

UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

JÉSSICA RAIMUNDO DA ROCHA

**IDENTIFICAÇÃO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E SÍNTESE DE
SEMIOQUÍMICOS PARA O CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS**

Universidade Federal de Alagoas

Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 – Maceió-AL

JÉSSICA RAIMUNDO DA ROCHA

**IDENTIFICAÇÃO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E SÍNTESE DE
SEMIOQUÍMICOS PARA O CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências, com área de concentração em Química Orgânica na linha de pesquisa de Produtos Naturais e Ecologia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

MACEIÓ

2021

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

R672i Rocha, Jéssica Raimundo da.
Identificação, avaliação da atividade e síntese de semioquímicos para o controle de pragas agrícolas / Jéssica Raimundo da Rocha. – 2021.
103 f. : il., grafs., tabs. color.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Sant'ana.
Tese (doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 97-100.

Apêndices: f. 102-103.

1. Feromônios. 2. *Ascia monuste orseis*. 3. *Pectinophora gossypiella*. 4. *Sitotroga cerealella*. 5. *Phyllocnistis citrella*. I. Título.

CDU: 661.16:577.19



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



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **JÉSSICA RAIMUNDO DA ROCHA** intitulada: **“IDENTIFICAÇÃO, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E SÍNTESE DE SEMIOQUÍMICOS PARA O CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 30 de setembro de 2021, às 8h, por meio de videoconferência.

Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br Antonio Euzébio Goulart Santana
Data: 08/11/2021 18:50:17-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana
Orientador - PPGQB/IQB/UFAL

Prof. Dr. Márcilio Martins de Moraes
DQ/UFRPE

Profa. Dra. Isis Martins Figueiredo
PPGQB/IQB/UFAL

Profa. Dra. Aracelis Jose Pamphile Adrian
PPGQB/IQB/UFAL

Documento assinado digitalmente
gov.br Henrique Fonseca Goulart
Data: 08/11/2021 17:41:48-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart
Coorientador - CECA/UFAL

Prof. Dr. Paulo Roberto Ribeiro de Mesquita
FAMAM-BA

Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas
IFAL

Dedico a minha avó Iraci (in memoriam), mulher guerreira, caridosa e forte. Seu papel foi fundamental para que eu chegasse até aqui e sua lembrança continua me inspirando e ensinando para que eu possa continuar essa jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em todas as suas formas e em todos os momentos dessa caminhada.

Aos meus avós Iraci, Raimundo, Josefa e Valdemar (*in memoriam*) por todo o seu cuidado e amor incondicional.

Aos meus pais, Arnaldo e Josefa, por todo o incentivo e por ter me ensinado que a educação é a maior riqueza.

Aos meus irmãos, Agnes e Matheus, por serem meus melhores amigos.

As minhas tias, Edjane, Gilda, Lourdes e Quitéria, que me apoiaram nos momentos mais complicados dessa jornada.

Ao meu orientador, Antônio Euzébio, pela oportunidade de trabalhar junto a sua equipe e pela confiança em minha capacidade mesmo quando eu não me achava capaz. Considero-o uma inspiração de como um pesquisador e, acima de tudo, um professor deve ser.

Ao meu orientador do mestrado, Luiz Carlos Caetano, por ter confiado no meu potencial e me direcionar para uma nova linha de pesquisa na qual me encontrei.

Aos meus colegas de laboratório e amigos, Jakeline, Vanderson e Adeildo, por todos os ensinamentos e orientações no desenvolvimento dessa pesquisa. Minha gratidão a essas três pessoas não cabe num simples amontoado de palavras.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, Abel, Antônio, Ariane e Thyago, por terem me ajudado a andar quando eu ainda estava engatinhando no laboratório de comportamento.

Aos meus amigos do laboratório de síntese, Analu, Grazy, Larissa, Luciara, Igor, Isis e Jussara por toda parceria, risadas e paciência quando iniciei nessa área. Que continuemos assim por toda a vida.

Aos meus colegas de laboratório, Alessandro (*in memoriam*), Bruna, Bruno, Chryslane, Demetrius, Eliane, Henrique, Joice, Keciane, Kelly, Merybeth, Nathanael, Paulo, Raisa, Regina, Saskya e Viviane, por terem colaborado comigo sempre que precisei. Vocês foram fundamentais em diversos momentos, afinal, somos uma equipe.

Ao grande Aldy, por tornar possível a execução do nosso trabalho no campo e no laboratório.

Aos meus professores de química orgânica, Margarida, Alan John, Marília e Dimas, por terem me inspirado com sua didática.

As minhas amigas de infância e de vida, Micaela e Thamires, por estarem comigo mesmo quando não podemos nos ver.

Aos amigos de vida que a carreira acadêmica me trouxe, Alexandre, Amanda, Danilo, João Manoel, Fernanda, Henrique, Leonardo, Marcela, Nilson, Rodrigo, Shirley e Vivian, por terem enfrentado momentos bons e ruins sempre ao meu lado.

Ao Marvin por todo amor, paciência, parceria e compreensão durante todos esses anos, que não foram fáceis, mas ao seu lado foram mais leves.

A minha família que sempre me incentivou e apoiou nos mais diversos momentos.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização desse trabalho.

RESUMO

A produção agrícola brasileira vem numa crescente expansão e o desenvolvimento de novas tecnologias são necessárias para garantir um desenvolvimento mais sustentável além de ser uma forma de beneficiar esse setor com o intuito de manter o país entre os maiores produtores e exportadores mundiais. A ocorrência de pragas nas culturas de importância econômica vem ganhando mais importância devido ao modo de plantio e a elevação da temperatura média anual. Isso tem causado perdas consideráveis, além de elevar os custos de produção, uma vez que os agroquímicos ainda são os mais utilizados para o controle desses insetos. O controle comportamental, a partir do uso de semioquímicos, é um componente importante no Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois são produtos seguros e inofensivos ao meio ambiente. O presente trabalho teve como objetivo identificar compostos voláteis em *Ascia monuste orseis*, praga das brássicas, além de preparar, individualmente, componentes feromonais de três outras pragas: o acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila, componente principal do feromônio sexual de *Pectinophora gossypiella* e *Sitotroga cerealella*, pragas do algodoeiro e grãos armazenados, respectivamente; o acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila, também componente principal do feromônio de *P. gossypiella*; e o (Z,Z)-7,11-hexadecadienal, componente do feromônio de *Phyllocnistis citrella*, praga dos citros. A obtenção dos compostos voláteis foi realizada por *headspace* dinâmico e extração por solvente. As amostras foram analisadas por CG, CG/EM e CG/EAG. As antenas de *A. monuste* foram analisadas em MEV. Um composto macho-específico foi identificado como sendo o (E)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno. Além disso, 12 hidrocarbonetos presentes nos extratos de ovipositor, cláster, asas anteriores e posteriores incitaram resposta eletroantegráfica em machos e fêmeas. Nas antenas foram identificadas cerdas de Böhm, sensilas céticas, escamiformes, basicônicas, celocônicas e tricóides. Em relação a síntese dos componentes feromonais, as etapas chave da rota proposta são reações de acoplamento de haletos com alcinos para crescimento da cadeia. O intermediário 2-(7-octiniloxi)-tetraidropirano, comum a todas as rotas, foi obtido em três etapas com 50,5% de rendimento. O intermediário 1-bromo-oct-3-ino foi obtido em quatro etapas com 61% de rendimento. A identificação dos voláteis produzidos por *A. monuste*, o estudo comportamental deste inseto, bem como a rota sintética proposta para a preparação dos feromônios de *P. gossypiella*, *S. cerealella* e *P. citrella* contribuem significativamente

para o desenvolvimento de ferramentas de controle e monitoramento dessas pragas de maneira sustentável.

Palavras-chave: semioquímico; *Ascia monuste orseis*; *Pectinophora gossypiella*; *Sitotroga cerealella*, *Phyllocnistis citrella*.

ABSTRACT

Brazilian agricultural production is constantly growing. Development of new technologies is necessary to ensure a more sustainable development, in addition to being a way to benefit this sector to keep the country among the largest producers and exporters in the world. The occurrence of pests in economically important crops is gaining more importance due to the way of planting and the rise in the average annual temperature. This has caused considerable losses, in addition to raising production costs, since agrochemicals are still the most used to control these insects. Behavioral control, based on the use of semiochemicals, is an important component in Integrated Pest Management (IPM), as they are safe and environmentally friendly products. The present work aimed to identify volatile compounds in *Ascia monuste orseis*, a Brassicaceae pest, in addition to preparing, individually, pheromonal components of three other pests: (Z,E)-7,11-hexadecadienyl acetate, the main component of the pheromone sex of *Pectinophora gossypiella* and *Sitotroga cerealella*, cotton pests and stored grains, respectively; (Z,Z)-7,11-hexadecadienyl acetate, also the main component of *P. gossypiella* pheromone; and (Z,Z)-7,11-hexadecadienal, a component of the pheromone of *Phyllocnistis citrella*, a citrus pest. The compounds were obtained by dynamic *headspace* and solvent extraction. Samples were analyzed by GC, GC/MS and GC/EAG. The antennae of *A. monuste* were analyzed by SEM. A male-specific compound has been identified as (E)-3,7-dimethyl-1,3,6-octatriene. In addition, 12 hydrocarbons present in ovipositor, clasper, fore and hind wing extracts incited an electroantennographic response in males and females. In antennae, Böhm bristles, chaetic, squamiform, basiconic, coeloconic and trichoid sensilla were identified. The key steps of the proposed route are halide-alkyne coupling reactions for chain growth. The intermediate 2-(7-octynyloxy)-tetrahydropyran, common to all routes, was obtained in three steps with 50.5% yield. The 1-bromo-oct-3-yne intermediate was obtained in four steps in 61% yield. The identification of volatiles produced by *A. monuste*, the behavioral study of this insect, as well as the synthetic route proposed for the preparation of *P. gossypiella*, *S. cerealella* and *P. citrella* pheromones significantly contribute to the development of control and monitoring tools pests sustainably.

Keywords: semiochemical; *Ascia monuste orseis*; *Pectinophora gossypiella*; *Sitotroga cerealella*, *Phyllocnistis citrella*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Substâncias deterrentes para <i>Pieris rapae</i> (1) e (2); estimulantes de oviposição para <i>Pieris rapae</i> (3) e <i>Pieris napi oleracea</i> (4).....	18
Figura 2 Moléculas componentes do feromônio de <i>Colias philodice</i> : miristato de <i>n</i> -hexila (5), palmitato de <i>n</i> -hexila (6), estearato de <i>n</i> -hexila (7).	20
Figura 3 Feromônio de <i>C. eurytheme</i> : 13-metil-heptacosano	20
Figura 4 <i>p</i> -metoxifenol isolado de fêmeas de <i>A. monuste orseis</i>	21
Figura 5 Coleta e manutenção de <i>Ascia monuste orseis</i> . (1) Fêmea ovipositando no campo; (2) lagartas se alimentando de folhas de couve manteiga em laboratório; (3) adulto emergindo e realização de sexagem; (4) gaiola contendo apenas fêmeas.	23
Figura 6 Asas marcadas durante a cópula de <i>A. monuste orseis</i> em telado.	24
Figura 7 Experimento de headspace dinâmico de insetos adultos.	25
Figura 8 Extração dos compostos cuticular das partes de <i>A. monuste orseis</i>	26
Figura 9 Antena de <i>A. monuste orseis</i> posicionada em eletrodos de prata	28
Figura 10 Fêmea de <i>A. monuste</i> inclinando o abdome ao rejeitar cópula.	32
Figura 11 Cromatogramas dos extratos de headspace dinâmico de insetos fêmeas (1) e machos (2).	33
Figura 12 Espectro de massas do composto macho específico. P.M. = pico do íon molecular.	33
Figura 13 Proposta de fragmentação do (E)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (10), adaptado de EL-KAREEM et al, 2020.....	34
Figura 14 Comparativo de cromatogramas do extrato de headspace dinâmico de insetos machos (1), do padrão 3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (mistura de isômeros) (2) e da coinjeção de ambos (3) em CG-EM.	35
Figura 15 Comparativo de estímulos incitados por hexano e (E)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno.	36
Figura 16 Comparação dos cromatogramas dos extratos cuticulares de <i>A. monuste orseis</i> . (1) Cláspes; (2) Ovipositor; (3) asa anterior ♀; (4) asa anterior ♂; (5) asa posterior ♀; (6) asa posterior ♂.....	37
Figura 17 Resposta eletroantegráfica da antena de inseto fêmea frente ao extrato de ovipositor.....	38
Figura 18 Resposta eletroantegráfica da antena de inseto macho frente ao extrato de ovipositor.....	38
Figura 19 Comparação dos cromatogramas do extrato do ovipositor (2) com os padrões de <i>n</i> -alcanos C21-C27 (1).....	39
Figura 20 Resposta eletroantegráfica da antena de inseto fêmea frente a solução de padrões de <i>n</i> -alcanos.....	40
Figura 21 Resposta eletroantegráfica da antena de inseto macho frente a solução de padrões de <i>n</i> -alcanos.....	41
Figura 22 Espectro de massas do composto 1.	42
Figura 23 Espectro de massas do composto (4').	43
Figura 24 Espectro de massas do composto (8').	43
Figura 25 Proposta de fragmentação do composto (8').....	44
Figura 26 Espectro do composto (9').	44
Figura 27 Proposta de fragmentação do composto (9').....	44

Figura 28	Espectro de massas do composto (12').	45
Figura 29	Proposta de fragmentação do composto (12').	45
Figura 30	Micrografia do escape da antena de fêmea de <i>A. monuste orseis</i> com cerdas de Böhm localizadas no escape.	46
Figura 31	Micrografia de um segmento da antena de fêmea de <i>A. monuste orseis</i> com sensilas tricoides (TR) distribuídas no sulco e sensilas céticas (CE) ao redor.	47
Figura 32	Micrografia de sensilas escamiformes (SE) e escamas (E) no flagelo de antena de inseto macho de <i>A. monuste orseis</i> .	48
Figura 33	Micrografia de sensilas céticas (CE) localizadas no ápice da antena de inseto fêmea de <i>A. monuste orseis</i> .	49
Figura 34	Micrografia de sensilas basicônicas (SB) e tricóides (TR) no flagelo da antena de inseto macho <i>A. monuste orseis</i> .	50
Figura 35	Micrografia de sensilas celocônicas (SC) no flagelo da antena de inseto macho de <i>A. monuste orseis</i> .	50
Figura 36	Feromônio de <i>P. gossypiella</i> , acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila (11) e acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila (12).	61
Figura 37	Componente do feromônio de <i>P. citrella</i> , (Z,Z)-7,11-hexadecadienil (13).	62
Figura 38	Espectro de massas do composto (45).	79
Figura 39	Espectro de RMN ¹ H do composto (45), solvente CDCl ₃ .	80
Figura 40	Espectro COSY (¹ H- ¹ H) do composto (45).	80
Figura 41	Espectro de RMN ¹³ C do composto (45), solvente CDCl ₃ .	81
Figura 42	Espectro de massas do composto (24).	82
Figura 43	Espectro de massas do composto (19).	83
Figura 44	Espectro de RMN ¹ H do composto (19), solvente CDCl ₃ .	84
Figura 45	Espectro de RMN ¹³ C do composto (19), solvente CDCl ₃ .	84
Figura 46	Espectro de massas do composto (47).	85
Figura 47	Espectro de massas do composto (49).	86
Figura 48	Espectro de massas do composto (14).	87
Figura 49	Espectro de massas do composto (50).	88
Figura 50	Espectro de RMN ¹ H do composto (50), solvente CDCl ₃ .	89
Figura 51	Espectro de RMN ¹³ C do composto (50), solvente CDCl ₃ .	90
Figura 52	Espectro HMBC (¹ H- ¹³ C) do composto (50).	90
Figura 53	Espectro HSQC (¹ H- ¹³ C) do composto (50).	91
Figura 54	Espectro COSY (¹ H- ¹ H) do composto (50).	91
Figura 55	Espectro de massas do composto (15).	93
Figura 56	Espectro de RMN ¹ H do composto (15), solvente CDCl ₃ .	93
Figura 57	Espectro de RMN ¹³ C do composto (15), solvente CDCl ₃ .	94
Figura 58	Espectro COSY (¹ H- ¹ H) do composto (15).	94
Figura 59	Espectro HSQC (¹ H- ¹³ C) do composto (15).	94
Figura 60	Espectro HMBC (¹ H- ¹³ C) do composto (15).	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Dados da observação do comportamento de <i>A. monuste</i> em telado.	31
Tabela 2 Tempo de retenção (t_r , min) e Índice de Retenção Linear (IR_{linear}) para a análise realizadas nas colunas NST-1 e NST-5 dos compostos do extrato de ovipositor (E.O.) com resposta nas antenas de <i>A. monuste</i> orseis.	39
Tabela 3 Dados de RMN 1H , ^{13}C e COSY (δ - ppm; J - Hz) para 6-bromo-1-hexanol, $CDCl_3$	81
Tabela 4 Dados de RMN 1H e ^{13}C (δ - ppm; J - Hz) para o composto (19), $CDCl_3$	84
Tabela 5 Valores dos materiais utilizados na síntese do composto (14).	87
Tabela 6 Dados de RMN 1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY (δ , deslocamento químico, ppm; J, Hz) para o composto (50).	91
Tabela 7 Dados de RMN 1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY (δ , deslocamento químico, ppm; J, Hz) para o composto (12).	95

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 Rota sintética seguida por Su e Mahany (1974) para a preparação do acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila.	64
Esquema 2 Rota sintética seguida por Mori, Tominaga e Matsui (1974) para a preparação do acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila.	65
Esquema 3 Rota sintética sugerida por D'yakonov et al. (2017) para a preparação do acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila.	65
Esquema 4 Rota seguida utilizada por Moreira, Mcelfresh e Millar (2006) para a preparação do (Z,Z)-7,11-hexadecadienal.	66
Esquema 5 Rota sintética seguida por Leal et al. (2006) para a preparação do (Z,Z)-7,11-hexadecadienal.	67
Esquema 6 Rota sintética proposta para obtenção do composto acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila e (Z,Z)-7,11-hexadecadienal.	70
Esquema 7 Rota sintética proposta para obtenção dos compostos acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila.	71
Esquema 8 Mecanismo da reação de bromação do 6-bromo-1-hexanol em meio ácido.	78
Esquema 9 Mecanismo de proteção da hidroxila do composto (24) com DHP.	82
Esquema 10 Mecanismo de alquilação do composto (19) com acetileto de lítio.	83
Esquema 11 Mecanismo de acoplamento entre (47) e (48) na presença de n-Buli e HMPA como co-solvente.	86
Esquema 12 Mecanismo da Reação de Appel na formação do composto (50).	88
Esquema 13 Mecanismo de redução de um alcino com hidroxila na posição alílica.	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento Químico
♂	Macho
♀	Fêmea
1,2-DCE	1,2-Dicloroetano
AcOEt	Acetato de Etila
CA	Sensila caética
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CB	Cerdas de Böhm
CG	Cromatografia Gasosa
CG-DIC	Cromatografia Gasosa acoplada a Detector por Ionização de Chamas
CG-EAG	Cromatografia Gasosa acoplada a Eletroantenografia
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
COSY	“Correlation Spectroscopy”
dd	Duplo duplete
DHP	Di-idropirano
DMSO	Dimetilsulfóxido
dt	Duplo triplo tripleto
E	Escama
HMBC	“Heteronuclear Multiple Bond Correlation”
HMPA	Hexametilfosforamida
HSQC	“Heteronuclear Single Quantun Coherence”
Hz	Hertz (unidade de frequência)
IE	Impacto Eletrônico
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Multiplete
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MIP	Manejo Integrado de Pragas
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butil-lítio
PB	Pico base
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
P.M.	Pico do íon molecular
py	Piridina
q	Quarteto
qo	Quinteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SB	Sensila basicônica
SC	Sensila coelocônica
SE	Sensila escamiforme
t	Tripleto
THF	Tetraidrofurano
THP	Tetraidropirano
tr	Tempo de Retenção
TR	Sensila tricóide

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
REFERÊNCIAS	12
1 IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE SEMIOQUÍMICOS PARA O CONTROLE DE <i>Ascia monuste orseis</i> (GODART, 1819) (LEPIDOPTERA: PIERIDAE).....	14
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO	15
1.1.1 Comunicação química em Pieridae.....	17
1.1.1.1 Interações interespecíficas.....	17
1.1.1.2 Interações intraespecíficas.....	19
1.1.1.3 Comunicação química em <i>Ascia monuste orseis</i>	20
1.2 OBJETIVOS	22
1.2.1 Geral.....	22
1.2.2 Específicos	22
1.3 MATERIAL E MÉTODOS	23
1.3.1 Coleta e manutenção de <i>A. monuste orseis</i>	23
1.3.2 Comportamento de <i>A. monuste</i>	24
1.3.3 Obtenção de voláteis	25
1.3.3.1 <i>Headspace</i> dinâmico	25
1.3.3.2 Extração dos compostos cuticulares.....	25
1.3.4 Análises cromatográficas	26
1.3.5 Eletroantenografia.....	27
1.3.5.1 “Puff”	28
1.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em antenas de <i>A. monuste orseis</i> 29	
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
1.4.1 Comportamento de <i>A. monuste orseis</i>	31
1.4.2 Análise dos extratos	32
1.4.2.1 Análise cromatográfica de amostras de <i>headspace</i>	32
1.4.2.2 Bioensaio “puff”.....	35
1.4.2.3 Análise cromatográfica de amostras da extração dos componentes cuticulares 36	
1.4.2.4 Bioensaio em CG-DEA.....	37

1.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em antenas de <i>A. monuste orseis</i>	45
1.5	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS	53
2	SÍNTESE DE COMPONENTES FEROMONAIIS DAS PRAGAS <i>Pectinophora gossypiella</i> S. (Lepidoptera: Gelechiidae), <i>Sitotroga cerealella</i> (O.) (Lepidoptera: Gelechiidae) e <i>Phyllocnistis citrella</i> (S.) (Lepidoptera: Gracillariidae)	59
2.1	REFERENCIAL TEÓRICO	60
2.1.1	As pragas: <i>Pectinophora gossypiella</i> , <i>Sitotroga cerealella</i> e <i>Phyllocnistis citrella</i>	60
2.1.2	Rotas descritas para o acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila, o acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila e (Z,Z)-7,11-hexadecadienal	63
2.2	OBJETIVOS	68
2.2.1	Geral	68
2.2.2	Específicos	68
2.3	MATERIAL E MÉTODO	69
2.3.1	Considerações iniciais	69
2.3.2	Proposta de síntese do acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila, acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila e (Z,Z)-7,11-hexadecadienal	69
2.3.2.1	Obtenção do 2-(oct-7-iniloxi)tetraidropirano (17)	72
2.1.1.1	Obtenção do 1-bromooct-3-ino (50)	73
2.1.1.2	Preparação do (E)-oct-3-en-1-ol (15)	76
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
2.4.1	Obtenção do 2-(oct-7-iniloxi)tetraidropirano (19)	78
2.4.3	Preparação do (E)-oct-3-en-1-ol (15)	92
2.5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	96
	REFERÊNCIAS	97
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	101
	APÊNDICE	102

INTRODUÇÃO

O cenário da agricultura no Brasil possui caráter histórico, sendo um dos pilares da economia do país desde a colonização, com a produção de cana-de-açúcar, até os dias atuais com a produção de café e soja (DOSSA, 2014; HIRAKURI, 2017; FERREIRA; AIACHE, 2017). Sendo um país territorialmente extenso, e com crescente produtividade, torna-se um dos maiores produtores agrícolas do mundo (PEREIRA, 2017).

Nos últimos anos, a produção agrícola brasileira tem quebrado recordes e o país tem exportado cada vez mais. Em contrapartida, ainda existem pontos a serem melhor observados, como o fato de exportar grãos sem processamento e importar produtos processados (EMBRAPA, 2018).

Diante do contínuo crescimento nesse setor, surge uma preocupação referente aos insetos-praga que infestam culturas importantes, causando grandes prejuízos aos agricultores e, conseqüentemente, afetam negativamente a economia do país.

A ordem Lepidoptera, que compreende os insetos conhecidos popularmente como mariposas e borboletas, destaca-se pela severidade dos danos e perdas causados aos plantios, enquanto fase larval, e contém uma variedade de espécies consideradas pragas importantes em culturas de interesse econômico (MOREIRA; ARAGÃO, 2009; POMARI-FERNANDES; BUENO; SOSA-GÓMEZ, 2015; PRADO; DORNELES Jr., 2015).

Atualmente, as práticas utilizadas para lidar com essas infestações têm incluído, predominantemente, o controle químico através de aplicações periódicas de inseticidas. Esse tipo de controle eleva o custo da produção e sua aplicação é questionável, pois além de agredir o meio ambiente, eliminar inimigos naturais seleciona populações de pragas resistentes (HOLTZ et al., 2015; FILGUEIRA, 2008; BRASIL, 2019).

Surge, então, a busca pela otimização de técnicas de cultivo, conservação e fertilização do solo que objetivam o aumento da produção e, por conseguinte, do lucro (TEIXEIRA, 2005). No entanto, é importante destacar os riscos ambientais que essa modernização pode causar. Por isso, há a necessidade do desenvolvimento de tecnologias de caráter sustentável, ou seja, que se preocupem com o impacto que as ações atuais causarão no futuro. Assim o controle comportamental está sendo visto não mais como uma alternativa para o manejo integrado de pragas, pois, trata-se de um método de controle racional que não deixa resíduos nos alimentos, é inofensivo ao meio ambiente e

à saúde da população e pode ser usado em larga escala (ROEL, 2000; MAZZONI, ANFORA, 2021).

O uso de feromônios dentro do MIP tem se mostrado eficaz, uma vez que pragas de culturas como coco, cacau, citros, entre outras, já são monitoradas e controladas por esse método (VENZON et al., 2016). Atualmente, existem 49 feromônios registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), dos quais 29 são para controle e monitoramento de insetos da ordem Lepidoptera (BRASIL, 2019). As estruturas dos feromônios dessa ordem, em sua maioria, possuem cadeia linear longa, entre 10 e 18 carbonos, podendo apresentar até três duplas ligações, conjugadas ou não, e apresentam os grupos funcionais álcool, aldeído e éster. Além desses, hidrocarbonetos insaturados com cadeia possuindo entre 17 e 23 carbonos e seus derivados epoxídicos também são comuns (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2005).

A identificação de componentes de um feromônio em determinada espécie é um processo longo, dificultado pelas quantidades diminutas em que são produzidos, além da presença de outros compostos produzidos em maior quantidade que podem mascarar os de interesse. Sendo assim, esse tipo de estudo, de maneira geral, é composto por diversas etapas. Thomazini (2009) relata, de forma breve, que esse processo requer: o estabelecimento da colônia; bioensaios para avaliar qual sexo produz o feromônio; aeração ou extração por solvente; análises químicas para identificação estrutural; síntese; bioensaios para avaliar se o isolado e o sintético causam algum estímulo ao inseto; e por fim os testes de campo para avaliar a eficiência.

Essa área de estudo é crescente e fundamental para um melhor entendimento em torno da comunicação química intra e interespecífica, pois, além de feromônios, o controle comportamental também engloba os aleloquímicos, responsáveis pela comunicação química entre espécies diferentes (MWERESA et al., 2020). A partir disso, é esperado que cada vez mais sejam desenvolvidos produtos voltados ao monitoramento e controle de pragas agrícolas que sejam seguros, tanto aos aplicadores quanto aos consumidores, e inofensivos ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

ANDO, T.; INOMATA, S.; YAMAMOTO, M. Lepidopteran sex pheromones. In: SCHULZ, I. S. **The chemistry of pheromones and other semiochemicals**. Berlin: Springer, New York: Heidelberg, 2005, p. 51-96.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2019. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons . Acesso em: 01 ago. 2019.

DOSSA, D. **Evolução da agricultura no Brasil: síntese**. [S. l.], 8 ago. 2014. Disponível em: <http://www.mcagroflorestral.com.br/blog-detalle.php?codigo=113>. Acesso em: 1 mar. 2019.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 212 p. Disponível em <https://www.embrapa.br/documents/10180/9543845/Vis%C3%A3o+2030+-+o+futuro+da+agricultura+brasileira/2a9a0f27-0ead-991a-8cbf-af8e89d62829>. Acesso em: 2 ago. 2019.

FERREIRA, L. T.; AIACHE, E. **Receita das exportações dos Cafés do Brasil foi de US\$ 474 milhões em março de 2017**. [S. l.], 19 abr. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/21711132/receita-das-exportacoes-dos-cafes-do-brasil-foi-de-us-474-milhoes-em-marco-de-2017>. Acesso em: 1 mar. 2019.

FILGUEIRA, F. A. R. **O novo manual de olericultura**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2008. 421 p.

HIRAKURI, M. H. Avaliação econômica da produção de soja nos Estados do Paraná e Rio Grande do Sul na safra 2016/17. **Circular Técnica**, Londrina, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/154843/1/CT126.pdf>. Acesso em: 1 mar. 2019.

HOLTZ, A. M. *et al.* Prefácio. In: HOLTZ, Anderson Mathias *et al.* **Pragas das brássicas**. Colatina: IFES, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Higor_De_Souza_Rodrigues/publication/312233893_BROCA-DA-COUVE_Hellula_phidilealis/links/5877c80e08aebf17d3bbaed7.pdf. Acesso em: 1 mar. 2019.

MAZZONI, V.; ANFORA, G. Behavioral manipulation for pest control. **Insects**, v. 12, n. 287, 2021.

MOREIRA, H. J. C.; ARAGÃO, F. D. **Manual de Pragas do Milho**. Campinas, 2009. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/downloads/manual%20de%20pragas%20do%20milho.pdf> . Acesso em: 2 ago. 2019.

MWERESA, C. K. *et al.* Use of semiochemicals for surveillance and control of hematophagous insects. **Chemoecology**, v. 30, p. 277–286, 2020.

PEREIRA, M. Z. **Brasil lidera produtividade agropecuária mundial**. [S. l.], 12 mai. 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasil-lidera-productividade-agropecuaria-mundial>. Acesso em: 9 jul. 2019.

POMARI-FERNANDES, A.; BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Helicoverpa armigera: current status and future perspectives in Brazil. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 21, p. 1-7, 2015.

PRADO, S. S.; DORNELES Jr., J. **Artigo – Principais pragas do cafeeiro no contexto do manejo integrado de pragas**. [S. l.], 27 out. 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/6694669/artigo---principais-pragas-do-cafeeiro-no-contexto-do-manejo-integrado-de-pragas>. Acesso em: 2 ago. 2019.

ROEL, A. R. *et al.* Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre a sobrevivência e desenvolvimento da lagarta-do-cartucho. **JCR**, Bragantina, 2000. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/107078/1/2-s2.0-0033831882.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2019.

TEIXEIRA, J. C. Modernização da agricultura no Brasil: Impactos econômicos, sociais e ambientais. **Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros**, v. 2, n. 2, p.21–42, 2005.

THOMAZINI, M. J. A comunicação química entre os insetos: obtenção e utilização de feromônios no manejo de pragas. In: GONCALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. **Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2009. cap. 17, p. 338-354.

VENZON, M. et al. Manejo agroecológico das pragas das fruteiras. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 293, p. 94 - 103, 2016.

**1 IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE SEMIOQUÍMICOS
PARA O CONTROLE DE *Ascia monuste orseis* (GODART, 1819)
(LEPIDOPTERA: PIERIDAE)**

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

Ascia monuste orseis (Godart, 1819), conhecida como curuquerê da couve, é um lepidóptero pertencente à família Pieridae. Esta família está dividida em quatro subfamílias: Dismorphiinae, Coliadinae, Pseudopontiinae e, por fim, Pierinae, a qual pertence *A. monuste orseis* (LEITE, MOTTA, XAVIER-FILHO, 2007).

Existem cerca de 1200 espécies pertencentes à Pieridae com ocorrência em quase todos os continentes, com exceção apenas da Antártida. De acordo com Brown Jr. (1996), no Brasil ocorrem 65 espécies, algumas delas consideradas pragas agrícolas, que é o caso da *A. monuste orseis*, pois na fase larval alimenta-se de culturas economicamente importantes, em especial hortaliças da família Brassicaceae, a qual pertencem variedades de importância econômica como a couve-manteiga (*Brassica oleracea* (L.) var. *acephala*), o repolho (*B. oleracea* (L.) var. *capitata*), a couve-flor (*B. oleracea* (L.) var. *botrytis*) e os brócolis (*B. oleracea* (L.) var. *italica*) (FILGUEIRA, F. A. R., 2008; CAMPBELL, B. et al., 2012; HOLTZ, 2015).

Em 2017 o valor total da produção dessas quatro hortaliças atingiu a casa dos R\$ 8 bilhões. O repolho foi a brássica mais produzida, somando quase 300 milhões de toneladas apenas na região sudeste. O Nordeste foi o terceiro maior produtor nacional com mais de 17 mi de toneladas, sendo Pernambuco o maior produtor, responsável por 21,5% da produção, seguido de Paraíba (4,5%), Ceará (4,4%) e Alagoas (1,4%) (IBGE, 2019).

A couve-manteiga é a segunda brássica mais produzida no Brasil. As regiões sudeste, sul e nordeste destacam-se como os maiores produtores, respectivamente. Dentre os estados do nordeste, em 2006 Alagoas liderava o ranking, sendo responsável por 60% da produção, seguido de Bahia (20%) e Pernambuco (8%). Em 2017, a produção de couve em Alagoas ultrapassa 1,1 mi de toneladas fazendo do estado o quarto maior produtor do Nordeste, atrás de Pernambuco (2,8 mi), Sergipe (1,2 mi) e Paraíba (1,2 mi) (IBGE, 2006; IBGE, 2019).

Problemas com insetos-praga são frequentes nas áreas cultivadas e dentre as pragas chave dessa cultura estão a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), a lagarta-rosca *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae), o curuquerê-da-couve *A. monuste orseis* e a broca-da-couve *Hellula phidilealis* W. (Lepidoptera: Pyralidae) além de alguns insetos da ordem Hemiptera, como os pulgões

Brevicoryne brassicae L. (Hemiptera: Aphididae) e a mosca branca *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) (HOLTZ, A. M. et al, 2015; SILVA, D. J. et al., 2017).

A variedade de pragas incidentes nesses plantios pode resultar no aumento do uso de inseticidas e, conseqüentemente, afetar a qualidade do produto, a saúde do consumidor e eliminar os inimigos naturais das pragas, selecionando populações resistentes. Para o controle de *A. monuste* em culturas de repolho, por exemplo, estão registrados 119 produtos, dos quais 111 possuem classificação ambiental entre altamente perigoso (I) e perigoso ao meio ambiente (III), dentre eles estão presentes 34 com classificação toxicológica extremamente tóxico (I) e altamente tóxico (II). Esses números evidenciam a grande incidência da praga e a necessidade do desenvolvimento de produtos que consigam fazer o monitoramento e controle sem causar danos ao ambiente e a saúde do produtor (D'AVILA et al., 2016; BRASIL, 2021).

Diante desse cenário, diversos estudos têm sido desenvolvidos a fim de explorar as diferentes interações químicas relacionadas a insetos praga e desenvolver alternativas de controle e monitoramento. Os compostos envolvidos nessas interações são denominados semioquímicos e possível citar interações do tipo intraespecíficas, como os feromônios, que são divididos segundo sua função como feromônio de alarme, sexual, de atração e agregação, entre outros. As interações interespecíficas, que ocorrem entre espécies diferentes, como os aleloquímicos, que se originam tanto de plantas quanto de insetos são divididos em: cairomônios, composto ou uma mistura de compostos que beneficia o receptor do sinal; alomônios, substâncias que beneficiam o emissor do sinal; e sinomônios, beneficiam tanto o emissor como o receptor e são identificados na interação planta-herbívoro, herbívoro-predador e no terceiro nível trófico (THOMAZINI, 2009).

O interesse investigativo acerca desses compostos é particularmente mais expressivo quando as culturas nas quais incidem esses insetos possuem importância econômica, pois tanto a injúria dos insetos quanto o gasto demasiado com diferentes produtos para controle, podem trazer prejuízos de grande impacto nesse setor. Dentro desse contexto, a seguir será explanada a comunicação química dos pierídeos relatada na literatura com destaque para a espécie *A. monuste orseis*, principal objeto de estudo deste trabalho.

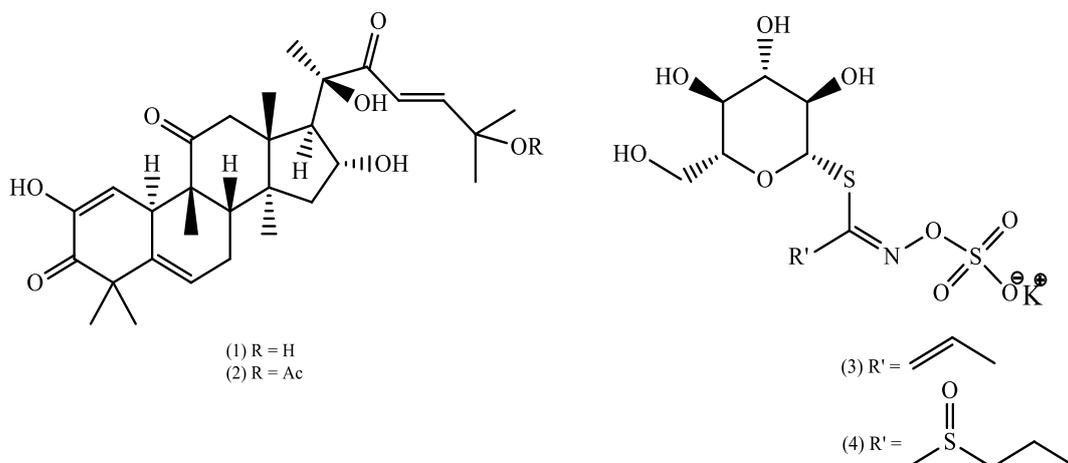
1.1.1 Comunicação química em Pieridae

1.1.1.1 Interações interespecíficas

Uma das maneiras de avaliar interações do tipo inseto-planta, é analisar a preferência de oviposição que esses insetos têm por determinadas plantas. Já foi relatado que essa relação é baseada, entre outros fatores, no valor nutritivo da planta hospedeira, pois, teoricamente, a oviposição ocorrerá em plantas que garantam uma maior chance de sobrevivência e, conseqüentemente, a continuidade da espécie, já que seus componentes afetam diretamente a fecundidade desses herbívoros (AHMAN, 1985; AWMACK, LEATHER, 2002; ZHANG et al., 2012).

Há evidências que compostos produzidos pelas plantas atuam como um fator determinante na orientação de insetos, seja na atração dos mesmos, para encontrar uma planta hospedeira, ou na atração de predadores naturais desses herbívoros (REHWICK, CHEW, 1994; XU, TURLINGS, 2017). Nas Brassicaceae, destacam-se os glucosinolatos que estão associados à defesa dessas plantas (BOHINC et al., 2012). Existe também outro grupo de substâncias, as chamadas cucurbitacinas, produzidas principalmente pela família Cucurbitaceae, que atuam como alomônios para diversas plantas. Em estudo sobre a oviposição de *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae) e *Pieris napi oleracea* L. (Lepidoptera: Pieridae) em brassicaceae, cujo extrato de *Iberis amara* L. foi analisado, foi constatada atividade deterrente em cucurbitacina I (1) e cucurbitacina E (2) contra *P. rapae*. Em contrapartida, os glucosinolatos sinigrina (3) e glucoiberina (4) mostraram-se como estimulantes à oviposição para *P. rapae* e *P. napi oleracea*, respectivamente (Figura 1) (HUANG, REHWICK, SACHDEV-GUPTA, 1993; MACEDO, GUEDES, GARCIA, 2007).

Figura 1 Substâncias deterrentes para *Pieris rapae* (1) e (2); estimulantes de oviposição para *Pieris rapae* (3) e *Pieris napi oleracea* (4).



Entretanto, insetos que são especialistas da família Brassicaceae desenvolvem adaptações para se protegerem dos glucosinolatos, como a *P. xylostella* que possui uma glucosinolato sulfatase que previne a formação de produtos tóxicos decorrentes da hidrólise desses compostos (RATZKA et al., 2002).

Outros insetos, como *Athalia rosae* L. e *Murgantia histrionica* H., sequestram os glucosinolatos e os utilizam como defesa contra seus predadores (GOLS; HARVEY, 2009).

Além disso, algumas espécies de plantas emitem compostos voláteis quando sofrem injúria, estes compostos podem atuar como atrativos tanto para predadores quanto para parasitoides. Muitos estudos têm sido desenvolvidos em torno desses voláteis, visando uma alternativa para o controle das pragas das brássicas, no entanto, ainda há muito a ser investigado no que diz respeito a relação desses compostos com os parasitoides que atacam esses insetos (BLAAKMEER et al., 1994; GEERVLIT et al., 1997, 1998; SHIOJIRI et al., 2000).

Além das plantas, os insetos também emitem compostos voláteis que atuam na comunicação química interespecífica. Noldus e Van Lenteren (1985) verificaram que fêmeas de *Trichogramma evanescens* W. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram atraídas por substâncias voláteis liberadas por fêmeas virgens de *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae). O mesmo resultado não foi obtido ao testar machos e fêmeas recém copuladas. Esse resultado estimula o aprofundamento em estudos relacionados ao controle biológico utilizando caimônios.

Assim como nos insetos adultos, também há relatos de interação interespecífica em pierídeos no estágio larval. Os pelos glandulares das larvas de *P. rapae* secretam um

fluido oleoso composto por derivados do ácido 11-hidroxinolênico, os mayolenos, que se mostraram poderosos deterrentes contra formigas *Crematogaster lineolata* (Hymenoptera: Formicidae). No estudo, as formigas que eram postas em contato com lagartas contendo a secreção, acabavam passando um tempo considerável se limpando, fazendo com que não continuassem próximas as lagartas. Fato que não ocorreu quando eram colocadas junto às lagartas sem a secreção. Dessa maneira, a investigação da ação deterrente da secreção de larvas da família Pieridae se torna um fator essencial no estudo de controle biológico, uma vez que esses dados sugerem que essa defesa também pode ser aplicada contra outros inimigos naturais da espécie (SMEDLEY et al., 2002).

1.1.1.2 Interações intraespecíficas

Além de interações interespecíficas, a produção de feromônios pelos machos de Pieridae já foi relatada e, na maioria das espécies, os machos sempre patrulham para procurar fêmeas, atraindo-as para o acasalamento. Quando fêmeas de Pierinae e Coliadinae rejeitam o macho elas distendem as asas e elevam o abdome verticalmente para que o macho não consiga copular. Acredita-se que, quando isso ocorre, glândulas no final do abdômen produzam um composto repelente (SCOTT, 1992).

As glândulas de feromônio frequentemente localizam-se onde as asas anteriores e posteriores se sobrepõem (em Coliadinae, na parte inferior da asa anterior e em *Eurema*, na parte superior da asa posterior). Em outros grupos, as glândulas encontram-se nas bordas das asas anteriores (dobras costais) ou posteriores. As células glandulares se encontram nas chamadas escamas androconiais, às vezes, essas escamas são reunidas em um aglomerado chamado estigma. Em Pierinae, Nymphalinae e Satyrinae, as escamas costumam ter pontas parecidas com uma pequena escova, denominada pluma apical, que auxiliam na dispersão do feromônio pelo ar (SCOTT, 1992; VETTER, RUTOWSKI, 1979; BARTH, 1980).

Gruha e colaboradores (1980) obtiveram das asas do pierídeo *Colias philodice* G. (Lepidoptera: Pieridae) três compostos macho específicos como feromônio, são eles: miristato de *n*-hexila (5), palmitato de *n*-hexila (6) e estearato de *n*-hexila (7). Embora pertença ao mesmo gênero, foi verificado que estes três ésteres não estão presentes em *Colias eurytheme* B. (Lepidoptera: Pieridae), na qual foi identificada a presença do composto macho específico 13-metil-heptacosano (8) atuando como feromônio. É

importante ressaltar que, diferente de *C. philodice*, fêmeas de *C. eurytheme* demonstraram ter o estímulo visual como um importante parâmetro durante o cortejo.

Figura 2 Moléculas componentes do feromônio de *Colias philodice*: miristato de *n*-hexila (5), palmitato de *n*-hexila (6), estearato de *n*-hexila (7).

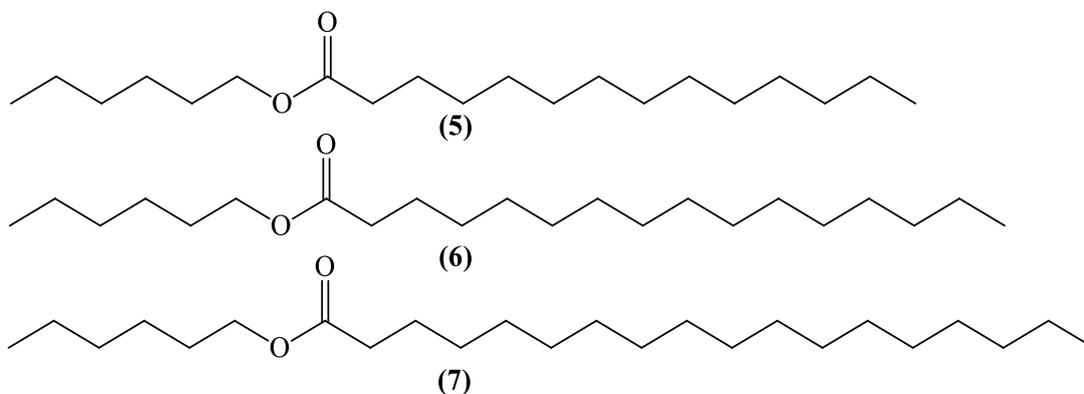
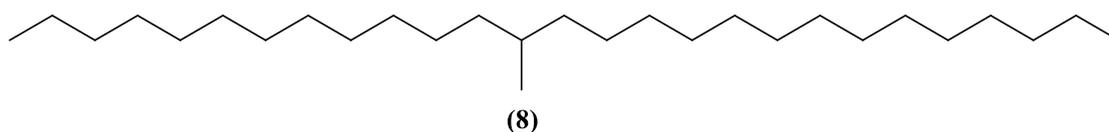


Figura 3 Feromônio de *C. eurytheme*: 13-metil-heptacosano



Outros compostos macho específicos encontrados nessa família são o (*S*)-(+)-linalool e o (*E*)- β -farnesene, identificados em *Anthocharis scolymus* L. (Lepidoptera: Pieridae), no entanto sua atividade afrodisíaca ainda não está bem definida (OKUMURA et al. 2016).

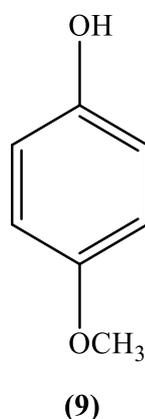
Além destes, compostos comuns aos dois gêneros e que incitam resposta eletroantegráfica já foram identificados em Pieridae, como o (*E*)- β -ocimeno em *Hebomoia glaucippe* L. e heptacosano e nonacosano em *C. eurytheme* (HAYASHI et al., 1985; SAPPINGTON, TAYLOR, 1990).

1.1.1.3 Comunicação química em *Ascia monuste orseis*

Barros e Zucoloto (1999), compararam a preferência de oviposição de *A. monuste orseis* na couve-manteiga e na mostarda (*Brassica juncea* L.). Foi constatada a preferência de oviposição pela couve, que é uma fonte de nutrientes significativamente melhor do que a mostarda para a espécie, além disso, não foi verificada preferência alimentar nas larvas imaturas, indicando, de fato, que a seleção da planta hospedeira ocorre durante a oviposição. A escolha de uma planta hospedeira nutritivamente mais rica, garante uma maior chance de desenvolvimento da prole e continuidade da espécie.

Num outro estudo, foi detectada a liberação de um odor pelas fêmeas de *A. monuste orseis* quando estas eram colocadas em situação de estresse, como a simulação de um ataque, por exemplo. Trata-se do *p*-metoxifenol (9) (Figura 4), esse composto não foi detectado em machos e provem da genitália das fêmeas através de uma secreção pastosa. Sendo este composto liberado quando o inseto sofre uma perturbação, foi inferido que está associado a defesa, pois predadores podem ser afastados pelo odor. Além disso, já foi relatado que o *p*-metoxifenol atua como um repelente alimentar moderadamente eficaz para o pássaro melro de asas vermelhas (*Agelaius phoeniceus* (Passeriformes: Icteridae) (SCHAFER; JACOBSON, 1983; EISNER et al., 1990).

Figura 4 *p*-metoxifenol isolado de fêmeas de *A. monuste orseis*.



Apesar da *A. monuste orseis* ser uma praga chave de culturas importantes, ainda há pouca informação relacionada a sua comunicação química intraespecífica. Sabendo que outras espécies pertencentes a mesma família produzem feromônios que exercem papel importante durante o ritual de corte, a investigação de semioquímicos em *A. monuste orseis* pode contribuir no desenvolvimento de produtos que auxiliem no monitoramento e controle desta praga.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Geral

Identificar compostos voláteis em adultos de *A. monuste orseis*, visando o controle comportamental.

1.2.2 Específicos

- Obter voláteis de espécimes adultos virgens, de ambos os sexos, de *A. monuste orseis*, por *headspace* dinâmico e extração com solvente dos compostos cuticulares das asas anteriores, asas posteriores, ovipositor e clássper;
- Analisar os extratos obtidos através de CG-DIC e CG-EM;
- Avaliar a atividade dos extratos por testes comportamentais de eletroantenografia e CG-DEA;
- Caracterizar as sensilas presentes nas antenas por meio de MEV.

1.3 MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1 Coleta e manutenção de *A. monuste orseis*

Ovos e lagartas foram coletados em horta cultivada na Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Uma criação da praga foi mantida no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais – LPqRN-UFAL. Para a manutenção da criação foram utilizadas folhas de couve manteiga, substituídas diariamente, até a obtenção das pupas. A sexagem foi feita após a emergência dos adultos e, a partir disso, machos e fêmeas foram colocados em gaiolas separadas cada uma medindo 40cm x 40cm x 40 cm. Um chumaço de algodão embebido numa solução de mel 10% (v/v) foi colocado pendurado por um gancho dentro de cada gaiola para servir de alimento para os insetos adultos.

Figura 5 Coleta e manutenção de *Ascia monuste orseis*. (1) Fêmea ovipositando no campo; (2) lagartas se alimentando de folhas de couve manteiga em laboratório; (3) adulto emergindo e realização de sexagem; (4) gaiola contendo apenas fêmeas.

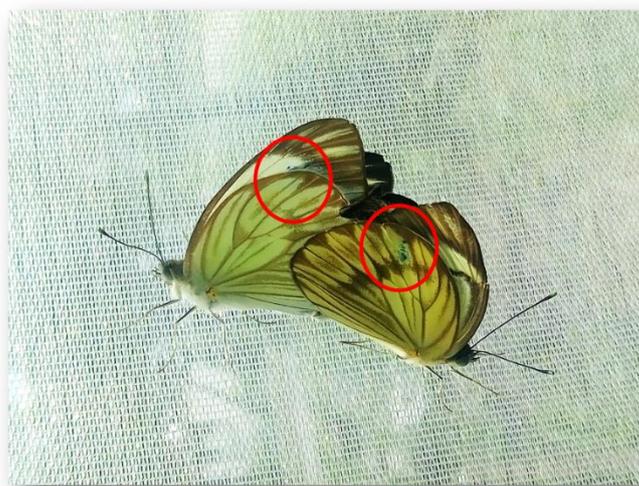


Fonte: Autora

1.3.2 Comportamento de *A. monuste*

A observação de comportamento foi realizada com 42 insetos (21 machos e 21 fêmeas) com idades de até 24h em telado fechado com medidas 1,5m x 1,5m x 2,0 m contendo dez exemplares de *Brassica oleracea* (L.) var. *capitata*, durante cinco dias. À medida que os casais iniciavam as cópulas, suas asas eram marcadas com caneta pincel atóxica para distinção (Figura 6).

Figura 6 Asas marcadas durante a cópula de *A. monuste orseis* em telado.



Fonte: Autora

Nos dois primeiros dias a observação iniciou às 7:30 da manhã e durou até às 15:00h. Foi observado que os insetos começavam a ficar ativos próximo às 9:00h e permaneciam no mesmo ritmo de atividade até às 14:00h, a partir disso, o horário escolhido para observação do comportamento foi de 8:30 às 14:30 h.

Três fêmeas com experiência de cópula foram introduzidas em uma gaiola contendo nove machos virgens a fim de observar se ocorreria cortejo, cópula ou rejeição.

1.3.3 Obtenção de voláteis

A coleta dos voláteis nos insetos adultos foi realizada em machos e fêmeas virgens, através de *headspace* dinâmico e extração cuticular com solvente. Com base na observação do comportamento, todas as coletas foram realizadas entre 8:30 e 14:30 h.

1.3.3.1 *Headspace* dinâmico

Um sistema de aeração foi montado de maneira que um fluxo de ar contínuo fosse filtrado em carvão ativado e umidificado, para então percorrer as três cubas, uma sendo o controle e as outras duas contendo os insetos, 18 machos e 18 fêmeas, separadamente. Os voláteis arrastados, foram adsorvidos em *traps* contendo Porapak (30 mg) e a dessorção foi feita com 0,5 mL de hexano grau HPLC para cada *trap*. Este experimento foi realizado com insetos virgens de 48h de idade.

Figura 7 Experimento de *headspace* dinâmico de insetos adultos.



Fonte: Autora

1.3.3.2 Extração dos compostos cuticulares

A extração dos compostos cuticulares, utilizando hexano grau HPLC como solvente, foi realizada com as partes dos insetos virgens: asas anteriores, asas posteriores, clásser e ovipositor. Todos os insetos utilizados, machos e fêmeas, tinham 48h de idade e a extração foi realizada para cada sexo em separado.

As asas foram retiradas com o auxílio de pinça e colocadas em béqueres limpos e secos. Para cada par de asas foi extraído com 250 μ L de solvente. Os béqueres foram tampados com folhas de papel alumínio e mantidos assim durante 10 minutos. Passado esse tempo, os extratos foram coletados com pipeta de Pasteur, filtrados em lã de vidro e acondicionados em vials etiquetados e mantidos em freezer até o momento de uso.

Para os cláspes e ovipositores, estes foram retirados do inseto com o auxílio de micro tesoura e colocados diretamente nos vials a serem armazenados. Para cada 10 cláspes e 10 ovipositores foram utilizados 100 μ L de solvente.

Figura 8 Extração dos compostos cuticular das partes de *A. monuste orseis*.



Fonte: Autora

1.3.4 Análises cromatográficas

Uma fração dos extratos foi analisada em Cromatógrafo Gasoso (GC-2010, Shimadzu) acoplado a detector por Ionização de Chama (CG-DIC) com coluna capilar NST-5 e H_2 como gás de arraste a fim de observar o perfil dos compostos presentes.

Para as amostras de *headspace* dinâmico o método de análise usado constou de uma programação com temperatura inicial de 50 $^{\circ}C$, mantida por cinco minutos e uma rampa de aquecimento de 5 $^{\circ}C/min$ até atingir 250 $^{\circ}C$, onde permanece por cinco minutos. O tempo total do método foi de 50 min. A temperatura do injetor foi 250 $^{\circ}C$ e o fluxo de H_2 na coluna foi de 1,4 mL/min.

Para as amostras de extração de compostos cuticulares foi utilizado um método com programação de temperatura iniciando a 130 °C e mantida por dois minutos, uma rampa com aquecimento a 10 °C/min até atingir a temperatura de 300 °C, que foi mantida por 18 minutos. A temperatura do injetor era 250 °C e o fluxo de H₂ da coluna foi de 1,2 mL/min.

O Índice de Retenção Linear (IR_{linear}) dos compostos presentes nas amostras foi calculado de acordo com a definição de Van den Dool e Kratz (1963) para análises não isotérmicas através da fórmula:

$$IR_{linear} = 100z + 100 \frac{(tr(y) - tr(z))}{(tr(z + 1) - tr(z))}$$

Onde,

$tr(y)$ = tempo de retenção do composto desconhecido;

$tr(z)$ e $tr(z+1)$ = tempos de retenção de alcanos de cadeia linear, sendo $tr(z)$ o composto imediatamente anterior e $tr(z+1)$ o composto imediatamente posterior a $tr(y)$.

O padrão utilizado para este cálculo foi uma mistura de n-alcanos (Sigma-Aldrich C7-C30). Quando necessário, os valores de IR_{linear} encontrados foram comparados com os descritos na literatura para as colunas de mesma polaridade que a NST-5.

As amostras também foram analisadas por Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas (CG-EM) com coluna NST-5 (GC-2010 Plus, Shimadzu) e NST-1 (GC-2010 Plus, Shimadzu) e os mesmos parâmetros utilizados no CG-DIC.

Uma solução de *n*-eicosano 0,01 µL/mL foi utilizada como padrão interno na amostra de *headspace* dinâmico a fim de determinar a concentração relativa do composto específico de insetos machos. Para isso, foi realizada uma coinjeção de 1µL dessa solução e 1µL da amostra em questão.

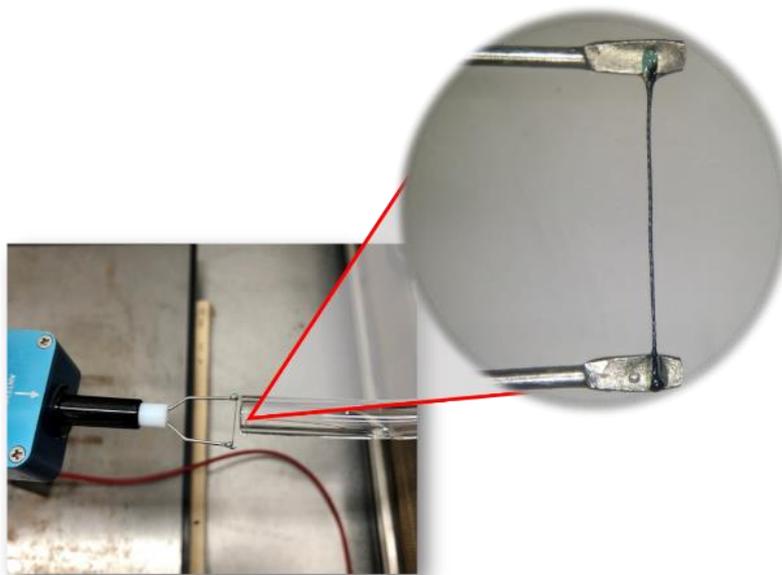
Uma amostra de ocimeno (3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno, mistura de isômeros, ≥ 90% - SIGMA-ALDRICH) foi analisada em GC-DIC e GC-EM a fim de comparar o tempo de retenção, o IR_{linear} e o espectro de massas com o de um composto macho específico encontrado na amostra de aeração.

1.3.5 Eletroantenografia

As antenas dos insetos foram retiradas cuidadosamente com o auxílio de pinça de forma que o escapo fosse retirado por completo da base. Cada antena foi posicionada em

eletrodos de prata e cada extremidade foi envolvida em gel condutor (Signa gel; Parker Laboratories, Inc., Fairfield, NJ). O conjunto foi acoplado ao aparato de análise e as respostas eletrofisiológicas foram obtidas, amplificadas e processadas com um controlador de aquisição de dados (IDAC-4, Syntech Hilversum, Holanda) e registradas no software EAGPro versão 2.0, 2003 (Syntech®) e GcEad versão 4.6 (Syntech®).

Figura 9 Antena de *A. monuste orseis* posicionada em eletrodos de prata



Fonte: Autora

1.3.5.1 “Puff”

Uma amostra de 10 μL de hexano grau HPLC foi colocada em um pedaço de papel de filtro medindo 2 cm^2 que foi deixado em uma placa de Petri por cinco minutos. Em seguida, o papel foi inserido em uma pipeta de Pasteur que foi acoplada a um sistema no qual um pulso de ar era ativado de forma manual e percorria todo o interior da pipeta saindo pela extremidade oposta, esta que se encontrava posicionada dentro do tubo de vidro com abertura para o aparato onde a antena do inseto estava posicionada. O mesmo foi realizado para uma amostra de 10 μL de ocimeno 500 ppm (3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno, mistura de isômeros – SIGMA-ALDRICH). A escolha da concentração se deu após a realização de testes com diferentes concentrações. Foi observado que as antenas respondiam melhor a 500 ppm.

O experimento foi realizado com 8 antenas de fêmeas e 7 antenas de machos com três repetições em cada. O estímulo incitado pela amostra de ocimeno foi comparado ao estímulo incitado pelo hexano.

Os dados foram analisados através do teste Shapiro-Wilk a fim de verificar a normalidade de variância (valor de p). A partir disso, foi possível realizar o teste-t de Student a um nível de 5% de probabilidade realizado através do software SAS para verificar se houve diferença significativa entre as respostas.

1.3.5.2 Cromatografia Gasosa acoplada a Detector Eletroantenográfico (CG-EAG)

O estudo da atividade do extrato do ovipositor foi realizado no CG-EAG na busca de respostas eletrofisiológicas das antenas de machos e fêmeas. O CG-EAG utilizado possui coluna RTX-5 e H₂ como gás de arraste. O método utilizado é similar ao descrito anteriormente para o CG-DIC, alterando-se apenas a permanência da temperatura final de 18 para 13 minutos.

Cinco antenas de machos e três antenas de fêmeas foram submetidas a este extrato. Em cada análise foram utilizados 3 µL de amostra. Além da amostra natural, a mistura de alcanos (Sigma-Aldrich C7-C30) foi testada numa concentração de 5 ppm frente a duas antenas de machos e quatro de fêmeas.

1.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em antenas de *A. monuste orseis*

A MEV das antenas foi realizada no Laboratório de análise instrumental do departamento de química do Instituto Federal de Alagoas (IFAL). Para esta análise, foram utilizadas 10 antenas de machos e 10 de fêmeas.

Esta análise foi realizada para caracterizar morfológicamente as sensilas presentes nas antenas de insetos machos e fêmeas de *A. monuste*.

A fim de retirar a umidade dessas amostras, todas elas foram imersas em uma solução de glutaraldeído a 2 % em tampão de fosfato (0,1 M; pH 7) durante um minuto. Em seguida, foram imersas em soluções de etanol a 50, 70, 80 e 90 %, sequencialmente, permanecendo por um minuto em cada uma. Por fim, foram acondicionadas em etanol absoluto.

Ao serem retiradas do etanol, foram colocadas em papel absorvente para retirar o excesso de solvente e posteriormente mantidas em dessecador. Em seguida, foram

distribuídas em fita adesiva elétrica de sulfito de carbono e colocadas em um suporte de alumínio onde passaram por um processo de metalização com alvo de ouro com uma corrente de 45 mA por quatro minutos em um metalizador (Q150R ES, Quoron®).

As antenas foram analisadas usando um microscópio eletrônico de varredura (INCAx-act, Oxford-instruments®) a 10kV.

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Comportamento de *A. monuste orseis*

Durante a observação do comportamento notou-se que os insetos movimentavam mais e ficavam mais agitados com a incidência da luz do sol no telado. Após às 14:00h havia uma incidência menor de luz e a atividade era reduzida. Neste horário nenhuma cópula foi observada. Durante a manhã, a primeira cópula ocorria sempre próximo às 9h, assim, definiu-se o horário de 8:30 às 14:30h para realização do experimento. Sendo um inseto de hábito diurno é esperado que o efeito visual seja uma parte fundamental durante o cortejo e o macho precise sobrevoar sob à luz do sol para dar início ao ritual de acasalamento (SILBERGLIED, 1984).

No primeiro dia de observação houve apenas uma cópula com duração de 40 minutos. O segundo dia, quando a maioria dos insetos tinham 48h de idade, ocorreram seis cópulas com duração média de 73,8 minutos. Essa foi a maior quantidade de cópulas durante os cinco dias de observação, indicando que a maturidade sexual é atingida com essa idade. Nesse mesmo dia ocorreu também uma tentativa de cópula entre macho e fêmea já copulados, mas 7 segundos após o início da tentativa o macho se afastou.

No terceiro dia, ocorreram duas cópulas, com duração média de 75 minutos, uma delas entre fêmea virgem e macho com experiência sexual. No quarto e quinto dia, nenhuma cópula ocorreu, e restaram poucos insetos vivos. Alguns ovos foram encontrados nos exemplares de *B. oleracea* (L.) var. *capitata* presentes no telado. Os dados referentes à observação do comportamento estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 Dados da observação do comportamento de *A. monuste* em telado.

Dia	Número de cópulas	Duração média de cópula (minutos)	Observações
1	1	40	
2	6	73,8 ($t_{\min} = 60$; $t_{\max} = 108$)	♂ e ♀ já copulados iniciaram cópula, mas encerraram após 7 s
3	2	75 ($t_{\min} = 62$; $t_{\max} = 88$)	♂ copulado + ♀ virgem
4	0	-	
5	0	-	Poucos insetos vivos

t_{\min} = duração mínima de cópula; t_{\max} = duração máxima de cópula; ♂ = macho; ♀ = fêmea

No experimento em que fêmeas com experiência sexual foram colocadas na gaiola com machos virgens, foi observada a aproximação de machos no entorno das fêmeas, no entanto, elas abaixavam as asas e inclinavam o abdome para trás (Figura 10) e com isso os machos se afastavam. Esse comportamento já foi descrito por Scott (1992) em fêmeas de Pierinae e Coliadinae como sendo um comportamento de rejeição aos machos. É importante mencionar que, apesar de não ter sido observado durante este experimento, há relatos na literatura em que *A. monuste* copula até duas vezes com o mesmo macho (LAMONICA, 2012).

A partir da observação de um maior número de cópulas com 48h de idade, todas as coletas de voláteis e bioensaios foram realizados em insetos com essa idade.

Figura 10 Fêmea de *A. monuste* inclinando o abdome ao rejeitar cópula.



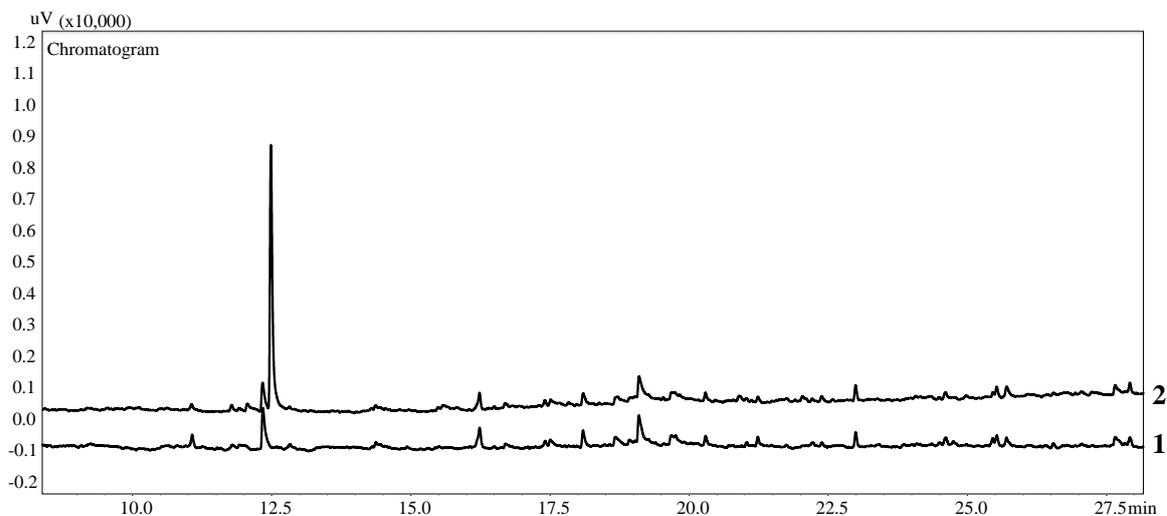
Fonte: Autora

1.4.2 Análise dos extratos

1.4.2.1 Análise cromatográfica de amostras de *headspace*

A partir de análises em CG-DIC observou-se a presença de um composto exclusivo de machos numa concentração relativa de 0,03 $\mu\text{L}/\text{mL}$ com tempo de retenção (tr) 12.536 min (Figura 11).

Figura 11 Cromatogramas dos extratos de *headspace* dinâmico de insetos fêmeas (1) e machos (2).



Essa amostra foi analisada em CG-EM (Figura 12) e o composto macho específico tem $t_r = 13.462$ min. A biblioteca do equipamento, que utiliza o banco de dados NIST, sugeriu o composto 3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (m/z 136). A análise da fragmentação está condizente com essa estrutura, uma vez que apresenta os fragmentos: m/z 121, referente a perda de $\text{CH}_3\cdot$ ($136^+ \rightarrow 121^+ + 15\cdot$); o fragmento m/z 93 como pico base, referente a perda de $\text{C}_3\text{H}_7\cdot$ ($136^+ \rightarrow 93^+ + 43\cdot$) a partir do íon molecular e ainda podendo ser formado a partir da saída de uma molécula neutra, C_2H_4 , partir do fragmento m/z 121 ($121^+ \rightarrow 93^+ + 28$) e o fragmento m/z 79, formado a partir da saída de C_3H_6 a partir do fragmento m/z 121 ($121^+ \rightarrow 79^+ + 42$) (PAVIA et al., 2015; EL-KAREEM et al, 2020).

Figura 12 Espectro de massas do composto macho específico. P.M. = pico do íon molecular.

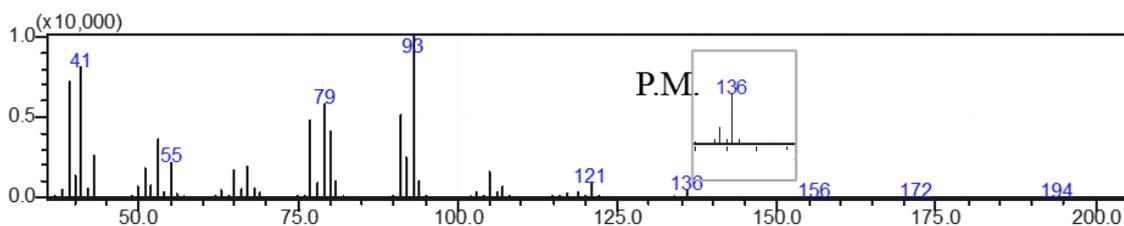
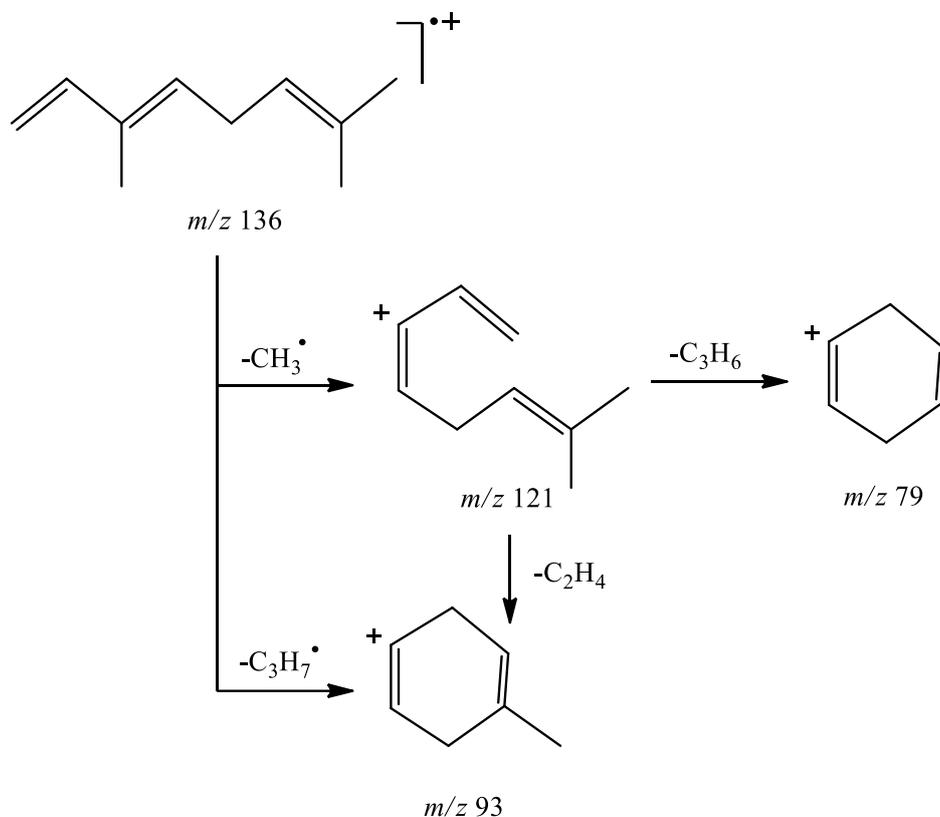


Figura 13 Proposta de fragmentação do (*E*)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (10), adaptado de EL-KAREEM et al, 2020.



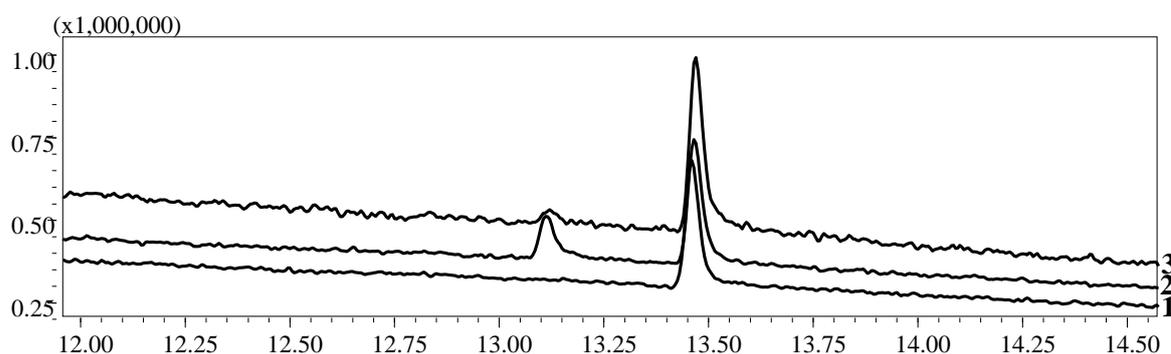
A confirmação da estrutura foi feita pela coinjeção da amostra do extrato de *headspace* dinâmico com o padrão sintético (Ocimeno (3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno) mistura de isômeros, $\geq 90\%$ - SIGMA-ALDRICH) (Figura 13). Tratando-se de uma mistura de isômeros, o padrão apresentou dois picos, um com $\text{tr} = 13.114$ min e o outro com $\text{tr} = 13.462$ min, sendo este último coincidente com o da amostra do extrato.

A fim de diferenciar os isômeros, o Índice de Retenção Linear ($\text{IR}_{\text{linear}}$) foi calculado, uma vez que a literatura apresenta valores diferentes para *Z* e *E* nas colunas de mesma polaridade que a NST-5. Adams (2007) relata um $\text{IR}_{\text{linear}} = 1037$ para o isômero *Z* e $\text{IR}_{\text{linear}} = 1050$ para o isômero *E*, enquanto Choi (2003) relata um $\text{IR}_{\text{linear}} = 1043$ para o isômero *Z*.

O primeiro pico, presente apenas no padrão, apresentou $\text{IR}_{\text{linear}} = 1040$ e o segundo, tanto do padrão quanto da amostra, apresentou $\text{IR}_{\text{linear}} = 1052$, indicando que o composto macho-específico é o (*E*)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (10) (Figura 14) ainda não relatado em *A. monuste orseis*.

Não é a primeira vez que um monoterpene é relatado como composto macho específico nessa família. Okumura e colaboradores (2016) identificaram o (*S*)-(+)-linalool e o (*E*)- β -farneseno em *A. scolymus*. Além disso, Hayashi e colaboradores (1985) também identificaram o (*E*)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno em machos e fêmeas de *H. glaucippe* e esse composto incitou resposta eletroantegráfica nos insetos.

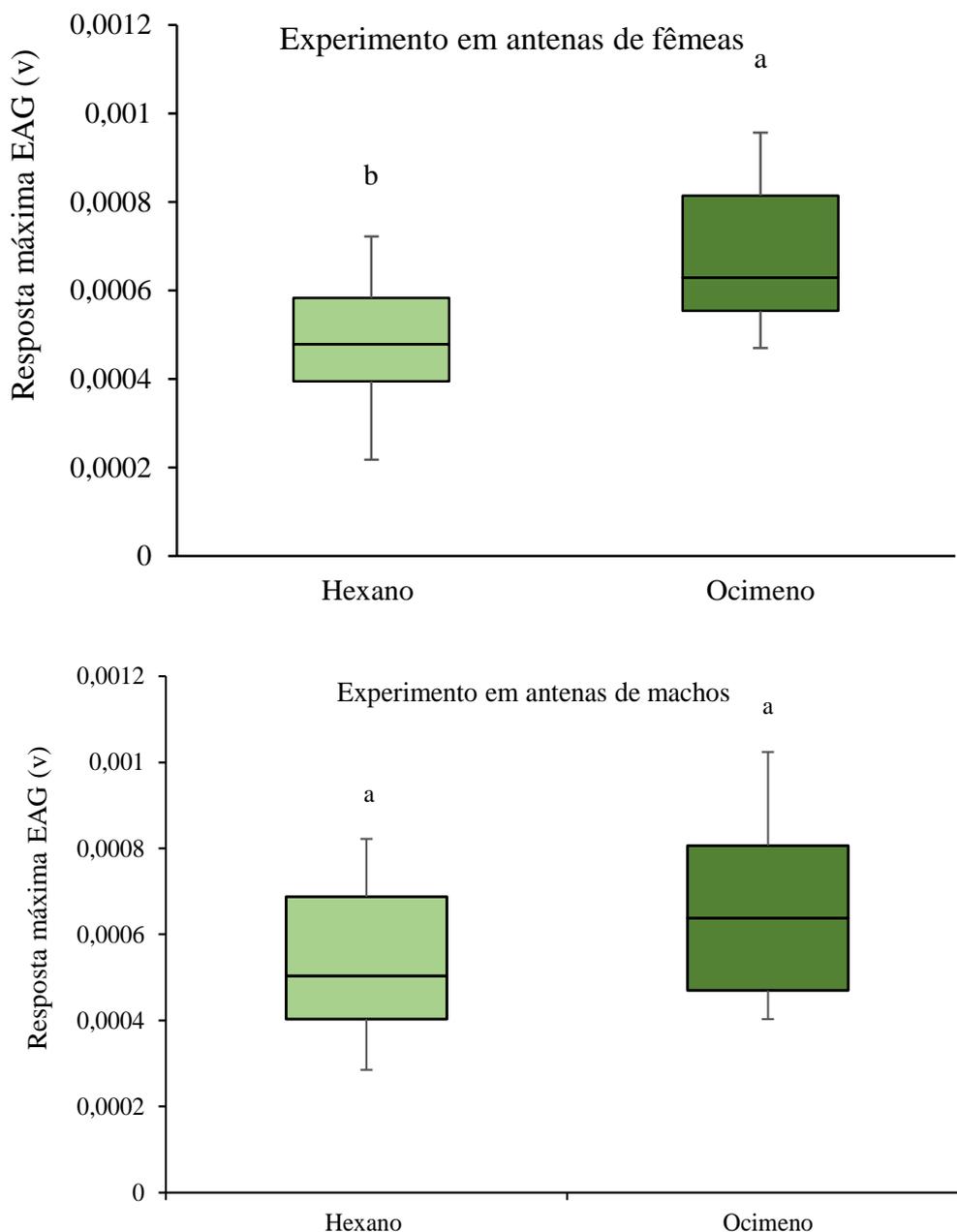
Figura 14 Comparativo de cromatogramas do extrato de *headspace* dinâmico de insetos machos (1), do padrão 3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno (mistura de isômeros) (2) e da coinjeção de ambos (3) em CG-EM.



1.4.2.2 Bioensaio “puff”

Esse teste consiste em colocar a amostra em contato com as antenas através de um pulso de corrente de ar para observar a ocorrência de algum estímulo. O teste t dos dados das antenas de insetos fêmeas apresentaram um $p = 0,0403$. Em contrapartida, os dados de antenas de insetos machos apresentaram um $p = 0,2831$. Esse resultado indica que as antenas de insetos fêmeas demonstraram resposta aos estímulos incitados pelo composto macho específico (*E*)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno e essas respostas foram significativamente diferentes as incitadas pelo hexano. No caso de insetos machos, não foram observadas diferenças entre os estímulos incitados pelo composto e pelo solvente.

Figura 15 Comparativo de estímulos incitados por hexano e (*E*)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno.



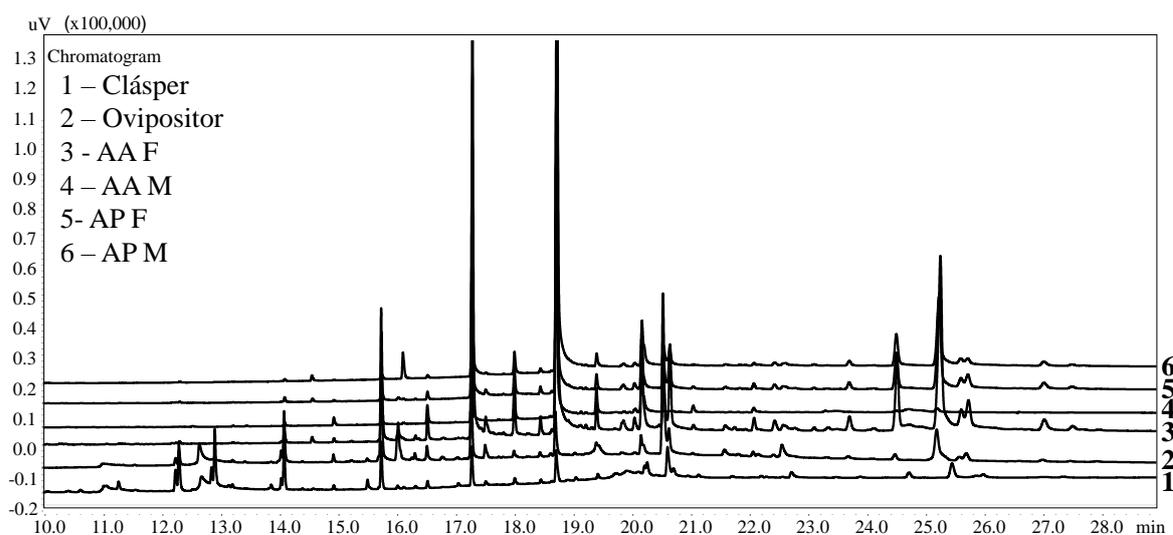
1.4.2.3 Análise cromatográfica de amostras da extração dos componentes cuticulares

Os extratos cuticulares das partes (asas anteriores e posteriores, ovipositor e clássper) dos insetos virgens foram analisados em CG-DIC e foi observado um perfil similar em todos eles, ou seja, não há diferença qualitativa no perfil de compostos (Figura 15). Essa constatação é interessante, uma vez que em algumas espécies de Pieridae são

encontrados compostos macho específicos em extratos de asas atuando como feromônio, como é o caso de *C. philodice* e *C. eurytheme* (GRULA et al., 1980). Em contrapartida, também há relatos de compostos presentes nos extratos de asas de machos e fêmeas de *C. eurytheme* que parecem atuar da mesma maneira (SAPPINGTON, TAYLOR, 1990).

Dois picos intensos se destacam nos extratos de asas. Eles aparecem em $t_r = 17.378$ e $t_r = 18.828$. Seus IR_{linear} são 2700 e 2902, respectivamente. Esses valores coincidem com os hidrocarbonetos lineares heptacosano (2700) e nonacosano (2900). Esses compostos são comuns em diferentes ordens de insetos e já foram encontrados em três espécies de Pieridae, *C. erate poliographus*, *C. eurytheme* e *P. rapae* (SAPPINGTON, TAYLOR, 1990; ARSENE, SCHULZ, VAN LOON, 2002; ÔMURA, YOTSUZUKA, 2015).

Figura 16 Comparação dos cromatogramas dos extratos cuticulares de *A. monuste orseis*. (1) Cláspes; (2) Ovipositor; (3) asa anterior ♀; (4) asa anterior ♂; (5) asa posterior ♀; (6) asa posterior ♂.



1.4.2.4 Bioensaio em CG-DEA

O extrato de ovipositor (E.O.) foi obtido em maior quantidade quando comparado aos extratos de asas que tiveram que ser filtrados, devido a quantidade de escamas, antes de armazenados. Logo, (E.O.) foi escolhido para realizar as análises em CG-DEA.

Doze dos compostos presentes incitaram resposta em antenas de machos e fêmeas (Figura 17). Os IR_{linear} desses compostos foram determinados utilizando como referência um padrão de alcanos de C7-C30. Os dados estão dispostos na Tabela 2.

Figura 17 Resposta eletroantenográfica da antena de inseto fêmea frente ao extrato de ovipositor.

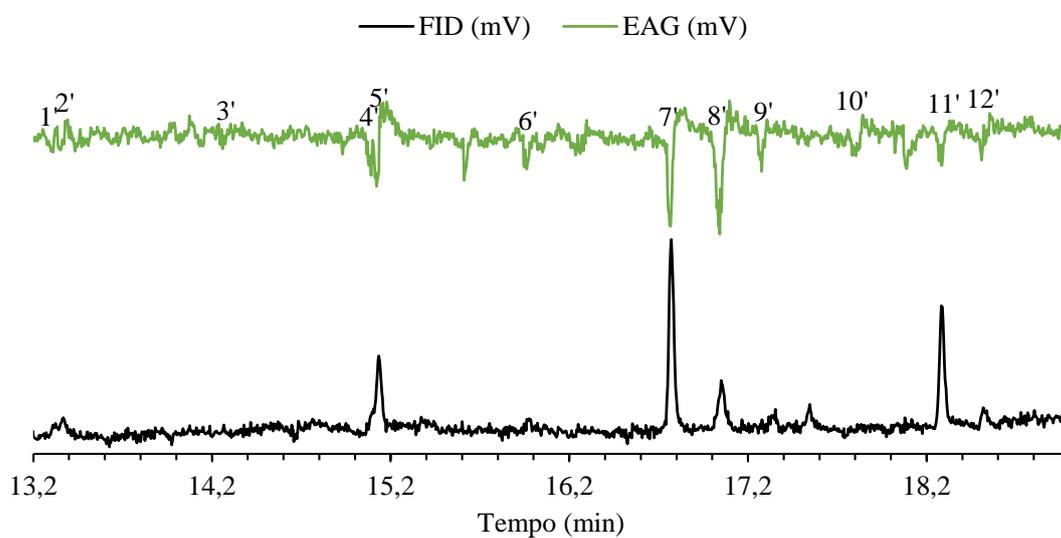


Figura 18 Resposta eletroantenográfica da antena de inseto macho frente ao extrato de ovipositor.

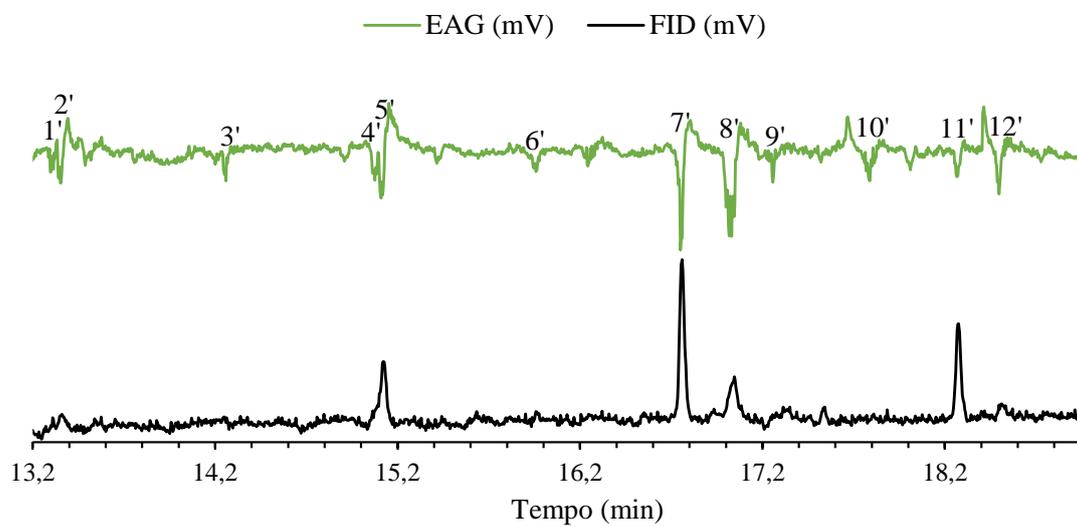
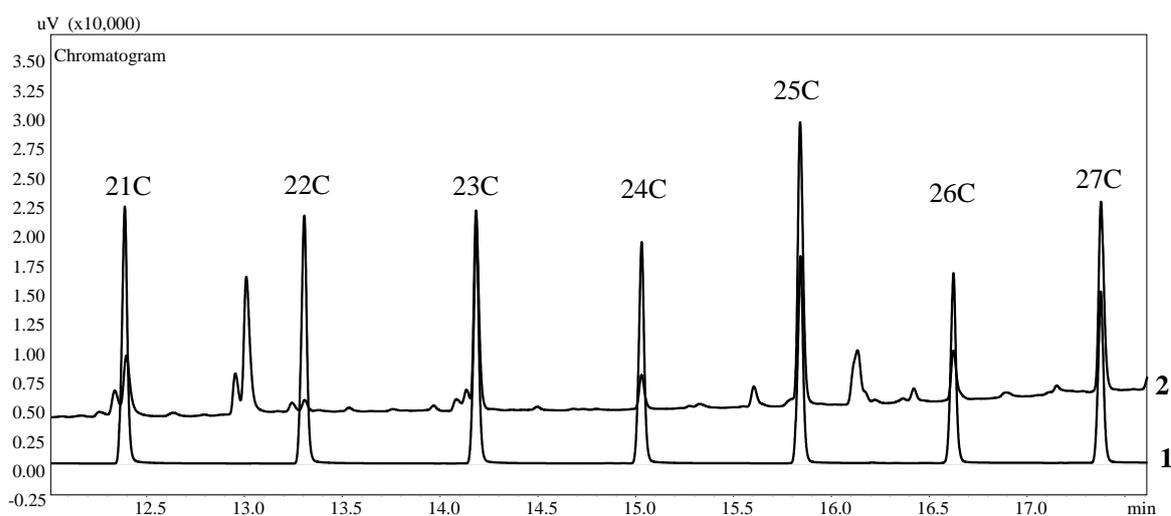


Tabela 2 Tempo de retenção (tr, min) e Índice de Retenção Linear (IR_{linear}) para a análise realizadas nas colunas NST-1 e NST-5 dos compostos do extrato de ovipositor (E.O.) com resposta nas antenas de *A. monuste orseis*.

Composto	tr E.O. (min)	IR_{linear} E.O. em NST-1	IR_{linear} E.O. em NST-5
1'	13.309	2092	2097
2'	13.352	2100	2102
3'	14.257	2200	2201
4'	15.078	2292	2296
5'	15.110	2300	2299
6'	15.946	2400	2399
7'	16.743	2501	2499
8'	17.028	2539	2535
9'	17.255	2569	2565
10'	17.518	2600	2599
11'	18.257	2700	2698
12'	18.493	2733	2731

Os compostos destacados em negrito na Tabela 2 sobrepõem-se aos picos correspondentes aos hidrocarbonetos lineares de 21, 22, 23, 24, 25, 26 e 27 carbonos do padrão de *n*-alcanos, estes que têm IR_{linear} de 2100, 2300, 2400, 2500 e 2700, respectivamente (Figura 19).

Figura 19 Comparação dos cromatogramas do extrato do ovipositor (2) com os padrões de *n*-alcanos C21-C27 (1).



A caracterização desses compostos foi concluída por espectrometria de massas, onde foi observada a presença do pico do íon molecular para cada *n*-alcano, m/z 296 para o heneicosano (2'), m/z 310 para o docosano (3'), m/z 324 para o tricosano (5'), m/z 338

para o tetracosano (6'), m/z 352 para o pentacosano (7'), m/z 366 para o hexacosano (10') e m/z 380 para o heptacosano (11'), além de fragmentos com a diferença de 14 unidades de massa indicando a perda de grupos metileno ao longo da fragmentação (Apêndice).

Todos esses compostos já foram relatados nos extratos de diferentes partes do corpo de insetos machos e fêmeas de duas espécies da família Pieridae, *P. rapae* e *C. erate poliographus* (ARSENE, SCHULZ, VAN LOON, 2002; ÔMURA, YOTSUZUKA, 2015). Além disso, (5'), (7') e (11') também já foram encontrados em extratos de asas de machos e fêmeas de *C. eurytheme* e *C. philodice*. Esses compostos incitaram resposta eletrofisiológica nas antenas de fêmeas das duas espécies, ainda que menos intensas quando comparadas as dos compostos macho-específicos (GRULA, MCCHESENEY, TAYLOR Jr., 1980).

A fim de confirmar a resposta eletroantenográfica a esses compostos, o padrão de alcanos também foi analisado em CG-DEA (Figura 20). De fato, machos e fêmeas responderam a esses compostos indicando a presença de receptores para esses compostos nas antenas desses insetos.

Figura 20 Resposta eletroantenográfica da antena de inseto fêmea frente a solução de padrões de n-alcanos.

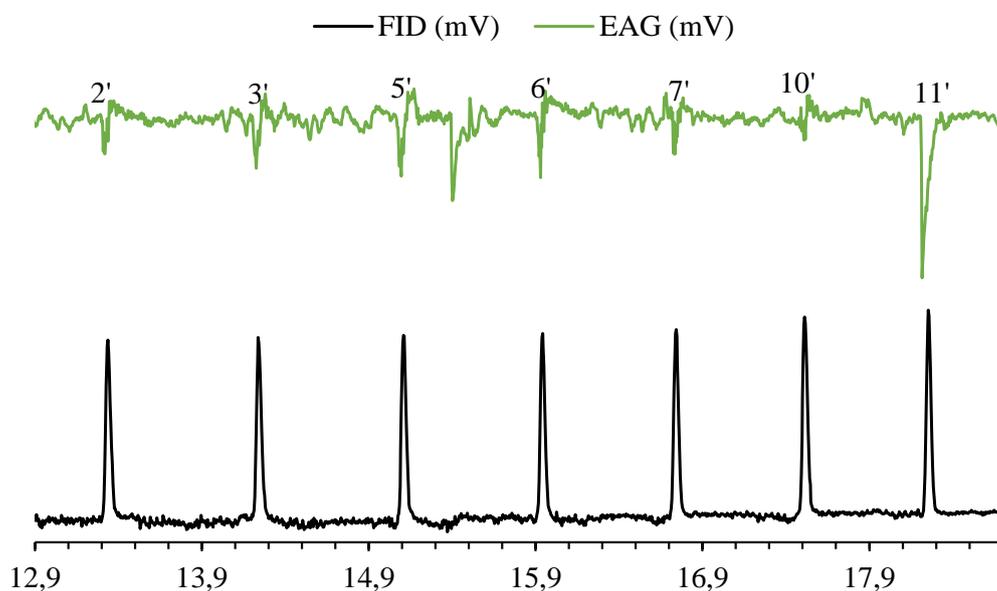
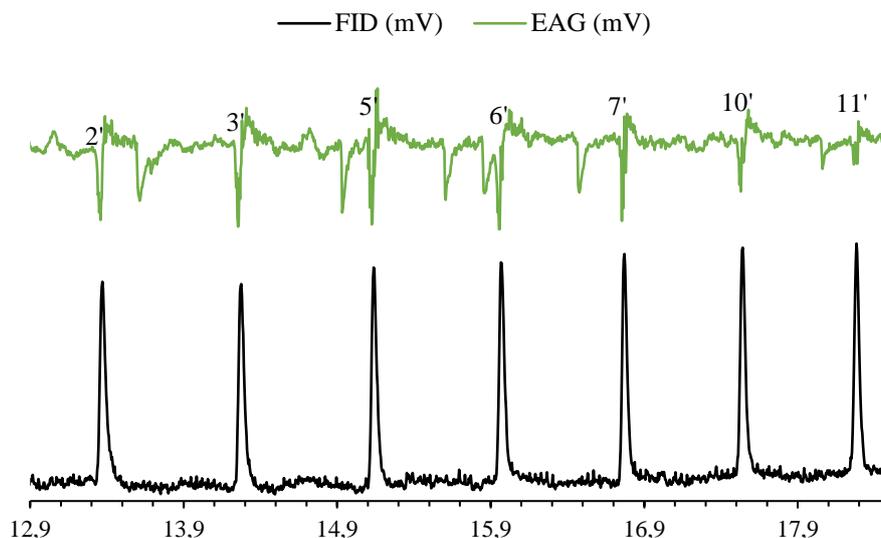


Figura 21 Resposta eletroantenográfica da antena de inseto macho frente a solução de padrões de n-alcenos.



Ao todo foram testadas sete antenas de machos e sete de fêmeas. Todas as antenas de machos responderam aos compostos heneicosano (2'),tricosano (5'), pentacosano (7') e heptacosano (11'). O mesmo ocorreu com as antenas de fêmeas frente aos compostos (5') e (7'). Apenas uma antena de macho e uma de fêmea não responderam ao docosano (3'). Isso ocorreu também com fêmeas frente ao (2'), tetracosano (6') e hexacosano (10'). O menor índice de resposta de antena de macho foi verificado frente ao (6'), onde ocorreram apenas três respostas e, no caso das fêmeas, apenas quatro respostas foram verificadas frente ao (11').

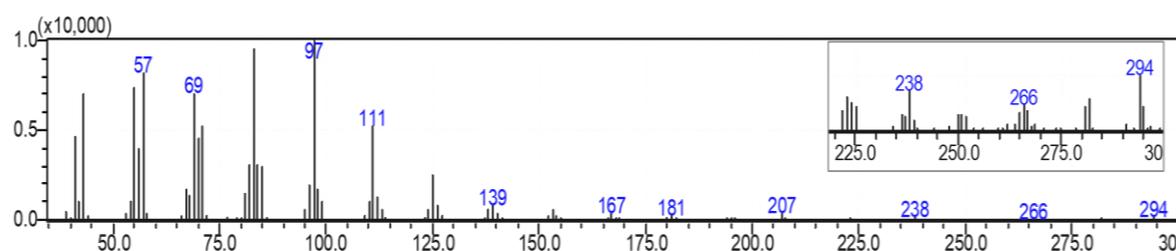
É importante mencionar que alguns fatores podem influenciar na qualidade de respostas, como a condição da antena, o número de estímulos anteriores e a condição climática durante a análise (temperatura e umidade) (ROSA, 2016).

Os outros cinco compostos que incitam respostas eletroantenográficas e não coincidem com o padrão de alcanos tiveram seus espectros de massa analisados e serão discutidos a seguir.

O primeiro deles aparece 2,6 s antes do primeiro composto identificado, o (2'). Levando em consideração a proximidade de (2') que possui 21 carbonos e, conseqüentemente, a proximidade numérica do IR_{linear} , 2097 para o composto desconhecido (1') e 2102 para (2'), é plausível sugerir que esse composto apresente o mesmo número de carbonos em sua cadeia principal. Observando o perfil de fragmentação e sabendo que a fórmula geral dos alcanos é C_nH_{2n+2} , é excluída a

possibilidade de (1') ser um alcano acíclico, pois o pico do íon molecular é m/z 294 indicando possuir um ciclo ou ser um alceno com cadeia de 21 carbonos (SOLOMONS; FRYHLE, 2013). No entanto, em alcanos cíclicos é comum encontrar um pico do íon molecular intenso, uma vez que a fragmentação de ciclos exige a quebra de duas ligações C-C, um processo relativamente mais difícil, isso resulta em um número maior de moléculas não fragmentadas quando comparado a alcanos acíclicos. Além disso, nesse tipo de molécula, o fragmento M-28 referente a perda de eteno costuma ser bem intenso (PAVIA, 2015). Nenhuma dessas situações ocorre no espectro do composto em questão. Essas observações somadas ao fato de que nenhum dos compostos bioativos descritos na literatura para Pieridae apresentam ciclos, leva a inferir que o composto em questão é um alceno de 21 carbonos (PHEROBASE, 2021).

Figura 22 Espectro de massas do composto 1.



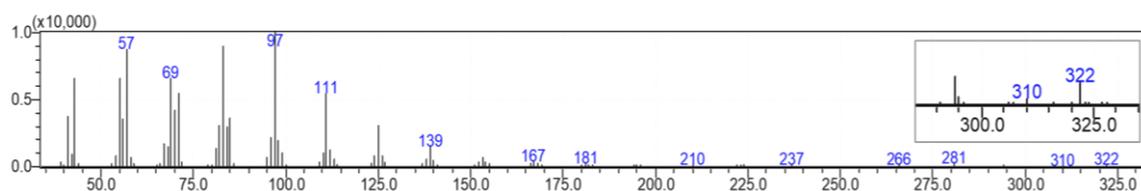
Analisando o espectro é possível notar os fragmentos m/z 111, 125, 139, 153, 167 e 181 que diferem apenas por unidades de metileno. O pico base m/z 97 é referente ao íon $C_7H_{13}^+$ que pode ser obtido a partir do íon molecular liberando o radical tetradecanil. Dessa forma, esse fragmento contém a insaturação, pois um fragmento saturado de sete carbonos que inclui a metila terminal possuiria m/z 99, fragmento comum em cadeias lineares de alcanos.

Na literatura, apenas um composto com essa característica está descrito para a família Pieridae, o 1-heneicoseno (ARSENE, SCHULZ, VAN LOON, 2002). Apesar da posição da insaturação não poder ser determinada apenas com esse espectro, é interessante observar que o IR_{linear} descrito para esse composto em coluna DB-5 é 2098, enquanto o do composto (1') é 2097 (ZAIKIN, BORISOV, 2002).

Algo similar ocorre com o composto (4'). O perfil de fragmentos é bastante parecido com o do composto (1') e ele aparece um pouco antes do tricosano (5'), alcano

linear de 23 carbonos. O pico do íon molecular é m/z 322 e apresenta o m/z 97 como pico base.

Figura 23 Espectro de massas do composto (4').



O único alceno de 23 carbonos descrito na literatura para Pieridae é o 1-tricoseno que apresenta IR_{linear} idêntico ao de (4'), 2296 para a coluna DB-5 (ARSENE, SCHULZ, VAN LOON, 2002; ZAIKIN, BORISOV, 2002).

No caso dos compostos (8') e (9'), esses se encontram entre o pentacosano (7') e o hexacosano (10'), indicando uma cadeia principal de 25 carbonos. O perfil de fragmentação de (8') é bastante parecido com os de alcanos de cadeias lineares, no entanto a abundância dos fragmentos m/z 140 e m/z 252, diferente do que ocorre em cadeias lineares, pode indicar a presença de uma ramificação (Figura 24) (PAVIA, 2015). É possível visualizar o fragmento m/z 351, referente a perda de um grupo metil bem mais intenso que o pico do íon molecular m/z 366. Baseando-se nisso, é inferido que a ramificação desse composto é uma metila localizada na posição 9, sendo assim o 9-metilpentacosano. A proposta de fragmentação está descrita na Figura 25. Esse composto já foi relatado em *P. rapae* e a literatura descreve o IR_{linear} como sendo 2537 em coluna OV-101. (8') apresentou $IR_{\text{linear}}=2539$ em NST-1 e $IR_{\text{linear}}=2535$ em NST-5 (POMONIS, 1989; ARSENE, SCHULZ, VAN LOON, 2002).

Figura 24 Espectro de massas do composto (8').

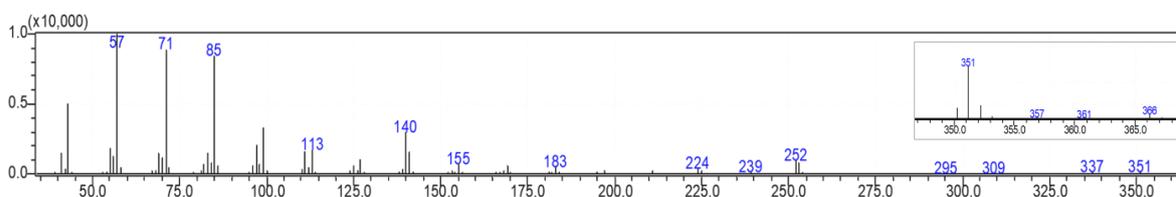
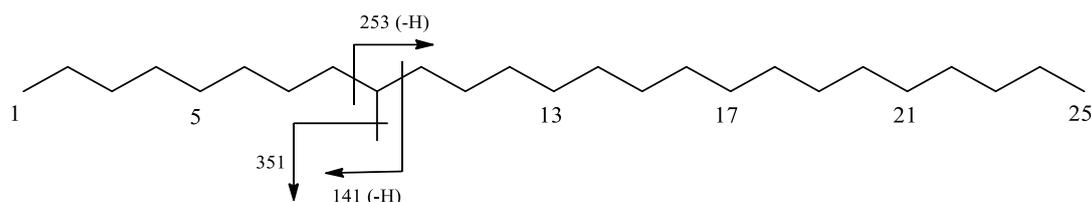
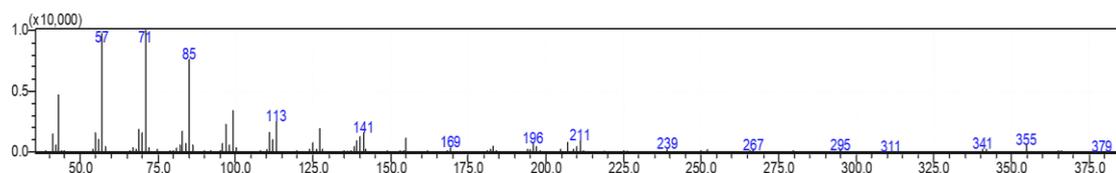
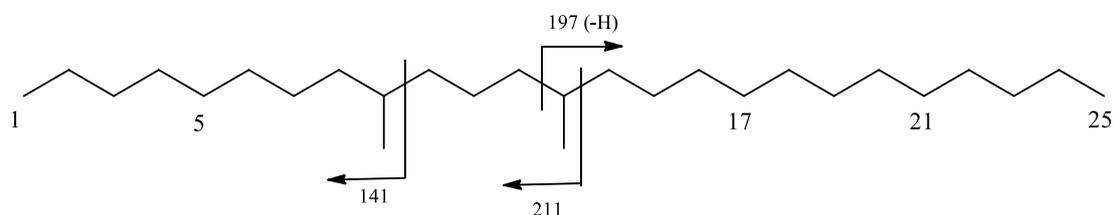


Figura 25 Proposta de fragmentação do composto (8').

Já no espectro de (9'), é observado um perfil similar, no entanto apresenta maior abundância no fragmento m/z 211 podendo indicar a presença de dois grupos metil, um na posição 9 e outro na 13. Esse perfil de ramificações também possibilita fragmentos os m/z 141 e m/z 196 mais intensos (Figura 26). O IR_{linear} deste composto é 2569 em NST-01, próximo do descrito na literatura que é 2572 em coluna de mesma polaridade.

Figura 26 Espectro do composto (9').**Figura 27** Proposta de fragmentação do composto (9').

Um composto bem parecido já foi relatado em *P. rapae*, o 7,11-dimetilpentacosano ($IR_{\text{linear}} = 2570$). Além dele, outros compostos com dois até quatro grupos metil também estão presentes na mesma espécie.

O composto (12') aparece logo após o (11') e possui $IR_{\text{linear}}=2731$ em NST-5, ou seja, apresenta cadeia principal de 27 carbonos. Assim como (8'), é possível verificar a presença de dois fragmentos mais abundantes no meio do espectro que o diferenciam de um composto de cadeia linear, o m/z 196 e o m/z 224 (Figura 28). Esses fragmentos se referem aos carbocátions secundários formados a partir da quebra das ligações adjacentes à ramificação (Figura 29). Também é possível visualizar o m/z 379, referente a perda de um radical metil, mais abundante que o pico do íon molecular m/z 394. A partir disto é

possível deduzir a posição da ramificação metila na posição 13, sendo assim o 13-metilheptacosano. Esse composto está presente nos pierídeos *C. erate poliographus* e *C. eurytheme* e é componente principal do feromônio desta última. O IR_{linear} descrito na literatura para este composto é 2733 para DB-5MS e DB-1, valor idêntico ao de (12') para NST-1.

Figura 28 Espectro de massas do composto (12').

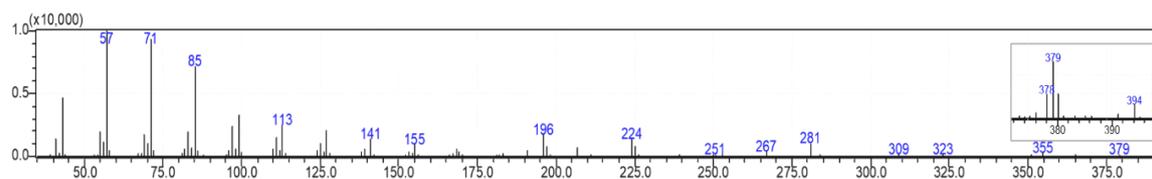
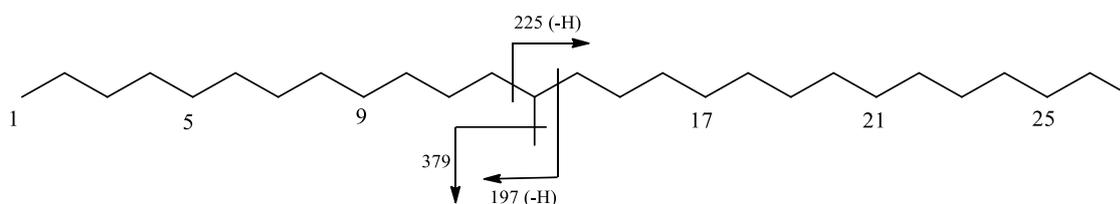


Figura 29 Proposta de fragmentação do composto (12').

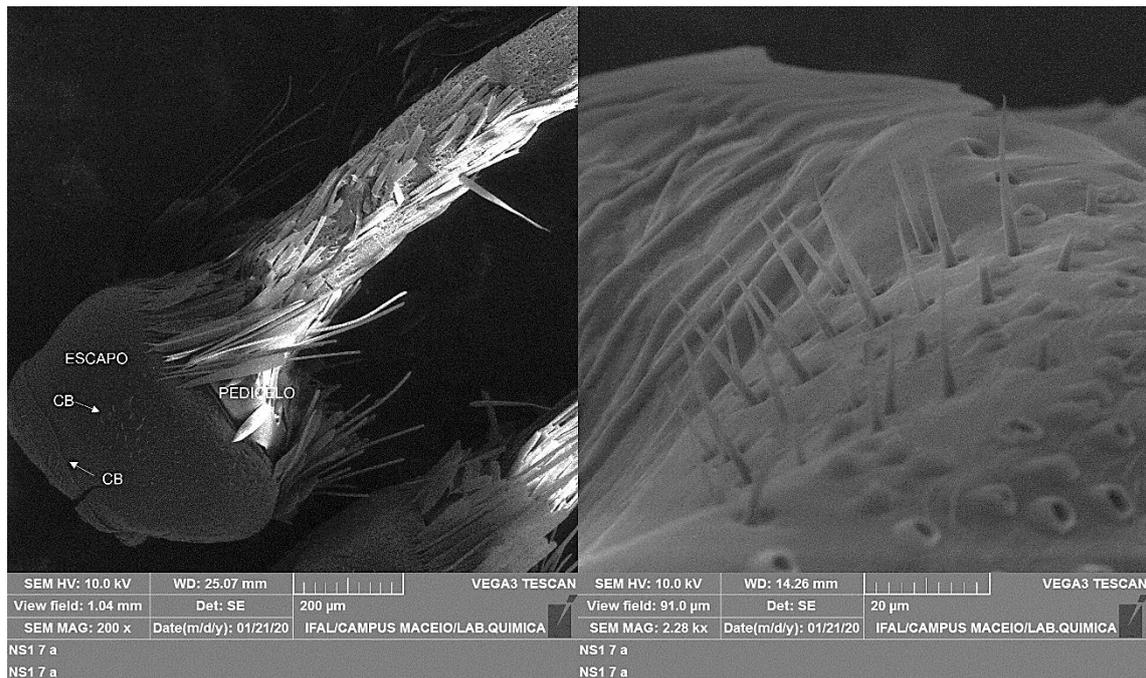


1.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em antenas de *A. monuste orseis*

As antenas em *A. monuste orseis* estão localizadas entre os olhos e são constituídas por três segmentos: escapo, localizado na região basal, onde é conectado a cabeça do inseto; pedicelo, localizado entre o escapo e o terceiro segmento; e flagelo é o mais alongado dos três segmentos e é composto por subsegmentos denominados flagelômeros (LOZANO, 2006; NASCIMENTO, SALOMÃO, MARTINS, 2013).

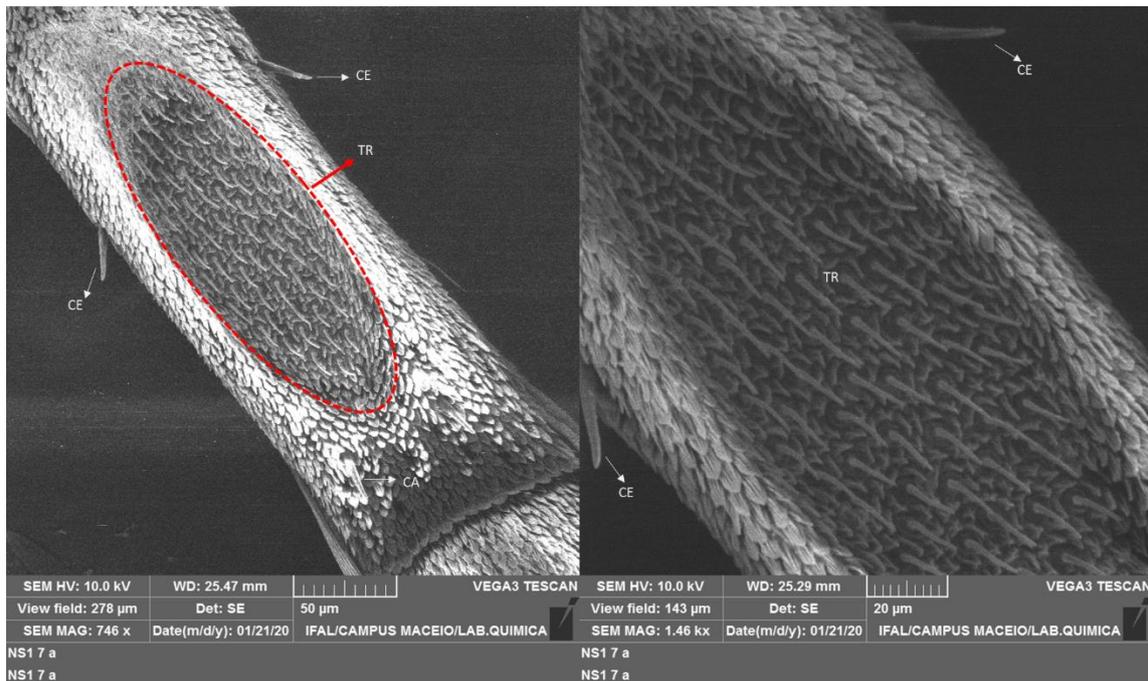
No escapo de insetos machos e fêmeas de *A. monuste orseis* estão presentes sensilas de formato cônico e superfície lisa denominadas cerdas de Böhm (CB) (Figura 30). Estas sensilas, normalmente encontradas no primeiro e segundo segmento, estão associadas a função proprioceptiva, ou seja, auxilia no reconhecimento da posição espacial do inseto (SCHNEIDER, 1964; KOH, PARK, BOO, 1995; MOYES, SCHULTE, 2005; XIANGQUN et al., 2014; SANTOS et al., 2019).

Figura 30 Micrografia do escapo da antena de fêmea de *A. monuste orseis* com cerdas de Böhm localizadas no escapo.



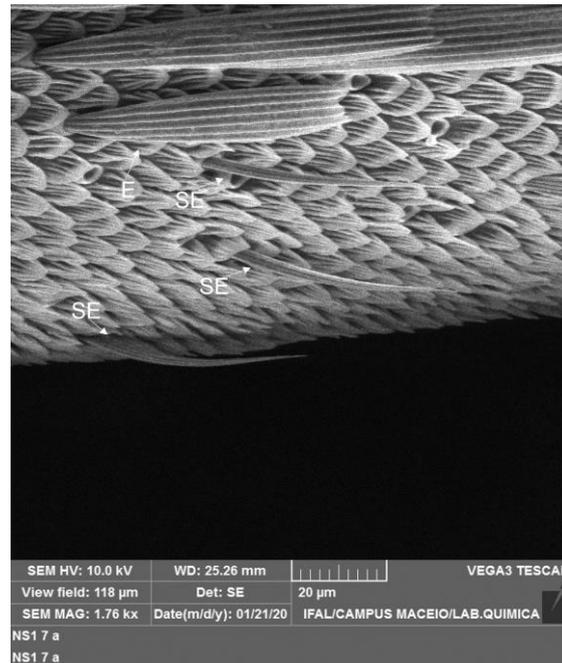
O flagelo da antena de insetos machos e fêmeas é constituído por subsegmentos nos quais é possível observar a presença de uma estrutura de formato elíptico, denominada sulco, onde estão distribuídas, de forma aglomerada, sensilas do tipo tricóide (TR) (Figura 31). Sulcos semelhantes a estes também são encontrados em outras espécies pertencentes à mesma família de *A. monuste orseis*, como por exemplo em *Pseudopieris nehemia prasina*, *Leptidea gigantea*, *Enantia jethys*, *Pseudopieris nehemia jessica*, *Moschoneura pinthous*, *Patia cordillera cordillera*, entre outras (CASTRO-GERARDINO, LLORENTE-BOUSQUETS, 2017). Essa estrutura elíptica está presente apenas no lado ventral da antena. As sensilas tricóides possuem aparência semelhante a pequenos fios de cabelo e são levemente curvadas na ponta com superfície lisa. A função de sensilas tricóides está frequentemente relacionada com a recepção de feromônios sexuais (VAN DER PERS et al., 1980; EBBINGHAUS et al., 1998; KAISSLING, 2014).

Figura 31 Micrografia de um segmento da antena de fêmea de *A. monuste orseis* com sensilas tricoides (TR) distribuídas no sulco e sensilas céticas (CE) ao redor.



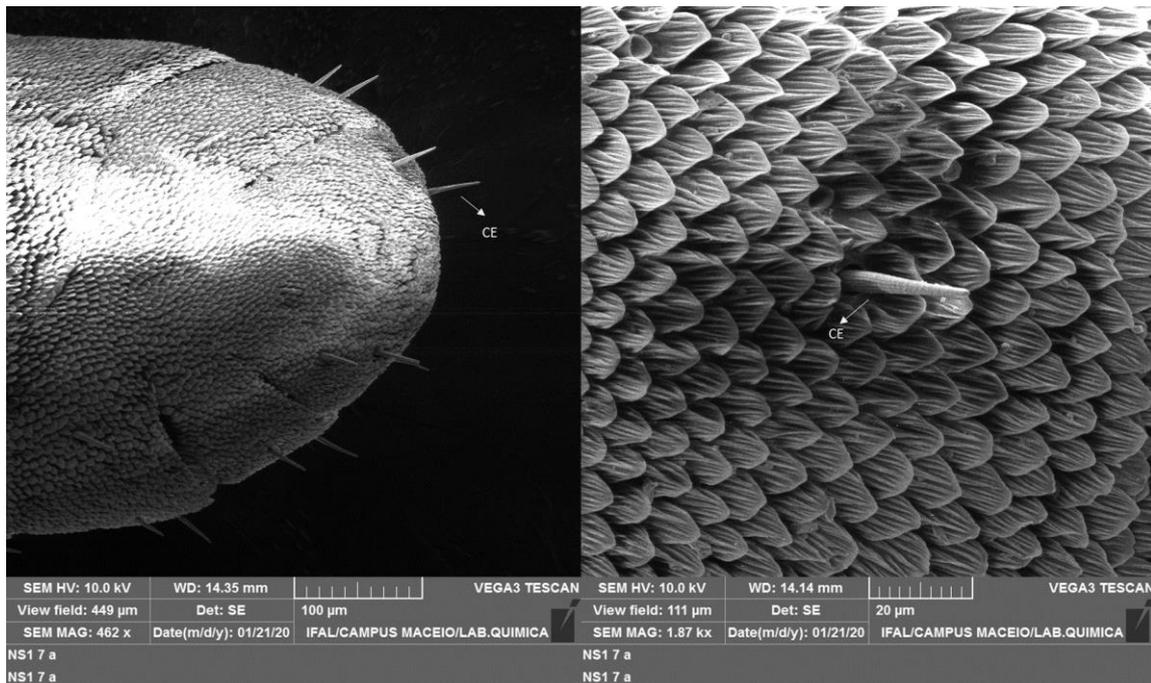
Também é possível observar a presença de sensilas escamiformes (SE) ao longo do flagelo da antena de insetos machos e fêmeas de forma dispersa. Essas sensilas possuem superfície bastante parecida com a das escamas (E), no entanto são mais estreitas e afiladas. Alguns autores sugerem que esse tipo de sensila está associada a função mecanorreceptiva (FRANK, LESKEY, BERGH, 2010; SEADA, 2015) (Figura 32).

Figura 32 Micrografia de sensilas escamiformes (SE) e escamas (E) no flagelo de antena de inseto macho de *A. monuste orseis*.



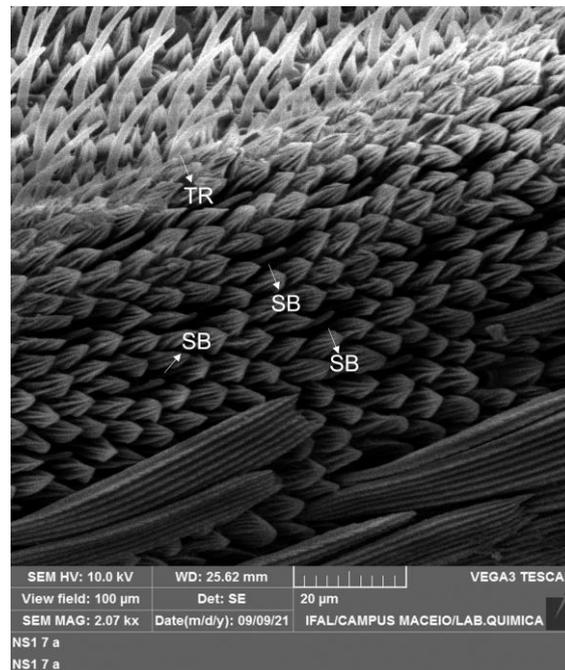
Além dessas, também foi observada a presença de sensilas cétricas ao longo do flagelo da antena de insetos machos e fêmeas com predominância no ápice da antena. Esse tipo de sensila possui formato cônico, além disso apresenta uma estrutura mais rígida e pontuda como uma agulha e ainda possui superfície ranhurada no sentido longitudinal (Figura 33). Alguns estudos relacionam essa sensila às funções quimiorreceptora de contato e/ou mecanoreceptora, devido ao seu comprimento, posição vertical e, em alguns casos, à presença de um poro terminal (VAN DER PERS et al. 1980; XIANGQUN et al., 2014; FRANK; LESKEY; BERGH, 2010).

Figura 33 Micrografia de sensilas céticas (CE) localizadas no ápice da antena de inseto fêmea de *A. monuste orseis*.



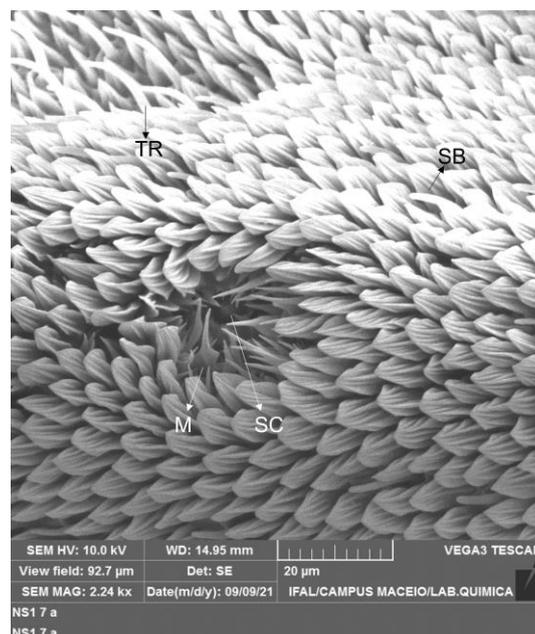
Sensilas basicônicas (SB) são mais curtas que as tricóides e as céticas e estão presentes em grande quantidade ao longo de todo o flagelo das antenas de insetos machos e fêmeas. Sua função está relacionada a recepção de voláteis de plantas (SHIELDS, HILDEBRAND, 1999).

Figura 34 Micrografia de sensilas basicônicas (SB) e tricóides (TR) no flagelo da antena de inseto macho *A. monuste orseis*.



Em antenas de insetos machos foi possível notar a presença sensilas celocônicas (SC) envoltas de estruturas cuticulares denominadas microtriquias (M). A função desse tipo de sensila já foi associada tanto a recepção de voláteis de plantas quanto a percepção termo e higrosensorial (FRANK; LESKEY; BERGH, 2010).

Figura 35 Micrografia de sensilas celocônicas (SC) no flagelo da antena de inseto macho de *A. monuste orseis*.



Apesar de não terem sido visualizadas nessa análise, sensilas desse tipo já foram relatadas em insetos fêmeas de *A. monuste orseis* (LIMBERGER, BRUGNER, FONSECA, 2021). Possivelmente o posicionamento das antenas ou falha no procedimento de metalização pode ter prejudicado a detecção.

1.5 CONCLUSÕES

O período de maior atividade de *A. monuste orseis* é durante a manhã e o maior número de cópulas ocorre com 48h de idade.

O (*E*)-3,7-dimetil-1,3,6-octatrieno, um terpeno conhecido como β -ocimeno, foi identificado como sendo exclusivo de machos em *A. monuste orseis* e o estímulo incitado por esse composto em antenas de fêmeas foi significativamente diferente quando comparado ao hexano no bioensaio “puff”.

Não há diferença qualitativa dos compostos presentes nos extratos de asas de machos e fêmeas, clássper e ovipositor.

Machos e fêmeas apresentaram resposta eletroantegráfica a 12 compostos presentes no extrato de ovipositor. Sete deles foram identificados como sendo os alcanos lineares heneicosano, docosano, tricosano, tetracosano, pentacosano, hexacosano e heptacosano. Os espectros de fragmentação sugerem que três dos compostos são os alcanos ramificados 9-metilpentacosano, 9,13-dimetilpentacosano e 13-metilheptacosano, sendo necessária a confirmação de suas estruturas com padrões sintéticos. Os compostos (1') e (4') são alcenos de 21 e 23 carbonos com uma insaturação em posição ainda não definida.

Através de MEV das antenas de insetos fêmeas foi possível observar a presença de cerdas de Böhm, sensilas céticas, escamiformes, basicônicas, celocônicas e tricóides, estas comumente relacionadas à recepção de feromônios.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4ed. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL. 2007. 804 p.
- AHMAN, I. Oviposition behavior of *Dasineura brassicae* on a high-versus a low-quality brassica host. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 39, p. 247–253, 1985
- ARSENE, C.; SCHULZ, S.; VAN LOON, J. J. A. Chemical polymorphism of the cuticular lipids of the cabbage white *Pieris rapae*. **Journal of Chemical Ecology**. v. 28, n. 12, p. 2627-2631, 2002.
- AWMACK, C. S.; LEATHER, S. R. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**. v. 47, p. 817–844, 2002.
- BARROS, H. C. H.; ZUCOLOTO, F. S. Performance and host preference of *Ascia monuste* (Lepidoptera, Pieridae). **Journal of Insect Physiology**. v. 45, p. 7–14, 1999.
- BARTH, R. Considerações gerais e específicas sobre as glândulas cutâneas sexuais dos Lepidopteras. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v, 75. p. 129-140, 1980.
- BLAAKMEER A. et al. Comparative headspace analysis of cabbage plants damaged by two species of *Pieris* caterpillars: consequences for in-flight host location by *Cotesia* parasitoids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 73, p. 175–182, 1994.
- BOHINC, T.; BAN, S. G.; BAN, D.; TRDAN, S. Glucosinolates in plant protection strategies: a review. **Arch. Biol. Sci**. v. 64. n. 3, p. 821-828, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2021. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons . Acesso em: 17 ago. 2021.
- BROWN Jr., K.S. Diversity of Brazilian Lepidoptera: history of study, methods for measurement, and use as indicator for genetic, specific and system richness. In: C.E.M. Bicudo & N.A Menezes (eds.). *Biodiversity in Brazil: a first Approach*. São Paulo, p. 221-253, 1996.
- CAMPBELL, B. et al. Brassicaceae: nutrient analysis and investigation of tolerability in people with Crohn’s disease in a New Zealand study. **Functional Foods in Health and Disease**, v.1, n.2, p.460-486, 2012.
- CASTRO-GERARDINO, D. J.; LLORENTE-BOUSQUETS, J. Comparative exploration of antennae in Pseudopontia, and antennal clubs of the tribes Leptideini and Dismorphiini (Lepidoptera: Pieridae). **Zootaxa**, v. 4347, n. 3, p. 401–445, 2017.

CHOI, H. S. Character impact odorants of citrus hallabong [(*C. unshiu* Marcov x *C. sinensis* Osbeck) x *C. reticulata* Blanco] cold-pressed peel oil. **J. Agric. Food Chem.** v. 51, n. 9, p. 2687-2692, 2003.

DÁVILA, A. A. F. et al. Agrotóxicos ou defensivos agrícolas: estudo bibliométrico na biblioteca digital de teses e dissertações. In.: II Simpósio internacional de inovação em cadeias produtivas do agronegócio. [s. l.], 2016.

EL-KAREEM, M. S. M. A. et al. Mass Spectral Fragmentation of Pelargonium graveolens Essential Oil Using GC–MS Semi-Empirical Calculations and Biological Potential. **Processes**, v. 8, n. 128, p. 1-19, 2020.

LEITE, K. C. A.; MOTTA, C. S.; XAVIER-FILHO, F. F. Pierídeos (Lepidoptera: Pieridae) da Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA. **Acta Amazônica, Manaus**, v. 16, n. 3, p. 475 – 478, 2007.

EBBINGHAUS, D. et al. Detection of major and minor sex pheromone components by the male codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). **J. Insect Physiol**, v. 44, n. 1, p. 49-58, 1998.

EISNER, T. et al. p-Methoxyphenol: Chemical basis of stench of a female butterfly – Defense mechanisms of arthropods nº 91. **Natuwissenschaften**. v. 77, n. 33, 1990.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologiamodernana produção e comercialização de hortaliças**. 3 ed. Editora UFV: Viçosa, 2008.

FRANK, D. L.; LESKEY, T. C.; BERGH, J. C. Morphological Characterization of Antennal Sensilla of the Dogwood Borer (Lepidoptera: Sesiidae). **Ann Entomol Soc Am**, v. 103, n. 6, p. 993–1002.

GEERVLIET, J. B. F. et al. Comparative analysis of headspace volatiles from different caterpillar-infested or uninfested food plants of *Pieris* species. **Journal of Chemical Ecology**. v. 23, p. 2935–2954, 1997.

GOLS, R.; HARVEY, J. A. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. **Phytochemistry Reviews**. v. 8, p. 187–206, 2009.

GRULA, J. W.; McCHESNEY, J. D.; TAYLOR Jr., O. R. Aphrodisiac pheromones of the sulfur butterflies *Coliaseurytheme* and *C. Philodice* (Lepidoptera, Pieridae). **Journal of Chemical Ecology**. v. 6, n. 1, p. 241–256, 1980.

HAYASHI, N.; NISHI, A.; MURAKAMI, T.; MAESHIMA, K.; KOMATE, H. The scent substances of Pierid butterflies (*Hebomoia glaucippe* Linnaeus) and the volatile components of their food plants (*Crataeva religiosa* Forst.). **Z. Naturforsch.** v. 40, p. 47-50, 1985.

HOLTZ, A. M. et al. **Pragas das brássicas**. 1 ed. Colatina: IFES, 2015.

HUANG, X.; RENWICK, J. A. A.; SACHDEV-GUPTA, K. Oviposition stimulants and deterrents regulating differential acceptance of *Iberis amara* by *Pieris rapae* and *P. napi oleracea*. **Journal of Chemical Ecology**. v. 19, n. 8, p. 1645–1663, 1993.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2006. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Censo agropecuário: Rio de Janeiro, p.1-777, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2017. Resultados definitivos**. Censo agropecuário: Rio de Janeiro, v. 8, p.1-105, 2019.

KAISSLING, K. E. Pheromone Reception in Insects: The Example of Silk Moths. In: MUCIGNAT-CARETTA, C. **Neurobiology of Chemical Communication**. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2014. cap. 4, 48 p.

KOH, Y. H.; PARK, K. C.; BOO, K. S. Antennal Sensilla in Adult *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae): Morphology, Distribution, and Ultrastructure. **Ann Entomol Soc Am**, v. 88, n. 4, p. 519-590, 1995.

LAMONICA, L. C. **Influência da cópula e da nutrição adulta na performance reprodutiva de fêmeas selvagens de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae)**. 2012. 47 f. Monografia (Graduação) – Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

LEITE, K. C. A.; MOTTA, C. S.; XAVIER-FILHO, F. F. Pierídeos (Lepidoptera: Pieridae) da Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 3, p. 475-477, 2007.

LIMBERGER, G. M.; BRUGNER, R.; FONSECA, D. B. Antennal morphology and sensilla ultrastructure of *Ascia monuste* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae). **Micron**. v. 142, p. 1-7, 2021

LOZANO, J. C. **Entomología morfología y fisiología de los insectos**. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 2006. 220 p.

MACEDO, L. P. M.; GUEDES, J. V. C.; GARCIA, J. F. Cucurbitacinas como fator de resistência a insetos-praga. **Revista Caatinga**. v. 20, n. 2, p. 127-132, 2007.

MOYES, C. D.; SCHULTE, P. M. **Princípios de fisiologia animal**. 2 ed. São Paulo: Artmed, 2005. 792 p.

NASCIMENTO, M. A.; SALOMÃO, T. M. F.; MARTINS, G. F. Estudo Comparativo das Sensilas Antenais de Operárias de *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae) de Diferentes Altitudes. **EntomoBrasilis**, v. 6, n. 1, p. 64-67, 2013.

NOLDUS, L. P. J. J.; VAN LENTEREN, J. C. Kairomones For The Egg Parasite *Trichogramma evanescens* Westwood I. Effect of Volatile Substances Released by Two

of Its Hosts, *Pieris brassicae* L. and *Mamestra brassicae*, L. **Journal of Chemical Ecology**, v. 11, n. 6, 1985.

OKUMURA, Y.; OZEKI, Y.; ITOH, T.; OHTAH, S.; ÔMURA, H. Volatile terpenoids from male wings lacking scent scales in *Anthocharis scolymus* (Lepidoptera: Pieridae). **Appl Entomol Zool**. v. 51, n. 3, p. 385-392, 2016.

ÔMURA, H.; YOTSUZUKA, S. Male-specific epicuticular compounds of the sulfur butterfly *Colias erate poliographus* (Lepidoptera: Pieridae). **Appl Entomol Zool**. v. 50, n. 2, p. 191-199, 2015.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PHEROBASE. The pherobase – database of pheromones and semiochemicals. Disponível em: <http://www.pherobase.com/>. Acesso em 29 ago. 2021.

POMONIS, J. G. Cuticular hydrocarbons of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) isolation, identification, and quantification as a function of age, sex, and irradiation. **J. Chem. Ecol.** v. 15, p. 2301-2317, 1989.

RATZKA, A. et al. Disarming the mustard oil bomb. **PNAS**. v. 99, n. 17, p. 11223-11228, 2002.

RENWICK, J. A. A.; CHEW, F. S. Oviposition Behavior in Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**. v. 39, p. 377-400, 1994.

ROSA, B. M. C. **A portable electroantennogram recorder for laboratory and field measurements of semiochemicals**. 115f. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Engenharia Biomédica, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2016.

SANTOS, A. A. et al. Ultrastructure of the antennal sensilla of *Alabama argillacea* (Hübner, 1823) (Lepidoptera: Erebidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, n. 2, p. 141-148, 2019.

SAPPINGTON, T. W.; TAYLOR, O. R. Developmental and environmental sources of pheromone variation in *Colias eurytheme* butterflies. **Journal of Chemical Ecology**. v. 16, n. 9, p. 2771-2786, 1990.

SCHAFER, Jr., E. W.; JACOBSON, M. Repellency and toxicity of 55 insect repellents to red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). **Journal of Environmental Science and Health**. v. 18, p. 493-502, 1983.

SCHNEIDER, D. Insect Antennae. **Annual Review of Entomology**, v. 9, n. 1, p. 103–122, 1964.

SCOTT, J. A. **The Butterflies of North America: A Natural History and Field Guide**. Palo Alto: Stanford University Press, 1992.

SEADA, M. A. Antennal morphology and sensillum distribution of female cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **The Journal of Basic & Applied Zoology**. v. 68, p. 10-18, 2015.

SHIELDS, V. D. C.; HILDEBRAND, J. G. Fine structure of antennal sensilla of the female sphinx moth, *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). I. Trichoid and basiconic sensilla. **Can. J. Zool.** v. 77, p. 290-301, 1999.

SHIOJIRI, K. et al. Flight response of parasitoids toward plant-herbivore complexes: a comparative study of two parasitoid-herbivore systems on cabbage plants. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**. v. 35, p. 87-92, 2000.

SILBERGLIED, R. E. Visual communication and sexual selection among butterflies. In: VANE-WRIGHT, R. I.; ACKERY, P. R. (Ed). **The biology of butterflies**, p. 207-223. London: Academic Press, 1984.

SILVA, D. J. et al. Monitoramento da couve manteiga (*brassica oleracea* l. var. *acephala*) cultivada em vasos com diferentes substratos e o registro de pragas-chave. In: XVI Encontro Regional de Agroecologia do Nordeste. Revista Craibeiras de Agroecologia, v. 1, n. 1, 2017

SMEDLEY, S.R. et al. Mayolenes: labile defensive lipids from the glandular hairs of a caterpillar (*Pieris rapae*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.** v. 99, p. 6822-6827, 2002.

SOLOMONS, T. W. Graham; FRYHLE, Craig B. Química Orgânica. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013. 1 v.

THOMAZINI, M. J. A Comunicação Química entre os Insetos: Obtenção e Utilização de Feromônios no Manejo de Pragas. In: GONCALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. (Ed.). **Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia**, cap. 17, p. 338-354. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2009.

VAN DER PERS, J. N. C.; CUPERUS, P. L.; DEN OTTER, C. J. Distribution of sense organs on male antennae of small ermine moths, *Yponomeuta* spp. (Lepidoptera: Yponomeutidae). **J Insect Morphol Embryol**, v. 9, n. 1, p. 15-23, 1980.

VANDENDOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J Chromatogr.** v. 11, p. 463-471, 1963.

VETTER, R. S.; RUTOWSKI, R. L. External Sex Brand Morphology Of Three Sulphur Butterflies (Lepidoptera:Pieridae). **Psyche**, Cambridge, v. 85, p. 383-393, 1979.

XIANGQUN, Y. et al. Ultrastructure of antennal sensilla of four skipper butterflies in *Parnara* sp. and *Pelopidas* sp. (Lepidoptera, Hesperiiidae). **Zookeys**, v. 399, p. 17-27, 2014.

XU, H.; TURLINGS, T. C. J. Plant Volatiles as Mate-Finding Cues for Insects. **Trends in Plant Science**. v. 22, n. 11, 2017.

ZAIKIN, V. G.; BORISOV, R. S. Chromatographic–Mass Spectrometric analysis of Fischer–Tropsch synthesis products. **Journal of Analytical Chemistry**. v. 57, p. 544–551, 2002.

ZHANG, P. J. et al. Relationship between adult oviposition preference and larval performance of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Journal of Pest Science**. v. 85, p. 247–252, 2012.

2 SÍNTESE DE COMPONENTES FEROMONAIIS DAS PRAGAS *Pectinophora gossypiella* S. (Lepidoptera: Gelechiidae), *Sitotroga cerealella* (O.) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Phyllocnistis citrella* (S.) (Lepidoptera: Gracillariidae)

2.1 REFERENCIAL TEÓRICO

A busca pelo desenvolvimento de produtos que atuem de maneira efetiva e sustentável no monitoramento e controle de pragas chave e secundárias que acometem culturas de importância econômica tem impulsionado pesquisas em torno da identificação e síntese de feromônios. Existe na literatura uma diversidade de feromônios identificados de diferentes espécies, no entanto, apenas uma parcela deles é comercializada (BRASIL, 2019).

Os feromônios da ordem Lepidoptera seguem uma tendência estrutural que possibilita a ocorrência de um componente da mistura feromonal de uma determinada espécie também estar presente na mistura de outra, em alguns casos alterando-se apenas o grupo funcional (ANDO et al., 2005; THOMAZINI, 2009; PHEROBASE, 2019). Esse fato, permite que de uma mesma rota sintética seja possível obter um componente que poderá ser utilizado em outras misturas. Para que isso seja possível, é importante desenvolver rotas estereosseletivas e/ou estereoespecíficas para que não haja a formação quantitativa de um isômero indesejado.

2.1.1 As pragas: *Pectinophora gossypiella*, *Sitotroga cerealella* e *Phyllocnistis citrella*

Pectinophora gossypiella S. (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma praga ocorrente na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae: Gossypiae)) que é uma das culturas mais importantes do Brasil, sendo cultivado em todas as regiões, principalmente no Nordeste, e exportado para diversos países (OLIVEIRA et al., 2007; SILVA et al., 2013).

Essa praga, tem se destacado pelos danos que pode causar, destruindo tanto as fibras quanto as sementes, além dos controles químico e biológico serem dificultados enquanto fase larval, pois, após a eclosão, as lagartas penetram e permanecem dentro das maçãs do algodão, onde se alimentam (NAIK et al., 2021).

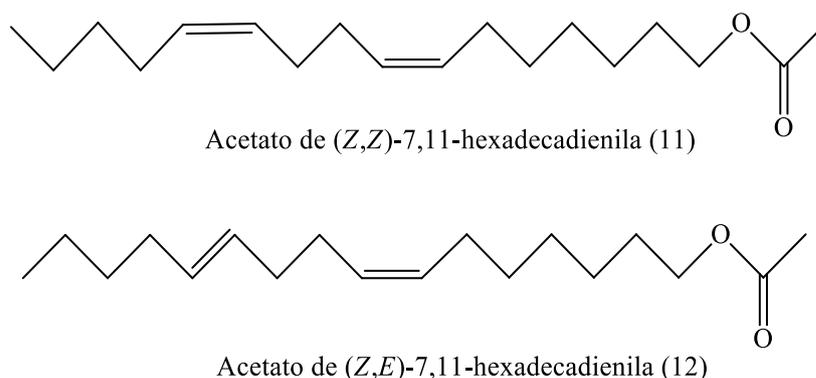
Apesar disso, o controle químico ainda é bastante difundido e, assim como em outras culturas, esse método exige custos elevados, uma vez que, em grandes produções, o consumo anual chega em torno de 10 toneladas de inseticidas (SILVA et al., 2013).

Como método alternativo de controle, tem sido utilizadas plantas geneticamente modificadas. *P. gossypiella* já se mostrou resistente a alguns cultivares de algodão transgênico *Bt*, mas esse ainda é um método muito utilizado uma vez que novos genes

estão sempre sendo estudados e sequenciados (COSTA, QUEIROZ, 2014; DHURUA, GUJAR, 2011). Além disso, também são utilizados inseticidas contendo esporos fúngicos, bem como feromônios, que tem mostrado resultados eficazes no controle dessa praga (RASHAD et al., 2015; SEHTO et al., 2020)

Hummel et al. (1973) relataram pela primeira vez o feromônio de *P. gossypiella* como sendo a mistura do acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila (11) e do acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila (12) (Figura 36). A mistura foi nomeada por “Gossyplure” e é comercializada pelo mesmo nome. O uso de armadilhas contendo o Gossyplure opera desorientando os machos e, conseqüentemente, compromete a cópula e proliferação (MIRANDA, 2010).

Figura 36 Feromônio de *P. gossypiella*, acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila (11) e acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila (12).



Uma outra praga que tem causado prejuízos é a *Sitotroga cerealella* (O.) (Lepidoptera: Gelechiidae), conhecida como traça dos cereais, é uma praga primária de grãos armazenados como arroz, trigo e milho. Seus danos alteram o peso e a qualidade dos grãos podendo gerar perdas na produção de até 48%, além disso, também conseguem deteriorar os produtos prontos para consumo, que são as farinhas derivadas desses grãos, e os cereais ainda em campo, quando a plantação é localizada próxima ao armazenamento (LORINI, 1999; FERNANDES, 2012).

O controle químico é dificultado por motivo similar ao de *P. gossypiella*, pois *S. cerealella* se acomoda dentro dos grãos, diminuindo o contato com os produtos aplicados (CHAMP; DYTE, 1977).

Em contrapartida, outras técnicas têm mostrado bons resultados, como: tratamentos com radiação nas regiões do ultravioleta e infravermelho (KIM; LEE, 2014; ABDULLAH et al., 2017); uso de extratos botânicos (SOARES et al., 2018); e uso de

feromônios, tanto para o controle quanto para o monitoramento (VICK et al., 1974; AKTER; ALI, 2016).

O feromônio de *S. cerealella* foi identificado como sendo o acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila, composto também presente na mistura feromonal de *P. gossypiella*, e teve sua atividade avaliada pela primeira vez por Vick e colaboradores em 1974.

A praga *Phyllocnistis citrella* (S.) (Lepidoptera: Gracillariidae) é conhecida como larva minadora dos citros e se alimenta das folhas fazendo com que estas não se desenvolvam normalmente, retardando seu crescimento. Além disso, surgem áreas atrofiadas dando um aspecto de amarrotadas. A partir disso, as folhas caem e reduz a produtividade da cultura consideravelmente (SILVA, 1998).

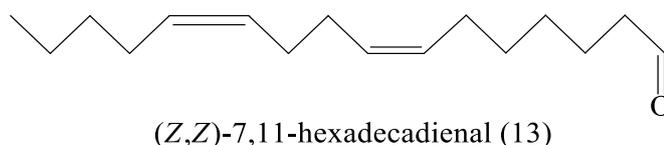
Os danos causados aos tecidos da planta por essa praga, contribuem para penetração e desenvolvimento de patógenos como *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, a bactéria do cancro cítrico, o que afeta ainda mais a produção nessas culturas (CHAGAS; PARRA, 2000).

O controle químico ainda é o mais utilizado, uma vez que o biológico é relativamente limitado, pois é feito com *Ageniaspis citrícola*, que só parasita ovos e larvas no primeiro instar (AGROLINK, 2019).

O controle comportamental utilizando feromônios tem mostrado resultados eficazes (MOREIRA, MCELFRISH, MILLAR, 2006; LEAL et al., 2006).

Ando et al. (1985) relataram pela primeira vez o composto (Z,Z)-7,11-hexadecadienal (13) (Figura 37) como atraente para *P. citrella*. Posteriormente, foi verificada a presença de outro componente pertencente à mistura feromonal, o (Z,Z,E)-7,11,13-hexadecadienal. Os testes de campo mostraram que a mistura contendo esse composto se mostrou mais efetiva na captura de machos (MOREIRA; MCELFRISH; MILLAR, 2006; LEAL et al., 2006). Tanto Leal et al. (2006) quanto La Pointe et al. (2006) constataram uma proporção de 30:10 entre (Z,Z,E)-7,11,13-hexadecadienal e (Z,Z)-7,11-hexadecadienal na mistura atraente de *P. citrella*.

Figura 37 Componente do feromônio de *P. citrella*, (Z,Z)-7,11-hexadecadienal (13).

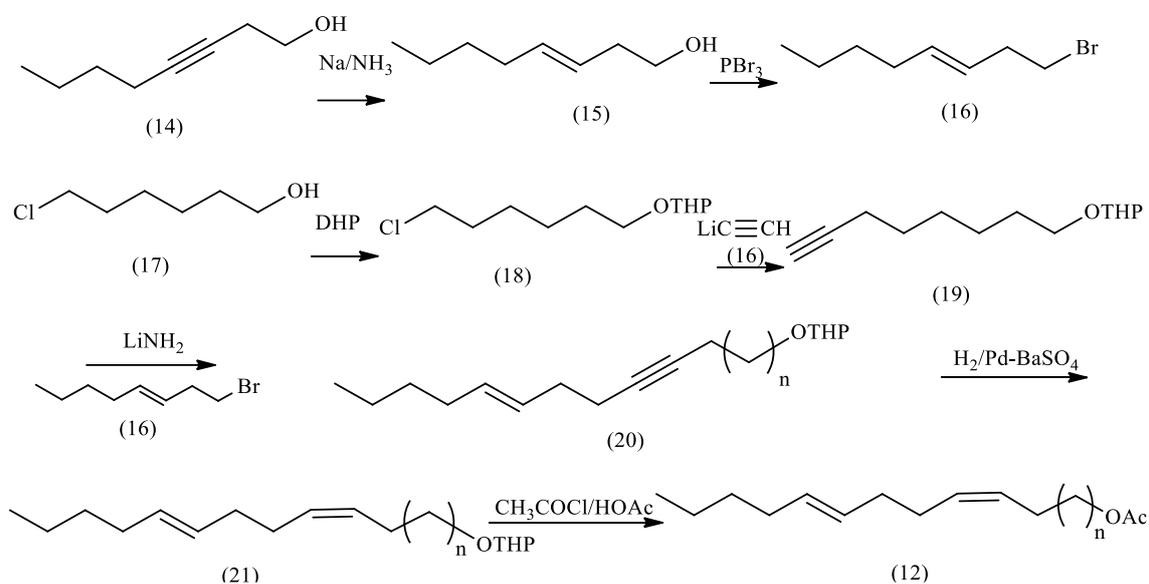


Diante do fato de que as três pragas supracitadas são responsáveis por danos consideráveis à produção das culturas as quais são ocorrentes, há grande interesse de otimizar os métodos de controle utilizados. Os feromônios sintéticos destas pragas já apresentaram resultados efetivos no monitoramento e manipulação comportamental, no entanto, as rotas de síntese apresentadas na literatura apresentam alguns aspectos que podem, de alguma forma, ser otimizados, como baixo rendimento, difícil execução ou obtenção de mistura de isômeros, limitando sua empregabilidade.

2.1.2 Rotas descritas para o acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila, o acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila e (Z,Z)-7,11-hexadecadienal

Su e Mahany (1974) sintetizaram os isômeros do acetato de 7,11-hexadecadienila utilizando rotas convergentes de apenas seis etapas para o isômero *Z,Z* e sete para o *Z,E*. O material de partida utilizado na preparação do primeiro intermediário chave foi o 3-octin-1-ol. Este álcool passou por uma redução *E* seletiva com amônia em sódio e o produto formado foi bromado com PBr_3 . Para a preparação do segundo intermediário, foi utilizado o 6-cloro-1-hexanol (17) como material de partida, este passou por uma reação de proteção com DHP e o produto formado passou por uma reação de substituição com acetilato de lítio complexado com etilenoaldiamina. O alcino terminal formado foi acoplado ao primeiro intermediário utilizando amidato de lítio como base. O composto formado foi reduzido com paládio e em seguida acetilado. O rendimento global foi de 11% para o isômero *Z,E* (Esquema 1) e 17% para o *Z,Z*.

Esquema 1 Rota sintética seguida por Su e Mahany (1974) para a preparação do acetato de (*Z,E*)-7,11-hexadecadienila.

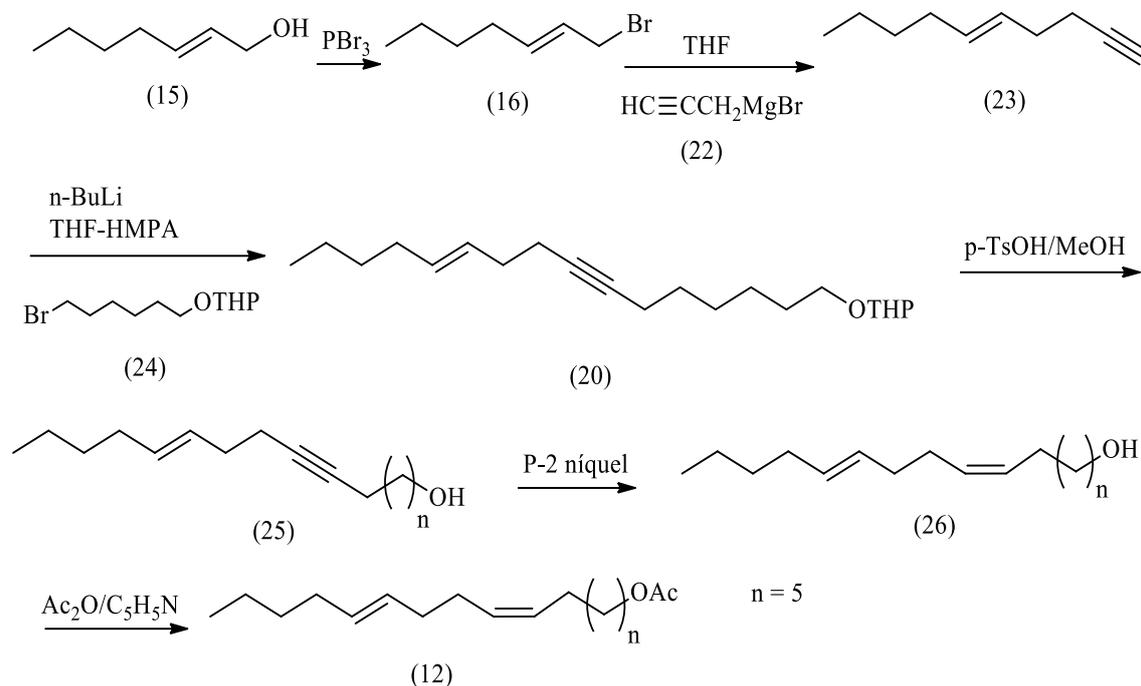


Algumas outras rotas para a síntese do mesmo composto, como as descritas por Muchowski e Venuti (1981) e Andelic, Myhren e Skattebøl (1985), apresentaram melhores rendimentos, mas houve a formação de mistura de isômeros, uma vez que o objetivo era a preparação do Gossyplure que é composto por uma mistura 1:1 de *Z,Z,Z,E*.

A obtenção da mistura de isômeros pode limitar sua empregabilidade em determinados casos, além disso, a preparação individual de cada componente permite a formulação de misturas com proporção controlada e possibilita uma produção em escala para aplicação no controle comportamental.

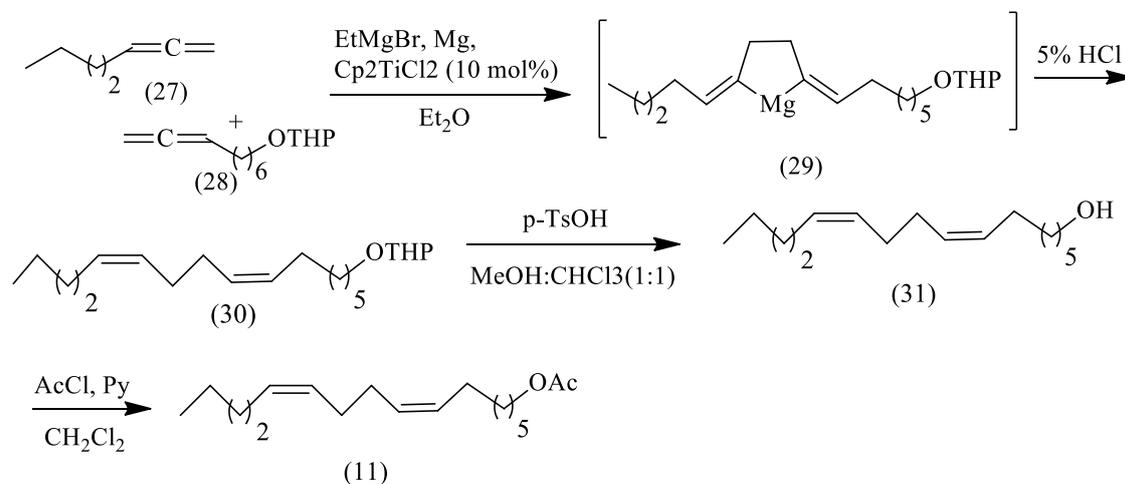
Nesse contexto, a literatura também apresenta rotas em que há a formação individual dos isômeros com bons rendimentos, como a descrita por Mori, Tominaga e Matsui (1974) (Esquema 2). Essa rota linear iniciou-se com o acoplamento do brometo de propargilmagnésio com um brometo de alquila insaturado, previamente preparado a partir da bromação do álcool correspondente. Em seguida, o diino ou enino formado foi acoplado ao 2-[(6-bromohexil)oxi]tetrahydro-2H-pirano e posteriormente desprotegido formando o álcool, o qual foi hidrogenado e acetilado.

Esquema 2 Rota sintética seguida por Mori, Tominaga e Matsui (1974) para a preparação do acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila.



Uma outra abordagem, descrita por D'yakonov et al. (2017), utiliza ciclomagnesiação cruzada intermolecular catalisada por Ti de 1,2-dienos alifáticos e oxigenados com reagentes de Grignard (Esquema 3). Os autores afirmam que esse tipo de reação tem sido utilizado de maneira eficaz na síntese de uma variedade de moléculas contendo o grupo 1,5-dieno com configuração *cis,cis*. O acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila foi obtido com um rendimento total de 74%.

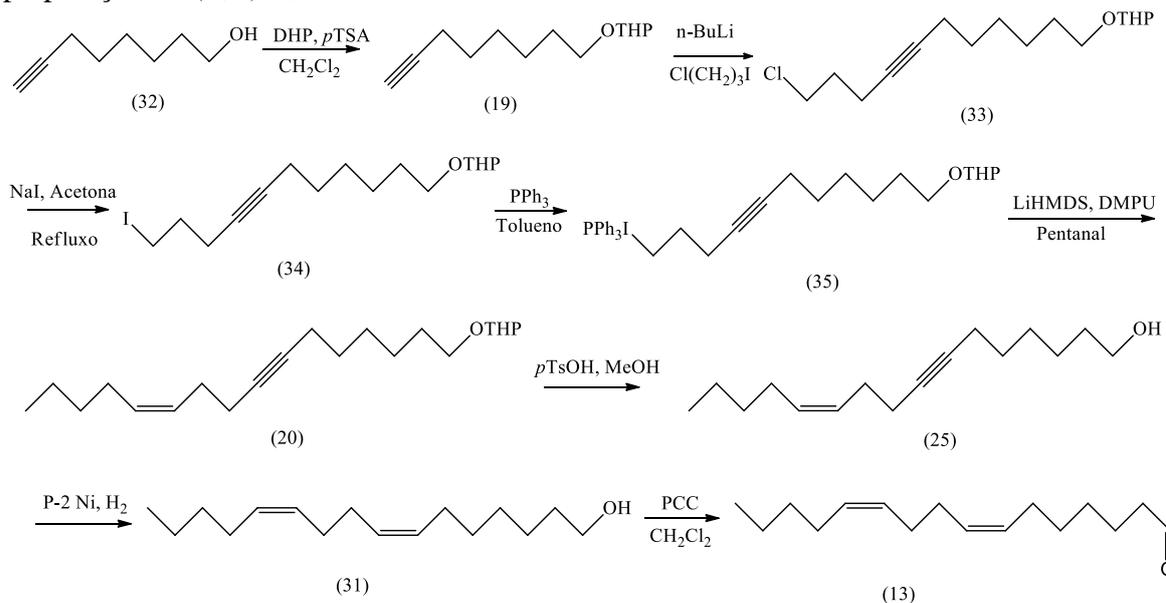
Esquema 3 Rota sintética sugerida por D'yakonov et al. (2017) para a preparação do acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila.



Em relação à síntese do (Z,Z)-7,11-hexadecadienal, já foram descritas rotas estereosseletivas lineares como as descritas por Moreira, Mcelfresh e Millar (2006) (Esquema 8) e Leal et al. (2006) (Esquema 4).

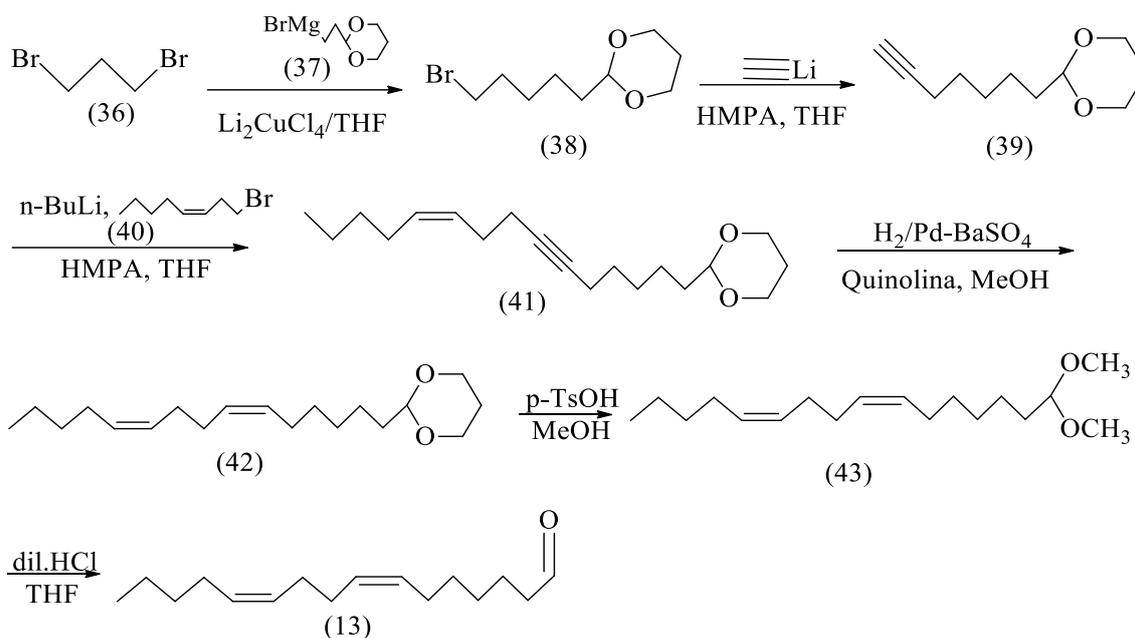
A rota de Moreira, Mcelfresh e Millar (2006) possuiu oito etapas e iniciou com a inserção de um grupo protetor à hidroxila de um álcool com uma tripla terminal. Esse composto foi tratado com *n*-Buli e acoplado ao 1-cloro-3-iodopropano. O cloreto formado foi convertido ao iodeto através do tratamento com iodeto de sódio e acetona em refluxo. O iodeto formado reagiu com PPh₃ formando o sal de fosfônio correspondente. O tratamento deste sal com LiHMDS formou o ileto necessário para a reação de Wittig com o pentanal. O produto formado teve o grupo protetor retirado através de tratamento com *p*-TsOH. Em seguida a ligação tripla foi hidrogenada e, por fim, o dienol foi oxidado ao aldeído correspondente. O rendimento global desta reação foi de 15,9%.

Esquema 4 Rota seguida utilizada por Moreira, Mcelfresh e Millar (2006) para a preparação do (Z,Z)-7,11-hexadecadienal.



Já a rota de Leal et al. (2006) (Esquema 6) iniciou com o acoplamento cruzado do dibromopropano com um reagente de Grignard. O produto foi tratado com acetileno de lítio complexado com etileno diamina resultando em um alcino terminal que em seguida foi acoplado com o 1-bromo-oct-3-eno. A ligação tripla foi hidrogenada e o grupo protetor retirado por meio de hidrólise ácida. O rendimento global desta reação foi de 14,7%.

Esquema 5 Rota sintética seguida por Leal et al. (2006) para a preparação do (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienal.



Diante das rotas aqui apresentadas, é notado que a maioria utiliza um acoplamento entre um alcino terminal e um haleto de alquila insaturado como etapa chave. A única exceção é a rota de D'yakonov et al. (2017) que parte de uma ciclomagnesiação alenos para a preparação do isômero *Z,Z*.

Seguindo esse raciocínio e a fim de preparar os isômeros *Z,Z* e *Z,E* do acetato de 7,11-hexadecadienila através de uma rota de fácil execução, a rota proposta neste trabalho também utilizará esse tipo de acoplamento. Além disso, a preparação dos principais intermediários partirá de compostos relativamente baratos que podem tornar a síntese desses feromônios mais viável economicamente.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Geral

Propor uma nova rota sintética para a preparação dos componentes dos feromônios de *P. gossypiella*, *S. cerealella* e *P. citrella*.

2.2.2 Específicos

- Sintetizar o acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila;
- Sintetizar o acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila;
- Sintetizar o (Z,Z)-7,11-hexadecadienal.
- Caracterizar os compostos sintetizados por CG-EM e RMN.

2.3 MATERIAL E MÉTODO

2.3.1 Considerações iniciais

Todos os experimentos aqui descritos foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais – UFAL.

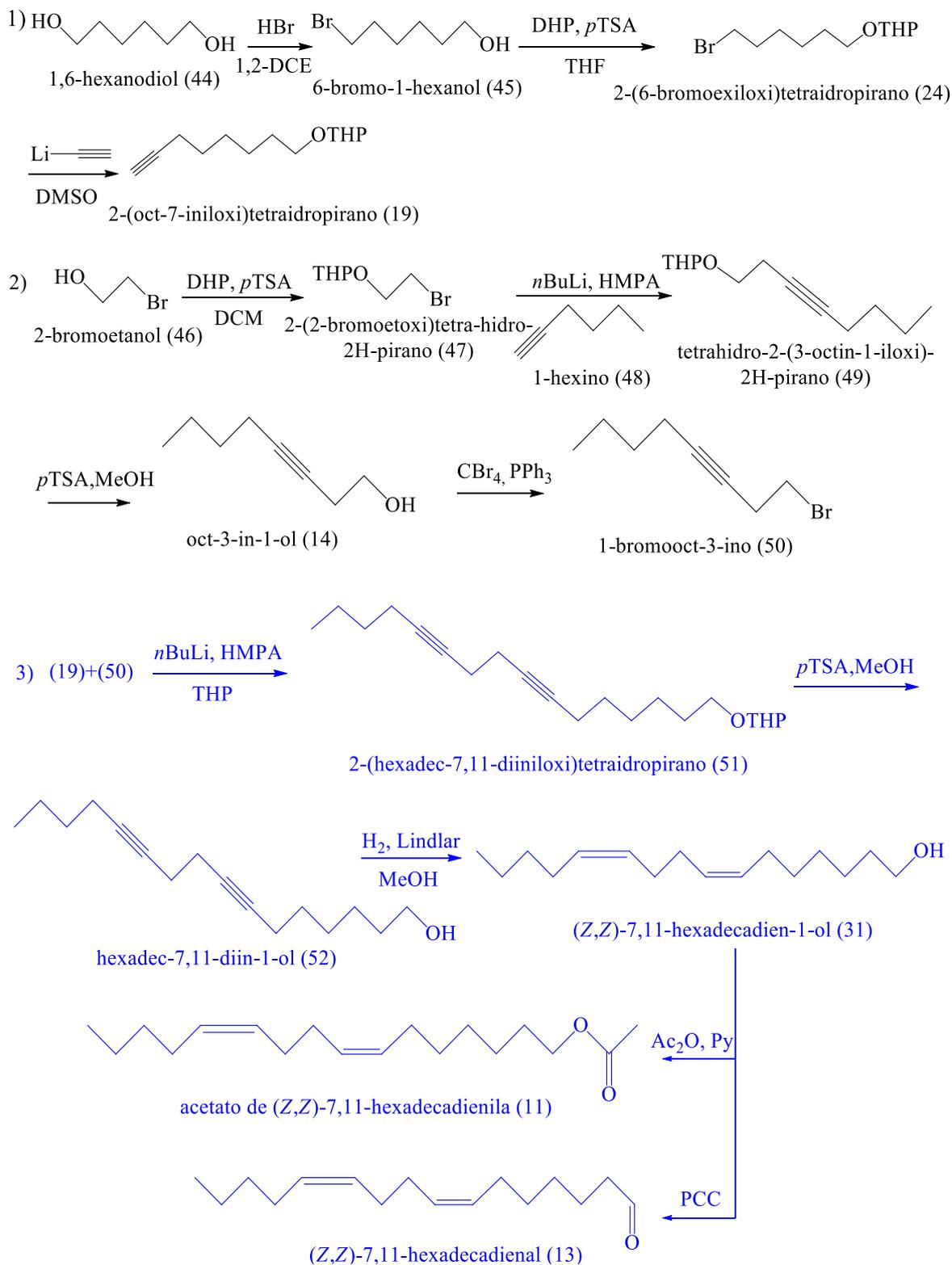
Todas as reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica como fase estacionária e soluções de hexano/acetato de etila como fase móvel. As placas foram reveladas com solução ácida de vanilina.

Os produtos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas em aparelho Shimadzu, modelo GC-MS QP-2010, usando hélio como gás de arraste.

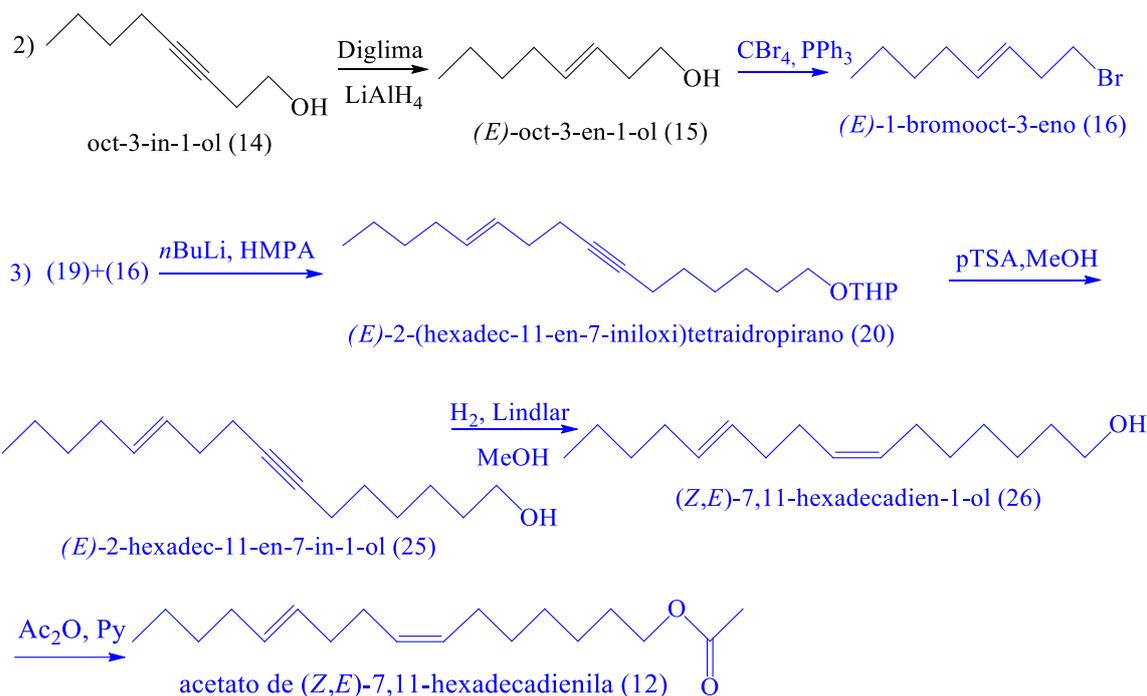
2.3.2 Proposta de síntese do acetato de (*Z,E*)-7,11-hexadecadienila, acetato de (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienila e (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienal

Abaixo estão descritas as rotas sugeridas para obtenção do acetato de (*Z,E*)-7,11-hexadecadienila (Esquema 7), do acetato de (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienila e do (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienal (Esquema 6).

Esquema 6 Rota sintética proposta para obtenção do composto acetato de (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienila e (*Z,Z*)-7,11-hexadecadienal.



Esquema 7 Rota sintética proposta para obtenção dos compostos acetato de (*Z,E*)-7,11-hexadecadienila.



As rotas basearam-se na proposta sugerida por Souza (2018) que sintetizou o intermediário (19) da mesma maneira e o (16) por meio de bromação do (*E*)-oct-3-enil-4-metilbenzenosulfonato com NaBr.

Na rota proposta, o primeiro intermediário foi preparado em três etapas partindo de um diol de seis carbonos que passa por uma monobromação com HBr. O produto bromado teve sua hidroxila protegida por um grupo THP e em seguida o bromo foi substituído pelo acetilato de lítio.

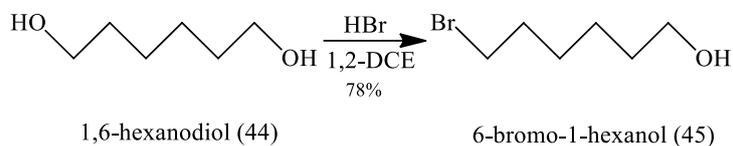
Para a preparação do segundo intermediário dos compostos de configuração *Z,Z* foram necessárias quatro etapas. A primeira é uma proteção com DHP da hidroxila de um bromoálcool de 2 carbonos. Esse composto foi acoplado com um alcino terminal de seis carbonos que em seguida teve o grupo protetor retirado formando o respectivo álcool, o 3-octin-1-ol. A hidroxila desse álcool foi substituída pelo bromo utilizando CBr_4 .

Na preparação do isômero de configuração *Z,E*, o 3-octin-1-ol passou por uma redução *E* seletiva com LiAlH_4 para em seguida ser bromado.

Os compostos obtidos em cada etapa foram caracterizados por espectrometria de massas e RMN.

2.3.2.1 Obtenção do 2-(oct-7-iniloxi)tetraidropirano (17)

Preparação do 6-bromo-1-hexanol (45)



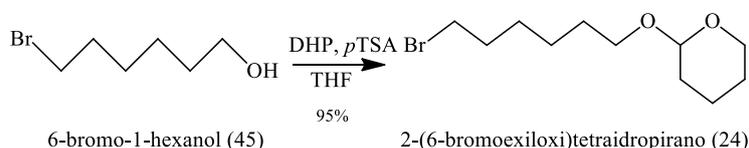
Em um balão de 250 mL, 1,6-hexanodiol (4,98 g; 42,20 mmol; 1 eq.) foi solubilizado em 127 mL de 1,2-DCE e HBr 48% (9,5 mL; 84,74 mmol; 2 eq.). A reação foi mantida sob agitação e refluxo a 85 °C por 4 h. O produto obtido foi lavado com água destilada (25 mL), solução de NaHCO₃ 2,5% (2 x 25 mL) e solução saturada de NaCl (25 mL) e extraído com acetato de etila (3 x 30 mL). Em seguida, a fração orgânica foi seca em Na₂SO₄, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador. O 6-bromo-1-hexanol foi obtido com 78% de rendimento (5,98 g; 33,04 mmol).

EM *m/z* (%) (Figura 38): 164,0 (1); 162,0 (1); 136,0 (13); 134,0 (14); 121,9 (1); 119,9 (1); 83,0 (70); 69,0 (20); 55,0 (100); 41,0 (70).

¹H RMN (600 MHz, CDCl₃), δ (ppm) (Figura 37): 1,36 – 1,49 (m, 4H); 1,58 (qo, *J* = 6,73, 2H); 1,87 (qo, *J* = 6,92, 2H); 3,41 (t, *J* = 6,76, 2H); 3,64 (t, *J* = 6,53, 2H).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃), δ (ppm) (Figura 39): 24,94; 27,94; 32,50; 32,71; 33,87; 62,76.

Preparação do 2-(6-bromoexiloxi)tetraidropirano (24)

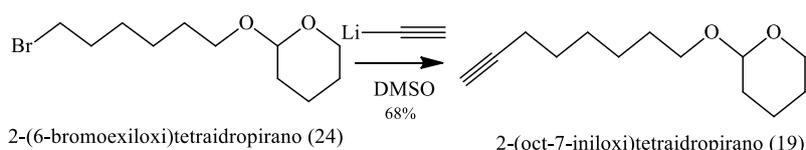


Em um balão de 250 mL, foram adicionados 10 g de 6-bromo-1-hexanol (55,3 mmol; 1 eq.), 11,2 mL de 3,4-diidropirano (121,66 mmol; 2,2 eq.), 2 cristais de *p*-TsOH e 100 mL de THF. A reação foi mantida sob agitação e temperatura ambiente por 16 h. A fração orgânica foi lavada com solução de NaHCO₃ 2,5% (2 x 40 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 40 mL), em seguida foi seca em Na₂SO₄, filtrada e o solvente removido em

rotaevaporador. O composto (24) (13,96 g; 52,70 mmol) foi obtido com 95% de rendimento.

EM m/z (%) (Figura 42): 265,1 (1); 263,1 (1); 192,8 (1); 165,1 (1); 163,1 (1); 101,0 (3); 85,0 (100); 55,0 (26); 41,05 (27).

Preparação do 2-(7-octiniloxi)tetrahidropirano (19)



Em um balão de 100 mL, previamente seco, contendo acetileno de lítio (complexo com etilenodiamina) (2,82 g; 30,63 mmol; 2 eq.) e 16 mL de DMSO foi adicionada, lentamente, uma solução do composto (24) (4,01 g; 15,14 mmol; 1 eq.) em 4 mL do mesmo solvente. A reação foi mantida em temperatura ambiente e atmosfera inerte por 4 h. Ao produto foram adicionados 40 mL de NH_4Cl . A mistura foi filtrada à vácuo em celite e a extração foi feita com acetato de etila (3 x 40 mL). A fração orgânica foi lavada com água destilada (3 x 40 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 40 mL), seca em Na_2SO_4 , filtrada e o solvente retirado em rotaevaporador. O produto (19) (2,14 g; 10,19 mmol) foi obtido com 68% de rendimento.

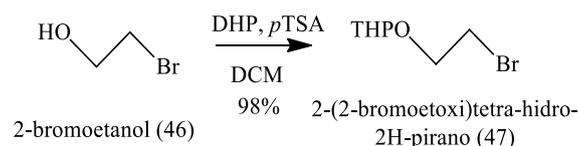
EM m/z (%) (Figura 43): 209,1 (0,8); 122,0 (2); 115,0 (0,8); 109,1 (2); 101,0 (21); 85,0 (100); 67,0 (33); 55,0 (21); 41,0 (19).

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm) (Figura 44): 3,38 (dt, $J_1 = 9,46$; $J_2 = 6,81$, 1H); 3,73 (dt, $J_1 = 9,46$; $J_2 = 6,81$, 1H); 3,50 (m, 1H); 3,86 (m, 1H); 2,18 (td, $J_1 = 7,12$; $J_2 = 2,64$, 2H); 1,94 (t, $J = 2,76$, 1H); 4,57 (m, 1H).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm) (Figura 45): 18,33; 98,83.

2.1.1.1 Obtenção do 1-bromo-oct-3-ino (50)

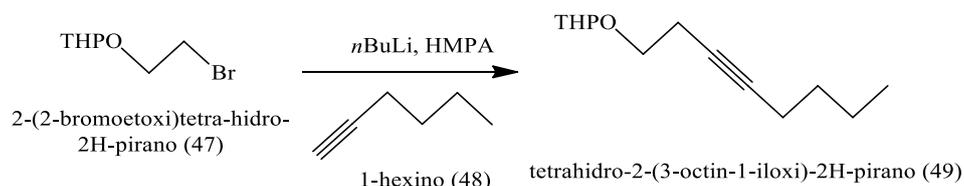
Preparação do 2-(2-bromoetoxi)tetra-hidro-2H-pirano (47)



Em um balão de 50 mL foram pesados 3 g de 2-bromoetanol (0,0240 mol; 1 eq.). Em seguida foram adicionados 15 mL de DCM, 3,1 mL de DHP (0,0336 mol; 1,4 eq.) e *p*-TsOH como catalisador. A reação foi mantida sob agitação e temperatura ambiente por 3h. Por fim, o material foi neutralizado com solução de NaHCO₃ 2,5% (2 x 20 mL), extraído com AcOEt (1 x 20 mL) e a fração orgânica foi lavada com água destilada (4 x 20 ml) e solução saturada de NaCl (1 x 20 mL), em seguida foi seca em Na₂SO₄, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador. O 2-(2-bromoetoxi)tetra-hidro-2H-pirano (4,918 g; 0,0235 mol) foi obtido com 98% de rendimento.

EM *m/z* (%) (Figura 46): 209,1 (1); 179,9 (0,1); 152,9 (2); 108,9 (23); 106,9 (24); 85,0 (100); 73,0 (14); 56,0 (75); 41,0 (79).

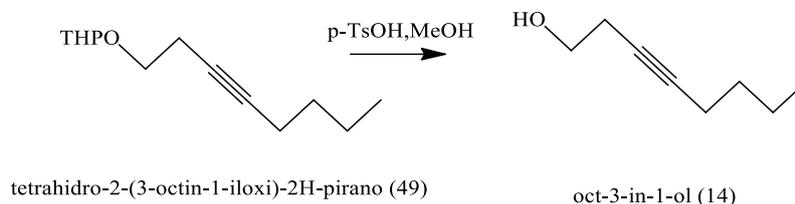
Preparação do tetrahidro-2-(3-octin-1-iloxi)-2H-pirano (49)



Em um balão de 100 mL, previamente seco, foram adicionados 2,2 mL de hexino (1,567g; 0,0191 mol; 2 eq.) e 20 mL de THF. A mistura foi colocada sob atmosfera de N₂, agitação e refrigerada a -78 °C, passados 15 min após atingir essa temperatura, 15 mL de nBuLi 1,6 M (0,0235 mol; 2,4 eq.) foram adicionados com o auxílio de uma seringa. Em seguida, o banho de refrigeração foi desligado e após 50 min, quando a temperatura atingiu cerca de -35°C, 3,8 mL de HMPA (0,0215 mol; 2,2 eq.) foram adicionados. Passados 15 min, 2,052 g do reagente bromado (0,0098 mol; 1 eq.) foram adicionados. A reação durou cerca de 16h. Por fim, o balão foi colocado em banho de gelo e 20 mL de água destilada foram adicionados à mistura que permaneceu sob agitação por 10 min. O material foi extraído com AcOEt (1 x 20 mL) e a fração orgânica foi lavada com água destilada (6 x 20 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 20mL). O produto (1,932 g; 0,0092 mol) foi obtido com rendimento de 80,5%.

EM m/z (%) (Figura 47): 210,9 (0,05); 165,0 (0,5); 153,0 (0,2); 115,0 (0,8); 101,0 (0,9); 85,0 (100); 67,0 (44); 55,0 (16); 41,0 (22).

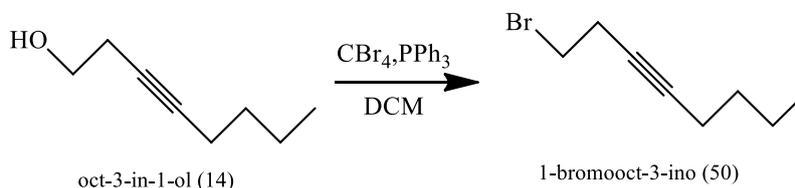
Preparação do oct-3-in-1-ol (14)



Em um balão de 25 mL foram adicionados tetrahidro-2-(3-octin-1-iloxi)-2H-pirano (1,932g; 1 eq; 0,0092 mol), *p*TSA (1,750g; 1 eq; 0,0092 mol) e 19,5 mL de MeOH. A reação foi mantida sob agitação e temperatura ambiente por uma noite. O fim da reação foi verificado por CCD. O material foi neutralizado com solução de NaHCO₃ 2,5% (1 x 20 mL), extraído com AcOEt (1 x 20 mL) e a fração orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 20 mL), em seguida foi seca em Na₂SO₄, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador. O produto (0,869 g; 0,0068 mol) foi obtido com 87% de rendimento.

EM m/z (%) (Figura 48): 126,0 (0,9); 111,0 (3); 97,0 (13); 84 (72); 67,0 (58); 54,0 (100); 41,0 (57).

Preparação do 1-bromooct-3-ino (50)



Em um balão de 100 mL previamente seco, 1,583 g do oct-3-in-1-ol (1 eq; 0,0125 mol) e CBr₄ (4,97 g; 1,2 eq; 0,0150 mol) foram dissolvidos em 15 mL de DCM. A mistura foi mantida sob atmosfera de N₂ e foi colocada em banho de gelo. Uma solução de PPh₃ (4,90 g; 1,5 eq; 0,0187 mol) e 10 mL de DCM foi adicionada lentamente à mistura inicial. A reação foi mantida sob agitação, temperatura ambiente e atmosfera de N₂ por 1h30min.

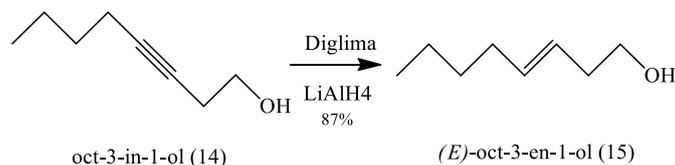
O consumo do material de partida foi observado por meio de CCD. Ao fim da reação, o material foi concentrado em evaporador rotatório. Formou-se uma pasta no balão e neste foi adicionado hexano. O balão foi colocado em cuba ultrassônica por 3 min e a fração sobrenadante foi filtrada em sílica. Este procedimento foi repetido por 3 vezes. O solvente foi retirado através de rotaevaporador e 1-bromooct-3-ino (2,101 g; 0,0111 mol) foi obtido com um rendimento de 89%.

EM m/z (%) (Figura 49): 188,9 (0,04); 148,9 (1); 146,9 (1); 109,0 (7); 95 (10); 81,0 (22); 79,0 (14); 67,0 (100); 41,0 (23).

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm) (Figura 50): 0,92 (t, $J = 7,01$, 2H); 1,38 – 1,45 (m, 2H); 1,45 – 1,51 (m, 2H); 2,17 (t, $J = 7,11$, 2H); 2,73 (t, $J = 7,11$, 2H); 3,43 (t, $J = 7,35$, 2H).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm) (Figura 51): 13,60; 18,37; 21,90; 23,36; 30,40; 30,89; 77,24; 82,67.

2.1.1.2 Preparação do (*E*)-oct-3-en-1-ol (15)



Em um balão de 100 mL contendo LiAlH_4 (1,37 g; 34,92 mmol; 2 eq.) e 20 mL de diglima foi adicionada uma solução de 3-octi-1-ol (2,20 g; 17,46 mmol; 1 eq.) em diglima (20 mL). A reação foi mantida sob atmosfera de nitrogênio e refluxo à 170 °C por 5h. Após atingir a temperatura ambiente, o balão foi colocado em banho de gelo e 3 mL de água destilada foram adicionados, gota a gota. Também foram adicionados 3 mL de solução de NaOH 15% e mais 9 mL de água destilada. A mistura foi mantida sob agitação por 30 minutos, em seguida foi filtrada com celite e a extração foi feita com acetato de etila (3 x 40 mL). A fração orgânica foi lavada com água destilada (10 x 40 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 40 mL). O composto (15) (1,90 g; 14,84 mmol) foi obtido com 87% de rendimento.

EM m/z (%) (Figura 55): 128,0 (0,7); 110,0 (16); 95,05 (14); 81,0 (53); 68,0 (53); 67,0 (41); 56,0 (30); 55,0 (100); 41,0 (50).

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm) (Figura 56): 0,88 (t, $J = 7,12$, 3H); 1,27 – 1,36 (m, 4H); 2,01 (q, $J = 6,90$, 2H); 2,25 (qq, $J_1 = 6,31$, $J_2 = 1,01$, 2H); 3,61 (t, $J = 6,31$, 2H); 5,36 (dt, $J_1 = 15,30$, $J_2 = 6,89$, $J_3 = 1,22$, 1H); 5,54 (dt, $J_1 = 15,30$, $J_2 = 6,89$, $J_3 = 1,22$, 1H).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm) (Figura 55): 14,26; 22,54; 31,94; 32,67; 36,31; 62,35; 126,00; 134,68.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Obtenção do 2-(oct-7-iniloxi)tetraidropirano (19)

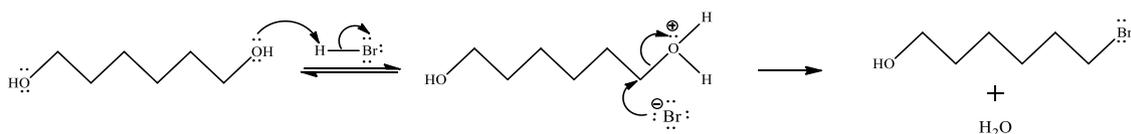
Preparação do 6-bromo-1-hexanol (45)

A primeira etapa foi a monobromação, com HBr e 1,2-DCE, do diol de seis carbonos. O produto foi obtido com 78% de rendimento, no entanto, essa etapa será, posteriormente, otimizada para obtenção de um melhor rendimento, uma vez que a literatura aponta a obtenção do mesmo produto com rendimentos acima de 80% (HE; BALDWIN; LE, 2018; OLIVEIRA, 2018).

A reação em questão, trata-se de uma substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) em que a primeira etapa é a protonação da hidroxila. Em seguida, a hidroxila protonada é substituída pelo íon brometo (Br^-) e há a liberação de água (Esquema 8).

Essa reação ocorre com transferência de fases, sendo assim, à medida que o produto da primeira substituição é formado, este torna-se mais solúvel na fase orgânica, para onde é transferido. Como a maior parte dos íons Br^- encontram-se na fase aquosa, a segunda substituição é dificultada, desfavorecendo a formação do produto dibromado (OLIVEIRA, 2018).

Esquema 8 Mecanismo da reação de bromação do 6-bromo-1-hexanol em meio ácido.

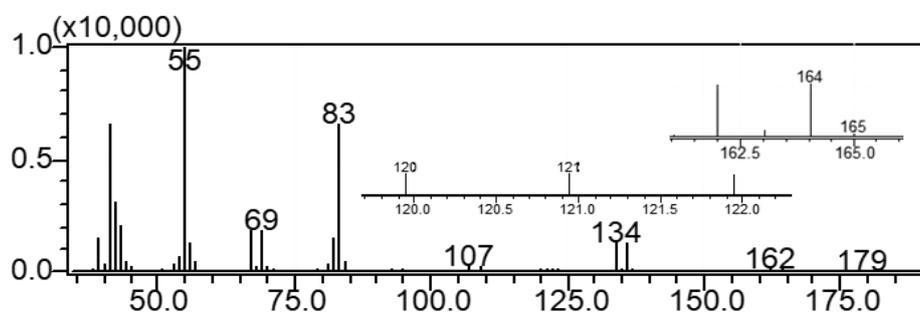


A amostra foi analisada por CG/EM. O produto esperado, o 6-bromo-1-hexanol (45), possui massa molar igual a 180 g/mol e 182 g/mol. Essa variação de duas unidades de massa se deve a presença do átomo de bromo que apresenta abundância isotópica significativa tanto para ^{79}Br quanto para o ^{81}Br (PAVIA et al., 2015).

O espectro obtido (Figura 38) não apresenta o pico do íon molecular (IM), mas sugere a formação de (45) pela presença dos seguintes fragmentos: m/z 162 e m/z 164, referentes à desidratação $[M-18]^+$, característica de álcoois (PAVIA et al., 2015); m/z 134, m/z 136, m/z 120 e m/z 122, referentes a perda de unidades de metileno; m/z 83, referente a perda de água e do halogênio, $[M-18-79]^+$ e $[M-18-81]^+$; m/z 55 é o pico base

(PB), sua abundância pode ser justificada pela possibilidade de sua formação a partir dos fragmentos anteriormente citados.

Figura 38 Espectro de massas do composto (45).



A amostra também foi analisada por RMN. No espectro de RMN ^1H são observados dois tripletos em 3,64 ppm e 3,41 ppm referem-se aos prótons mais próximos dos elementos mais eletronegativos, oxigênio e bromo, respectivamente. Esse deslocamento é explicado pelo efeito retirador de elétrons que esses átomos exercem sobre os núcleos próximos (PAVIA et al., 2015). Esse efeito ainda é observado nos prótons em 1,87 ppm e 1,58 ppm, referentes a H-5 e H-2, respectivamente. Os sinais mais protegidos, em 1,46 ppm e 1,39 ppm, referem-se aos prótons H-4 e H-3 (Figura 39).

A correlação entre esses prótons foi verificada através do COSY (Correlated Spectroscopy), onde um espectro homonuclear de duas dimensões é gerado e os picos que aparecem fora da diagonal indicam as correlações entre os hidrogênios acoplados a três ligações (^3J), ou seja, ligados a átomos de carbono vizinhos (Figura 40) (NASCIMENTO, 2016).

Figura 39 Espectro de RMN ^1H do composto (45), solvente CDCl_3 .

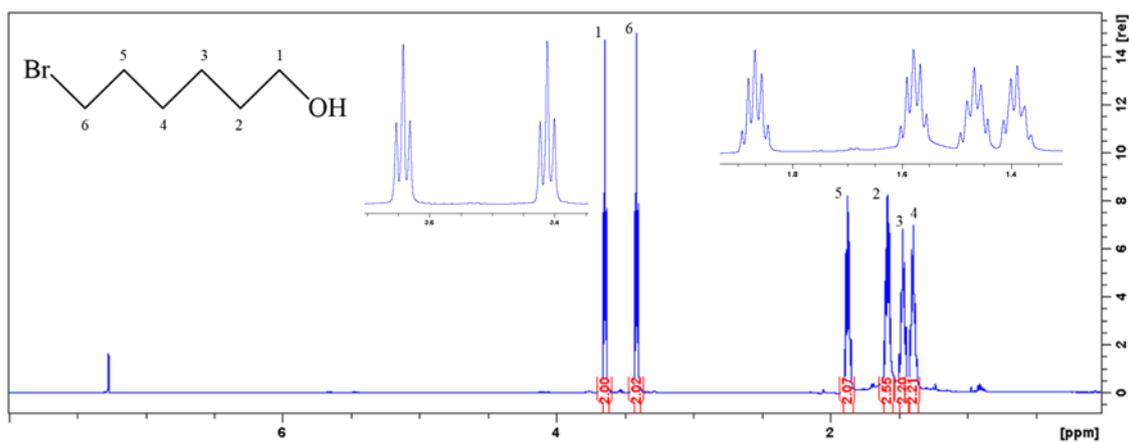
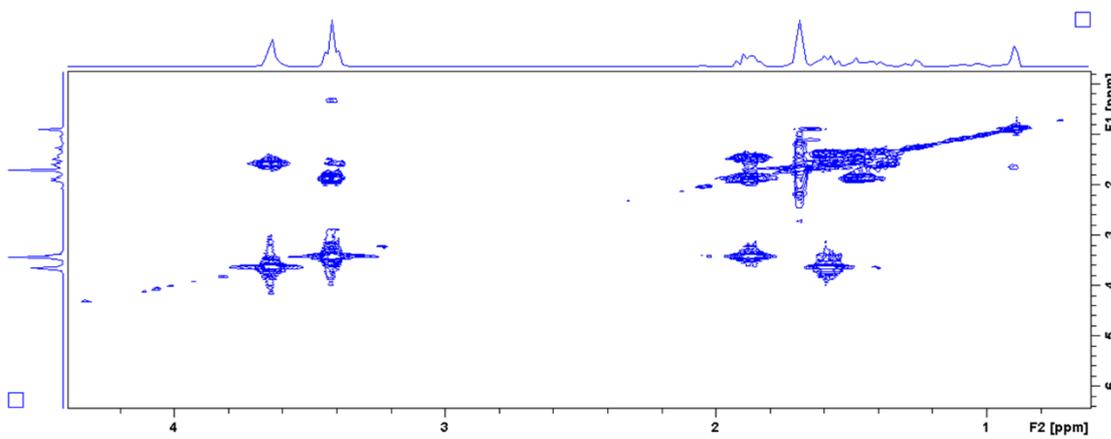
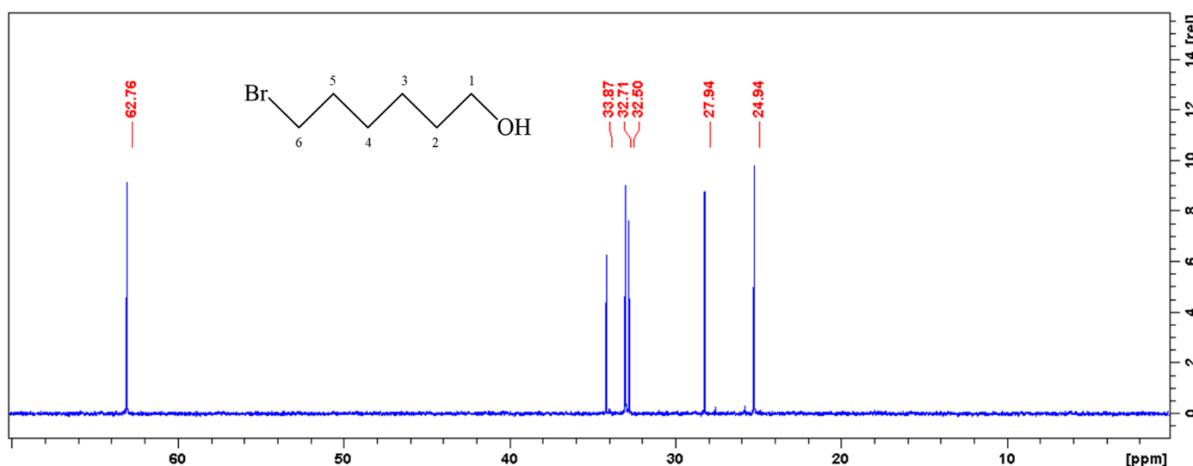


Figura 40 Espectro COSY (^1H - ^1H) do composto (45).



No espectro de RMN ^{13}C são observados seis sinais (Figura 41). O sinal em 62,76 ppm refere-se ao carbono diretamente ligado ao oxigênio. Esse carbono sofre mais fortemente o efeito retirador de elétrons que o carbono diretamente ligado ao bromo, que vem em seguida, em 33,87 ppm (KAUPP et al., 1998).

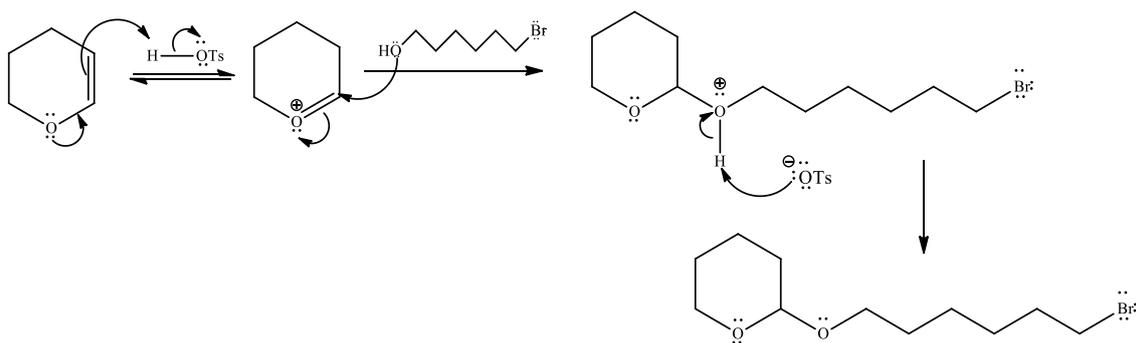
Figura 41 Espectro de RMN ^{13}C do composto (45), solvente CDCl_3 .**Tabela 3** Dados de RMN ^1H , ^{13}C e COSY (δ - ppm; J - Hz) para 6-bromo-1-hexanol, CDCl_3 .

H/C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	COSY
			$\delta^1\text{H}$
1	62,76	3,64 (t, $J = 6,53$, 2H)	1,58 (H-2)
2		1,58 (qo, $J = 6,73$, 2H)	3,64 (H-1); 1,36 (H-3); 1,49 (H-4)
3		1,36 – 1,49 (m, 2H)	1,58 (H-2); 1,49 (H-4); 1,87 (H-5)
4		1,36 – 1,49 (m, 2H)	1,87 (H-5); 1,58 (H-2); 1,36 (H-3)
5		1,87 (qo, $J = 6,92$, 2H)	1,49 (H-4); 1,36 (H-3); 3,41 (H-6)
6	33,87	3,41 (t, $J = 6,76$, 2H)	1,87 (H-5)

Preparação do 2-(6-bromoexiloxi)tetraidropirano (24)

A segunda etapa foi a proteção da hidroxila com DHP catalisada por *p*-TsOH. O produto foi obtido com 95% de rendimento. Nessa reação de adição eletrofílica, a ligação π captura o hidrogênio ácido do catalisador formando o cátion de THP. Este sofrerá o ataque do oxigênio do álcool que em seguida será desprotonado regenerando, assim, o catalisador (Esquema 9). A presença do THP na molécula protege a hidroxila de modo que na próxima etapa, mesmo na presença de uma base forte, este sítio não esteja susceptível à reações e a substituição ocorra apenas no carbono halogenado. Além disso, este grupo pode ser facilmente retirado via hidrólise ácida quando assim for necessário (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012).

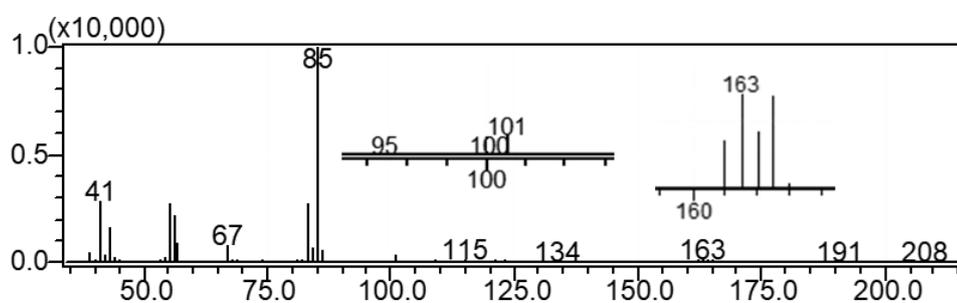
Esquema 9 Mecanismo de proteção da hidroxila do composto (24) com DHP.



+

O produto foi analisado por CG/EM. O 2-(6-bromoexiloxi)tetraidropirano (24) possui uma massa molar de 264 g/mol. A sua formação é sugerida a partir da presença dos picos m/z 163 e m/z 165 no espectro de massas (Figura 42) que se referem à perda do grupo OTHP, que também aparece fragmentado com m/z 101, indicando que a proteção, de fato, ocorreu. O PB, m/z 85, tem sua intensidade justificada pela facilidade de fragmentação do acetal, onde um carbono está entre dois átomos de oxigênio tornando a ligação C-O externa ao ciclo mais enfraquecida.

Figura 42 Espectro de massas do composto (24).

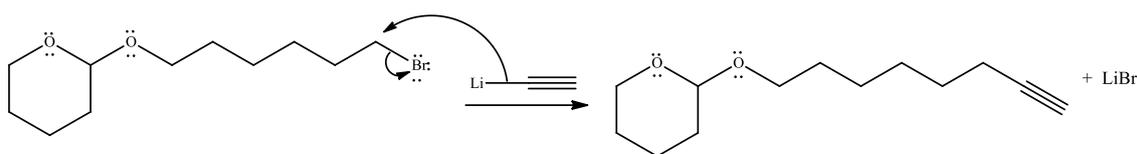


Preparação do 2-(7-octiniloxi)tetraidropirano (19)

A última etapa da preparação do intermediário comum a todas as rotas foi a alquilação com acetileno de lítio na forma de complexo com etilenodiamina na presença de DMSO (SMITH; BEUMEL JUNIOR, 1974). Foi obtido um rendimento de 68%.

Nessa reação, o acetileno de lítio atua como nucleófilo substituindo o bromo e formando o alcino terminal (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012).

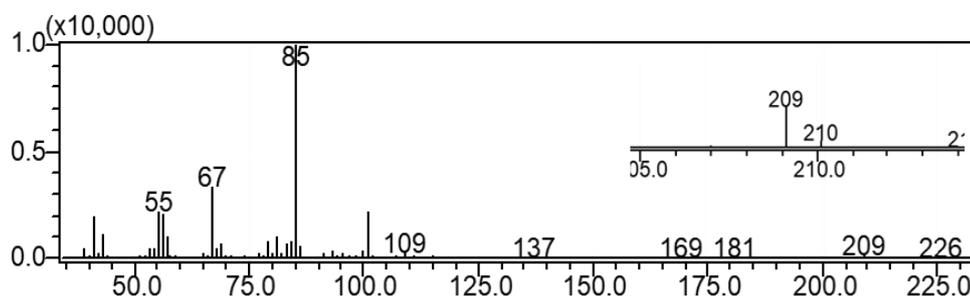
Esquema 10 Mecanismo de alquilação do composto (19) com acetileno de lítio.



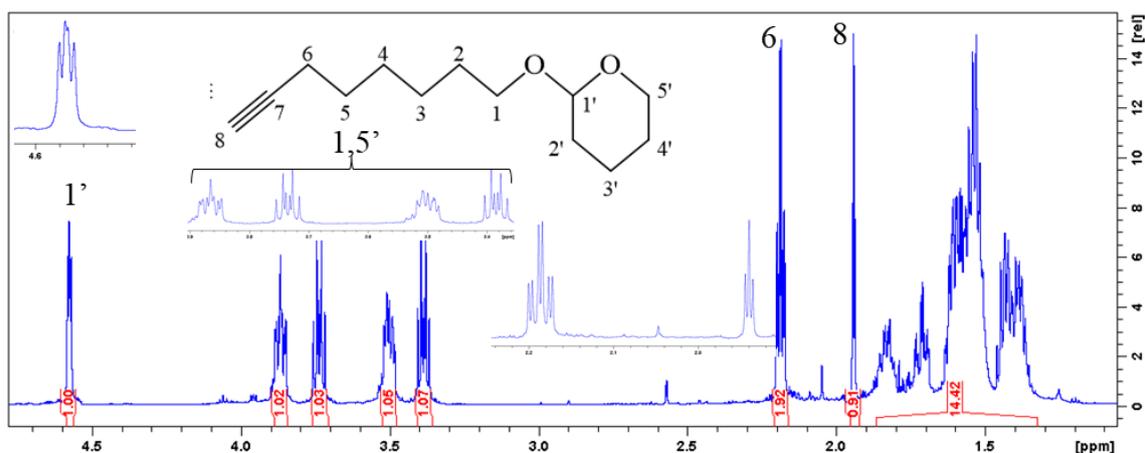
O produto formado tem massa molar igual a 210 g/mol. A partir do espectro obtido em CG/EM (Figura 43), a formação do alcino terminal é sugerida pela presença do fragmento m/z 209, referente a perda do hidrogênio terminal. A perda do hidrogênio terminal é favorecida pelo maior caráter s da ligação tripla hibridizada em sp em comparação com as outras ligações C-H, o que torna a ligação com o hidrogênio mais enfraquecida (SOLOMONS; FRYHLE, 2013).

O pico m/z 109, refere-se a perda do grupo OTHP [M-101] e o PB m/z 85, como mencionado anteriormente, refere-se ao THP formado a partir da fragmentação da ligação C-O do acetal.

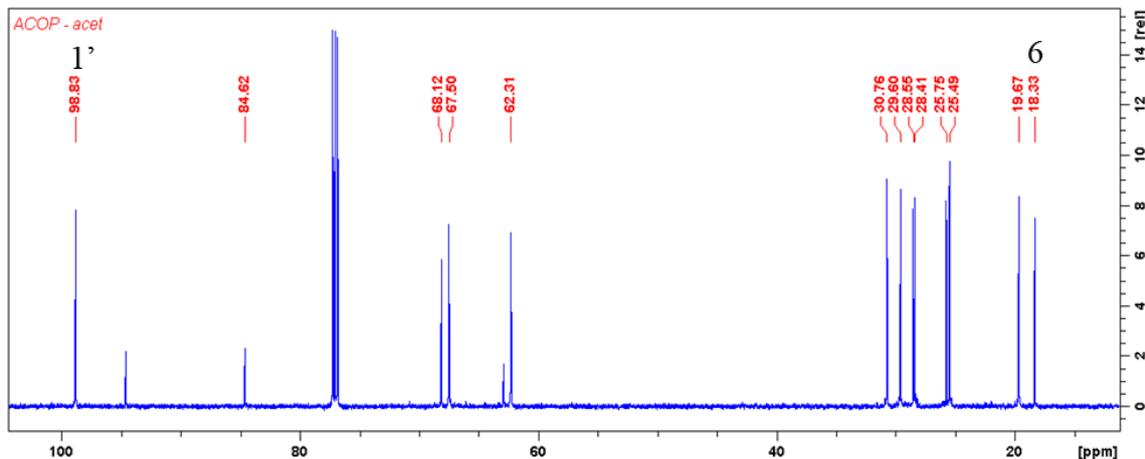
Figura 43 Espectro de massas do composto (19).



A amostra também foi analisada por RMN. No espectro de RMN ^1H (Figura 44) é observado um tripleto em 1,94 ppm referente ao hidrogênio da ligação tripla (H-8), este hidrogênio acopla com os hidrogênios H-6. Este que, por sua vez, acopla como H-8 e com o H-5 gerando um triplo duplete em 2,18 ppm. O sinal de maior deslocamento é um multiplete em 4,57 ppm, este é referente ao H-1' e esse deslocamento é justificado pela proximidade de dois oxigênios que exercem o efeito retirador de elétrons. H-1 e H-5' estão próximos a um estereocentro, logo são diastereotópicos, ou seja, cada hidrogênio terá um deslocamento diferente (PAVIA et al., 2015).

Figura 44 Espectro de RMN ^1H do composto (19), solvente CDCl_3 .

No espectro de ^{13}C (Figura 45) é possível deduzir que o sinal mais deslocado, em 98,83 ppm é referente ao carbono localizado entre os dois átomos retiradores de elétrons e o mais protegido, em 18,33 ppm, é referente ao carbono sp^3 vizinho a ligação tripla que, pela proximidade, sofre o efeito anisotrópico da insaturação (PAVIA et al., 2015).

Figura 45 Espectro de RMN ^{13}C do composto (19), solvente CDCl_3 .**Tabela 4** Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ - ppm; J - Hz) para o composto (19), CDCl_3 .

H/C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1 e 5'		3,38 (dt, $J_1 = 9,46$; $J_2 = 6,81$, 1H); 3,73 (dt, $J_1 = 9,46$; $J_2 = 6,81$, 1H); 3,50 (m, 1H); 3,86 (m, 1H).
6	18,33	2,18 (td, $J_1 = 7,12$; $J_2 = 2,76$, 2H)
8		1,94 (t, $J = 2,76$, 1H)
1'	98,83	4,57 (m, 1H)

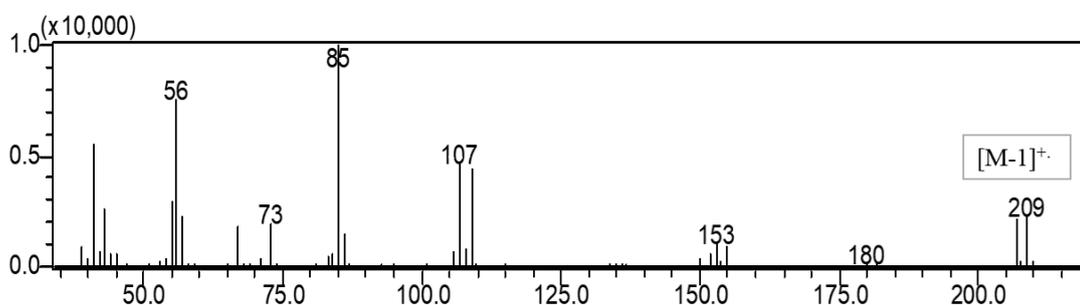
2.4.2 Obtenção do 1-bromooct-3-ino (50)

Preparação do 2-(2-bromoetoxi)tetra-hidro-2H-pirano (47)

A primeira etapa da preparação do segundo intermediário foi a inserção de um grupo protetor à hidroxila do 2-bromoetanol. Para isso foi utilizado o DHP e quantidades catalíticas de *p*-TsOH da mesma maneira que é descrito para a preparação de (24). O produto foi obtido com 98% de rendimento.

O produto formado tem 210 g/mol e 208 g/mol devido a abundância isotópica do átomo de bromo (PAVIA et al., 2015). A amostra foi analisada em CG-EM onde foi possível observar a presença do fragmento m/z 85, que também é o PB, indicando a presença do THP na molécula e confirmando que a proteção ocorreu. Também é notado a presença de picos com diferença de duas unidades de massa com abundância próxima entre si, referente aos fragmentos contendo o átomo de bromo (Figura 46). Além disso, nota-se os fragmentos m/z 209 e 207, referentes a $[M-1]^+$, mais intensos que o pico do íon molecular.

Figura 46 Espectro de massas do composto (47).

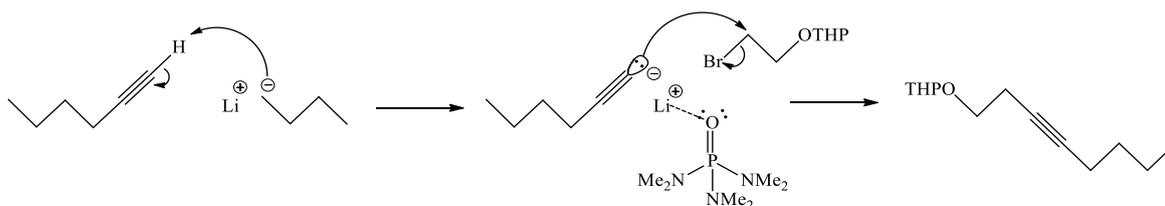


Preparação do tetrahydro-2-(3-octin-1-iloxi)-2H-pirano (49)

O brometo protegido formado na etapa anterior foi submetido a uma reação de acoplamento com o 1-hexino. Nesta reação, o alcino terminal é tratado com uma base forte, neste caso *n*-BuLi, a qual retira o próton do carbono *sp* formando o organometálico 1-hexinilítio. A reatividade deste intermediário é potencializada pela adição do co-solvente HMPA que solvata o lítio através da co-ordenação entre o cátion e o oxigênio e aumenta o caráter nucleofílico no carbânion (Esquema 11) (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012; ANDREWS, MINOPOULOS, ROBERSTON, 2006). Dessa maneira a substituição do bromo foi favorecida e o produto foi formado com 80,5% de rendimento.

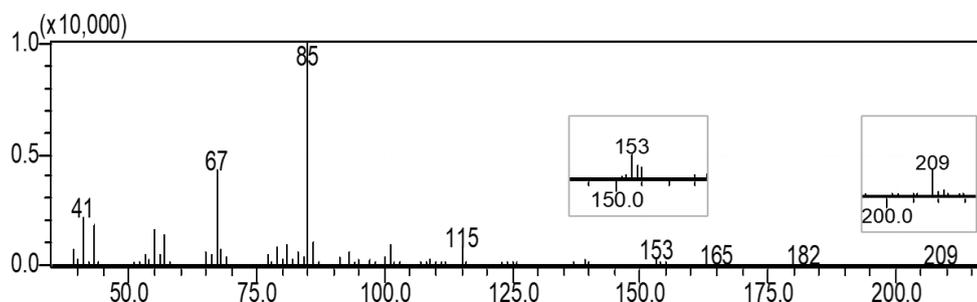
É importante mencionar que o HMPA é um solvente altamente carcinogênico e deve ser manipulado de forma cautelosa (ASHBY, STYLES, PATON, 1978). Todo o material em contato com este material foi deixado em solução de hipoclorito de sódio durante 30 minutos antes de serem devidamente lavados.

Esquema 11 Mecanismo de acoplamento entre (47) e (48) na presença de *n*-Buli e HMPA como co-solvente.



O espectro de massas do produto apresenta o fragmento m/z 85 como PB, referente ao THP e a confirmação do acoplamento é feita pela presença do fragmento m/z 153 referente a perda do radical butil ligado ao carbono da tripla e a ausência de fragmentos referentes aos isótopos de bromo, indicando que a substituição foi bem sucedida (Figura 47).

Figura 47 Espectro de massas do composto (49).



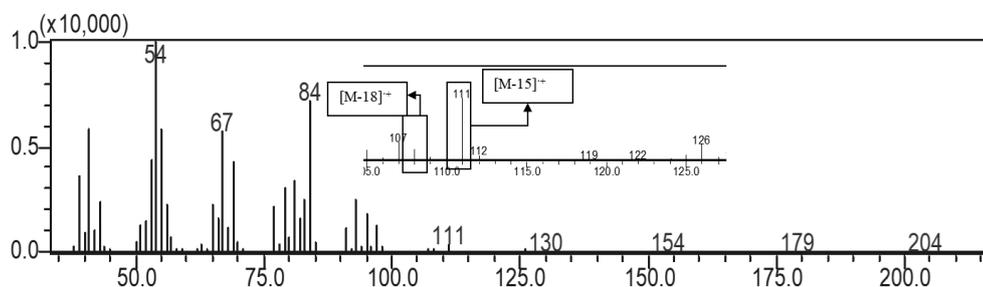
Preparação do oct-3-in-1-ol (14)

O grupo protetor de (49) foi retirado por hidrólise ácida utilizando o *p*-TsOH em metanol. A retirada deste grupo foi necessária uma vez que a hidroxila exerce um importante papel na substituição da próxima etapa. O 3-octin-1-ol foi obtido com um rendimento de 87%.

A retirada do grupo protetor foi confirmada através do espectro de massas onde não estão presentes os fragmentos característicos desse grupo. Também é possível

visualizar a presença do pico do íon molecular m/z 126 e o fragmento $[M-18]^+$, correspondente a perda de uma molécula de água (Figura 48).

Figura 48 Espectro de massas do composto (14).



Inicialmente, este álcool foi considerado como um dos materiais de partida da rota proposta. No entanto, houve um período de indisponibilidade no mercado surgindo a necessidade de prepará-lo como aqui foi descrito. Apesar de três etapas terem sido acrescentadas, houve uma redução de custos de aproximadamente 37% na obtenção deste material. O valor do 3-octin-1-ol (97%, Sigma-Aldrich®), que é vendido apenas em embalagem de 5g, é R\$582,00, ou seja, R\$116,40 por grama. Para a obtenção de 0,869g através da rota proposta, foram gastos em média R\$63,48. Os valores de cada material utilizado na síntese do 3-octin-1-ol estão dispostos na Tabela 5. Todos os valores foram consultados no site <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt> no dia 21/08/2021.

Tabela 5 Valores dos materiais utilizados na síntese do composto (14).

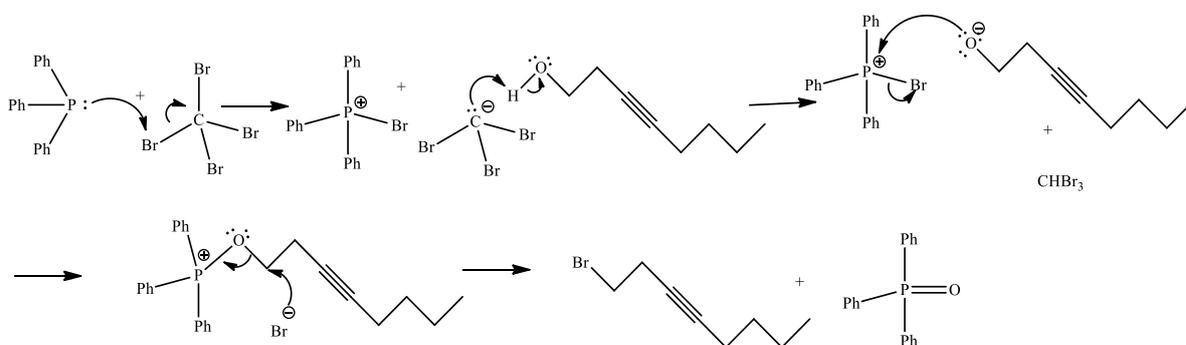
Material	Preço (R\$)/quantidade	Quantidade utilizada	Valor (R\$)
2-bromoetanol	2.139,00/500 g	1,5 g	6,42
1-hexino	1.193,00/100 mL	2,2 mL	26,25
n-BuLi	4.050,00*/4 L	15 mL	7,50
HMPA	1.259,00/500 g	3,9 g	9,75
p-TsOH	164,00/100 g	1,7 g	2,87
MeOH	197,00/4 L	19,5 mL	0,97
THF	308,00/1 L	20 mL	6,00
DCM	638,00/2,5 L	15 mL	3,75

*Valor consultado em dólar e convertido de acordo com a cotação do dia 21/08/2021.

Preparação do 1-bromooct-3-ino (50)

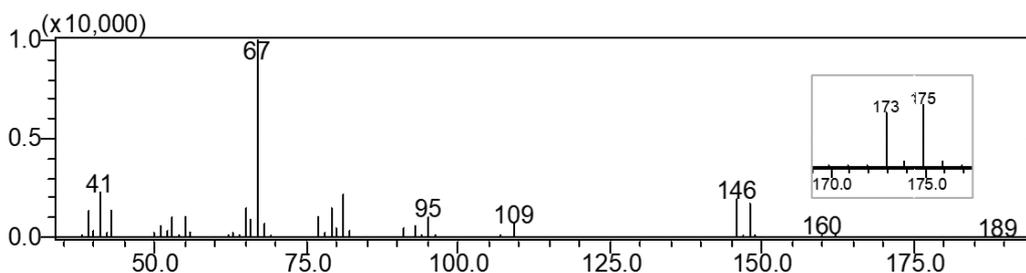
A bromação do 3-octin-1-ol obtido na etapa anterior ocorreu via Reação de Appel utilizando o CBr_4 como tetrahalometano. Nessa reação, o par de elétrons livres do fósforo da trifenilfosfina reage com o CBr_4 clivando a ligação Br-C e formando os íons trifenilfosfônio e tribrometo de carbono. O carbânion formado captura o próton do grupo alcoólico formando o bromofórmio e o oxigênio negativo ataca o fósforo liberando o brometo (Esquema 12) (APPEL, 1975; AL-HEMYARI, BUFAROOSHA, THIEMANN, 2017). O intermediário formado possui um bom grupo abandonador e viabiliza a $\text{S}_{\text{N}}2$ com o brometo atuando como nucleófilo. O 1-bromooct-3-ino foi formado com 89% de rendimento.

Esquema 12 Mecanismo da Reação de Appel na formação do composto (50).



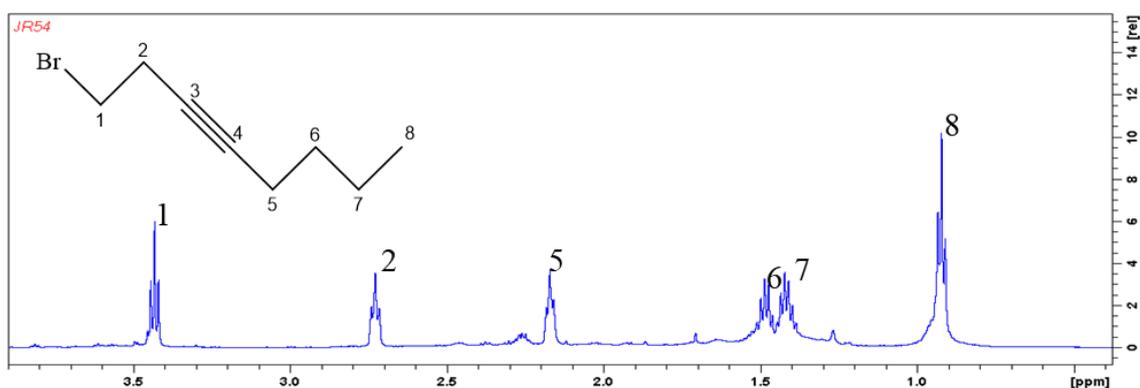
A formação do brometo foi verificada por espectrometria de massas onde é possível observar a presença de pares de fragmentos com diferença de duas unidades de massa, ou seja, que contém o átomo de bromo, m/z 146 e 148 e m/z 93 e 95. Além do fragmento m/z 109 que é formado a partir da saída do bromo. O pico do íon molecular não aparece no espectro, mas é possível notar fragmentos referentes a perda de um grupo metil, m/z 173 e 175. (Figura 49).

Figura 49 Espectro de massas do composto (50).



A caracterização deste intermediário chave foi concluída através da análise em RMN. No espectro de RMN ^1H é possível visualizar um tripleto com deslocamento em 3,43 ppm referente aos prótons vizinhos ao átomo de bromo. Esse deslocamento é justificado pelo efeito retirador de elétrons do átomo eletronegativo próximo. Os sinais em 2,73 ppm e 2,17 ppm são referentes a H-2 e H-5, respectivamente, são os mais próximos a ligação tripla e aparecem nessa região devido ao efeito anisotrópico exercido pela insaturação vizinha (PAVIA et al., 2015). H-6 e H-7 aparecem em 1,45 ppm e 1,38 ppm, respectivamente, enquanto os prótons da metila, os mais protegidos, aparecem em 0,92 ppm (Figura 50).

Figura 50 Espectro de RMN ^1H do composto (50), solvente CDCl_3 .



No espectro de RMN ^{13}C , inicialmente é possível observar apenas sete sinais referentes ao composto (Figura 51), no entanto, a análise do HMBC identificou a presença de mais um carbono na estrutura.

HMBC e HSQC são experimentos que geram espectros heteronucleares, ou seja, uma dimensão englobará a frequência de hidrogênio e a outra a de um outro núcleo ativo em RMN, nesse caso o carbono-13. A leitura de ambos é idêntica, no entanto a informação obtida em cada um difere na distância de correlação entre os dois núcleos. O HSQC detecta acoplamentos a uma ligação (^1J), ou seja, indica a qual carbono cada hidrogênio está diretamente ligado. Enquanto o HMBC detecta as correlações com distâncias maiores que uma ligação (^nJ , $n > 1$), no entanto, para $n > 4$, o J é muito pequeno, mas pode ser observado em sistemas conjugados cíclicos e alcenos (NASCIMENTO, 2016).

Através da análise do espectro heteronuclear HMBC foi possível observar uma correlação entre um carbono localizado em 77,24 ppm e os prótons H-2 e H-1, ou seja, o

sinal deste carbono está sobreposto ao do CDCl_3 , solvente utilizado na análise. Tanto este quanto o localizado em 82,67 ppm, que apresentou correlação com H-2, H-5 e H-6, correspondem aos únicos carbonos sp da molécula (Figura 52). O carbono da metila é o de menor deslocamento e aparece em 13,60 ppm. A correlação dos demais foi determinada pela análise do espectro de correlação HSQC (Figura 53). Além disso, o COSY foi realizado a fim de verificar as correlações entre os hidrogênios ligados aos carbonos adjacentes (Figura 54). Os dados dessas análises estão detalhados na Tabela 6.

Figura 51 Espectro de RMN ^{13}C do composto (50), solvente CDCl_3 .

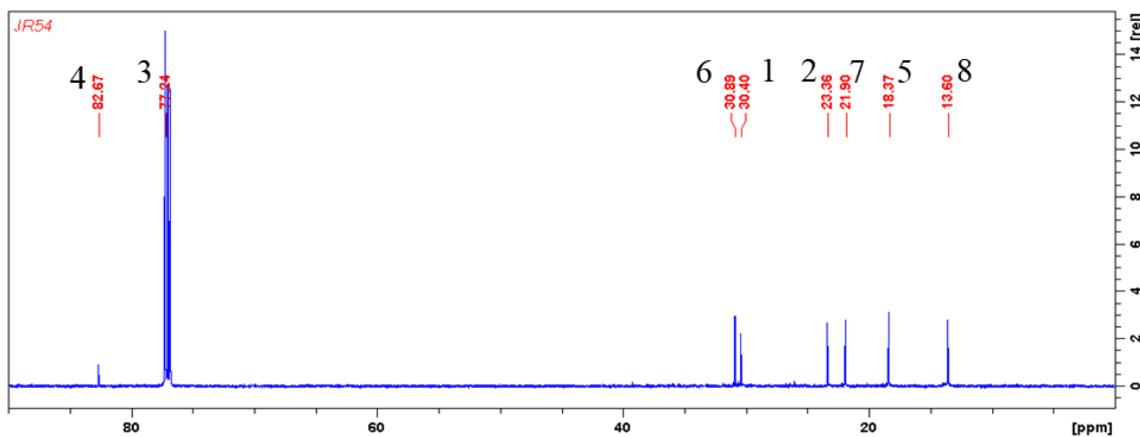


Figura 52 Espectro HMBC (^1H - ^{13}C) do composto (50).

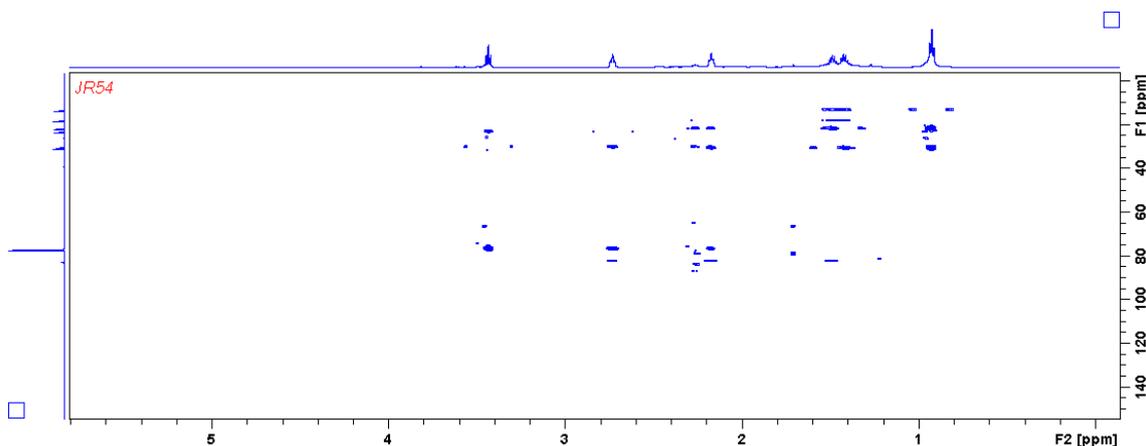
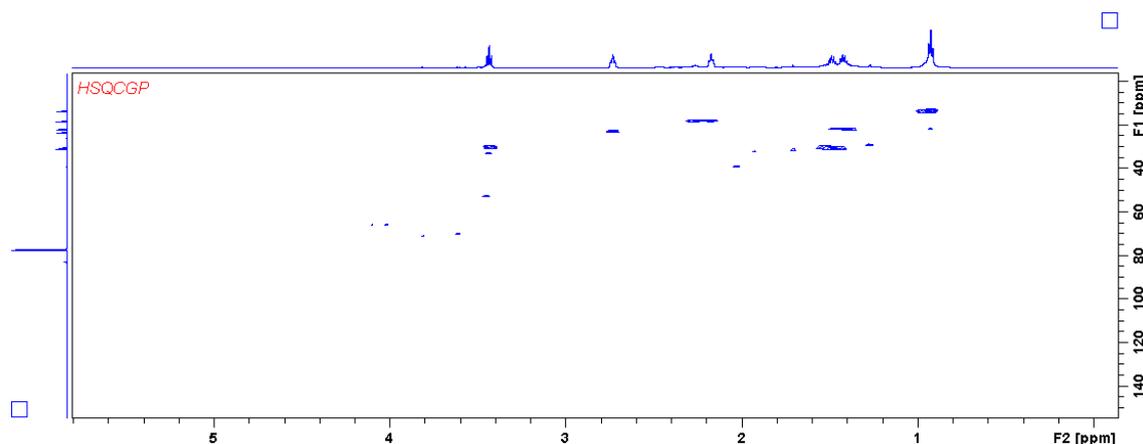
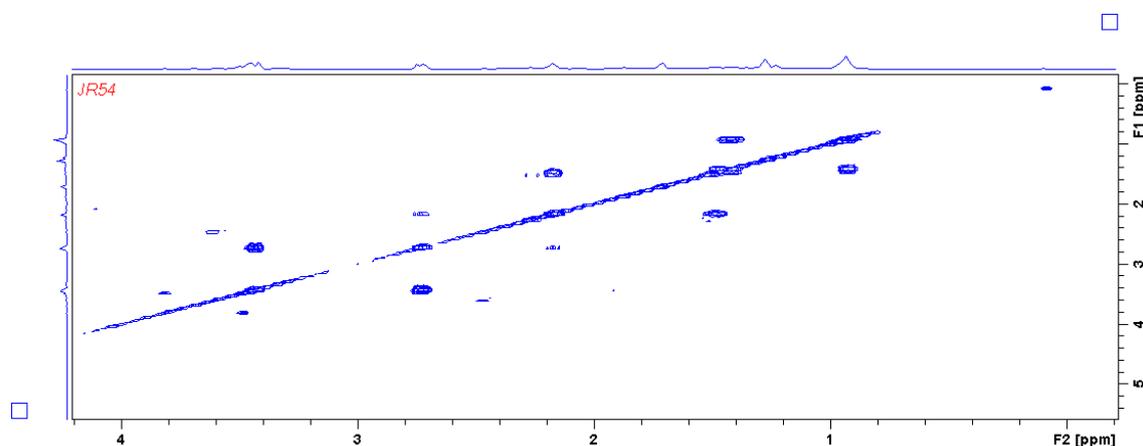


Figura 53 Espectro HSQC (^1H - ^{13}C) do composto (50).**Figura 54** Espectro COSY (^1H - ^1H) do composto (50).**Tabela 6** Dados de RMN ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY (δ , deslocamento químico, ppm; J , Hz) para o composto (50).

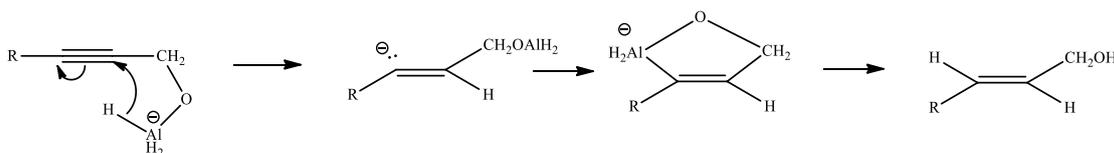
H/C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	HMBC $\delta^{13}\text{C}$	COSY $\delta^1\text{H}$
1	30,40	3,43(t, $J = 7,35$, 2H)	23,36 (C-2); 77,24 (C-3)	2,73 (H-2)
2	23,36	2,73 (t, $J = 7,11$, 2H)	30,40 (C-1); 77,24 (C-3); 82,67 (C-4)	3,43 (H-1)
3	77,24			
4	82,67			
5	18,37	2,17 (t, $J = 7,11$, 2H)	30,89 (C-6); 77,24 (C-3); 82,67 (C-4)	1,45 (H-6)
6	30,89	1,45 – 1,51 (m, 2H)	82,67 (C-4); 18,37 (C-5); 21,90 (C-7); 13,60 (C-8)	2,17 (H-5)
7	21,90	1,38 – 1,45 (m, 2H)	18,37 (C-5); 30,89 (C-6); 13,60 (C-8)	0,88 (H-8)
8	13,60	0,92 (t, $J = 7,01$, 2H)	30,89 (C-6); 21,90 (C-7)	1,38 (H-7)

Este composto é intermediário chave na rota proposta, mas qualquer outra rota que objetive produzir um composto 1-5 insaturado poderia utilizar essa mesma estratégia, pois a presença do halogênio torna a molécula susceptível a reações de crescimento de cadeia via substituição nucleofílica.

2.4.3 Preparação do (*E*)-oct-3-en-1-ol (15)

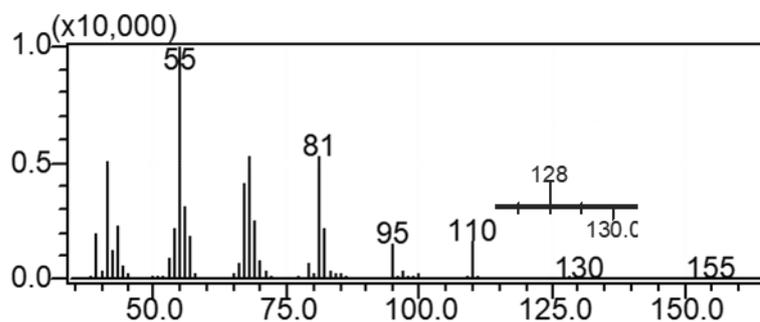
A redução *E*-seletiva do oct-3-in-1-ol (97%, Sigma-Aldrich®) foi realizada utilizando hidreto de lítio e alumínio (LiAlH₄) em diglima. Essa seletividade é possível devido a presença da hidroxila próxima à ligação tripla, uma vez que a liberação dos hidrogênios para essa ligação se dá pela formação de um complexo do agente redutor junto ao oxigênio, como demonstrado por Snyder (1967) no esquema abaixo (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012; SNYDER, 1967).

Esquema 13 Mecanismo de redução de um alcino com hidroxila na posição alílica.

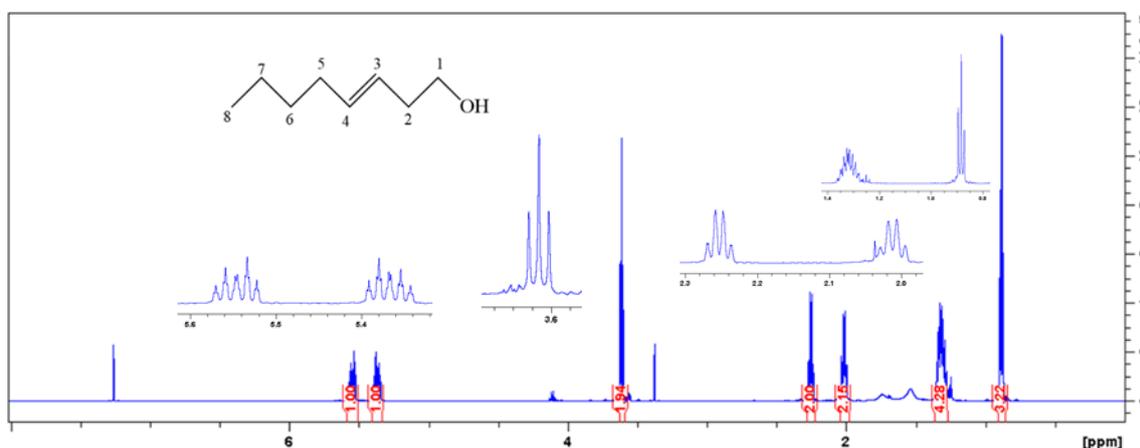


O alceno foi formado com 87% de rendimento e 90% do isômero *E* em relação ao *Z*. Sob as mesmas condições, a literatura aponta rendimentos de até 93% (VYVYAN et al., 2002).

A amostra foi analisada por CG/EM e a formação do produto é sugerida analisando o espectro de massas (Figura 55) e verificando presença do pico do IM m/z 128, e ainda o pico m/z 110, referente à perda de água, característica de álcoois. O PB m/z 55 pode ser justificado pela possibilidade de ser formado a partir de diferentes fragmentos.

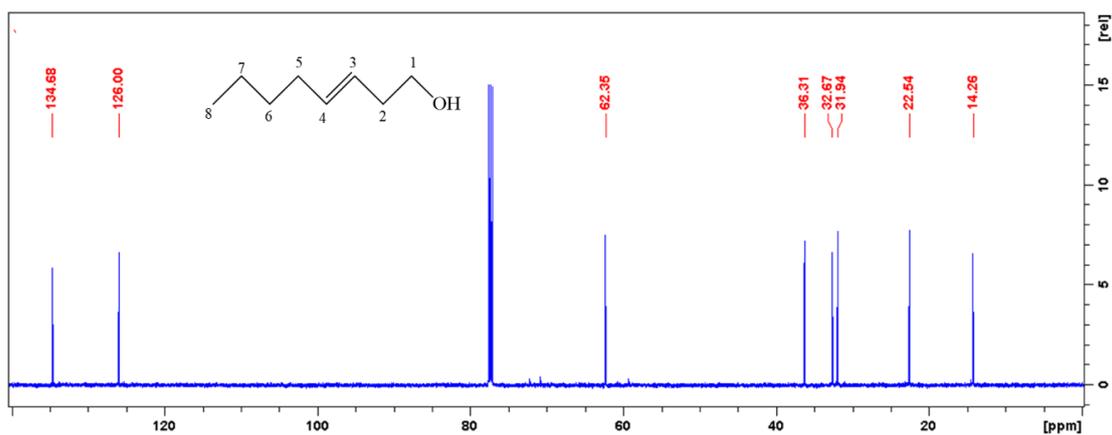
Figura 55 Espectro de massas do composto (15).

A amostra foi analisada também por RMN e no espectro de RMN ^1H foram observados dois sinais em 5,36 ppm e 5,54 ppm referentes aos prótons H-3 e H-4, que se apresentam mais desblindados pelo efeito anisotrópico causado pelos elétrons π da ligação dupla (PAVIA et al., 2015). Em seguida, o tripleto em 3,61 ppm, refere-se aos prótons H-1, tendo esse deslocamento justificado pelo efeito retirador de elétrons do oxigênio próximo. Os hidrogênios ligados aos carbonos vizinhos a ligação dupla ainda podem sofrer o efeito anisotrópico, assim, os sinais em 2,25 ppm e 2,01 ppm, se referem a H-2 e H-5 (Figura 56).

Figura 56 Espectro de RMN ^1H do composto (15), solvente CDCl_3 

No espectro de RMN ^{13}C é possível observar os oito sinais referentes aos carbonos da molécula. Os sinais em 126,00 ppm e 134,68 ppm correspondem aos carbonos hibridizados em sp^2 C-3 e C-4 (PAVIA et al., 2015). O carbono ligado ao oxigênio aparece em 62,35 ppm. O menor deslocamento, 14,26 ppm, refere-se ao C-8 e os demais sinais correspondem aos carbonos metilênicos (Figura 57).

Figura 57 Espectro de RMN ^{13}C do composto (15), solvente CDCl_3



Experimentos bidimensionais de RMN (COSY, HSQC ^1H - ^{13}C e HMBC ^1H - ^{13}C) foram realizados a fim de estabelecer a correlação entre os núcleos. O COSY, como já descrito, indica correlações entre os hidrogênios acoplados a três ligações (^3J), ou seja, ligados aos carbonos adjacentes. Os dados estão listados na Tabela 7.

Figura 58 Espectro COSY (^1H - ^1H) do composto (15)

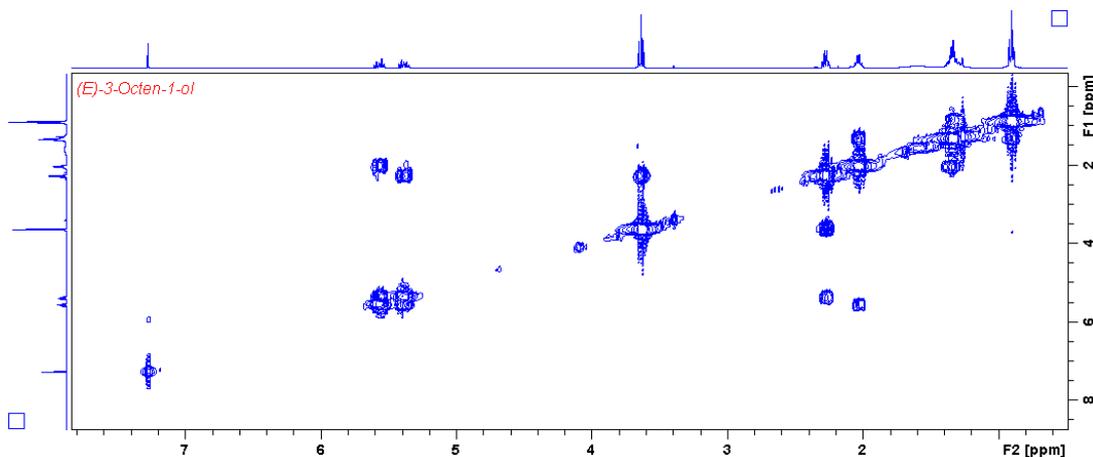


Figura 59 Espectro HSQC (^1H - ^{13}C) do composto (15)

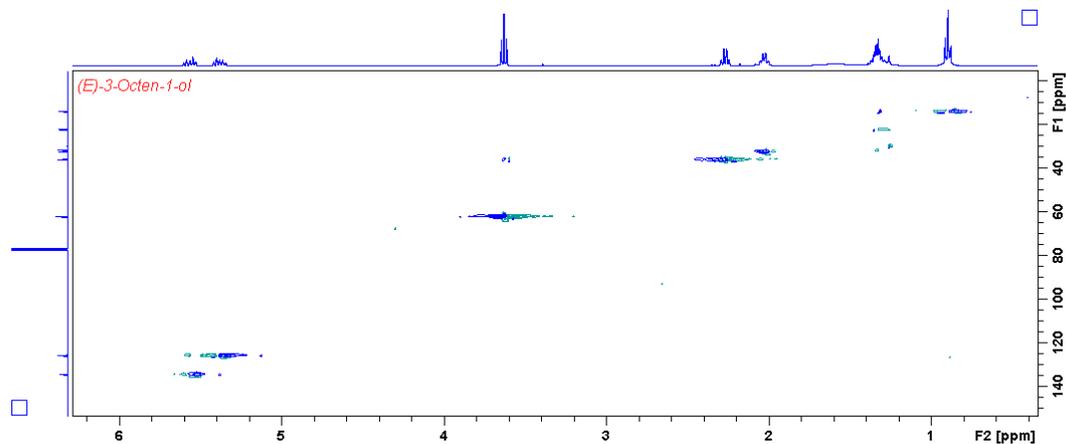
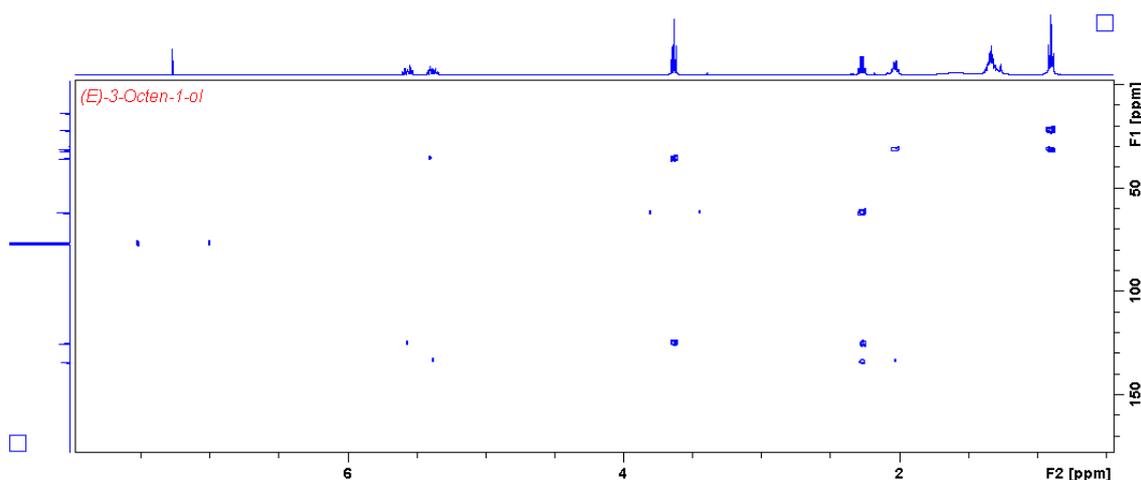


Figura 60 Espectro HMBC (^1H - ^{13}C) do composto (15)**Tabela 7** Dados de RMN ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY (δ , deslocamento químico, ppm; J , Hz) para o composto (12).

H/C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	HMBC $\delta^{13}\text{C}$	COSY $\delta^1\text{H}$
1	62,35	3,61 (t, $J = 6,31$, 2H)	36,31 (C-2); 126,00 (C-3)	2,25 (H-2)
2	36,31	2,25 (qq, $J_1 = 6,31$, $J_2 = 1,01$, 2H)	62,35 (C-1); 126,00 (C-3); 134,68 (C-4)	3,61 (H-1); 5,36 (H-3); 5,54 (H-4)
3	126,00	5,36 (dtt, $J_1 = 15,30$, $J_2 = 6,89$, $J_3 = 1,22$, 1H)	36,31 (C-2); 134,68 (C-4)	2,25 (H-2); 5,54 (H-4); 2,01 (H-5)
4	134,68	5,54 (dtt, $J_1 = 15,30$, $J_2 = 6,89$, $J_3 = 1,22$, 1H)	32,67 (C-5); 126,00 (C-3)	2,01 (H-5); 2,25 (H-2); 5,36 (H-3)
5	32,67	2,01 (q, $J = 6,90$, 2H)	31,94 (C-6); 134,68 (C-4)	5,54 (H-4); 5,36 (H-3); 1,36 (H-6)
6	31,94	1,27 – 1,36 (m, 2H)	22,54 (C-7)	2,01 (H-5)
7	22,54	1,27 – 1,36 (m, 2H)	31,94 (C-6)	0,88 (H-8)
8	14,26	0,88 (t, $J = 7,12$, 3H)	22,54 (C-7); 31,94 (C-6)	1,27 (H-7)

2.5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Uma rota foi sugerida para a preparação do acetato de (Z,Z)-7,11-hexadecadienila e do (Z,Z)-7,11-hexadecadienal. Essa rota possui um intermediário em comum com a rota proposta para o acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila, o 2-(7-octiniloxi)tetraidropirano. Este intermediário foi obtido em três etapas com 50,5% de rendimento.

O 3-octin-1-ol foi preparado em três etapas com um rendimento de 68%. O custo com materiais utilizados na preparação desse composto se mostrou 37% menor quando comparado ao preço do álcool comercial.

O segundo intermediário da primeira rota, o 1-bromooct-3-ino, foi obtido com 61% de rendimento em quatro etapas.

A redução *E*-seletiva do oct-3-in-1-ol obteve um rendimento de 87%.

A síntese deverá ser concluída para que os feromônios possam ser aplicados no monitoramento e controle de *P. gossypiella*, *S. cerealella* e *P. citrella*.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, H. A. et al. Effect of non-catalytic infrared ray on the grain moth *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 5, n. 2, p.264-270, 2017.

AGROLINK. Minadora das folhas. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/problemas/minadora-da-folhas_131.html>. Acessada em 07 de junho, 2019.

AKTER, T.; ALI, M. Efficacy of Pheromone on Capturing Angoumois Grain Moth (*Sitotroga Cerealella*) in Stored Rice (*Oryza Sativa L.*) Grain. **The Agriculturists**, v. 13, n. 2, p.74-80, 2016.

AL-HEMYARI, A.; BUFAROOSHA, M.; THIEMANN, T. Investigation of the Appel reaction with bromotrichloromethane-triphenylphosphine ($\text{BrCCl}_3/\text{PPh}_3$). In: 21st Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry. MDPI, 2017.

ANDELIC, I.; MYHREN, F.; SKATTEBØL, L. A Practical synthesis of Gossyplure, the sex pheromone of the pink bollworm moth (*Pectinophora gossypiella*). **Acta Chemica Scandinavica**, v. 39, p.231-234, 1985.

ANDO, T. et al. (7Z,11Z)-7,11-hexadecadienal: sex attractant of the citrus leafminer moth, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Phyllocnistidae). **Agric. Biol. Chem.** v.49, n. 12, p. 3633-3635, 1985.

ANDO, T.; INOMATA, S.; YAMAMOTO, M. Lepidopteran sex pheromones. In: SCHULZ, I. S. **The chemistry of pheromones and other semiochemicals**. Berlin: Springer, New York: Heidelberg, p. 51-96, 2005.

ANDREWS, P. C.; MINOPOULOS, M.; ROBERSTON, E. G. Coordination and reduction of HMPA in the Lithiation of (S)-N-(α -Methylbenzyl)allylamine: crystal structures of $\{(S)\text{-}\alpha\text{-[PhC(H)CH}_3\text{](CH}_2\text{CH=CH}_2\text{)-NLi}\cdot\text{HMPA}\}_2$ and $[(\text{Me}_2\text{N})_2\text{POLi}]_6$. **Eur. J. Inorg. Chem.** v. 2006, n. 14, p. 2865–2870, 2006.

APPEL, R. Tertiary phosphane/tetrachloromethane, a versatile reagent for chlorination, dehydration, and P-N linkage. **Angew. Chem. Internat. Edit.** v. 14, n. 12, p. 801-811, 1975.

ASHBY, J.; STYLES, J. A.; PATON, D. Potentially carcinogenic analogues of the carcinogen hexamethylphosphoramide: evaluation *in vitro*. **Br. J. Cancer.** v. 38, p. 418-427, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília, 2019. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons . Acesso em: 01 ago. 2019.

CHAGAS, M. C. M.; PARRA, J. R. P. *Phyllocnistis citrella* stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): rearing technique and biology at different temperatures. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 29, n.2, p. 227-235, 2000.

CHAMP, B. R.; DYTE, C. E. *FAO Global Survey of Pesticide Susceptibility of Stored Grain Pests. FAO Plant Protection Bulletin*, v. 25, n. 2, p.49-67, 1977.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic Chemistry**. 2. ed. United Kingdom: Oxford University Press, 2012. 1264 p.

COSTA, L. E. C.; QUEIROZ, E. S. M. Plantas geneticamente modificadas com toxinas de *Bacillus thuringiensis*: uma ferramenta para conferir resistência contra insetos praga. **Universitas: Ciências da Saúde, Brasília**. v. 12, n. 2, p. 99-106, 2014.

DHURUA, S.; GUJAR, G. T. Field-evolved resistance to Bt toxin Cry1Ac in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), from India. **Pest Management Science**, v. 67, n. 8, p.898-903, 2011.

D'YAKONOV, V. A. et al. Ti-Catalyzed cross-cyclomagnesiation of 1,2-dienes in the stereoselective synthesis of insect pheromones. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 18, p. 1755-1757, 2017.

FERNANDES, J. R. C. *Sitophilus zeamais* e *Sitotroga cerealella* pragas do milho. **Agrotec**. n. 2, 2012.

HE, J.; BALDWIN, J. E.; LE, V. Studies towards the Synthesis of the Antibiotic Tetrodecamycin. **Synlett**. v. 29, p. 1117–1121, 2018.

HUMMEL, H. E. et al. Clarification of the chemical status of the pink bollworm sex pheromone. **Science**. v. 181, n. 4102, p. 873-875, 1973.

KAUPP, M. et al. How do Spin-Orbit-Induced Heavy-Atom Effects on NMR chemical shifts function? Validation of a simple analogy to spin-spin coupling by Density Functional Theory (DFT) calculations on some iodo compounds. **Chem. Eur. J.** v. 4, n. 1, 1998.

KIM, M.; LEE, H. Phototactic behavior 5: Attractive effects of the angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella*, to light-emitting diodes. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 57, n. 2, p.259-262, 2014.

LAPOINTE, S.L. et al. Field evaluation of a synthetic female sex pheromone for the leafmining moth *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida citrus. **Fla. Entomol.** v. 89, n. 2, p. 274-276, 2006.

LEAL, W.S. et al. Identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone from the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*. **J. Chem. Ecol.** v. 32, n. 1, p. 155-168, 2006.

LORINI, I. **Pragas de grãos armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. 60p.

- MIRANDA, J. E. Manejo Integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiros: **Circular técnica 131**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. 37 p.
- MOREIRA, J. A.; MCELFFRESH, J. S.; MILLAR, J. G.. Identification, synthesis, and field testing of the sex pheromone of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*. **Journal of Chemistry Ecology**, v. 32, n. 1, p. 169-194, 2006.
- MORI, K.; TOMINAGA, M.; MATSUI, M. Synthesis of the pink bollworm sex pheromone, 7-cis, 11-cis-Hexadecadienyl acetate and its 11-trans isomer. **Agricultural And Biological Chemistry**, v. 38, n. 8, p.1551-1552, 1974.
- MUCHOWSKI, J. M.; VENUTI, M. C. Cyclic phosphonium ylides. A short synthesis of gossypure. **The Journal Of Organic Chemistry**, v. 46, n. 2, p.459-461, 1981.
- NAIK, V. C. B.; SUBBIREDDY, K. B.; KRANTHI, S.; NAGRARE, V. S.; KUMBHARE, S.; GOKTE-NARKHEDKAR, N.; WAGHMARE, V. N. Pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) survival on transgenic cotton in India. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**. v. 31, n. 40, 2021.
- NASCIMENTO, C. **Ressonância Magnética Nuclear**. São Paulo: Blucher, 2016.
- OLIVEIRA, A. J. Síntese de feromônios com potencial para o manejo integrado de pragas. 2018. 179 f. Tese (Doutorado) – Doutorado em Ciências, Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.
- OLIVEIRA, I. R. et al. Bicudo e lagarta-rosada em algodoeiros no sertão sergipano: **Circular técnica 52**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. 5 p.
- PAVIA, D. L. et al. Introdução à espectroscopia. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.
- PHEROBASE. The pherobase – database of pheromones and semiochemicals. Disponível em: <http://www.pherobase.com/>. Acesso em 21 ago. 2019.
- RASHAD, A. M.; EL-KHAYAT, E. F.; ABD-EL ZAHER, T. R.; EL- DIN, A. M. S.; SALIM, H. S. Biochemical studies of some pesticidal formulations against *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae). **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci**. v. 15, n. 3, p. 303-307, 2015.
- SEHTO, G. N.; RAJPUT, I. A.; AHMED, A. M.; KOLACHI, M. M.; PATHAN, A. K.; DEPAR, M. S.; LAGHARI, R. A. K.; MAL, B. Monitoring cotton bollworms through synthetic sex pheromone traps. **Pure Appl. Biol**. v. 9, n. 3, p. 2007-2013, 2020.
- SILVA, A. B. A larva minadora dos citros (*Phyllocnistis citrella*): **Circular técnica. 71**. Ed. Belém: Embrapa-CPATU, 1998. 14 p.
- SILVA, C. A. D. et al. Sugestões técnicas para o Manejo Integrado de Pragas do algodoeiro no Brasil: **Circular técnica 135**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2013. 12 p.

SMITH, W. N.; BEUMEL JUNIOR, O. F. Preparation of alkynes and dialkynes by reaction of monohalo- and dihaloalkanes with lithium acetylenide-ethylenediamine complex. **Synthesis**, v. 1974, n. 06, p. 441-443, 1974.

SNYDER, E. I. Stereochemistry and mechanism of carbon-carbon double-bond reduction in methyl cinnamate by lithium aluminum hydride. **J. Org. Chem.** v. 32, n. 11, p. 3531-3534, 1967.

SOARES, T. N. A. et al. Insecticide Potential of Botanic Extracts Obtained from the Flora of the Brazilian North East Region. **European Scientific Journal**, v. 14, n. 18, p.1-13, 2018.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013. 1 v.

SOUZA, I. T. Síntese de feromônios de lepidópteros usados no controle de pragas agrícolas. 212f. Tese (Doutorado) – Doutorado em Ciências, Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.

SU, H. C. F.; MAHANY, P. G. Synthesis of the sex pheromone of the female angoumois grain moth and its geometric isomers. **Journal of Economic Entomology**, v. 67, n. 3, p.319-321, 1974.

THOMAZINI, M. J. A comunicação química entre os insetos: obtenção e utilização de feromônios no manejo de pragas. In: GONCALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia. Rio Branco: Embrapa Acre, 2009. cap. 17, p. 338-354.

VICK, K. W. et al. (Z,E)-7,11-hexadecadien-1-ol acetate: the sex pheromone of the angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella*. **Experientia**. v. 30, n. 1, p. 17-18, 1974.

VYVYAN, J. R. et al. Total Synthesis of Gibbilimbols A-D. **J. Org. Chem.** v. 67, p. 2263-2265, 2002.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi realizado um estudo de comportamento de *A. monuste orseis* em semi-campo, no qual foi observado o ritual de cópula e o comportamento de fêmeas pós cópula. Também foi identificado um composto macho-específico ainda não relatado para essa espécie. Além disso, 12 hidrocarbonetos, presentes tanto em machos quanto em fêmeas, incitaram resposta eletroantegráfica nas antenas de ambos. Pela primeira vez cerdas de Böhm e sensilas escamiformes são relatadas em antenas de *A. monuste orseis*.

Além disso, foram realizadas as primeiras etapas de síntese de componentes feromonais de *Pectinophora gossypiella*, *Sitotroga cerealella* e *Phyllocnistis citrella*, tendo sido preparados os principais intermediários da rota proposta.

Assim, o presente trabalho tem a perspectiva de contribuir com o desenvolvimento de produtos que atuem no monitoramento e controle comportamental das pragas supracitadas dentro MIP.

APÊNDICE

Figura A1 Espectro de massas do heneicosano (2') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

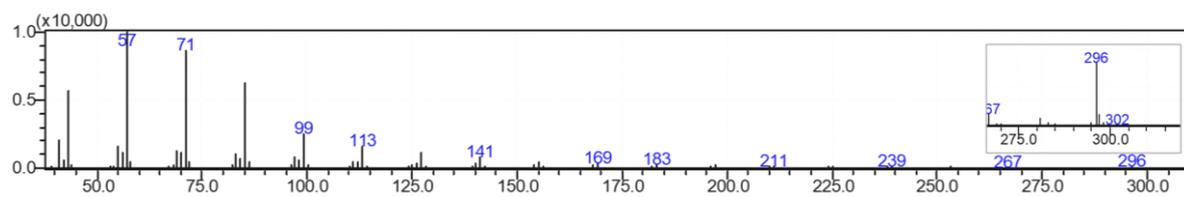


Figura A2 Espectro de massas do docosano (3') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

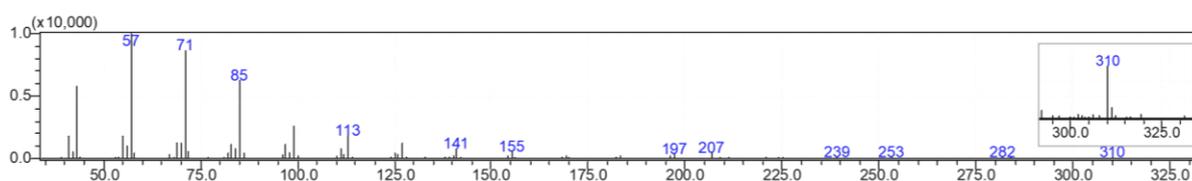


Figura A3 Espectro de massas do tricosano (5') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

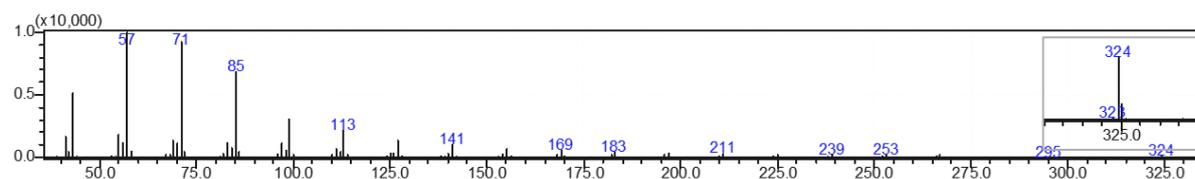


Figura A4 Espectro de massas do tetracosano (6') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

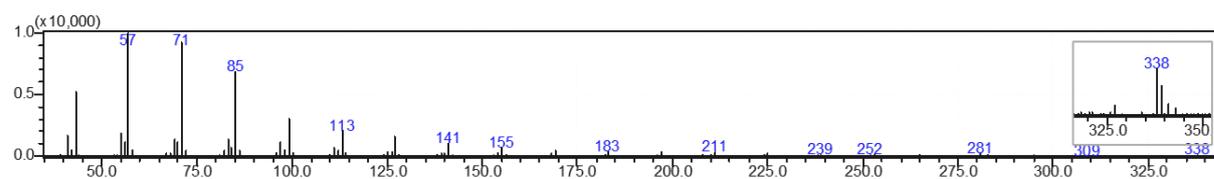


Figura A5 Espectro de massas do pentacosano (7') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

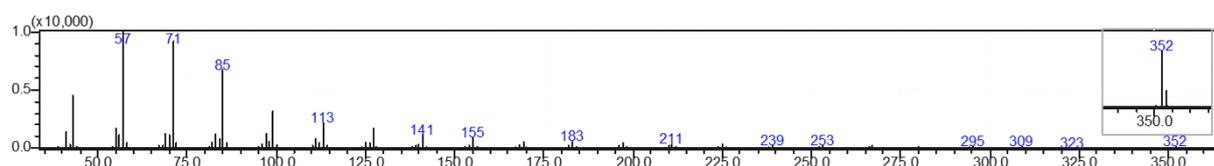


Figura A6 Espectro de massas do hexacosano (10') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

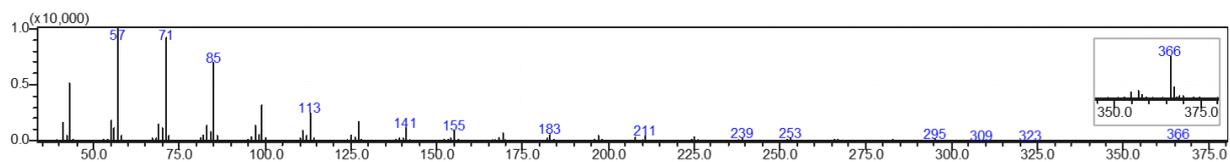


Figura A7 Espectro de massas do heptacosano (11') no extrato de ovipositor de *A. monuste orseis*.

