.; HOOPER, A. M.; MORI, K; PICKETT, J. A.; SANO, S. 3-Methyl-ahimachalene is confirmed, and the relative stereochemistry defined, by synthesis as the sex pheromone of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* from Jacobina, Brazil. **Chemical Communications**, p. 355-356, 1999b.

HAMILTON, J. G. C.; MAINGON, R. D. C.; ALEXANDER, B.; WARD, R. D.; BRAZIL, R. P. Analysis of the sex pheromone extract of individual male *Lutzomyia longipalpis* sandflies from six regions in Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 19, p. 480-488, 2005.

HAMILTON, J.G. C.; HOOPER, A. M.; IBBOTSON, H. C.; KUROSAWA, S.; MORI, K; MUTO, S; PICKETT, J.A. 9-Methylgermacrene-B is confirmed as the sex pheromone of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* from Lapinha, Brazil and the relative stereochemistry defined as S. Chemical Communications, p. 2335-2336, 1999a.

HOVEYDA, A. H.; ZHUGRALIN, A. R. The remarkable metal-catalysed olefin metathesis reaction. **Nature**, v. 450, n.8, p. 243-251, 2007.

KARLSSON, B.; PILOTTI, A.-M.; SODERHOLM, A.-C. The structure and absolute configuration of Verticillol, a macrocyclic diterpene alcohol from the wood of *Sciadopitys verticillata* Sieb. Et Zucc. (Taxodiaceae). **Tetrahedron**, v. 34, p. 2349-2354, 1978.

KOHLER, M. C.; WENGRYNIUK, S. E.; COLTART, D. M. Asymmetric α-Alkylation of Aldehydes, Ketones, and Carboxylic Acids. In: **Stereoselective Synthesis of Drugs and Natural Products**. John Wiley & Sons, P.183-213, 2013.

KUWAJIMA, I.; NAKAMURA, E.; SHIMIZU, M. Floride-mediated reactions of enol silyl ethers. Regiospecific monoalkylation of ketones. **Journal of American Chemical Society**, v. 104, p. 1025-1030, 1982.

LANE RP, P. A.; MOLYNEUX, D. H.; PROCTER, G.; WARD, R. D. Chemical analysis of the abdominal glands of two forms of *Lutzomyia longipalpis*: site of a possible sex pheromone? **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 79, p. 225-229, 1985.

LANE, R. P.; WARD, R. D. The morphology and possible function of abdominal patches in males of two forms of the Leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: PHLEBOTOMINAE). Cahiers de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Série Entomologie Médicale et Parasitologie, v. 22, n. 3, p. 245-249, 1984.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. Introduction to spectroscopy: A guide for students of organic chamistry, 3^a ed., Thompson Learning, 2001.

PICKETT, J. A.; ARADOTTIR, G. I.; BIRKETT, M. A.; BRUCE, T. J. A.; HOOPER, A. M.; MIDEGA, C. A. O; JONES, H. D. MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; PITTCHAR, J. O.; SMART, L. E.; WOODCOCK, C. M.; KHAN, Z. R. Delivering sustainable crop protection systems via the seed: exploiting natural constitutive and inducible defence pathways. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 369, p. 1-9, 2014.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. Farmacologia. Ed. Churchill Livinstone. 5^a ed., 2003

REICH, H. J.; SOKORSKI, W. H. Regioselectivity of addition of organolithium reagents to enones: The role of HMPA. **Journal of Organic Chemistry**, v. 64, p. 14-15, 1999.

SOARES, R. P. P.; TURCO, S. J. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): A review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 3, p.301-330, 2003.

SOUZA, W. Doenças negligenciadas. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, RJ, 2010.

TRACY, J. W.; WEBSTER, L. T. Fármacos usados na quimioterapia das infecções por protozoários In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.: GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman – As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, Ed. McGraw-Hill Interamerica do Brasil Ltda., 10^a ed., 2005.

WANG, Y.-F.; SU, X.-H.; LI, L.-G.; WANG, W. ZHANG, M.L.;HUO, C.-H.; SHI,Q.-W. Verticillane Derivatives from Natural Sources. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, p. 1661-1673, 2009.

WATTS, P. C.; HAMILTON, J. G. C.; WARD, R. D.; NOYES, H. A.; SOUZA, N. A.; KEMP, S. J.; FELICIANGELI, M. D.; BRAZIL, R. MAINGON, R. D. C. Male sex pheromones and the phylogeographic structure of the *Lutzomyia longipalpis* species complex (Diptera: Psychodidae) from Brazil and Venezuela. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, p. 734-743, 2005.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Leishmaniasis. Disponível em: <u>http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/</u>

YOSHIKAI, N.; NAKAMURA, E. Mechanisms of nucleophilic organocopper (I) reactions. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 2339-2372, 2012.

CAPÍTULO III Metodologia para a Síntese do feromônio sexual do besouro da raiz da cana-de-açúcar, *Migdolus fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE).





00.000.2.2.17.0014092.7

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2017 000486 4

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica CPF/CNPJ: 24464109000148 Nacionalidade: Brasileira Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins Cidade: Maceió Estado: AL CEP: 57072-970 País: Brasil Telefone: 82-3214-1064 Fax: 82-3214-1035 Email: nit@propep.ufal.br Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: INTERACTA QUÍMICA LTDA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 04487566000140

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Microempresa assim definida em lei

Endereço: Universidade Federal de Alagoas, Prefeitura universitária, Campus A. C. Simões, Tabuleiro dos Martins Cidade: Maceió Estado: AL CEP: 57072-970 País: BRASIL Telefone: (82) 303 73395 Fax:

Email: interactaquimica@gmail.com
Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): METODOLOGIA PARA A SÍNTESE DO FEROMÔNIO SEXUAL DO BESOURO DA RAIZ DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Migdolus fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)

Resumo: O coleóptero Migdolus fryanus representa uma importante ameaça à cultura de cana-de-acúcar no centro-sul do país. Suas larvas se alimentam da raiz da planta e o inseto passa a maior parte de sua vida no subsolo, o que torna seu controle por meio de pesticidas um desafio. Neste contexto, o uso de feromônios como alternativa para o controle desta praga ganha força, impulsionando o crescimento do interesse na síntese de tais compostos. A presente invenção tem como objetivo propor uma rota sintética de alto rendimento e baixo custo para a 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida, feromônio sexual do coleóptero M. fryanus. O composto é preparado através de reação de quantidades equimoleculares de 2-Metilbutilamina e de ácido 2-Metilbutanóico sob aquecimento (150 °C) por 4 horas. A água formada foi retida em peneira molecular. A síntese da amida passa por um intermediário com um nitrogênio quaternário. Depois de formado, este é condensado, levando à amida e à liberação de uma molécula de água. A reação levou à formação quantitativa da 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida como único produto. O método utilizado se mostrou eficiente para síntese, apresentando elevado rendimento reacional em uma única etapa.

Inventor 1 de 4

Nome: ANTÔNIO EUZÉBIO GOULART SANTANA

CPF: 11867760649

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Pref. Abdon Arroxelas 58 apto 903, Jatiuca

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57035-380

País: BRASIL

Telefone: (82) 988 506526

Fax:

Email: aegsal@gmail.com

Inventor 2 de 4

Nome: VANDERSON BARBOSA BERNARDO

CPF: 01391467418

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Ed. Olímpio Barros 1050, Ap. 204. Rua Tancredo de Almeida Neves, Barro Duro Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57045-570

País: BRASIL

Telefone: (82) 996 578970

Fax:

Email: vanderson_bb@hotmail.com

Inventor 3 de 4

Nome: HENRIQUE FONSECA GOULART

CPF: 03797757433

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Av. dr. Antonio Gomes de Barros, 123. Apt. 702 BI 02, Jatiuca

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57036-000

País: BRASIL

Telefone: (82) 999 828097

Fax:

Email: fonsecagoulart@gmail.com

Inventor 4 de 4

Nome: MARIA RAQUEL FERREIRA DE LIMA

CPF: 67954758400

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Avenida Professor Vital Barbosa, 73, Ed. Porto Montt, Ap.302, Ponta Verde

Cidade: Maceó Estado: AL CEP: País: BRASIL Telefone: (82) 988 183182 Fax: Email:

Documentos anexados

Tipo Anexo Comprovante de pagamento de GRU 200 Relatório Descritivo Reivindicação Desenho Resumo Nome GRU paga Vanderson.pdf Relat+!rio.pdf REIVINDICA+ç+òES.pdf DESENHOS.pdf RESUMO.pdf

Relatório Descritivo da Patente de Invenção de METODOLOGIA PARA A SÍNTESE DO FEROMÔNIO SEXUAL DO BESOURO DA RAIZ DA CANA-DEAÇÚCAR, *Migdolus fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)

[001] Metodologia para a síntese racêmica e esteriosseletiva do Frianol (2'Metilbutil-2-metilbutilamida), feromônio sexual do coleóptero *Migdolus. fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE), em uma etapa.

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER

[002] O coleóptero *Migdolus fryanus* representa grave ameaça a diversas culturas agrícolas no Brasil, causando extensos danos às plantações de canadeaçúcar. Dez espécies do gêreno *Migdolus* (Coleoptera: CERAMBYCIDAE) são encontradas no país, sendo o *M. fryanus* a mais prevalente. [BENTO, J. M. S.; ALBINO, F. E.; DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. Field trapping of Migdolus fryanus Westwood (Coleoptera: CERAMBYCIDAE) using natural sex pheromone. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 2, p. 245-251, 1992; MACHADO, L. A.; HABIB, M.; *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Coleoptera: VESPERIDAE): praga da cultura de cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 3, p.375-381, 2006]

[003] O maior dano causado pelo besouro ocorre ainda no início de seu ciclo biológico, as larvas penetram no solo e se alimentam das raízes das plantas. Os insetos adultos também passam a maior parte do tempo sob a terra, sobretudo as fêmeas, que emergem apenas durante o período de acasalamento [WILCKEN, C. F.; ORLATO, C.; OTTATI, A. L. T. Ocorrência de *Migdolus fryanus* (Coleoptera: CERAMBYCIDAE) em plantios de *Pinus caribaea* var. *hondurensis.* **Revista Árvore**, v. 29, n. 1, p.171-173, 2005]. O uso de inseticidas em larga escala, visando reduzir as perdas causadas por pragas agrícolas, foi intensificado nos últimos anos do século passado (GOULART, H. F.; LIMA, M. R. F.; DE MORAIS, R. K. S.; BERNARDO, V. B. Feromônios: Uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1205-1224, 2015), contudo, o fato de o inseto passar a maior parte de sua vida no subsolo torna seu controle químico um desafio.

[004] Formas alternativas de manejo foram desenvolvidas a fim de minimizar os danos à cultura, mantendo a viabilidade econômica e reduzindo o impacto associado ao uso exacerbado de agrotóxicos. A destruição das plantas atacadas pode diminuir a população dos insetos, contudo, além da elevada demanda de mão-de-obra, leva, obviamente, à perda de produtividade. Parasitas também vem sendo usados no combate ao besouro, nematoides entomopatogênicos atacam ovos e larvas de *M. fryanus* (MACHADO, L. A.; HABIB, M.; LEITE, L.G.; GOULART, R.M.; TAVARES, F.M.; CALEGARI, L.C.; LAINETI, D.O. Controle de *Migdolus fryanus* na cultura da cana-de-açúcar com nematóides. In: **Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**, Anais. Catanduva, p. 6572, 2003) e representam uma opção promissora de manejo.

[005] O estudo dos semioquímicos produzidos pelo inseto representa grande avanço em seu controle. Bento e colaboradores [BENTO, J. M. S.; ALBINO, F. E.; DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. Field trapping of Migdolus fryanus Westwood (Coleoptera: CERAMBYCIDAE) using natural sex pheromone. Journal of Chemical Ecology, v. 18, n. 2, p. 245-251, 1992] provaram a eficiência de armadilhas contendo fêmeas do besouro na captura de machos da espécie, demonstrando que a atração é mediada por feromônio sexual. Entre os compostos liberados pelos machos, foi possível identificar o responsável pelo efeito atrativo, a amida N-2'S-Metilbutil-2-metilbutilamida (LEAL, W. S.; BENTO, J. M. S.; VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. Female sex pheromone of the longhorn beetle Migdolus fryanus Westwood: N-(2'S)-methylbutanoyl 2methylbutylamine. Experientia, n. 50, p. 853-856, 1994). A eficiência das armadilhas também está associada a fatores climáticos, sobretudo temperatura e umidade (BENTO, J. M.; DELLA LUCIA, T. M. C.; FRIGHETTO, R. T. S. Male response to natural sex pheromone of *Migdolus fryanus* Westwood (Coleoptera: CERAMBYCIDAE) females as affected by daily climatic factors. Journal of Chemical Ecology, v. 19, n. 10, p. 2347-2351, 1993). O feromônio, aqui nomeado como Frianol, pode ser usado para monitoramento populacional, de forma a indicar o momento adequado para a aplicação do inseticida, ou na coleta massal do inseto.

[006] A síntese total dos quatro isômeros possíveis para a amida foi realizada em nove etapas, usando o 2-Metilbutan-1-ol como intermediário chave. A rota sintética estabelecida, apesar da extrema relevância química, não se aplica ao âmbito comercial, pois o custo de produção associado ao número de etapas é muito elevado. O rendimento global é também um fator limitante, apesar de cada reação individual ser bastante eficiente (72-100 %), devido novamente à quantidade de passos, o rendimento do produto final é bastante reduzido (em torno 26%) (SANTANGELO, E. M.; ZARBIN, P. H. G.; CASS, Q. B.; FERREIRA, JOSÉ T. B.; CORRÊA, ARLENE G. Synthesis of the four possible stereoisomers of N-2'-methylbutyl-2-methylbutylamide, the sex pheromone of the longhorn beetle *Migdolus fryanus* Westwood. **Synthetic Communications**, v. 31, n. 23, p. 3685–3698, 2001).

[007] Há diversos métodos disponíveis para a produção de amidas, o acoplamento de aminas com cloretos ácidos é o mais comum, mas outras reações, como o uso de anidridos ácidos e ésteres ativados (DUNETZ, J. R.; MAGANO, J.; WEISENBURGER, G. A. Large-scale applications of amide coupling reagents for the synthesis of pharmaceuticals. **Organic Process Research and Development**, v. 20, p. 140–177, 2016), a síntese direta através de álcoois e aminas, usando diferentes catalisadores (CHEN, C.; HONG, S. H. Oxidative amide synthesis directly from alcohols with amines. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 9, p. 20-26, 2011). Estas metodologias, apesar de resultarem no produto desejado, apresentam desvantagens que precisam ser contornadas: alguns dos reagentes usados são tóxicos e/ou corrosivos e representam risco à saúde humana, como é o caso do Cloreto de Tionila (SOCl₂) usada na produção dos cloretos ácidos; há grande consumo de solventes orgânicos, sobretudo em reações em escala industrial; os metais usados como catalisadores são caros, inviabilizando seu uso com fins comerciais.

[008] Diante do exposto, faz-se necessária a busca por uma metodologia para a produção do Frianol que apresente reduzido número de etapas, alto rendimento, com o menor risco possível para a saúde humana e o ambiente e que seja comercialmente viável.

CAMPO DE ATUAÇÃO

[009] O principal foco do método aqui descrito é a síntese da amida responsável pela atração entre insetos da espécie *M. fryanus*, de forma a auxiliar no controle desta praga da cana-de-açúcar. O uso deste tipo de reação, no entanto, não se restringe a isto. Amidas figuram entre os compostos químicos de maior importância e constituem a base para a formação das proteínas. No âmbito da química sintética, as amidas fazem parte de diversos complexos poliméricos, usados, por exemplo, na produção de plástico. A indústria farmacêutica também pode se beneficiar com o uso de novas técnicas de produção de amidas, visto que analgésicos, anestésicos e antimicrobianos estão entre as diversas classes de medicamentos que comportam este grupo químico.

ESTADO DA TÉCNICA

[010] Há duas formulações de atraentes contendo diferentes proporções do feromônio de *M. fryanus*, e outros compostos, já registradas (NAKAYAMA, M.; SADAMOTO, M.; OBUCHI, S.; NOZAKI, S.; MURATA, Y.; OGATA, K.; NAGANO, K. Biodegradable pheromone preparation. JP19980087084 19980331, 19 oct. 1999; JP NATION; FUJI FLAVOR COMPANY LIMITED; LEAL, W. S.; VILELA, E. F.; ONO, M. Sex attractant for *Migdolus fryanus* Westwood belonging to the order Coleoptera. WO1995JP02670 19951226, 04 jul. 2004).

[011] No entanto, não há até o momento patente que descreva a metodologia empregada na síntese do feromônio. Existem, no entanto, metodologias registradas para outros compostos pertencentes à mesma classe química do Frianol. Os métodos patenteados usam, além dos reagentes que dão origem à amida, catalizadores e solventes orgânicos, e compreendem várias etapas reacionais (TIAN, Z. Synthesis method of amide compound. CN20151530097 20150826. 25 de Nov. 2015; HUANG, H.; ZHANG, G. Preparation method for fatty acyl amide. CN20151155265 20150403. 23 Set. 2015; ZHU, S. Synthetic method for aryl compound. CN20151411359 20150714. 21 Out. 2015; HAN, W.; DU, H.; RUAN, Q. Catalytic carbonylation method for synthesis of alpha-keto amide. CN20151246136 20150514. 09 Set. 2015).

[012] A metodologia mais utilizada na síntese de amidas, classe à qual pertence o Frianol, consiste na reação de acilação envolvendo aminas e ácidos carboxílicos ativados (PATTABIRAMAN, V. R.; BODE, JEFFREY W. Rethinking amide bond synthesis. **Nature**, v. 480, p. 471-479, 2011). A ativação do ácido ao cloreto de acila correspondente visa aumentar sua reatividade frente à amina, elevando a velocidade de acoplamento. Diversos reagentes são empregados na preparação de cloretos ácidos, sendo os cloretos de tionila (SOCl₂) e de carbonila (COCl₂) os mais comuns (DUNETZ, J. R.; MAGANO, J.; WEISENBURGER, G. A. Large-scale applications of amide coupling reagents for the synthesis of pharmaceuticals. **Organic Process Research and** **Development**, v. 20, p. 140–177, 2016). A figura 1 descreve a síntese do Frianol usando o cloreto de tionila para a formação do intermediário.

[013] A rota descrita acima, apesar de eficiente, apresenta alguns problemas que precisam ser resolvidos. O cloreto de tionila é extremamente corrosivo e pode levar a severos danos à pele ou aos olhos, além de causar irritação pulmonar. A piridina também pode prejudicar o trato respiratório, a pele e os olhos. Somado a isto, a exposição prolongada sintomas ainda mais graves, levando à náusea, vômito, diarreia e danos aos rins, ao fígado e, em casos, extremos, ao cérebro.

[014] Além dos riscos à saúde, o uso do cloreto de tionila está associado a obstáculos operacionais. Devida à sua elevada reatividade e poder de corrosão, a vida útil do material usado na reação é reduzida, os septos de borracha precisam ser descartados e as agulhas de metal usadas na adição dos reagentes são oxidadas.

7/8

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[015] Em um balão de fundo redondo de 25 mL acoplado a um condensador, foram adicionados 1 mL (8.375 mmol) de 2-Metilbutilamina, 0.914 mL (8.375mmol) de ácido 2-Metilbutanóico e 400 mg de peneira molecular (4 Á). A mistura reacional foi mantida, sob agitação com barra magnética, em banho de óleo a 150 °C por 4 horas. A mistura foi resfriada até a temperatura ambiente, solubilizada em acetato de etila e filtrada para a remoção da peneira. O produto foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório e armazenado.

[016] Para a síntese em micro-ondas, foram adicionados 1 mL (8,375 mmols) de 2-Metilbutilamina, 0,914 mL (8,375 mmols) de ácido 2-Metilbutanóico e 400 mg de peneira molecular (4 Á) em um tubo de micro-ondas. Os parâmetros do equipamento, modelo MARS CEM, foram ajustados conforme descrito a seguir: rampa de aquecimento de 10 minutos, com temperatura final de 150 °C; temperatura de reação mantida em 150 °C por 40 minutos; agitação média com barra magnética; potência de 400 W. Após o término da reação, a mistura foi resfriada até a temperatura ambiente, solubilizada em acetato de etila e filtrada para a remoção da peneira. O produto foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório e armazenada. A figura 2 ilustra a reação aqui descrita.

[017] O produto foi analisado e sua estrutura confirmada por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

RESULTADOS OBTIDOS

[018] A rota sintética escolhida tem como base o ataque nucleofílico da amina à carbonila do ácido (COSSY, J; C, PALE-GROSDEMANGE. A convinient synthesis of amides from carboxylic acids and primary amines. Tetrahedron Letters, v. 30, n. 21, p. 2771-2774, 1989; MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. Tetrahedron, n. 61, p. 1082710852, 2005). A formação do intermediário com o nitrogênio quaternário é a etapa determinante da velocidade de reação (Figura 3). Depois de formado, este é condensado, levando à amida e à liberação de uma molécula de água.

[019] A partir da metodologia descrita no item anterior, foram usados 1 mL (8,375 mmol) de 2-Metilbutilamina, 0.914 mL (8.375mmol) de ácido 2Metilbutanóico. Ao fim da reação, obteve-se 1,432 g de um líquido viscoso de coloração amarelada.
O produto foi submetido a análise por CG/EM e o cromatograma (Figura 4) e o espectro de massas (Figura 5) são mostrados a seguir.

[020] O cromatograma (Figura 4) demonstra que a reação descrita resulta em um único produto. O espectro de massas (Figura 5) do composto sintetizado corrobora os dados encontrados para o feromônio de origem natural (LEAL et al, 1994), com fragmentos de razão massa/carga (intensidade relativa): 41(27,4); 57 (100); 71 (25,7); 85 (78,2); 102 (56); 114 (18,2); 128 (0,3); 143 (14,2); 156 (7,4); 171 (M⁺,12,5). A Figura 6 ilustra os principais fragmentos formados a partir da 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida.

[021] Com a identificação da 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida, com massa molecular de 171,09 g/mol, como único produto da reação, é possível calcular o rendimento reacional – foram formados 8,37 mmols da amida (1,432 g / 171,09 g/mol) a partir de 8,375 mmols de cada reagente – de aproximadamente 100%.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[022] Figura 1. Metodologia para a síntese da Metilbutil-2-metilbutilamida, usando o Cloreto de 2-metilbutanoila como intermediário

[023] Figura 2. Metodologia para a síntese do Frianol.

[024] Figura 3. Mecanismo da reação de formação do Frianol

[025] Figura 4. Cromatograma do produto da reação de formação do Frianol.

[026] Figura 5. Espectro de massas do produto da reação de formação do Frianol.

[027] Figura 6. Proposta de fragmentação do Frianol.

VANTAGENS DA PATENTE

[028] O método aqui descrito leva à produção, em uma única etapa reação, da 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida, feromônio sexual da espécie *Migdolus fryanus*, de forma quantitativa (rendimento de 100 %) e com tempo reacional bastante reduzido, sobretudo na reação sob irradiação de micro-ondas.

[029] Além da alta eficiência e da economia, esta metodologia proporciona a redução de riscos à saúde humana e ao ambiente associados aos reagentes, visto que os únicos empregados são o ácido e a amina e o único produto secundário formado é a água.

REIVINDICAÇÕES

1. Metódo para a síntese do feromônio sexual do besouro da raiz da canadeaçúcar, *Migdolus fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE), **caracterizada por**:

 Adição, em um balão acoplado a condensador, de quantidades equimoleculares de 2-Metilbutilamina e de ácido 2-Metilbutanóico sob aquecimento e agitação magnética, visando a formação de 2'-Metilbutil-2metilbutilamida;

- b) Ausência de solvente;
- c) Adição de peneira molecular (3-5 Å);
- d) Manutenção da temperatura de reação em 150 °C ou acima;
- e) Tempo de reação de 2 horas ou acima.

2. Método para síntese a síntese do feromônio sexual do besouro da raiz da canadeaçúcar, *Migdolus fryanus* (Coleoptera: Cerambycidae) utilizando irradiação de microondas, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por**:

Adição, em um tubo de micro-ondas, de quantidades equimoleculares
 de 2Metilbutilamina e de ácido 2-Metilbutanóico sob aquecimento por irradiação de micro-ondas e agitação magnética, visando a formação de 2' Metilbutil-2metilbutilamida;

- b) Ausência de solvente;
- c) Adição de peneira molecular (3-5 Å);
- d) Rampa de aquecimento de 5 minutos ou acima;
- e) Manutenção da temperatura de reação em 150 °C ou acima
- f) Tempo de reação de 20 minutos ou acima;
- g) Manutenção da potência do equipamento em 400 W ou acima

Método, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por, após o término da reação, a mistura reacional é resfriada até a temperatura ambiente (20-35 °C), suspensa em solvente orgânico e filtrada para a remoção da peneira molecular.

4. Método, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, **caracterizado por** usar o ácido 2-Metilbutanóico em sua forma racêmica ou qualquer um dos dois enantiômeros [ácidos (2*S*)-Metilbutanóico e (2*R*)-Metilbutanóico] isoladamente.

Método, de acordo com as reivindicações 1 a 4, caracterizado por usar a 2Metilbutilamina em sua forma racêmica ou qualquer um dos dois enantiômeros [(2S)Metilbutilamina e (2R)-Metilbutilamina] isoladamente.

6. Método, de acordo com as reivindicações 1 a 5, **caracterizado por** produzir a 2'Metilbutil-2-metilbutilamida como mistura de pares de diastereoisômeros ou qualquer um dos estereoisômeros $[(2^{\circ}R)$ -Metilbutil-(2R)-metilbutilamida, $(2^{\circ}R)$ -Metilbutil-(2S)metilbutilamida, $(2^{\circ}S)$ -Metilbutil-(2S)metilbutilamida, $(2^{\circ}S)$ -Metilbutil-(2S)metilbutilamida] isoladamente.



Figura 2





Figura 4













RESUMO

METODOLOGIA PARA A SÍNTESE DO FEROMÔNIO SEXUAL DO BESOURO DA RAIZ DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Migdolus fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)

O coleóptero *Migdolus fryanus* representa uma importante ameaça à cultura de canade-açúcar no centro-sul do país. Suas larvas se alimentam da raiz da planta e o inseto passa a maior parte de sua vida no subsolo, o que torna seu controle por meio de pesticidas um desafio. Neste contexto, o uso de feromônios como alternativa para o controle desta praga ganha força, impulsionando o crescimento do interesse na síntese de tais compostos. A presente invenção tem como objetivo propor uma rota sintética de alto rendimento e baixo custo para a 2'-Metilbutil-2-metilbutilamida, feromônio sexual do coleóptero *M. fryanus*. O composto é preparado através de reação de quantidades equimoleculares de 2-Metilbutilamina e de ácido 2-Metilbutanóico sob aquecimento (150 °C) por 4 horas. A água formada foi retida em peneira molecular. A síntese da amida passa por um intermediário com um nitrogênio quaternário. Depois de formado, este é condensado, levando à amida e à liberação de uma molécula de água. A reação levou à formação quantitativa da 2'-Metilbutil-2-metilbutil-2-metilbutilamida como único produto. O método utilizado se mostrou eficiente para síntese, apresentando elevado rendimento reacional em uma única etapa.

1/2

ABSTRACT

METODOLOGIA PARA A SÍNTESE DO FEROMÔNIO SEXUAL DO BESOURO DA RAIZ DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Migdolus fryanus* (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)

Migdolus fryanus (Coleoptera) represents an important threat to sugar cane crop in Centre-South region of Brazil. Its larvae feed of the plant roots and the insect spends most of its life underground, which makes its control through pesticides a real challenge. Under this context, the use pheromones as an alternative to control this pest strengthens, leading to growth in interest towards the synthesis of these compounds. The present invention aims to propose a high yield and low cost synthetic pathway to produce 2'-Methylbutanoyl-2-methylbutylamine, sex pheromone of *M. fryanus*. The compound is made through the reaction of equimolar quantities of 2-Methylbutylamine and 2-Methylbutanoic acid under heat (150 °C) for 4 hours. Molecular sieves retain the water formed. The amide syntheses involves an intermediate containing a quaternary nitrogen, which is condensed, leading to the formation of the amide and releasing water. The method is efficient, showing high yield in a one-step synthesis.