



REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA – RENORBIO
PONTO FOCAL: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL

HENRIQUE FONSECA GOULART

**DESENVOLVIMENTO DE FEROMÔNIOS PARA CONTROLE DE PRAGAS,
NOVOS CAMINHOS DE SÍNTESE, FORMULAÇÃO, IMOBILIZAÇÃO E
LIBERAÇÃO CONTROLADA.**

**Maceió-AL,
2012**

HENRIQUE FONSECA GOULART

DESENVOLVIMENTO DE FEROMÔNIOS PARA CONTROLE DE PRAGAS, NOVOS
CAMINHOS DE SÍNTESE, FORMULAÇÃO, IMOBILIZAÇÃO E LIBERAÇÃO
CONTROLADA

Qualificação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia, Ponto Focal no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, na área de concentração em Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiane Caxico de Abreu
Galdino

Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Euzebio Goulart
Santana

Maceió-AL
2012

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

G694d Goulart, Henrique Fonseca.

Desenvolvimento de feromônios para controle de pragas, novos caminhos de síntese, formulação, imobilização e liberação controlada / Henrique Fonseca Goulart. – 2012.

157 f. : il., grafs. e tabs.

Orientadora: Fabiane Caxico de Abreu Galdino.

Co-Orientador: Antonio Euzebio Goulart Sant'Ana.

Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2012.

Inclui Bibliografias.

1. Ecologia química. 2. Feromônio. 3. Controle de pragas. 4. Síntese química. I. Título.

CDU: 577.19

RESUMO

Os feromônios são ferramentas elegantes e seguras para o controle de insetos e é possível controlar suas populações através da manipulação da comunicação entre eles sem afetar adversamente outros organismos benéficos. Os feromônios podem estar envolvidos em atividades comportamentais diversas como a procura por alimento, a reprodução, o sinal de alerta na presença de predadores e como substâncias de defesa química. Centenas de feromônios e semioquímicos são conhecidos e úteis para monitorar a presença e abundância de insetos e para proteger as plantas e animais contra os insetos. No Brasil a quase totalidade dos produtos utilizados para este fim não são produzidos aqui. O avanço na agricultura não está sendo acompanhado pela oferta de insumos para o produtor agrícola. Com esta constatação trabalhamos no desenvolvimento de feromônios para controle de pragas, novos caminhos de síntese, formulação, imobilização e liberação controlada. O trabalho realizado na síntese e formulação dos feromônios de oviposição do *Culex quinquefasciatus*: (5*RS*,6*S*,*R*)-6-acetoxi-5 hexadecanolídeo por uma via semi-biotecnológica visando uma fonte natural do ácido (z)-5-hexadecenóico, no “scale up” de reações para a síntese do feromônio, sordidina, 2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano, o feromônio do moleque da bananeira *Cosmopolites sordidus*, síntese e formulação para os componentes do feromônio do *Metamasius hemipterus* os álcoois (±)-2-metil-4-octanol, (±)-2-metil-4-heptanol, (±)-4-metil-5-nonanol, (±)-5-nonanol com o uso de reação de Grignard, síntese do principal componente do feromônio sexual da mariposa *Tuta absoluta* o acetato de (3*E*,8*Z*,11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila com a tentativa de obtenção de intermediário importante de fonte natural e na preparação de liberadores eficientes para os feromônios. Foi explorada a alternativa semi-biotecnológica para a obtenção de materiais para a síntese do : (3*E*,8*Z*,11*Z*)-6-acetoxi-5 hexadecanolídeo e da sordidina, 2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano. Para a liberação controlada de feromônio trabalhamos o desenvolvimento e aplicação de biomaterial microporoso a quitosana e quitosana reticulada. O feromônio de oviposição do *Culex quinquefasciatus*: (5*RS*,6*S*,*R*)-6-acetoxi-5 hexadecanolídeo foi obtido com rendimento baixo, a sordidina, 2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano foi obtida em um bom rendimento com alteração na rota de obtenção de um intermediário facilitando e reduzindo o custo do produto. Os componentes do feromônio do *Metamasius hemipterus*, os álcoois (±)-2-metil-4-octanol, (±)-2-metil-4-heptanol, (±)-4-metil-5-nonanol, (±)-5-nonanol foram obtidos com o uso de reação de Grignard em alto rendimento. A síntese do acetato de (3*E*,8*Z*,11*Z*)-3,8,11 tetradecatrienila foi realizada por uma rota sintética convencional. O liberador obtido foi a quitosana sendo que a quitosana reticulada mostrou ser efetiva na liberação dos feromônios.

Palavras chaves: Ecologia Química. Controle de Pragas. Síntese Química.

ABSTRACT

The pheromones are elegant and safe tool for controlling insects and it is possible to control their populations through the manipulation of communication between them, without adversely affecting other beneficial organisms. Pheromones may be involved in various behavioral activities such as food foraging, reproduction, the warning signal in the presence of predators and as chemical defense substances. Hundreds of pheromones and semiochemicals are known and useful for monitoring the presence and abundance of insects and to protect plants against insects and animals. In Brazil, almost all of the products used for this purpose are not produced here. Progress in agriculture is not being accompanied by the provision of inputs to the farmer. With this finding work in the development of pheromones for pest control, new ways of synthesis, formulation, immobilization and controlled release. The work on the synthesis and formulation of pheromones oviposition *Culex quinquefasciatus*: (5RS, 6S, R)-6-acetoxy-5 hexadecanolídeo via a semi-biotechnological towards a natural source of the acid (Z)-5-hexadecenoic in "scale up" reactions for the synthesis of the pheromone, sordidina, 2,8-dioxy-1-ethyl-3,5,7-Trimethylbicyclo [3.2.1] octane, the pheromone of *Cosmopolites sordidus* in banana boy, synthesis and formulation for the components of the pheromone *Metamasius hemipterus* alcohols (±)-2-methyl-4-octanol, (±)-2-methyl-4-heptanol, (±)-4-methyl-5-nonanol, (±) - 5-nonanol with the use of a Grignard reaction, synthesis of the main component of the sex pheromone of the moth *Tuta absoluta* ethyl (3E, 8Z, 11Z) -3,8,11-tetradecatrienila. Was explored alternative semi-biotechnological to obtain materials for the synthesis of (3E, 8Z, 11Z)-6-acetoxy-5 hexadecanolídeo and sordidina, 2,8-dioxy-1-ethyl-3, 5,7 Trimethylbicyclo-[3.2.1] octane. For the controlled release of pheromone work the development and application of microporous biomaterial chitosan and crosslinked chitosan. The pheromone oviposition *Culex quinquefasciatus*: (5RS, 6S, R)-6-acetoxy-5 hexadecanolídeo was obtained in low yield, the sordidina, 2,8-dioxy-1-ethyl-3,5,7-Trimethylbicyclo [3.2 .1] octane was obtained in good yield with a change in route of obtaining an intermediary facilitating and reducing the product cost. The components of the pheromone *Metamasius hemipterus*, alcohols (±)-2-methyl-4-octanol, (±)-2-methyl-4-heptanol, (±)-4-methyl-5-nonanol, (±) - 5-nonanol were obtained using a Grignard reaction in high yield. Synthesis of ethyl (3E, 8Z, 11Z) -3,8,11 tetradecatrienila was performed by a conventional synthetic route. The releasing chitosan was obtained with the crosslinked chitosan was effective in the release of pheromones.

Keywords: Chemical Ecology. Pest Control. Synthetic Chemistry.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Figura 1 – Classificação dos Semioquímicos.....	22
Figura 2 – Esquema para aplicação comercial de feromônios.....	28
Figura 3 – Fluxogramas para registro de produtos agrotóxicos no Brasil.....	30
Figura 4 – Empresas responsáveis pela comercialização de feromônios.....	33

CAPITULO 1 – OBTENÇÃO DO FEROMÔNIO DE OVIPOSIÇÃO DO *Culex quinquefasciatus*: (5R,6S)-6-ACETOXI-5-HEXADECANOLÍDEO VIA SÍNTESE SEMI-BIOTECNOLÓGICA

Figura 1– (-)-(5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo, feromônio de oviposição de <i>C. quinquefasciatus</i>	45
Figura 2 – Exemplos descritos da síntese do (5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo.....	46
Figura 3 – Esquema sintético representando a síntese do ácido (Z)-5-hexadecenóico....	47
Figura 4 – Esquema de síntese do (-)-(5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo e seu enantiômero biologicamente inativo (+)-(5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo.....	48
Figura 5 – Retrossíntese (-)-(5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo.....	49
Figura 6 – Preparação vic-dióis, com utilização de reagentes alternativos ao OsO ₄	51
Figura 7 – 3 Rotas para preparação do 6-acetoxi-hexadecanolídeo.....	52
Figura 8 – Diidroxilação utilizando Permanganato de Potássio.....	53
Figura 9 – Diidroxilação de Olefinas mediada por NaIO ₄ /LiBr.....	53
Figura 10 – Diidroxilação de Olefinas Catalisada por RuO ₄	54
Figura 11 – Resultado das diidroxilações.....	54
Figura 12 – Metodologia de diidroxilação utilizando Permanganato de Potássio.....	55
Figura 13 – Resultados experimentais.....	55

CAPITULO 2 - “SCALE UP” DE REAÇÕES PARA A SÍNTESE DOS FEROMÔNIOS DO MOLEQUE DA BANANEIRA *COSMOPOLITES SORDIDUS* E SÍNTESE E FORMULAÇÃO PARA O FEROMÔNIO DE *METAMASIVUS HEMIPTERUS*

Figura 1 – <i>Metamasivus hemipterus</i> e efeitos de sua infestação em culturas agrícolas....	69
Figura 2 – Moléculas constituintes do feromônio do <i>M.hemipterus</i>	70
Figura 3 – <i>Cosmopolites sordidus</i> e seus efeitos em bananeiras.....	71
Figura 4 – Isômeros da sordidina (1 ^a ,1b,1c e 1d).....	71
Figura 5 – Esquema da Retrossíntese da sordidina.....	73
Figura 6 – Síntese dos isômeros da sordidina	73
Figura 7 – Obtenção do 4-metil-4-penten-2-ol.....	74
Figura 8 – Métodos utilizados para obtenção do 4-metil-4-penten-2-ol.....	75
Figura 9 – Obtenção da sordidina.....	75
Figura 10 – Comparação de preços.....	76
Figura 11 – Comparação de tempo de reação.....	77
Figura 12 – Escala máxima obtida.....	77
Figura 13 – Brometos de alquila e aldeídos utilizados nas sínteses.....	78

CAPITULO 3 – SÍNTESE DO ACETATO DE (3E,8Z,11Z)-3,8,11-TETRADECATRIENILA, O COMPONENTE PRINCIPAL DO FEROMÔNIO SEXUAL DA MARIPOSA *TUTA ABSOLUT*

Figura 1 – Traça-do-tomateiro <i>Tuta absoluta</i> . Tamanho ~ 10 mm. Foto: Esteban Saini.	91
Figura 2 – Obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3, 8,11-tetradecatrienila segundo Attigalle e colaboradores 1995 e 1996.....	94
Figura 3 – Obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila, segundo Kitching e Hungerford (1996).....	95
Figura 4 – Esquema 1 da obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila segundo Silva (2006).....	96
Figura 5 – Esquema 2 da obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila segundo Silva (2006).....	97
Figura 6 – Esquema da análise retrossíntese do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila	98

Figura 7 – Esquema da síntese semi-biotecnológica usando óleo de linhaça como material de partida.....	99
Figura 8 – Síntese convencional para formação do acetato de (Z,Z)-3,6-nonadienol.....	100
Figura 9 – Rota alternativa para a obtenção do composto 54.....	101
Figura 10 – Metodologia proposta por Oger et al., 2010.....	102
Figura 11 – Síntese convencional.....	103
Figura 12 – Triglicerídeo encontrado no óleo de Linhaça (Acido α -linolênico em vermelho).....	104
Figura 13 – Éster do acido α – linolênico.....	104
Figura 14 – Resultados.....	122
Figura 15 – Esquema da Síntese Pherobank.....	123

CAPITULO 4 – SISTEMA DE CONTROLE DE PRAGAS COM LIBERAÇÃO CONTROLADA DE COMPOSIÇÕES CONTENDO FEROMONIOS

Figura 1 – Fórmula estrutural quitosana.....	134
Figura 2 – Microscopia Eletrônica de Varredura das esferas de quitosana em diferentes tratamentos.....	147
Figura 3 – Análise térmica da esfera de quitosana simples.....	149
Figura 4 – Análise térmica da esfera de quitosana com glutaraldeído.....	149
Figura 5 – Análise térmica da esfera de quitosana com glutaraldeído + rincoforol.....	150

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 – Produtos comerciais, pragas-alvo, cultura, formulação, finalidade e empresas.	31
Tabela 2 – Listagem de feromônios em uso, nome comercial, nomenclatura química e função Orgânica.....	34
Tabela 3 – Relação de especiais, propósito de uso, região e quantidade de atraentes ano.	35

CAPITULO 3 – SÍNTESE DO ACETATO DE (3E,8Z,11Z)-3,8,11-TETRADECATRIENILA, O COMPONENTE PRINCIPAL DO FEROMÔNIO SEXUAL DA MARIPOSA *TUTA ABSOLUTA*

Tabela 1 – Condições reacionais para preparação do (tetraidropiran)but-3-ino.....	107
Tabela 2 – Condições reacionais para preparação do (tetraidropiran)nona-3,6-diin-1-ol.	107
Tabela 3 – Obtenção do (Z,Z)-1-(tetraidropiran-2-iloxi)-4,7-decadieno.....	109
Tabela 4 – Preparação do 1-iodonona-3,6-dieno.....	110
Tabela 5 – Preparação do (Z,Z)-3,6-nonadienol.....	111
Tabela 6 – Preparação do Tosilação do álcool 3,6-nonadienol.....	112
Tabela 7 – Preparação do nona-3,6-dien-1-ol (57).....	112
Tabela 8 – Preparação da iodonona-3,6-diino.....	113
Tabela 9 – Preparação do dodeca-1-en-6,9-diino.....	115
Tabela 10 – Solventes utilizados para preparação do dodeca-1-em-6,9-diino.....	115
Tabela 11 – Preparação 1 do dodeca-1-en-6,9-diino.....	116
Tabela 12 – Preparação 2 do dodeca-1-en-6,9-diino.....	116
Tabela 13 – Preparação do acetato de 3-butenila.....	117
Tabela 14 – Preparação do 5-bromopent-1-eno.....	118
Tabela 15 – Preparação do hept-1-en-5-ino.....	119
Tabela 16 – Preparação de undeca-1-em-6,9-diino.....	119

Tabela 17 – Preparação de (Z,Z)undeca-1,6,9-trieno.....	120
Tabela 18 – Preparação do acetato de (E)-tetradeca-3-em-9,12-diinila.....	120
Tabela 19 – Esquema de preços do feromônio por diferentes vias.....	123

CAPITULO 4 - SISTEMA DE CONTROLE DE PRAGAS COM LIBERAÇÃO CONTROLADA DE COMPOSIÇÕES CONTENDO FEROMONIO

Tabela 1 – Liberadores utilizados para feromônios (HEUSKIN et al., 2011).....	132
Tabela 2 – Principais testes e equipamentos correlatos para a caracterização da quitosana	137
Tabela 3 – Propriedades físicas das esferas.....	143
Tabela 4 – Determinação da densidade da esfera (amostra com 100 esferas).....	144
Tabela 5 – Determinação do raio médio das esferas.....	144
Tabela 6 – Porosidade.....	144
Tabela 7 – Perda por dessecação ou teor de umidade.....	145
Tabela 8 – Viscosidade-Viscosímetro 300;Constante=0,2646 cSt/s.....	145
Tabela 9 – Comparação entre os parâmetros nas várias formulações.....	145
Tabela 10 – Determinações físicasnas esferas de quitosana em diferentes tratamentos.....	146

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	14
REFERENCIAS.....	17
1 REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	18
1.1 Agronegócio Brasileiro.....	19
1.2 Ecologia Química.....	21
1.3 Aspectos Gerais – O Que São Feromonios?.....	22
1.4 Utilização para Combate de Pragas.....	24
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS.....	39
CAPITULO 1- OBTENÇÃO DO FEROMÔNIO DE OVIPOSIÇÃO DO <i>Culex quinquefasciatus</i>: (5R,S,6S,R)-6-ACETOXI-5-HEXADECANOLÍDEO VIA SINTESE SEMI-BIOTECNOLÓGICA.....	42
1.1 Introdução.....	43
1.2 Objetivos.....	49
1.2.1 Objetivo Geral.....	49
1.2.2 Objetivo Especifico.....	49
1.3 Metodologia.....	49
1.4 Resultados e Discussão.....	52
1.4.1 Diidroxilação em (Z)-9-Octadecenoato de metila.....	52
1.4.1.1 Diidroxilação utilizando Permanganato de Potássio.....	53
1.4.2 Diidroxilação de Olefinas mediada por NaIO ₄ /LiBr.....	53
1.4.3 Diidroxilação de Olefinas Catalisada por RuO ₄	54
1.4.4 Diidroxilação do glicerídeo do ácido (Z)-5-hexadecenóico utilizando Permanganato de Potássio.....	55

1.5	Resultado Experimentais.....	56
1.6	Experimental.....	56
1.6.1	Diidroxilação para Formação do Glicerídeo do Ácido (5 <i>rs</i> ,6 <i>sr</i>)-5,6-Diidroxihexadecanóico.....	57
1.6.2	Rota A Preparação do (5 <i>rs</i> ,6 <i>sr</i>)-5,6-Diidroxi-Hexadecanóico na Forma do Metil-Ester para Formação do 6-Acetoxi-Hexadecanolídeo.....	58
1.6.3	Rota B 3- Preparação do (5 <i>rs</i> ,6 <i>sr</i>)-5,6-Diidroxi-Hexadecanóico na Forma de Glicerídeo.....	59
1.6.4	Rota C-Preparação do (5 <i>rs</i> ,6 <i>sr</i>)-5,6-Diidroxi-Hexadecanóico n Forma do Acido Hexadecenoico.....	60
1.7	Considerações Finais.....	61
1.8	Prospecção.....	62
1.8.1	Síntese Heterologa.....	62
	CONCLUSÃO.....	63
	REFERENCIAS.....	64
 CAPITULO 2 – “SCALE UP” DE REAÇÕES PARA A SÍNTESE DOS FEROMÔNIOS DO MOLEQUE DA BANANEIRA <i>COSMOPOLITES SORDIDUS</i> E SÍNTESE E FORMULAÇÃO PARA O FEROMÔNIO DE <i>METAMASIVUS HEMIPTERUS</i>.....		
2.1	Introdução.....	68
2.2	Pragas Alvo.....	69
2.2.1	<i>Metamasivus hemipterus</i>	69
2.2.2	<i>Cosmopolites sordidus</i>	70
2.3	Objetivos.....	72
2.3.1	Objetivo Geral.....	72
2.3.2	Objetivos Específicos.....	72
2.4	Resultados e Discussão.....	72
2.5	Experimental.....	78
2.5.1	Reagentes, Solventes, Gases e Vidrarias.....	78

2.5.2	Preparação do 2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano (1a, 1b, 1c, 1d).	79
2.5.3	Síntese dos Constituintes Feromonais do <i>Metamasius Hemipterus</i>	84
	CONCLUSÕES	86
	REFERÊNCIAS	87
	CAPITULO 3 - SINTESE DO ACETATO DE (3E,8Z,11Z)-3,8,11-TETRADECATRIENILA, O COMPONENTE PRINCIPAL DO FEROMÔNIO SEXUAL DA MARIPOSA TUTA ABSOLUTA	90
3.1	Introdução	91
3.2	Objetivos	97
3.2.1	Objetivo Geral.....	97
3.2.2	Objetivos Específicos.....	97
3.3	Metodologia	98
3.4	Resultados e Discussão	103
3.4.1	Via (A)- Síntese Semi-Biotecnológica.....	103
3.4.2	Via B-Obtenção do (Z,Z)-3,6-Nonadien-1-Ol por Arraste de Vapor.....	106
3.4.3	Via C - Propostas de Síntese Química do Acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-Tetradecatrienila.....	106
3.5	Considerações Finais	122
	CONCLUSÃO	124
	REFERENCIAS	125
	CAPITULO 4 – SISTEMA DE CONTROLE DE PRAGAS COM LIBERAÇÃO CONTROLADA DE COMPOSIÇÕES CONTENDO FEROMONIOS	129
4.1	Introdução	130
4.2	A Quitosana	134
4.3	Objetivos	136
4.3.1	Objetivo Geral.....	136
4.3.2	Objetivos Específicos.....	136

4.4 Metodologia.....	136
4.4.1 Caracterização da quitosana.....	137
4.4.2 Preparação dos liberadores.....	141
4.4.3 Testes de campo.....	141
4.4.4 Local dos experimentos.....	141
4.4.5 Instalação das armadilhas.....	142
4.5 Resultados e Discussões.....	142
4.5.1 Procedimento de formação das esferas de quitosana.....	142
4.5.2 Determinação das propriedades físicas das esferas.....	142
4.6 Experimental.....	150
4.6.1 Formulação em quitosana.....	150
4.6.2 Experimental campo.....	152
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	153
REFERENCIAS.....	154
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	156

INTRODUÇÃO GERAL

A busca pelo entendimento dos mecanismos envolvidos na comunicação química entre os mais variados tipos de organismos, bem como a identificação das substâncias que atuam neste sentido, tornam as pesquisas no campo da Ecologia Química uma experiência fascinante. Não bastasse o apelo científico existente, as aplicações e benefícios que estas descobertas trazem à sociedade são notórias, razão pela qual tem se observado um aumento significativo, em todo o mundo, no número de pesquisadores e estudantes vinculados a esta área de atuação (PILLI; ZARBIN, 2000).

Desde que o homem trocou o extrativismo pelo cultivo de plantas com a finalidade de produzir alimentos em maior escala, ele trava uma guerra constante com os insetos. Uma espécie de inseto torna-se praga agrícola porque sua população cresce sem limites. Este crescimento desenfreado, ou sem fatores limitantes, é basicamente decorrente de quatro componentes: oferta de alimento, alta taxa reprodutiva, hábito alimentar polífago e ausência de inimigos naturais. (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009)

O Brasil é o quinto maior país em área geográfica e o maior em termos de terra arável. Apesar disto apenas uma fração dessas terras é utilizada. O país possui uma alta diversidade de plantações e de produtos agropecuários. Isto coloca o Brasil numa posição única para liderar o setor agropecuário global, em longo e médio prazos. Com uma fonte abundante de recursos naturais - água, terra e clima favoráveis - tem assim a oportunidade de ser a maior potência do agronegócio mundial, atendendo ao mercado mundial e também atendendo à sua própria população (GARTLAN; ABREU, 2010).

No início, quando os inseticidas sintéticos, altamente eficientes, foram introduzidos no final dos anos 40 e 50, houve diminuição da população de insetos em um nível sem precedentes, de forma fácil, segura e barata. Os entomologistas agrícolas satisfeitos com o poder e possibilidades dos inseticidas passaram a focar seus trabalhos de pesquisa, de forma concentrada, no desenvolvimento e uso do controle químico (SMITH; KENNEDY, 2002). Apesar dos primeiros receios com os riscos associados com o controle de pragas próximo de ser exclusivo com os inseticidas, o uso profilático dos inseticidas cresceu até que um conjunto de problemas sérios tornou-se aparente. Dentre os problemas estavam o aparecimento e crescimento de pragas secundárias e a ressurgência de populações da peste principal, em função da destruição dos artrópodes benéficos. Esta falha no controle foi seguida do

desenvolvimento de resistência aos inseticidas, contaminação dos aplicadores de pesticidas, dos consumidores e da vida silvestre e uma simplificação do componente biótico do agroecossistema (SMITH, 1970)

Durante as décadas de 1970 e 1980, os efeitos ambientais e sociais dos pesticidas sintéticos levaram ao desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) nos EEUU e Ásia. Desde então, várias estratégias de MIP são empregadas mundialmente com sucesso (HEUSKIN et al., 2011).

A idéia de usar uma substância química, modificadora de comportamento, de ação espécie-específica, para o controle de um inseto nocivo à agricultura, à horticultura, à floresta, aos produtos armazenados e aos insetos vetores de doenças tem sido a força motriz, por mais de cinco décadas, da pesquisa com feromônios. Centenas de feromônios e semioquímicos foram descobertos e são úteis para monitorar a presença e abundância de insetos e para proteger as plantas e animais contra os insetos (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010).

Substâncias químicas como transportadoras de informações entre organismos de uma mesma espécie ou até mesmo entre espécies diferentes são amplamente difundidas e podem ser encontradas em vertebrados, invertebrados, plantas e microrganismos. Estes mecanismos de comunicação são mediados por substâncias denominadas semioquímicos (do Grego “simeon”, sinal), que podem estar envolvidos em atividades comportamentais diversas como a procura por alimento, a reprodução, o sinal de alerta na presença de predadores e como substâncias de defesa química por exemplo (MORI, 1998).

"There are many reasons for using pheromones. One is that they are elegant."
(ARN, 1990).

Os feromônios são, de fato, ferramentas elegantes e seguras para o controle de insetos. É possível controlar populações de insetos através da manipulação da comunicação sexual, sem afetar adversamente outros organismos benéficos (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010).

O trabalho desenvolvido na presente tese visou a aplicação do conhecimento científico para a solução de problemas práticos, no contexto de pesquisa e desenvolvimento e inovação (P&D&I):

- Novas metodologias de ensaios para a identificação e a quantificação de semioquímicos;
- Otimização e desenvolvimento de novas metodologias de síntese para obtenção de feromônios, em termos semi-biotecnológicos e convencionais.
- Desenvolvimento de novos dispensadores para a liberação controlada de feromônios;

A idéia da tese veio da constatação que a quase totalidade de produtos utilizados no Brasil não são produzidos no Brasil, abrindo assim oportunidades de nacionalização da produção com a repassagem da tecnologia de produção e formulação de feromônios, diminuindo assim os custos para os agricultores.

A tese encontra-se dividida em 4 capítulos. Foi feita uma revisão de literatura e abordados fatos econômicos-sociais de relevância na área do Agronegócios, com análise das principais abordagens no controle de pragas utilizando semioquímicos. Os capítulos são divididos:

- ✓ **Capítulo 1** – Obtenção do feromônio de oviposição do *Culex quinquefasciatus*: (5*R*,*S*,6*S*,*R*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo via síntese semi-biotecnológica.
- ✓ **Capítulo 2** – “SCALE UP” de reações para a síntese dos feromônios do moleque da bananeira *Cosmopolites sordidus* e síntese e formulação para o feromônio de *Metamasius hemipterus*.
- ✓ **Capítulo 3** – Síntese do acetato de (3*E*,8*Z*,11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila, o componente principal do feromônio sexual da mariposa *Tuta absoluta*.
- ✓ **Capítulo 4** – Sistema de controle de pragas com liberação controlada de composições contendo feromônios.

REFERÊNCIAS

- ARN, H. Pheromones: prophecies, economics, and the ground swell, In: RIDGWAY, R. L.; SILVERSTEIN, R. M.; INSCOE M, N (Ed.). **Behavior-modifying chemicals for insect management**: applications of pheromones and other attractants. New York: M. Dekker, 1990. p. 717-722.
- GARTLAN, K.; ABREU K, D. **The global power of Brazilian agribusiness**: a report from the Economist Intelligence Unit., London, 2010.
- HEUSKIN, S. et al. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.**, v. 15, n. 3, p. 459-470, 2011. ISSN 1370-6233.
- MORI, K. Semiochemicals: synthesis, stereochemistry, and bioactivity. **Eur. J. Org. Chem.**, p. 1479-1489, 1998. ISSN 2434-2444.
- PILLI, R. A.; ZARBIN, P. H. G. Editorial. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 11, n. 6, p. 551-639, 2000. ISSN 0103-5053.
- SMITH, E. H.; KENNEDY, G. G. History of pesticides. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of pest management**. Boca Raton: CRC, 2002. p. 376-380.
- SMITH, R. F. Pesticides: Their use and limitations in pest management. In: RABB, R. L.; GUTHRIE, F. E. (Ed.). **Concepts of pest management**. Raleigh, 1970. p. 103-118.
- WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 36, p. 80-100, 2010. ISSN 0098-0331.
- ZARBIN P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009. ISSN 0100-4042.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Agronegócio Brasileiro

A agricultura brasileira em seus dois grandes segmentos, um de desempenho econômico reconhecido (Agronegócio) e outro de grande importância social, tem desempenhado papéis importantes no abastecimento do mercado interno de alimentos e matérias-primas, na geração de riqueza, no equilíbrio das contas externas, na geração de emprego e renda e na estabilização de fluxos migratórios, entre outros de natureza social e econômica relevante (Agricultura familiar) (MPOG - 4/9/2007).

O Brasil, por sua vasta extensão territorial e seu clima tropical, sempre se caracterizou por uma grande ênfase econômica no agronegócio. Podemos associar vários momentos econômicos brasileiros com ciclos de cultura agrícola, iniciando com o plantio de cana-de-açúcar, passando pelo ciclo da borracha, a elevada dependência do café e culminando na importância das *commodities* agrícolas como a soja e o milho nos dias atuais. Nos últimos vinte anos, as exportações do agronegócio responderam por cerca de 40% do total exportado pelo país. Em 2011 o agronegócio apresentou um saldo comercial de US\$ 77,5 bi contra um saldo total de US\$ 29,8 bi do país, sendo primordial para a solvência externa do Brasil (Figura 1). Números de 2011 indicam que o agronegócio representava 22,74% do PIB nacional e empregava 37% da população ativa do país. (PIB..., 2012).

As exportações do agronegócio atingem 211 países e possuem uma elevada importância para a dinâmica futura de crescimento do país. A forte, vide Figuras 1, 2, 3, elevação de preço apresentada pelas *commodities* agrícolas nos últimos cinco anos (Figura 2) sinalizam o patamar de importância que os grandes produtores agrícolas possuem na dinâmica econômica global. O forte crescimento chinês aliado à emergência da Índia, países que concentram cerca de 40% da população mundial e no qual a ingestão de calorias ainda se encontra em nível baixo, mostram que a corrida para as fontes de oferta de alimentos ainda é latente e o Brasil tem muito a se beneficiar disso.

A capacidade demonstrada pelo aparato de P&D&I (Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação) do país, formado pelo conjunto de instituições de pesquisa e de assistência técnica, federais, estaduais e privadas, de produzir e incorporar conhecimento científico e tecnológico para atender demandas, solucionar problemas e abrir oportunidades, tem sido parte importante e necessária para alcançar esse desempenho. O agronegócio representa, no Brasil, o segmento

econômico que tem a maior taxa de adoção de tecnologia nacional e se distingue pela competitividade em nível mundial (MPOG). A história de sucesso que assistimos hoje reflete o processo de amadurecimento e de evolução vividos por este setor nos últimos anos e a crescente demanda por alimentos e por fontes limpas e renováveis de energia. A ampliação das conquistas do agronegócio brasileiro passa também pelo incremento da base de conhecimentos científicos e tecnológicos, da geração de inovações e do fomento à propriedade intelectual e à biotecnologia no agronegócio.

Por outro lado, os avanços no controle de pragas e doenças devem estar interligados ao manejo e uso sustentável dos recursos naturais e ambientais e necessitam estar aliados a avanços na produtividade e qualidade de produtos, insumos e recursos, na agregação de valor, em sistemas de apoio à defesa sanitária, na garantia da segurança ambiental e na inocuidade de alimentos. Isso exige a incorporação contínua de inovações, na forma de conhecimentos científicos e tecnológicos.

Segundo estudo “Projeções do Agronegócio - 2008/09 a 2018/19”, elaborado pela Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, (BRASIL, 2009) o crescimento da produção agrícola deve se dar com base na produtividade, impulsionado pelo uso de tecnologias e manejos recomendados pela pesquisa. As previsões realizadas até 2018/19 são de que a área de soja deve crescer 5,2 milhões de hectares em relação a 2007/08; a área de milho, 1,75 milhão de hectares; a área de cana deve crescer 6 milhões de hectares; as áreas de arroz e trigo devem aumentar e o café deve sofrer redução de área. No total das lavouras analisadas, o Brasil deverá ter um acréscimo de área da ordem de 15,5 milhões de hectares nos próximos anos.

O crescimento na produção de grãos nos últimos 20 anos foi resultado de altos níveis de produtividade. O volume de grãos foi aumentado 2,5 vezes no período, enquanto que a área cresceu menos de 30%, o que resultou numa duplicação da produtividade nos últimos 20 anos.

Nos processos de P&D&I, a questão ambiental passa também a preocupar e produtos “ecologicamente corretos” são cada vez mais reconhecidos por consumidores exigentes e dispostos a pagar preços diferenciados (NEVES; LAZZARINI; MACHADO FILHO, 1997).

A demanda social pelo meio ambiente e por alimentos livres de agrotóxicos tem imposto à ciência um novo paradigma de exploração dos recursos naturais à disposição da agricultura. Neste sentido, os semioquímicos, que são substâncias químicas que regulam a interação entre os organismos, podem oferecer excelentes oportunidades para o desenvolvimento de novas tecnologias, procedendo à descoberta de novas moléculas, as quais poderão originar produtos mais específicos e menos prejudiciais ao meio-ambiente e à vida. As informações disponíveis mostram que os produtos de origem biológica, por agirem somente sobre as pragas-alvo, favorecem o controle biológico natural contribuindo para a sustentabilidade do agroecossistema. Em função destas peculiaridades, essa área de estudo vem merecendo cada vez maior atenção por parte da comunidade científica como estratégia de controle das principais pragas da agricultura.

A presente revisão visa relatar o desenvolvimento das principais abordagens no controle de pragas utilizando semioquímicos como alternativa no controle de pragas.

1.2 Ecologia Química

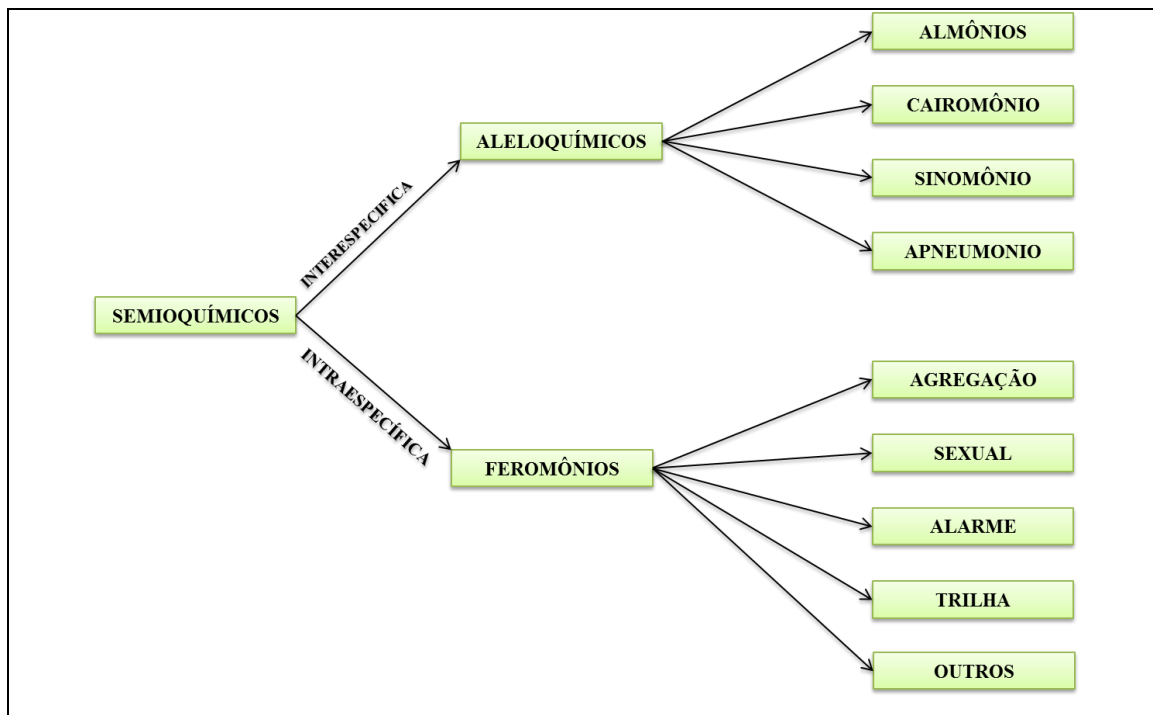
Ecologia é a ciência que estuda interações entre os organismos e entre organismos e seu ambiente (STILING, 1996). O estudo das interações entre organismos e seu meio ambiente mediadas por substâncias químicas é chamado de Ecologia Química. A Ecologia Química se baseia na busca pelo entendimento dos mecanismos envolvidos na comunicação química entre os mais variados tipos de organismos, bem como a identificação das substâncias que atuam neste sentido (PILLI; ZARBIN, 2000).

Até onde se sabe, os insetos são os seres vivos que mais utilizam os odores para desempenhar suas atividades durante sua existência (TEGONI; CAMPANACCI; CAMBILAU, 2004). Desse modo, o olfato é fundamental, bem como o são os diversos odores presentes na localização de presas, na defesa, na agressividade, na seleção de plantas hospedeiras, na escolha de locais para postura, na corte e no acasalamento, na organização das atividades sociais e em diversos outros comportamentos (VILELA; DELLA LÚCIA, 2001).

As substâncias químicas envolvidas na comunicação entre os organismos são denominadas semioquímicos, de *semeion* (em Grego) ou sinais que podem ser definidos como produtos químicos liberados por organismos vivos (plantas, insetos...) que induzem uma mudança comportamental ou fisiológica em outros indivíduos. Estes compostos podem ser

classificados em dois grupos, considerando seu modo de ação, caso sejam mediadores intraespecíficos (feromônios) ou interespecíficos (aleloquímicos). Os aleloquímicos são utilizados para a comunicação interespecífica e são classificados em quatro grupos: alomônios (favorecem apenas o indivíduo emissor do sinal químico), cairomônios (vantagens para o organismo receptor da mensagem), sinomônios (beneficiam tanto a espécie emissora quanto a receptora do sinal químico) e apneumônios (são substâncias químicas liberadas por um hospedeiro não vivo que atraem parasitoides) (Figura 1).

Figura 1 – Classificação dos semioquímicos.



Fonte: Autor, 2012.

No Brasil, os estudos com feromônios intensificaram-se a partir de 1985, na Universidade Federal de Viçosa e, desde então, as possibilidades de seu emprego vêm crescendo, principalmente para insetos de difícil controle. No final de 1997, o registro de feromônios para uso na agricultura tornou-se viável no Brasil e as exigências para o registro, que eram as mesmas para os agrotóxicos convencionais, foram adequadas à realidade dos feromônios (PILLI; ZARBIN, 2000).

1.3 Aspectos Gerais – O Que São Feromonios?

O termo feromônio (*pherein* = transferir, *hormon* = excitar) foi criado em 1959 e definido como um sinal químico de ação intraespecífica, que pode atuar de forma prolongada

na fisiologia e desenvolvimento de insetos, neste caso, denominados “preparadores”, ou provocar uma ação imediata no comportamento dos indivíduos, apresentando efeito tipo “desencadeador”. Esses feromônios podem agir como atraentes sexuais, marcadores de trilhas, propiciar comportamento de agregação, alarme, dispersão, entre outros (FERREIRA; CORRÊA; VIEIRA, 2001) (Figura 1).

Do ponto de vista de um entomologista, os feromônios podem ser separados em diferentes categorias (Figura 2):

- ✓ **Feromônio Sexual:** são substâncias liberadas pela fêmea ou pelo macho para atrair o indivíduo de sexo oposto para a cópula e assim preservar a espécie, através da procriação. Insetos machos (por exemplo, mariposas) são capazes de detectar odores específicos a uma distância de até vários quilômetros.
- ✓ **Feromônio de Agregação:** são substâncias liberadas pela fêmea ou pelo macho da espécie para atrair um elevado número de indivíduos de ambos os sexos, por exemplo, para uma fonte de alimento. São emitidos principalmente por Coleópteros.
- ✓ **Feromônio de Alarme:** são substâncias liberadas principalmente por insetos sociais, tais como formigas, abelhas, cupins, marimbondos etc., servindo para avisar outros membros da colônia que um inimigo pode estar se aproximando. Geralmente, o comportamento de resposta resulta em dispersão dos congêneres. Estes feromônios têm grande importância em MIP (VERHEGGEN; HAUBRUG; MESCHER, 2010).
- ✓ **Feromônio de Trilha:** é uma mistura de substâncias depositada sobre uma superfície por um primeiro indivíduo e, detectada por outros indivíduos da mesma espécie. Estão presentes em colônias de insetos sociais para indicar fonte de alimento. Estão presentes em insetos que caminham, como formigas.
- ✓ **Feromônios Marcadores de Hospedeiros:** reduzem a competição entre membros de uma mesma espécie, como observado nos parasitóides que marcam um hospedeiro onde ovos foram depositados.

- ✓ **Feromônios de Oviposição:** Os feromônios de oviposição demarcam o local onde os ovos foram depositados e também são utilizados pelas fêmeas para impedir a postura de outras fêmeas, diminuindo a competição entre larvas por um recurso limitado

Do ponto de vista químico, feromônios não são nada mais do que produtos químicos produzidos por insetos (ou outros animais) servindo para um propósito especial. A maioria dos feromônios identificados são cadeias longas de hidrocarbonetos variando de 10 a 24 átomos de carbono. Um número par é a regra geral. Eles podem ser compostos saturados ou podem ter até três ligações duplas. Ligações triplas são exceção. Em geral, a cadeia do hidrocarboneto é não ramificada, mas feromônios ramificados também podem ser encontrados. Álcoois, aldeídos e acetatos são muito comuns entre as feromônios, mas outros grupos funcionais (cetonas, acetais e epóxidos, etc) também são possíveis.

Para agricultores e engenheiros agrônomos, os feromônios são utilizados para o manejo de insetos-pragas, no monitoramento com armadilhas ou no controle, através das técnicas de coleta massal, atrai-e-mata ou para confusão sexual.

1.4 Utilização para Combate de Pragas

Os feromônios são ferramentas elegantes e seguras para o controle de insetos. É possível controlar populações de insetos através da manipulação da comunicação sexual, sem afetar adversamente outros organismos benéficos (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010). Os três principais elementos responsáveis pelo fascínio e aplicabilidade em manejo de insetos são: 1) são espécie-específicos, 2) são ativos em pequenas quantidades, e 3) a grande maioria é atóxica para vários animais (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010).

A eficiência dos semioquímicos na comunicação química depende de várias propriedades físicas, incluindo sua natureza química, volatilidade e solubilidade e o tempo de vida das moléculas no ambiente.

Em qualquer cultura, o aparecimento de pragas afeta a produção na sua quantidade e qualidade do produto, comprometendo o crescimento agrícola. O controle de pragas pelo meio químico tradicional é oneroso além de causar consideráveis prejuízos sócio-ambientais. O uso de novas tecnologias desenvolvidas nas universidades se apresenta como uma alternativa para o controle das pragas sem risco ambiental e de fácil acesso a todos.

Os feromônios podem ser inseridos tanto no contexto de controle direto (técnica de atrai-mata) quanto do monitoramento para auxiliar na tomada de decisão quanto à necessidade de aplicação de inseticida e volume a ser aplicado.

- ✓ **Monitoramento:** o monitoramento de pragas é empregado para detectar a presença ou a ausência de uma espécie com o objetivo de medir o aumento ou a diminuição da população entre gerações, e como tentativa de medir a população em relação ao dano potencial, o que contribui para determinar a época de aplicação de medidas de controle na cultura;
- ✓ **Coleta Massal:** na coleta massal (ou eliminação de insetos), o feromônio é usado na captura de insetos por meio de um sistema de armadilhas, capaz de remover um número significativo de indivíduos, reduzindo a população a níveis economicamente aceitáveis;
- ✓ **Atrai-e-Mata:** no atrai-e-mata o feromônio é empregado juntamente a um inseticida. O feromônio faz a atração da praga de forma específica, aumentando a chance de contato do inseto ao inseticida, o que aumenta seu potencial de controle. Além disto, a aplicação localizada impede que o inseticida químico atinja o ambiente e o produto a ser colhido;
- ✓ **Confusão Sexual:** assim como a coleta massal, este uso do feromônio é um método de controle. O conceito da confusão sexual, confundimento ou ainda interrupção de acasalamento, baseia-se na interferência ou impedimento da transmissão de sinais entre os parceiros sexuais. Isto tem sido obtido com a liberação de uma quantidade maior de feromônio sintético na área em que se deseja o controle, para diminuir ou impedir os insetos de localizar seu respectivo parceiro e, dessa forma, reduzir o acasalamento e, conseqüentemente, sua nova geração.;
- ✓ **“Push-Pull”:** a estratégia do “push-pull” também conhecida como direcionamento por estímulo-inibição é a mais nova estratégia descrita como prática de MIP. A estratégia de “push-pull” consiste na combinação de estímulos de repelência e atração modificando o comportamento dos insetos pragas ou de seus inimigos naturais. Os insetos são inibidos ou repelidos das plantas (estratégia push), simultaneamente são

atraídos por outro chamariz (estratégia “pull”) e concentrados em outra área onde são coletados ou eliminados de maneira controlada. Esta técnica requer um maior conhecimento da interação entre os hospedeiros, inimigos naturais e co-específicos.

Os insetos usam os feromônios sexuais para comunicar para a cópula. A saturação da cultura com o feromônio sintético pode quebrar a comunicação química e assim impedir o acasalamento. Assim a técnica de impedir o acasalamento, tornou-se a aplicação mais comumente utilizada dos semioquímicos para o controle de populações de insetos (BAKER; HEATH 2004; WITZGALL et al., 2008), diferentemente da coleta massal, onde, para ser efetivo, o feromônio natural não é utilizado para impedir o acasalamento. Uma mistura de feromônios, moléculas atrativas e não-atrativas, são usadas uma vez que as misturas podem resultar na redução de custos (BENGTSSON et al., 1994; CORK et al., 1996; STELINSKI; MILLER; ROGERS, 2008). Sinais negativos incluindo os feromônios de antiagregação têm sido combinados com atraentes nas técnicas de push-pull (BORDEN 1997; SCHLYTER; BIRGERSSON 1999; COOK; MILLER; ROGERS, 2007).

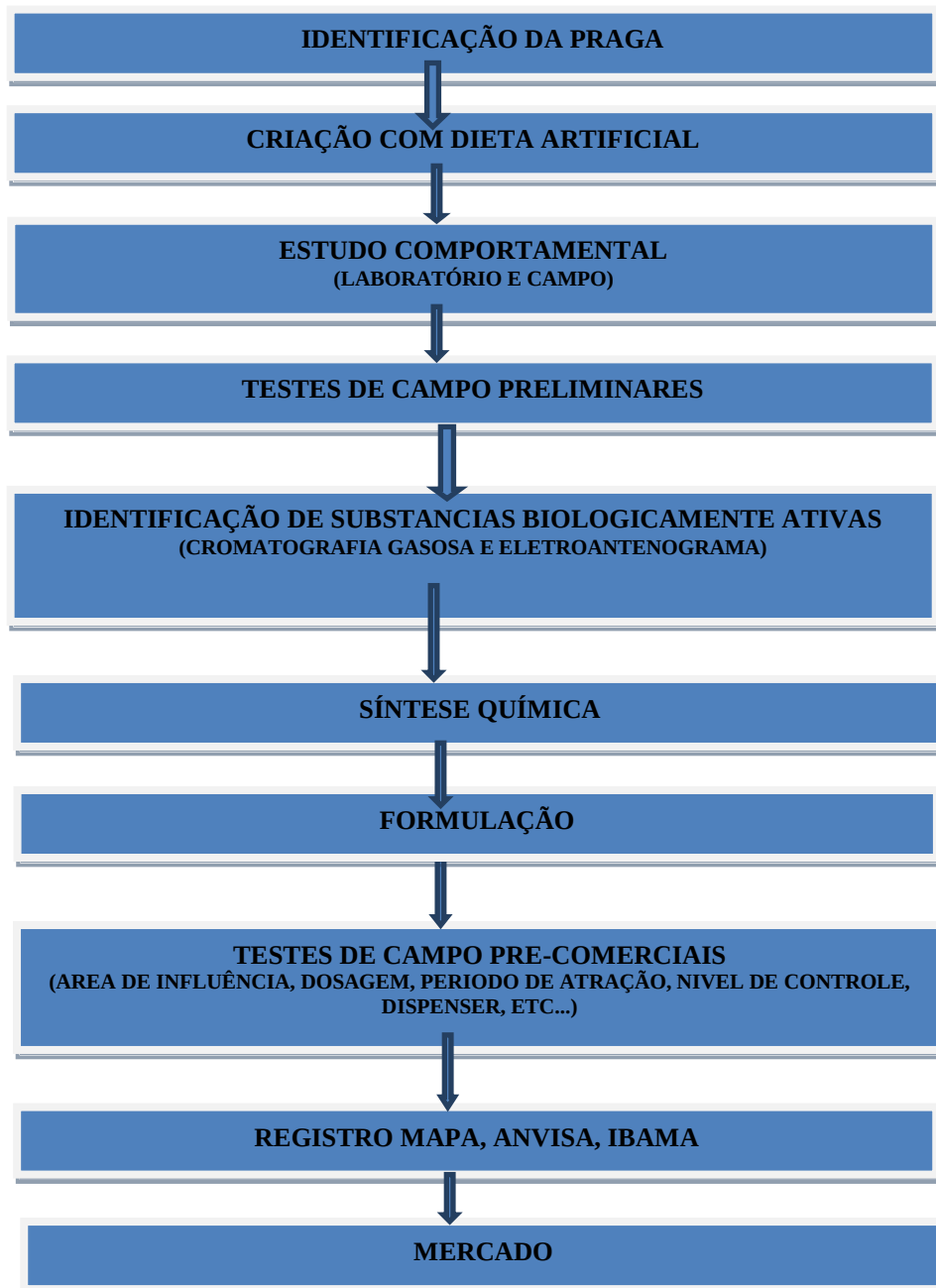
O uso comercial ou em larga escala da técnica de ruptura do acasalamento dos insetos tornou-se possível somente após a realização de síntese em escala comercial, no final dos anos de 1980. Como um guia geral, a aplicação de 10 g e 100 g por ha por estação do ano é necessária para se alcançar a ruptura do acasalamento, a concentração aérea resultante é de no mínimo de 1 ng/m^3 (BENGTSSON et al., 1994; CORK et al., 2008).

Nas abordagens de uso de feromônios existe a necessidade de dispositivos que os liberem por longos períodos (STIPANOVIC et al., 2004; ZADA; FALACH; BYERS, 2009), pois diferente dos inseticidas, projetados para matar por contato ou por ingestão por uma única aplicação, sistemas de liberação de feromônios devem permitir uma liberação constante e adequada durante toda a estação de crescimento, enquanto insetos adultos estão presentes (TOMASZEWSKA et al., 2005). Assim, as condições ideais para a liberação são:

- 1) a cinética de emissão deve ser de ordem zero, ou seja, a velocidade da liberação não deve variar em função da concentração de feromônio; e deve ser próxima da velocidade ótima que depende das condições do campo, da intensidade da praga, e do tipo de tratamento que está sendo empregado;

- 2) O liberador deve ser adaptável de forma que atenda às necessidades do feromônio em relação ao tipo de tratamento e condições climáticas (deve ser resistente à oxidação e raios UV) (ZADA; FALACH; BYERS, 2009);
- 3) A liberação dos componentes de um feromônio deve ser exata e proporcional, isto porque grande parte dos feromônios são misturas complexas de compostos, que freqüentemente tem diferentes volatilidades, e devem ser emitidos em proporções adequadas durante o tratamento;
- 4) O liberador de feromônio deve ser biodegradável (MUÑOZ-PALLARES; CORMA; PRIMO-YUFERA, 2001; STIPANOVIC et al., 2004).

Figura 2 – Esquema para aplicação comercial de feromônios.



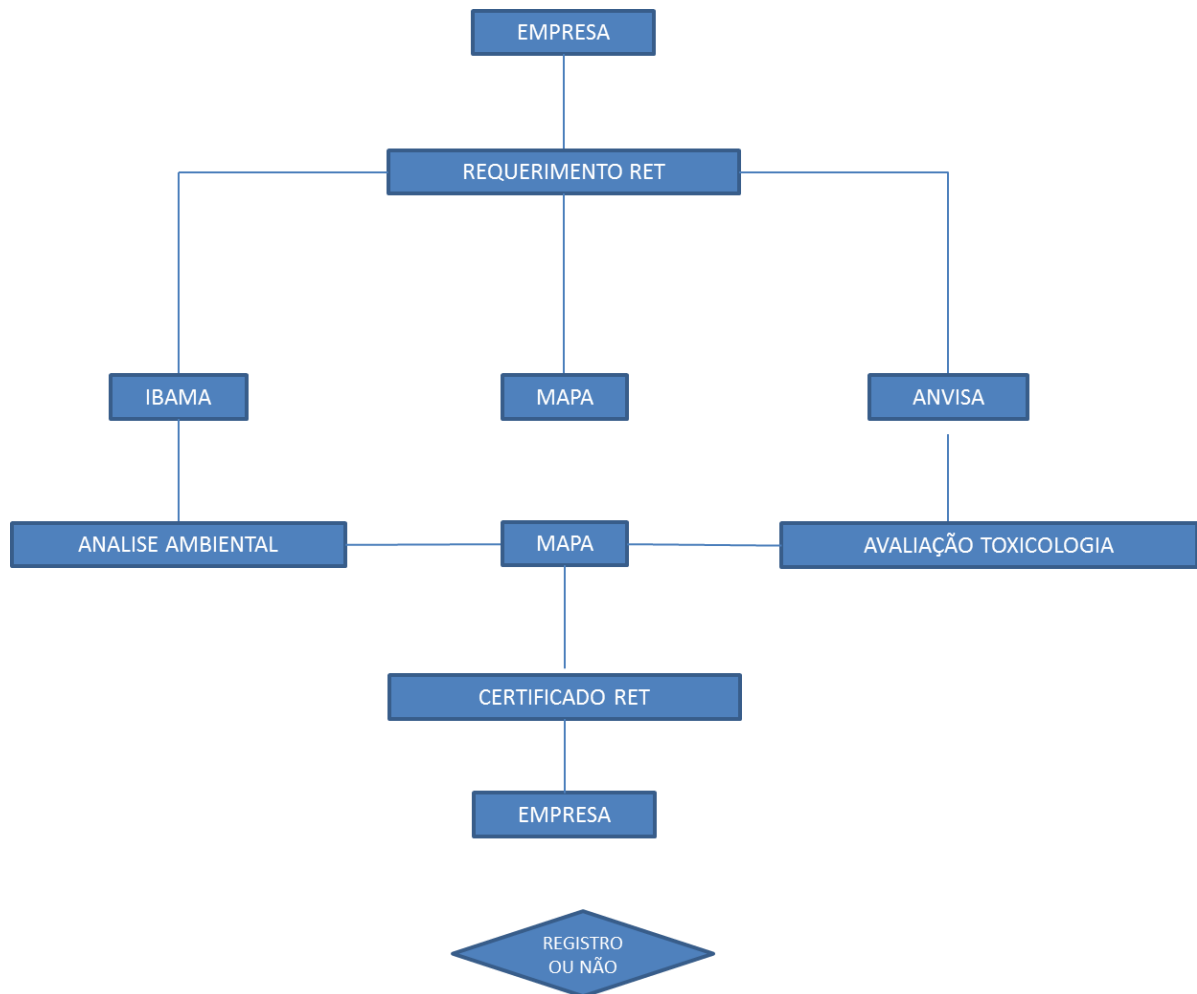
Fonte: Autor, 2012.

Conforme visto na figura 6, a aplicação comercial de um feromônio exige uma série de procedimentos, que serão detalhados a seguir:

- ✓ **Identificação da Praga:** a primeira etapa é a correta identificação da praga.

- ✓ **Criação com Dieta Artificial:** o próximo passo consiste no desenvolvimento de uma dieta artificial que permita que a praga seja continuamente mantida no laboratório.
- ✓ **Estudo Comportamental (Laboratório e Campo):** estágios de desenvolvimento da praga, o seu número de ínstar, sobrevivência e duração do ovo, larva e pupa, bem como a longevidade de adultos e sua postura de ovos, tempo de vida, fertilidade, além de caracterização do dimorfismo sexual de larvas, pupas e adultos.
- ✓ **Testes de Campo Preliminares:** investigação dos fatores que afetam as populações da praga em condições de campo.
- ✓ **Identificação de Substâncias Biologicamente Ativas:** Utilização de cromatografia gasosa, cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas e eletroantenograma.
- ✓ **Síntese Química:** escolha de uma síntese viável economicamente e que seja capaz de produzir o produto químico em quantidade comercial.
- ✓ **Formulação:** escolha do liberador correto e determinação das condições necessárias para não desnaturação da molécula.
- ✓ **Testes de Campo Pre-Comerciais:** área de influência, dosagem, período de atração, nível de controle, dispensadores, etc...)
- ✓ **Registro do Produto:** é necessário que ele seja registrado no MAPA, ANVISA e IBAMA como exemplificado abaixo (Figura 7):

Figura 3 – Fluxograma para registro de produtos agrotóxicos no Brasil



Fonte: Autor, 2012.

Desde a publicação da Lei de Agrotóxicos e de seus decretos regulamentadores, inovações interessantes a respeito do registro de produtos como os feromônios, considerados produtos de baixa toxicidade e periculosidade, frente aos agrotóxicos convencionais, vêm se destacando. Como exemplo, no caso dos Semioquímicos (feromônios), pode-se mencionar a isenção das taxas de RET (Registro Especial Temporário) cobradas no IBAMA, a não destruição das áreas utilizadas para a experimentação com produtos que não entram em contato com as culturas ou com o solo, como é o caso das armadilhas com feromônios. Além disso, a retirada da caveira com as tíbias cruzadas (produto tóxico) na faixa dos pictogramas constante dos rótulos e bulas foi um dos maiores avanços da legislação até esta data.

✓ **Mercado:** Atualmente, no Brasil, existem 21 feromônios e 24 feromônios sintéticos registrados. (BRASIL, 2012) como mostra a Tabela 1, sendo que apenas uma empresa

é detentora do registro de 14 deles, e os outros estão distribuídos por outras 5 (Figura 8).

Tabela 1 – Produtos comerciais, pragas-alvo, cultura, formulação , finalidade e empresas.

(Continua)

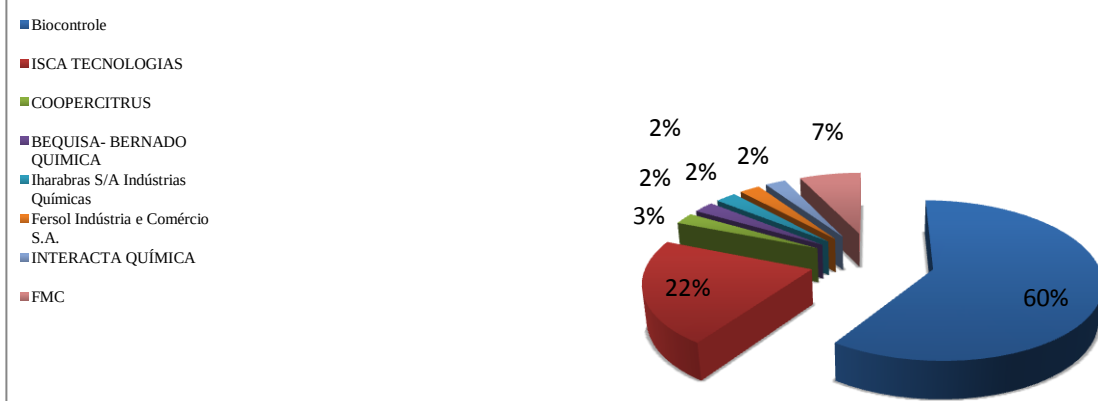
Produto	Praga-alvo	Cultura	Formulação	Finalidade	Empresa
1-BioBonagota	Lagarta-enroladeira-de-folhas (<i>Bonagota cranaodes</i>)	Maçã	Septo de borracha	Monitoramento	Bio Controle
2-Bio Broca	Broca do café (<i>Hypothenemus hampei</i>)	Café	Sache de plástico	Monitoramento Controle massal	Bio Controle
3-BioCeratitidis 4-BioTrimedilure	Mosca-das-frutas (<i>Ceratitidis capitata</i>)	Citros, Goiaba, Manga, Mamão e Pêssego	Plug de borracha / sache de plástico	Monitoramento	Bio Controle
5-BioCydia	Bicho-da-maçã (<i>Cydia pomonella</i>)	Maçã	Septo de borracha	Monitoramento	Bio Controle
6-BioGrapholita 7-Biolita	Mariposa-oriental (<i>Grapholita molesta</i>)	Maçã e Pêssego	Septo de borracha / sache de plástico	Monitoramento populacional / controle populacional	Bio Controle
8-BioMea	Traça-da-batatinha, Cegadeira (<i>Phthorimaeao perculella</i>)	Batata, Tomate, Fumo, Berinjela e Pimentão	Septo de borracha	Monitoramento populacional	Bio Controle
9-BioNeo	Broca-pequena-do-tomateiro (<i>Neoleucinodes elegantalis</i>)	Tomate, Berinjela e Pimentão	Septo de borracha	Monitoramento populacional	Bio Controle
10-Bio Pectinophora	Lagarta-rosada (<i>Pectinophora gossypiella</i>)	Algodão	Septo de borracha	Monitoramento populacional	Bio Controle
11-Bio Plutella	Traça-das-crucíferas (<i>Plutella xylostella</i>)	Brócolis, Couve ou Repolho	Septo de borracha	Monitoramento populacional	Bio Controle
12- Bio Serrico	Bicho-do-fumo (<i>Lasiodermaserricornes</i>)	Fumo armazenado	Pastilhas Fibras	Monitoramento populacional	Bio Controle
13-Bio Spodoptera	Lagarta-do-cartucho (<i>Spodoptera frugiperda</i>)	Algodão, amendoim, arroz, batata, cana-de-açúcar, milho, pastagens, soja sorgo, tomate e trigo	Sache de plástico	Monitoramento populacional	Bio Controle
14-BioTribolium	Besouro-castanho (<i>Tribolium castaneum</i>)	Armazenados de grãos e cereais	Pastilhas	Monitoramento populacional	Bio Controle
15-Bio Tuta	Traça do tomateiro (<i>Tuta-absoluta</i>)	Tomate	Septo de borracha	Monitoramento populacional	Bio Controle
16-Cosmolure	Moleque da bananeira (<i>Cosmopolites sordidus</i>)	Banana	Sache de plástico	Monitoramento populacional	Bio Controle
17-Gachon	Traças (<i>Ephestia cautella</i> , <i>Ephestia elutella</i> e <i>plodia interpunctella</i>)	Armazenados de grãos de cereais e seus subprodutos.	Pastilhas Fibras	Monitoramento populacional	Bio Controle
18-Luretape BW-10	Bicudo-do-algodoeiro (<i>Anthonomus grandis</i>)	Algodão	Pastilhas plásticas	Monitoramento populacional	Bio Controle

Tabela 1 – Produtos comerciais, pragas-alvo, cultura, formulação , finalidade e empresas
(Conclusão)

Produto	Praga-alvo	Cultura	Formulação	Finalidade	Empresa
19-Migdo	Broca-da-cana (<i>Migdolus fryanus</i>)	Cana-de-açúcar	Pellets de plástico	Monitoramento populacional / coleta massal	Bio Controle
21-RMD-1	Broca do olho do coqueiro (<i>Rhynchophorus palmarum</i>)	Coco e Dendê	Sache de plástico	Monitoramento populacional / coleta massal	Bio Controle
22-RINCOFOROL	Broca do olho do coqueiro (<i>Rhynchophorus palmarum</i>)	Coco e Dendê	Sache tipo eppendorf	Monitoramento populacional / coleta massal	Interacta Química Ltda.
23-Ferocitrus Furão	Bicho furão (<i>cdytolopha aurantiana</i>)	Citrus			Coopercitrus
24-Splat Grafo Bona 25-Splat Cida Grafo Bona ; 26-IsalureBonagota	Lagarta-enroladeira-da-folha (<i>Bonagota cranaodes</i>)	Maçã			Isca Tec
27-Isalure Tuta	Traça do tomateiro <i>Tuta-absoluta</i>	Tomate			Isca Tec
28-Feromônio Platô p/ Lagarta Militar	Lagarta-do-cartucho <i>Spodoptera frugiperda</i>	Algodão, amendoim, arroz, batata, cana-de-açúcar, milho, pastagens, soja sorgo, tomate e trigo			Plato
29-IsalureGrafolita 30-Splat Grafo	Mariposa-oriental (<i>Grapholita molesta</i>)	Maçã e pêssego			Isca Tec
31-IsalureCydia	Bicho-da-maçã (<i>Cydia pomonella</i>)	Maçã			Isca tec.
32-Feromônio Platô p/ Lagarta Rosada	Lagarta-rosada (<i>Pectinophora gossypiella</i>)	Algodão			Plato
33-PB-Rope-L	Bicudo do algodoeiro (<i>Anthonomus grandis</i>)	Algodão			Iharabras
34-Feromônio Platô p/ Bicudo do Algodão	Bicudo do algodoeiro (<i>Anthonomus grandis</i>)	Algodão			Plato
35-Monitrap	Bicho-do-fumo (<i>Lasioderma serricorne</i>)	Fumo armazenado			Casa Bernardo
36-SerricorninFersol	Bicho-do-fumo (<i>Lasioderma serricorne</i>)	Fumo armazenado			Fersol
37-Isalure TML Plug	Mosca-das-frutas (<i>Ceratitis capitata</i>)	Citros, Goiaba, Manga, Mamão e Pêssego			Isca Tec.
38-Cetro	Mariposa-oriental (<i>Grapholita molesta</i>)	Maçã e pêssego			BASF

Fonte: Autor, 2012.

Figura 4 – Empresas responsáveis pela comercialização de feromônios



Fonte; Autor, 2012.

Os compostos químicos liberados para uso como feromônios estão listados na Tabela 2. Alguns são utilizados em conjuntos em blendas feromonais ou isolados. Seu grupamento químico também está exemplificado.

Tabela 2 – Listagem de feromônios em uso, nome comercial, nomenclatura química e função orgânica.

Nome Comum	Nomenclatura química	Função Orgânica
ACETATO DE (E)-8-DODECENILA	Acetato de (E)-8-dodecenila	Acetatos insaturados
(E)-8-DODECENOL	(E)-8-Dodecenol	Álcool Insaturado
GRANDLURE I	I. (1R,2S)-1-Metil-2-(1-metiletenil)ciclobutane etanol:	Álcoois alifáticos e aldeídos
GRANDLURE II	II. (Z)-2-(3,3-Dimetilciclo-hexilideno)etanol	Álcoois alifáticos e aldeídos
GRANDLURE III	III. (E)-(3,3-Dimetilciclo-hexilideno)acetaldeído	Álcoois alifáticos e aldeídos
GRANDLURE IV	(Z)-(3,3-Dimethylcyclohexylidene)acetaldehyde	Álcoois alifáticos e aldeídos
ACETATO DE (E,Z)-4,7-TRIDECADIENILA	Acetato de (E,Z)-4,7-tridecadienila	Acetatos insaturados
ACETATO DE (E,Z,Z)-4,7,10-TRIDECADIENILA	Acetato de (E,Z,Z)-4,7,10-tridecadienila	Acetatos insaturados
(Z)-11-HEXADECENAL	(Z)-11-Hexadecenal	Aldeído insaturado
(Z)-9-HEXADECENAL	(Z)-9-Hexadecenal	Aldeído insaturado
(Z,Z,Z)-3,6,9-TRICOSATRIENO	(Z,Z,Z)-3,6,9-tricosatrieno	Hidrocarboneto insaturado
ACETATO DE (E,Z)-3,5-DODECADIENILA	Acetato de (E,Z)-3,5-dodecadienila	Acetatos insaturados
ACETATO DE (Z)-11-HEXADECENILA	Acetato de (Z)-11-hexadecenila	Acetatos insaturados
(Z)-13-OCTADECENA	(Z)-13-octadecenal	Aldeído insaturado
ACETATO DE (Z)-8-DODECENILA	Acetato de (Z)-8-dodecenila	Acetatos insaturados
ACETATO DE (Z)-9-DODECENILA	Acetato de (Z)-9-dodecenila	Acetatos insaturados
(Z)-8-DODECENOL	(Z)-8-dodecenol	Álcool alifático
ÁLCOOLLAURÍLICO	1-Dodecanol	Álcool alifático
ETANOL-METANOL	Etanol-metanol	Alcool
4,8-DIMETILDECANAL	4,8-Dimetildecanal	Aldeído insaturado
METILEUGENOL	1,2-Dimetoxi-4-(2-propenil)benzeno	Éter aromático
ACETATO DE (Z)-7-DODECENILA	Acetato de (Z)-7-dodecenila	Acetatos insaturados
RINCOFOROL	6-Metil-2(E)-hepten-4-ol	Álcool alifático
SORDIDIN	2,8-Dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbicyclo[3.2.1]octano	: Cetálicíclico
5,9-DIMETILPENTADECANO	5,9-Dimetilpentadecano	Hidrocarboneto
ACETATO DE (Z)-11-HEXADECENILA	Acetato de (Z)-11-hexadecenila	Acetatos insaturados
N-2-S-METILBUTIL-2-METILBUTILAMIDA	N-2S-metilbutil-2-metilbutilamida	Amida
ACETATO DE (E,Z)-3,8-TETRADECADIENILA	Acetato de (E,Z)-3,8-tetradecadienila	Acetatos insaturados
ACETATO DE (E)-8-DODECENILA	Acetato de (E)-8-dodecenila	Acetatos insaturados
ACETATO DE (Z,E)-9-12-TETRADECADIENILA	Acetato de (Z,E)-9-12-tetradecadienila	Acetatos insaturados
CODLELURE	(8E,10E)-Dodeca-8,10-dien-1-ol	Álcool insaturado
SERRICORNIN	4,6-Dimetil-7-hidroxinonan-3-ona	Cetona alifática
GOSSIPLURE	Acetato de (Z,E)-7,11-hexadecadienila	Acetatos insaturados
TRIMEDLURE	t-Butil-2-metil-4-clorocicloexano carboxilato	Ésteres saturados
1,4-DIMETOXIBENZENO	1,4-Dimetoxibenzeno	Éter aromático

Fonte : <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principalagrofitcons>. Acesso em: 15 maio 2012.

Poucas indústrias químicas convencionais têm investido em feromônios, parte disso devido à alta especificidade do produto (atende ao controle de uma praga) e parte devido à complexidade química das moléculas de feromônios. O mercado é formado por empresas de pequeno porte, em sua maioria “spin-off” resultantes de laboratórios de pesquisas ou de pessoas provenientes deles (algumas pertencentes a Universidades), especializadas em um nicho específico de produto, e que têm flexibilidade e despesas gerais mais baixas, podendo fazer seus investimentos em semioquímicos.

Atraentes (lures) são distribuídos por várias companhias pelo mundo, não se tem muitas informações confiáveis para se ter idéia do número exato do total de feromônios utilizados. Witzgall, Kirsch e Cork (2010) relatam que são produzidos pelo menos 20 milhões de “lures” por ano para monitoramento ou coleta massal. Isto inclui setores de controle de pragas, horticultura, agricultura, armazéns, florestas e também uso privado em casas e jardins.

Tabela 3 – Relação de especiais, propósito de uso, região e quantidade de atraentes ano.

(Continua)

ESPÉCIES	PROPÓSITO	REGIÃO	LURES/ANO
HORTICULTURA			
COLEOPTERA			
<i>Rynchophorus ferrugineus</i>	MT	Asia	1.175.000
<i>Rynchophorus palmarum</i>	MT	America Central e do Sul	25.000
<i>Oryctes elegans</i>	MT	Asia	125.000
<i>Cosmopolites sordidus</i>	MT	Mundo Inteiro	120.000
<i>Xylotrechus quadripes</i>	MT	India	40.000
DIPTERA			
<i>Bactrocera oleae</i>	MT,AK	Europa	-----
LEPIDOPTERA			
<i>Lobesia botrana</i>	M	Europa, Países do Mediterraneo, Chile, USA	-----
<i>Cydia pomonella</i>	M, AK	Mundo Inteiro	-----
<i>Grapholita molesta</i>	M, AK	Mundo Inteiro	-----
<i>Tuta absoluta</i>	M, MT	America do sul, Europa, Norte da Africa	2.000.000
<i>Leucinodes orbonalis</i>	MT	India, Blangadechi	400.000

Tabela 3 – Relação de espécies, propósito de uso, região e quantidade de atraentes ano
(Conclusão)

ESPÉCIES	PROPÓSITO	REGIÃO	LURES/ANO
<i>Spodoptera frugiperda</i>	MT	América Central	50.000
AGRICULTURA			
COLEOPTERA			
<i>Anthonomus grandis</i>	MT(AK)	América do Norte e do Sul	2.600.000
<i>Agriotes species</i>	M	Europa	-----
Lepidoptera			
<i>Pectinophora gossypiella</i>	M, AK	América do norte e do sul e o Sul da Ásia	-----
<i>Helicoverpa armigera</i>	M, MT		830.000
<i>Spodoptera litura</i>	M, MT		480.000
<i>Spodoptera exempta</i>	D	Oeste da África	-----
<i>Earias vittella</i>	M, MT		280.000
<i>Scirpophaga incertulas</i>	M, MT	Índia	100.000
<i>Diatraea grandiosella</i>	D	USA	100.000
<i>Phthorimaea operculella</i>	AK	África do Sul	-----
FLORESTA			
COLEOPTERA			
<i>Ips typographus</i>	MT	China e Europa	800.000
<i>Dendroctonus ponderosae</i>	MT	América do Norte	-----
<i>D. pseudotsugae</i>	MT	América do Norte	-----
LEPIDOPTERA			
<i>Lymantria dispar</i>	D	USA, EU	250.000
<i>Choristoneura fumiferana</i>	D	Canadá, USA	-----
<i>Thaumetopoea pityocampa</i>	D, M	EU	-----
PRODUTOS ESTOCADOS			
<i>Lasioderma serricorne</i>	M, MT	Mundo inteiro	2.500,000
<i>Plodia interpunctella</i>	M, MT	Mundo Inteiro	2.000.000
<i>Households e Jardins</i>			
<i>Popilla japonica</i>	MT	América do Norte	-----
<i>Anomala orientalis</i>	MT	América do Norte	-----
<i>Musca domestica</i>	MT	Mundo inteiro	2.000.000
Baratas	MT	Mundo Inteiro	1.000.000

Fonte: Witzgall; Kirsch; Cork, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não se pode perder de vista que há um forte sistema de produção de insumos ligados aos defensivos agrícolas, movimentando, no País, algo em torno de 2,5 bilhões de dólares, gerando conseqüentemente, milhares de empregos. Considerando que controle biológico tem inúmeras interfaces ligadas ao agronegócio, o mesmo necessita evidenciar, com clareza, o seu potencial como gerador de riquezas e de empregos, além, é claro, dos aspectos de não agressão ambiental. Neste particular, as tendências econômicas apresentam o Brasil como excepcional mercado para a expansão do consumo de defensivos agrícolas, o que exigirá esforços redobrados para consolidar o Manejo Integrado de Pragas (MIP).

O uso de semioquímicos, principalmente os feromônios, em ações de controle de insetos-praga está de acordo com o modelo preconizado para a agricultura do futuro. É uma técnica que tem alta especificidade, não apresentando, de modo geral qualquer efeito deletério às espécies que não são objeto de controle e, nenhum resíduo químico é depositado no meio ambiente ou no alimento produzido.

A Ecologia Química evoluiu substancialmente em várias partes do globo como na Europa, América do Norte e Ásia, nas mais diferentes vertentes, incluindo neuroetologia de insetos, ecologia comportamental, bioquímica de insetos e plantas, química de síntese de produtos naturais, e tecnologias para aplicação de semioquímicos na agricultura, esta última sempre sob a égide de patentes e informações geradas por empresas que não são divulgadas no meio científico. No Brasil, conseguimos progredir com a ajuda de grandes centros internacionais, e por certo, estas colaborações continuarão a ser desenvolvidas. No entanto, as dificuldades geradas quanto ao transporte de insetos entre continentes, barreiras fitossanitárias, entre outros, determinam que este tipo de conhecimento seja gerado aqui, em nossas condições e para que isto aconteça uma rede, unindo esforços de equipes já constituídas, certamente reverterá em bases mais sólidas e adequadas ao controle dos problemas entomológicos de nosso país.

Hoje temos um conhecimento sólido nas áreas de ecologia e química que permitem ao país competir mundialmente e com qualidade. Por exemplo, o preço do codlemone sintético no início dos anos 90, foi muito elevado para fins aplicativos comerciais, mas o desenvolvimento do aumento de escala da síntese (YAMAMOTO; OGAWA, 1989) tornou

possível explorá-lo comercialmente. A produção anual de codlemone, o composto principal do feromônio da traça codling, é da ordem de 25 t, e o preço do codlemone está agora bem abaixo de 1.000 EUA \$ / kg.

As cadeias produtivas de alimentos, biocombustíveis, madeira e de commodities de exportação como soja, laranja, café etc. necessitam de inovações que podem vir da Ecologia Química, como no caso de alternativas para o controle de pragas. Também na saúde pública, suas contribuições podem ser muito relevantes para a solução de sérios problemas como o do monitoramento e controle de insetos vetores de doenças ao homem e aos animais domésticos, neste caso pode-se incluir o *Aedes aegypti* e o *Culex quinquefasciatus*, vetores de doenças como a dengue e a filariose

REFERÊNCIAS

- BAKER, T. C.; HEATH, J. J. Pheromones: function and use in insect control. **Molecular Insect Science**, Amsterdam, v. 6, 407-460, 2004. ISSN 1681-0406.
- BENGTSSON, M. et al. Mating disruption of pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae) by a repellent blend of sex pheromone and attraction inhibitors. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 20, p. 871-887, 1994. ISSN 0098-0331.
- BORDEN, J. H. Disruption of semiochemical-mediated aggregation in bark beetles. In: CARDE, R. T.; MINKS, A. K. (Ed.). **Pheromone research: new directions**. New York: Chapman & Hall, 1997. p. 421-438.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão e Estratégia. **Projeções do agronegócio**: Brasil 2008/09 a 2018/19. Brasília, DF, 2009. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/planos%20e%20programas/projecoes%20do%20agronegocio.pdf. Acesso em: 19 jan. 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lista de agrotóxicos**. 2012. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principalagrofitcons>. Acesso em: 15 maio 2012.
- BRASIL. Ministério de Planejamento, Orçamento e Gestão; Ministério da Agricultura, **Pecuária e Abastecimento**: pesquisa e desenvolvimento para a competitividade e sustentabilidade do agronegócio. Brasília, DF, 2011. PPA 228. Programa 1156.
- COOK, S. M.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A. The use of push-pull strategies in integrated pest management. **Annu. Rev. Entomol.**, Palo Alto, v. 52, p. 375-400, 2007. ISSN 0066-4170.
- CORK, A. et al. Control of yellow stem borer, *Scirpophaga incertulas* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) by mating disruption on rice in India: effect of unnatural pheromone blends and application time on efficacy. **Bull. Entomol. Res.**, London, v. 86, p. 515-524, 1996. ISSN 0007-4853.
- _____. et al. Development of PV Cresin: controlled release formulation for pheromones and use in mating disruption of yellow rice stem borer, *Scirpophaga incertulas*. **Crop Prot.**, v. 27, p. 248-255, 2008. ISSN 0261-2194.
- FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: EdUFSCar, 2001.
- HEUSKIN, S. et al. The use of semiochemicals slow-release devices in integrated pest management strategies. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.**, v. 15, n. 3, p. 459-470, 2011. ISSN 1370-6233. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=71218>>. Acesso em: 17 jul. 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (IBGE). **Levantamento sistemático de produção agrícola**. 2011. Disponível em:

<www.ibge.gov.br/home/estatistica/agropecuaria/ispa/ispa_201005_4.htm> Acessado em: 17 jun. 2012 às 10:30 h.

LUGINBILL, P. H. **The fall armyworm**. Washington: USDA, 1928. Technical Bulletin n. 34.

MUÑOZ-PALLARES, A.; CORMA, J. P.; PRIMO-YUFERA, E. Zeolites as pheromone dispensers. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 49, n. 10, p. 4801-480, 2001. ISSN 0021-8561.

NEVES, M. F; LAZZARINI, S.G.; MACHADO FILHO, C. A. P. Cenários e perspectivas para o agribusiness brasileiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 35., 1997. Natal. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural, 1997. p. 859.

PIB: agronegócios cresce o dobro da economia geral em 2011. São Paulo: CEPEA/USP/ESALQ; CNA, 2012. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=71218>. Acesso em: 14 jun. 2012.

PILLI, R. A.; ZARBIN, P. H. G. Editorial. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 11, n. 6, p. 551-639, 2000. ISSN 0103-5053.

SCHLYTER, F.; BIRGERSSON, G. Forest beetles. In: HARDIE, R. J.; MINKS, A. K. (Ed.). **Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants**. Wallingford: CAB International, 1999. p. 113-148.

STELINSKI, L. L.; MILLER, J. R.; ROGERS, M. E. Mating disruption of citrus leafminer mediated by a noncompetitive mechanism at a remarkably low pheromone release rate. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 34, p. 1107-1113, 2008. ISSN 0098-0331.

STILING, P. D. **Ecology**: theories and applications. New Jersey: Prentice Hall, 1996.

STIPANOVIC A.J. et al. Microparticle dispensers for the controlled release of insect pheromones. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 52, p. 2301-2308, 2004. ISSN 0021-8561.

TEGONI, M.; CAMPANACCI, V.; CAMBILLAU, C. Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. **Trends Biochem. Sci.**, Cambridge, v. 29, p. 257-264, 2004. ISSN 0968-0004.

VERHEGGEN, F. J.; HAUBRUGE, E.; MESCHER M. C. Alarm pheromones. In: LITWACK, G. (Ed.). **Pheromones**. Amsterdam: Netherlands; Elsevier, 2010.

VILELA, E. F.; DELLA LÚCIA, T. M. C. **Feromônio de insetos**: biologia, química e emprego no manejo de pragas, 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 45-49.

WELTER, S. C.; DUNDLEY J. E. **Alternative dispensing technologies for pheromone mating disruption of codling moth in pome fruit and nut crops**. 2004. Disponível em: <Walnutresearch.ucdavis.edu/2004/2004>. Acesso em: 14 fev. 2012

WITZGALL, P. Pheromones: future techniques for insect control. **Bulletin IOBC wps**. v. 24, n.2, p. 114-122, 2001.

WITZGALL, P.; ARN, H. Technology transfer in mating disruption. **Bulletin IOBC wprs**. v. 20, n. 1, p. 175-180, 1997.

_____; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 36, p. 80-100, 2010. ISSN 0098-0331.

_____. et al. Attraction of pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae) to female sex pheromone (*E,E*)-8,10-dodecadien-1-ylacetate, is inhibited by geometric isomers *E,Z*, *Z,E*, and *Z,Z*. **J. Chem Ecol.**, New York, v. 19, n. 9, p. 1917-1928, 1993. ISSN 0098-0331.

_____. et al. Behavioral observations and measurements of aerial pheromone in a mating disruption trial against pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae). **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 22, p.191-206, 1996. ISSN 0098-0331.

_____. et al. Codling moth management and chemical ecology. **Annu. Rev. Entomol.**, Palo Alto, v. 53, p. 503-522, 2008. ISSN 0066-4170.

_____. et al. Potential of a blend of *E8,E10*-12OH and *E8,E10*-12Ac for mating disruption of codlingmoth, *Cydia pomonella* L. (Lep., Tortricidae). **J. Appl. Entomol.**, New York, v. 120, p. 611-614, 1996. ISSN 0098-0331.

YAMAMOTO, A.; OGAWA, K. Chemistry and commercial production of pheromones and other behaviour-modifying chemicals. In: JUTSUM, A. R. ; GORDON, R. F. S. (Ed.). **Insect pheromones in plant protection**. London: J. Wiley, 1989. p. 123-148.

ZADA, A.; FALACH, L.; BYERS, J. A. Development of sol-gel formulations for slow release of pheromones, **Chemoecology**, v. 19, p. 37-45, 2009. ISSN 0937-7409.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Quím. Nova**. v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009. ISSN 0100-4042.

ZYLBERSZTAJN, D.; TURNER, J. Agrocere-PIC: transferência internacional de tecnologia em suínos. Estudo de caso PENSA 001/95. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AGRIBUSINESS, 5., 1995, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro, 1995.

CAPITULO 1 – OBTENÇÃO DO FEROMÔNIO DE OVIPOSIÇÃO DO *Culex quinquefasciatus*: (5R,S,6S,R)-6-ACETOXI-5-HEXADECANOLÍDEO VIA SÍNTESE SEMI-BIOTECNOLÓGICA

1.1 Introdução

Os mosquitos representam uma ameaça significativa para a saúde humana devido a sua habilidade vetora de organismos patogênicos que causam doenças que afligem milhões de pessoas no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; PINHEIRO, 1997; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998). Os mosquitos do gênero *Culex* são os mais importantes vetores de patógenos causadores de doenças humanas no mundo incluindo a *Wuchereria bancrofti* Cobbold (Nematoda: Onchocercidae, 1877) e arboviroses como St. Luis encefalite (SLE), encefalite japonesa, encefalite equina venezuelana (VEE), Wester equino encefalite e West Nile vírus. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; PINHEIRO, 1997; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998).

O mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 é o agente responsável pela transmissão da filariose bancroftiana. De hábitos antropofílicos e endofílicos, particularmente em regiões urbanas, o inseto apresenta ampla distribuição geográfica. Suas larvas são capazes de se desenvolver em diversos tipos de habitats, de esgotos à água limpa, com preferência para os primeiros. Por estar relacionado à transmissão da filariose bancroftiana nas Américas, e em particular no Brasil, este inseto apresenta grande importância em saúde pública, gerando desafios administrativos e públicos para o seu controle (ALVES; TIBÚRCIO; MELO, 2011). A transmissão da filariose ocorre através da picada da fêmea do mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, mais conhecido pelo nome popular de pernilongo ou muriçoca, contaminada com o parasito.

Este mosquito demonstra preferência especial pelo homem. É encontrado com frequência dentro das casas, abrigado embaixo e atrás dos móveis, principalmente nos quartos. As fêmeas começam a agir ao crepúsculo e picam durante toda a noite, mas preferem as horas mais avançadas e os momentos que antecedem ao amanhecer. É mais frequente nos meses quentes e chuvosos, pois a água que se acumula no solo amplia seus criadouros, mas pode ser encontrado durante todo o ano.

Os inseticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides foram e são ainda largamente empregados para controlar estes mosquitos vetores de doenças em diversas partes do mundo. Entretanto, em alguns locais, os inseticidas organofosforados e os carbamatos não são mais eficazes para o controle efetivo do *C. quinquefasciatus*

(SATHANTRIPHOP et al., 2006). Na Ásia, vários graus de tolerância/resistência de caráter tóxico de fenitrothion (organofosfato) e vários derivados dos carbamatos e piretróides têm sido documentados para esta espécie. Na América Latina, existem relatos de resistência aos inseticidas organofosforados e carbamatos em populações adultas de *C. quinquefasciatus* (ALVES; TIBÚRCIO; MELO, 2011). Diante deste problema, novas alternativas para o seu controle são necessárias.

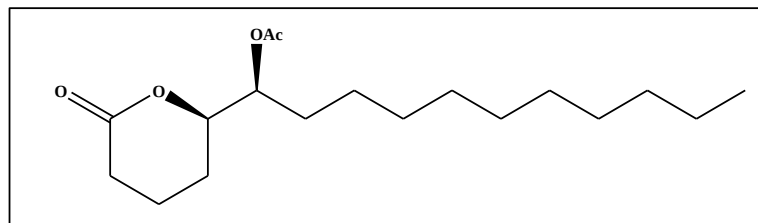
O comportamento de oviposição é uma etapa determinante no ciclo de vida dos mosquitos e requer uma interação complexa entre os fatores físicos, químicos e biológicos (BENTLEY; DAY, 1989). A oviposição pode determinar a densidade populacional da espécie, a distribuição, a hematofagia e a transmissão de patógenos pelos mosquitos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1998). É de conhecimento que as substâncias voláteis emitidas de criatórios larvais são mediadores potenciais do comportamento da oviposição. Estas substâncias podem ser feromônios de oviposição, ou mesmo atraentes de oviposição dissolvidos em águas de criatórios naturais ou de criatórios artificiais (BENTLEY; DAY, 1989). As fêmeas grávidas de mosquitos usam uma combinação sensorial para a procura e determinação de águas susceptíveis à oviposição (MCCALL, 2002).

A utilização de atraentes e de feromônios de oviposição apresenta-se como uma alternativa em potencial para o desenvolvimento de diferentes métodos que possam ser utilizados para o controle populacional de insetos hematófagos (MILLAR et al., 1994).

Em mosquitos do gênero *Culex*, a oviposição é mediada principalmente por semioquímicos produzidos pela fermentação da matéria orgânica. Ikeshoji e colaboradores (1975), mostraram que fenóis são atraentes para os mosquitos *C. quinquefasciatus*, sendo a mistura atraente constituída de cinco componentes: fenol, 4-metilfenol, 4-etilfenol, indol e 3-metilindol (Skatole). Destes cinco componentes, o 3-metilindol, produto natural encontrado na fermentação microbiana da matéria orgânica e também de excrementos de animais, foi considerada o mais estimulante para o comportamento de oviposição, em laboratório (MILLAR et al., 1992) e em campo (BEEHLER et al., 1994). Além dos atraentes, é o feromônio liberado durante o amadurecimento dos ovos o principal atraente de oviposição, que é a lactona 6-acetoxi-5-hexadecanolídeo. Este composto foi isolado a partir da extração de jangadas de ovos do mosquito *C. quinquefasciatus*, em hexano por Laurence e Pickett

(1982), sendo sua configuração absoluta determinada por Laurence e Pickett (1985), conforme mostrado na Figura 1.

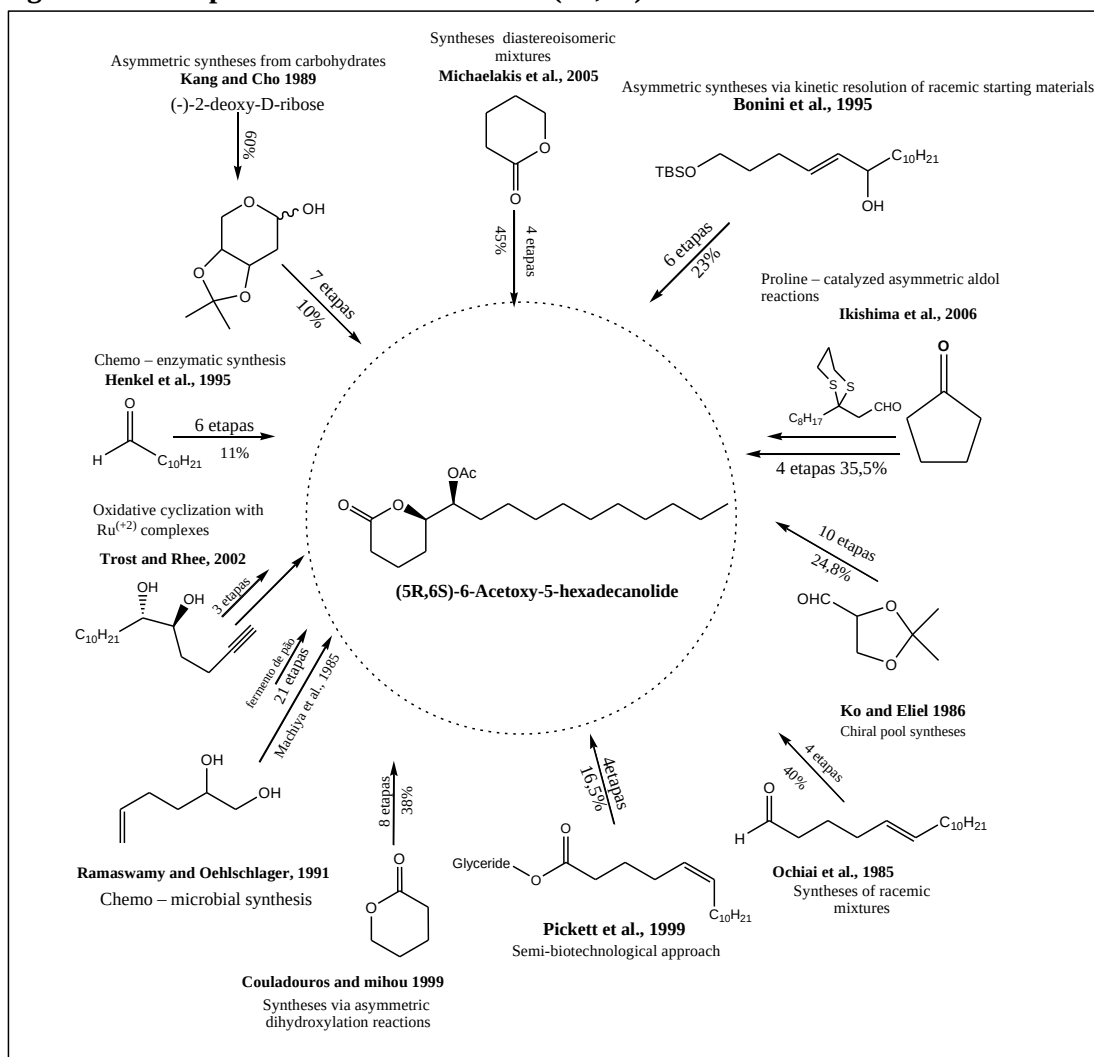
Figura 1 – (-)-(5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo, feromônio de oviposição de *C. quinquefasciatus*



Fonte: Autor, 2012.

A caracterização do feromônio de oviposição causou um grande impacto na busca do controle do mosquito. Diversas rotas de sínteses assimétricas e racêmicas para a obtenção do feromônio, inclusive em larga escala, foram descritas. Carboidratos e aminoácidos foram utilizados como material de partida. Resolução cinética (epoxidação assimétrica de Sharpless ou outro protocolo de oxidação) do material de partida racêmico e epoxidação assimétrica de Sharpless ou diidroxilação de olefinas têm sido também utilizadas para a introdução da assimetria, enquanto a reação de acoplamento de Wittig, condensação de Knoevenagel, reação de olefinação de Julia têm sido usadas para a construção do esqueleto carbônico na síntese enantiosseletiva do feromônio. Exemplos da síntese do (5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo estão mostrados na Figura 2.

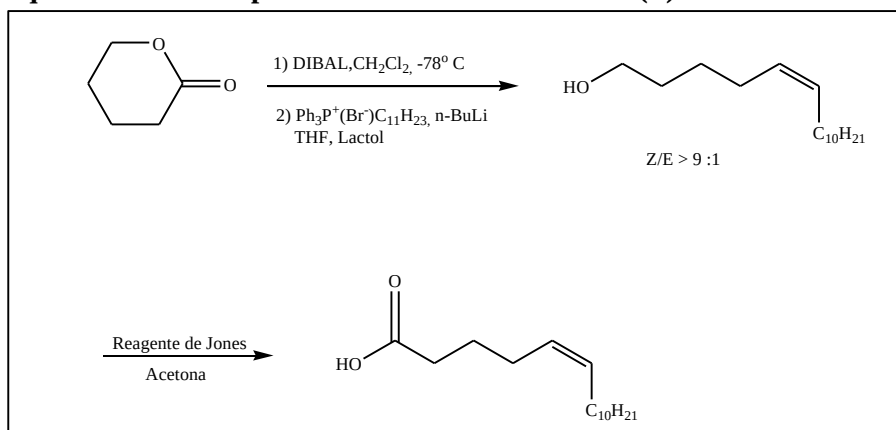
Figura 2 – Exemplos descritos da síntese do (5*R*,6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo



Fonte: Autor, 2012.

Michaelakis et al. (2005) obtiveram o ácido (Z)-5-hexadecenóico por síntese química, cujo rendimento pode ser considerado satisfatório, 78% de rendimento. Sua rota sintética está mostrada na Figura 3.

Figura 3 – Esquema sintético representando a síntese do ácido (Z)-5-hexadecenóico



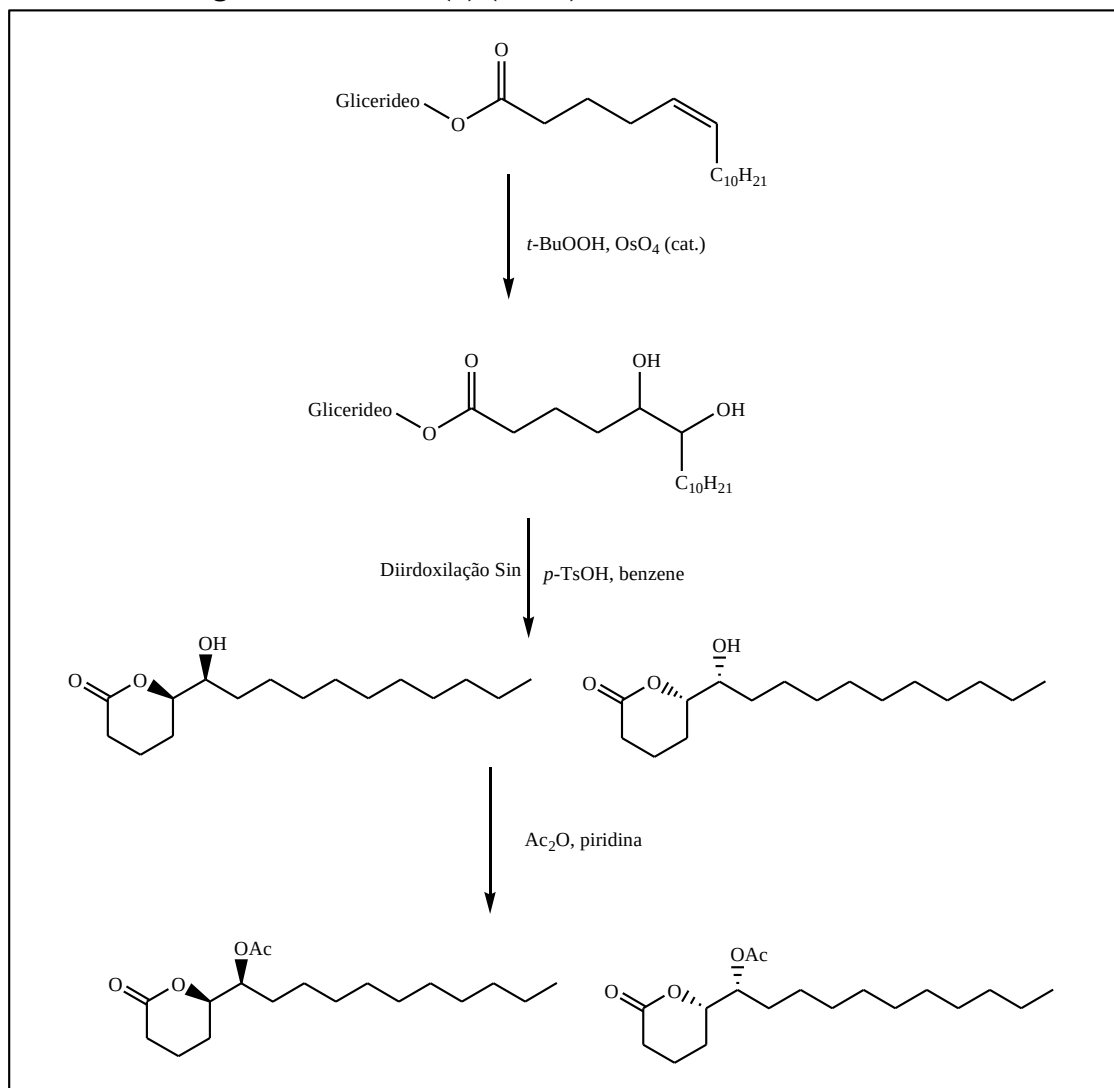
Fonte: Autor, 2012.

O ácido foi obtido usando a seguinte sequência: redução da pentanolactona, acoplamento de Wittig, oxidação com reagente de Jones (Figura 3). De acordo com Couladouros e Andmihou (1999) seguindo a metodologia para a síntese de β e γ lactonas, o intermediário pode ser facilmente obtido a partir da γ -valerolactona, em duas etapas envolvendo a redução da molécula com 1,1 equivalentes do hidreto de diisobutilaluminio (DIBAL-H) levando ao lactol correspondente com subsequente alongamento da cadeia carbônica por um acoplamento de Wittig (Figura 3). Oxidação, *cis*-hidroxilação, lactonização e acetilação levam respectivamente aos isômeros *eritro* e *treo*. Assim a mistura dos 4 estereoisômeros do 6-acetoxi-5-hexadecanolideo foi obtida. Este produto obtido por síntese contém 45% do feromônio de agregação [(-)-(5*R*,6*S*)], 45% do seu enantiômero [(+)-(5*S*,6*R*)], e 10% do respectivo par enantiomérico *treo* [(-)-(5*S*,6*S*) e (+)-(5*R*,6*R*)].

Foi demonstrado recentemente que o feromônio pode ser produzido de forma rápida, barata e eficiente, utilizando-se uma fonte natural, botânica, o óleo da semente da planta *Kochia scoparia* da família Chenopodiaceae como material de partida. Este óleo contém quantidades significativas (aproximadamente 7%) do triglicerídeo do ácido (Z)-5-hexadecenóico (OLAGBEMIRO et al., 1999) (Figura 4).

Rotas alternativas para síntese de outros feromônios e semioquímicos têm sido desenvolvidas para uso no controle de insetos pragas de saúde humana e bem estar, como, por exemplo feromônio sexual produzido pelo macho da *Lutzomia*, 9-metilgermacreno-B com o uso do óleo de *Geranium macrorrhizum* (Geraniaceae) (HAMILTON et al., 1996).

Figura 4 – Esquema de síntese do (-)-(5*R*,6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo e seu enantiômero biologicamente inativo (+)-(5*S*,6*R*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo.



Fonte: Autor, 2012.

Uma solução do óleo da semente da *K. scoparia*, sem tratamento prévio, foi tratada com uma solução de *tert*-butilidroperóxido, em metanol, e com quantidades catalíticas de tetróxido de ósmio, produzindo o glicerídeo do ácido 5,6-diidroxi-hexadecanóico. Este foi utilizado para a ciclização, na presença do ácido *p*-toluenossulfônico em benzeno, sob refluxo, produzindo assim as respectivas lactonas. A acetilação das hidroxilas das lactonas, utilizando anidrido acético e piridina permitiu produzir o feromônio de oviposição (-)-(5*R*,6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo e seu enantiômero inativo (+)-(5*S*,6*R*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo (OLAGBEMIRO et al., 1999)(Figura 4)

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Obter o feromônio de oviposição (-)-(5*R*,6*S*) 6-acetoxi-5-hexadecanolídeo utilizando uma fonte natural do ácido (*Z*)-5-hexadecenóico como precursor a ser obtido de fonte natural de acordo com o conceito de química verde.

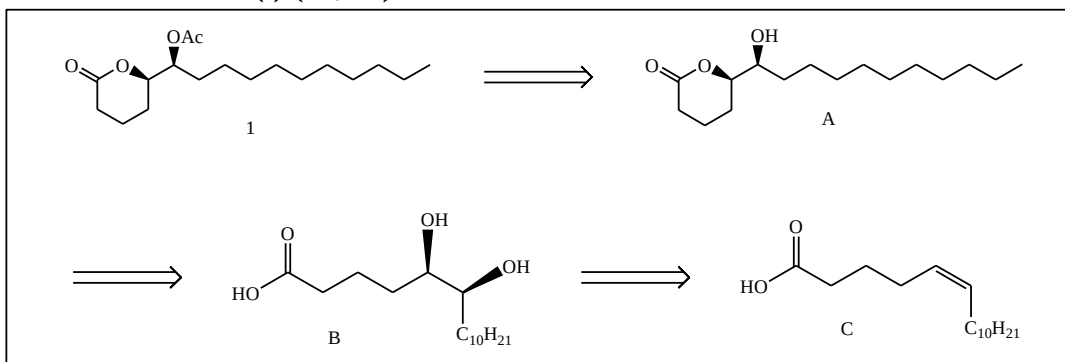
1.2.2 Objetivo Especifico

Buscar um reagente alternativo ao Tetróxido de Ósmio para realização de diidroxilação *sin*.

1.3 Metodologia

O trabalho desenvolvido neste capítulo foi realizado no Instituto de Pesquisa de Rothamsted, no Reino Unido sob a supervisão do Dr. Mike Birkett. Inicialmente, realizamos o estudo retrossintético do feromônio de oviposição do *C. quinquefasciatus*. A figura 5 mostra a análise retrossintética do feromônio de oviposição (**1**) (-)-(5*R*, 6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo preparado por meio da acetilação da lactona A, obtida via ciclização catalisada por ácido do ácido B, que por sua vez é obtido a partir da diidroxilação *sin* do ácido (*Z*)-5-hexadecenóico.

Figura 5 – Retrossíntese (-)-(5*R*, 6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo



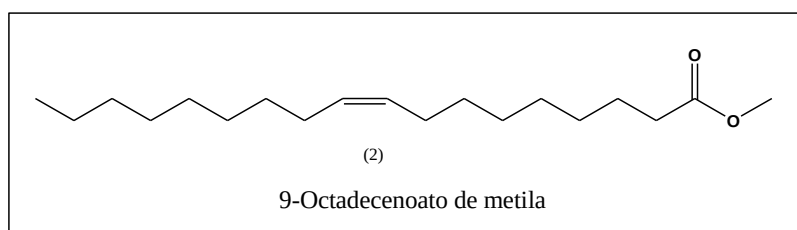
Fonte: Autor, 2012.

A síntese semi-biotecnológica, mais vantajosa economicamente, segue os princípios da química verde. Para tanto, o ácido de partida deveria ser obtido de uma fonte natural com vista à obtenção do feromônio de forma menos agressiva ao meio ambiente. Uma busca na

literatura nos indicou que não temos uma fonte abundante deste ácido. Na literatura consultada, as fontes descritas para este ácido são plantas da família Chenopodiaceae, de preferência a *Kochia scoparia* (PICKETT et al., 1999; KLEINMAN; EARLE, 1972). No entanto, a composição em ácidos graxos de alguns óleos de algumas espécies desta família como *Spinacea oleoracea*, *Salsolapestifer*, *Bassia hypsofolia*, *Kochia prostata* e *Sieda setigera*, assim como *K. scoparia*, apresentam o ácido (Z)-5-hexadecenóico, na ordem de 0,2-5,0% (KLEIMAN; EARLE, 1972). Embora o óleo da semente de *K. scoparia* não possua uma alta quantidade deste ácido, esta planta é de fácil cultivo e chega a atingir 11.000 kg de semente/hectare (GARDUNO, 1993).

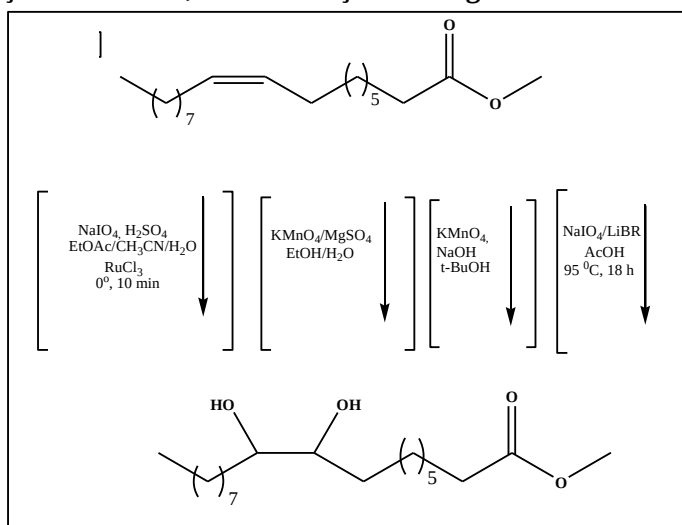
Apesar de não ser considerado uma fonte abundante do ácido (Z)-5-hexadecenóico, o óleo da semente da planta *K. scoparia* da família Chenopodiaceae foi utilizado como material de partida, por ser a única fonte ao nosso alcance. Segundo Kleinman e Earle (1972), o óleo pode conter quantidades consideradas significativas (aproximadamente 5%) do glicerídeo do ácido (Z)-5-hexadecenóico.

Como o óleo de semente da planta *K. scoparia* consiste de uma mistura de vários ácidos graxos, utilizamos como modelo, um ácido graxo com cadeia similar à do ácido hexadecenóico, no caso, o (Z)-9-octadecenoato(2) de metila



Na busca de um reagente alternativo ao uso do Tetróxido de Ósmio para uma diidroxilação sin, os seguintes reagentes foram testados de acordo com a metodologias descritas: permanganato de potássio- sulfato de magnésio (SUNDERMANN; SCHARF, 1996), permanganato de potássio-hidróxido de sódio-álcool *tert*-butílico (DANIELI et al., 1994), periodato de sódio e brometo de lítio NaIO₄/LiBr (EMMANUVEL; SHAIKH; SUDALAI, 2005), óxido de rutênio RuO₄ (PLIETKER; NIGGEMANN, 2003). (Figura 6)

Figura 6 – Preparação de vic-dióis, com utilização de reagentes alternativos ao OsO₄

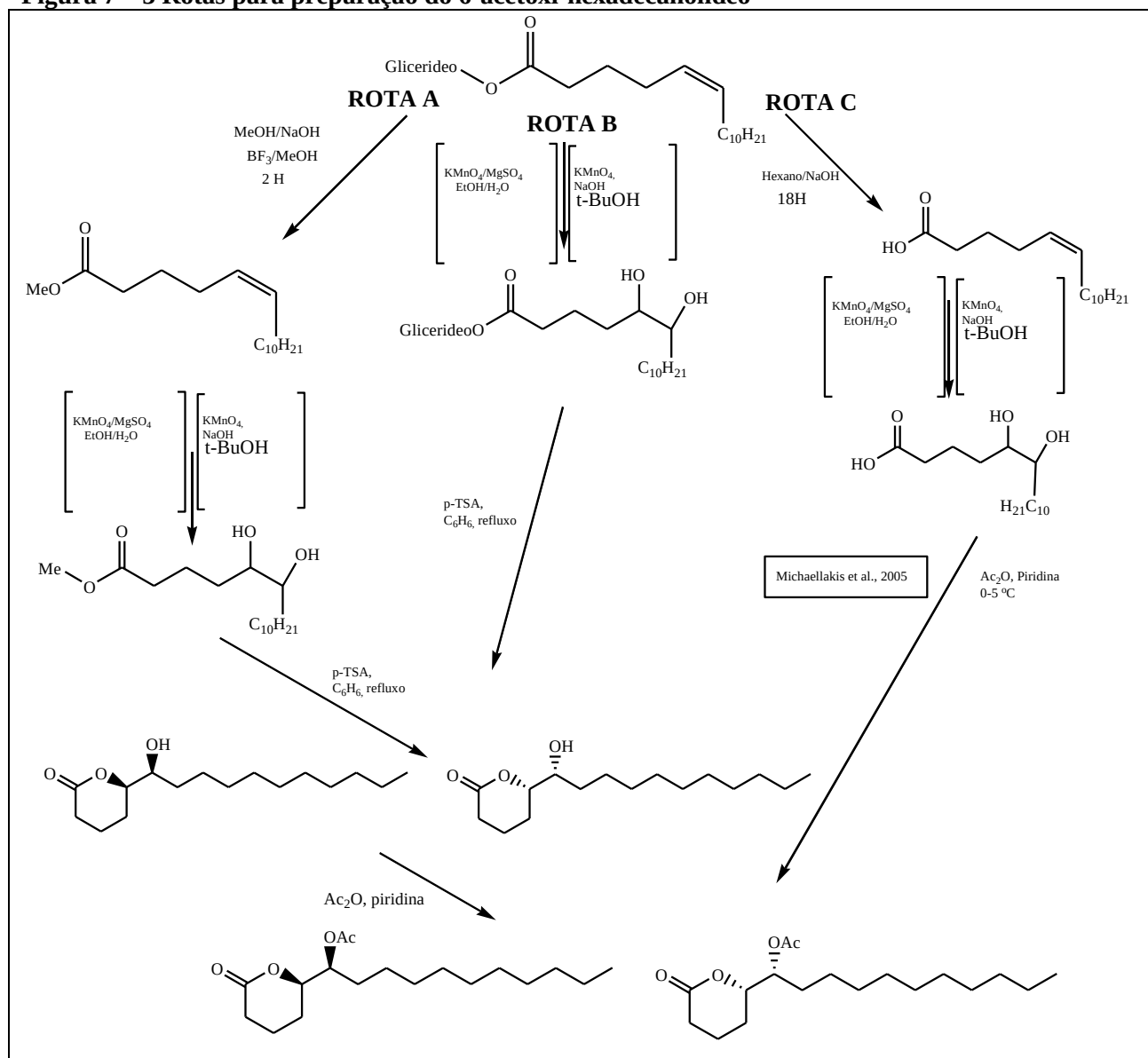


Fonte: Autor, 2012.

Após a constatação de que a reação ocorria no modelo, foi então utilizado o óleo da *K. scoparia*. Três diferentes abordagens foram utilizados para a preparação do intermediário, (5R, 6S)-6-hidroxi-5-hexadecanolide, a partir de glicéridos do ácido (Z)-5-hexadecenóico, do ácido (Z)-5-hexadecenóico, e de seu respectivo ester. (Figura 7)

- ✓ **Rota A** (Figura 7): O Oleo de semente da *K. scoparia* foi transesterificado seguido dihidroxilado utilizando as metodologias descritas por (SUNDERMANN; SCHARF, 1996) utilizando permanganato de potássio-sulato de magnésio e a metodologia de (DANIELI et al., 1994) utilizando sulfato de magnésio permanganato de potássio-hidróxido de sódio-álcool *tert*-butilico. Seguido da lactonização e acetilação.
- ✓ **Rota B** (Figura 7): O Oleo de semente da *K. scoparia* sem tratamento prévio foi dihidroxilado utilizando as metodologias descritas por Sundermann, (1996) utilizando permanganato de potássio-sulato de magnésio e a metodologia de Danieli e colaboradores (1994) utilizando sulfato de magnésio permanganato de potássio-hidróxido de sódio-álcool *tert*-butilico. Seguido da lactonização e acetilação
- ✓ **Rota C** (Figura 7): O Oleo de semente da *K. scoparia* foi saponificado seguido da dihidroxilado utilizando as metodologias descritas por (SUNDERMANN; SCHARF, 1996) utilizando permanganato de potássio-sulato de magnésio e a metodologia de (DANIELI et al., 1994) utilizando sulfato de magnésio permanganato de potássio-hidróxido de sódio-álcool *tert*-butilico. Seguido de sua lactonização e acetilação em uma etapa seguida a metodologia de Michaelakis et al. (2005).

Figura 7 – 3 Rotas para preparação do 6-acetoxi-hexadecanolídeo



Fonte: Autor, 2012.

1.4 Resultados e Discussão

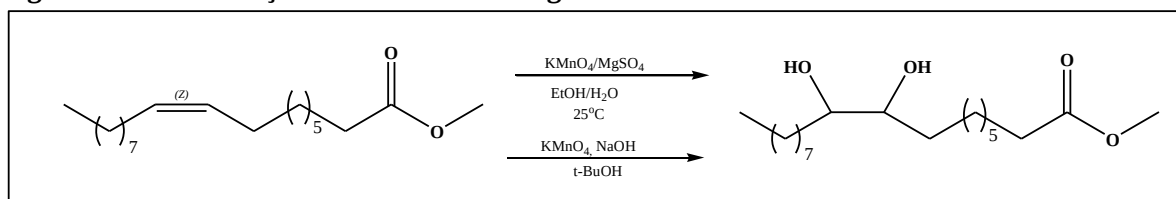
A reação com OsO_4 é o método mais comumente utilizado para a diidroxilação de alquenos e para nossa necessidade sintética é importante pois a diidroxilação deve ocorrer de forma *sin* (DEUBEL; FRENKING, 2003). Este reagente pode ser usado de forma catalítica, porém é caro e tóxico e devido a isso houve necessidade de substituição, com procura de outros catalisadores.

1.4.1 Diidroxilação em (Z)-9-Octadecenoato de metila

1.4.1.1 Diidroxilação utilizando Permanganato de Potássio

Foram utilizados dois métodos de hidroxilação com permanganato de potássio-hidróxido de sódio-álcool *tert*-butílico (SUNDERMANN; SCHARF, 1996) e permanganato de potássio-sulgato de magnésio (DANIELI et al., 1994), com. Indiferentemente do método utilizado, o permanganato foi recristalizado para torná-lo mais reativo para a síntese.

Figura 8 – Diidroxilação utilizando Permanganato de Potássio



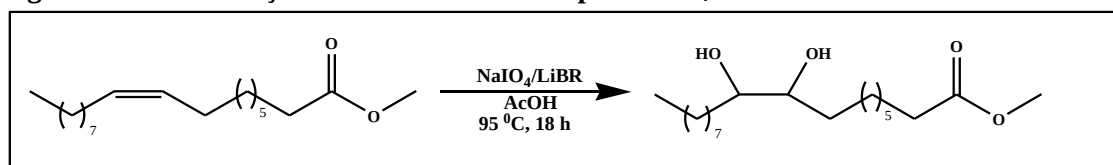
Fonte: Autor, 2012.

O melhor procedimento de síntese foi realizado à temperatura ambiente (25° C), com tempo de reação de quatro horas.

1.4.2 Diidroxilação de Olefinas mediada por NaIO₄/LiBr

LiBr catalisa eficientemente a diidroxilação de alcenos a Diois sin e anti com excelente, diastereosseletividade dependendo da utilização de NaIO₄ (30 mol%) ou PhI (OAc)₂ (1 equiv), respectivamente, como os oxidantes. A oxidação de não-benzílicos halogenetos foi alcançado pela primeira vez para se obter os dióis correspondentes com excelentes rendimentos. (EMMANUVEL; SHAIKH; SUDALAI, 2005).

Figura 9 – Diidroxilação de Olefinas mediada por NaIO₄/LiBr

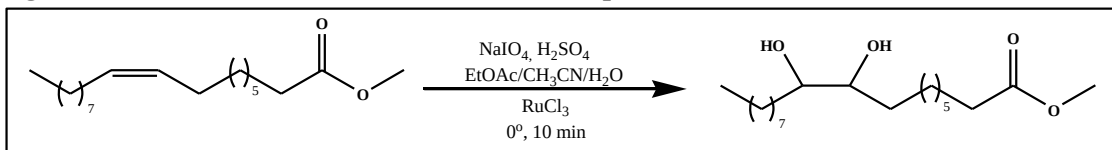


Fonte: Autor, 2012.

Seguindo a metodologia de Emmanuel, Shaikh e Sudalai (2005), a mistura de (Z)-9-octenoato de metila, periodato de sódio e brometo de lítio foi colocada num balão de fundo redondo e ácido acético glacial foi adicionado. A mistura foi aquecida a 95° C (utilizando-se banho de óleo), durante 18 horas. Análises por CCD em sílica comprovaram que havia ocorrido transformação do material de partida, mas a análise de RMN ¹H mostrou que o produto obtido não era o esperado.

1.4.3 Diidroxilação de Olefinas Catalisada por RuO₄

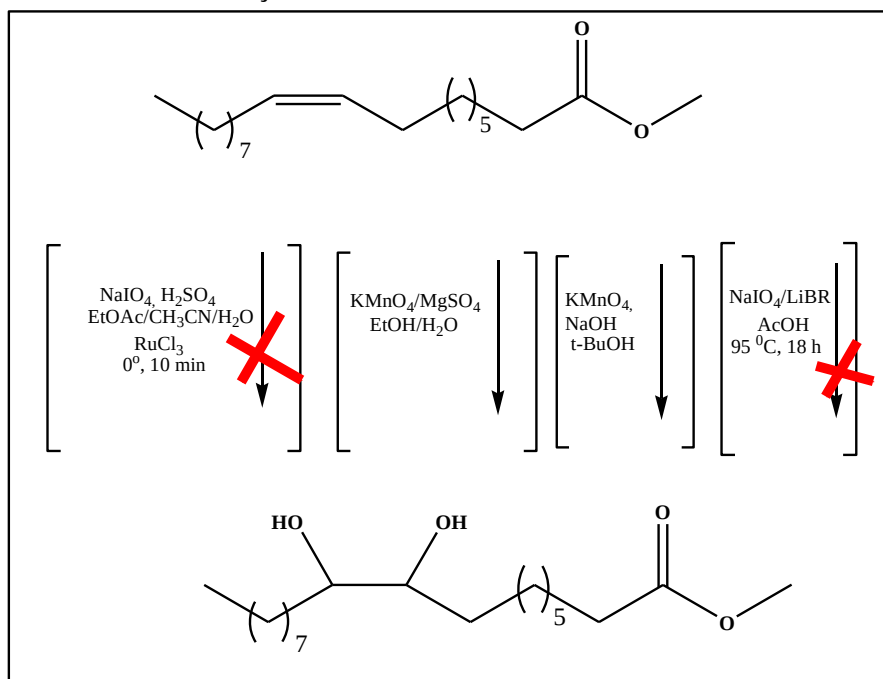
Figura 10- Diidroxilação de Olefinas Catalisada por RuO₄



Fonte: Autor, 2012.

Seguindo a metodologia de Plietker e Niggemann, (2003) diidroxilação utilizando rutênio em quantidade catalítica fornecendo fácil acesso a dióis-syn, embora overoxidation é uma reação comum. Análises por CCD em sílica comprovaram que havia ocorrido transformação do material de partida, mas a análise de RMN ¹H mostrou que o produto obtido não era o esperado.

Figura 11 – Resultado das diidroxilações

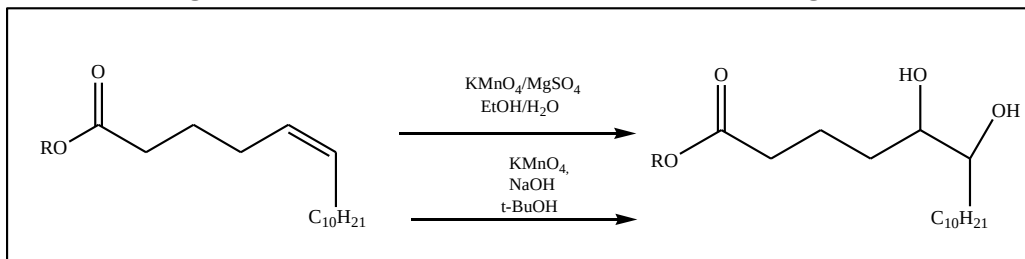


Fonte: Autor, 2012.

Após a constatação que a metodologias utilizando o reagente Permanganato de Pótassio, obtiveram o resultado esperado, passamos então ao óleo de semente de *K. scoparia*.

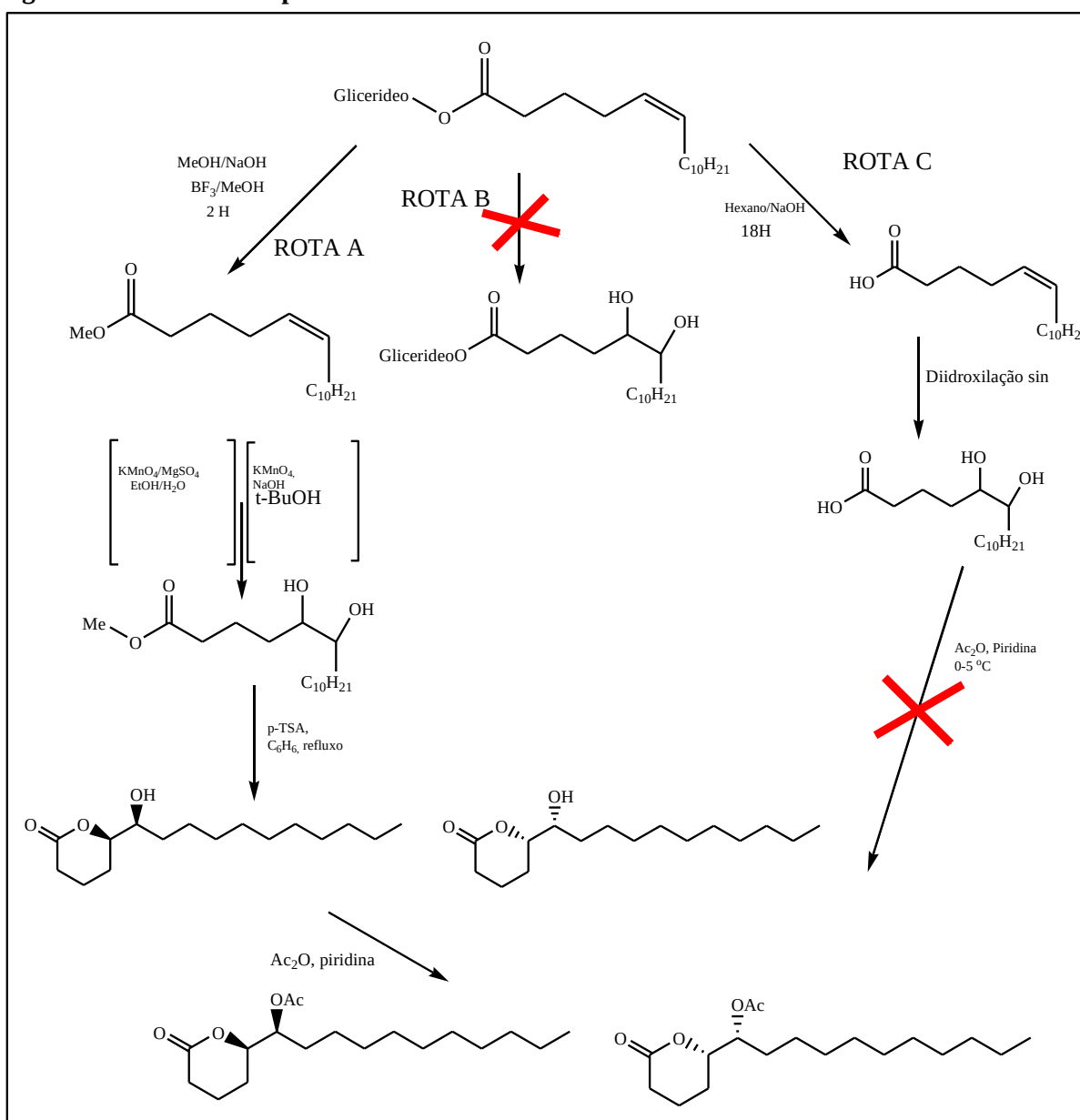
1.4.4 Diidroxilação do glicerídeo do ácido (Z)-5-hexadecenóico utilizando Permanganato de Potássio

Figura 12 – Metodologia de diidroxilação utilizando Permanganato de Potássio



Fonte: Autor, 2012.

Figura 13 – Resultado experimentais



Fonte: Autor, 2012.

1.5 Resultado Experimentais

- ✓ **Rota A:** A transesterificação do óleo da semente da *Kochia scoparia*, mostrou-se necessária para obtenção do produto oxidado. Sua posterior lactonização e acetilação levaram a resultados satisfatórios.
- ✓ **Rota B:** Como as reações utilizadas não levaram a resultados satisfatórios, resolveu-se fazer um tratamento no material de partida, retirando a cadeia glicerídica. Os tratamentos realizados resultaram no produto pode-se supor que o grupamento glicerídico pode interferir na adição à dupla ligação.
- ✓ **Rota C:** A saponificação do óleo da semente da *Kochia scoparia*, mostrou-se necessária para obtenção do produto oxidado. A reação descrita por Michaelakis et al. (2005) não obtivemos resultados.

1.6 Experimental

Espectros de RMN ^1H foram registrados usando como solvente o CDCl_3 com tetrametilsilano (TMS) como padrão interno, a 400 MHz em um espectrômetro JEOL GNX. Espectros de RMN ^{13}C foram obtidos em um espectrômetro JEOL a 100 MHz também usando TMS como padrão interno. O deslocamento químico (δH e δC) é registrado em partes por milhão (ppm) a partir do padrão interno (TMS) a 0,00 δ . A cromatografia gasosa (CG) foi executada usando um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas Hewlett-Packard 5890, equipado com injetor frio on-column, um detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de 50 m, 0,32 mm i.d. HP-1. A temperatura do forno foi mantida a 40 °C por 2 min e programado a 10 °C/min até 250 °C. O gás carreador foi o hélio. Utilizou-se sistema integrado de dados (70-250 VG Analytical and VG Autospec, Fisons Instruments). A ionização da amostra foi efetuada por impacto eletrônico a 70 eV e 230 °C. A temperatura do forno do CG foi mantida a 30 °C por 5 min e depois programada para aquecer 5 °C/min até 250 °C. As tentativas de identificação efetuadas com o CG/EM foram confirmadas por comparação dos dados dos espectros de massas com os de amostras autênticas e pelo aumento do pico quando co-injetado com composto autêntico usando o CG. Todos os solventes foram secados usando sulfato de magnésio anidro e foram removidos usando o evaporador rotatório da Buchi. Os solventes e reagentes foram usados sem tratamento prévio exceto quando comentado.

Material de partida. As sementes de *K. scoparia* foram produzidas pela Colegrave Seeds Limited, West Adderbury, Bambery, Oxon., U.K., em casa de vegetação, usando metodologia padrão. O óleo das sementes foi extraído pela English Hop Products Limited, Paddock Wood, Tombridge, U.K. O dióxido de carbono foi utilizado como fluido extrator (Lawset al., 1977) e as sementes de *K. scoparia* (480 g) foram extraídas pelo período de 7 h a 10 °C, 67 bar, com uma velocidade de fluxo de 6,5 kg de CO₂/h levando a um óleo marrom (39,9 g).

1.6.1 Diidroxilação para Formação do Glicerídeo do Ácido (5*rs*,6*sr*)-5,6-Diidroxihexadecanóico

✓ Diidroxilação em (Z)-9-Octadecenoato de metila

Permanganato de Potássio, Hidróxido de Sódio e etanol/água: Para uma solução de 100 mg (0,338 mmol) de (Z)-9-octenoato de metila foi adicionada uma quantidade de 200 mg (1,266 mmol) de KMnO₄ e 200 mg de MgSO₄ (1,67 mmol) em etanol/água (40 mL, 3:1). A reação foi realizada à temperatura ambiente (20 °C). O tempo de reação foi testado fazendo-se reações com variações de tempo como: 3 h, 6 h, 8 h, 24 e 48 h.

Permanganato de Potássio, Hidróxido de Sódio e *terc*-Butanol: A solução de permanganato de potássio 200 mg (1,266 mmol) e 80 mg (2 mmol) de hidróxido de sódio, em água, foi adicionada rapidamente numa mistura sob forte agitação, composta de *t*-BuOH/água (4,5:1) (30 mL) contendo 100 mg do (Z)-9-octenoato de metila (0,338 mmol). A reação foi testada em diferentes temperaturas e períodos de reação. Após cada reação, o produto era analisado primeiramente por CCD em sílica e se fosse constatada alguma mudança, era obtido o espectro de RMN ¹H, utilizando deuteroclorofórmio como solvente.

Diidroxilação de Olefinas Mediada por NaIO₄/LiBr: A mistura de (Z)-9-octenoato de metila, periodato de sódio e brometo de lítio foi colocada num balão de fundo arredondado e ácido acético glacial foi adicionado. A mistura foi aquecida a 95 °C (utilizando-se banho de óleo) e deixando por 18 horas. Análises por CCD de sílica comprovaram que havia ocorrido transformação da olefina, mas a análise de RMN ¹H comprovou-se que o produto obtido não era o esperado.

Diidroxilação de Olefinas Catalisada por RuO₄: A um balão de fundo redondo de 50mL, equipado com uma barra de agitação magnética com baixa pressão, NaIO₄ foi colocado em agitação com ácido sulfúrico. Depois de todos os sólidos serem dissolvidos, a solução foi resfriada e RuCl₃ foi adicionado. Acetato de etila foi adicionado sob agitação por 5 min. Acetonitrila foi adicionada e a mistura foi agitada por mais 5 min. O (Z)-9-octenoato de metila foi adicionado de uma única vez e o produto resultante foi deixado em agitação até que o produto inicial fosse consumido totalmente.

1.6.2 Rota A Preparação do (5*rs*,6*sr*)-5,6-Diidroxi-Hexadecanóico na Forma do Metil-Ester para Formação do 6-Acetoxi-Hexadecanolídeo

✓ Ester do Ácido 5-Hexadecenoico

Transesterificação KOH/MeOH: A mistura do glicerídeo do ácido (Z)-5-hexadecenóico, hidróxido de potássio e metanol foi agitada a temperatura ambiente (24 °C) por 24 horas e, em seguida, foi acidulada com HCl (3 mol L⁻¹). Análises por CCD em sílica e por RMN ¹H a 500 MHz atestaram a ocorrência da reação, sendo confirmada a formação do éster do ácido graxo. Utilizou-se a cromatografia em coluna de sílica para a purificação do produto da reação.

Transesterificação com BF₃/MeOH: uma solução de *K. scoparia* (1.0 g) em BF₃/MeOH (50%, 30 mL) foi colocado sobre refluxo por 2 horas. A solução foi resfriada foi diluída em água destilada (100 mL) e extraída com Acetato de Etila (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas foram lavadas com a solução de bicarbonato de sódio (10%, 40 mL) e depois seca com Sulfato de Magnésio. Concentrado resultando em um óleo de (0.68 g).

✓ (5*RS*,6*SR*)-5,6-Diidroxi-hexadecanoato de Metila –

Permanganato de Potássio e Sulfato de Magnésio – Para uma solução de 100 mg do Ester do Ácido hexadecanóico(0,34 mmol) foi adicionada uma quantidade de 200 mg (1,266 mmol) de KMnO₄ e 200 mg de MgSO₄ (1,67 mmol) em etanol/água (40 mL, 3:1). A reação foi realizada à temperatura ambiente (20 °C). A reação foi deixada a reagir por 24 horas a temperatura ambiente. NaHSO₃ foi adicionado, a reação foi filtrada em celite e então extraída com éter, solução de brine e seco com MgSO₃. A reação foi concentrada e analisada por RMN ¹H a 500 MHz, tendo como solvente clorofórmio deuterado.

Hidróxido de Sódio e Alcool *tert*-Butilico – A solução de permanganato de potássio 200 mg (1,266 mmol) e 80 mg (2 mmol) de hidróxido de sódio, em água, foi adicionada rapidamente numa mistura sob forte agitação, composta de *t*-BuOH/água (4,5:1) (30 mL) para uma solução de 100 mg do Ester do Ácido hexadecanóico (0,34 mmol), a reação foi deixada a temperatura ambiente por 12 horas. NaHSO₃ foi adicionado, a reação foi filtrada em celite e então extraída com éter, solução de brine e seco com MgSO₃. A reação foi concentrada e analisada por RMN ¹H a 500 MHz, tendo como solvente clorofórmio deuterado.

(5*RS*,6*SR*)-6-Hidroxi-5-Hexadecanolídeo - Ao éster foram adicionados NaOH (1 mol L⁻¹) e etanol e a mistura foi colocada sob agitação por 2 horas. Em seguida, o solvente foi removido por destilação a pressão reduzida e o resíduo dissolvido em água e neutralizado com HCl. A parte aquosa foi extraída com acetato de etila, lavada com solução salina saturada e secada com MgSO₄. A solução resultante foi colocada em refluxo em tolueno por 12 h com pequena quantidade de ácido *p*-toluenossulfônico.

(5*RS*,6*SR*)-6-Acetoxi-5-Hexadecanolídeo - Acetilação da hidroxilactona: Uma solução de (0.5 g) (5*RS*,6*SR*)-6-Hidroxi-5-Hexadecanolídeo foi tratada com anidrido acético (15 mL) e piridina seca (2 mL) e a reação mantida sob agitação magnética por 72 horas. Ao final, a mistura reacional foi recebida em gelo picado e após uma hora foi extraída com éter de petróleo. A fase orgânica foi lavada com HCl, água, NaHCO₃, e solução saturada de NaCl e depois foi secada com sulfato de magnésio. Após remoção do solvente e purificação da mistura reacional, obtivemos o feromônio de oviposição (-)-(5*R*,6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo

1.6.3 Rota B 3–Preparação do (5*rs*,6*sr*)-5,6-Diidroxi-Hexadecanóico na Forma de Glicerídeo

✓ Preparação do (5*RS*,6*SR*)-5,6-Diidroxi-hexadecanoico na forma de glicerídeo

Permanganato de Potássio e Sulfato de Magnésio – Para uma solução de 100 mg do óleo da *K. scoparia* foi adicionada uma quantidade de 200 mg (1,266 mmol) de KMnO₄ e 200 mg de MgSO₄ (1,67 mmol) em etanol/água (40 mL, 3:1). A reação foi realizada à temperatura ambiente (20 °C). A reação foi deixada a reagir por 24 horas a temperatura ambiente. NaHSO₃ foi adicionado, a reação foi filtrada em celite e então extraída com éter, solução de

brine e seco com MgSO_3 . A reação foi concentrada e analisada por RMN ^1H a 500 MHz, tendo como solvente clorofórmio deuterado.

Hidróxido de Sódio e Alcool *tert*-Butílico – A solução de permanganato de potássio 200 mg (1,266 mmol) e 80 mg (2 mmol) de hidróxido de sódio, em água, foi adicionada rapidamente numa mistura sob forte agitação, composta de *t*-BuOH/água (4,5:1) (30 mL) para uma solução de 100 mg do óleo da *K. scoparia* a reação foi deixada a temperatura ambiente por 12 horas. NaHSO_3 foi adicionado, a reação foi filtrada em celite e então extraída com éter, solução de brine e seco com MgSO_3 . A reação foi concentrada e analisada por RMN ^1H a 500 MHz, tendo como solvente clorofórmio deuterado.

1.6.4 Rota C-Preparação do (5*rs*,6*sr*)-5,6-Diidroxi-Hexadecanóico n Forma do Acido Hexadecenoico:

✓ **Acido Hexadecenoico**

Saponificação do óleo da *K. scoparia* Hexano/ NaOH - Uma solução de 3 g do óleo da *K. scoparia* em hexano (80 mL) foi adicionado uma solução diluída de hidróxido de Sódio (2 M, 100 mL) e a solução foi colocado sob refluxo por 18 horas. A solução foi lavada com hexano (100 mL), a fase aquosa foi separada, a solução foi resfriada e acidulada com HCl (6 M). A solução foi então extraída com Acetato de Etila (3 x 100 mL), suas fases orgânicas foram combinadas e secas. O solvente foi evaporado resultando em produto esverdeado de (0.65 g).

✓ **Ácido (5*RS*,6*SR*)-Diidroxi-hexadecanóico**

Permanganato de Potássio e Sulfato de Magnésio – Para uma solução de 100 mg do Ácido hexadecanóico (0,40 mmol) foi adicionada uma quantidade de 200 mg (1,266 mmol) de KMnO_4 e 200 mg de MgSO_4 (1,67 mmol) em etanol/água (40 mL, 3:1). A reação foi realizada à temperatura ambiente (20 °C). A reação foi deixada a reagir por 24 horas a temperatura ambiente. NaHSO_3 foi adicionado, a reação foi filtrada em celite e então extraída com éter, solução de brine e seco com MgSO_3 . A reação foi concentrada e analisada por RMN ^1H a 500 MHz, tendo como solvente clorofórmio deuterado.

Hidróxido de Sódio e Alcool *tert*-Butilico – A solução de permanganato de potássio 200 mg (1,266 mmol) e 80 mg (2 mmol) de hidróxido de sódio, em água, foi adicionada rapidamente numa mistura sob forte agitação, composta de *t*-BuOH/água (4,5:1) (30 mL) para uma solução de 100 mg do Ácido hexadecanóico (0,40 mmol), a reação foi deixada a temperatura ambiente por 12 horas. NaHSO₃ foi adicionado, a reação foi filtrada em celite e então extraída com éter, solução de brine e seco com MgSO₃. A reação foi concentrada e analisada por RMN ¹H a 500 MHz, tendo como solvente clorofórmio deuterado.

(5*RS*,6*SR*)-6-Acetoxi-5-Hexadecanolideo: Para uma solução de (5,6)-Diidroxi-hexadecanóico (0,10g, 0,35 mmol) em piridina seca (6ml) a 0° C foi adicionado Ac₂O (1,18ml, 12,5mmol). A mistura reacional foi deixada a reagir foi deixada a reagir sobre forte agitação a 0-5 °C por 3 horas. Acetato de etila foi adicionado e a fase orgânica foi lavada com Sulfato de Cobre (CuSO₄), Bicarbonato de Sódio (NaHCO₃), água e solução de brine, e seca com Sulfato de Magnésio. Os resultados das análises de GC-MS e RMN ¹H e ¹³C atestaram a formação do produto.

1.7 Considerações Finais

Ao todo 96 experimentos foram realizados em diferentes condições (reagentes, temperaturas e tempos de reação). A nossa tentativa de encontrar um novo método de adição de duas hidroxilas a dupla ligação do ácido (Z)-5-hexadecenóico teve sucesso.

A quantidade de material formado é pequena, obtivemos menos de 1% de rendimento em relação à quantidade de óleo de *K. scoparia*. Devo lembrar que no óleo original tem-se uma quantidade aproximada de 5% do ácido (Z)-5-hexadecenóico.

Os resultados nos mostraram que a via utilizando o ácido (Z)-5-hexadecenóico com permanganato de potássio é mais econômica e também mais segura. Em virtude da grande dificuldade de aquisição, toxicidade e também ao alto preço do tetróxido de ósmio, a reação deve ser efetuada com o permanganato de potássio. O problema da utilização deste reagente é que o permanganato de potássio precisa ser utilizado com um rigoroso controle, pois é um agente oxidante muito forte e pode dar origem a vários subprodutos, diminuindo assim o rendimento do glicol desejado.

Com base no rendimento da reação mesmo com o óleo de *K. scoparia*, o custo de obtenção foi estimado em \$3.00/g o que torna o produto bem competitivo com o material obtido por síntese química [ex. \$15,00/g usando a rota descrita por DAWSON et al. (1990)] com base em um rendimento na obtenção do feromônio de 0,04 g feromônio/g do óleo de *K. scoparia*. Com o rendimento de (11000 kg/ha) de semente pode-se ter a produção do feromônio superior a 3 kg/ha. Esta seria uma importante fonte de produção de semioquímicos de forma eficiente, barata e sustentável.

1.8 Prospeção

1.8.1 Síntese Heterologa

A biotecnologia expandiu nos últimos anos, gerando novos produtos e processos aplicáveis em diversos setores, tais como: na medicina, agricultura, produção de fármacos e na geração de bioenergia (MARCELINO et al., 2004). Esta ciência faz uso de sistemas celulares de diversos organismos, sendo os mais simples os mais utilizados, para o desenvolvimento de processos e produtos de interesse econômico, social e/ou ambiental (AZEVEDO, 1997) e baseia-se na busca e descoberta de recursos biológicos industrialmente exploráveis. Uma abordagem clássica das etapas do processo de busca e descoberta biotecnológica passa pela coleta de material biológico adequado, seguida da seleção e triagem de materiais com atributos desejados, seleção final dos melhores candidatos a partir de uma lista reduzida de opções e culmina com o desenvolvimento de um produto comercial ou processo industrial (BULL; WARD; GOODFELLOW, 2000).

Dados e metodologias estão sendo levantados para síntese heteróloga do ácido hexadecenoico. O experimento será realizado em parceria com Rothamsted Research.

CONCLUSÃO

O meio mais simples e barato encontrado para a substituição do tetróxido de ósmio foi a utilização do permanganato de potássio em meio alcalino. Esse reagente pode ser usado para a síntese do produto (-)-(5*R*,6*S*)-6-acetoxi-5-hexadecanolídeo

REFERENCIAS

- ALVES, S. N.; TIBÚRCIO, J. D.; MELO, A. L. Suscetibilidade de larvas de *Culexquinquefasciatus* diferentes inseticidas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 44, n. 4, p. 486-489, 2011. ISSN 0037-8682.
- BENTLEY, M. D.; DAY, J. F. Chemical ecology and behoviral aspects of mosquito ovipontion. **An. Rev. Entomol.**, v. 34, p. 401-421, 1989.
- BONINI, C. et al. Enantio and stereoselective synthesis of (5*R*,6*S*)-6-acetoxy-5-hexadecanolide, a mosquito oviposition attractant pheromone. **Tetrahedron**, Oxford, v. 51, p. 4111-4116, 1995. ISSN 0040-4020.
- BRAKS, M. A. H.; CARDE, R.T. Improving efficacy of box gravid traps for collecting *Culexquinquefasciatus*. **J .Vect. Ecol.**, v. 32, p. 83-89, 2007. ISSN 1948-7134.
- BULL, A. T.; WARD, A. C. ; GOODFELLOW, M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, Washington, v.64, n. 3, p. 573-606, 2000. ISSN 1092-2172.
- CONSOLLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998. ISBN 85-85676-03-5.
- COULADOUROS, E. A.; ANDMIHOU, A. P. A general synthetic route towards γ - and δ -Lactones. Total asymmetric synthesis of (-)-muricatacin and the mosquito oviposition pheromone (5*R*,6*S*)-6-Acetoxy-hexadecanolide. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 40, p. 4861-4862, 1999. ISSN 0040-4039.
- DANIELI, B. et al. Highly enantioselective synthesis of (-)-Antirrhine by chemo-enzymatic approach, **Tetrahedron**, Oxford, v. 50, n. 29, p. 8837-8852, 1994. ISSN 0040-4020.
- DOBELI, H. et al. Recombinant fusion proteins for the industrial production of disulphide bridge containing peptides: purification, oxidation without concatamer formation, and selective cleavage. **Protein Expr. Purif.**, San Diego, v. 12, p. 404-14, 1998. ISSN. 1046-5928.
- EMMANUVEL, L.; SHAIKH, T. M. A.; SUDALAI, A. NaIO₄/LiBr-mediated diastereoselective dihydroxylation of olefins: a catalytic approach to the prevost: woodward reaction. **Organic Letters**, Washington,v. 7 , n. 2, p. 5071-5074, 2005. ISSN 1523-7060.
- FIELDS, G. B.; NOBLE, R. L. Solid-phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl aminoacids. **Int. J. Pept. Prot. Res.**, v. 35, p. 161-214, 1990. ISSN 1573-3904.
- HWANG, H. M.; HU, X.; ZHAO, X. Enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by environmentally friendly techniques. **J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.**, v .25, n. 4, p. 313-52, Oct./Dec, 2007. ISSN 1059-0501.

IKISHIMA, H. et al. Synthesis of (–)-(5*R*,6*S*)-6-acetoxyhexadecanolide based on *L*-proline-catalyzed asymmetric aldol reactions. **Tetrahedron**, Oxford, v. 62, p. 311-316, 2006. ISSN 0040-4020.

KANG, S. K.; CHO, I. H. An enantio specific synthesis of (–)-(5*R*,6*S*)-6-acetoxy 5-hexadecanolide, the mosquito oviposition attractant pheromone. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 30, p. 743-746, 1989. ISSN 0040-4039.

KO, K.Y.; ELIEL, E. L.. Asymmetric synthesis of (5*R*,6*S*)-6-acetoxy-hexadecanolide, the major component of the oviposition attractant pheromone of the mosquito *Culex pipiens fatigans*, and two of its stereoisomers. **J. Org. Chem.**, Washington, v. 51, p. 5353-5362, 1986. ISSN 0022-3263.

KULIOPULOS, A.; WALSH, C. T. Production, purification, and cleavage of tandem repeats of recombinant peptides. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 116, p. 4599-4607, 1994. ISSN 0002-7863.

MCCALL, P. J. Chemoecology of oviposition in insects of medical and veterinary importance. In: HILKER, M.; T. MEINERS, T. (Ed.). **Chemoecology of insect eggs and egg deposition**. Berlin: Blackwell Publishing, 2002. p. 265-289.

MARCELINO, F. C. et al Detecção de transgenicos. a experiencia da agroenetica. **Ciência Hoje**, São Paulo: SBPC, v. 34, n. 203, p. 38-39. abr. 2004.

MBOERA, L. E. G. et al. Sampling gravid *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) Tanzania with traps baited with synthetic oviposition pheromone and grass infusion. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, Fresno, v. 37, p. 172-76, 2000. ISSN 8756-971X.

MICHAELAKIS, A. et al. Influence of the microencapsulated pheromone from aged infusion as an oviposition medium of the West Nile virus vector *Culex pipiens*. **Parasitol. Res.**, v.104, p. 1005-1009, 2009. ISSN 0932-0113.

_____. et al. Oviposition responses of *Culex pipiens* to a synthetic racemic *Culex quinquefasciatus* oviposition aggregation pheromone. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 53, p. 5225-5229, 2005. ISSN 0021-8561.

MUSEU da Vida. Disponível em: <www.museudavida.fiocruz.br>. Acesso em: 27 de fev.2008.

OCHIAI, M. et al. Stereochemistry of an oxidative 1,4-fragmentation of γ -stannyl alcohols with a hypervalent organoiodine compound and the synthesis of *erythro*-6-acetoxyhexadecan-5-olide. **J. Chem. Soc. Chem. Communication**, p. 637-638, 1985.

OLAGBEMIRO, T. O. et al. Laboratory and field responses of the pathogen-vectoring mosquito, *Culex quinquefasciatus*, to plant derived oviposition pheromone and the oviposition pheromone and the oviposition cue skatole. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 30, p. 965-976, 2004. ISSN 0098-0331.

OLAGBEMIRO, T. O. et al. Production of (5R,6S)-6-Acetoxy-5-hexadecanolide, the Mosquito Oviposition Pheromone, from the Seed Oil of the Summer Cypress Plant, *Kochia scoparia*. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 47, n. 8, p. 3411-3415, 1999. ISSN 0021-8561.

OSGOOD, C. E. An oviposition pheromone associated with the egg rafts of *Culex tarsalis*. **J. Econ. Entomol.**, College Park, 64, p. 1038-1041, 1971. ISSN 0022-0493.

_____; KEMSTER, R. H. An air-flow olfactometer for distinguishing between oviposition attractants and stimulants of mosquitoes. **J. Econ. Entomol.**, College Park, 64, p. 1109-1110, 1971. ISSN 0022-0493.

PINHEIRO, F. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever and its emergence in the Americas. **World Health Stat. Q**, Geneve, v. 50, n. 3-4, p. 161-169, 1997. ISSN 0379-8070.

PLIETKER, B., NIGGEMANN, M. An improved protocol for the RuO₄-Catalyzed dihydroxylation of olefins. **Organic Letters**, Washington, v. 5, n. 18, p. 3353-3356, 2003. ISSN 1523-7060.

RAMASWAMY, S.; OEHLISCHLAGER, A. C. Chemico- microbial syntheses of Japanese beetle and mosquito oviposition pheromones. **Tetrahedron**, Oxford, v. 47, p. 1145-1156, 1991. ISSN 0040-4020.

SATHANTRIPHOP, S. et al. Susceptibility and avoidance behavior by *Culex quinquefasciatus* Say to three classes of residual insecticides. **J. Vector Ecol.**, Santa Ana, v. 31, n. 2, p. 266-274, 2006. ISSN 1948-7134.

SUNDERMANN, B.; SCHARF, H. Short and efficient synthesis of enantiomerically pure building blocks for the preparation of carbocyclic nucleosides and prostaglandins via diastereoselective dihydroxylation of 5-Menthyloxy-2(5H)-furanone. **Tetrahedron**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 1995-1998, Jul. 1996. ISSN 0040-4020, 1996.

TROST, B.; RHEE, Y. H. A Ru catalyzed divergence: Oxidative cyclization vscycloisomerization of bis-homopropargylic alcohols. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 124, n. 11, p. 2528-2533, 1994. ISSN 0002-7863.

WILLIAMS, T.; GINGRICH, J. B. Comparison of light traps, gravid traps, and resting boxes for West Nile virus surveillance. **J. Vect. Ecol.**, Santa Ana, v. 32, n. p. 285-291, 2007. ISSN 1948-7134.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the expert committee on vector biology and control. **World Health Organ. Tech. Rep. Ser.** [journal], Geneva, v. 818, p. 1-62, 1992. ISSN 0512-3054.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Division of Control Tropical Diseases. Test procedures for insecticide resistance, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. In: _____. **Report of WHO Informal Consultation**. Geneva, 1998. (Document WHO/CTP/MAL/98.12).

**CAPITULO 2 – “SCALE UP” DE REAÇÕES PARA A SÍNTESE DOS FEROMÔNIOS
DO MOLEQUE DA BANANEIRA *COSMOPOLITES SORDIDUS*
E SÍNTESE E FORMULAÇÃO PARA O FEROMÔNIO DE
*METAMASIUS HEMIPTERUS***

2.1 Introdução

A motivação para se planejar e realizar uma síntese pode se originar de diferentes interesses sendo que alguns são pessoais. Por exemplo, pode-se iniciar uma síntese como um desafio intelectual de desenvolver algo complexo ou porque a estrutura-alvo é bela e intrigante (arte em síntese orgânica). Em outras situações, são desenvolvidas sínteses buscando provar alguma propriedade intrínseca da substância (oportunidade) ou a sua estereoquímica (necessidade). Na maioria dos casos, as primeiras sínteses totais de produtos naturais importantes não foram eficientes e, portanto, se as substâncias são valiosas do ponto de vista biológico, são necessárias rotas curtas e com reagentes baratos, fáceis de manusear, não tóxicos e eficientes (praticidade), sempre que possível. Em resumo, a otimização do processo em termos de rendimento e custo é a diferença entre o fracasso e o sucesso, na sua utilização posterior.

As aplicações práticas dos feromônios dependem da disponibilidade de materiais, de liberadores eficientes e da síntese econômica dos produtos químicos ativos (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010).

Os propósitos da síntese na ciência que estuda os feromônios, segundo (MORI, 2004) são: (1) Para estabelecer a estrutura proposta, incluindo sua configuração absoluta e (2) para prover amostras em quantidade suficiente para estudos biológicos e práticos para o controle de pragas. O aumento de escala da síntese na cadeia de inovação em feromônios, seria então o grande gargalo no processo de popularização da utilização dos feromônios. A universidade ou instituto produz miligramas e a indústria necessita validar a metodologia para alguns gramas. Acontece várias vezes do composto se tornar inviável economicamente, devida à sua complexidade química e às suas propriedades intrínsecas, como estabilidade e outros.

Devido a isto, poucas indústrias químicas convencionais têm investido em feromônios, e essa falta de engajamento levou à crença de que a tecnologia de preparação e utilização de feromônios não seria viável economicamente. Empresas menores que se especializam em um tipo específico de produto, e que tenham flexibilidade e despesas gerais mais baixas, podem fazer seus investimentos em semioquímicos e se tornar financeiramente viáveis. Por exemplo, o preço do codlemone (*E,E*)-8,10-dodecadienol, Pestanal®, Preço Sigma R\$363,00 – 50 mg) sintético no início da década de noventa, foi muito elevado para fins comerciais, mas o

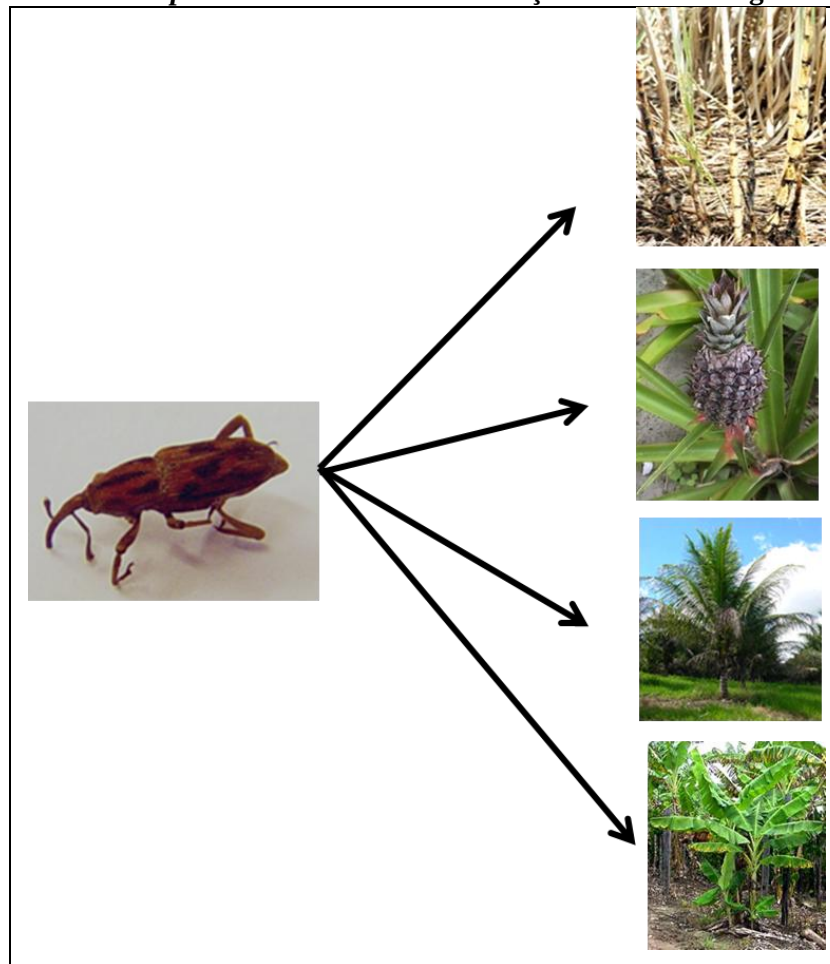
aumento de escala da síntese (YAMAMOTO; OGAWA, 1989) tornou possível explorá-lo comercialmente. A produção anual de codlemone, o composto principal do feromônio da traça “codling”, é da ordem de 25 toneladas e o preço do codlemone está agora bem abaixo de 1.000 US\$/kg.

A síntese destes feromônios tem o objetivo de comprovar sua eficiência e encontrar a forma mais econômica de sintetizá-los, para possível uso em Manejo Integrado de Pragas.

2.2 Pragas Alvo

2.2.1 *Metamasius hemipterus*

Figura 1 – *Metamasius hemipterus* e efeitos de sua infestação em culturas agrícolas



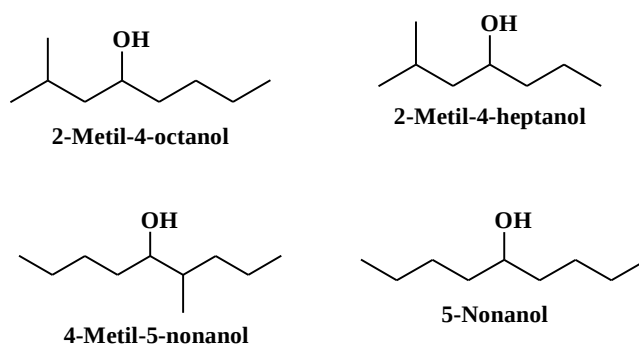
Fonte: Autor, 2012.

M. hemipterus (Figura 1) destaca-se como a principal praga da pupunha, palmácea de grande valor econômico no Brasil (ZORZENON; BERGMANN; BICUDO, 2000; GOMES, 2008), no entanto, normalmente é considerado como praga secundária nas culturas da

bananeira, cana-de-açúcar e abacaxi, sendo geralmente encontrado em tecidos em processo de fermentação/decomposição. Porém é nas palmáceas que vem se destacando cada vez mais como praga, principalmente quando em surtos frequentes, como os que ocorrem no Nordeste brasileiro ou quando envolvido na transmissão de patógenos (WARWICK; FERREIRA; TALAMINI, 2009; AZEVEDO et al., 2010; FERREIRA et al., 2010).

O feromônio desta coleobroca foi identificado como sendo a mistura de quatro álcoois: 2-metil-4-octanol, 2-metil-4-heptanol, 4-metil-5-nonanol e 5-nonanol (RAMIREZ-LUCAS et al., 1996; ALPIZAR et al., 2002) (Figura 2)

Figura 2 – Moléculas constituintes do feromônio do *M. hemipterus*

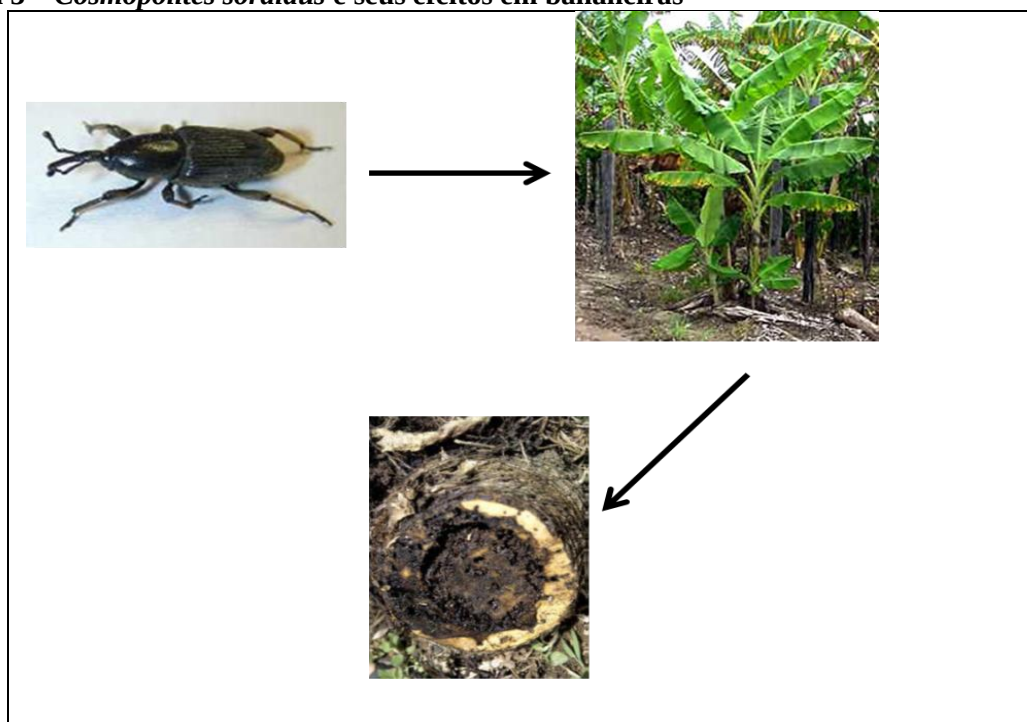


Fonte: Autor, 2012.

2.2.2 *Cosmopolites sordidus*

O moleque-da-bananeira, *Cosmopolites sordidus* (GERMAR, 1924) (Coleoptera: Curculionidae, Rhynchophorinae) (Figura 3) tem sua origem, provavelmente, na região sudeste da Ásia. Sua ocorrência no Brasil foi registrada por Chevrolat, em 1885 (CUIILLÉ, 1950; ARLEU, 1982). Em 1915, foi observado em Campos - RJ (COSTA-LIMA, 1956) e posteriormente, em 1968, Silva e colaborador (SILVA; SIMONE, 1968) relataram a ocorrência de *C. sordidus* em todos os estados brasileiros onde exista o cultivo da banana. Atualmente, encontram-se distribuído em todas as Américas, África, Ásia e Oceania (MONTELANO, 1954; SILVA et al., 1966; BECCARI, 1967; FEAKIN, 1975).

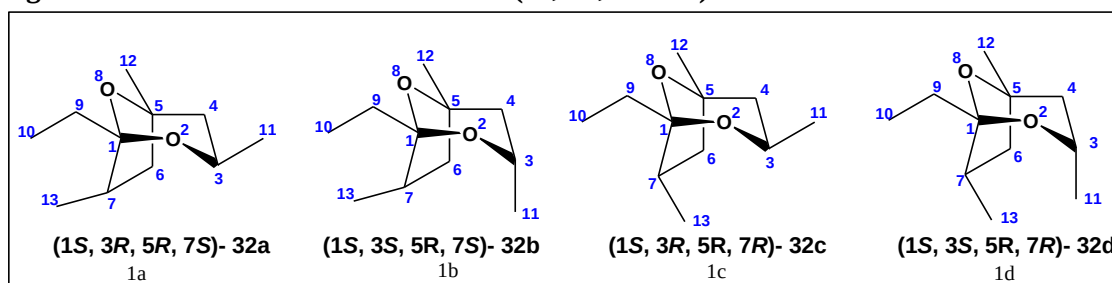
Figura 3 – *Cosmopolites sordidus* e seus efeitos em bananeiras



Fonte: Autor, 2012.

Beauhaire et al. (1995) identificaram e sintetizaram os principais constituintes do feromônio de agregação emitido pelo macho de *C. sordidus*. O composto majoritário chamado de sordidina teve sua atividade biológica comprovada por eletroantenografia (CG-EAD) e em teste de campo (BEAUHAIRE et al., 1995; MENDONÇA, 1999). A sordidina: 2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano (**1**) é estruturalmente um cetol bicíclico que na rota sintética utilizada forma os 4 isômeros: **1a**, **1b**, **1c** e **1d** (Figura 4), sendo o estereoisômero (1*S*, 3*R*, 5*R*, 7*S*)-2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano (**1a**) o principal componente ativo (BEAUHAIRE et al., 1995) (Figura 4).

Figura 4 – Estereoisômeros da sordidina (1a, 1b, 1c e 1d)



Fonte: Autor, 2012.

De acordo com Jayaraman et al. (1997), que prepararam e usaram uma mistura dos 4 diastereoisômeros, foi verificado que a mistura estereoisomérica dos mesmos não interferiu na captura dos insetos, também não houve diferença entre os isômeros aplicados isoladamente ou combinados entre si, dois a dois, quando comparado com a mistura racêmica.

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo Geral

Obter os feromônios sinteticamente em escala industrial, utilizando métodos clássicos e matérias-primas abundantes e de baixo custo.

2.3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Obter em maior escala e em condições mais brandas o 4-metil-4-penten-2-ol, precursor da síntese do (1*S*, 3*R*, 5*R*, 7*S*)-2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbicyclo[3.2.1]octano (feromônio de agregação do *Cosmopolites sordidus*)
- ✓ Obter em escala comercial os constituintes feromonais do *Metamasius hemipterus*.

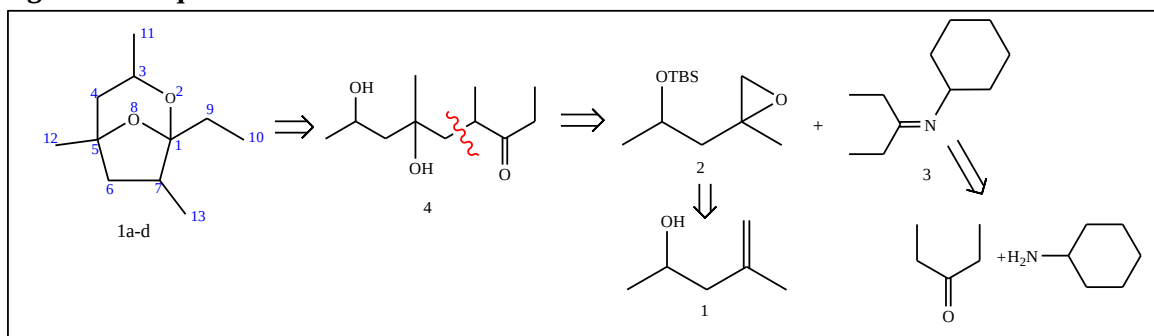
2.4 Resultados e Discussões

✓ Síntese do (1*S*, 3*R*, 5*R*, 7*S*)-2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbicyclo[3.2.1]octano

Foram realizadas atividades para aprimorar a síntese da sordidina (Figura 5, retrosíntese) com o scale up da reação para uma escala preparativa, visando à produção do feromônio, em escala comercial seguindo trabalho realizado por Freitas, (2009) (Figura 6):

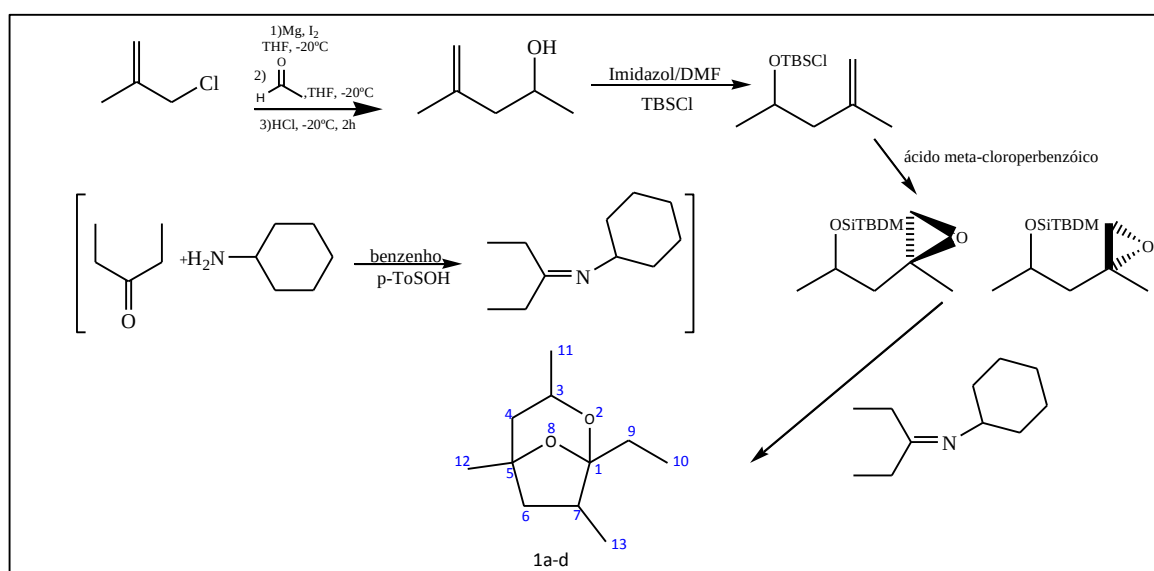
Os experimentos foram realizados na Universidade de Alicante-Espanha no Departamento de Química Orgânica Sintética, sob supervisão dos Professores Isidro Pastor e Miguel Yus, no ano de 2010. A mudança na formação do 4-metil-4-penten-2-ol é primordial para obtenção do feromônio em escala comercial.

Figura 5 – Esquema da retrossíntese da sordidina



Fonte: Autor, 2012.

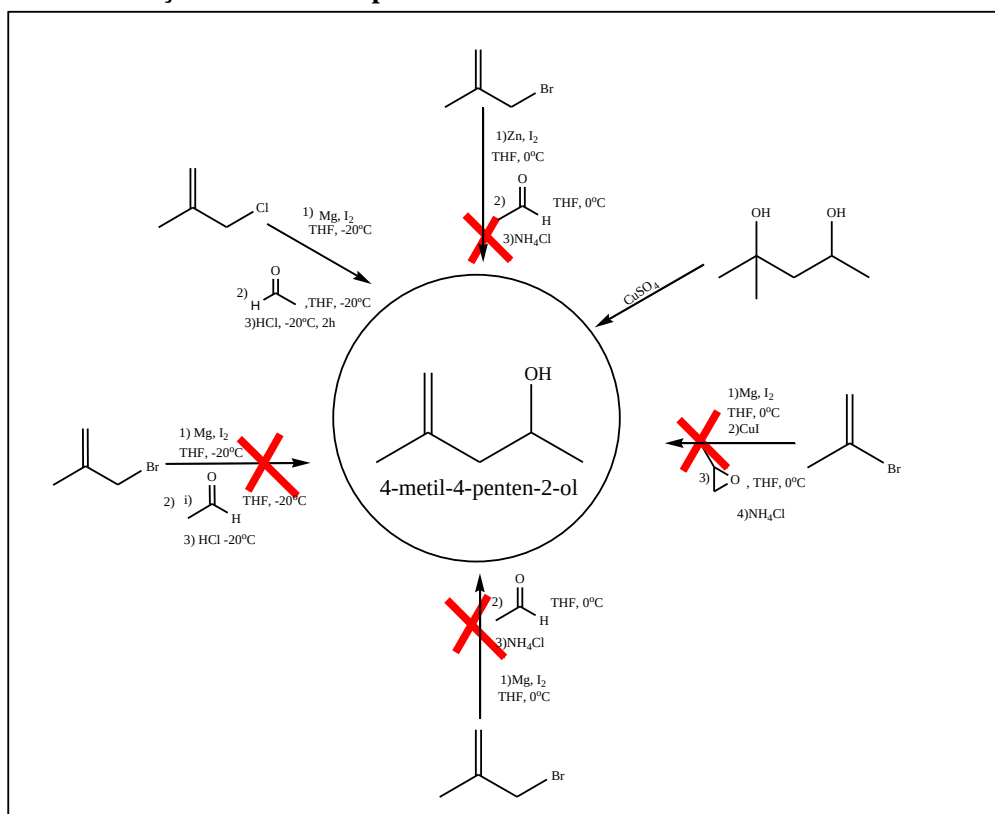
Figura 6 – Síntese dos isômeros da sordidina



Fonte: Freitas, 2009.

Com o método utilizado por Freitas, (2009), foi obtido um rendimento total razoável e na qual foi investido mais tempo. A tentativa foi inicialmente obter o máximo de rendimento com esta metodologia de síntese convergente e aos poucos ir adicionando modificações para melhorar o rendimento do produto. Não há necessidade de obtenção do produto enantiomericamente puro, mas seria conveniente ter um produto enriquecido com o isômero **1a**, descrito como o mais ativo (BEAUHAIRE et al., 1995). Assim passamos a trabalhar no scaling up da reação. O primeiro passo foi a obtenção do 4-metil-4-penten-2-ol (Figura 7)

Figura 7 – Obtenção do 4-metil-4-penten-2-ol



Fonte: Autor, 2012.

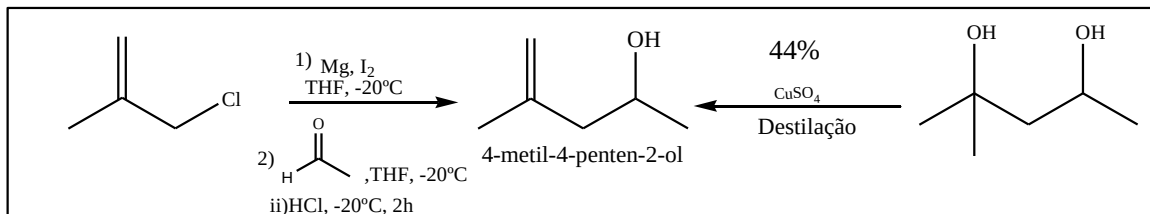
✓ **Preparação do 4-metil-4-penten-2-ol**

Inicialmente, o método utilizado para preparar este álcool foi a reação entre o 2-bromopropeno e o óxido de propileno, na presença de CuI (Iodeto de Cobre). Esta metodologia já é descrita na literatura com altos rendimentos para preparação deste composto (FLETCHER; MOORE; KITCHING, 1997), entretanto, não obtivemos bons rendimentos. Posteriormente, tentamos a preparação deste álcool, através da reação do organomagnésio proveniente do 3-bromo-2-metil-1-propeno com acetaldeído, utilizando-se as metodologias desenvolvidas por Barbier e por Grignard com zinco metálico ativado e magnésio metálico ativado.

O método que forneceu os melhores resultados utilizando a síntese de Grignard, foi a utilização do 3-cloro-2-metil-1-propeno, para formação do organomagnésio. Tal modificação elevou significativamente os rendimentos reacionais. Isso ocorreu, porque o reagente de Grignard formado com o cloreto é menos reativo do que o formado com o brometo.

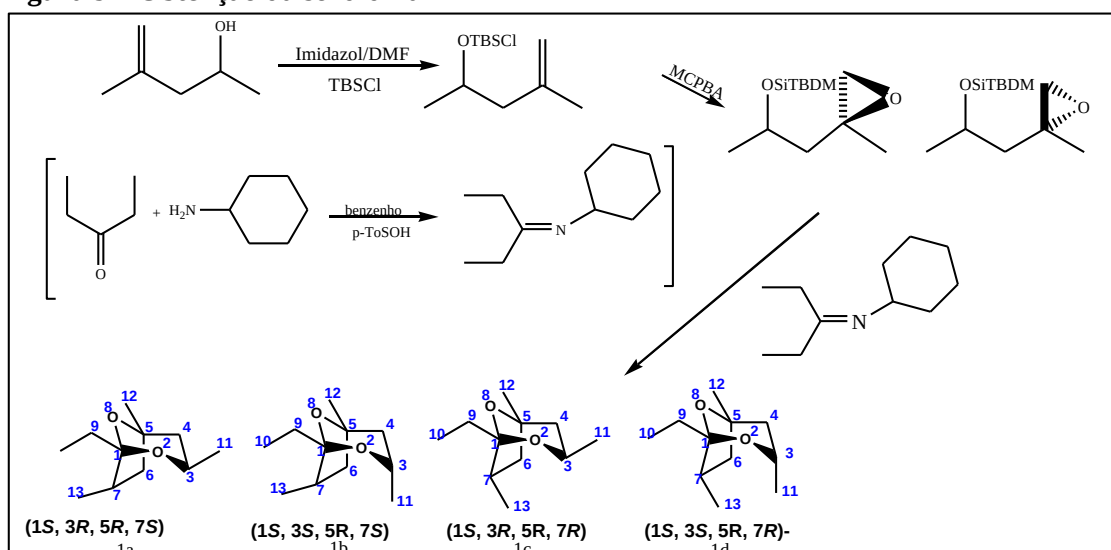
A desidratação do diol para obtenção do álcool catalisado por cobre foi a alternativa a utilização da metodologia de Grignard.

Figura 8 – Métodos utilizados para obtenção do 4-metil-4-penten-2-ol



Fonte: Autor, 2012.

Figura 9 – Obtenção da sordidina



Fonte: Autor, 2012.

Foram realizados 12 experimentos com diferentes escalas, onde iniciamos em escala preparativa de 1,77 g até um scale-up de 250 g. O rendimento reacional ao final foi satisfatório (40%). Com condições reacionais mais brandas, com reagentes mais baratos e maior rapidez na obtenção do 4-metil-4-penten-2-ol pode se dizer que esta metodologia seja mais viável. O produto (2) 4-metil-4-penten-2-ol foi obtido pela metodologia de Grignard com rendimento de 77%.

A Sordidina (1) é um feromônio de agregação útil para o controle e monitoramento da praga moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*).

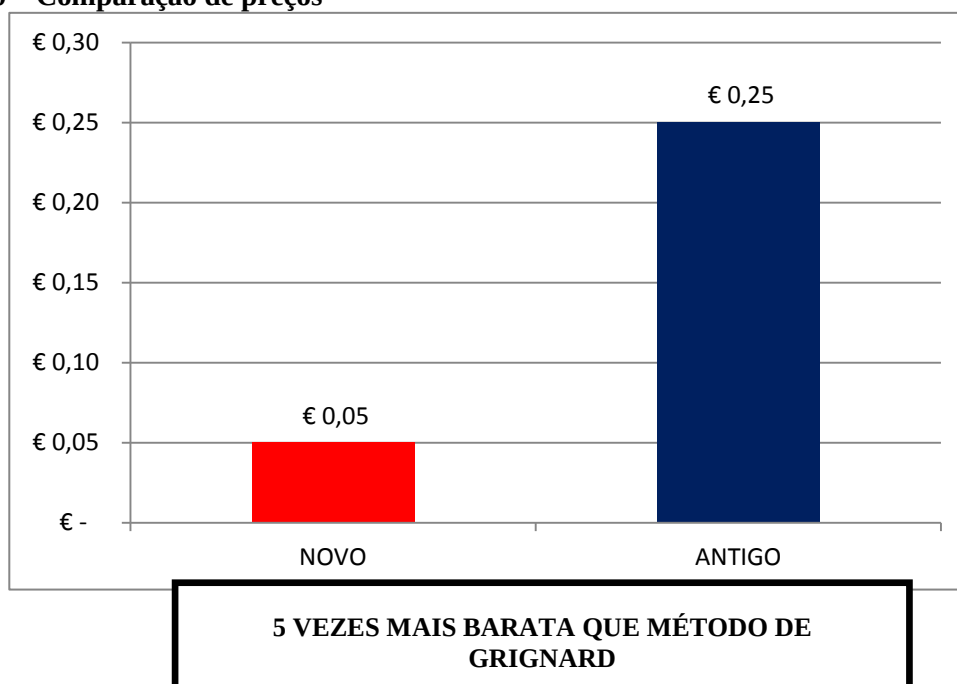
É importante que o produto seja competitivo no mercado, em relação à qualidade e ao preço. A obtenção do produto na forma de mistura de 4 diastereoisômeros não afeta a

atividade do produto como atraente para esta praga como demonstrado (BEAUHAIRE; DUCROT 1996; MORI; NAKAYAMAT; TAKIKAWA, 1996). Por este motivo investimos na obtenção do produto na forma dos 4 diastereoisômeros.

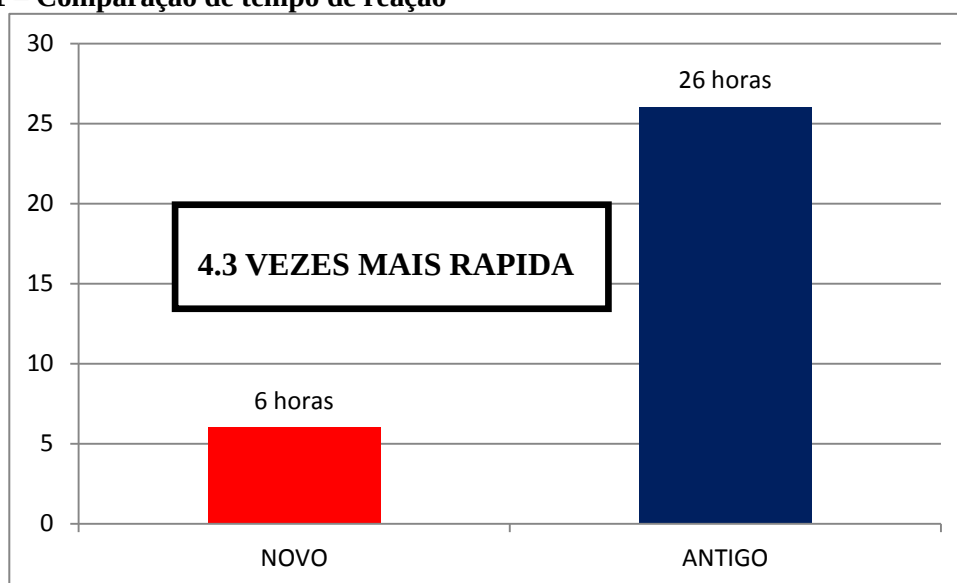
Na obtenção da Sordidina, com o método descrito por Jayaraman e colaboradores (JAYARAMAN et al., 1997), o rendimento global que alcançamos foi de 48%, já com a nova metodologia para a produção do álcool 4-metil-4-penten-2-ol (2) o rendimento ficou um pouco abaixo, foi de 40%. Apesar disto, esta segunda rota com a preparação do álcool 2 (4-metil-4-penten-2-ol (2) pela reação de desidratação catalisada pelo sulfato de cobre é mais econômica.

✓ COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS

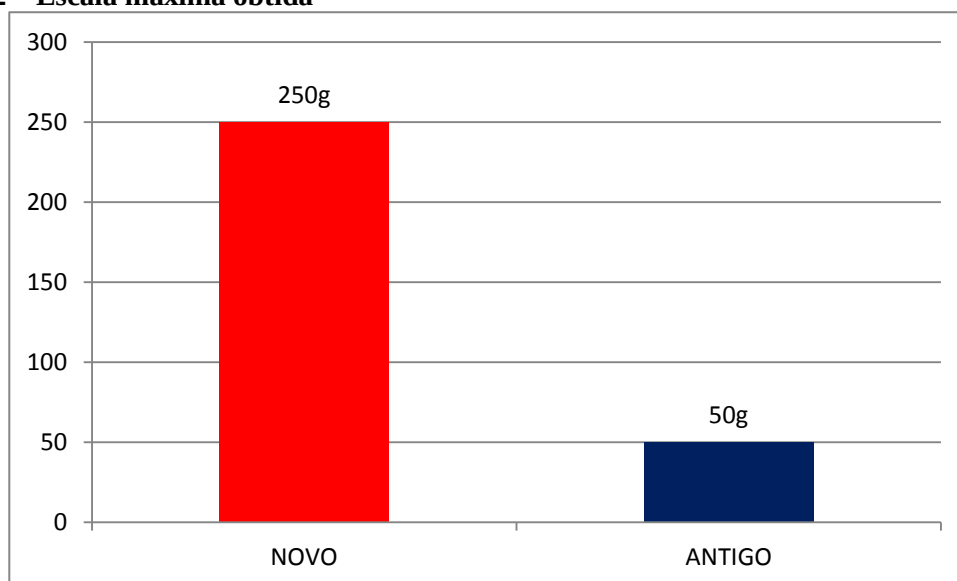
Figura 10 – Comparação de preços



Fonte: Autor, 2012.

Figura 11 – Comparação de tempo de reação

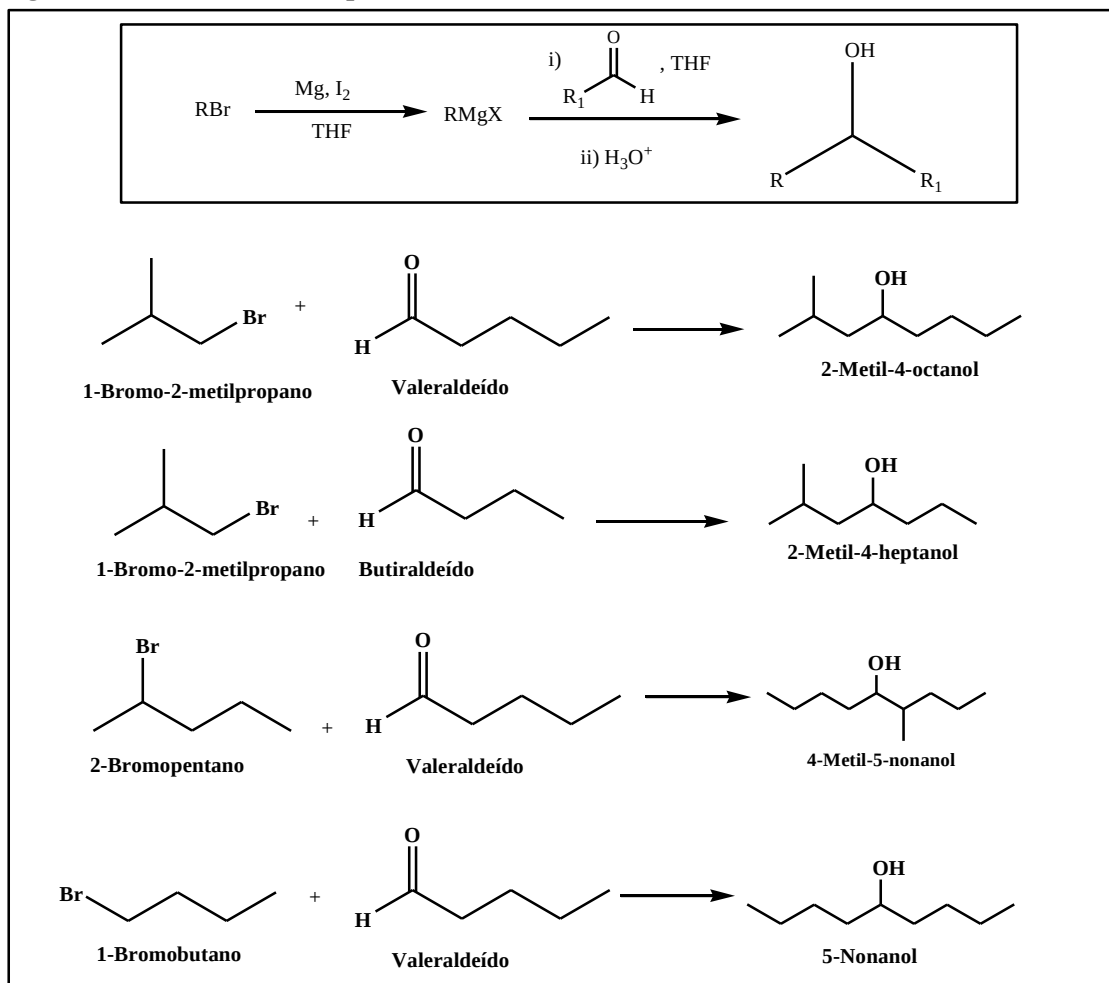
Fonte: Autor, 2012.

Figura 12 – Escala máxima obtida

Fonte: Autor, 2012

- ✓ **Procedimento geral de síntese dos álcoois: 2-Metil-4-octanol, 2-Metil-4-heptanol, 4-Metil-5-nonanol e 5-Nonanol**

Figura 13 – Brometos de alquila e aldeídos utilizados nas sínteses.



Fonte: Autor, 2012.

A síntese dos quatro compostos 2-Metil-4-octanol, 2-Metil-4-heptanol, 4-Metil-5-nonanol e 5-Nonanol foi efetuada pela reação de Grignard e o rendimento médio foi excelente, acima de 80%.

2.5 Experimental

2.5.1 Reagentes, Solventes, Gases e Vidrarias

As vidrarias utilizadas foram secadas em estufa a 140 °C e resfriadas sob vácuo antes do uso. Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau P.A. Solventes como tetraidrofurano, tolueno e hexano foram secos sobre Na/benzofenona e diclorometano sobre CaH₂ e destilados antes do uso e o benzeno foi usado sem tratamento prévio. Os demais

reagentes foram submetidos a secagem a vácuo antes de seu uso. O gás utilizado nas reações de síntese foi o nitrogênio de pureza 99,999 % adquirido da White Martins ou da Linde Gás.

As análises por espectroscopia de RMN ^1H e de RMN ^{13}C foram realizadas em um espectrômetro da Bruker BioSpin GmbH (400 MHz para o ^1H e 100 MHz para o ^{13}C) no Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL, 500 MHz e 250 MHz de e Universidade de Alicante. O deslocamento químico (δ) foi expresso em PPM, tendo como padrão interno o TMS ($\delta = 0$ para ^1H e ^{13}C). As amostras foram preparadas em tubo para RMN e solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) contendo 1 % (v/v) de TMS

✓ *Espectrometria de Massas (EM)*

Utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A, equipado com uma coluna DB-1, série US 1336783h, com 30 m de comprimento, 0,25 μm de espessura e 0,25 mm de diâmetro interno. Foi utilizado hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1 mL min^{-1} e pressão de 45 kPa. A temperatura inicial foi de 30 $^\circ\text{C}$ que permaneceu constante durante 2 minutos, em seguida sofreu um aumento de temperatura até atingir 250 $^\circ\text{C}$ a uma velocidade de 8 $^\circ\text{C min}^{-1}$ permanecendo constante durante 12 minutos. As temperaturas do injetor e da interface foram mantidas a 180 $^\circ\text{C}$ e 250 $^\circ\text{C}$ respectivamente. O modo de controle de injeção foi o Split, com razão de 30:1.

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas da Shimadzu, modelo GCMS-QP5050A acoplado ao cromatógrafo gasoso. Foram obtidos os espectros de massas referentes aos processos por impacto eletrônico a 70 e V. As amostras foram solubilizadas em diclorometano e injetadas com auxílio de um autoinjeter modelo AOC-20i da Shimadzu. Foram usados aparelhos do LPqRN-IQB-UFAL e Universidade de Alicante.

2.5.2 Preparação do 2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbicyclo[3.2.1]octano (1a, 1b, 1c, 1d)

✓ **4-metil-4-penten-2-ol:**

- **1-PASSO-Secagem do Sulfato de Cobre:** Utilizando uma pistola de calor e deixando o balão sob atmosfera inerte o balão foi aquecido por 30 minutos, intercalando o aquecimento com a pistola.

- **2-PASSO-Desidratação de Álcool Utilizando Sulfato de Cobre:** Adicionando 2-metil-2,4-pentanodiol usando o sulfato de cobre como catalisador (5%), coloca-se para destilar a uma temperatura de 100° C. A alíquota retirada é colocada para destilar novamente a 72° C. Foi obtido o 4-metil-4-penten-2-ol com rendimento reacional de 62%. Foram realizadas análises de RMN ¹H, RMN ¹³C e CG-EM, para a completa caracterização do produto.
- **4-metil-4-penten-2-ol(2):** Em um balão de três bocas, com capacidade de 500 mL, conectado a um funil de adição de 50 mL, um termômetro e um condensador de refluxo de bolas e sob atmosfera inerte (N₂), foram introduzidos 15,6 g (650 mmol) de magnésio em raspas, 150 mL de THF seco e um cristal de iodo molecular. O sistema foi resfriado com um banho de gelo-NaCl, na proporção de 3:1 e quando a temperatura interna alcançou a temperatura de -20 ± 2 °C, iniciou-se a agitação magnética.

Após 30 min, foi adicionada, gota a gota, por 2 h e 25 min, uma solução contendo 59,3 mL (600 mmol) de 3-cloro-2-metil-1-propeno e 60 mL de THF seco. Deixou-se reagindo por 20 min, em seguida, foi adicionada gota a gota, por cerca de 3 h uma solução obtida de 37,23 mL (660 mmol) de acetaldeído em 50 mL de THF seco.

A reação foi mantida em agitação por 18 h e em seguida, hidrolisada lentamente a -20°C por 2 h com 250 mL de uma solução de HCl 5%. O produto obtido foi extraído com 3 porções de 50 mL de éter etílico e a fase orgânica (éter etílico e produto) foi lavada sucessivamente com 200 mL de água destilada, 200 mL de solução de NaHCO₃ 5% e 2 porções de 200 mL de solução saturada de NaCl. A solução foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente evaporado. Foram obtidos 76,18 g (461,8 mmol) do 4-metil-4-penten-2-ol (**2**), com rendimento de 77%. Foram realizadas análises de CG, RMN ¹H, RMN ¹³C e CG-EM, para caracterização do produto.

RMN ¹H (CDCl₃, δ, TMS, 400 MHz): 0,90 (3H, d, *J* = 6,0 Hz); 1,47 (3H, s); 1,83 (1H, dd, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 13,0 Hz); 1,95 (1H, dd, *J*₁ = 7,0 Hz, *J*₂ = 13,0 Hz); 3,58 (1H, sl); 3,62- 3,70 (1H, m); 4,47-4,49 (1H, m); 4,52-55 (1H, m) **RMN ¹³C (CDCl₃, δ, TMS, 100 MHz):** 22,07; 22,39; 47,40; 64,99; 112,32; 142,45 **RMN ¹³C-DEPT 135 (CDCl₃, δ, TMS, 100 MHz):** 22,07; 22,39; 47,40; 64,99; 112,32 **CG-EM (70 eV) m/z:** 100 (0,76); 85 (2,17); 56 (73,22); 45 (100,00); 41 (61,98).

2-(*t*-Butildimetilsililoxi)-4-metil-4-penteno: Em um balão de fundo redondo, de uma

boca e capacidade de 250 mL foram colocados 10 g (10 mmol) do 4-metil-4-penten-2-ol (**2**) e 17,0 g (250 mmol) de imidazol. Iniciou-se a agitação magnética e após 5 min adicionou-se gradativamente 19,56 g (130 mmol) do *t*-butildimetilclorosilano (ClTBS). A reação foi acompanhada por CCD. Após 3 h, verificou-se a completa conversão do reagente no produto sendo a mistura reacional transferida para um funil de extração de 500 mL com a adição de 150 mL de éter de petróleo. Foi acrescentado 50 mL de água destilada e foi separado a fase orgânica da fase aquosa. A fase orgânica (éter de petróleo e produto) foi lavada sucessivamente com 2 porções de 150 mL de água destilada e 3 porções de 200 mL de solução saturada de NaCl. A solução foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente removido. Foram obtidos 21,34 g (99,72 mmol) do 2-(*t*-butildimetilsililoxi)-4-metil-4-penteno (**3**), com rendimento de 99%. Foram realizadas análises de RMN ¹H, RMN ¹³C e CG-EM, para caracterização do produto.

RMN ¹H (CDCl₃, δ, TMS, 250 MHz): 0,05 (6H, s); 0,89 (9H, s); 1,13 (3H, d, *J* = 7,0 Hz); 1,73 (3H, s); 2,07 (1H, dd, *J*₁ = 6,5 Hz, *J*₂ = 13,5 Hz); 2,22 (1H, dd, *J*₁ = 6,5 Hz, *J*₂ = 13,5 Hz); 3,96 (1H, *J* = 7,0 Hz); 4,69-4,70 (1H, m), 4,76-4,77 (1H, m) **RMN ¹³C (CDCl₃, δ, TMS, 62,5 MHz):** -4,77; -4,53; -3,58; -2,95; 17,98; 18,17; 22,98; 23,48; 25,64; 25,89; 48,31; 67,31; 112,60; 143,05 **CG-EM (70 eV) *m/z*:** 199 (2,54); 191 (0,44); 173 (0,34); 159 (36,66); 157 (63,89); 143 (1,49); 127 (1,56); 115 (84,90); 113 (100,00); 103 (18,43); 85 (21,11); 75 (54,62); 73 (96,89); 59 (45,90); 45 (41,43); 41 (67,36)

2-(*t*-butildimetilsililoxi)-4,5-epoxi-4-metilpentano: Em um balão de uma boca e fundo redondo, de 100 mL foram introduzidos 20 g (94 mmol) do 2-(*t*-butildimetilsililoxi)-4-metil-4-penteno (**3**) e 100 mL de CH₂Cl₂ seco. A solução foi resfriada a 0 °C, quando se iniciou a agitação magnética e a adição lenta, por cerca de 30 min com uma espátula, de 34,8 g (70%, 141 mmol) de ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA). A mistura reacional foi deixada a 0°C, por 2 horas, sendo a reação acompanhada por CCD, eluente hexano –AcoEt 10%.

Ao final deste tempo filtrou-se o sólido branco obtido, lavando-o com 60 mL de CH₂Cl₂. O filtrado foi transferido para um funil de extração de 500 mL e lavado sucessivamente com 2 porções de 200 mL de solução de NaHCO₃ 10%, 2 porções de 150 mL de solução saturada de NaHSO₃ e 3 porções de 200 mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica obtida foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente removido. Após filtração em sílica, foram obtidos 16,96 g (74,4 mmol) do 2-(*t*-butildimetilsililoxi)-4,5-epoxi-4-metilpentano (**4a; 4b**), com rendimento de 79%. Foram realizadas análises de RMN ¹H, RMN

^{13}C e CG-EM, para caracterização do produto.

RMN ^1H (CDCl_3 , δ , TMS, 250 MHz): 0,04-0,08 (6H, m); 0,85-0,88 (9H, m); 1,16 (3H, d, $J = 7,0$ Hz); 1,33 (3 H, s); 1,46 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 14,0$ Hz); 1,76 (1H, dd, $J_1 = 4,0$ Hz, $J_2 = 14,0$ Hz); 2,55-2,59 (1H, m), 2,64-2,66 (1H, m); 3,91-4,03 (1H, m) (Fig. 85, pág. 184). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ , TMS, 62,5 MHz):** -5,21; -4,60; -4,51; -4,10; -3,95; -3,37; -2,73; 18,14; 18,27; 21,26; 22,34; 24,28; 24,78; 25,87; 25,92; 26,01; 26,07; 26,11; 46,80; 47,38; 53,64; 53,93; 55,11; 55,65; 55,74; 66,47; 66,73. **CG-EM (70 eV) m/z :** 229 (0,13); 215 (1,12); 199 (0,13); 187 (0,03); 173 (30,67); 155 (10,38); 143 (0,76); 129 (36,59); 115 (11,39); 103 (16,04); 87 (3,67); 75 (100,00); 7336,68; 57 (20,37); 43 (30,76); 41 (57,07)

N-cicloexildietilcetamina: Em um balão de uma boca e de fundo redondo e com capacidade de 500 mL sob atmosfera de N_2 , foram colocados 63,6 mL (300 mmol) de 3-pentanona, 68,62 mL (300 mmol) de cicloexilamina, 100 mL de tolueno e 0,1 g (0,64 mmol) de ácido *p*-toluenossulfônico. Acoplou-se ao balão, um aparelho de “Dean Stark” contendo tolueno e aqueceu-se até 150 °C, deixando a mistura reacional em refluxo até o volume da água na coluna do “Dean Stark” não alterar. Removeu-se a água formada. Resfriou-se a mistura à temperatura ambiente, transferiu-se para um funil de extração de 500 mL e lavou-se sucessivamente com 3 porções de 200 mL de solução de NaHCO_3 10% e 3 porções de 200 mL de solução saturada de NaCl. A solução foi secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente removido. Foram obtidos 41,75 g (250 mmol) da N-cicloexildietilcetamina, com rendimento de 83%. Foram realizadas análises de RMN ^1H , RMN ^{13}C e CG-EM, para caracterização do produto.

RMN ^1H (CDCl_3 , δ , TMS, 400 MHz): 1,05 (3H, t, $J = 7,5$ Hz); 1,07 (3H, t, $J = 7,5$ Hz); 1,18-1,86 (10H, m); 2,21 (2H, q, $J = 7,5$ Hz); 2,22 (2H, q, $J = 7,5$ Hz); 3,22-3,34 (1H, m). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ , TMS, 100 MHz):** 11,10; 11,39; 22,82; 24,55; 25,32; 32,34; 33,70; 34,90; 36,36; 58,01; 171,81. **RMN ^{13}C -DEPT 135 (CDCl_3 , δ , TMS, 100 MHz):** 11,10; 11,31; 22,66; 24,58; 25,17; 32,32; 33,59; 34,87; 36,34; 57,92. **CG-EM (70 eV) m/z :** 167 (9,21); 152 (2,00); 138 (18,98); 124 (9,81); 110 (4,52); 96 (4,86); 86 (19,25); 83 (51,48); 82 (13,30); 56 (100,00); 55 (66,23); 41 (72,55).

2,8-dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano (1a, 1b, 1c, 1d): Em um balão de fundo redondo, de uma boca e de capacidade de 50 mL foram introduzidos 1,18 g (7,0 mmol) da N-cicloexildietilcetamina (5) e 10 mL de THF seco. Resfriou-se a -78 °C e adicionou-se

lentamente sob agitação magnética 14 mL (14 mmol, $C = 1,0$ mmol/mL) de LDA. Deixou-se reagindo por 15 min e em seguida, adicionou-se lentamente 1,6 g (7,0 mmol) do 2-(*t*-butildimetilsililoxi)-4,5-epoxi-4-metilpentano, deixando o sistema mais 2 h a -78°C . Após este período, elevou-se a temperatura a 0°C e adicionou-se lentamente 50 mL de solução saturada de NH_4Cl . Extraíu-se a fase orgânica, utilizando-se 3 porções de 30 mL de éter etílico. Lavou-se com 3 porções de 30 mL de solução saturada de NaCl e secou-se com MgSO_4 anidro. Em seguida, a mistura foi filtrada e o solvente foi removido. Ao produto bruto obtido, em um balão de uma boca, de fundo redondo e capacidade de 50 mL, adicionaram-se 10 mL de THF e resfriou-se a 0°C . Adicionaram-se lentamente 15 mL de solução de HCl 3,0 mol/L e deixou-se sob agitação vigorosa por 4 h. Em seguida, em um funil de separação de 50 mL fez-se a extração com três porções de 20 mL de éter etílico. A fração orgânica foi lavada posteriormente com 3 porções de 20 mL de solução saturada de NaHCO_3 , 3 porções de 20 mL de solução saturada de NaCl e secada com Na_2SO_4 anidro. A solução foi filtrada e o solvente removido. O produto bruto foi purificado em coluna de alumina neutra. Foram obtidos 1,08 g (5,43 mmol) do 2,8- dioxi-1-etil-3,5,7-trimetilbiciclo[3.2.1]octano (**1a**, **1b**, **1c**, **1d**), com rendimento de 77%. Foram realizadas análises de RMN ^1H , RMN ^{13}C , para caracterização do produto.

RMN ^1H (CDCl_3 , δ , TMS, 250 MHz): 0,99 (3H, t, $J = 7,5$ Hz); 0,99 (3H, d, $J = 7,0$ Hz); 1,08 (3H, d, $J = 7,0$ Hz); 1,17 (3H, d, $J = 6,0$ Hz); 1,18 (3H, d, $J = 6,0$ Hz); 1,30 (3H, s); 1,32 (3H, s); 1,33-1,76 (6H, m); 2,21-2,36 (1H, m); 3,88-4,00 (1H, m); 4,01-4,13 (1H, m)
RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ , TMS, 62,5 MHz): 7,85; 7,97; 12,71; 19,85; 21,91; 22,20; 26,44; 26,52; 27,41; 29,04; 40,02; 40,59; 42,39; 44,12; 44,54; 44,86; 64,51; 65,56; 78,65; 78,73; 107,53; 108,58
RMN ^{13}C - DEPT 90 (CDCl_3 , δ , TMS, 62,5 MHz): 40,02; 40,59; 64,51; 65,56
RMN ^{13}C - DEPT 135 (CDCl_3 , δ , TMS, 62,5 MHz): 7,85; 7,97; 12,71; 19,85; 21,91; 22,20; 26,44; 26,52; 27,40; 29,04; 40,02; 40,58; 42,38; 44,11; 44,53; 44,85; 64,50; 65,56
CG-EM (70 eV do pico 1) m/z: 184 (0,35); 169 (0,70); 155 (1,14); 142 (7,26); 127 (3,08); 113 (18,80); 100 (4,77); 96 (5,89); 95 (80,42); 85 (7,71); 83 (15,39); 71 (5,59); 69 (6,82); 67 (11,86); 57 (84,12); 43 (100,00); 41 (44,80)
CG-EM (70 eV do pico 2) m/z: 184 (0,94); 169 (0,67); 155 (0,71); 142 (7,35); 127 (18,73); 113 (18,46); 100 (4,55); 96 (5,44); 95 (73,44); 85 (7,66); 83 (20,41); 71 (4,60); 69 (7,53); 67 (11,39); 57 (89,63); 43 (100,00); 41 (46,84)

2.5.3 Síntese dos Constituintes Feromonais do *Metamasius Hemipterus*

A uma mistura de magnésio metálico ativado (0,66 mol) e THF seco, foi adicionado um cristal de $I_{2(s)}$. Sob agitação e atmosfera de N_2 , foi adicionada gota-a-gota uma solução do brometo de alquila (0,56 mol) em THF por 1 h 30 min. Após o término dessa adição, deixou-se reagindo por 20 min à 10°C em banho de gelo-água. Em seguida, foi adicionada gota-a-gota por 1 h 50 min, uma solução do aldeído (0,47 mol) em THF. Após o término desta A adição, a mistura foi mantida em agitação por 18 h à temperatura ambiente e posteriormente, hidrolisada com 220 mL de uma solução de HCl 10 % a 0°C por 2 h. A fase orgânica foi extraída com 3 porções de 150 mL éter etílico, tratada com 3 porções de 200 mL água destilada, 3 porções de 200 mL de solução de $NaHCO_3$ 10 % e 3 porções de 200 mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e os solventes evaporados. O produto bruto obtido foi purificado por destilação sob pressão reduzida. Os dados de RMN 1H , RMN ^{13}C e CG-EM, confirmaram a pureza e a estrutura de cada álcool preparado.

2-Metil-4-octanol. Óleo transparente, 86 % de rendimento. **IV (KBr, cm^{-1}):** 3350. **RMN 1H ($CDCl_3$, δ , TMS, 400 MHz):** 0,90 (3H, d, $J = 5,0$ Hz); 0,91 (3H, t, $J = 7,0$ Hz); 0,92 (3H, d, $J = 5,0$ Hz); 1,19-1,44 (8H, m); 1,73-1,81 (1H, m); 3,58-3,67 (1H, m). **RMN ^{13}C ($CDCl_3$, δ , TMS, 100 MHz):** 13,87; 21,87; 22,63; 23,29; 24,35; 27,70; 37,61; 46,62; 69,50. **CG-EM (70 eV) m/z :** 142 ($M^+ - 2$) (0,13); 111 (1,25); 98 (0,70); 87 (46,61); 69 (100,00); 57 (19,32); 45 (41,93); 43 (69,80); 41 (85,04).

2-Metil-4-heptanol. Óleo transparente, 73 % de rendimento. **IV (KBr, cm^{-1}):** 3350. **RMN 1H ($CDCl_3$, δ , TMS, 400 MHz):** 0,89-0,94 (9H, m); 1,18-1,48 (6H, m); 1,73-1,83 (1H, m); 2,29 (1H, sl); 3,58-3,69 (1H, m). **RMN ^{13}C ($CDCl_3$, δ , TMS, 100 MHz):** 14,18; 18,92; 22,16; 23,54; 24,61; 40,39; 46,93; 69,40. **CG-EM (70 eV) m/z :** 128 ($M^+ - 2$) (0,31); 112 (1,86); 97 (0,78); 87 (28,48); 73 (53,16); 69 (86,09); 55 (100,00); 43 (81,83).

4-Metil-5-nonanol. Óleo transparente, 87 % de rendimento. **IV (KBr, cm^{-1}):** 3375. **RMN 1H ($CDCl_3$, δ , TMS, 400 MHz):** 0,89-0,97 (9H, m); 1,12-1,59 (9H, m); 2,61 (1H, sl); 3,42-3,47 (1H, m); 3,48-3,52 (1H, m). **RMN ^{13}C ($CDCl_3$, δ , TMS, 100 MHz):** 13,61; 14,02; 14,07; 14,32; 14,36; 15,17; 20,50; 20,52; 22,88; 22,89; 28,47; 28,59; 33,01; 34,18; 34,30;

35,65; 38,01; 38,66; 75,05; 75,86. **CG-EM (70 eV) m/z :** 157 ($M^+ - 1$) (0,11); 140 (1,13); 127 (0,11); 114 (0,53); 101 (12,84); 87 (43,49); 69 (100,00); 55 (39,64); 43 (65,46); 41 (92,08).

5-Nonanol. Óleo transparente, 77 % de rendimento. **IV (KBr, cm^{-1}):** 3346. **$\text{RMN } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , δ , TMS, 400 MHz):** 0,91 (6H, t, $J = 7,0$ Hz); 1,29-1,47 (12H, m); 2,01 (1H, sl); 3,54-3,60 (1H, m). **$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , δ , TMS, 100 MHz):** 14,13; 22,86; 27,95; 37,24; 71,96. **CG-EM (70 eV) m/z :** 143 ($M^+ - 1$) (0,24); 126 (1,61); 114 (0,01); 97 (0,60); 87 (48,37); 69 (100,00); 57 (20,34); 41 (84,45).

6-Metil-2-hepten-4-ol. Óleo transparente, 92 % de rendimento. **IV (KBr, cm^{-1}):** 3340, 947. **$\text{RMN } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , δ , TMS, 400 MHz):** 0,90 (3H, d, $J = 6,0$ Hz); 0,92 (3H, d, $J = 6,0$ Hz); 1,31 (2H, m); 1,49 (1H, sl); 1,60 (1H, m); 1,71 (3H, dd, $J_1 = 0,6$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz); 4,11 (1H, q, $J = 7,0$ Hz); 5,48 (1H, qd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz); 5,65 (1H, qd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz). **$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , δ , TMS, 100 MHz):** 22,37; 22,43; 23,60; 28,37; 41,62; 69,01; 129,73; 135,53. **CG-EM (70 eV) m/z :** 128 (M^+) (0,55); 95 (16,53); 86 (8,88); 71 (100,00); 57 (14,95); 43 (51,56).

CONCLUSÕES

A alteração efetuada na metodologia de obtenção da Sordidina foi a troca da reação de Grignard pela desidratação catalisada por sulfato de cobre. Esta mudança traz uma alteração vantajosa pois o custo do produto final é reduzido. É uma mudança simples, mas importante. O produto (2) 4-metil-4-penten-2-ol foi obtido pela metodologia de Grignard com rendimento de 77% e pela metodologia de desidratação catalisada pelo sulfato de cobre com rendimento de 62%. Não houve otimização do processo.

A síntese em escala preparativa dos álcoois ($\pm$)-2-Metil-4-octanol, ($\pm$)-2-Metil-4-heptanol, ($\pm$)-4-Metil-5-nonanol, ($\pm$)-5-Nonanol, através da metodologia de Grignard foi realizada com sucesso. O rendimento médio ficou acima de 80% e consideramos como sendo satisfatória para a obtenção dos referidos compostos. Os compostos mais ativos na captura do *M. hemipterus* foram 4-metil-5-nonanol, 2-metil-4-heptanol e 2-metil-4-octanol.

REFERÊNCIAS

ALPIZAR, D. et al. Pheromone mass trapping of the West Indian sugarcane weevil and the american palm weevil (Coleoptera: Curculionidae) in palmito palm. **Flor. Entomol.**, v. 85, n. 3, p. 426-430, Sept. 2002. Disponível em: <<http://journals.fcla.edu/flaent/article/view/75119/72777>>. Acesso em: 5. ago. 2912.

AZEVEDO, A. G. C. et al. Relação do inseto-praga *Metamasius hemipterus* na disseminação da resinose em plantio de coqueiro-anão-verde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTTICULTURA, 21., 2010, Natal. **Resumo Expandido...** Natal , 2010. CD-ROM.

BEAUHAIRE, J.; DUCROT, P. H. On the regioselectivity of the baeyer- villiger reaction of 2,6-dialkyl cyclohexanones: application to the synthesis of sordidin, a male pheromone emitted by *Cosmopolites sordidus*. **Bioorg. Med. Chem.**, Oxford, v. 4, n.3, p. 413-418,1996. ISSN 0968-0896.

BEAUHAIRE, J. et al. Identification and synthesis of sordidin, a male pheromone emitted by *Cosmopolites sordidus*. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 36, p. 1043-1046, 1995. ISSN 0040-4039.

BECCARI, F. Contributo alla conoscenza del *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Ceoptera: Curculionidae). **Riv. Agric. Subtrop. Trop.**, v. 61, p. 131-150,1967. ISSN 0921-2973.

BERGMANN, J. et al. Identification and synthesis of new bicyclic acetals from caddisflies (Trichoptera). **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 45, p. 3669-3672, 2004. ISSN 0040-4039.

COSTA-LIMA, A. **Insetos do Brasil: coleópteros: 3. parte.** Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1956. t. 10, p.98-99. (Didática, 9).

CUILLÉ, J. **Recherches sur le charançon du bananier *Cosmopolites sordidus*, Germ.:** monographie de l'insecte et recherches de ses chimiotropisme. Paris: Institut des Fruits et Agrume Coloniaux, 1950.

FEAKIN, S. D. **Control de los plagas de los bananos.** Londres: Center for Overseas Pest Research, 1975.

FERREIRA, J. M. S. et al. O inseto-praga *Metamasius hemipterus* pode estar envolvido na disseminação da resinose em plantio de coqueiro-anão-verde no estado do Ceará In: FEIRA INTERNACIONAL DA FRUTICULTURA TROPICAL IRRIGADA, 2010, Mossoró. **Resumos...** Mossoró, 2010. CD-ROOM.

FLETCHER, M. T.; MOORE, C. J.; KITCHING, W. Absolute configuration of sordidin and 7-episordidin emitted by the banana Weevil, *Cosmopolites sordidus*. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 38, n. 19, p. 3475-3476, 1997. ISSN 0040-4039.

GOMES, S. M. da S. **Avaliação de sistema de captura de *Metamasius hemipterus* e *Rhynchophorus palmarum* (Curculionidae) em plantações de pupunha (*Bactris gesipaes*) e dendê (*Elaeis guineensis*) no sul da Bahia**. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, MG, 2008.

JAYARAMAN, S. et al. Synthesis, analysis and field activity of sordidin, a male-produced aggregation pheromone of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 2, n. 4, 1145-1161, 1997. ISSN 0098-0331.

MENDONÇA, F. A. C. **Avaliação de metodologias para a utilização do feromônio sintético do moleque-da-bananeira, *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae) no manejo integrado de pragas da bananeira**. 1999. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999. p. 25-55.

_____. et al. Resposta de *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera, Curculionidae) aos voláteis da planta hospedeira e de adultos coespecíficos em olfatômetro. **Revista Bras. Zool.**, São Paulo, v. 16, (Supl. 2), p. 123-128, 1999. ISSN 0101-8175.

MONTELANO, C. B. Estudios biológicos del *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) que infesta al rizoma de abaca. 1954. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Costa Rica, Turrialba, 1954.

MORI, K. Pheromones: synthesis and bioactivity. **Chem. Commun.**, p. 1153-1158, 1997. DOI: 10.1039/A606625I.

MORI, K.; NAKAYAMAT, T.; TAKIKAWA, H. Synthesis and Absolute Configuration of Sordidin, the Male-Produced Aggregation Pheromone of the Banana Weevil, *Cosmopolites sordidus*. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 37, n. 21, p. 3741-3744, 1996. ISSN 0040-4039.

RAMIREZ-LUCAS, P. et al. Chemical Identification, Electrophysiological and Behavioral Activities of the Pheromone of *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae), **Bioorg. Med. Chem.**, Oxford, v. 4, p.3, p. 323-330, 1996. ISSN 0968-0896.

SILVA, A. G. et al. **Bananas**. 2. ed. London: Longmans, 1966.

SILVA, M. N.; SIMONE, I. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas no Brasil, seus parasitos e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968.

WARWICK, D. R. N.; FERREIRA, J. M. S.; TALAMINI, V. Presença de *Thielaviopsis paradoxa*, agente causal da resinose do coqueiro em coleópteros. In: FEIRA INTERNACIONAL DA FRUTICULTURA TROPICAL IRRIGADA, 2009, Mossoró. **Resumos...** Mossoró, 2009. CD-ROOM

WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 36, p. 80-100, 2010. ISSN 0098-0331.

YAMAMOTO, A.; OGAWA, K. Chemistry and commercial production of pheromones and other behaviour-modifying chemicals. In: JUTSUM, A. R. ; GORDON, R. F. S. (Ed.). **Insect pheromones in plant protection**. London: J. Wiley, 1989. p. 123-148.

ZORZENON, F. J.; BERGMANN, E. C.; BICUDO, J. E. A primeira ocorrência de *Metamasius hemipterus* (Linnaeus, 1758) e *Metamasius ensirostris* (Germar, 1824) (Coleoptera:Curculionidae) em palmiteiros dos gêneros *Euterpe* e *Bactris* (Arecaceae) no Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo v. 67, p. 265-268, 2000. ISSN 0020-3653.

**CAPITULO 3 – SINTESE DO ACETATO DE (3E,8Z,11Z)-3,8,11-
TETRADECATRIENILA, O COMPONENTE PRINCIPAL DO
FEROMÔNIO SEXUAL DA MARIPOSA *TUTA ABSOLUTA***

3.1 Introdução

A traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) é um microlepidóptero cujo adulto é uma mariposa de aproximadamente 10 mm de envergadura e coloração cinza prateada e a larva mede de 6,0 a 9,0 mm de comprimento (HAJI et al. 1988) (Figura 1). A emergência das mariposas da traça-do-tomateiro ocorre durante a noite. Os adultos possuem hábito noturno e, durante o dia, permanecem ocultos na folhagem do tomateiro (UCHOA-FERNANDES; DELLA LUCIA; VILELA, 1995).

A *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) foi descrita, em 1917, por Meyrick como *Phthorimaea absoluta*. Mais tarde, esta praga recebeu outros nomes como *Gnorimoschema absoluta* (Clarke 1962), *Scrobipalpula absoluta* (Povolny), ou *Scrobipalpuloides absoluta* (Povolny) e foi finalmente incluída no gênero *Tuta* como *T. absoluta* por Povolny, em 1994 (BARRIENTOS et al., 1998).

Figura 1 – Traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*. Tamanho ~ 10 mm.



Fonte: Esteban Saini.

É considerada a principal praga na cultura do tomate devido ao potencial de infestação nas folhas, ramos terminais e frutos, com redução da produção destinada ao comércio e indústria (HAJI et al., 1988, MEDEIROS et al., 2005). Assim, além de afetar indiretamente a produção pela redução de área foliar, concorre diretamente para a redução de produtividade

por inutilizar os frutos (GRAVENA, 1991; PICANÇO et al., 1997). É nativa da América Central, mas se espalhou para a América do Sul e, mais recentemente, ao norte da África e Oriente Médio. Foi constatada pela primeira vez no Brasil em 1979, em Morretes-PR (MUSZINSKI; LAVENDOWSKY; MASCHIO, 1982), tendo sido registrada oficialmente como praga a partir da coleta de exemplares em Jaboticabal-SP, em 1980 (MOREIRA; LARA; CHURATAMASCA, 1981). Sua disseminação no país foi muito rápida e, em 1981, já se encontrava no Vale do Salitre, em Juazeiro - BA (MORAES; NORMANHA FILHO, 1982). Em apenas três anos, após sua identificação em São Paulo, a traça-do-tomateiro estava disseminada por todas as regiões produtoras de tomate do país (SOUZA; REIS, 1992).

Após a detecção inicial no leste da Espanha, em 2006 (URBANEJA et al. 2007), e sua rápida dispersão para vários outros países da Europa e norte da África, a *Tuta absoluta* tornou-se a mais grave praga do tomateiro nestes locais (GERMAIN et al., 2009), e ainda mostra considerável potencial para expandir tanto a gama de hospedeiros (planta) como a sua distribuição geográfica.

Dentre os principais fatores que contribuíram para a ágil dispersão da *T. absoluta* nas várias regiões produtoras, cita-se o intenso fluxo de comercialização regional entre produtores e centros consumidores de tomate, as condições climáticas ótimas e a curta distância entre cultivos de vários estágios fenológicos.

O principal método de controle da *Tuta absoluta* é baseado na utilização de inseticidas químicos (PICANÇO et al. 1995). Já, em 1992, em cultivos comerciais, em casos extremos, foram realizadas até 36 aplicações de inseticida durante o ciclo da cultura para o controle da *T. absoluta* e de outros artrópodes-pragas (SOUZA; REIS, 1992). Infelizmente, o uso intensivo dos inseticidas levou ao desenvolvimento de resistência, com tolerância aos organofosforados, carbamatos, piretroides sintéticos, benzoilureas e avermectina em populações de *T. absoluta* do Brasil, Chile e Argentina (SILVA et al., 2011).

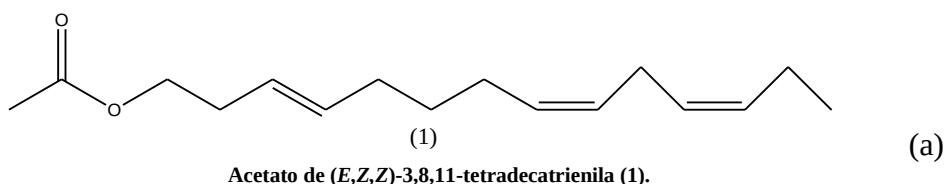
Devido à crescente busca da sociedade por alimentos produzidos sem o uso de defensivos agrícolas ou com uma utilização reduzida destes, é essencial desenvolver métodos eficientes para o controle da *T. absoluta* (SPERS; KASSOUF, 1996). Feromônios apresentam-se como uma importante ferramenta para o controle desta praga. O uso de feromônios, em ações de controle de insetos-praga está de acordo com o modelo preconizado

para a agricultura do futuro. É uma técnica que tem alta especificidade, não apresentando nenhum efeito deletério às espécies que não são objeto de controle e, nenhum resíduo químico é depositado no meio ambiente ou no alimento produzido (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009).

Os estudos sobre o feromônio sexual da *T. absoluta* foram iniciados por Hickel e colaboradores (1991) e a identificação do componente principal do feromônio sexual foi realizada em 1996 (ATTYGALLE et al., 1995, 1996). Estes pesquisadores observaram que o acetato de (3*E*, 8*Z*, 11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila (3*E*,8*Z*,11*Z*:14 Ac) induzia, nos machos, atividades biológicas idênticas àsquelas observadas quando estes estavam em contato com fêmeas, em comportamento de chamamento. Posteriormente, a natureza binária do feromônio sexual foi estudada por Svatoš et al. (1996) e Griepink et al. (1996), sendo a composição do feromônio descrita como acetato de (3*Z*, 8*Z*, 11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila e acetato de (3*Z*, 8*Z*)-3,8-tetradecadienila, na relação 9:1.

O processo para a obtenção de feromônios deve levar ao produto com alta pureza estereoisomérica, o que requer metodologia sintética elaborada e de custo elevado o que acarreta um alto custo de produção. Assim desenvolver metodologias de síntese de baixo custo é um grande desafio científico e tecnológico.

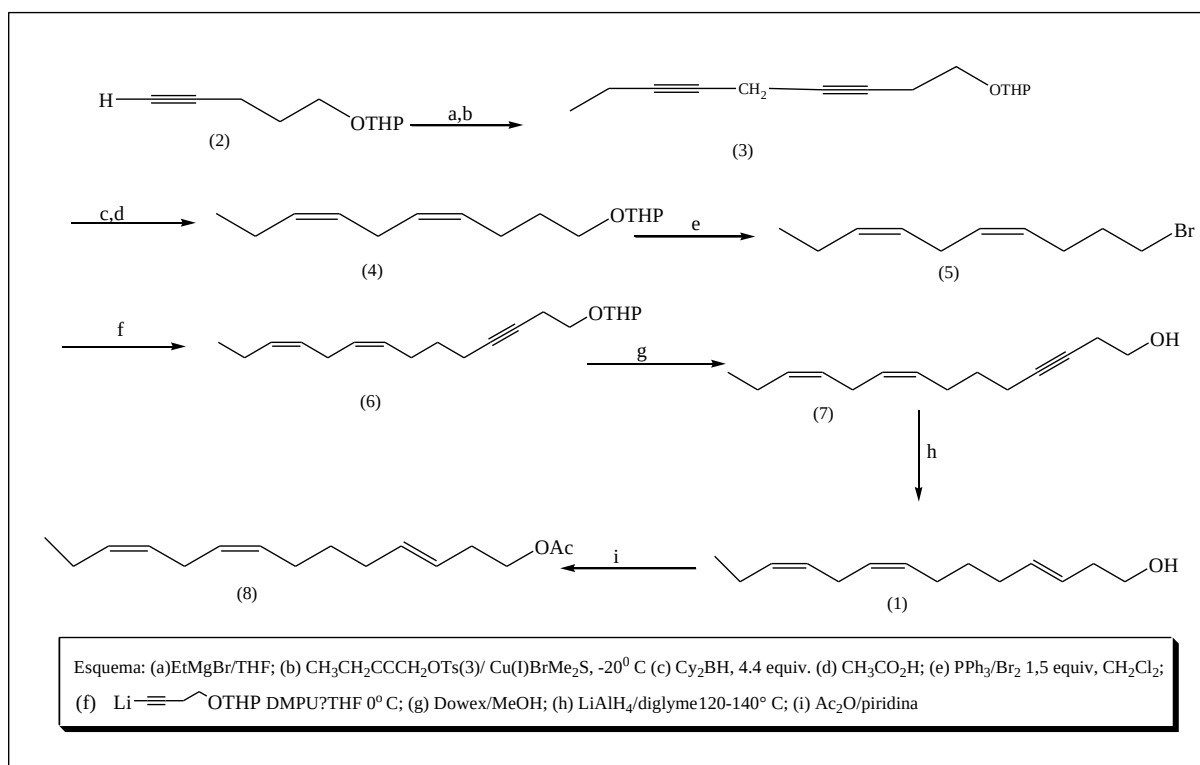
O objetivo do presente trabalho está centrado no desenvolvimento de rota sintética a partir de matérias-primas de baixo custo e/ou através de sínteses semi-biotecnológicas, para a obtenção do acetato de (3*E*,8*Z*,11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila (1), o componente principal do feromônio sexual da mariposa *Tuta absoluta*.



De acordo com a literatura, foram selecionadas 4 rotas sintéticas para a obtenção do acetato de (3*E*,8*Z*,11*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila (1).

Na rota desenvolvida por Attygalle e colaboradores (ATTYGALLE et al., 1995, 1996), as ligações triplas são reduzidas com hidreto de diciclo-hexilborano para gerar as ligações duplas nas posições 8 e 11, com configuração *Z*, e com hidreto de lítio e alumínio para promover a redução da ligação tripla na posição 3, gerando a ligação dupla com estereoquímica *E*. O rendimento global da rota sintética foi de 7% para a obtenção do feromônio, em 8 etapas (**Figura 2**).

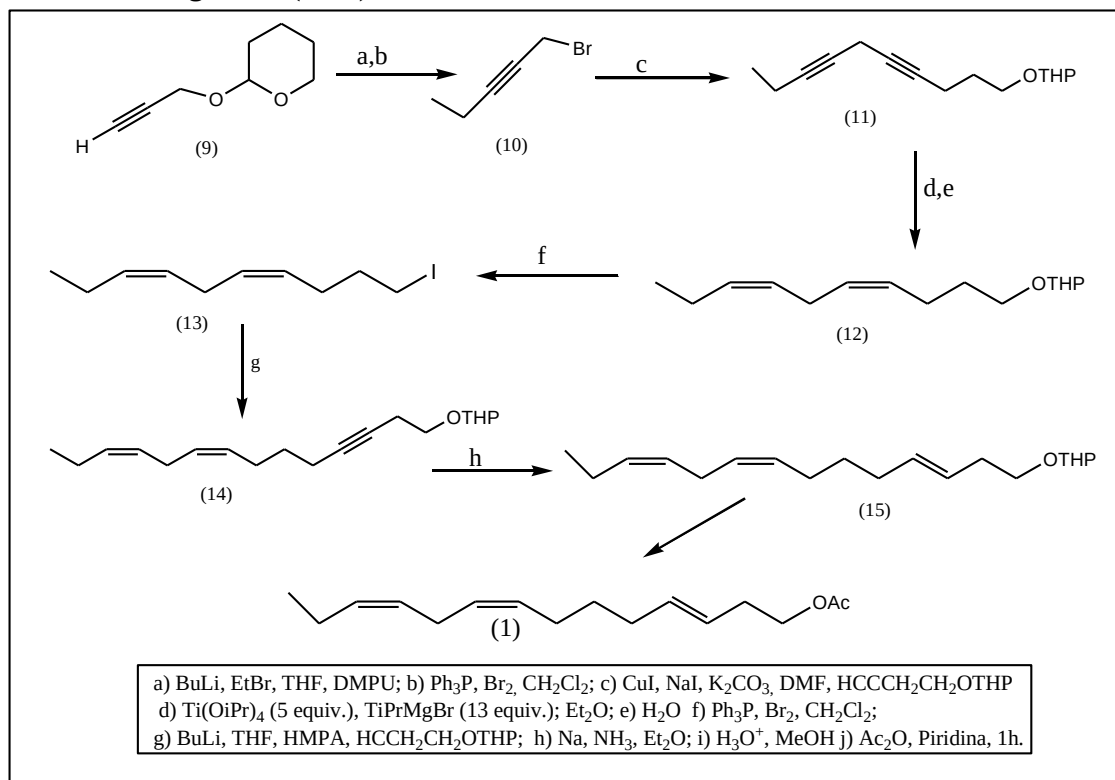
Figura 2 – Obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3, 8,11-tetradecatrienila segundo Attigalle e colaboradores 1995 e 1996.



Fonte: Attigalle et al. (1995, 1996).

Na rota sintética de Kitching e Hungerford, (1996) foi realizada a redução das ligações triplas a duplas, com estereoquímica *Z*, utilizando-se o tetra-isopropóxido de titânio, juntamente com o reagente de Grignard (**Figura 3**)

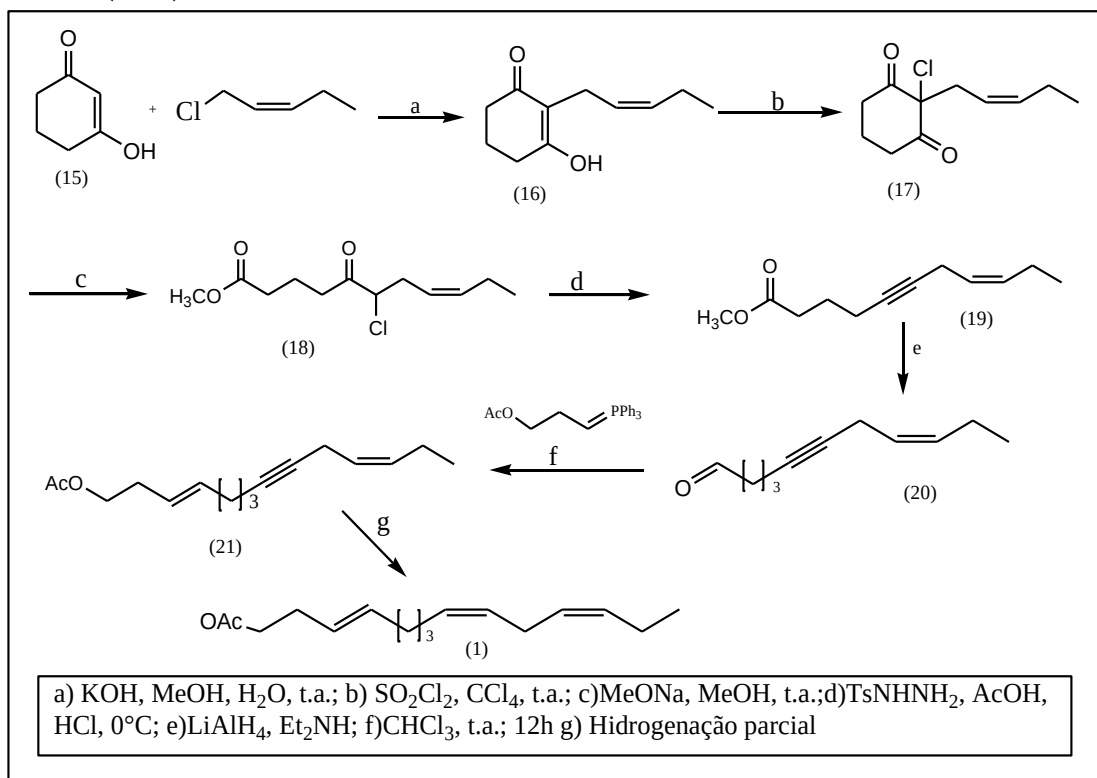
Figura 3 – Obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila, segundo Kitching e Hungerford (1996)



Fonte: Kitching; Hungerford, 1996.

Os esquemas da Figura 4 e da Figura 5 referem-se à proposta sintética estabelecida por Silva, em sua tese de doutorado (SILVA, 2006). A rota mostrada no **Esquema da Figura 4** envolve uma alquilação do diidroresorcinol (15) pelo (Z)-1-cloro-2-pentenila. O composto obtido foi submetido à cloração, seguida de metanólise e os grupos R-Cl e RCOR foram convertidos em ligações triplas com a posterior redução do grupo éster a aldeído, seguindo-se o acoplamento e a hidrogenação parcial da ligação tripla para levar ao acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila (Esquema da Figura 4).

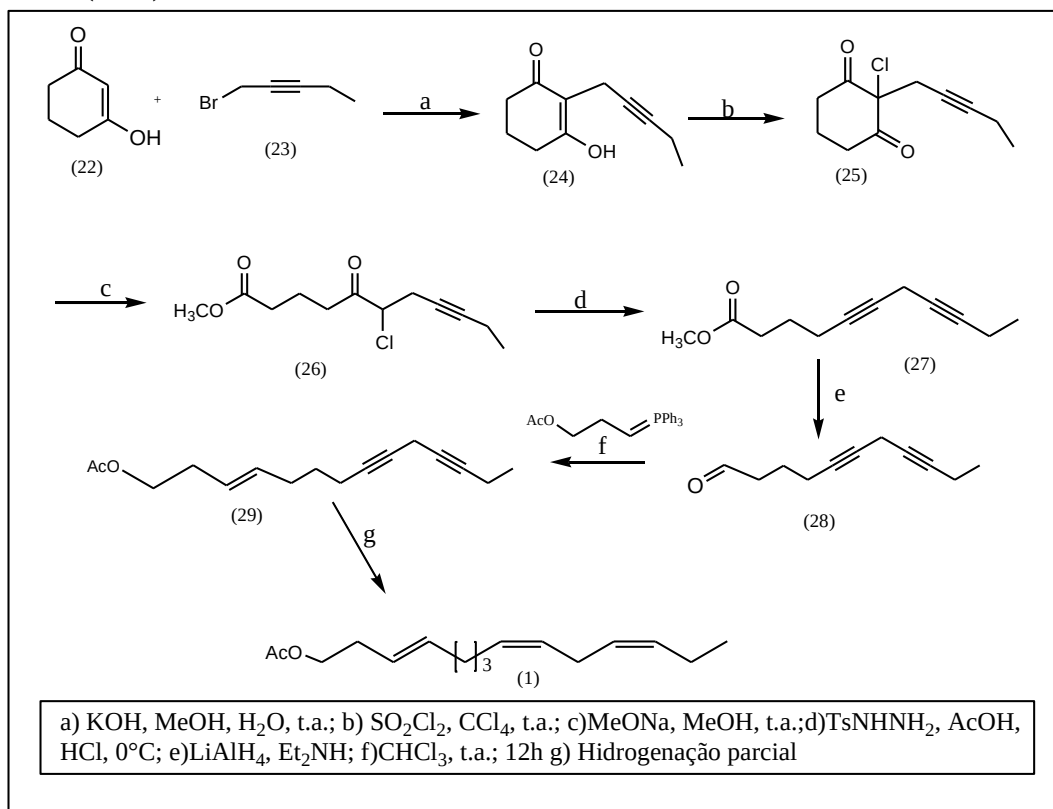
Figura 4 – Esquema 1 da obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila segundo Silva (2006)



Fonte: Silva, 2006.

Na **Figura 5** está representada a rota sintética seguida por Silva (2006) que fez a redução do alcino para alceno, seguindo-se a metodologia de Attygalle (1995, 1996) com uma alquilação do diidroresorcinol para evitar a isomerização da dupla ligação.

Figura 5 – Esquema 2 da obtenção do acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila segundo Silva (2006)



Fonte: Silva, 2006.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho visou o desenvolvimento de rota sintética para a preparação do acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila, componente principal do feromônio sexual da *Tuta absoluta*.

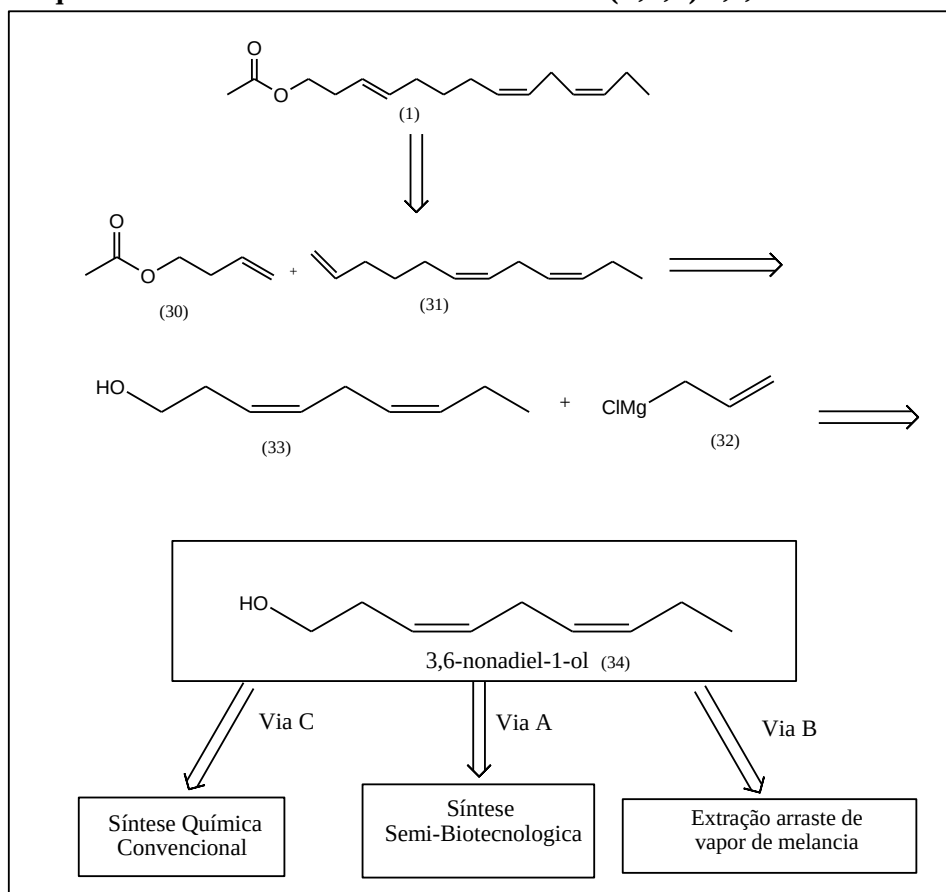
3.2.2 Objetivos Específicos

- Obter o acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila por rota semi-biotecnológica.
- Obter o acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila por rota sintética clássica.

3.3 Metodologia

Na **Figura 6**, faz-se a análise retrossintética para o acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila, que pode ser preparado por meio de metátese do acetato 30 com o alceno 31. O alceno 31 é obtido pelo acoplamento do reagente de Grignard 32 com o álcool 33.

Figura 6 – Esquema da análise retrossíntese do acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila

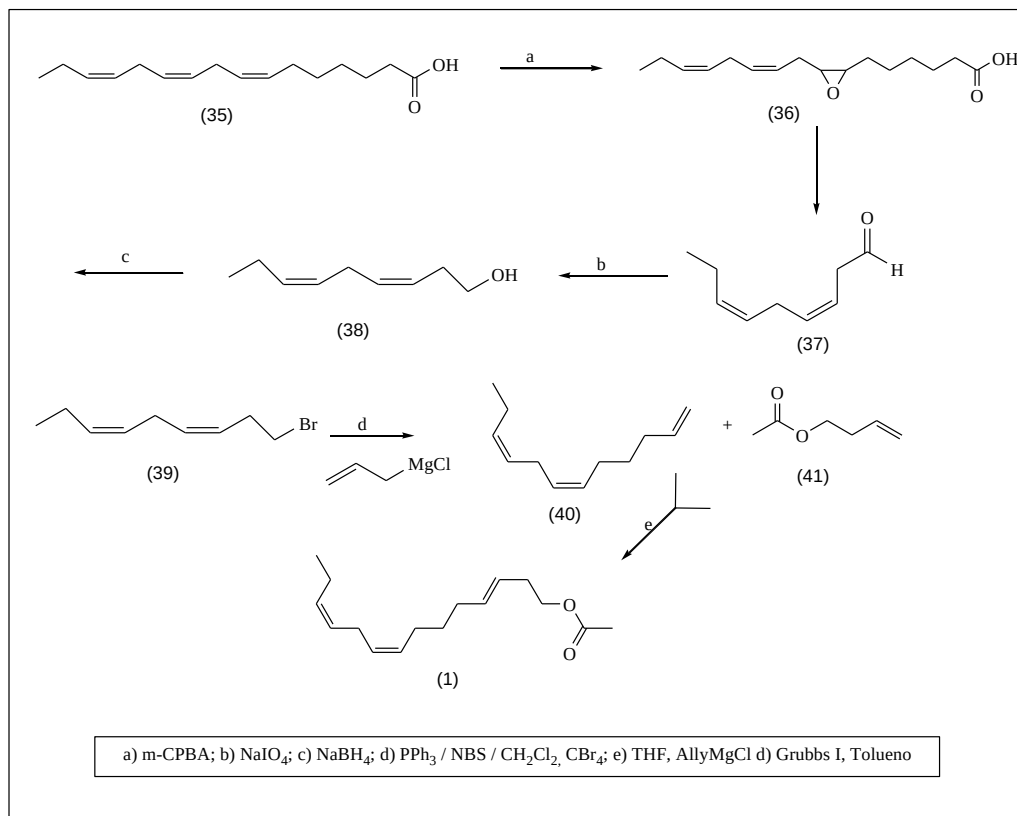


Fonte: Autor, 2012.

Com o objetivo de realizar uma síntese semi-biotecnológica, foi utilizado, como produto de partida, o óleo de linhaça (linseed). A sequência de reações idealizada envolve primeiramente a metilação do óleo, com posterior epoxidação na ligação dupla C-6, levando ao produto (36). Este intermediário é submetido à homólise com a formação do aldeído de 9 átomos de carbono e insaturado nas posições 3 e 6 (37). O grupo carbonila, em seguida é reduzida ao álcool correspondente (38), que sequencialmente é submetido a uma reação de substituição do grupo hidroxila por bromo para formar o brometo (39) que é utilizado no acoplamento de Grignard para a formação do trieno (40). Este trieno é utilizado em uma

reação de cross-coupling usando o catalisador de Grubbs para a formação do Acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila(1) (**Figura 7**).

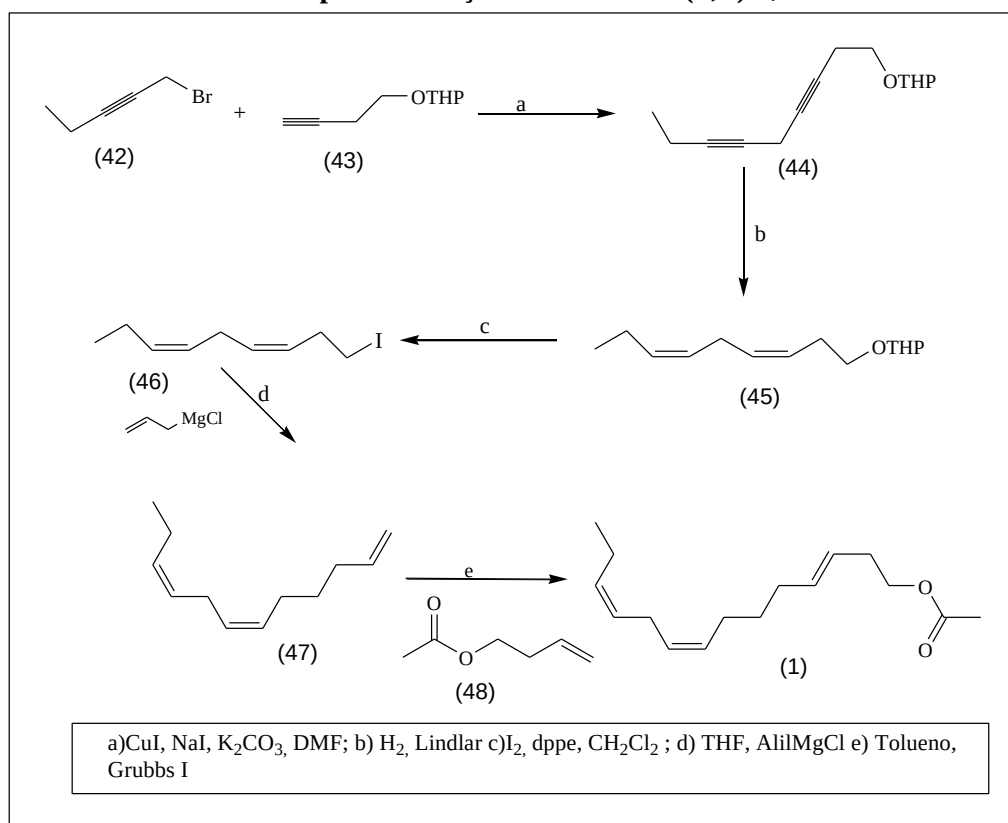
Figura 7 – Esquema da síntese semi-biotecnológica usando óleo de linhaça como material de partida



Fonte: Autor, 2012.

Em paralelo à síntese semi-biotecnológica, utilizamos a síntese convencional buscando seguir passo a passo para formação do (*Z,Z*)-3,6-nonadienol. Iniciamos com a proteção ao álcool e seguimos com o acoplamento cruzado, catalisado por cobre de acordo com Hungerford e Kitching (1998). A redução é catalisada pelo reagente de Lindlar para levar ao alceno *Z*. A desproteção posterior do grupo hidroxila com a iodinação leva ao composto 46. O composto 46 é deixado a reagir com o cloreto de alilmagnésio levando ao hidrocarboneto 47. O passo seguinte é o acoplamento com o acetato de 3-butenila usando o catalisador de Grubbs para a formação do acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila 1 (**Figura 8**).

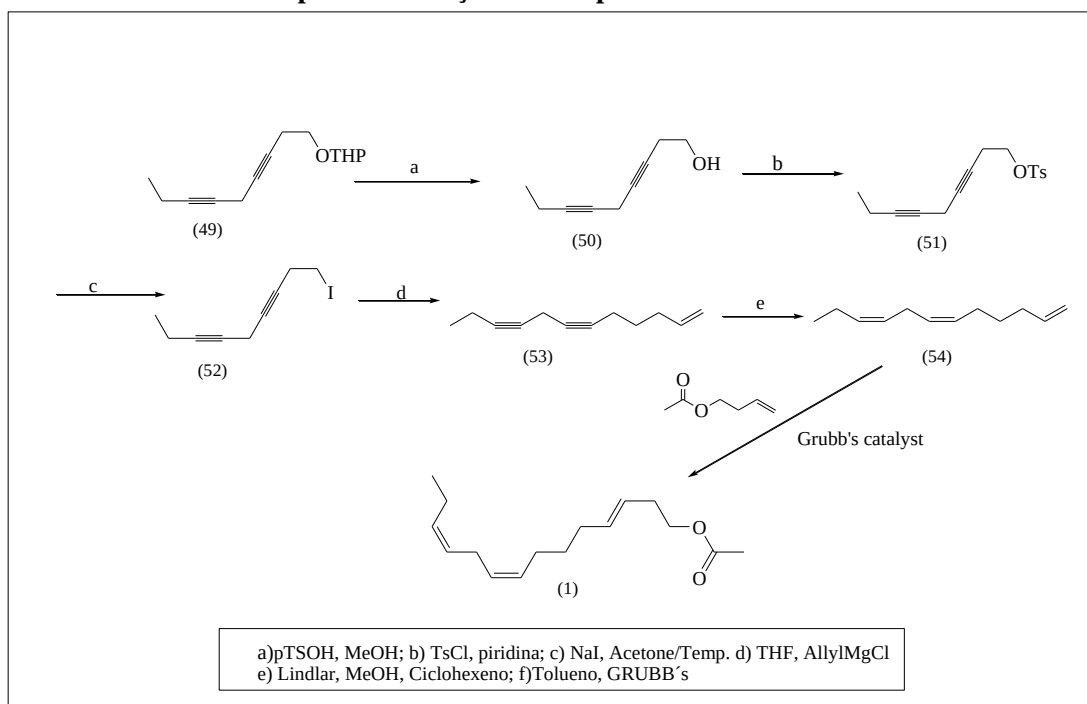
Figura 8 – Síntese convencional para formação do acetato de (Z,Z)-3,6-nonadienol



Fonte: Autor, 2012.

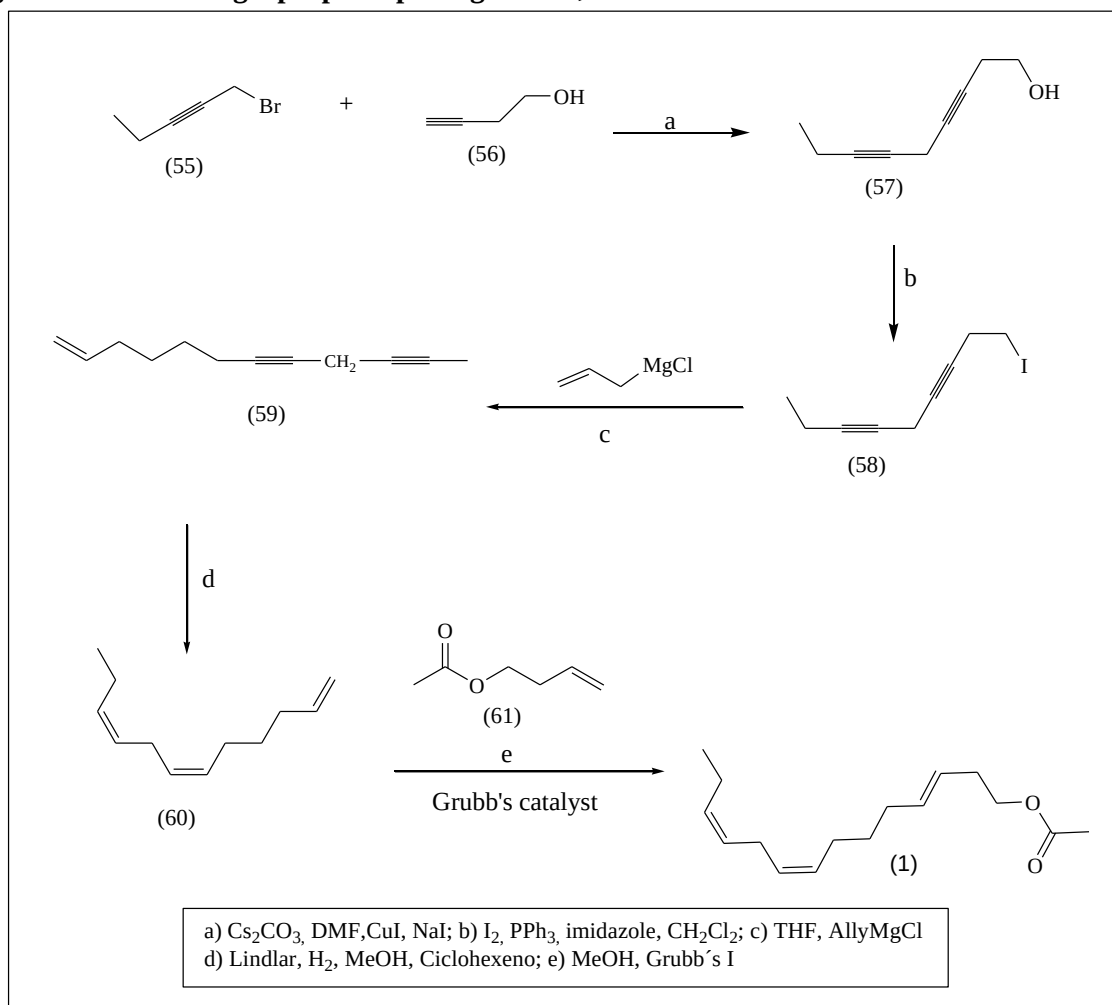
Com problemas decorrentes na etapa de halogenação do composto 45, devido à instabilidade do mesmo, a adição de um grupo abandonador teve que ser ajustada e também a ordem da redução (**Figura 8**), seguindo a mesma metodologia sintética do **Figura 7**. A sequência sintética mostrada na **Figura 9** foi interrompida no composto 52 porque o rendimento conseguido foi baixo. Fez-se nova tentativa, como mostrado no **Figura 10**.

Figura 9 – Rota alternativa para a obtenção do composto 54



Fonte: Autor, 2012.

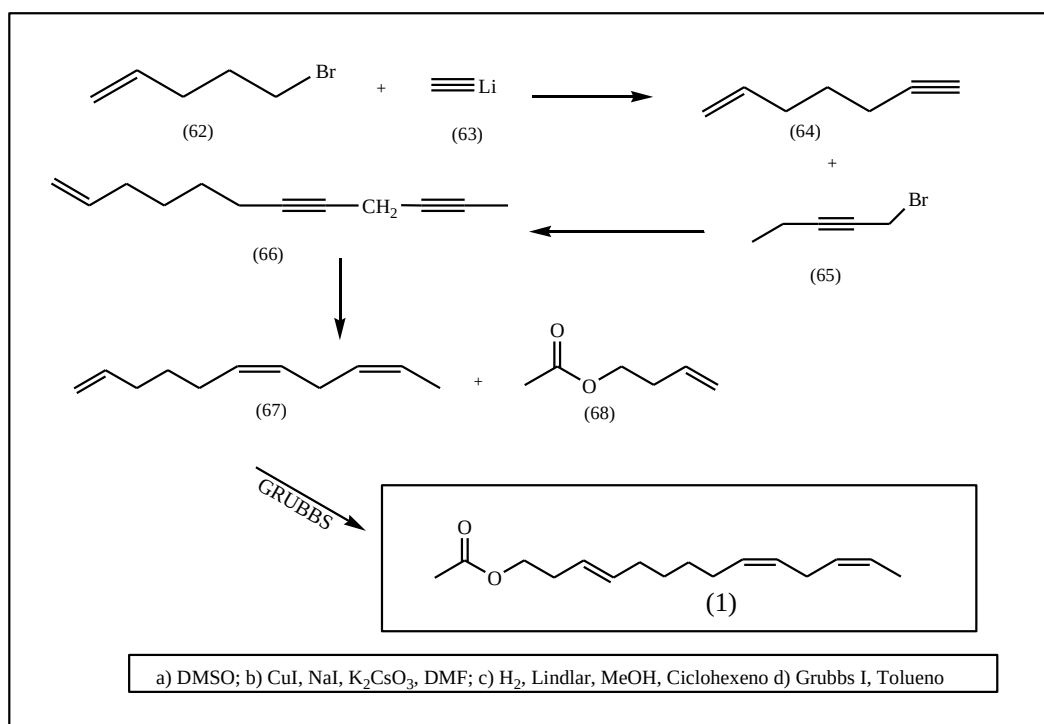
Nesta metodologia seguimos a proposta de síntese de Oger e colaboradores 2010, na qual a primeira etapa consiste em uma reação de acoplamento cruzado catalisado por cobre sob condições ligeiramente modificadas em relação às utilizadas no **Esquema da Figura 10**. O álcool resultante foi convertido no composto 58 que foi usado na síntese do reagente de Grignard que, em seguida, foi hidrogenado usando o catalisador de Lindlar, levando ao produto *cis*-59. Por fim, o composto foi acoplado ao acetato 61, utilizando o catalisador de Grubbs para a formação do acetato (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila (1).

Figura 10 – Metodologia proposta por Oger et al., 2010

Fonte: Oger et al., 2010.

Devido a problemas decorrentes do acoplamento do composto 59 com o reagente de Grignard, passamos para a alternativa, seguindo a metodologia proposta por Negishi et al. (1989) (**Figura 11**). Nesta sequência sintética, o acoplamento entre 62 e 63 é realizado e o produto 64 é purificado por destilação. Ao seguir a metodologia de Oger et al. (2010), que consiste em uma reação de acoplamento cruzado catalisado por cobre, obtém-se o composto carbonilado com duas ligações triplas e uma ligação dupla. Segue-se a hidrogenação do alcino com catalisador de Lindlar para formação das duplas em *Z* e, em seguida, realiza-se o acoplamento catalisado pelo catalisador de Grubbs obtendo-se assim o acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila 1.

Figura 11 – Síntese convencional



Fonte: Autor, 2012.

3.4 Resultados e Discussão

A - Obtenção do (Z,Z)-3,6-nonadienal

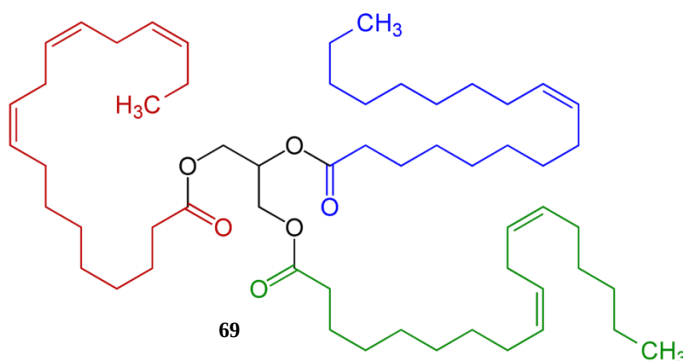
3.4.1 Via A – Síntese Semi-Biotecnológica

✓ Utilização do óleo de linhaça (Linseed) como reagente de partida.

Para testar as reações a serem realizadas para a obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila, realizamos reações com o ácido linolênico como modelo, com a finalidade de buscar uma maneira barata e fácil de obter o (Z,Z)-3,6-nonadienol.

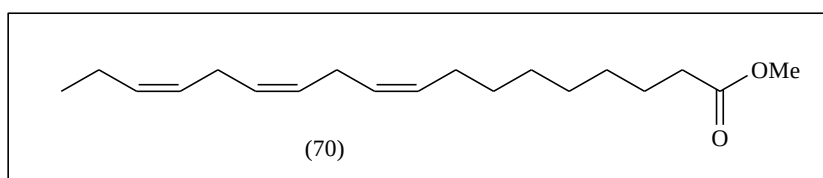
Para realizar a epoxidação do ácido α -linolênico, utilizamos um óleo rico neste ácido e o material de escolha foi o óleo de linhaça (linseed oil). O óleo de linhaça tem como distinção de outros óleos, sua constituição em termos de composição de seus ácidos graxos. O óleo de linhaça bruto pode apresentar em sua composição cerca de 85% de AGI (Ácido Graxo Insaturado), correspondendo a 62% de ácido α -linolênico e 17% de linoleico (LINO, 2000), na forma de acilglicerol. Este óleo contém uma grande quantidade do ácido α -linolênico, sendo, portanto, um ótimo ponto de partida para nosso estudo.

Figura 12 – Triglicerídeo encontrado no óleo de Linhaça (Acido α -linolênico em vermelho).



Fonte: Autor, 2012.

Figura 13 – Éster do ácido α – linolênico



Fonte: Autor, 2012.

✓ Esterificação do Óleo de Linhaça

• Obtenção do (Z,Z,Z)-hexadeca-7,10,13-trienoato de metila (35):

A reação de esterificação de ácidos graxos é normalmente realizada de duas maneiras: catálise ácida ou catálise básica, sendo os reagentes mais usados na catálise ácida, os ácido clorídrico (HCl) e sulfúrico (H_2SO_4) e o trifluoreto de boro (BF_3) em metanol, e na catálise básica, os hidróxido de sódio (NaOH) ou potássio (KOH) em metanol e o metóxido de sódio (NaOCH_3) em metanol. Todos são usados para a esterificação de acilgliceróis e de ácidos graxos livres.

✓ Catálise Básica

Os reagentes mais comuns para a transesterificação de acilgliceróis na catálise básica são hidróxido de sódio (NaOH) ou potássio (KOH) em metanol e metóxido de sódio (NaOCH_3) em metanol (CETINKAYA; KARAOSMANOGLU, 2004).

Os métodos de transesterificação empregando estes reagentes são rápidos e podem ser realizados à temperatura ambiente, em um curto intervalo de tempo. Uma desvantagem, porém, é que estes reagentes não convertem ácidos graxos livres em ésteres metílicos de ácidos graxos devido à reação de saponificação (BANNON; CRASKE; HILLIKER, 1982; GUTNIKOV, 1995). Logo, sua aplicação se torna limitada quando o óleo a ser transesterificado apresentar alta acidez.

Nossa reação inicial foi realizada com KOH/MeOH. A mistura do glicerídeo do ácido linolênico, hidróxido de potássio e metanol foi mantida sob agitação à temperatura ambiente (24°C), por 24 horas e em seguida foi acidulada com HCl (3 M). A análise por cromatografia em placas de camada delgada de sílica constatou que não houve mudança no comportamento do material de partida. Após análises por RMN pode-se constatar que não ocorreu a reação desejada.

✓ **Catálise ácida**

No entanto, nenhum desses procedimentos ocorre à temperatura ambiente. Dentre esses métodos o BF_3 em metanol tem sido amplamente usado para esterificação, porém é extremamente tóxico (ACKMAN, 1998). A obtenção do linolinato de metila foi realizada com sucesso com este método.

✓ **Preparação do epóxido do ester ácido linolênico (36);**

A reação de epoxidação com ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) é muito conhecida (www.organic-chemistry.org/namedreactions/prilezhaev-reaction.shtml) procede com rendimento razoável.

✓ **6-(3-((2Z,5Z)-octa-2,5-dienil)oxiran-2-il) hexanoato de metila(36)**

A evolução da reação foi acompanhada por CCD, sendo observado o consumo total dos reagentes, após 2 h. Após os procedimentos de extração, secagem, evaporação dos solventes e filtração em sílica podemos ver que a epoxidação não era regioseletiva para a posição desejada. A utilização do ácido mono-peroxicanfórico (MPCA) como um agente oxidante assimétrico não levou ao excesso enantiomérico desejado e esta opção foi descartada.

já que na molécula de partida não há nenhum grupo capaz de dirigir a reação de epoxidação para a ligação dupla em C-7.

A epoxidação ocorria em todas as duplas ligações da molécula, de diferentes maneiras, formando uma mistura de compostos, que tornava impossível a separação dos mesmos.

O ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA), reagente de epoxidação, não é um reagente regioseletivo, então age nas três insaturações da cadeia do ácido linolênico. Por utilizar um óleo bruto e sabendo-se da dificuldade de separação dos componentes, abandonamos a reação.. Esta ausência de seletividade pode ser atribuída à impossibilidade de interação estérica entre o grupo substituinte do perácido e as ligações π não funcionalizadas. Concentramos nossa atenção na procura de outra fonte natural para o (Z,Z)-3,6-nonadien-1-ol. Há chance de se encontrar uma enzima capaz de fazer a oxidação seletiva na dupla C-7. Outra alternativa seria realizar a epoxidação do éster metílico do ácido linolênico puro evitando a formação uma mistura complexa de produtos como no caso do uso de óleo bruto, utilizando-se o MPCA na tentativa de obter uma melhora da seletividade

3.4.2 Via B – Obtenção do (Z,Z)-3,6-Nonadien-1-ol por Arraste de Vapor

De acordo com Kemp, Knaveld e Stoltz (1974), o composto (Z,Z)-3,6-nonadien-1-ol foi identificado no óleo obtido da extração por arraste de vapor da melancia.

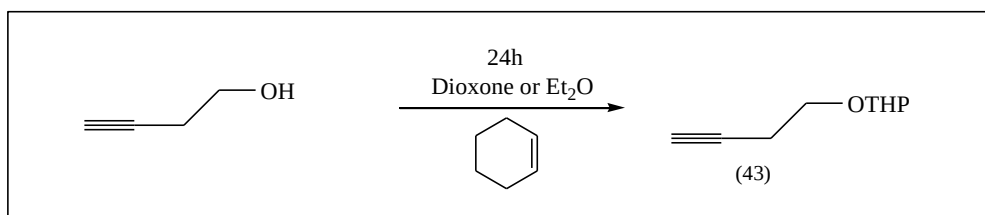
Realizamos várias tentativas para a obtenção do (Z,Z)-3,6-nonadien-1-ol por arraste de vapor mas o produto não foi observado, após a análise do óleo por CG e CG/EM.

3.4.3 Via C – Propostas de Síntese Química do Acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila

As propostas sintéticas para a obtenção do acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila 1 foram baseadas em rota sintética na qual o álcool (Z,Z)-3,6-nonadien-1-ol, obtido por Kemp, Knaveld e Stoltz (1974), por arraste de vapor da melancia, seria em nossa proposição usado como material de partida em uma síntese biotecnológica. Como não foi possível obtê-lo de fonte natural, partimos para sua obtenção através da síntese química para padronizar a reação. A primeira rota proposta foi aquela descrita por Hungerford e Kitching (1998), **Esquema Figura 8**, iniciando pela proteção do butinol.

✓ **Preparação do tetraidropiran)but-3-ino (43)**

Proteção do Álcool



(1)

A proteção de grupo hidroxila com a formação do éter 3,4-diidro-2H-pirano (THP) é conhecida. O THP é um grupo protetor útil para a proteção de álcoois e fenóis sendo estável em uma série de condições. O rendimento obtido foi de 77%.

Tabela 1 – Condições reacionais para preparação do tetraidropiran)but-3-ino

Duração	Solvente	Quantidade	Rendimento
24h	Dioxano	1g	75%
48h	Eter dietílico	1g	77%
48h	Eter dietílico	8g	77%

Fonte: Autor, 2012.

Dois solventes foram testados, a fim de alcançar melhores resultados. Utilizando-se dioxano a reação ocorria com maior rapidez, mas como este solvente é tóxico, foi dada preferência ao éter dietílico como solvente da reação, mesmo que o tempo de reação fosse mais longo.

✓ **Preparação do (tetraidropiran)nona-3,6-diin-1-ol (44)**

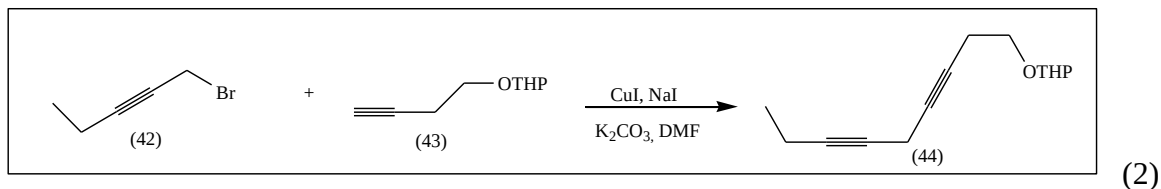
O acoplamento foi realizado por meio de dois métodos: método de Natasha e William (1998) e acoplamento com BuLi(butil-lítio). A reação ocorreu com rendimento de 73% quando o procedimento de Natasha and William (1998) foi seguido, com resultado negativo no acoplamento utilizando BuLi.

Tabela 2 – Condições reacionais para preparação do (tetraidropiran)nona-3,6-diin-1-ol

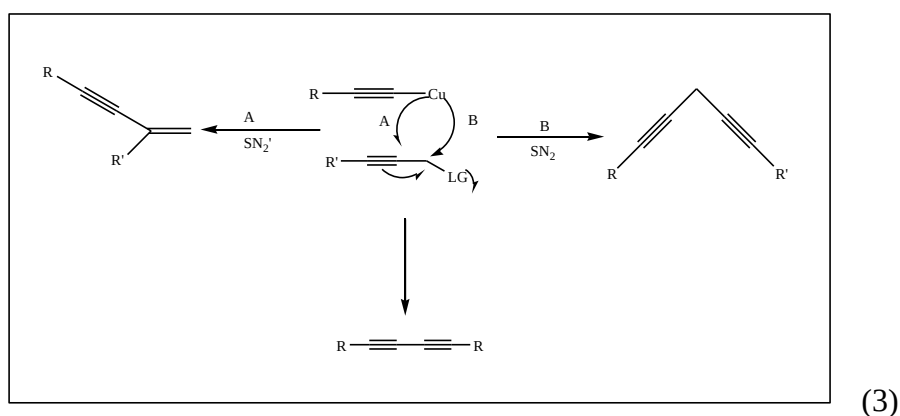
Reagente	Tempo	Rendimento
CuI, NaI, K ₂ CO ₃ , DMF	24h	73%
n-BuLi, THF	24h	Reação não ocorreu

Fonte: Autor, 2012.

- ✓ **Acoplamento cruzado catalisado por cobre de acordo com Natasha e William, 1998.**

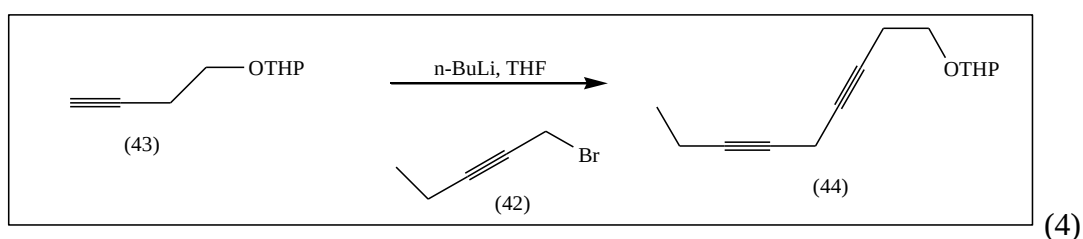


O método do acoplamento cruzado catalisado por cobre de acordo com Hungerford e Kitching (1998) foi realizado em diferentes escalas e em todas obtivemos o produto. No início, a reação era deixada durante o fim de semana (72 horas), depois de repetições e aprimoramento em diferentes escalas e tempo de reação, constatamos que o melhor tempo reacional era de 24 horas.



O composto mostrou-se instável durante a etapa de purificação, diminuindo assim os rendimentos. A alternativa para que o rendimento fosse melhorado foi realizar uma cromatografia flash em coluna.

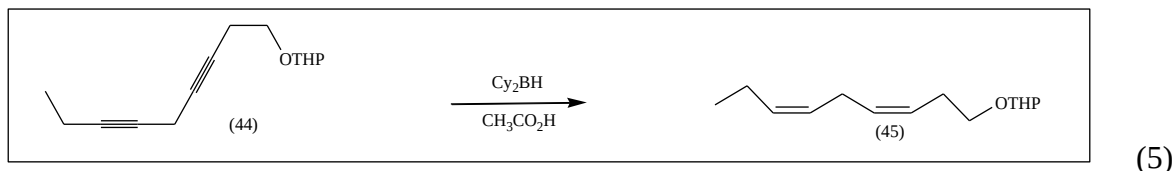
A segunda alternativa usando o acoplamento utilizando BuLi 2,5 mol-L foi realizado. Esta é a reação usual para a formação de ligação C-C mas não proporcionou um bom resultado.



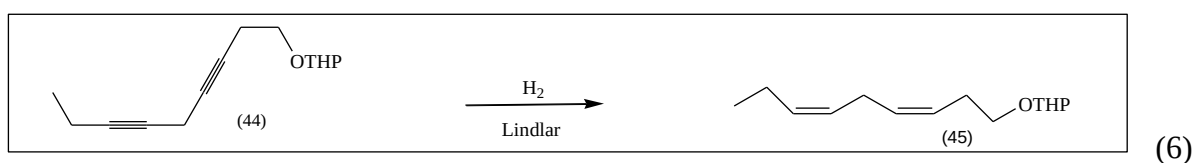
✓ **Hidrogenação para obtenção do isômero *Cis*:**

• **Obtenção do (Z,Z)-1- (Tetraidropiran-2-iloxi)-4,7-decadieno (45)**

Foi testada, primeiramente, uma redução seguindo-se a metodologia descrita por Attygalle et al.(1996) usando diciclo-hexil-borano.



Os resultados foram insatisfatórios, daí, optamos pela hidrogenação, usando o catalisador de Lindlar.



Em algumas reações a quinolina foi utilizado como veneno para . Mesmo após várias reações o procedimento experimental não estava padronizado.

Tabela 3 – Obtenção do (Z,Z)-1- (Tetraidropiran-2-iloxi)-4,7-decadieno

Quantidade	Catalisador	Tempo	Rendimento
100 mg	50%	12h	73 %
200 mg	40%	15h	52%
400 mg	30%	24h	-----
800 mg	30%	8h	-----
1 g	30%	8h	-----
1.8 g	30%	15h	Alcano
2.0 g	30%	8h	-----

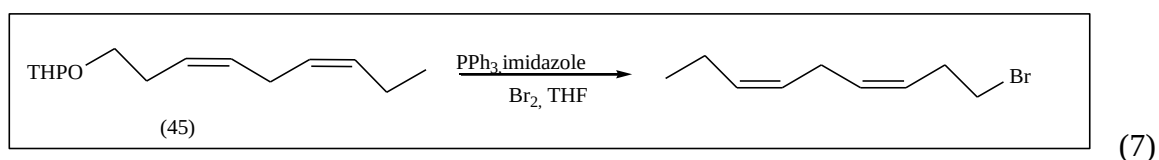
Fonte: Autor, 2012.

Os produtos resultantes das reações eram em sua maioria uma mistura complexa de produtos.

A etapa de hidrogenação utilizando o catalisador de Lindlar foi problemática com baixos reprodutibilidade e rendimento. O controle da hidrogenação foi difícil, pois nas

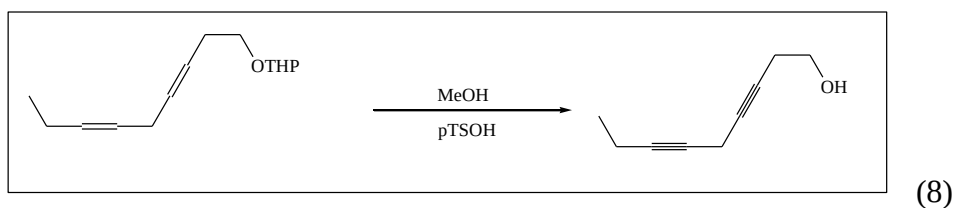
condições utilizadas não era possível controlar a quantidade de Hidrogênio consumida na reação. Apesar do baixo rendimento do produto formado seguiu-se o procedimento experimental com a desproteção e posterior iodinação.

- **Preparação do (Z,Z)-brometo de 3,6-nonadieno**



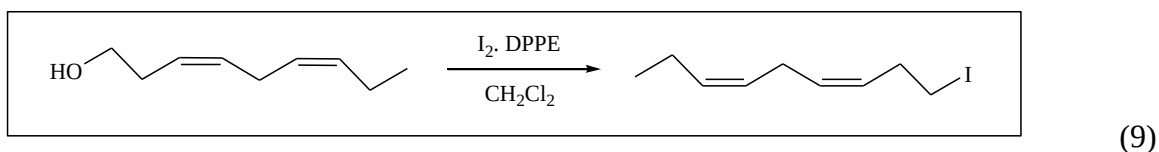
Testou-se inicialmente a metodologia de Attygalle et al. (1996), que permite a conversão direta ao brometo sem desproteção prévia.

- **Desproteção:**



A desproteção é geralmente realizada por hidrólise ácida. Utilizamos a desproteção mais usual, catalisada por ácido p-toluenosulfônico, em metanol (Figura 9)

- **Halogenação:**



O álcool então foi submetido à iodinação utilizando 1,2-bis(difenilfosfino) etano (DPPE) e iodo para obter o 1-iodonona-3,6-dieno(46). Esta alternativa não funcionou mesmo após tentativas de iodinação direta do 3,6-nonadienol.

Tabela 4 – Preparação do 1-iodonona-3,6-dieno

Atmosfera de N ₂	I ₂ 2 equiv.	CH ₂ Cl ₂
-----	I ₂ 1,2 equiv.	CH ₂ Cl ₂

Fonte: Autor, 2012.

Com problemas decorrentes do insucesso da redução para formação das ligações duplas Z e a dificuldade de halogenação dos compostos obtidos, uma nova rota sintética foi tentada. Seguimos com a proposição mostrada no **Esquema da Figura 9**.

Nesta sequência, inicia-se com a desprotonação do composto 49 seguindo-se reação de tosilação, substituição por iodeto e redução com catalisador de Lindlar. A primeira e segunda etapas procederam com rendimentos satisfatórios, porém a substituição do grupo tosilato por iodo não ocorreu e por isto a sequência foi também abandonada.

- **Preparação do (Z,Z)-3,6-nonadienol(50)**

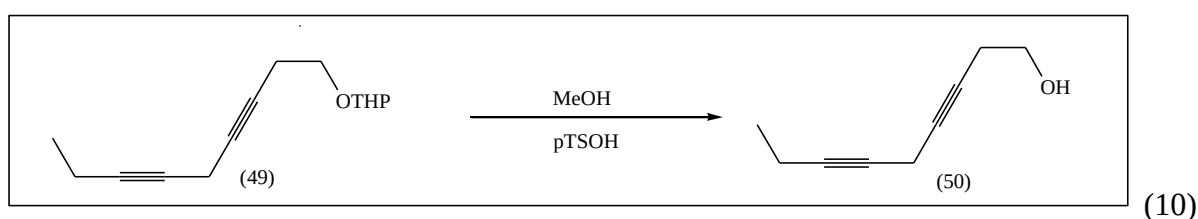


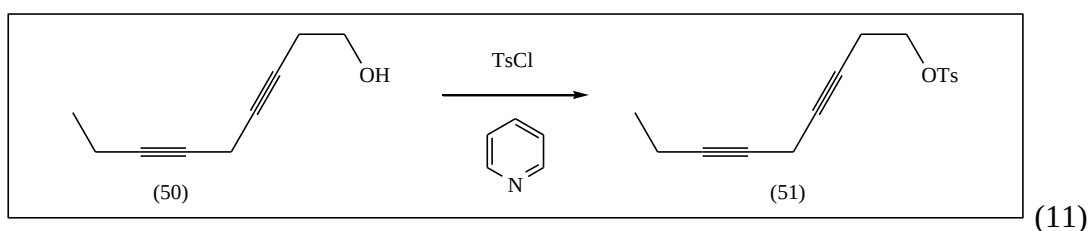
Tabela 5 – Preparação do (Z,Z)-3,6-nonadienol

Quantidade (g)	Porcentagem do catalisador	Rendimento
0,256	10%.	72%
0,555	10%.	75%
1,2g	10%	-----

Fonte: Autor, 2012.

- **Tosilação do álcool 3,6-nonadienol (51)**

Adição do grupo protetor:



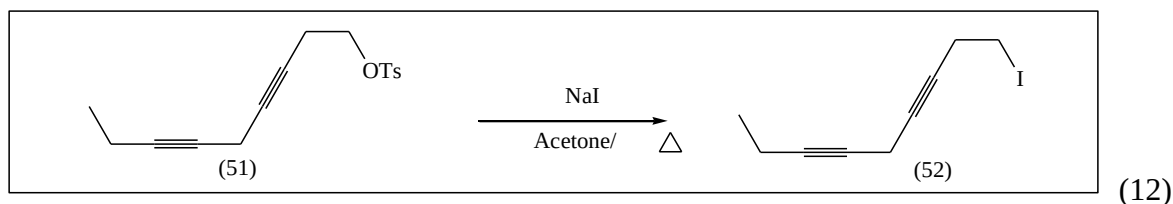
Seguimos a metodologia descrita por Kabalka, Varma, M. e Varma, R. (1986), para álcoois.

Tabela 6 – Preparação do Tosilação do álcool 3,6-nonadienol

Quantidade	Quantidade do catalisador	Rendimento
135 mg	1,5 eq.	não reagiu
357 mg	1,5 eq.	70%

Fonte: Autor, 2012.

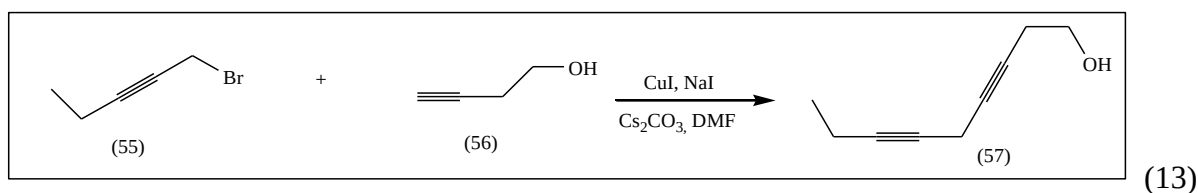
- Preparação do 1-Iodonona-3,6-diino(52):**



Outra metodologia sintética foi utilizada, desta vez, seguindo-se a metodologia de Oger et al. (2010) que utilizou o acoplamento cruzado catalisado por iodo. Esta metodologia diferencia pela utilização do carbonato de cério, em substituição ao carbonato de cálcio e sem envolver a proteção do grupo hidroxila. As reações de acoplamento e iodinação ocorreram com rendimentos baixos, porém utilizáveis necessitando, ainda, de padronização (**Figura 10**).

- Preparação do nona-3,6-dien-1-ol (57):**

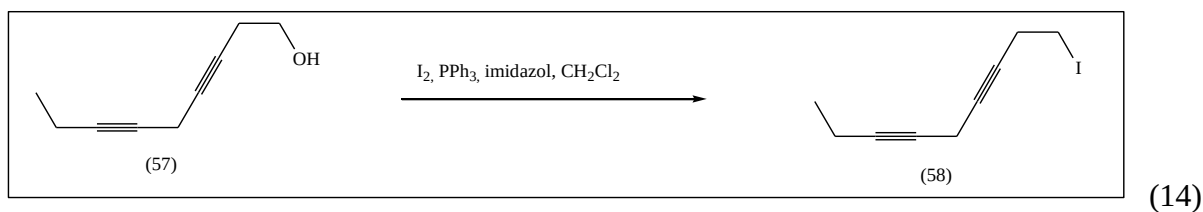
Seguimos a metodologia de Oger et al. (2010)

**Tabela 7 – Preparação do nona-3,6-dien-1-ol (57)**

Escala	Tempo	Rendimentos
1 g	48 h	43%
3 g	24 h	64%
3g	24 h	50%
4 g	24 h	52%
4,54 g	24 h	78%

Fonte: Autor, 2012.

- **Preparação da iodonona-3,6-diino (57):**

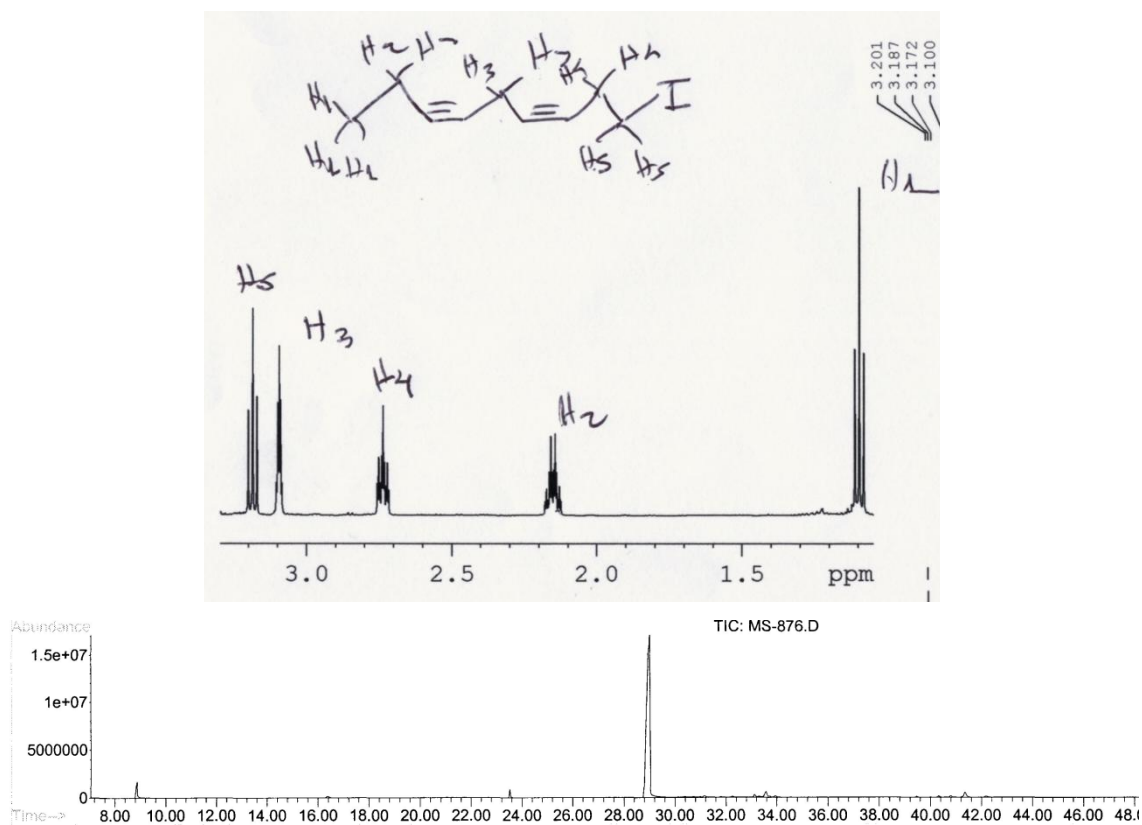


O composto 57 foi identificado como sendo ligeiramente instável durante o procedimento de purificação, baixando o rendimento isolado. Além disso, caso não seja usado imediatamente, estes iodetos devem ser mantidos a 0 °C sob uma atmosfera inerte. Devido a sua instabilidade, geralmente requerem uma filtração antes da sua utilização em outras transformações sintéticas. Sua caracterização estrutural envolveu o uso de ^1H RMN e sua pureza foi atestada via cromatografia gasosa

Tabela 8 – Preparação da iodonona-3,6-diino

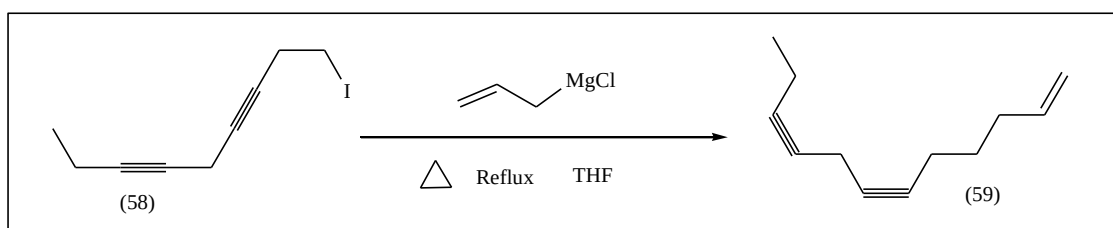
Escala (g)	Tempo	Rendimento
0,5	48 h	51%
0,616	24 h	35 %
0,758	24 h	20 %
1,792	24 h	48 %

Fonte: Autor, 2012.



• Preparação do dodeca-1-en-6,9-diino (59)

A obtenção do dodeca-1-en-6,9-diino (59), **Esquema da Figura 10** foi realizando, em diferentes condições reacionais, com variações em temperatura, solventes e uso de catalisadores. Seguimos as metodologias de Lamers et al., (2003), Baldwin; James; Lee, (2000); Tsuji; Yorimitsu; Oshima (2002).



(15)

Tabela 9 – Preparação do dodeca-1-en-6,9-diino

Metodologia	Procedimento	Rendimento
Y. M. A. W. Lamers et al., 2003	Reação convencional de Grignard com alteração de temperatura reacional e solventes	48%
J. E. Baldwin et al., 2000	LiCuCl ₄ como catalisador	-----
T. Tsuji et al 2002	(CoCl ₂ -DPPE) como catalisador	-----
Procedimento experimental Tony Hooper (Resultado não publicado)	CoCl ₂	-----

Fonte: Autor, 2012.

A metodologia que nos permitiu obter o produto desejado foi aquela descrita por Lamers et al., (2003). Nesta metodologia, utilizamos 2 equivalentes do reagente de Grignard, como descrito pelo autor. Utilizamos o THF, em refluxo, como solvente da reação. As tentativas realizadas com a reação a baixas temperaturas como descrito na literatura não forneceram o produto desejado.

Tabela 10 – Solventes utilizados para preparação do dodeca-1-en-6,9-diino

Solvente	Tempo	Temperatura	Rendimento
Êter	1h	0° C	-----
THF	1h	0° C	-----
THF	6 h	TA	-----
THF	18h	Refluxo	48%

Fonte: Autor, 2012.

Em alguns casos, observamos a formação do produto, mas o resultado não foi reprodutivo. Varias reações laterais aconteceram e o produto formado foi acondicionado no freezer, mas ao tentar reutilizá-lo, o mesmo havia sofrido decomposição. A partir daí, outras metodologias foram testadas utilizando catalisadores como LiCuCl₄ (tetraclorocuprato de lítio) e DPPE [bis(difenilfosfonil)metano].

Seguindo a metodologia descrita por Baldwin, James e Lee (2000) realizamos a reação com diferentes quantidades de reagentes, em várias temperaturas, de 0°C, 20°C e refluxo tendo THF como solvente.

Tabela 11 – Preparação 1 do dodeca-1-en-6,9-diino

Catalisador	Tempo	Temperatura	Rendimento
5%	1 h	0° C	-----
10%	1 h	t.a.	-----
10%	6 h	t.a.	-----
10%	18 h	Refluxo	-----

Fonte: Autor, 2012.

Metodologia segundo Tsuji (Tsuji et al., 2002):

A utilização de CoCl_2 como catalisador desta reação envolve inicialmente sua ativação, é necessário que se coloque o catalisador sob vácuo e o aqueça com pistola de aquecimento até que sua coloração fique azulada. O DPPE e THF são adicionados em seguida sob atmosfera de N_2 . O 1-iodonona-3,6-diino é adicionado, e, em seguida, o alilMgCl é adicionado gota a gota à temperatura de -20 °C. Após duas horas de agitação a -20° C, a mistura reacional foi adicionado a uma solução saturada de NH_4Cl e extraída com acetato de etila (3 x 60mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com MgSO_4 e concentradas. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica usando como fase móvel o hexano.

Tabela 12 – Preparação 2 do dodeca-1-en-6,9-diino

Catalisador	Tempo	Temperatura	Rendimento
5%	2 h	-20° C	-----
10%	4 h	0° C	-----
10%	6 h	t.a.	-----
15%	18 h	Refluxo	-----

Fonte: Autor, 2012.

O procedimento realizado anteriormente no laboratório usava apenas o CoCl_2 . A reação foi acompanhada por análises periódicas de CCD e mudanças de temperaturas da reação foram realizadas e observou-se que não havia mudança na reação. Ao final pode-se notar que a reação não ocorreu.

- **Preparação do acetato de 3-butenila (41)**

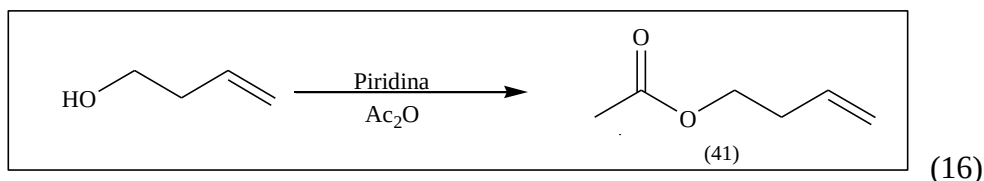


Tabela 13 – Preparação do acetato de 3-butenila

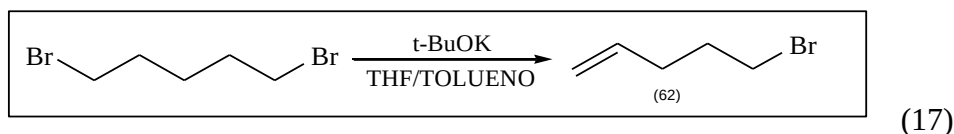
Metodologia	Procedimento	Rendimento
Metodologia Patrick Manyon (Não publicado)	Refluxo	31%
G. Vilaça et al., 2002	TA	22%
Metodologia Patrick Manyon (Não publicado)	TA, Catalisador	40%

Fonte: Autor, 2012.

Para a preparação do acetato de 3-butenila para o uso no acoplamento de Grubbs foram testadas três metodologias, as primeiras duas devido aos baixos rendimentos obtidos foram realizadas apenas uma vez. No primeiro procedimento, o álcool é adicionado em conjunto com a piridina e éter dietílico e deixado sob refluxo. O anidrido acético foi adicionado vagarosamente por 60-90 minutos. A solução resultante foi deixada sob aquecimento por mais uma hora. Após a devida purificação por cromatografia em coluna de sílica o rendimento observado foi de 31,5%. Na metodologia de G. Vilaça et al. (2002), os reagentes foram colocados todos em conjunto e a mistura reacional foi deixada reagir à temperatura ambiente durante a noite, resultando em um rendimento bem abaixo do observado na publicação 85% G. Vilaça et al. (2002). Obtivemos um rendimento de 22%. Devido ao baixo rendimento, testamos o uso de catalisador, usamos o DMAP quando o rendimento alcançou 40%.

Como as alternativas anteriores não levaram aos resultados almejados, passamos a trabalhar a alternativa proposta no **Esquema da Figura 11**. Esta alternativa sintética foi proposta sem que fosse tomada em conta a formação do (Z,Z)-3,6-Nonadieno.

- **Preparação do 5-bromopent-1-eno(62)**



O 5-bromopent-1-eno (**62**) é disponível para venda, mas devido a problemas na entrega do material, foi necessária a síntese do composto. Nossa primeira opção foi realizar a metodologia de Negishi et al., 1989, sendo o produto obtido por meio de destilação dupla, utilizando HMPA. Devido à toxicidade do solvente HMPA, tivemos que descartar esta opção. A preparação descrita por Baughman et al., 2004, é rápida, com solventes de baixa toxicidade e sem necessidade de purificação. Foi realizada e não apresentou atrasos no planejamento da síntese, embora não tenha havido otimização do rendimento.

Tabela 14 – Preparação do 5-bromopent-1-eno

Escala	Rendimento
2 g	46,7%
4 g	45,4%
8 g	26,6%
10 g	40,2%

Fonte: Autor, 2012.

A reação pode ser realizada em escalas maiores não apresentando riscos e devido ao rendimento a síntese tornou-se também mais econômica do que aquela envolvendo a compra do reagente 5-bromopent-1-eno.

Preparação do hept-1-en-6-ino (64)

A obtenção do hept-1-en-6-ino (**64**) foi realizada, seguindo-se o procedimento proposto por Negishi et al. (1989). Varias reações em diferentes escalas foram realizadas, mas o rendimento obtido não se assemelhou ao descrito na publicação Negishi et al. (1989). Por se tratar de uma reação que envolve uma destilação como etapa de purificação, é ideal para uso em escala industrial.

- **Preparação do hept-1-en-6-ino**

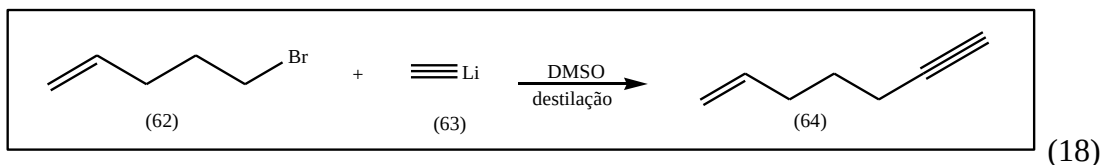


Tabela 15 – Preparação do hept-1-en-6-ino

Escala	Rendimento
2,12 g	45,50%
3,68 g	20,00%
4,02 g	54,80%
8,00 g	35,50%

Fonte: Autor, 2012.

- **Preparação de undeca-1-en-6,9-diino (66)**

A obtenção do undeca-1-en-6,9-diino (66) foi realizada segundo a metodologia proposta por Oger et al. (2010) que consiste em uma reação de acoplamento cruzado catalisada por cobre. Esta reação segue o propósito de síntese que pode ser transferida da escala de bancada para a escala comercial.

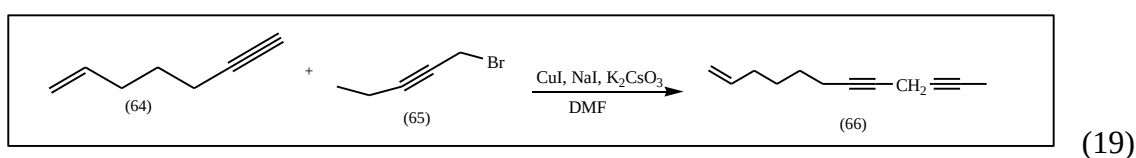
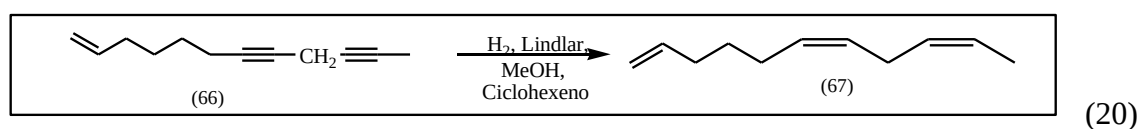


Tabela 16 – Preparação de undeca-1-en-6,9-diino

Escala	Rendimento
0,116 g	35,0 %
0,608 g	48,5%
1,4 g	54,2 %

Fonte: Autor, 2012.

- **Preparação de (Z,Z)-undeca-1,6,9-trieno (67):**



A reação de hidrogenação foi novamente a reação de maior dificuldade na rota. Obtivemos baixo rendimento e a reprodutibilidade da reação é difícil. Quando a reação não ocorria por um período de tempo de 2 a 3 horas, adicionávamos um pouco mais do catalisador.

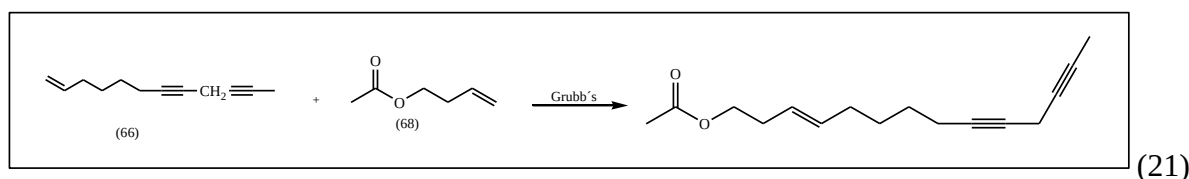
Tabela 17 – Preparação de (Z,Z)-undeca-1,6,9-trieno

Escala	Rendimento
0,100 g	33,5 %
0,200 g	28,7 %
0,400 g	32,6 %

Fonte: Autor, 2012.

Devido a problemas decorrentes da hidrogenação catalítica, fez-se o acoplamento, utilizando o catalisador de Grubbs, diretamente no undeca-1-en-6,9-diino (66), para posterior tentativa de hidrogenação.

- **Preparação do acetato de (E)-tetradeca-3-en-9,12-diinila**



A reação foi testada, pois a reação de metatase utilizando Grubbs como catalisador poderia privilegiar a formação entre as ligações duplas e após a formação do acetato é que faríamos a redução para formação das duplas Z. Foram testadas diferentes condições para a metátese.

Tabela 18 – Preparação do acetato de (E)-tetradeca-3-en-9,12-diinila

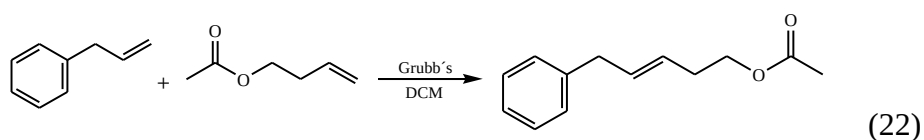
Catalisador	Solvente	Rendimento
1/100 equiv.	DCM	-----
1/50 equiv.	TOLUENO	-----
1/15 equiv.	TOLUENO	-----

Fonte: Autor, 2012.

Duas metodologias sintéticas foram testadas. Uma seguindo-se a patente de numero US 6,696,597 de Grubbs et al., (2004) onde ele relata metodologias sintéticas de metatase para a síntese de feromônios sexuais de insetos e a patente de numero 5,916,983 de Pederson

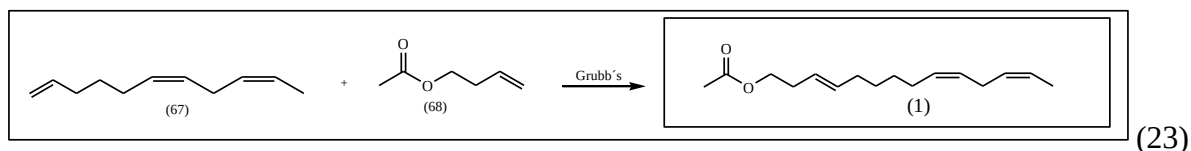
et al. (1999), onde é relatada a formação de compostos biologicamente ativos, formados por metátese catalítica de olefinas.

Um teste foi realizado com a metodologia, para fim de verificação:



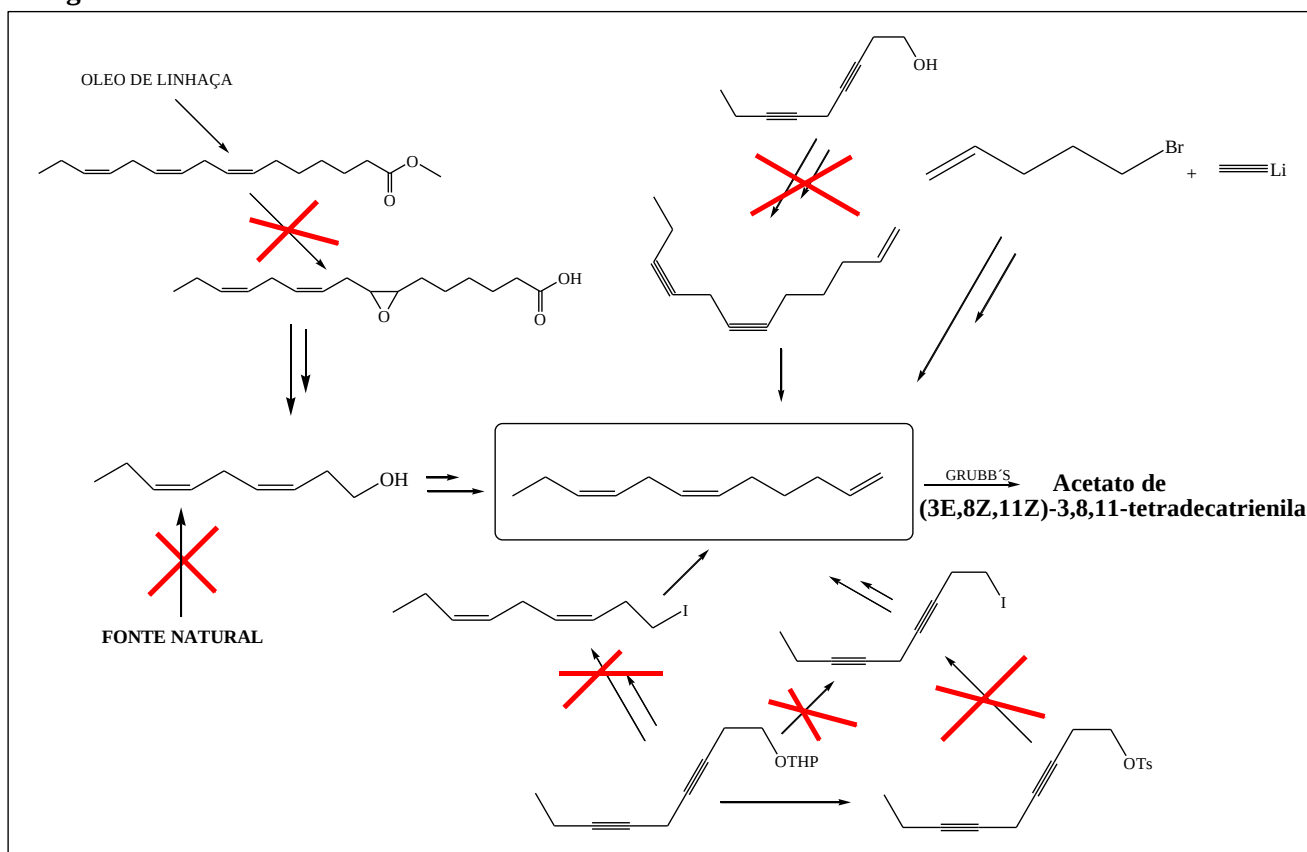
Utilizando a metodologia da patente de Pederson et al. 1999, com uma quantidade de 1/15 equivalentes do catalisador. Uma solução de 1-álilbenzeno, acetato de 3-butenila e catalisador em DCM, foi colocada sob refluxo. Após 2 horas de reação a análise por CCD indicou que o produto inicial havia sido consumido e nesse ponto interrompemos a reação e a mistura reacional foi filtrada em celite. O rendimento não foi calculado, pois se tratava de um teste para saber se a reação ocorreria e se o produto formado era o esperado (acetato de (*E*)-5-fenilpent-3-enila).

- **Preparação do acetato de (*E,Z,Z*)-3,8,11-tetradecatrienila(1):**



Chegando à etapa final da rota sintética, utilizamos a metodologia descrita por Pederson et al. (1999), nossas escalas de reação se limitaram a 100 mg. O produto resultante da reação foi identificado por análise dos espectros de RMN ^1H e GC/MS, mas houve vários produtos laterais na reação que devido ao curto tempo não puderam ainda ser analisados. O rendimento não pode ser calculado, pois não conseguimos obter o produto em uma pureza satisfatória. 1.

Figura 14 – Resultados

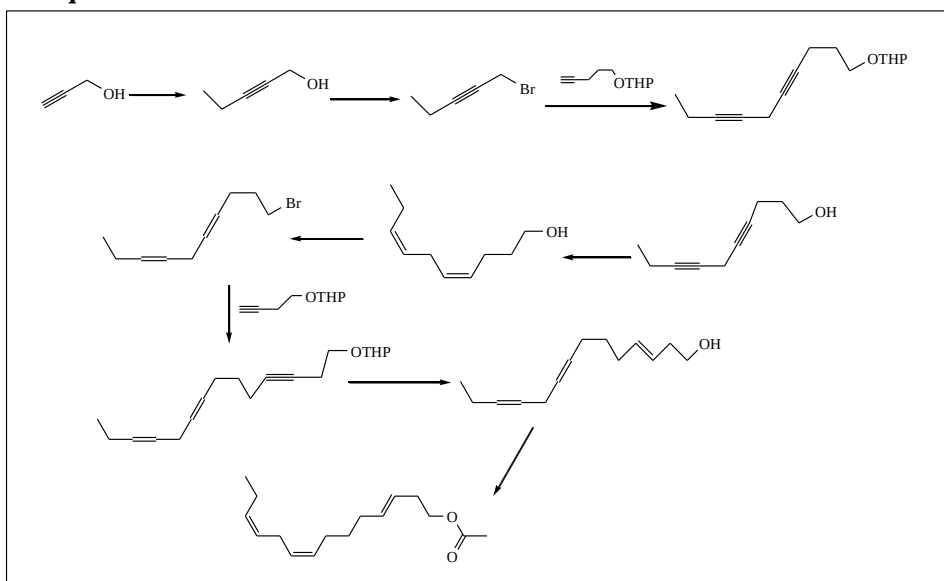


Fonte: Autor, 2012.

3.5 Considerações Finais

Hoje em dia, a aplicação do feromônio sexual da *T. absoluta* para disruptura sexual em áreas que não sejam em casa de vegetação (estufas) é economicamente inacessível. Em parte devido à necessidade de utilizar uma grande quantidade de feromônios para a aplicação nas grandes áreas como ao seu custo excessivo. O custo da síntese do feromônio é crucial para que esta técnica possa ser aplicada. O preço de obtenção do feromônio hoje foi estimado em 900 euros por grama (preço calculado para o produto obtido em escala de bancada), mas este custo poderá ser reduzida a 30 euros por grama, quando o feromônio for sintetizado em uma escala industrial (VACAS et al., 2011).

A síntese convencional praticada pela indústria está apresentada no Esquema da Figura 15 abaixo e foi apresentada na II Jornada de Feromônios de Murcia em 2009 (Frans Griepink, Manager PHEROBANK).

Figura 15 – Esquema da Síntese Pherobank

Fonte: Autor, 2012.

De acordo também com a publicação os dispensadores comerciais possuem 0,8 mg de feromônio com a composição de 95% do acetato de (*E*, *Z*, *Z*)-3,8,11-tetradecatrienila e 5% do acetato de (*E*,*Z*)-3,8-tetradecadienila.

Baseando-se em nossos rendimentos e projeções, fizemos uma estimativa de custo de reagentes e solventes para a produção do composto acetato de (*E*, *Z*, *Z*)-3,8,11-tetradecatrienila. O custo de produção calculado levou em consideração o preço dos reagentes e solventes adquiridos na Aldrich-UK. O custo foi calculado para o produto obtido segundo os Esquemas da Figura 10 e da Figura 11.

Tabela 19 – Esquema de preços do feromônio por diferentes vias

ESQUEMA	PREÇO (em Libra esterlina)
PROPOSTA Oger et al., 2010	54,87
Síntese Convencional	100,38

Fonte: Autor, 2012.

O trabalho desenvolvido servirá de base para o desenvolvimento necessário para levar à síntese do acetato de (*E*,*Z*,*Z*)-3,8,11-tetradecatrienila de escala de bancada para escala comercial. Com o aperfeiçoamento das técnicas de síntese utilizadas no trabalho desenvolvido.

CONCLUSÃO

As metodologias sintéticas desenvolvidas neste trabalho para a síntese do componente feromonal Acetato de **(3*E*,8*Z*,11*Z*)**-3,8,11-tetradecatrienila (1) apresentam características importantes, tanto do ponto de vista econômico quanto sintético e podem vir a ser aplicadas em escala industrial. Apresentam também uma alternativa que pode ser aplicada para produção de outros componentes feromonais de interesse biológico e comercial.

REFERENCIAS

ACKMAN, R. G. Remarks on official methods employing boron trifluoride in the preparation of methyl esters of the fatty acids of fish oils. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v. 75, n. 4, p. 541-545, 1998. ISSN 0003-021X.

ATTYGALLE, A. B. et al. Microscale, random reduction: application to the characterization of (3E,8Z,11Z) – 3,8,11-tetradecatrienyl acetate, a new lepidopteran sex pheromone. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 36, p. 5471-5474, 1996. ISSN.0040-4039

_____. et al. Tetradecatrienyl-acetate, major sex pheromone component of tomato pest *Scrobipalpus absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Bioorg. Med. Chem.**, Oxford, v. 4, p. 305-314, 1995. ISSN 0968-0896.

BALDWIN, J. E.; JAMES, D. A.; LEE, V. Preparation of 3-alkylpyridines. Formal total synthesis of haliclamines A and B. **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 41, n. 5, p. 733-736, 2000. ISSN.0040-4039.

BANNON, C. D.; CRASKE, J. D.; HILLIKER, A. E. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. V. Validation of theoretical relative response factors of unsaturated esters in the flame ionization detector. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v. 63, n. 1, p. 105-110, 1986. ISSN 0003-021X.

BARRIENTOS, Z. R. et al. Temperatura base y constante termica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago, v. 25, p. 133-137, 1998. ISSN 0718-1620.

BENTO, J. M. S. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga. In: VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.). **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 135-144.

CLARKE, J. F. New species of microlepidoptera from Japan. **Entomol News**, v. 73, p. 102, 1962.

DESNEUX, N. et al. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **J. Pest Sci.**, v. 83, p. 197-215, 2010. ISSN 1612-4758.

GERMAIN, J. F. et al. Un nouveau ravageur de la tomate em France: *Tuta absoluta*. **PHM-Revue Horticole**, n. 512, p. 37-41, 2009. ISSN 0031-5087.

GRAVENA, S. Manejo Integrado de pragas do tomateiro. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE TOMATE , 2., 1991, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1991. p. 105-159.

GUTNIKOV, G. Fatty acid profiles of lipid samples. **J. Chromatogr. B, Biomed. Appl.**, Amsterdam, v. 671, p. 71-89, 1995. ISSN 0378-4347.

HAJI, F. N. P. et al. Biologia da traça do tomateiro sob condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 2, p. 107-110, fev. 1988.

HUNGERFORD, N. L.; KITCHING, W. Titanium(II)-based Z-reduction of alkynes. Syntheses of deuterium labelled linolenic and oleic acids and (3E,8Z,11Z)-tetradeca-3,8,11-trienyl acetate, the sex pheromone of a tomato pest, *Scrobipalpuloides absoluta* **J. Chem. Soc., Perkin Trans.**, London, v. 1, n. 11, p. 1839-1858, 1998. ISSN 1472-7781.

KABALKA, G. W.; VARMA, M.; VARMA, R. S. Tosylation of alcohols. **J. Org. Chem.**, Washington, v. 51, p. 2386-2388, 1986.. ISSN 0022-3263.

KEMP, T. R.; KNAVELD, E.; STOLTZ, L. P. 3,6-Nonadiel-1-ol from *Citrullus vulgaris* and *Cucumis melo*. **Phytochemistry**, New York, v. 13, p. 1167-1170, 1974. ISSN 0013-9422.

LAMERS, Y. M. A. et al. Synthesis of chiral methyl-branched linear pheromones starting from (+)-aromadendrene: part 7. **Tetrahedron**, Oxford, v. 59, n. 47, p. 9361-9369, 2003. ISSN 0040-4020.

LINO: una oleaginoso con historia. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 10, n.38, p. 59-72. 2000. ISSN 0017-3495. Doi:10.3989/gya.

MAO, J.; GU, H.; ZHANG, P. A novel and efficient synthesis of intermediates for the preparation of fexofenadine. **Scholarly Research Exchange**, v. 2008, Article ID 137091, p. 1-4, 2008. doi:10.3814/2008/137091.

MEDEIROS, M. A. et al. **Manejo integrado da traça-do-tomateiro em ambiente protegido**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. (Circular Técnica n. 36).

MORAES, G. J. de; NORMANHA FILHO, J. A. Surto de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) em tomateiro no trópico semi-árido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 503-504, 1982.

MOREIRA, J. O. T.; LARA, F. M.; CHURATAMASCA, M. G. C. Ocorrência de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) danificando tomate rasteiro em Jaboticabal, São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 7., 1981. Fortaleza, **Resumos...** Fortaleza: SEB, 1981. p. 58.

MUSZINSKI, T.; LAVENDOWSKY, I. M.; MASCHIO, L. M. A. Constatação de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) [*Gnorimoschema absoluta*] (Lepidoptera: Gelechiidae), como praga do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), no litoral do Paraná. **An. Soc. Entomol. Bras.**, Londrina, v. 11, n.1, p. 291-292, 1982. ISSN 0301-8059.

OGER, C. et al. Lipase-catalyzed regioselective monoacetylation of unsymmetrical 1,5-primary diols. **J. Org. Chem.**, Washington, v. 75, p. 1892-1897, 2010. ISSN 0022-3263.

OGER, C. et al. Optimization of base-catalysed transesterification reaction of used cooking oil. **Energy and Fuels.**, Washington, v. 18, p. 1888-1895, 2004. ISSN 0887-0624.

PICANÇO, M. et al. Incidência de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e controle químico de pragas. **Hortic. Bras.**, Brasília, DF, v. 13, p. 180-183, 1995. ISSN 0102-0536.

_____. et al. Perdas na produtividade do tomateiro em sistemas alternativos de controle fitossanitário. **Hortic. Bras.**, Brasília, DF, v. 15, n. 2, p. 88-91, 1997. ISSN 0102-0536.

SILVA, C. R. da. **Obtenção de precursores sintéticos do acetato de (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienila, componente principal do feromônio sexual da mariposa *Scrobipalpuloides absoluta* praga da cultura de tomates.** 2006. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de Brasília. Brasília, DF, 2006.

SILVA, G. A. et al. Control failure like hood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*. **Pest. Manag. Sci.** v. 67, p. 913-920, 2011. ISSN 1526-4998.

SOUZA, J. C. de; REIS, P. R. **Traça do tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle.** Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 14 p. (EPAMIG: boletim técnico, 2).

SPERS, E. E.; KASSOUF, A. L. A abertura de mercado e a preocupação com a segurança de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, p. 16-26, 1996. ISSN 0101-9171.

SVATOŠ, A. et al. Sex pheromone of tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 22, p. 787-800, 1996. ISSN 0098-0331.

TSUJI, T.; YORIMITSU, H.; OSHIMA, K. Cobalt-catalyzed coupling reaction of alkyl halides with allylic grignard reagents. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 41, p. 4137-4139, 2002. ISSN 4137-4139. DOI: 10.1002/1521-3773(20021104)41:21<4137::AID-ANIE4137>3.0.CO;2-0.

UCHOA-FERNANDES, M. A.; DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **An. Soc. Entomol. Bras.**, Londrina, v. 24, n.1, p. 159-164, 1995. ISSN 0301-8059.

URBANEJA, A. et al. La polilla del tomate *Tuta absoluta*. **Phytoma Espana**, v. 194, p. 16-23, 2007. ISSN 1131-8988.

VACAS, S. et al. Studies on the development of a mating disruption system to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pest Manag. Sci.**, v. 67, p. 1473-1480, 2011. ISSN 1526-4998.

VATÈLE, J. M. et al. (1995), Synthesis of methyl (5Z, 8Z, 11E, 14Z, 17Z)- and (5Z, 8Z, 11E, 14Z, 17E)-eicosapentaenoate (EPA Δ 11t and Δ 11t, 17t), **Chem. Phys. Lipids.**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 65-70, 1995. ISSN 0009-3084.

VILAÇA, G. et al. Synthesis of l-ascorbic acid derivatives as potential bone remodeling agents taking advantage of the Mitsunobu reaction. **Tetrahedron**, Oxford, v. 58, n. 45, p. 9249-9256, 2002. ISSN 0040-4020.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Quim. Nova**, v. 32n. 3, p. 722-731, 2009. ISSN 0100-4042.

**CAPITULO 4 – SISTEMA DE CONTROLE DE PRAGAS COM LIBERAÇÃO
CONTROLADA DE COMPOSIÇÕES CONTENDO
FEROMONIOS**

4.1 Introdução

O desenvolvimento da estratégia do manejo integrado de pragas (MIP) vem crescendo muito desde que os problemas com o uso de pesticidas, como resistência e contaminação ambiental, entre outros, tornaram se evidentes. Os semioquímicos – moléculas informativas usadas na interação inseto-inseto e inseto-planta estão cada vez mais inseridos nas estratégias do MIP, como uma alternativa ou complemento ao tratamento com inseticidas. Estes compostos espécie-específicos não apresentam qualquer efeito adverso aos organismos benéficos e não geram qualquer risco de resistência do inseto praga como observado com os inseticidas.

A maioria dos semioquímicos voláteis são muito instáveis devido a sua estrutura química, sendo assim necessário fazer formulações destes compostos de forma a protegê-los da degradação causada por oxigênio e luz na região UV (HEUSKIN et al., 2011). No entanto, a formulação deve assegurar a liberação controlada do feromônio. Uma grande falha nos liberadores comerciais de feromônios usados atualmente é que eles são "passivos" para sua liberação, dependem da temperatura ambiente. Em pomares de maçã na Suécia, 90% do feromônio da *mariposa-das-maçãs* (*Carpocapsa pomonella*) aplicado é liberado fora do período de vôo diário, principalmente durante o período de picos de temperaturas (WITZGALL et al., 1999). Para ser eficiente nas técnicas de MIP, o liberador de semioquímicos deve agir de forma controlada (WITZGALL et al., 1999). e para tanto deve ter especificações particulares:

- 1) A cinética de emissão deve ser de ordem zero e controlada, ou seja, a velocidade da liberação não deve variar em função da concentração de feromônio; e deve ser próxima da velocidade ótima que depende das condições do campo, da intensidade da praga, e do tipo de tratamento que está sendo empregado;
- 2) O liberador deve ser adaptável de forma que atenda às necessidades do feromônio, em relação ao tipo de tratamento e condições climáticas (deve ser resistente à oxidação e degradação por radiação UV) (ZADA; FALACH; BYERS, 2009);
- 3) A emissão de misturas de feromônios deve ser exata e proporcional, isto porque a maioria dos feromônios são misturas complexas de compostos, que

freqüentemente têm diferentes volatilidades, e devem ser emitidos em proporções adequadas durante o tratamento;

- 4) O liberador deve ser biodegradável. (MUÑOZ-PALLARES et al., 2001; STIPANOVIC et al., 2004).

Várias formulações e liberadores foram desenvolvidos e comercializados com variadas capacidades de liberação, lenta e controlada. A maioria deles está envolvida na ruptura de acasalamento de Lepdopteras (mariposas). Três grupos podem ser citados: liberadores de matriz sólida, formulações líquidas para aerosol e reservatórios de formulação. Do ponto de vista histórico, o primeiro liberador descrito e de maior uso é o septo de borracha (ROELOFS et al., 1972).

O grupo de pesquisa a que pertencem se interessa particularmente pelos feromônios de coleobrocas de palmáceas, desde a síntese e formulação do semioquímico sintético Rincoforol (6-metil-2-hepten-4-ol), feromônio de agregação da broca-do-olho do coqueiro, *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) (NAVARRO et al., 2002) para o controle de pragas no Brasil. O feromônio é acondicionado em cápsulas de plástico do tipo Eppendorf safe-lock®, que segundo Duarte e Lima (2001) com um furo de 1 mm de diâmetro atinge uma taxa de liberação diária de 4,3 mg de rincoforol (DUARTE; LIMA, 2001).

Os liberadores de matriz sólida podem ser aplicados nas culturas ou nos pomares. Os semioquímicos são incorporados na matriz sólida e devido à variação dos materiais que podem ser usados para constituir a matriz, a velocidade de liberação de uma simples molécula pode diferir significativamente de um liberador para outro como foi demonstrado por GOLUB et al. (1983) para a velocidade de liberação do gossiplure [acetate de (Z,Z)- e acetato de (E,Z)-7,11-hexadecadien-1-ila, o feromônio sexual da lagarta rosada do algodão (*Pectinophora gossypiella* Saunders, Lepidoptera: Gelechiidae), em diferentes formulações.

As formulações de liberação lenta e controlada na forma de aerosol são geralmente compostas de uma matriz líquida biodegradável, na qual os semioquímicos são dissolvidos. De forma regular, outros componentes podem ser adicionados para proteger os semioquímicos como estabilizantes anti luz UV, antioxidantes e surfactantes.

De forma freqüente, uma formulação em aerosol consiste em uma emulsão resultando em microesferas poliméricas contendo os semioquímicos (feromônios microencapsulados)

dispersos em uma matriz líquida. (ATTERHOLT et al., 1999; DE VLIEGER, 2001) estudou a velocidade de liberação do feromônio sexual da mariposa oriental das frutas, em uma emulsão de parafina aquosa como transportador do material.

O “*Reservoir dispenser*” consiste geralmente de duas partes, o reservatório e a área de difusão. Hofmeyr e colaboradores (1995) descreveram um liberador consistindo de tubo de vidro atuando como um reservatório de feromônio impermeável ligado a um tubo de polietileno a partir do qual o feromônio pode difundir. Outros reservatórios foram testados por Shem e colaboradores (2009) para a mosca tse-tse. O liberador consistiu de uma parte superior “o reservoir” que foi construída em alumínio, com a área de difusão feita de tubos de silicone Tygon®.

A Tabela 1 lista uma série de liberadores testados para diferentes formulações (HEUSKIN et al., 2011).

Tabela 1 – Liberadores utilizados para feromônios

(Continua)

Tipos de liberador ou de formulação	Referência (ANO)	Semioquímicos e Inseto Alvo	Cultivo Protegido	Estudo da taxa de liberação (e dados de observação e medidas)
Dispensadores sólidos				
Saches de Polietileno	Torr et al. (1997)	Mosquitos Tse-tse (Diptera: Glossinidae: Glossina sp.) caimônios: 1-Octen-3-ol, 4-metilfenol and 3-n-propilfenol.	Não há (captura).	Métodos gravimétricos e de coleta de voláteis. As velocidades de liberação são independentes da quantidade de feromônio presente no dispensador (cinética de emissão de ordem zero) e relacionadas diretamente à superfície, inversamente à espessura da parede e exponencialmente à temperatura.
	Rochat et al. (2002)	Feromônio de agregação de machos do besouro Dynast, <i>Scapanes australis</i> Bsdv. (Coleoptera: Scarabaeidae): 2-butanol, 3-hidroxi-2-butanona, 2,3-butanediol.	Coco	Não houve estudo de liberação
	Van der Kraan et al. (1990)	Feromônio sexual de Lepidóptera para interrupção de acasalamento: acetato de tetradecen-1-ol (Z9-14: Ac e Z-11-14 : Ac).	Pomares	Comparação de tubos de polietileno com outros dispensadores. Coletor de voláteis em cartuchos de espuma de poliuretano + eluição por solventes. A velocidade de liberação depende do tipo de dispensador, da temperatura e da velocidade do vento.
Frascos e tubos de polietileno (por exemplo Shin-Etsu®)	McDonough et al. (1992)	Mistura de disruptores de acasalamento da mariposa Codling moth, <i>Cydia pomonella</i> L. (Lepidoptera: Olethreutidae: (E,E)-8,10-dodecadien-1-ol / dodecan-1-ol / tetradecan-1-ol.	Pomares	Coleta de voláteis em cartuchos de sílica gel + + eluição por solventes. A velocidade de liberação depende do conteúdo de feromônio no tempo (cinética de liberação de primeira ordem).
	Bradley et al. (1995)	Feromônio sexual da mariposa da maçã light brown apple moth, <i>Epiphyas postvittana</i> (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae): E11-14: OAc / E9,E11-14:OAc / Z11-14:OAc.	Pomares	Coleta de voláteis + medida of liquid pheromone length over time. Comparação da velocidade de liberação experimental e por modelagem, considerando temperatura real de campo (relação da velocidade de liberação linear x temperatura).

Tabela 1 – Liberadores utilizados para feromônios

(Conclusão)

Tipos de liberador ou de formulação	Referência (ANO)	Semioquímicos e Inseto Alvo	Cultivo Protegido	Estudo da taxa de liberação (e dados de observação e medidas)
Frascos e tubos de polietileno (por exemplo Shin-Etsu®)	Johansson et al. (2001)	Feromônio sexual de sawflies: <i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr. and <i>Diprion pini</i> L. (Hymenoptera: Diprionidae). Acetatos de pentadecanol / (2S, 3S, 7S)-3,7-dimetil-2-tridecanol / (2S, 3R, 7R)-3,7-dimetil-2-tridecanol.	Pinheiros	Método gravimétrico. A velocidade de liberação aumenta com a temperatura.
	A	Feromônio sexual da fêmea de cocoa pod borer, <i>Conopomorpha cramerella</i> (Snellen) (Lepidoptera: Gracillariidae): acetatos de (E,Z,Z)- and (E,E,Z)-4,6,10-hexadecatrienila e alcóois correspondentes.	Cacau, <i>Theobroma cacao</i> L.	Método por extração total com solventes. Velocidade de liberação. De primeira ordem.
Septos de borracha	Butler et al. (1979, 1981)	Feromônio sexual de várias espécies de mariposas : alcóois e acetatos	Pomares.	Método por extração total com solventes. O tamanho molecular do feromônio é um dos fatores determinantes da velocidade de evaporação em septos de borracha. A posição da ligação dupla e os isômeros condicionam o tempo de meia vida.
	Kehat et al. (1994)	Feromônio sexual de codling moth, <i>Cydia pomonella</i> L. (Lepidoptera: Olethreutidae): (E,E)-8,10-dodecadien-1-ol	Pomares de maçãs e peras	Coleta de voláteis em cartuchos Porapak Q + eluição por solvente. As velocidades de liberação decrescem com o tempo de uso dos dispensadores.
Fibras ocas	Golub et al. (1983)	Mistura de feromônios sexuais de pink bollworm (<i>Pectinophora gossypiella</i> Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae): acetato de (Z,Z)- and (E,Z)-7,11-hexadecadien-1-ila.	Pomares	Método por extração total com solventes. Comparação da taxa de liberação em vários dispositivos: fibras ocas, septos e pavios de borracha vermelha. A velocidade de liberação depende do tipo de matriz.
Dispensadores de plástico (PVC, PVC-resina...)	Golub et al. (1983)	Mistura de feromônios sexuais de pink bollworm (<i>Pectinophora gossypiella</i> Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae): acetato de (Z,Z)- and (E,Z)-7,11-hexadecadien-1-ila.	Pomares	Método por extração total com solventes. Comparação da taxa de liberação em vários dispositivos: fibras ocas, septos e pavios de borracha vermelha. A velocidade de liberação depende do tipo de matriz.
	Lopez et al., (1991)	Feromônios sexuais de <i>Helicoverpa zea</i> (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae): (Z)-11-hexadecenal / (Z)-9-hexadecenal / (Z)-7-hexadecenal.	Campos de milho e algodão	Coleta de voláteis em cartuchos Tenax + eluição por solventes. Decréscimo da velocidade de liberação com o tempo.
Formulações com aerossóis				
Emulsões de parafina	Atterholt et al., (1999)	Mistura de disruptores de acasalamento da mariposa do fruto oriental <i>Grapholita molesta</i> (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae): acetato de (Z)-8-dodecen-1-ila / acetato de (E)-8-dodecen-1-ila- / (Z)-8-dodecen-1-ol.	Pomares	Coleta de voláteis em cartuchos Super Q + eluição por solventes. A velocidade de liberação é dependente da formulação e da área superficial de evaporação; aumenta com a temperatura.
Microcápsulas: feromônios imobilizados em substrato poroso, recoberto por membranas de filmes poliméricos	Stipanovic et al. (2004)	Feromônios sexuais de codling moth, <i>Cydia pomonella</i> L. (Lepidoptera; Olethreutidae) (codlemone: (E,E)-8,10-dodecadien-1-ol) e da mariposa cigana, <i>Lymantria dispar</i> L. (Lepidoptera: Lymantriidae) (disparlure: (Z)-7,8-epoxi-2-metiloctadecano).	Pomares.	Método gravimétrico. A velocidade de liberação depende da área superficial da cobertura da microcápsula e do volume do , microporo.
Reservatórios				
“Home-made” reservoir dispensers: tubos de vidro e de polietileno	Hofmeyr et al. (1995)	Armadilha de mistura de feromônios contra a codling moth falsa, <i>Cryptophlebia leucotreta</i> (Meyr.) (Lepidoptera: Tortricidae): acetato de (E)-7-dodecenila/ acetato de (E)-8-dodecenila / acetato de (Z)-8-dodecenila.	Pomares	Método gravimétrico. A velocidade de liberação depende do tamanho do tubo de polietileno.
Reservatórios com área de difusão em sílica	Shem et al. (2009)	Mistura de alomônios (waterbuck odour) (ácidos carboxílicos, cetonas, δ -octalactona, 2-metoxi-4-metilfenol) contra mosquitos tse-tse (Diptera: Glossinidae: Glossina sp.).	Não há	Métodos gravimétricos. A velocidade de liberação depende da temperatura. Os compostos da mistura interagem entre si. kinetic cinética de liberação é diferente para um compost isolado (ordem zero) e para a mistura (primeira ordem)

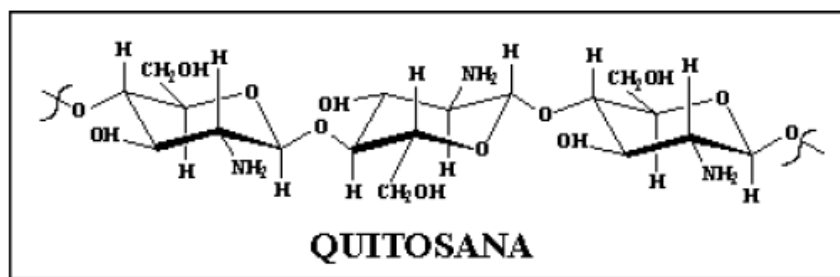
Fonte: Heuskin et al., 2011.

4.2 A Quitosana

Os polímeros utilizados na confecção de sistemas de liberação controlada de moléculas bioativas podem ser de duas origens: natural ou sintética. Dentre os naturais usados, podem ser citados os polissacarídeos, tais como a quitosana, a gelatina e o amido e, dentre os sintéticos, podem ser citados os poliésteres e os acrilatos (MANO; MENDES, 2004). Nos últimos anos tem aumentado o interesse nos polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, como sistemas de liberação controlada de compostos biologicamente ativos, por varias razões, como a preocupação ambiental e o maior potencial de ação associado a estes polímeros, sem causar efeitos colaterais em nosso organismo (PICH et al., 2006). No entanto, o alto custo dos polímeros biodegradáveis em comparação aos polímeros convencionais de base petroquímica, atualmente constitui um problema a ser resolvido (LEMES, 2005; ROSA et al., 2001, 2002,). Vários polímeros estão sendo amplamente utilizados na obtenção de vetores micro/nanoparticulados como transportadores de fármacos.

A quitosana é um heteropolissacarídeo de ocorrência natural encontrado nas paredes celulares de alguns fungos, especialmente de *Aspergillus niger* e de espécies dos gêneros *Mucor* e *Zygomycetes* (PETER, 1995; COSTA SILVA et al., 2006). A maior fonte de obtenção desse carboidrato é a partir da reação de *N*-desacetilação da quitina, segundo biopolímero mais abundante na natureza, depois da celulose (TONHI; PLEPIS, 2002) e que pode ser extraído de carapaças e exoesqueletos de crustáceos, de cutículas de vários invertebrados, de paredes celulares de fungos e de algumas algas (MORAES et al., 2007). Como norma, o produto *N*-desacetilado da quitina só passa a ser considerado quitosana quando o grau de desacetilação se torna igual ou superior a 60%, percentagem a partir da qual o polissacarídeo torna-se solúvel em soluções ácidas diluídas; esse fato não se aplica à quitina, que permanece insolúvel no meio (ROBERTS, 1992).

Figura 1-Formula estrutural quitosana



Fonte: Autor, 2012.

Quimicamente, a quitosana apresenta-se na forma de um copolímero linear (ALVES; MANO, 2008) composto por monômeros de 2-amino-2-desoxi-*D*-glicopirranose (*GlcN*) e 2-acetamido-2-desoxi-*D*-glicopirranose (*GlcNAc*) (SAJOMSANG et al., 2009), cuja composição varia em função do grau residual de acetilação, porém, com a unidade de *GlcN* sempre em maior proporção (GUINESI et al., 2007). Na formação da cadeia polimérica, essas duas unidades permanecem unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 $\rightarrow$ 4). Na síntese da quitosana, os grupamentos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) nos carbonos-2 da quitina são transformados, em taxas variadas ($\geq 60\%$), em grupos amino ($-\text{NH}_2$), dando origem a uma poliamina com diferentes graus de desacetilação (CANELLA; GARCIA, 2001). Contudo, resquícios de grupos acetamido ao longo da cadeia ainda podem ser encontrados parcialmente hidrolisados e, desta forma, algumas funções ácido carboxílico também podem estar presentes (SANDOVAL et al., 1996). Tanto a quitosana quanto seu polissacarídeo precursor assemelha-se ao homopolímero de celulose, sendo que a diferença marcante reside na presença de grupos hidroxila ($-\text{OH}$) nos carbonos-2 do último biopolímero. As principais técnicas utilizadas na caracterização da estrutura da quitosana incluem: espectroscopias no infravermelho (IV) (SHIGEMASA et al., 1996) e no ultra-violeta (UV) (MUZZARELLI; ROCCHETTI, 1985) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) em fase líquida (VARUM et al., 1991) e de carbono 13 (RMN ^{13}C) em fase sólida (CAPITANIA et al., 2001).

Atenção especial tem sido dedicada à quitosana, um polímero biodegradável obtido por desacetilação da quitina, quer por tratamento com bases fortes, quer por métodos microbiológicos (CHATTERJEE et al., 2005). É um polímero com características aplicáveis em vários setores de atividades. Dentre as diversas aplicações da quitosana destacam-se seu uso na área médica, como veículo para a liberação controlada de fármacos, como curativos e agentes antimicrobianos. Na área ambiental, a quitosana tem sido explorada para remoção de traços de metais, da água e de efluentes industriais. Na indústria de alimentos, a quitosana pode ser usada como espessante, preservante e ainda como embalagem, dentre outras aplicações (RORRER et al., 1993; RIBEIRO et al., 1999). Na agricultura, um uso da quitosana diz respeito ao desenvolvimento de suportes para imobilização de biomoléculas. O polímero pode ser utilizado como matéria-prima no desenvolvimento de membranas, filtros e microesferas, os quais podem ser utilizados em diversos ramos da biotecnologia agrícola (GUIBAL et al., 2005). Apesar das excepcionais propriedades da quitosana, poucos são os trabalhos relatando o seu uso para a imobilização e liberação controlada de feromônios para o controle de pragas.

O estudo da velocidade de liberação não especifica a eficiência da ação biológica do semioquímico liberado pelo dispensador, mas permite ter uma ideia da cinética de liberação com o tempo, de acordo com as condições climáticas. Muitos dispensadores não garantem uma velocidade de liberação constante, levando a um decréscimo da velocidade de liberação durante o período. No entanto, o mais importante é saber em que momento a quantidade de semioquímico liberada não é mais suficiente para influenciar no comportamento do inseto, para daí, promover a troca do liberador.

4.3 Objetivos

4.3.1 Objetivos Geral

- Desenvolver materiais para liberação controlada que sejam adaptáveis às estruturas químicas diferentes dos feromônios, capazes de liberar de maneira controlada mais de um componente e que sejam biodegradáveis ou inertes.
- Avaliar o potencial de liberação, em campo, dos materiais desenvolvidos para a liberação do feromônio de *Rhynchophorus palmarum*, praga das palmeiras e de *Metamasius hemipterus*, praga da cana-de-açúcar.

4.3.2 Objetivos Específicos

- A obtenção de liberador foi efetuada tendo em vista a necessidade de se ter uma formulação que pudesse ser usada para a coleta massal do *M. hemipterus* sem atrair significativamente o *Rhynchophorus palmarum*
- Encapsular e formular o feromônio Metamasol em microesferas de quitosana e quitosana reticulada com glutaraldeído, por meio da técnica de coacervação, para estudos de liberação e aplicação no campo contra a praga *Metamasius hemipterus*

4.4 Metodologia

O liberador de quitosana deve ser caracterizado para se ter um controle da sua capacidade de liberar o semioquímico. Os principais testes estão listados na tabela abaixo:

Tabela 2 – Principais testes e equipamentos correlatos para a caracterização da quitosana

Teste	Equipamento
Teor de umidade	Analizador termogravimétrico
Teor de cinzas	Analizador termogravimétrico
Grau de acetilação	Espectroscopia RMN ^1H
Grau de acetilação	Titulação condutimétrica com solução padronizada de base
Massa molar média -Viscosimetria	Sistema AVS-350 acoplado a um módulo diluidor automático AVS-20/Viscosímetro de Ostwald modelo 520-10/espectrômetro digital Brookfield, modelo DVIII, acoplado a um banho circulador de água termostatizado
Grau de desacetilação	Espectroscopia por transformada de Fourier na região do infravermelho médio (FTIR)
Granulometria	Peneira
Tamanho das esferas e porosidade externa	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)
Calorimetria exploratória diferencial	Calorímetro diferencial (DSC)
Temperatura de transição vítrea	DMA (Analizador dinâmico mecânico)
Mobilidade eletroforética	Zeta-Sizer IV
Tamanho das partículas, intumescimento e estabilidade	Photon correlation spectroscopy (PCS) – imagem por dispersão da luz, 4700 C, Malvern Instruments

Fonte: Autor, 2012

4.4.1 Caracterização da Quitosana

- **Umidade**

Técnica utilizada: Análise Termogravimétrica (TG)

Condições: fluxo dinâmico de ar, massa de 5-10 mg, taxa de aquecimento de 10 °C/min, da temperatura ambiente até 700 °C

- **Cinzas**

Técnica utilizada: Análise Termogravimétrica (TG)

Condições: fluxo dinâmico de ar, massa de 5-10 mg, taxa de aquecimento de 10 °C/min, de temperatura ambiente até 700 °C

- **Grau de acetilação**

Técnicas utilizadas: Espectroscopia RMN ^1H e titulação com solução padronizada de base com detecção condutimétrica

- ✓ Espectroscopia RMN ^1H

As amostras foram dispersas em D_2O para resultar em soluções límpidas de concentração 10 mg/mL após agitação durante 18 horas. Ao solvente foi adicionado HCl em quantidade suficiente ($\text{D}_2\text{O}/\text{HCl}$ 100:1 v/v) para promover a solubilização de quitosana (imprescindível para a forma neutralizada de quitosana) e no sentido de deslocar os sinais interferentes da região examinada para a determinação de grau de acetilação. Uma alíquota de aproximadamente 5 mL da solução de quitosana foi transferida para um tubo apropriado ($\langle I \rangle = 5$ mm) e o espectro foi adquirido a 80°C , utilizando pulso de 90° (8,2 ~S) com varredura de 16 NS. Assim, os graus de acetilação de quitosana foram determinados por espectroscopia RMN ^1H , através da razão entre as áreas dos prótons metílicos do grupo acetamido (ACH_3 ; δ 2,00 ppm) e do próton ligado ao carbono 2 do anel de glicosamina (AH_2 ; δ 3,12 ppm).

- **Titulação com solução padronizada de base, com detecção condutimétrica**

A partir de medidas de condutância da solução de cloridrato de quitosana em água pura a cada volume de base adicionado, a curva de titulação foi construída. Para essas determinações, 0,1 g de amostra de cloridrato de quitosana foi dissolvido em 80 mL de água destilada e deionizada, após agitação constante durante cerca de 18 horas. Após este período, a solução foi titulada com solução de NaOH (0,05 mol/L) à temperatura de $25^\circ \pm 0,1^\circ\text{C}$.

- **Viscosidade intrínseca: permite determinar a massa molar média viscosimétrica**

Técnica utilizada: Viscosimetria com módulo de diluição automática

As medidas foram realizadas em capilar de vidro ($\Theta = 0,53$ mm) termostatizado a $25^\circ\text{C} \pm 0,01^\circ\text{C}$ e as soluções foram sequencialmente diluídas no próprio capilar através da adição programada de volumes previamente determinados do solvente adequado. Os valores

de tempos de escoamento, empregados para as determinações de (η), correspondem a médias de ao menos 5 determinações independentes que não apresentaram variação maior que 0,09%.

A amostra purificada como cloridrato de quitosana foi estudada em soluções aquosas de NaCl 0,1 mol/L e 0,2mol/L e aquela obtida na forma neutralizada em solução aquosa 0,3 mol/L ácido acético / 0,2 mol/L acetato de sódio (pH=4,5). No tratamento dos dados para determinações de valores de viscosidade intrínseca foi empregada equação de Huggins:

- **Morfologia das partículas**

Técnica utilizada: Microscópio comum

- **Perfil de perda de massa em relação à temperatura**

Técnica utilizada: Análise Termogravimétrica (TG)

- **Variação de entalpia**

Técnica utilizada: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

- **Tamanho de partícula**

Técnica utilizada:

- **Adsorção do feromônio**

Permite verificar se houve ligação química entre o feromônio e a matriz

Técnica utilizada: Espectroscopia na região do infravermelho médio (FTIR)

Condições: pastilhas de KBr

- **Quantificação do feromônio**

Técnica utilizada: Cromatografia à gás (GC)

Caracterização da quitosana – seca

Secagem após a formação das esferas de quitosana: estufa a 800 °C, em vácuo e liofilização. Nesse caso, a incorporação do feromônio teria que ser feita após o preparo das microesferas secas. Para material seco, outras técnicas podem ser usadas, além das citadas acima:

- **Grau de intumescimento**

Técnica utilizada: bolsas de diálise

Morfologia das esferas e dos poros

Técnica utilizada: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

- **Distribuição de tamanho de partículas**

Técnica utilizada: Análise de imagem por dispersão da luz (Mastersizer, Malvern)

Condições: faixa de 10 µm a 1000 µm. As amostras de micropartículas foram suspensas numa mistura água/álcool, aproximadamente 30% v/v

Técnica utilizada: Espectroscopia de correlação de fótons (PCS)

- **Cristalinidade**

Técnica utilizada: Difração de Raios-X (DRX)

- **Perfil de perda de massa em relação à temperatura**

Técnica utilizada: Análise Termogravimétrica (TG)

- **Variação de entalpia**

Técnica utilizada: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

- **Carga superficial**

Técnica utilizada: Potencial Zeta

- **Área superficial e Volume de poro**

Técnica utilizada: Adsorção de N₂

4.4.2 Preparação dos Liberadores

Polímeros biocompatíveis e biodegradáveis são compostos altamente atraentes para a confecção de micro e nanoesferas conjugadas ou incorporadas com outros componentes ativos. A quitosana apresenta biocompatibilidade e biodegradabilidade dentre outras propriedades particulares, que permitem a sua manipulação em meio aquoso ácido de modo a conduzir a formação de micro ou nanoesferas conjugadas com compostos em que se deseje fazer uma liberação lenta, controlada ou até mesmo aumentar a eficiência da absorção de substâncias ativas. No nosso caso, o feromônio rincoforol foi encapsulado em microesferas de quitosana e quitosana reticulada com glutaraldeído, por meio da técnica de coacervação, e aplicados no campo contra a praga *Metamasius hemipterus*. Vale ainda ressaltar que ambos os biomateriais utilizados para liberação controlada e o feromônio em questão, ainda não foram haviam sido testados para essa aplicação, o que comprova o ineditismo do experimento.

4.4.3 Testes de Campo

O feromônio foi testado em diferentes ocasiões e em locais diferentes para se obter uma melhor formulação. Os testes de campo foram realizados pelo Dr. Marcos Moreira no Estado da Paraíba para atestar a eficiência do feromônio Metamasol numa formulação que atraiu também o *Rhynchophorus palmarum* e pela Dra. Joana Ferreira da Embrapa Tabuleiro Costeiros tanto para selecionar a melhor formulação como para verificar os liberadores.

4.4.4 Local dos experimentos

Os trabalhos foram desenvolvidos no Distrito de Irrigação Platô de Neópolis, situado na região nordeste do Estado de Sergipe, Brasil na margem direita do Rio São Francisco, distando aproximadamente 110 km de Aracaju. Geograficamente, o Platô de Neópolis se encontra localizado entre os paralelos 10° 17' e 10° 24' de latitude Sul e entre os meridianos 36° 35' e 35° 45' de longitude Oeste de Greenwich, com altitude média de 110 m. Apresenta clima do tipo As' (segundo Köppen), que corresponde ao clima tropical chuvoso com verão

seco, onde a estação chuvosa se adianta para o outono, antes do inverno (abril a julho). A temperatura média anual é de 25,6°C, com precipitação média anual de 1.181 mm.

4.4.5 Instalação das armadilhas

Armadilhas tipo PET, desenvolvidas pela Embrapa Tabuleiros Costeiros para captura de *R. palmarum* (FERREIRA; ARAÚJO; SARRO, 2001) foram distribuídas aleatoriamente em uma plantação de coqueiro com aproximadamente 25.000 plantas (Lote 24) ao longo da borda que margeia a plantação equidistantes 100 metros entre si.

4.5 Resultados e Discussões

4.5.1 Procedimento de formação das esferas de quitosana

As esferas de quitosana foram preparadas a partir do gel de quitosana. As esferas após sua confecção foram deixadas por 24h em contato com a solução básica e lavadas com água destilada com a finalidade de se ter esferas neutras, cujo pH foi avaliado de acordo com a água de lavagem para que as caracterizações físico-químicas fossem realizadas.

Os tratamentos realizados nas esferas de quitosana foram: simples, simples com feromônio rincoforol, glutaraldeído e glutaraldeído com feromônio rincoforol. Quando em glutaraldeído, as esferas foram ativadas deixando-as em solução aquosa de glutaraldeído 0,5% por 24 horas, e se caso, o rincoforol fosse incorporado, 100µL do feromônio é acrescentado a cada 1g de esferas e no caso do feromônio incorporado as esferas simples ocorrem no próprio gel de quitosana, 400µL de feromônio a cada 10 mL de gel, e homogeneizados sob constante agitação.

O objetivo das diferentes caracterizações foi avaliar as modificações geométricas causadas sobre os parâmetros geométricos das esferas de quitosana, como raio médio, densidade, porosidade e teor de umidade.

4.5.2 Determinação das propriedades físicas das esferas

Foram determinadas a densidade, o diâmetro e a porosidade das esferas após sua preparação de acordo com Gonçalves, 1996.

Calculou-se a densidade do gel pelas equações (1) a (5):

$$(1)\text{- Massa de gel } (m_g) = m_2 - m_1$$

$$(2)\text{- Massa de água } (m_a) = m_3 - m_2$$

$$(3)\text{- Volume de água } (V_a) = \frac{m_a}{\rho_a}$$

$$(4)\text{- Volume de gel } (V_g) = 100 - V_a$$

$$(5)\text{- Densidade do gel } (\rho_g) = \frac{m_g}{V_g}$$

Para se obter o raio médio (R_e) utilizou-se a equação (6)

$$(6) R_e = \left(\frac{V_g}{500} \frac{3}{4\pi} \right)^{1/3}$$

Determinou-se a porosidade das esferas por método gravimétrico, no qual uma massa conhecida de esferas é colocada para secar em estufa a 60 °C, por 24 h. Calcula-se a porosidade pela equação (7):

$$(7) \varepsilon_p = \frac{m_{H_2O}}{\rho_{H_2O} \cdot V_g}$$

sendo: ε_g = porosidade do gel; m_{H_2O} = massa de água perdida na secagem; ρ_{H_2O} = densidade da água no gel (g/mL)

Tabela 3 – Propriedades físicas das esferas.

	ρ_e (g/mL)	R_e (cm)	ε_e
gel 1,0%	1,01907	0,136118	1,0182
gel 3,0%	1,04689	0,180706	0,9050
gel 1,0% com glutaraldeído	0,996368	0,146432	0,8310
gel 3,0% com glutaraldeído	1,031085	0,166456	0,7578
gel 1,0% + Metamazol	0,978591	0,131353	
gel 3,0% + Metamazol Form.	1,010534	0,12125	

Fonte: Autor, 2012.

A Tabela 3 mostra os resultados obtidos. Podemos observar uma diminuição da porosidade das esferas contendo glutaraldeído, em relação às esferas sem glutaraldeído, tanto para as de 1% quanto para as de 3%. Esta diminuição se dá devido ao bloqueio dos poros na superfície do suporte por impedimento estérico das moléculas de glutaraldeído. Já a densidade e o raio médio das partículas se alteraram de acordo com a concentração do gel de quitosana e adição dos feromônios.

Estas esferas de quitosana com o feromônio foram levadas a campo para o monitoramento e controle da praga. A formulação é preparada em um sistema de “trap” para a coleta dos insetos. As armadilhas contendo o feromônio são dispostas cerca de 70 a 100 metros uma da outra e o inseto é coletado semanalmente ou de 5 em 5 dias e eliminados.

Tabela 4 – Determinação da densidade da esfera (amostra com 100 esferas)

N. do experimento	Massa balão (g)	Massa das esferas (g)	Massa da água (g)	Volume da água (mL)	Volume das esferas (mL)	Densidade das esferas (g/mL)
I	77,39	1,57	97,72	98,02387401	1,97613	0,79448
II	77,49	1,66	97,87	98,17434046	1,82566	0,90926
III	77,45	1,5	98,26	98,56555321	1,43445	1,0457
Médias	77,45	1,57	97,87	98,17434046	1,82566	0,90926

Fonte: Autor, 2012.

Tabela 5 – Determinação do raio médio das esferas

N. do experimento	Volume das esferas	3 * volume das esferas	Quantidade de esferas * 4 (3,14)	E12/G12	Raio médio da esfera (mm)	Diâmetro da esfera (mm)
I	1,97613	5,92839		0,00472	0,1677	0,3354
II	1,82566	5,47698		0,00436	0,1634	0,3268
III	1,43445	4,30335	1256	0,00343	0,1508	0,3016
Médias	1,82566				0,1634	0,3268

Fonte: Autor, 2012.

Tabela 6 – Porosidade

N. do experimento	Conjunto pesado antes das 24h (g)	Conjunto pesado após 24h (g)			Porosidade
I	43,5	42,37	1,13	1,19	0,94958
II	49,35	48,05	1,3		1,09244
III	38,47	37,45	1,02		0,85714
médias	43,5				0,94958

Fonte: Autor, 2012.

Tabela 7 – Perda por dessecação ou teor de umidade

N. do experimento	conjunto pesado antes das 24 h (g)	conjunto pesado após 24 h (g)		teor de umidade (%)
I	47,33	45,06	2,27	4,79611
II	140,55	138,57	1,98	1,40875
III				
médias				3,10243

Fonte: Autor, 2012.

Tabela 8 – Viscosidade - Viscosímetro 300; F-496, Constante = 0,2646 Cst/S**GEL SIMPLES**

TEMPO						
MINUTO		SEGUNDO	MILÉSIMO		TRANSFORMAÇÃO EM SEGUNDO	VISCOSIDADE (cSt)
3	10800	38	0	0	10800	2857,686
3	10800	37	25	0,025	10800,025	
3	10800	36	59	0,059	10800,059	
3	10800	37	13	0,013	10800,013	
3	10800	35	18	0,018	10800,018	
3	10800	34	94	0,094	10800,094	
3	10800	34	0	0	10800	
3	10800	33	47	0,047	10800,047	
					10800,0215	
VISCOSIDADE EM GEL DE QUITOSANA SIMPLES 					2857,686cSt/s	

Fonte: Autor, 2012.

Tabela 9 – Comparação entre os parâmetros nas várias formulações

Parâmetros	sem tratamento	com glutaraldeído	Rinco. incorporado no gel	Rinco. incorporado com glutaraldeído
densidade(g/mL)	0,844	0,866	0,83773	0,90926
raio médio (mm)	0,161	0,170	0,1418	0,1634
volume das esferas (mL)	1,745	2,066	1,1937	1,82566
teor de umidade (%)	3,495	1,842	1,03979088	3,10243
porosidade	1,488	2,404	1,06723	
viscosidade (cSt)	3421,288	1621,808	*	*

Fonte: Autor, 2012.

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos das determinações das esferas de quitosana nos diferentes tratamentos como a densidade, diâmetro médio, porosidade e teor de umidade. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Tabela 10 – Determinações físicas nas esferas de quitosana em diferentes tratamentos

	Esferas simples	Esferas simples + rincoforol	Esferas com glutaraldeído	Esferas com glutaraldeído + rincoforol
Densidade	0,844±0,020	0,834±0,0252	0,86642±0,04	0,852±0,081
Diâmetro	0,322 ±0,014	0,283±0,00236	0,3406±0,0121	0,3268±0,017
Porosidade	1,609±0,171	1,02±0,065	2,419±0,512	0,90336±0,065
Teor de umidade	3,498±0,121	0,763±0,391	1,8424631±0,637	3,10243±2,395

Fonte: Autor, 2012.

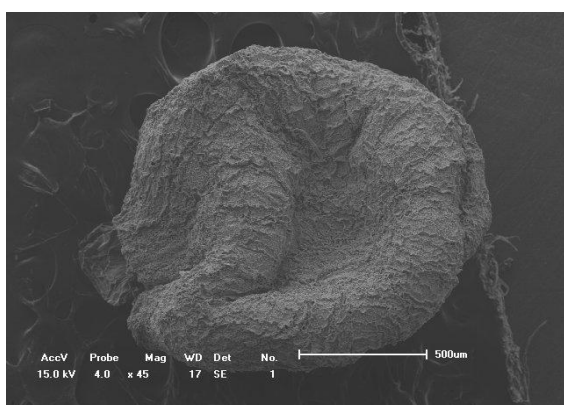
Quanto as caracterizações de densidade, diâmetro, porosidade e teor de umidade apresentada nos diferentes tratamentos nas esferas de quitosana, quando formadas apresentam-se menores, na qual irá ser maior a medida que são acrescentadas a ela glutaraldeído e/ou o feromônio rincoforol, pois esses preenchem os poros existentes nestas esferas, no qual o biopolímero formador tem a propriedade de agir como quelante ligando-se seletivamente a várias substâncias alargando a aplicação em diversos processos industriais, fazendo com que se utilize pouca substância incorporada, reduzindo custos e maior tempo de vida útil por esta agregada a um material orgânico.

Não se observa diferenças acentuadas em relação aos parâmetros de densidade e diâmetro das microesferas, pois a concentração de glutaraldeído utilizada é baixa, não se encontrando uma quantidade o suficiente de grupos aldeídicos na superfície do polímero, ocasionando a formação de ligações imino entre os próprios grupos amino do polímero (ligações entrecruzadas) para acentuar a diminuição da densidade e do diâmetro das microesferas (VILLELA, 2006).

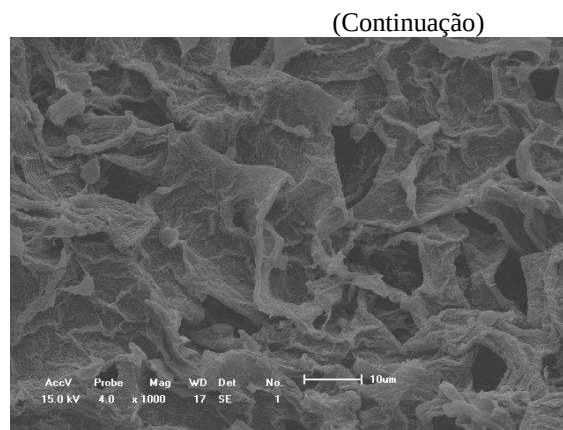
A viscosidade foi avaliada como um dos parâmetros também responsáveis pela formação das esferas de quitosana assim como a reprodutibilidade do processo. A viscosidade da esfera simples foi de 2857,686cSt/s e a viscosidade da esferas simples acrescida com o rincoforol é bem menos viscosa 1526,407 cSt/s.

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) são apresentadas na Tabela 2. As figuras (a), (c), (e) e (g) no aumento de 45x e as figuras (b), (d), (f) e (h) no aumento 1000x.

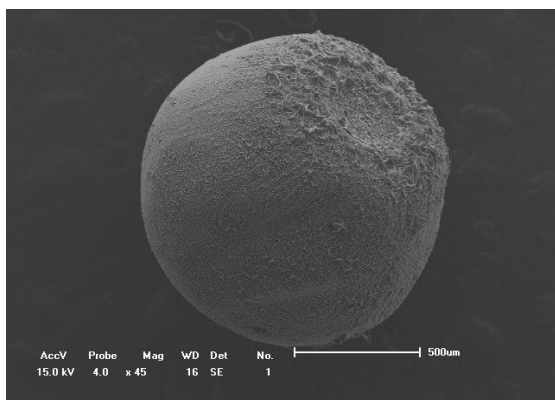
Figura 2 – Microscopia Eletrônica de Varredura das esferas de quitosana em diferentes tratamentos



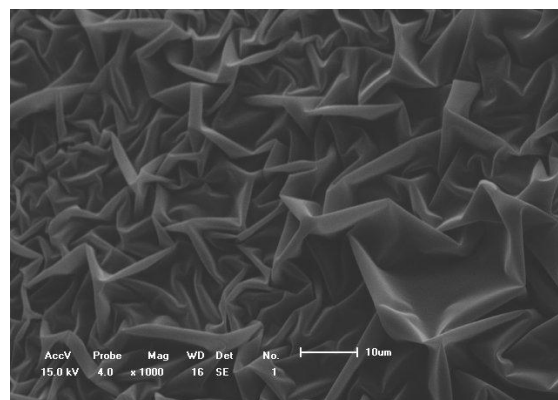
(a) Esfera de quitosana simples. Aumento de 45x.



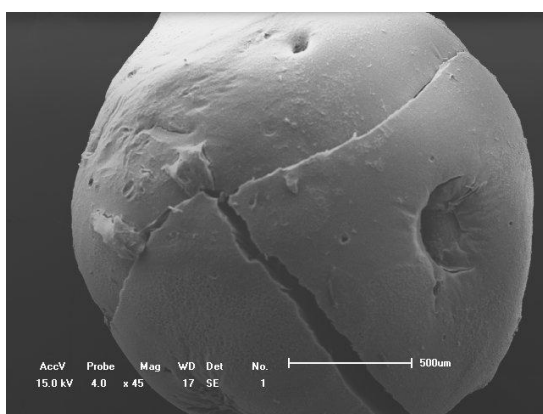
(b) Esfera de quitosana simples. Aumento de 1000x.



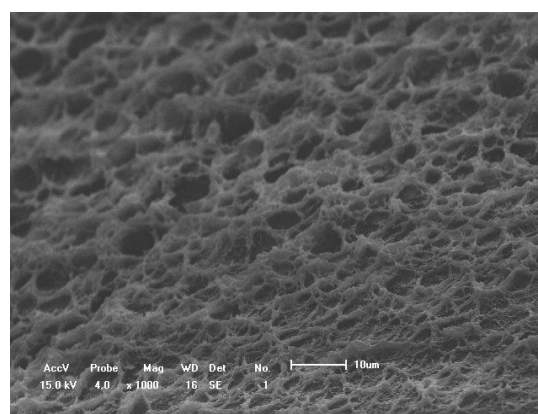
(c) Esfera de quitosana simples + ríncoforol. Aumento de 45x.



(d) Esfera de quitosana simples + ríncoforol. Aumento de 1000x.



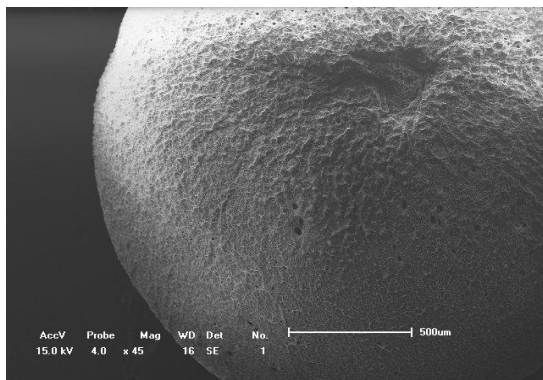
(e) Esfera de quitosana glutaraldeído. Aumento de 45x.



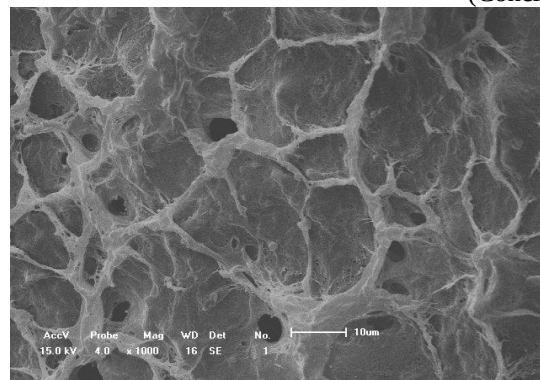
(f) Esfera de quitosana glutaraldeído. Aumento de 1000x.

Figura 2 – Microscopia Eletrônica de Varredura das esferas de quitosana em diferentes tratamentos

(Conclusão)



(g) Esfera de quitosana glutaraldeído + rincoforol. Aumento de 45x.



(h) Esfera de quitosana glutaraldeído + rincoforol. Aumento de 1000x.

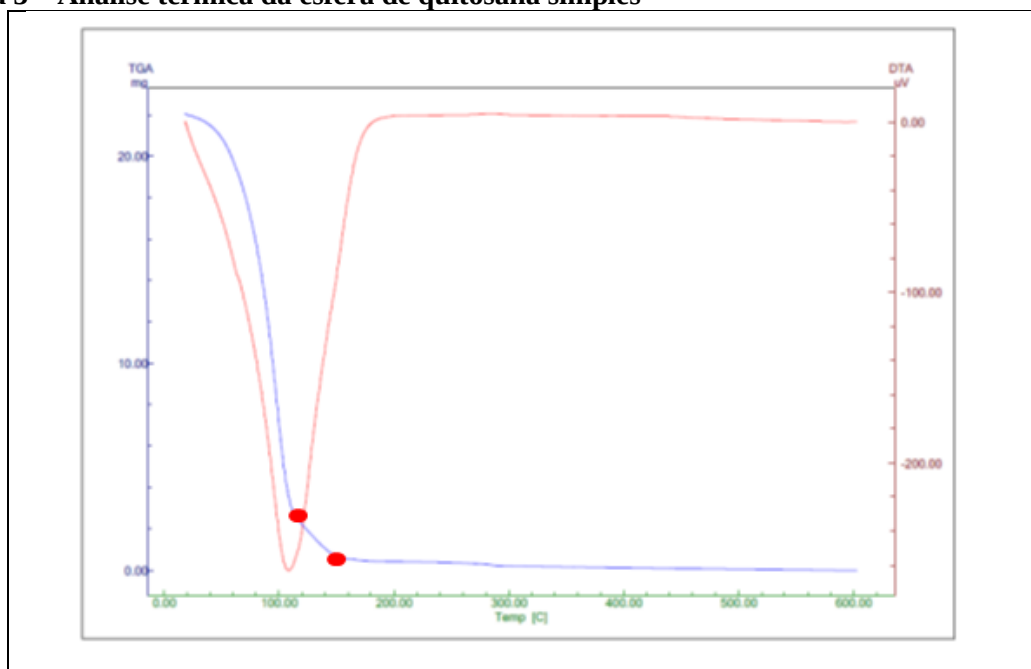
Fonte: Autor, 2012.

A varredura nas superfícies das microesferas de quitosana confirmara a porosidade das mesmas mostradas na Tabela 1, ou seja, conforme a esfera simples vai sendo acrescida de substâncias, os poros vão sendo ocupadas. Avarredura das esferas de quitosana revelou uma superfície cheias de protuberâncias, originadas pela distribuição de pacotes de substâncias no interior das esferas.

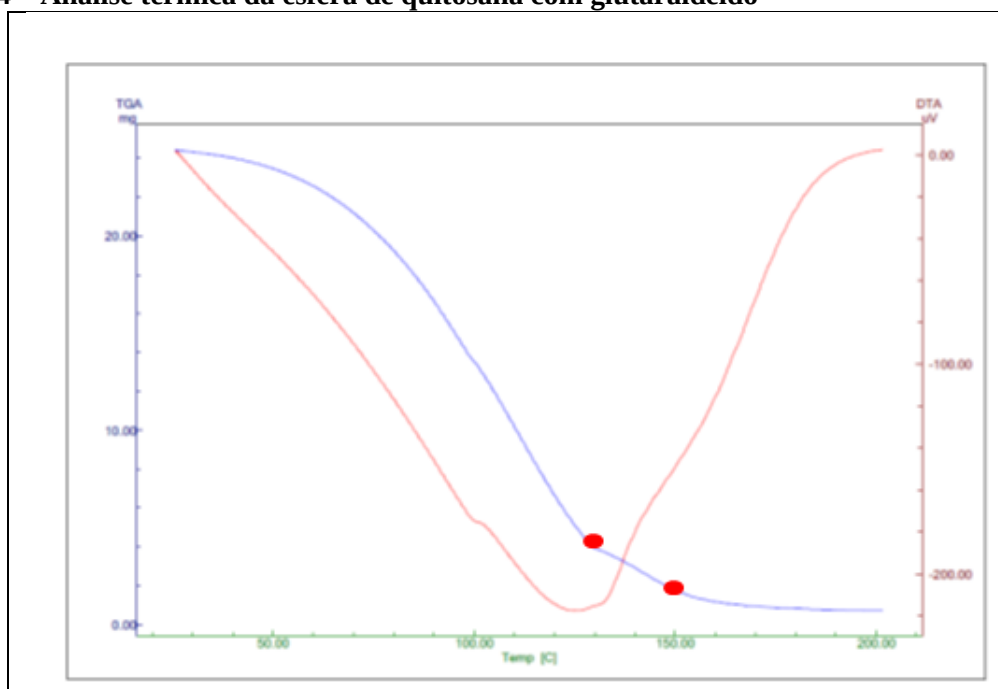
Nas Figuras (b) e (d) que representam as microesferas simples sem e com rincoforol incorporados, respectivamente tem na primeira uma superfície com poros aparentes e largos e na outra figura se tem uma superfície totalmente encoberta pelo excesso do feromônio ao ser incorporado a esfera simples.

Nas Figuras (f) e (h) que representam as microesferas simples inter cruzadas com o agente aglutinante glutaraldeído sem e com rincoforol incorporados, respectivamente apresentam poros menos visíveis do que os apresentados na figura (a).

As Figuras de 1 a 3 mostram a análise termogravimétrica (TGA) das microesferas de quitosana, revelando a perda de água e massas das amostras.

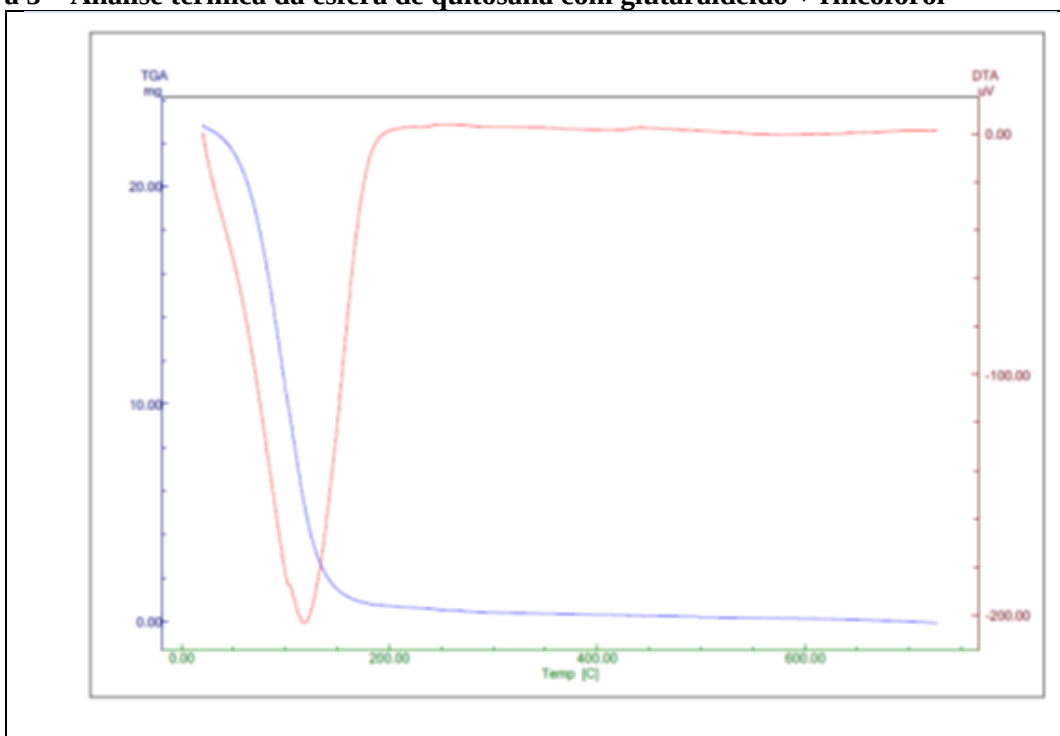
Figura 3 – Análise térmica da esfera de quitosana simples

Fonte: Autor, 2012.

Figura 4 – Análise térmica da esfera de quitosana com glutaraldeído

Fonte: Autor, 2012.

Figura 5 – Análise térmica da esfera de quitosana com glutaraldeído + rincoforol



Fonte: Autor, 2012.

Foi observada a eliminação do material até 200°C nos três diferentes casos de tratamento das esferas, porém nas Figuras 3 e 4 houve a degradação sutil da amostra em dois estágios diferentes, conforme as indicações em vermelho. Curiosamente, esta degradação sutil observada ocorreu em dois casos em que não havia o rincoforol incorporado e com picos de decaimentos centrados entre 100 e 150°C. Estes valores de temperatura representam os pontos de máxima perda de massa dos materiais poliméricos.

As curvas de calorimetria diferencial de varredura mostraram um evento endotérmico em torno de 120 e 130°C. Tal evento está relacionado à eliminação de matéria orgânica e a decomposição dos resíduos de glutaraldeído e rincoforol.

Conclui-se então a existência de um padrão na decomposição do material orgânico das microesferas em 200°C, garantindo então a aplicabilidade ambiental destas esferas de quitosana.

4.6 Experimental

4.6.1 Formulação em Quitosana

- **Preparação do gel de quitosana 1,0% e 3,0% (m/v)**

As esferas de quitosana foram preparadas a partir do gel de quitosana (1g de quitosana solubilizados em 100mL de ácido acético 1,2%) gotejado a 10 rpm em bomba peristáltica, precipitadas em solução de NaOH 2M acrescida de 10% do volume total com álcool etílico P.A. A adição de álcool etílico na solução de precipitação de NaOH 2M foi estudada em várias concentrações para que as esferas ao serem formadas submergissem e não tivessem uma porosidade alta com o aumento da concentração do álcool na solução.

Outras variáveis a serem controladas são a altura que a mangueira da bomba peristáltica estará da solução básica e a agitação desta solução. Quanto a altura, o padrão encontrado nos experimentos para se ter esferas uniformes foi de 0,5 cm a distância padronizada da mangueira e a solução e quanto a agitação deverá ser lenta, cerca de 150 rpm, agitação essa necessária para que as esferas ao se formarem não fiquem sobrepostas com o gotejamento.

As esferas foram deixadas por 24h em contato com a solução básica e lavadas com água destilada com a finalidade de se ter esferas neutras, cujo pH foi avaliado de acordo com a água de lavagem para que as caracterizações físico-químicas fossem realizadas.

- **Preparação das esferas de quitosana 1% (m/v) com a incorporação do feromônio Rincoforol**

O feromônio Metamasol foi adicionado logo após o preparo da solução, mantendo-se sob agitação até a sua completa homogeneização. A solução de quitosana com Metamasol foi gotejada, com o auxílio de uma bomba peristáltica, em um banho de precipitação, contendo solução de NaOH. Através do fenômeno de separação de fases ocorreu a precipitação das esferas. As esferas geleificadas ficaram durante uma hora na solução de NaOH, logo após foram lavadas com água destilada até pH 7,0 e secas no funil de Buchner.

- **Preparação das esferas de quitosana 1% (m/v) com glutaraldeído 0,5% (v/v) e feromônio Rincoforol adicionado**

Em princípio, segue-se o mesmo método de preparação das esferas citado acima. Após esta preparação, adicionaram-se as esferas numa solução de glutaraldeído 0,5% deixando-as sob agitação durante 24 h sendo as mesmas secadas no funil de Buchner.

Foram ainda preparadas esferas de quitosana 1,0% (m/v) com o feromônio Metamazol incorporado; esferas de quitosana 1,0% (m/v) com glutaraldeído 0,5% (v/v) e feromônio Metamazol adicionado; esferas de quitosana 3% (m/v) com feromônio Metamazol incorporado; das esferas de quitosana 3% (m/v) com glutaraldeído 0,5% (v/v) e feromônio Metamazol adicionado.

As esferas então foram colocadas em eppendorfs e levadas a campo.

Todas essas formulações foram enviadas para testes em campo.

4.6.2 Experimental Campo

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 28 tratamentos e três repetições totalizando 84 armadilhas. Os tratamentos foram constituídos por sete compostos sintéticos, atrativos para curculionídeos, testados isolados e em misturas binárias e ternárias acondicionados em Eppendorfs. Em cada armadilha foram colocados quatro pedaços de cana-de-açúcar, de 15 cm aproximadamente, cortados longitudinalmente para o aumento da atratividade. Os eppendorfs foram pesados antes e depois da exposição no campo para se obter o índice de evaporação de cada composto. As taxas foram determinadas pela perda de peso em uma temperatura diária de regime entre $27^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e $63\% \pm 5\%$ UR. Semanalmente as armadilhas foram visitadas para a troca dos pedaços de cana, e feita a contagem e identificação das pragas presentes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há muitas razões para se usar feromônio, eles são de fato ferramentas elegantes e seguras para o controle de insetos. É fascinante poder controlar a população de um inseto por uma manipulação espécie-específica da comunicação entre eles, sem afetar adversamente os organismos benéficos.

Uma aplicação mais confiável e econômica da comunicação e disrupção do acasalamento pode ser encontrado e um uso mais amplo desta tecnologia é provável.

Maiores dificuldades técnicas certamente serão contornadas se o progresso na disrupção do acasalamento for realmente útil e desejável e se esforços forem feitos por pesquisadores de diferentes disciplinas e organizações. O obstáculo mais importante no entanto provavelmente permanecerá. Ensaio de laboratório para prever o efeito do comportamento do tratamento de campo com uma formulação e dispensar ainda não está disponível. Desenvolvimento da disrupção do acasalamento ainda é baseado em repetidos experimentos de campo que permanecem caros e lentos.

REFERENCIAS

ALPIZAR, D. et al. Pheromone mass trapping of the west indian sugarcane weevil and the american palm weevil (coleoptera: curculionidae) in palmito palm. **Flor. Entomol.**, v.85, n. 3, 426-430, Sept. 2002. <<http://journals.fcla.edu/flaent/article/view/75119/72777>>. Acesso em: 5. ago. 2012.

ATTERHOLT, C. A. et al. Controlled release of insect sex pheromones from paraffin wax and emulsions. **J. Control. Release.**, Amsterdam, v. 57, p. 233-247, 1999. ISSN 0168-3659.

DE VLIJGER J. J. Development of a sprayable slow-release formulation for the sex pheromone of the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagroides*. **IOBC wprs Bulletin**, v. 24, n.2, p. 101-106, 2001.

DUARTE, A. G.; LIMA, I. S. Eficiencia de diferentes taxas de liberação do feromônio de agregação na captura de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotrop. Entomol.**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 217-221, 2001. ISSN 1519-566X.

FERREIRA, J. M. S.; ARAÚJO, R. P. C. de; SARRO, F. B. **Armadilha pet para captura de insetos adultos da broca-do-olho-do-coqueiro, *Rhynchophorus palmarum***. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. (Embrapa: circular técnica, 22).

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ. 2002. p. 593-599.

GIBLIN-DAVIS, R. M.; PEÑA, J. E.; DUNCAN1, R. E. Lethal pitfall trap for evaluation of semiochemical-mediated attraction of *metamasius hemipterus sericeus* (coleoptera: curculionidae), **Flor. Entomol.**, v. 77, n. 2, p. 247-255, 1994.

GONSALVES, L. R. B. **Estudo do processo de produção de etanol a partir do amido liquefeito, usando enzima e microrganismo colmobilizados em gel de pectino**. 1996. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 1996.

HEUSKIN, S. et al. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.**, v. 15, n. 3, p. 459-470, 2011. ISSN 1370-6233. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=71218>>. Acesso em: 17 jul. 2012.

JOHANSSON, B. G. et al. Release rates for pine sawly pheromones from two types of dispensers and phenology of Neodiprion sertifer. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 27, p. 733-745, 2001). ISSN 0098-0331.

MCDONOUGH, L. M. Controlled release of insect sex pheromones from a natural rubber substrate. In: HEDIN, P. A. (Ed.). **Naturally occurring pest bioregulators**. New York: American Chemical Society, 1991. p. 106-124.

OEHLSCHLAGER, A. C. et al. Pheromone-based trapping of west indian sugarcane weevil in a sugarcane plantation. **J. Chem. Ecol.**, New York, v.28, n. 8, p. 1653-1664, 2002. ISSN 0098-0331.

PEREZ, A. L. et al. Aggregation pheromones and host kairomones of west indian sugarcane weevil, *Metamasius hemipterus* sericeus, **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 23, n. 4, p. 869-888, 1997. ISSN 0098-0331.

RAMIREZ-LUCAS, P. et al. Chemical identification, electrophysiological and behavioral activities of the pheromone of *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae). **Bioorg. Med. Chem.**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 323-330, 1996. ISSN 0968-0896.

RAMIREZ-LUCAS, P.; ROCHAT, D.; ZAGATTI, P. Field trapping of *Metamasius hemipterus* with synthetic aggregation pheromone. **Entomol. Exp. Appl.**, Amsterdam, v. 80, p. 453-460, 1996. ISSN 0013-8703.

SHIGEMASA, Y. et al. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin. *International Biological Macromolecules*, New York, v. 18, p. 237-242, 1996.

TOMASZEWSKA E. et al. Evaluation of pheromone release from commercial mating disruption dispensers. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 53, p.2399-2405, 2005. ISSN 0021-8561.

TORR S. J. et al. Methods for dispensing odour attractants for tsetse flies (Diptera: Glossinidae). **Bull. Entomol. Res.**, London, v. 87, p. 299-311, 1997. ISSN 0007-4853.

WELTER S.C. et al. Pheromone mating disruption offers selective management options for key pests. **Calif. Agric.**, v. 59, n.1, p. 16-22, 2005. ISSN 0008-0845.

WITZGALL, P. et al. Chemical communication in codling moth: towards environmentally safe control methods. **Bulletin IOBC wprs**, v. 22, n. 9, p. 57-65, 1999.

_____. et al. Codling moth management and chemical ecology. **Annu. Rev. Entomol.**, Palo Alto, v. 53, p. 503-522, 2008. ISSN 0066-4170.

ZADA, A.; FALACH, L.; BYERS, J. A. Development of sol-gel formulations for slow release of pheromones, **Chemoecology**, v. 19, p. 37-45, 2009. ISSN 0937-7409.

ZHANG, et al. Activity Evaluation of cocoa pod borer sex pheromone in cacao fields. **Environ. Entomol.**, Lanham, v. 37, n.3, p. 719-724, 2008. ISSN 0046-225X.

ZORZENON, F. J.; BERGMANN, E. C.; BICUDO, J. E. A primeira ocorrência de *Metamasius hemipterus* (linnaeus, 1758) e *Metamasius ensirostris* (germar, 1824) (coleoptera, curculionidae) em palmiteiros dos gêneros Euterpe e Bactris (Arecaceae) no Brasil **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 265-268, 2002. ISSN 0020-3653.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos na tese:

Tabela 1 – Resultados dos trabalhos

CAPITULO 1	VIA SINTÉTICA OBTIDA EM CONDIÇÕES MAIS BRANDAS
CAPITULO 2	PRODUTO FINAL SCALE UP DA REAÇÃO DO FEROMÔNIO DO <i>Metamasius hemipterius</i> POSSIBILITOU A SUA ENTRADA NO MERCADO .
CAPITULO 2	PROCESSO DE MELHORIA NA OBTENÇÃO DO PRODUTO, RESULTADO NÃO SERA PUBLICADO .
CAPITULO 3	PROCESSO DE SINTESE CONVENCIONAL, SERA UM CAMINHO PARA A TENTATIVA DE OBTANÇÃO DO PRODUTO DE UMA FORMA MAIS ECONOMICA E SERVIRA DE BASE PARA SINTESE PARA OUTROS FEROMÔNIOS.G
CAPITULO 4	PATENTE E TRABALHO PILOTO PARA BUSCA DE OUTROS MATERIAIS PARA UMA LIBERAÇÃO CONTROLADA.

Fonte: Autor, 2012.

Não é fácil desenvolver e formular, sistemas de liberadores de semioquímicos, que garantam a difusão em quantidade eficaz do composto ao longo do periodo com uma cinética de liberação de primeira ordem, as taxas de semioquímicos diminuem rapidamente e, como consequência o tempo de duração do liberador no campo é muitas vezes demasiadamente curto para cobrir o período de ocorrência das pragas. Isto torna assim muitas vezes a utilização do feromonio para controle, uma alternativa ineficaz

As melhorias nos dispensers e formulações irão continuar com a contribuição de vários campos científicos de pesquisa (entomologia, química, ecologia ...) em conjunto com as habilidades dos agricultores nas culturas.

O trabalho desenvolvido resultou em uma das premissas da missão do INCT de Semioquímicos na Agricultura e do RENORBIO:

Que é diminuir a dependência externa, desenvolvendo bases tecnológicas para a identificação, síntese e uso de semioquímicos (insetos e plantas) na agricultura brasileira. E racionalizar o manejo de pragas por meio do monitoramento e controle.

Espero que a tese possa servir de base para idéias, seguindo-se por uma fase de P&D&I que resulte na criação de protótipos ou modelos inovadores e, finalmente, que tenha aplicação no mercado ou que tenha utilidade para o mercado consumidor.