

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



**Síntese orgânica aplicada à ecologia química e à química medicinal**

PAULO HENRIQUE BARCELLOS FRANÇA

**MACEIÓ**

**2018**

PAULO HENRIQUE BARCELLOS FRANÇA

**Síntese orgânica aplicada à ecologia química e à química medicinal**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências

Orientador: Prof. Dr. João Xavier de Araújo-Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana

**MACEIÓ**

**2018**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho

F814s França, Paulo Henrique Barcellos.  
Síntese orgânica aplicada à ecologia química e à química medicinal / Paulo Henrique Barcellos França. – 2018.  
173 f. : il.

Orientador: João Xavier de Araújo Júnior.  
Co-orientador: Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana.  
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2018.

Bibliografia: f. 163-173

1. Química farmacêutica. 2. Citocinas. 3. Ecologia química. 4. Feromônios.  
5. Controle de pragas. 6. Síntese orgânica. I. Título.

CDU: 615.33:632.934



PPGQB

Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia

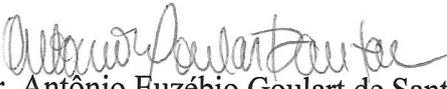


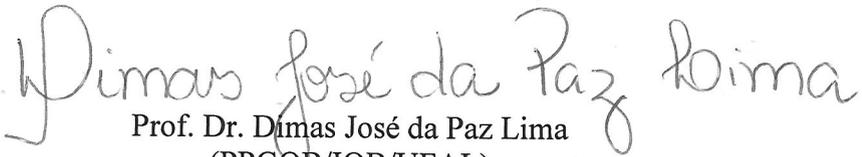
## FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **PAULO HENRIQUE BARCELLOS FRANÇA** intitulada: “**Síntese orgânica aplicada à ecologia química e à química medicinal**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no dia 9 de outubro de 2018, às 9h, na Sala de Reuniões do IQB.

### COMISSÃO JULGADORA:

  
Prof. Dr. João Xavier de Araújo Junior  
(Orientador - PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana  
(Coorientador - CECA/UFAL)

  
Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima  
(PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof. Dra. Carla Fernanda Fávaro  
(UESC/Ilhéus)

  
Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart  
(CECA/UFAL)

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente e sinceramente ao professor Dr. João Xavier de Araújo-Júnior por ter me concedido a oportunidade de iniciar minha carreira científica durante a graduação e por ter me guiado durante todo o período de pós-graduação na área de Química Medicinal.

Agradeço de forma tão verdadeira ao professor Dr. Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana por ter me acolhido em seu laboratório por todo período de iniciação científica e de pós-graduação, além de ter me conferido a oportunidade de conhecer a Ecologia Química e de me permitir trabalhar nela sob sua inestimável orientação.

Meus agradecimentos vão também para as agências de fomento que financiaram este estudo em todas as suas etapas. Agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão do auxílio financeiro na forma de bolsa na modalidade doutorado e de taxa de bancada; à Fundação de Amparo à Pesquisa de Alagoas (FAPEAL) pelo auxílio financeiro para a manutenção dos equipamentos; e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT- Semioquímicos na Agricultura) que têm financiado a compra de reagentes bem como a manutenção dos equipamentos através do apoio conferido a partir de vários editais.

Agradeço à minha esposa e doutoranda Merybeth Fernandez Triana pelo seu companheirismo, amizade e apoio emocional ao longo da pós-graduação, por todo o suporte intelectual na área de Ecologia Química e Espectrometria de Massas, e pelos extratos de *Hyponeuma taltula* para a realização dos estudos cromatográficos.

Agradeço à doutoranda Ariane Soares por sua amizade e por compartilhar os extratos de *Anthistarcha binocularis* que possibilitaram também a realização dos estudos cromatográficos.

Aos colegas de síntese Adeildo, Vanderson, Raquel, Isis e Larissa por compartilhar seus conhecimentos na área de metodologias sintéticas aplicadas à obtenção de feromônios e por sua valiosa amizade.

Aos companheiros de grupo de pesquisa Abel, Aldy, Thiago, Demetrios, Kelly, Jakeline e professor Dr. Henrique que, através de sua amizade, tornaram o ambiente de trabalho mais agradável.

Finalmente, mas não menos importante, quero agradecer à minha família, especialmente a meus pais, que me deram suporte durante todo o período de estudos e sempre me inspiraram a buscar o aprimoramento intelectual e moral. A eles sou eternamente grato por seus esforços como pais e inestimáveis amigos, de modo que sempre guardarei por eles o mais profundo amor e carinho.

## Resumo

O advento da química orgânica sintética constitui um dos desenvolvimentos científicos mais profundos na história da humanidade. A natureza criativa dessa área proporcionou à disciplina a reputação de uma arte e uma ciência precisa, podendo ser aplicável a uma vasta gama de finalidades. O primeiro capítulo desta tese trata de explorar a aplicação da síntese orgânica à química medicinal. Visto que a importância da inflamação como fator desencadeante de enfermidades não é mais restrita a doenças autoimunes e infecciosas uma vez que tem sido cada vez mais associada a doenças crônicas e degenerativas. Com base na identificação do quimiotipo aminoguanidínico em diversos compostos que apresentam atividade anticitocina, o primeiro capítulo visou à síntese de uma série de derivados aminoguanidínicos e seus análogos isostéricos a partir de uma estratégia de simplificação molecular de heterociclos nitrogenados documentados. A síntese de 39 derivados foi realizada com rendimentos compreendidos entre 58 e 99%. O segundo capítulo abrange a aplicação da química orgânica sintética à ecologia química. Diante do prejuízo econômico provocado pelas perdas ocasionadas pelo ataque de insetos pragas a diversas culturas importantes e do problema de saúde pública que envolve o uso cada vez maior de pesticidas como consequência da presença das pragas nos cultivos, o uso de feromônios constitui uma estratégia atrativa para o controle e monitoramento desses insetos. Sendo assim, a segunda parte deste trabalho objetivou a aplicação de procedimentos sintéticos para a elaboração dos componentes feromonais de pragas de interesse econômicos, a saber *Hyponeuma taltula*, *Anthistarcha binocularis* e *Rhynchophorus palmarum*, que afetam respectivamente as culturas da cana-de-açúcar, do cajueiro e do coqueiro. Com base nas rotas estabelecidas, os componentes do feromônio sexual de *H. taltula* e *A. binocularis* puderam ser obtidos com rendimentos globais de 6,8 % e 21,59 %, respectivamente, e comparados com os extratos das glândulas sexuais dessas espécies para fins de confirmação das propostas de feromônios, possibilitando estudos futuros acerca de aspectos eletrofisiológicos e a aplicação desses componentes no campo. Com relação ao *R. palmarum*, a rota empregada não forneceu o componente do feromônio de agregação com excesso enantiomérico satisfatório.

**Palavras-chave:** síntese orgânica; química medicinal; citocinas; ecologia química; feromônios; controle de pragas.

## Abstract

The advent of synthetic organic chemistry is one of the most profound scientific developments in the history of human species. The creative nature of this area has earned this discipline a reputation for precise art and science, and can be applicable to a wide range of purposes. The first chapter of this thesis attempts to explore the application of organic synthesis to medicinal chemistry. The importance of inflammation as a disease-triggering factor is no longer restricted to autoimmune and infectious diseases since it has been increasingly associated with chronic and degenerative diseases. Based on the identification of the aminoguanidine moiety in several compounds that have anti-cytokine activity, the first chapter aimed at the synthesis of a series of aminoguanidine derivatives and their isosteric analogues from a strategy of molecular simplification of documented nitrogen heterocycles. The synthesis of derivatives was carried out in yields ranging from 58 to 99%. The second chapter covers the application of synthetic organic chemistry to chemical ecology. By taking into account the economic damage caused by insect pest damage on several important crops as well as the public health problem arisen from the use of pesticides to control the presence of these pests in crops, the use of pheromones comprises an attractive strategy for the control and monitoring of the same insects. Thus, we aimed at the application of synthetic procedures for the elaboration of the pheromonal components of economically interesting pests, namely *Hyponeuma taltula*, *Anthistarcha binocularis* and *Rhynchophorus palmarum*, which respectively affect sugarcane, cashew and coconut crops. Based on the established routes, the components of *H. taltula* and *A. binocularis* could be obtained with overall yields of 6.8% and 21.59%, respectively. We also compared the synthetic reference compounds with the extracts of the sex glands of these species and we thus confirmed the structure proposals of their components, which in turn will allow our research group to perform future studies on the electrophysiology and the attractivity of these components in the field.

**Keywords:** organic synthesis; medicinal chemistry; cytokines; chemical ecology; pheromones; pest control.

## Lista de Abreviaturas

AcOEt – acetato de etila

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AR – artrite reumatoide

ByK – tirosina quinase de Bruton

CCD – cromatografia em camada delgada

CCR1 – receptor de quimiocina 1

CTLA4 – antígeno 4 associado a linfócito T citotóxico

DCM – diclorometano

DHP – 3,4-diidro-2*H*-pirano

EtOH – etanol

GAG – glicosaminoglicano

GM-CSF – fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos

HLA – antígeno leucocitário humano

HMPA – hexametilfosforamida

IBAMA – Instituto Nacional do Meio Ambiente

ICAM-1 – molécula de adesão intercelular 1

IL – interleucina

IL-1Ra – antagonista de receptor de IL-1

iNOS – óxido nítrico sintase induzível

JAK – quinase associada a Janus

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mCPBA – ácido *m*-cloroperbenzoico

MeOH – metanol

MHC – complexo de histocompatibilidade principal

MMP – metaloproteinase de matriz

NBS – *N*-bromosuccinimida

NF- $\kappa$ B – fator nuclear  $\kappa$ B

NK – natural killer

P38 MAPK – proteína quinase p38 ativada por mitógeno

PCC – clorocromato de piridínio

PDA – deiminase de arginina peptídica

PG – prostaglandina

PMN – polimorfonuclear

RANKL – ligante de receptor ativador de fator nuclear  $\kappa$ B

ROI – intermediários reativos de oxigênio

SyK – tirosina quinase do baço

TCT – 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina

TEA – trietilamina

TEMPO – *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina

TGF $\beta$  – fator de crescimento transformador  $\beta$

T<sub>H</sub> – T helper

THF – tetraidrofurano

THP – tetraidropirano

TIMP – inibidor tecidual de MMP

TNF – fator de necrose tumoral

T<sub>REG</sub> – linfócito T regulatório

TsCl – cloreto de tosila

TsOH – ácido *p*-toluenossulfônico

VAP-1 – proteína vascular de adesão 1

VEGF – fator de crescimento endotelial vascular

## Lista de esquemas

Esquema 1.1. Rota sintética e aldeídos utilizados na síntese dos derivados aminoguanidínicos.....	46
Esquema 1.2. Mecanismo reacional para formação dos derivados aminoguanidínicos.....	50
Esquema 1.3. Equilíbrio tautomérico dos derivados aminoguanidínicos.....	53
Esquema 2.1 Síntese quimioenzimática do rincoforol conforme Mori et al. (1992) e Marques et al (2008). .....	100
Esquema 2.2 Análise retrossintética dos candidatos a componenetes feromonais de <i>A. binocularis</i> . .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
Esquema 2.3 Rota sintética empregada para a obtenção dos componentes feromonais de <i>A. binocularis</i> . .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
Esquema 2.4 Formação dos íons fragmentos com $m/z$ 85 e $m/z$ 148/150. ....	122
Esquema 2.5 Mecanismo de formação do íon fragmento com $m/z$ 166.....	134
Esquema 2.6 Mecanismo de transesterificação a partir do acetato de etila.....	134
Esquema 2.7 Rota sintética empregada para a obtenção dos componentes feromonais de <i>H. taltula</i> . .....	137
Esquema 2.8 Mecanismo de fragmentação de massa do ácido $\alpha$ -linolênico .....	141
Esquema 2.9 Rota de síntese assimétrica do ( <i>S</i> )-rincoforol partindo da mistura racêmica.....	151

## Lista de tabelas

Tabela 1.1 Fármacos disponíveis comercialmente e sob investigação em ensaios clínicos para tratamento da artrite reumatoide .....	24
Tabela 1.2. Rendimentos reacionais para aminoguanidinas hidrazônicas e análogos isostéricos.....	47
Tabela 1.3. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN <sup>1</sup> H para os derivados aminoguanidínicos (DMSO-d <sub>6</sub> ; 400 MHz).....	51
Tabela 1.4 Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN <sup>13</sup> C para os derivados aminoguanidínicos (DMSO-d <sub>6</sub> ; 100 MHz).....	54
Tabela 2.1 Fármacos disponíveis comercialmente e sob investigação em ensaios clínicos para tratamento da artrite reumatoide .....	89
Tabela 2.2. Rendimentos reacionais para aminoguanidinas hidrazônicas e análogos isostéricos.....	139
Tabela 2.3. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN <sup>1</sup> H para os derivados aminoguanidínicos (DMSO-d <sub>6</sub> ; 400 MHz).....	146
Tabela 2.4 Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN <sup>13</sup> C para os derivados aminoguanidínicos (DMSO-d <sub>6</sub> ; 100 MHz).....	157

## Lista de ilustrações

Figura 1.1 Isósteros e análogos estruturais rígidos de aminoguanidina hidrazonas .....	30
Figura 1.2. Modificações estruturais planejadas para a síntese de derivados aminoguanidínicos .....	45
Figura 1.3. Derivados isostéricos de hidrazonas aminoguanidínicas .....	46
Figura 1.4. Espectro representativo ampliado de RMN <sup>1</sup> H para a hidrazinacarbotoioamida 3l, destacando-se os singletos referentes aos grupos CH imínico e hidrogênios aromáticos (DMSO-d <sub>6</sub> ; 400 MHz). .....	54
Figura 2.1 Classes de feromônios de acordo com os padrões bioquímicos e estruturais .....	95
Figura 2.2 Espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o composto 8, destacando-se os singletos referentes aos grupos CH <sub>2</sub> em posição alfa aos heteroátomos (CDCl <sub>3</sub> ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente). ....	119
Figura 2.3 Espectro de massas do composto 8, destacando a formação do fragmento com <i>m/z</i> 135/137. ....	121
Figura 2.4 Espectro de RMN de <sup>1</sup> H para o composto 9 (CDCl <sub>3</sub> ; 400 MHz). .....	121
Figura 2.5 Espectro de RMN de <sup>13</sup> C para o composto 9 (CDCl <sub>3</sub> ; 100 MHz). .....	124
Figura 2.6 Espectro de massas do composto 9. ....	126
Figura 2.7 Espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o composto 10 (CDCl <sub>3</sub> ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente). ....	128
Figura 2.8 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 10. ....	130
Figura 2.9 Espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o composto 11 (CDCl <sub>3</sub> ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente). ....	130
Figura 2.10 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 11. ....	131
Figura 2.11 Espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o ( <i>Z</i> )-dodec-6-en-1-ol (1) (CDCl <sub>3</sub> ; 600 MHz e 125 MHz, respectivamente). .....	132
Figura 2.12 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 1. ....	135
Figura 2.13 Espectro de RMN de <sup>1</sup> H para o ( <i>E</i> )-dodec-6-en-1-ol (3) (CDCl <sub>3</sub> ; 600 MHz e 125 MHz, respectivamente). ....	136
Figura 2.14 Espectro de RMN de <sup>13</sup> C para o ( <i>E</i> )-dodec-6-en-1-ol (3) (CDCl <sub>3</sub> ; 125 MHz). ....	138
Figura 2.15 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 3. ....	140
Figura 2.16 Sobreposição dos espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos álcoois 1 e 3. ....	142
Figura 2.17 Espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o acetato de ( <i>Z</i> )-dodec-6-em-1-ila (2) (CDCl <sub>3</sub> ; 600 MHz e 150 MHz, respectivamente). ....	144
Figura 2.18 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 2. ....	144
Figura 2.19 Espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o acetato de ( <i>E</i> )-dodec-6-em-1-ila (4) (CDCl <sub>3</sub> ; 600 MHz e 125 MHz, respectivamente). ....	148
Figura 2.20 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 4. ....	149
Figura 2.21 Sobreposição dos espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos acetatos 2 e 4. ....	149
Figura 2.22 Espectro de RMN de <sup>1</sup> H a mistura de ácidos insaturados do óleo de linhaça (CDCl <sub>3</sub> ; 400 MHz). ....	150
Figura 2.23 Espectro de RMN de <sup>13</sup> C a mistura de ácidos insaturados do óleo de linhaça (CDCl <sub>3</sub> ; 100 MHz). ....	151
Figura 2.24 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 12. ....	154

Figura 2.25 Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ a mistura de álcoois insaturados derivados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente).....	155
Figura 2.26 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 13.....	156
Figura 2.27 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de brometos insaturados derivados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).....	156
Figura 2.28 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da mistura de brometos insaturados derivados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).....	157
Figura 2.29 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 14.....	157
Figura 2.30 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 5.....	158
Figura 2.31 Análise por cromatografia gasosa da mistura de epóxidos derivados do (Z3,Z6,Z9)-henicosatrieno. ....	161
Figura 2.32 Padrão de fragmentação (Z,Z)-3,6-cis-9,10-epoxi-henicosadieno. ....	132
Figura 2.33 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do (Z,Z)-3,6-cis-9,10-epoxi-henicosadieno ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).....	132
Figura 2.34 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do (Z,Z)-3,6-cis-9,10-epoxi-henicosadieno ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).....	132
Figura 2.35 Análises cromatográficas dos diferentes métodos de oxidação da mistura racêmica de rincoforol para fins comparativos. ....	132
Figura 2.36 Espectro de massas do composto não identificado formado a partir de oxidação da mistura racêmica de rincoforol com PCC . ....	152
Figura 2.37 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 15.....	153
Figura 2.38 Espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da rincoforona (15) ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente). ....	154
Figura 2.39 Análise cromatográfica da etapa de redução assimétrica da rincoforona. ....	155
Figura 2.40 Análise por cromatografia gasosa quiral do produto obtido na tentativa de redução assimétrica da rincoforona. ....	156
Figura 2.41 Comparação entre o extrato da glândula sexual de <i>A. binocularis</i> e os compostos sintéticos. ....	156
Figura 2.42 Coinjeção do extrato de <i>A. binocularis</i> com o álcool sintético com configuração <i>E</i> para a ligação dupla. ....	157
Figura 2.43 Análise comparativa do extrato da glândula sexual de <i>H. taltula</i> e da mistura sintética de monoepóxidos. ....	157
Figura 2.44 Comparação dos espectros de massas dos compostos caracterizados nos extratos de <i>A. binocularis</i> e os compostos sintéticos de referência. ....	158
Figura 2.45 Comparação dos espectros de massas dos compostos caracterizados nos extratos de <i>H. taltula</i> e o composto sintético de referência. ....	161

## Sumário

CAPÍTULO I. SÍNTESE DE DERIVADOS AMINOGUANIDÍNICOS HIDRAZÔNICOS E SEUS ISÓSTEROS COMO PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTICITOCINAS PARA TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE.....	15
1 INTRODUÇÃO .....	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1 Citocinas .....	17
2.2 Patogênese.....	21
2.3 Citocinas como alvos para tratamento da artrite reumatoide .....	22
3 OBJETIVOS .....	31
3.1 Geral .....	31
3.2 Específicos .....	31
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	32
4.1 Procedimentos Experimentais .....	32
4.2 Dados Físico-Químicos e Espectroscópicos para Hidrazinacarboximidamidas.....	32
4.3 Dados Físico-Químicos e Espectroscópicos para Hidrazinacarbotoamidas .....	40
4.4 Dados Físico-Químicos e Espectroscópicos para Hidrazinacarboxamidas.....	43
4.5 Análise de Ressonância Magnética Nuclear.....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
5.1 Planejamento dos derivados.....	45
5.2 Metodologias sintéticas e mecanismos reacionais.....	46
5.3 Caracterização Estrutural .....	50
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
ANEXOS .....	67
CAPÍTULO II. SÍNTESE DOS COMPONENTES FEROMONAIIS DE LEPIDÓPTEROS E COLEÓPTEROS DE INTERESSE ECONÔMICO.....	85
1 INTRODUÇÃO .....	85
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	87
2.1 Ecologia química, manejo integrado de pragas e a problemática dos pesticidas.....	87
2.2 Química de feromônios de lepidópteros e coleópteros .....	92
2.2.1 A cultura do cajueiro e a <i>Anthistarcha binocularis</i> .....	95
2.2.2 A cultura da cana de açúcar e a <i>Hyponeuma taltula</i> .....	97
2.2.3 A cultura do coqueiro e o <i>Rhynchophorus palmarum</i> .....	98

3 OBJETIVOS .....	101
3.1 Objetivo geral .....	101
3.2 Objetivos específicos.....	101
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	102
4.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) .....	102
4.2 Cromatografia gasosa em fase quiral.....	102
4.3 Cromatografia líquida de alta eficiência .....	103
4.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	103
4.5 Preparo de reagentes.....	103
4.6 Sínteses.....	104
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	117
5.1 Síntese dos componentes feromonais de <i>A. binocularis</i> .....	117
5.2 Síntese do componente feromonal de <i>H. taltula</i> .....	136
5.3 Avaliação da rota para síntese enantiosseletiva do rincoforol .....	150
5.4 Análise comparativa dos dados cromatográficos e espectrométricos .....	156
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	162
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	163

# **CAPÍTULO I. SÍNTESE DE DERIVADOS AMINOGUANIDÍNICOS HIDRAZÔNICOS E SEUS ISÓSTEROS COMO PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTICITOCINAS PARA TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE**

## **1 INTRODUÇÃO**

A importância da inflamação como fator desencadeante de enfermidades não é mais restrita a doenças autoimunes e infecciosas uma vez que tem sido cada vez mais associada a doenças crônicas e degenerativas, como doenças coronarianas, obesidade e câncer (O'SHEA; MURRAY, 2008).

Em virtude do papel fundamental de citocinas no desenvolvimento e patogênese de muitas doenças inflamatórias, tem havido um considerável incremento no que concerne à pesquisa e ao desenvolvimento de novas formas de bloquear ou estimular a atividade dessas substâncias. Existem diversas aplicações clínicas decorrentes da utilização de citocinas como alvos terapêuticos, o que inclui a terapia de doenças inflamatórias, imunoterapia de câncer, distúrbios ósseos, doenças metabólicas, cicatrização de feridas e terapia antiviral (KOPF; BACHMANN; MARSLAND, 2010).

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória crônica de natureza patogênica complexa em que há acúmulo excessivo de células inflamatórias, incluindo linfócitos T, macrófagos, neutrófilos, células plasmáticas e plaquetas, as quais em conjunto com células endoteliais e fibroblastos sinoviais liberam uma vasta gama de lipídeos, fatores de crescimento, citocinas e enzimas catabólicas que causam dano tecidual local, hiperproliferação e fibrose (ANDREAKOS; FOXWELL; FELDMANN, 2004).

Por muitos anos o tratamento farmacológico da artrite reumatóide e doenças inflamatórias graves relacionadas limitou-se à utilização de inibidores da síntese de prostaglandinas, tais como aspirina e outros fármacos anti-inflamatórios não esteróides (LEE et al., 1976), ou compostos que tinham modesta eficácia como um resultado dos efeitos antiproliferativos, como metotrexato (HOFFMEISTER, 1983) ou leflunomida (BREEDVELD, 2000). Estes métodos podem fornecer uma eficácia de leve a moderada para controle da doença, mas são limitados por efeitos adversos graves, um aumento do risco de câncer, toxicidade em doses relativamente baixas e uma má qualidade de vida (VIJAYAKRISHNAN; VENKATARAMANAN; GULATI, 2011).

As terapias centradas em anticorpos monoclonais representam as opções farmacoterapêuticas de maior eficácia para o tratamento de doenças associadas com

inflamação crônica (KARAMPETSOU; LIOSSIS; SFIKAKIS, 2010). Atualmente, vários fármacos de natureza macromolecular são amplamente utilizados para o tratamento da artrite reumatóide, espondilite anquilosante, doença de Crohn, , artrite psoriática e artrite idiopática juvenil (SFIKAKIS, 2010), além de doenças inflamatórias pulmonares como asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (MATERA; CALZETTA; CAZZOLA, 2010).

A vantagem do emprego de anticorpos como fármacos deriva da alta especificidade, elevada seletividade e maior tempo de meia-vida, quando comparada com moléculas pequenas. Entretanto, a produção em escala comercial torna-se mais difícil ou dispendiosa, já que elevada pureza pode ser difícil de se conseguir. Além disso, a estabilidade conformacional das macromoléculas varia de acordo com o ambiente de fluidos corporais, o que conduz à sua exclusão de determinados compartimentos, tais como a barreira hematoencefálica (CHO; JULIANO, 1996).

Outro aspecto negativo em tratamentos com anticorpos consiste na meia-vida longa e a conseqüente inibição prolongada de mediadores inflamatórios essenciais, o que pode comprometer a resposta imune natural (GÓMEZ-REINO et al., 2003). Um inibidor baseado em molécula pequena pode ser, por conseguinte, mais adequado, não apenas para o desenvolvimento de fármacos viáveis, mas também para uma intervenção mais controlada de citocinas.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Citocinas**

As citocinas são proteínas reguladoras que atuam como mediadores intercelulares na geração e controle de respostas imunes, inflamatórias e hematopoiéticas, especialmente na proliferação e diferenciação de células do sistema imunológico (KHAN, 2008; WILLIAMS; PALEOLOG; FELDMANN, 2007). São produzidas por diversos tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos, linfócitos, queratinócitos e fibroblastos em resposta à infecção, lesão e outros estresses ambientais (YANG; ZHU; YU, 2010).

As citocinas apresentam propriedades pleiotrópicas já que uma mesma citocina pode atuar sobre diferentes tipos de células, ao invés de uma população específica. Adicionalmente, citocinas promovem efeitos redundantes, pois várias delas desempenham funções similares (TAYAL; KALRA, 2008). A produção de citocinas geralmente não é constitutiva, mas induzida como resposta à ativação de células por meio de estímulos específicos. As citocinas atuam localmente no tecido em que são sintetizadas e secretadas, porém quando produzidas em abundância, podem atingir a circulação sanguínea para promover efeitos sistêmicos (FOX, 2000).

A liberação prematura de citocinas molda a natureza das respostas inflamatórias de modo que estas respostas podem ser benéficas, ao desencadear os mecanismos de imunológico de proteção, ou nocivas, quando ocorre a indução de uma imunopatologia (KOPF; BACHMANN; MARSLAND, 2010).

#### **2.1.1 Fator de necrose tumoral- $\alpha$**

O TNF- $\alpha$  é um regulador potente dos processos inflamatórios prematuros em resposta a uma variedade de estímulos físicos, infecciosos, ambientais e imunológicos. O TNF- $\alpha$  é produzido primariamente como uma proteína transmembranar, organizada em trímeros estáveis que podem ser clivados pela enzima conversora de TNF- $\alpha$  (TACE) para gerar a forma solúvel (BLACK et al., 1997; WAJANT; PFIZENMAIER; SCHEURICH, 2003). Para desencadear respostas biológicas, essa citocina interage com dois receptores, TNFR1 e TNFR2, que traduzem sinais antiapoptóticos e pró-inflamatórios através de ativação de NF- $\kappa$ B (GRELL et al., 1995), induzindo dessa forma uma diversidade de genes envolvidos em inflamação, imunidade inata e adaptativa, sobrevivência celular, e apoptose (KATAOKA, 2009).

O TNF- $\alpha$  incrementa a produção de outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 (BRENNAN et al., 1989) e também pode regular interações intercelulares, promover a diferenciação de macrófagos, influenciar a liberação de enzimas proteolíticas e induzir a expressão de moléculas de adesão para auxiliar a migração celular para o sítio de inflamação (MAUVIEL, 1993; PALEOLOG et al., 1996).

### **2.1.2 Interleucina-1**

Interleucina-1 $\alpha$  e interleucina-1 $\beta$  são moléculas efetoras que influenciam a função celular ao interagir com receptores de superfície IL-1R. A interleucina 1 $\beta$  é a forma predominantemente secretada por células, enquanto que IL-1 $\alpha$  atua em cascatas de sinalização intracelular (ZHENG et al., 1995).

A ligação de IL-1 ao IL-1R induz diversos efeitos fisiológicos, incluindo a indução da expressão de moléculas de adesão pelo endotélio vascular, estimulando a migração de linfócitos e monócitos para sítios de inflamação (MOJCIK; SHEVACH, 1997). Em adição, pode conduzir à ativação de linfócitos T e estimular a liberação de enzimas proteolíticas. Portanto, a indução da expressão desta citocina tem sido associada com perturbações celulares, como trauma, infecção, presença de cristais, imunocomplexos e dano tecidual (AREND et al., 1998; MACNAUL et al., 1990).

A IL-1 está envolvida na regulação da autoimunidade e promove a maturação de células dendríticas pela indução e expansão de linfócitos T<sub>H</sub>17, tendo papel relevante na fase inicial da artrite reumatoide, ao invés do estágio efetor da doença, motivo pelo qual o bloqueio de IL-1 em uma resposta autoimune em andamento tem efeito moderado sobre a doença (KOPF; BACHMANN; MARSLAND, 2010).

### **2.1.3 Artrite reumatoide**

A artrite reumatoide é uma doença de caráter crônico e inflamatório que atinge particularmente a membrana sinovial, cartilagens e ossos. Cerca de 1% da população é acometida pela doença, a qual tem sido associada com maior frequência a uma morbidade significativa e aumento de mortalidade. Citocinas estão diretamente implicadas em vários mecanismos moleculares e celulares relacionados com a patogênese da doença (MCINNES; SCHETT, 2007).

A artrite reumatoide resulta de uma complexa interação entre genes e ambiente, conduzindo a uma redução da tolerância imunológica e inflamação sinovial. Mecanismos diversos são responsáveis pela regulação da inflamação e do comprometimento da matriz

extracelular articular, com posteriores danos ao tecido ósseo e cartilaginoso (LEE; WEINBLATT, 2001).

Uma das principais características da doença é a lesão óssea severa que é desencadeada pela inflamação. O tecido ósseo periarticular é rapidamente degradado na artrite e leva à formação de erosões. O dano estrutural provocado é irreversível, pois constitui rupturas na barreira óssea cortical e permite o contato direto entre o espaço articular e a medula óssea adjacente. Esse processo está fortemente associado à perda funcional progressiva em pacientes portadores da doença (SCHETT, 2011).

A expressão de citocinas em artrite reumatoide não compreende um processo aleatório, mas ocorre sob a forma de uma cadeia de eventos, com o TNF- $\alpha$  no ápice induzindo processos pró-inflamatórios (FELDMANN; BRENNAN; MAINI, 1996). O TNF- $\alpha$  e a IL-1 apresentam importância fundamental na inflamação e dano articular. Os efeitos patológicos dessas citocinas induzem a infiltração leucocitária que promove a hiperplasia sinovial, ativação celular, degradação de cartilagem e inibição da síntese de matriz extracelular (VERVOORDELDONK; TAK, 2002). O entendimento da cadeia de eventos na doença e dos efeitos biológicos dos mediadores inflamatórios tem esclarecido o papel de uma vasta gama de citocinas na patogênese da doença (ASTRY; HARBERTS; MOUDGIL, 2011).

A ativação da imunidade inata é provavelmente o evento primário na AR, seguida por citrulinização, contato de células apresentadoras de antígenos com autoantígenos na articulação e migração para órgão linfoides centrais, onde exibem os autoantígenos para células T. Essas últimas, por sua vez, podem induzir células B a produzir autoanticorpos ou migrar para a membrana sinovial (FIRESTEIN, 2005).

Em fases iniciais, a angiogênese é fundamental na perpetuação da resposta inflamatória em AR. Fatores de crescimento e citocinas atuam conjuntamente para regular esse processo, interagindo com receptores específicos para elevar a produção de sinalizadores intracelulares. (VEALE; FEARON, 2006).

Um aspecto relevante na progressão da AR é a indução de diferenciação de osteoblastos e da atividade de osteoclastos por ação das citocinas. Esse processo envolve a estimulação da expressão de enzimas como catepsina K e fosfatase ácida, a fusão de células em policárcions, e a formação de uma membrana dotada de bombas de efluxo de prótons para acidificar o compartimento ósseo, auxiliando na solubilização de cálcio e degradação do osso (TEITELBAUM, 2000).

O TNF- $\alpha$  desempenha papel importante sobre a osteoclastogênese, atuando diretamente sobre os precursores celulares, além de indiretamente pelo incremento da produção de fator estimulante de colônia de macrófagos (M-CSF) e ligante de receptor ativador de NF- $\kappa$ B (RANKL) em células mesenquimais (ABU-AMER et al., 2000; LAM et al., 2000). Adicionalmente, o TNF- $\alpha$  pode regular positivamente a expressão de receptores associados a osteoclastos (OSCAR), o que contribui para o processo de diferenciação (HERMAN et al., 2008). A IL-1 atua em conjunto com o TNF- $\alpha$  para promover a formação de osteoclastos, uma vez que induz a expressão de RANKL (WEI et al., 2005; ZWERINA et al., 2007).

Sinoviócitos similares a fibroblastos são considerados entidades essenciais na indução do processo patológico, já que invadem os tecidos cartilaginoso e ósseo adjacentes. A ativação sinovial ocorre por ação de citocinas pró-inflamatórias, além de vias independentes que incluem elementos retrovirais endógenos e receptores do tipo Toll (TLR) (OSPELT et al., 2004). Nos fibroblastos as citocinas ativam NF- $\kappa$ B, proteínas quinases p38 ativadas por mitógeno (MAPK), quinases de fosfoinositol-3 (PI3K), (DAYER; MOLNARFI; BURGER, 2005; MOREL; BERENBAUM, 2004) e essas vias de sinalização em fibroblastos sinoviais refletem a manutenção de um estado pró-inflamatório crônico na membrana sinovial que, por sua vez, desencadeia a produção de enzimas catabólicas e favorece a resistência à apoptose (KAROZAKIS et al., 2006).

Por fim, a resposta autoimune em AR é resultado do envolvimento de linfócitos. A ativação de células T específicas, particularmente células T<sub>h</sub>1 CD4<sup>+</sup>, induz sua diferenciação em linfócitos T<sub>h</sub>1 e T<sub>h</sub>2, predominantes no infiltrado sinovial de pacientes portadores da doença. Interações entre sinoviócitos, monócitos e células T<sub>h</sub>1 desencadeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias essenciais, TNF- $\alpha$  e IL-1. Esse estímulo, por sua vez, conduz à secreção de IL-6 e GM-CSF por osteoblastos e que regulam a diferenciação em osteoclastos (PARADOWSKA et al., 2007). Em adição, linfócitos T produtores de IL-17 (T<sub>H</sub>17) compreendem uma linhagem distinta de células T pró-inflamatórias que participam de mecanismos patogênicos ao contribuir para a diferenciação e proliferação de osteoclastos, o que contribui para a reabsorção óssea (PARADOWSKA et al., 2007).

## **2.2 Patogênese**

### **2.2.1 Fatores desencadeantes**

O início da AR consiste em uma combinação de eventos genéticos e estocásticos. A susceptibilidade à doença é definida por um padrão de genes herdados, com maior importância para aqueles que codificam o antígeno leucocitário humano (HLA) e o complexo de histocompatibilidade principal (MHC). Outros genes menores que participam da sinalização de células T também contribuem para a predisposição individual. O tabagismo tem sido o principal estímulo ambiental associado à maior probabilidade de desenvolver a AR (LUNDSTRÖM et al., 2009). Influências epigenéticas como hipometilação do DNA, marcas irregulares de histona e expressão de microRNA também pode incrementar a expressão de genes pró-inflamatórios (BOTTINI; FIRESTEIN, 2013).

A resposta autoimune deriva particularmente da repetida ativação da imunidade inata a um componente ambiental. Esse processo decorre ao longo de anos, com evidências de aumento gradual da autoimunidade até que um evento desconhecido desencadeie o estágio clinicamente aparente da doença. Um elemento chave é a indução de deiminases de arginina peptídica (PAD), que convertem arginina em citrulina (MAKRYGIANNAKIS et al., 2008).

Peptídeos citrulinados têm sido detectados em amostras de lavado broncoalveolar de pacientes tabagistas, o que poderia fornecer um estímulo para a geração de anticorpos contra peptídeos citrulinados em indivíduos susceptíveis. Por conseguinte, a ativação repetida da imunidade em pacientes com predisposição genética à autorreatividade pode ser um dos eventos desencadeantes da doença (FIRESTEIN; KELLEY, 2009).

A formação de imunocomplexos durante processos infecciosos pode desencadear a indução de fator reumatoide, um autoanticorpo com alta afinidade para a porção Fc de imunoglobulina e que tem servido como marcador de diagnóstico para a artrite reumatoide (MCINNES; SCHETT, 2011).

### **2.2.2 Coestimulação e reconhecimento de antígenos**

A coestimulação é um aspecto importante na ativação de células T durante a resposta imune. Para o processo de ativação ser completado, células T requerem dois sinais de células apresentadoras de antígenos. O primeiro sinal é específico do antígeno e resulta da interação do receptor de células T (TCR) com um peptídeo imunogênico ligado ao MHC da célula apresentadora. O segundo sinal resulta da ligação de um receptor coestimulatório na célula T com um ligante da APC. A interação de CD28 de linfócitos com CD80 ou CD86 da APC é

um dos vários sinais coestimulatórios. Uma vez ativado, antígeno 4 associado a linfócito T citotóxico (CTLA4) é expresso na superfície de células T e tem maior afinidade por CD80 ou CD86 do que CD28, terminando a resposta estimulatória (COLMEGNA; OHATA; MENARD, 2012; GORONZY; WEYAND, 2004; KOHLMEIER et al., 2003).

### **1.2.2.3 Angiogênese e migração celular**

Uma das repostas histopatológicas prematuras na AR é a formação de novos vasos sanguíneos. O elevado consumo de oxigênio na membrana sinovial devido à maior atividade proliferativa dos sinoviócitos está associado à oxidação local da glicose por via anaeróbica, ao invés de aeróbica. Em adição, a pressão de oxigênio sinovial reduzida observada experimentalmente também corrobora com esse fenômeno de hipoxia (BAINBRIDGE; SIVAKUMAR; PALEOLOG, 2006).

À proporção em que ocorre angiogênese, citocinas produzidas na membrana sinovial em resposta a TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 estimulam a produção de moléculas de adesão por células endoteliais, incluindo molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), P-selectina e E-selectina. Esse processo desencadeia a adesão de leucócitos, facilitando a diapedese e a migração para a membrana (GERRITSEN et al., 1993; LALLY et al., 2005). Finalmente, uma vez ocorrida a adesão, uma variedade de quimiocinas é secretada de modo a incrementar o tráfego de células leucocitárias (HARINGMAN; LUDI KHUIZE; TAK, 2004).

### **1.2.2.4 Cadeia de citocinas**

A cascata de citocinas nos tecidos linfoides e articulações em AR é bastante complexa. As citocinas alteram as funções de células imunológicas, atuando de forma pró-inflamatória patogênica ou anti-inflamatória protetora. A complexidade da cascata deriva do fato de que citocinas são pleiotrópicas e um mesmo efeito depende da ação sinérgica de diferentes citocinas. Adicionalmente, um citocina pode desencadear efeitos anti-inflamatórios ou pró-inflamatórios sob condições diferentes (ASTRY; HARBERTS; MOUDGIL, 2011; MCINNES; SCHETT, 2007). A influência da ação de diferentes citocinas sobre a patogênese da AR é mostrada na Tabela 1.

## **2.3 Citocinas como alvos para tratamento da artrite reumatoide**

Pelo fato de haver uma grande quantidade de redundância dentro da rede de citocinas, o bloqueio de uma citocina particular apenas será eficaz se a atividade dessa citocina for limitante para a velocidade de progressão da doença. Outro potencial obstáculo é que as citocinas exibem um alto grau de pleiotropia e podem desempenhar papéis patológicos

opostas dentro de diferentes vias imunes e inflamatórias (WILLIAMS; PALEOLOG; FELDMANN, 2007). Por conseguinte, a cascata de citocinas acumula nos tecidos, embora diferentes estímulos inflamatórios induzam diferentes padrões e quantidades de citocinas com cinéticas diferentes (HOPKINS, 2003).

Inibidores de TNF-  $\alpha$  (infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab, certolizumab), inibidores de IL-6 (tocilizumab), de IL-1 (anakinra), de células B (rituximab) e células T (abatacept) compreendem o arsenal terapêutico baseado em agentes biológicos para tratamento de AR. Novos anticorpos monoclonais contra outras citoquinas (por exemplo, IL-12, IL-17 e IL-23), e outros agentes que visam à depleção de células B (por exemplo, ofatumumab e XmAb 5871) estão em vários estágios de desenvolvimento. Muitas empresas farmacêuticas têm centrado no desenvolvimento de pequenas moléculas inibidoras com possível administração por via oral, que são considerados fármacos promissores para tratamento da AR. Na maioria dos casos, essas pequenas moléculas inibem quinases celulares (por exemplo, p38, JAK ou Syk) que modulam a sinalização e a transcrição de genes pró-inflamatórias (ŠENOLT et al., 2009).

O abatacept é um agente inovador que tem como alvo a modulação de células T. O fármaco consiste em uma proteína de fusão que compreende a porção extracelular de CTLA4 e o fragmento Fc de uma IgG humana. O CTLA4 se liga com alta afinidade a CD80 ou CD86 em células apresentadoras de antígenos, impedindo a interação com CD28 nas células T, interrompendo, assim, respostas de células T que dependem de coestimulação mediada pelo CD28 (KREMER et al., 2005).

O anakinra é uma forma recombinante não glicosilada do antagonista de receptor de IL-1 (IL-1Ra). Ele bloqueia a atividade biológica de IL-1 através da ligação competitiva de IL-1 ao IL-1Ra (MOLL; KUEMMERLE-DESCHNER, 2013).

### **1.2.3.1 Considerações sobre novas opções terapêuticas**

A IL-17 não atua diretamente sobre células T, mas sobre outros tipos de células como macrófagos, fibroblastos e células epiteliais e endoteliais para induzir a liberação de fatores pró-inflamatórios, particularmente levando ao recrutamento de neutrófilos, além de ser a principal citocina produzida por células T<sub>H</sub>17 (GABAY; MCINNES, 2009). Anticorpos monoclonais neutralizantes de IL-17 encontram-se em estudos e o secukinumab foi investigado em fase III, sendo seguro e eficaz para reduzir a atividade da AR em pacientes que fazem uso de outros agentes modificadores da doença (KOPF; BACHMANN;

MARSLAND, 2010). Adicionalmente, ABT 122, um anticorpo biespecífico, tendo como alvo o TNF- $\alpha$  e IL17, para o tratamento da artrite reumatoide foi desenvolvido (GARBER, 2014).

**Tabela 1.1 Fármacos disponíveis comercialmente e sob investigação em ensaios clínicos para tratamento da artrite reumatoide**

Composto	Mecanismo de ação	Fase*
TNF- $\alpha$		
Infliximab	Anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$	Aprovado
Adalimumab	Anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$	Aprovado
Golimumab	Anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$	Aprovado
Etanercept	Proteína recombinante de fusão	Aprovado
Certolizumab	Anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$	Aprovado
Ozoralizumab	Anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$	III
IL-6		
Tocilizumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-6R	Aprovado
Sirukumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-6	Pré-registro
Clazakizumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-6	II
Olokizumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-6	III
Sarilumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-6R	Aprovado
Vobarilizumab	Nanocorpo biespecífico anti-IL-6R	II
Satralizumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-6R	I
IL-1		
Anakinra	Proteína recombinante antagonista de IL-1R	Aprovado
IL-17		
Secukinumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-17	III
Ixekizumab	Anticorpo monoclonal anti-IL-17	II
CNTO 6785	Anticorpo monoclonal anti-IL-17	II
ABT 122	Anticorpo de domínio variável dual anti-IL17 e TNF- $\alpha$	II

**Tabela 1.1 Continuação**

IL-12 e IL-23		
Guselkumab	Anticorpo monoclonal ligante da subunidade p19 da IL-23	II
Quinases intracelulares		
VGX 1027	Inibidor de p38 MAPK	I
Tofacitinib	Inibidor de JAK3	Aprovado
Baricitinib	Inibidor de JAK1 e JAK 2	Aprovado
Upadacitinib	Inibidor de JAK	III
Peficitinib	Inibidor de JAK3	Pré-registro
Filgotinib	Inibidor de JAK1	III
Spebrutinib	Inibidor de ByK	II
Poseltinib	Inibidor de ByK	II
Entospletinib	Inibidor de Syk	I
HMPL 523	Inibidor de Syk	I
Depletor de células B		
Rituximab	Anticorpo monoclonal anti-CD20	Aprovado
Ocaratuzumab	Anticorpo monoclonal anti-CD20	I
XmAb 5871	Anticorpo monoclonal anti-CD19 e modulador de receptor FcIIb	II
Inibidor da ativação de células T		
Abatacept	Proteína de fusão inibidora de CD80	Aprovado
BI 655064	Anticorpo monoclonal anti-CD40	I
Itolizumab	Anticorpo monoclonal anti-CD6	II
AMP 110	Proteína recombinante de fusão mimética de B7-H4	I
Diversos		
RAVAX	Vacina contendo receptores de células T	III
AK 106 001616	Inibidor de fosfolipase A2	II

**Tabela 1.1 Continuação**

AZD 9567	Modulador de receptor glicocorticoide	II
CR 6086	Antagonista de receptor EP4 de prostaglandina E	II
Denosumab	Anticorpo monoclonal para RANKL	Aprovado
ARA 290	Agonista de receptor de eritropoietina	II
CCX 354	Antagonista de CCR1	II
Piclidenoson	Agonista de receptor de adenosina A3	III
NI 0101	Antagonista de receptor 4 do tipo Toll	II
Otilimab	Anticorpo monoclonal anti-GM-CSF	II
Quetmolimab	Antagonista de CX3CL1	II
Rabeximod	Modulador de diferenciação celular	II

IL, interleucina; T<sub>REG</sub>, linfócito T regulatório; T<sub>H</sub>, T helper; RANKL, ligante de receptor ativador de fator nuclear  $\kappa$ B; TNF- $\alpha$ , fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; p38 MAPK, proteína quinase p38 ativada por mitógeno; JAK, quinase associada a Janus; SyK; tirosina quinase do baço; ByK, tirosina quinase de Bruton; GM-CSF, fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos; CCR1, receptor de quimiocina 1

\*Dados extraídos da base de dados Adis Insight

Ustekinumab e briakinumab são anticorpos monoclonais terapêuticos alvejando a subunidade p40 de IL-12 e IL-23. Subunidades alvo que são compartilhadas entre múltiplas citocinas é uma estratégia atraente a ser considerada, particularmente quando essas citocinas estão envolvidas no início da cascata inflamatória. No entanto, devido ao papel superior da via mediada por IL-12 e células T<sub>H</sub>1 sobre a via mediada por IL-23 e células T<sub>H</sub>17 na defesa contra micobactérias e fungos, visar IL-23 especificamente pode ser a estratégia mais segura (KOPF; BACHMANN; MARSLAND, 2010).

Apesar do melhor prognóstico observado após a administração de anticorpos neutralizadores de citocinas, além de receptores solúveis e antagonistas de receptores de citocinas, nem todos os pacientes respondem a este tipo de tratamento. Somado a isso, pode ocorrer refratariedade primária, o que justifica abordagens baseadas em vias intracelulares como opções terapêuticas (DAYER; MOLNARFI; BURGER, 2005).

Várias investigações foram direcionadas à inibição da TACE. Ensaios clínicos recentes, no entanto, não conseguiram demonstrar que a inibição dessa enzima é uma forma eficaz de tratamento da AR devido à indução de hepatotoxicidade em ensaios clínicos. A base racional para a toxicidade observada decorre da hipótese de que a TACE atua não apenas

sobre o precursor do TNF- $\alpha$ , mas também em outras proteínas ligadas a membranas, tais como o receptor I de TNF- $\alpha$  (TNFRI) e receptor II de TNF- $\alpha$  (TNFRII). (MOSS; SKLAIR-TAVRON; NUDELMAN, 2008). Adicionalmente, efeitos adversos músculo-esqueléticos foram notados por causa da inibição concomitante de MMP-1 e MMP-14 (DASGUPTA et al., 2009).

A ativação e função de células inflamatórias depende de vias específicas de sinalização, várias das quais envolvem quinases de tirosina. Proteínas de tecido sinovial de pacientes com AR apresentam extensa fosforilação por quinases de tirosina intracelulares, apoiando a importância dessas enzimas na patogênese da AR. Essas vias incluem quinase de proteína ativada por mitógeno (MAPK), as quinases associadas a Janus (JAK), tirosina quinase do baço (Syk) (OKAMOTO; KOBAYASHI, 2011).

A p38 MAPK é uma quinase intracelular envolvida na transdução de sinal e um regulador chave da produção de citocinas pró-inflamatórias. Vários ensaios clínicos randomizados, envolvendo moléculas diferentes que bloqueiam a via da p38 MAPK não demonstraram eficácia significativa e apresentaram perfis semelhantes de toxicidade no sistema nervoso central, pele e hepática. Evidências apontam que há vias mais a montante envolvidas na transdução de sinal após a interação do ligante e que continuam funcionais após a interrupção dessa via de p38 MAPK (COHEN, 2012).

O uso de quimiocinas como alvos terapêuticos foi avaliado em AR, incluindo anticorpos contra quimiocinas ou antagonistas dos receptores de quimiocinas, mas os resultados não têm sido promissores. Isso deve-se provavelmente à natureza redundante do sistema de quimiocina, o que torna difícil bloquear o recrutamento de células (NASSABEH, 2010).

Como a maioria das células T recebem sinais por meio de coestimulação por mais de uma via, a interferência com qualquer par ligante-receptor deve proporcionar uma oportunidade para ajustar a intensidade de estimulação de célula T, sem desencadear uma grave imunossupressão generalizada (WEYAND; GORONZY, 2006).

A eficácia terapêutica de anticorpos monoclonais anti-CD6 está associada com a sua habilidade para destruir as células CD6 por um mecanismo mediado pelo complemento ou com a capacidade de bloquear a interação entre CD6 e seu ligante, ALCAM. O itolizumab é um anticorpo monoclonal humanizado que reconhece o domínio de membrana distal (SRCR1) de CD6, inibindo a proliferação de células T induzida na presença de ALCAM e por

excesso de IL-2, além de diminuir a fosforilação de proteínas intracelulares envolvidas em vias de ativação e reduzir a produção IL-6 e TNF- $\alpha$  (RODRIGUEZ et al., 2012).

Anticorpos monoclonais específicos para CD3 têm múltiplos efeitos sobre as células T que levam à tolerância imunológica. Estes anticorpos modulam o complexo entre receptor de células T (TCR) e CD3, impedindo o contato com o antígeno. Além disso, o anticorpo monoclonal induz apoptose de células T ativadas por meio de alterações na transdução de sinal mediada por TCR. A interação do anticorpo com TCR leva à fosforilação parcial dos alvos posteriores na via e do complexo de TCR, o que resulta no bloqueio da produção de interleucina-2 e na subsequente inativação de células T<sub>H1</sub> (CHATENOUD; BLUESTONE, 2007).

O CD19 é um receptor de superfície das células B que regula respostas imunitárias humorais por células B, sendo proposto como um alvo de células B superior ao CD20 em AR, em parte porque é expresso em estágios imaturos e maduros da linhagem de células B. Por conseguinte, os anticorpos anti-CD19 podem ter como alvo as células B autorreativas imaturas, cuja expressão de CD20 é negativa. Anticorpos monoclonais se ligam a CD19 na superfície das células B, o que permite o reconhecimento de monócitos através de receptores Fc $\gamma$  e o início da morte das células B e fagocitose por macrófagos ativados (TEDDER, 2009).

O XmAb 5871 liga-se tanto ao CD19 e quanto ao receptor inibidor de células B, Fc $\gamma$ RIIb (CD32b), através de um domínio variável de ligação CD19 e um domínio Fc XmAb que interage seletivamente com o receptor Fc $\gamma$ RIIb (CD32b). Por ser um correceptor na ativação do receptor de célula B e não um receptor de ativação, o CD19, em conjunto com FcRIIb, mimetiza os efeitos imunossupressores do complexo imune, mas pode evitar as suas consequências negativas, tais como vasculite e glomerulonefrite desencadeada pela deposição de imunocomplexos (CHU et al., 2014).

Outra abordagem interessante é a utilização do anticorpo monoclonal tregalizumab, o qual é capaz de fornecer um sinal de ativação de células T regulatórias (T<sub>REGS</sub>) de ocorrência natural, mas não para as células T convencionais. Isso ocorre por causa da interação com um epítipo único de células CD4<sup>+</sup>. Células T regulatórias representam uma subpopulação de células T especializadas, que são essenciais para a manutenção da tolerância periférica, impedindo a autoimunidade. Os efeitos imunomoduladores de T<sub>REGS</sub> dependem de seu estado de ativação. O tregalizumab induz a fosforilação moléculas associadas ao receptor de células T, o que é suficiente para ativar a função de T<sub>REGS</sub> sem estimular células T efetoras (HELLING et al., 2015).

Outros mediadores pró-inflamatórios solúveis exibem funções essenciais na patogênese da doença. Um deles é GM-CSF, que está principalmente envolvido na geração, sobrevivência e ativação de células do compartimento mieloide. Em particular, essa citocina regula a função de neutrófilos, eosinófilos e macrófagos, fazendo parte da rede pró-inflamatória na AR. Dessa forma, demonstrou-se que o GM-CSF e seu receptor podem ser detectados no fluido sinovial e tecido sinovial de pacientes com AR e, por conseguinte, a sinalização de GM-CSF foi identificada como um alvo promissor na AR (BURMESTER; FEIST; DÖRNER, 2014).

As tentativas para bloquear as funções de citocinas são direcionadas a vários níveis e empregam diferentes abordagens. Os métodos variam de terapia genética a moléculas pequenas antagonistas. As estratégias descritas para a busca de novos protótipos de fármacos anticitocinas incluem o bloqueio da biossíntese de TNF- $\alpha$  através de inibidores de proteases (NELSON; ZASK, 1999), a interferência na cascata de sinalização por meio de inibidores de quinases (BOGOYEVITCH et al., 2004; LEE et al., 1999), terapia genética para modular a proliferação celular (MORITA et al., 1998), neutralização de citocinas por anticorpos ou proteínas de fusão (FELDMANN, 2002; MORELAND et al., 1997), antagonismo de receptores de citocinas (AREND, 2001) e uso de fatores microbianos anticitocinas (RAHMAN; MCFADDEN, 2006).

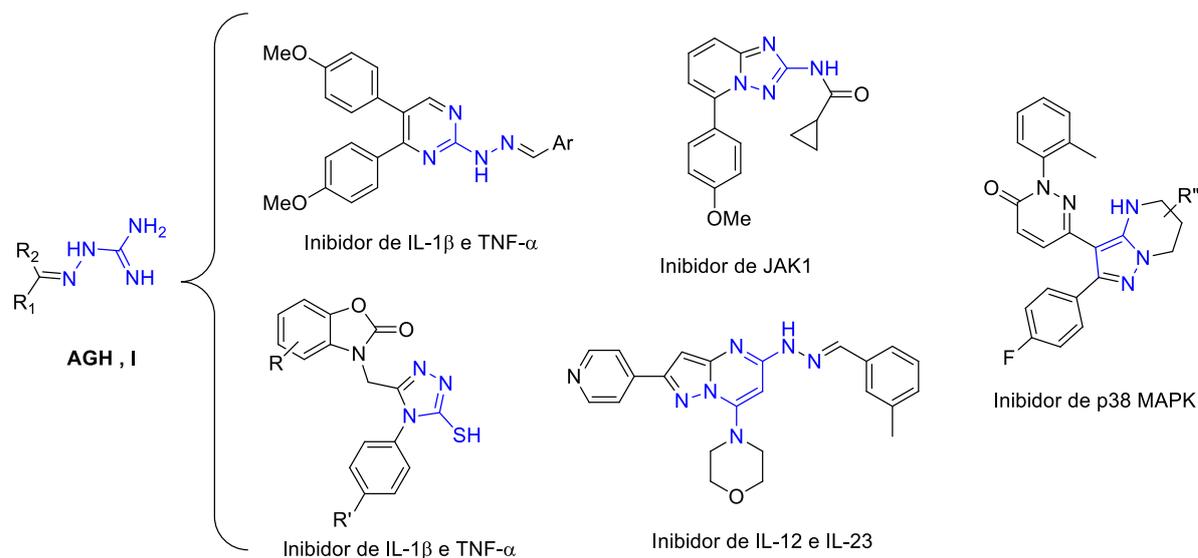
A abordagem farmacológica clássica de bloquear as ações de um transmissor ou mediador chave consiste em desenvolver antagonistas específicos para os receptores de citocinas (DAVIS; COLANGELO, 2013). No entanto, essa estratégia tem passado por dificuldades devido à elevada massa molecular das citocinas polipeptídicas e à complexa tarefa de modular interações proteína-proteína de alta afinidade, as quais têm natureza multipontual (ARKIN; WELLS, 2004; JOHNSON; WANG; ARNOLD, 1996).

Embora tenha havido uma melhoria significativa no prognóstico de pacientes portadores de doenças inflamatórias severas graças ao uso de inibidores de TNF- $\alpha$ , algumas limitações ainda persistem tais como elevado número de pacientes que não respondem ao tratamento com esses fármacos (RUBBERT-ROTH; FINCKH, 2009), elevado risco de infecções e comprometimento da cura (BONGARTZ et al., 2006; ELLERIN; RUBIN; WEINBLATT, 2003), custos onerosos associados à terapia e via de administração inconveniente (TAYLOR; FELDMANN, 2009). Portanto, o desenvolvimento

de medicamentos à partir de moléculas pequenas biodisponíveis oralmente que possam interferir na regulação da expressão, biossíntese ou vias de sinalização de citocinas inflamatórias representa uma alternativa promissora ao tratamento com os fármacos macromoleculares.

Com base em padrões estruturais recorrentes em compostos com atividades anticitocinas descritos na literatura (ASANO et al., 2012; HAIDER et al., 2014; HAYAKAWA et al., 2014; KHOSHNEVISZADEH et al., 2013; MENET et al., 2014), mostrados na Figura 1.1, um quimiotipo comum a elas foi identificado, a aminoguanidina ou seu análogos isostéricos, e as moléculas sintetizadas neste trabalho de tese foram planejadas a partir da simplificação estrutural desses compostos ativos.

**Figura 1.1 Isósteros e análogos estruturais rígidos de aminoguanidinas hidrazônicas (AGH)**



Adaptado de (ASANO et al., 2012; HAIDER et al., 2014; HAYAKAWA et al., 2014; KHOSHNEVISZADEH et al., 2013; MENET et al., 2014).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Síntese de uma quimioteca de aminoguanidinas hidrazônicas e seus análogos isostéricos de enxofre e oxigênio.

#### **3.2 Específicos**

- Síntese e caracterização de aminoguanidinas hidrazônicas aromáticas;
- Síntese e caracterização de semicarbazonas aromáticas;
- Síntese e caracterização de tiosemicarbazonas aromáticas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich e solventes de grau P.A. foram empregados nos procedimentos reacionais e de purificação.

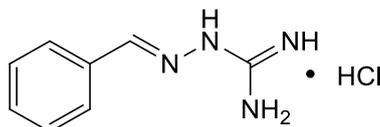
### 4.1 Procedimentos Experimentais

#### 4.1.1 Procedimento geral para a obtenção das aminoguanidinas hidrazônicas aromáticas e análogos isostéricos de enxofre e oxigênio

A uma solução contendo 500 mg de aldeído em 20 - 50 mL de etanol, foi adicionado 1 equivalente de cloridrato de aminoguanidina, tiosemicarbazida ou cloridrato de semicarbazida, e a mistura reacional foi levada à refluxo por 14 a 18 horas ou irradiada com micro-ondas a 120 °C por 20 minutos. Após arrefecimento do meio reacional, o solvente foi removido sob pressão reduzida. O material resultante foi suspenso em acetato de etila ou éter dietílico, foi filtrado, e lavado com os mesmos solventes. O material foi seco a vácuo, obtendo-se o produto sob a forma de um sólido. Quando necessário, recristalização foi realizada em AcOEt/Hex, EtOH ou MeOH.

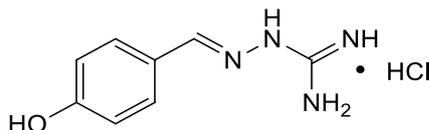
### 4.2 Dados Físico-Químicos e Espectroscópicos para Hidrazinacarboximidamidas

#### 4.2.1 Cloridrato de 2-benzilidenoidrazinacarboximidamida (2a)



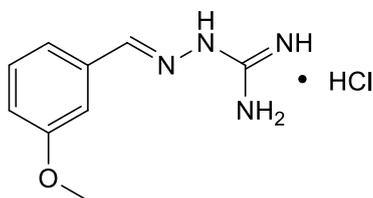
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 83%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,43 (m, 3H); 7,84 (m, 2H); 8,19 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 128,0; 129,1; 130,9; 133,8; 147,3; 155,8.

#### 4.2.2 Cloridrato de 2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2b)



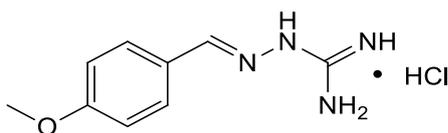
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido amarelo; Rendimento: 94%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 6,83 (d, 2H, *J* = 8,5); 7,66 (d, 2H, *J* = 8,5); 8,06 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 116,0; 124,7; 129,8; 147,3; 155,6; 160,2.

#### 4.2.3 Cloridrato de 2-(3-metoxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2c)



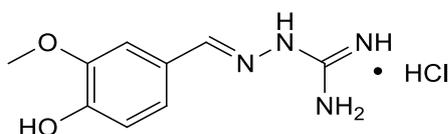
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido branco; Rendimento: 60%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 3,69 (s, 3H); 6,89 (d, 1H, *J*=8,1); 6,99 (s, 1H); 7,07 (d, 1H, *J*=8,1); 7,24 (t, 1H, *J*=7,6); 7,62 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 55,3; 111,7; 116,6; 120,8; 130,0; 134,1; 147,9; 154,6; 158,9.

#### 4.2.4 Cloridrato de 2-(4-metoxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2d)



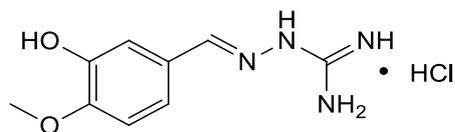
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido branco; Rendimento: 90%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,76 (s, 3H); 6,92 (d, 2H, *J*=8,8); 7,66 (d, 2H, *J*=8,8); 7,97 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 56,4; 115,2; 129,5; 145,5; 159,7; 161,0.

#### 4.2.5 Cloridrato de 2-(4-hidroxi-3-metoxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2e)



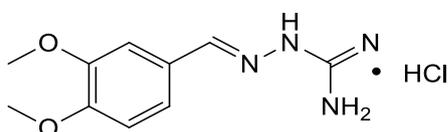
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido amarelo; Rendimento: 94%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,81 (s, 3H); 6,83(d, 1H, *J*=8,0); 7,13 (dd, 1H, *J*=8,0 e *J*=1,8); 7,50 (1H, *J*=1,8); 8,04 (s, 1H,). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 56,2; 110,0; 115,6; 123,1; 125,2; 147,7; 148,5; 149,7; 155,5.

#### 4.2.6 Cloridrato de 2-(3-hidroxi-4-metoxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2f)



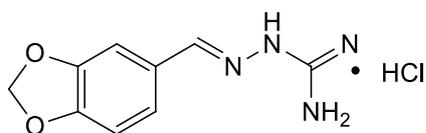
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido branco; Rendimento: 98%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,79 (s, 3H); 6,95 (d, 1H, *J*=8,3); 7,18 (dd, 1H, *J*=8,3Hz e 2,0Hz); 7,33 (d, 1H, *J*=2,0Hz) 8,04 (s, 1H,). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 56,1; 112,0; 113,8; 121,0; 126,6; 147,0; 147,6; 150,4; 155,6.

#### 4.2.7 Cloridrato de 2-(3,4-dimetoxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2g)



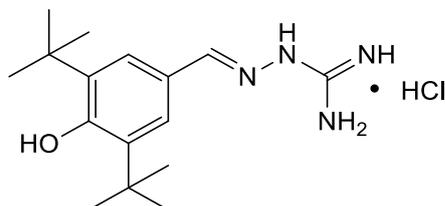
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido amarelo; Rendimento: 88%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,80 (s, 6H); 6,97 (d, 1H, *J*=7,9); 7,23 (d, 1H, *J*=7,9Hz); 7,54 (s, 1H) 8,09 (s, 1H,). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 56,1, 56,4; 109,1; 111,6; 123,0; 126,5; 147,4; 149,5; 151,4; 155,7.

#### 4.2.8 Cloridrato de 2-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetileno)hidrazinacarboximidamida (2h)



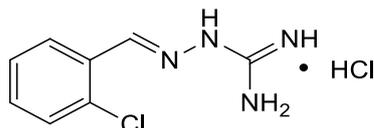
- Tempo racional: 17 horas
- Sólido branco; Rendimento: 92%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 6,05 (s, 2H); 6,94 (d, 1H, *J*=8,0); 7,17 (dd, 1H, *J*=8,0Hz e 1,6Hz); 7,64 (d, 1H, *J*=1,6Hz); 8,07 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 102,0; 105,9; 108,6; 124,8; 128,3; 146,8; 148,4; 149,8; 155,7.

#### 4.2.9 Cloridrato de 2-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2i)



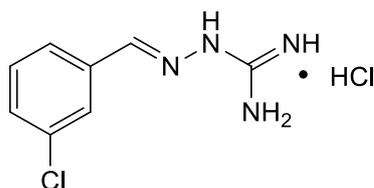
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 90%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 1,38 (s, 18H); 7,50 (s, 2H); 8,09 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 30,6; 35,0; 124,9; 139,6; 148,9; 155,5; 156,9.

#### 4.2.10 Cloridrato de 2-(2-clorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2j)



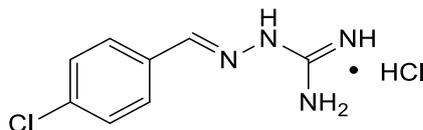
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 82%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,36 (m, 3H); 7,87 (s base larga, 1H); 8,22 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 127,2; 127,6; 130,0; 132,2; 134,0; 144,3; 144,3; 154,7.

#### 4.2.11 Cloridrato de 2-(3-clorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2k)



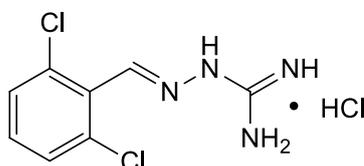
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 92%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,47 (m, 2H); 7,74 (d, 1H, *J*=8,0); 8,06 (s, 1H); 8,17 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 126,8; 127,3; 130,5; 131,0; 134,1; 136,0; 145,7; 155,8.

#### 4.2.12 Cloridrato de 2-(4-clorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2l)



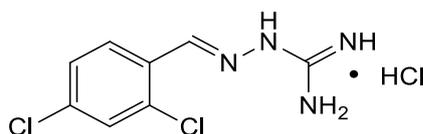
- Tempo racional: 15 horas
- Sólido branco; Rendimento: 91%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,45(d, 2H, *J*=8,5Hz); 7,85 (d, 2H, *J*=8,5Hz); 8,15 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 129,2; 129,7; 132,8; 135,4; 146,01; 155,8.

#### 4.2.13 Cloridrato de 2-(2,6-diclorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2m)



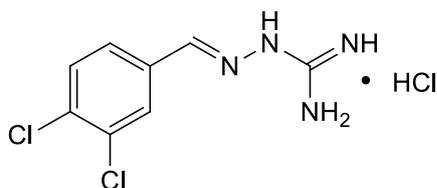
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido branco; Rendimento: 80%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,45 (m, 1H); 7,57 (d, 2H, *J*=7,9); 8,42 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 129,5; 130,0; 132,1; 134,5; 142,9; 155,7.

#### 4.2.14 Cloridrato de 2-(2,4-diclorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2n)



- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 79%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,81 (d, 1H, *J*=8,4); 7,89 (s, 1H); 8,30 (d, 1H, *J*=8,4); 8,74 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 128,4; 128,9; 129,6; 130,1; 135,1; 137,1; 144,5; 155,8.

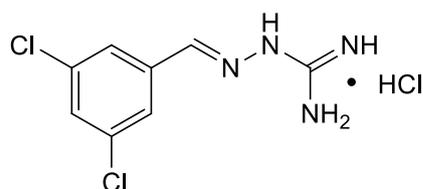
#### 4.2.15 Cloridrato de 2-(3,4-diclorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2o)



- Tempo racional: 16 horas

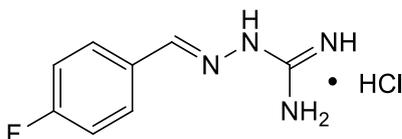
- Sólido branco; Rendimento: 96%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,68 (d, 1H, *J*=8,4); 7,79 (dd, 1H, *J*=8,4 e 2,0); 8,24 (d, 1H, *J*=2,0); 8,16 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 128,4; 129,0; 131,3; 132,2; 133,1; 134,6; 144,7; 155,8.

#### 4.2.16 Cloridrato de 2-(3,5-diclorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2p)



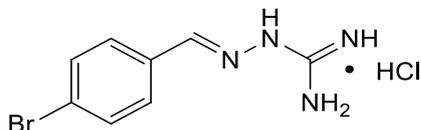
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 79%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,43 (s, 1H); 7,55 (s, 2H); 7,81 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 125,9; 130,1; 135,1; 136,4; 145,1; 155,0.

#### 4.2.17 Cloridrato de 2-(4-fluorobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2q)



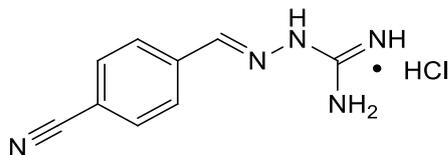
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 88%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8,87 (s, 1H); 7,79 (d, 2H); 7,31 (d, 2H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 116,3; 129,8; 133,7; 144,5; 148,9; 155,2.

#### 4.2.18 Cloridrato de 2-(4-bromobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2r)



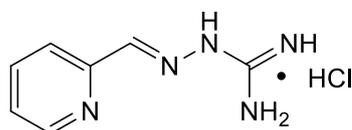
- Tempo racional: 15 horas
- Sólido branco; Rendimento: 94%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,63 (d, 2H, *J*= 8,5); 7,81 (d, 2H, *J*=8,5); 8,17 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 124,3; 129,9; 132,1; 133,1; 146,1; 155,7.

#### 4.2.19 Cloridrato de 2-(4-cianobenzilideno)hidrazinacarboximidamida (2s)



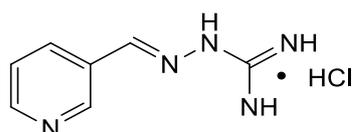
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 93%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,87(d, 2H, *J*=8,5); 8,04 (d, 2H, *J*=8,5Hz); 8,24 (s, 1H,). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 112,6; 119,1; 128,6; 133,0; 138,3; 145,3; 155,8.

#### 4.2.20 Cloridrato de 2-(piridin-2-ilmetileno)hidrazinacarboximidamida (2t)



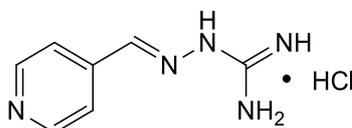
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 55%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7,87 (ddd, 1H, *J*=7,1, 5,6 e 1,6 Hz), 8,12 (d, 1H, *J*=3,5), 8,26- 8,48 (m, 6H), 8,80 (d, 1H, *J*=5,3), 12,98 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 124,8, 126,4, 139,9, 144,6, 147,1, 148,3, 155,6.

#### 4.2.21 Cloridrato de 2-(piridin-3-ilmetileno)hidrazinacarboximidamida (2u)



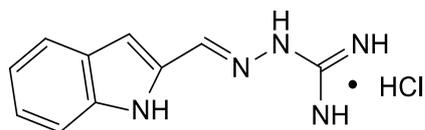
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido amarelo; Rendimento: 92%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,31 (m, 1H); 7,77 (s, 1H); 7,92 (d, 1H, *J*=8,2) 8,35 (m, 1H); 8,48 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 124,4; 129,3; 135,0; 144,8; 147,6; 150,0; 154,7.

#### 4.2.22 Cloridrato de 2-(piridin-4-ilmetileno)hidrazinacarboximidamida (2v)



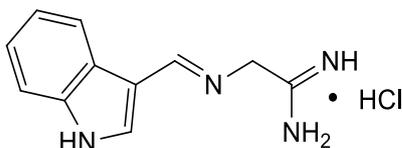
- Tempo racional: 15 horas
- Sólido branco; Rendimento: 90%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,38 (d, 2H, *J*=5,7); 7,65 (s, 1H); 8,30 (d, 2H, *J*=5,7).  
**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 121,5; 141,1; 144,7; 148,9; 154,7.

#### 4.2.23 Cloridrato de 2-((1*H*-indol-2-il)metileno)hidrazinacarboximidamida (2w)



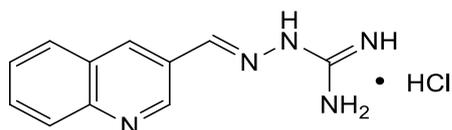
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido marrom; Rendimento: 76%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 6,59 (s, 1H); 6,92 (t, 1H, *J*=7,6); 7,10 (t, 1H, *J*=7,6); 7,25 (d, 1H, *J*=7,9); 7,44 (d, 1H, *J*=7,9); 7,63 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 108,1; 111,5; 120,1; 121,5; 124,5; 127,6; 132,0; 137,3; 139,0; 154,4.

#### 4.2.24 Cloridrato de 2-((1*H*-indol-3-il)metileno)hidrazinacarboximidamida (2x)



- Tempo racional: 16 horas
- Sólido marrom; Rendimento: 90%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,12 (t, 1H, *J*=7,2); 7,19 (t, 1H, *J*=7,2); 7,45 (d, 1H, *J*=7,2); 7,8 (s, 1H); 8,28 (d, 1H, *J*=7,2); 8,36 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 121,2; 122,7; 123,2; 124,3; 132,2; 137,5; 145,3; 155,2.

#### 4.2.25 Cloridrato de 2-((quinolin-3-il)metileno)hidrazinacarboximidamida (2y)

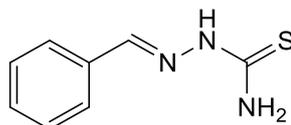


- Tempo racional: 16 horas
- Sólido marrom; Rendimento: 85%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,72 (t, 1H, *J*=7,5); 7,84 (t, 1H, *J*=7,5); 8,09 (d, 1H, *J*=8,2); 8,40 (d, 1H, *J*=8,2); 8,18 (d, 1H, *J*=4,3); 8,98 (d, 1H, *J*=4,3); 9,05 (s, 1H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 119,0; 123,8; 125,3; 128,1; 130,1; 130,2; 137,0; 143,4; 148,7; 150,6; 155,7.

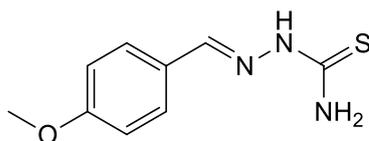
### 4.3 Dados Físico-Químicos e Espectroscópicos para Hidrazinacarbotoamidas

#### 4.3.1 2-Benzilidenoidrazinacarbotoamida (3a)



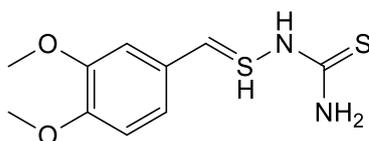
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 97%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,36 (m, 3H); 7,75 (m, 2H); 8,04 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 127,7; 129,1; 130,4; 134,4; 143,2; 177,9.

#### 4.3.2 2-(4-Metoxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3d)



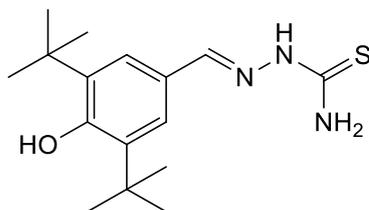
- Tempo racional: 15 horas
- Sólido branco; Rendimento: 92%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,75 (s, 3H); 6,94 (d, 2H, *J*=8,4); 7,7 (d, 2H); 7,98 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 55,6; 114,6; 126,9; 129,4; 143,2; 161,1; 177,5.

#### 4.3.3 2-(3,4-Dimetoxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3g)



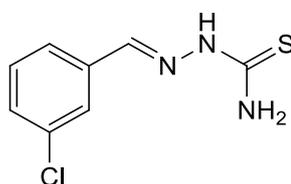
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 99%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,73 (s, 3H); 3,76 (s, 3H); 6,93 (d, 1H, *J*=8,4); 7,14 (dd, 1H, *J*=8,4 e *J*=2,0); 7,44 (d, 1H, *J*=2,0); 7,94 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 55,9; 56,0; 108,7; 111,6; 122,8; 127,0; 143,6; 149,4; 151,0; 177,4.

#### 4.3.4 2-(3,5-di-*tert*-butil-4-Hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3i)



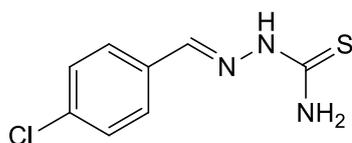
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 95%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 1,38 (s, 18H); 7,42 (s, 2H); 7,96 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 30,6; 34,9; 124,5; 125,6; 139,6; 144,7; 156,5; 177,6.

#### 4.3.5 2-(3-Clorobenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3k)



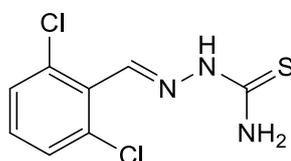
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 81%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,41 (m, 2H); 7,63 (m, 1H); 8,00 (s, 1H); 8,04 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 126,4; 127,0; 129,9; 130,9; 134,2; 136,8; 141,0; 178,5.

#### 4.3.6 2-(4-Clorobenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3l)



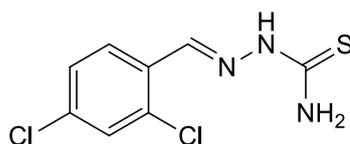
- Tempo racional: 14 horas
- Sólido branco; Rendimento: 73%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,45 (d, 2H, *J*=8,4); 7,83 (d, 2H, *J*=8,4); 8,01 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 129,1; 129,4; 133,6; 134,7; 141,3; 178,4.

#### 4.3.7 2-(2,6-Diclorobenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3m)



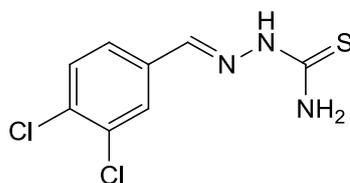
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 72%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,39 (t, 1H, *J*=7,8); 7,51 (d, 2H, *J*=8,2); 8,27 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 129,6; 130,0; 131,6; 134,6; 138,4; 178,4.

#### 4.3.8 2-(2,4-Diclorobenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3n)



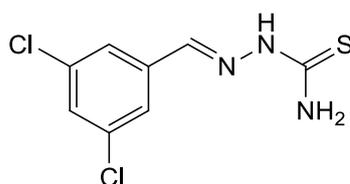
- Tempo racional: 15 horas
- Sólido branco; Rendimento: 83%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,38 (dd, 1H, *J*=8,6 e *J*=1,8); 7,53 (d, 1H, *J*=1,8); 8,16 (d, 1H, *J*=8,6); 8,39 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 127,5; 128,5; 129,0; 130,4; 133,8; 134,9; 137,8; 178,4.

#### 4.3.9 2-(3,4-Diclorobenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3o)



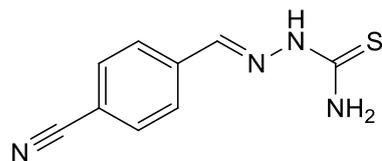
- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 92%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,62 (d, 1H, *J*=8,0); 7,70 (dd, 1H, *J*=8,0 e *J*=2,0); 8,22 (d, 2H, *J*=2,0); 7,98 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 128,2; 128,6; 131,2; 132,2; 132,3; 135,5; 139,9; 178,6.

#### 4.3.10 2-(3,5-Diclorobenzilideno)hidrazinacarbotoamida (3p)



- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 63%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,57 (t, 1H, *J*=1,8); 7,92 (d, 2H, *J*=1,8); 7,95 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 125,5; 128,6; 134,4; 137,9; 139,0; 178,2.

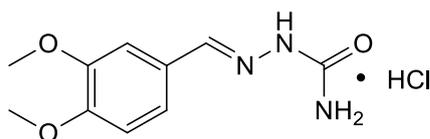
#### 4.3.11 2-(4-Cianobenzilideno)hidrazinacarbotioamida (3s)



- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 93%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,85 (d, 2H, *J*=8,3); 8,01 (d, 2H, *J*=8,3); 8,05 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 111,9; 119,2; 128,3; 132,9; 139,2; 140,4; 178,8.

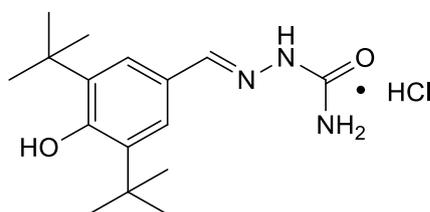
### 4.4 Dados Físico-Químicos e Espectroscópicos para Hidrazinacarboxamidas

#### 4.4.1 Cloridrato de 2-(3,4-dimetoxibenzilideno)hidrazinacarboxamida (4g)



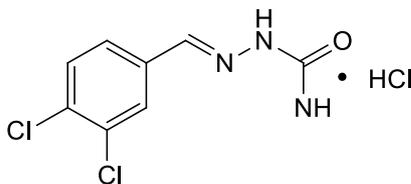
- Tempo racional: 18 horas
- Sólido amarelo; Rendimento: 87%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3,72 (s base larga 6H); 6,92 (d, 2H, *J*=8,5); 7,12 (d, 2H, *J*=8,5); 7,27 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 56,7; 56,8; 110,0; 112,9; 122,5; 128,2; 143,9; 151,3.

#### 4.4.2 Cloridrato de 2-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarboxamida (4i)



- Tempo racional: 18 horas
- Sólido branco; Rendimento: 64%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 1,34 (s, 18H); 7,43 (s, 2H); 7,96 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 14,4; 22,6; 123,9; 126,3; 139,6; 142,4; 155,7; 157,5.

#### 4.4.3 Cloridrato de 2-(3,4-diclorobenzilideno)hidrazinacarboxamida (4o)



- Tempo racional: 16 horas
- Sólido branco; Rendimento: 58%
- **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7,61 (m, 2H); 7,78 (s, 1H); 8,06 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 127,3; 128,0; 131,2; 131,6; 132,1; 135,9; 137,6; 157,2.

#### 4.5 Análise de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN (<sup>1</sup>H: 400 MHz; <sup>13</sup>C: 400 MHz) foram obtidos em espectrômetros da BRUKER DPX-500 (ETTLINGER, ALEMANHA), no Laboratório Ressonância Magnética Nuclear da UFAL. Sinal residual do solvente não deuterado foi utilizado como referência interna.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

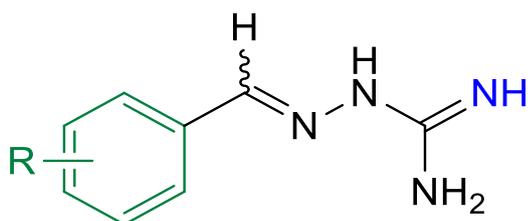
### 5.1 Planejamento dos derivados

Duas estratégias clássicas em química medicinal, a simplificação estrutural e o isosterismo, foram empregadas para constituir os derivados de três classes químicas diferentes. Partindo do quimiotipo identificado nas moléculas ilustradas na Figura 1.2, derivados com estruturas mais simples foram obtidos, de modo a realizar um processo inicial de triagem e verificar quais grupos funcionais são melhor tolerados para a atividade farmacológica anticitocina.

A inserção de diversidade molecular foi realizada por meio da união de um anel aromático variavelmente substituído para formar as arilidenoaminoguanidinas. Portanto, os derivados foram obtidos com base em alterações realizadas em diferentes regiões da molécula da arilidenoaminoguanidina protótipo para que se possa realizar um estudo de relação estrutura-atividade após a coleta de resultados farmacológicos. Com isso, deverá ser estudada a influência:

1. Da substituição do anel aromático, o posicionamento da fenila e a substituição da fenila por alguns heterociclos (região verde).
2. Da substituição isostérica do nitrogênio guanidínico por enxofre e oxigênio (região azul).

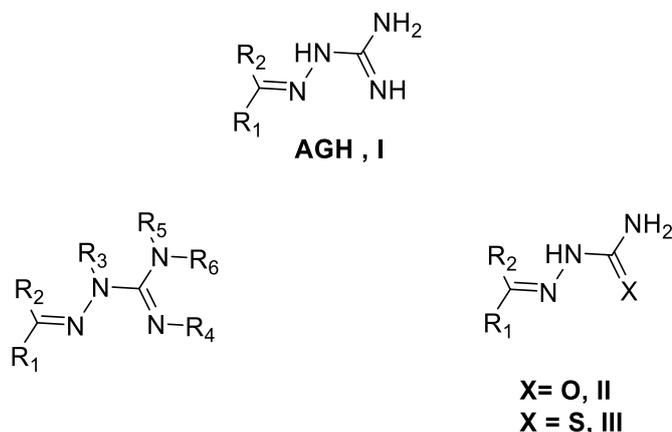
**Figura 1.2** Modificações estruturais planejadas para a síntese de derivados aminoguanidínicos



Aminoguanidinas hidrazônicas (AGH) compreendem uma classe de compostos com atividades farmacológicas interessantes em vários níveis e derivam do mesmo quimiotipo guanidínico, sendo capazes de interagir com macromoléculas por meio de ligação de hidrogênio e interações eletrostáticas no estado protonado (LANGE et al., 2003; SCHMIDTCHEN; BERGER, 1997). Além disso, fornecem acesso a numerosos derivados, como ilustrado na Figura 1.3. Alguns isómeros contendo oxigênio (ureia, composto II) e

enxofre (tioureia, composto III) já sintetizados mostram a importância relativa do cátion guanidínio no processo de reconhecimento molecular (JIMÉNEZ BLANCO et al., 2006).

**Figura 1.3 Derivados isotéricos de hidrazonas aminoguanidínicas.**



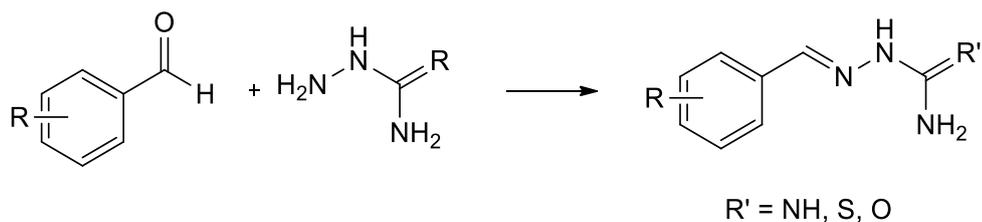
Esse processo foi desenvolvido levando em consideração que, a depender da atividade da série das aminoguanidinas hidrazônicas e visto que esses compostos exibem certo grau de flexibilidade conformacional, a atividade anticitocina poderá ser direcionada para um alvo molecular específico a partir da restrição com sistemas cíclicos. Sendo assim, a restrição da flexibilidade conformacional poderá ser uma estratégia empregada futuramente para a otimização estrutural dos compostos obtidos.

## 5.2 Metodologias sintéticas e mecanismos reacionais

### 5.2.1 Obtenção das aminoguanidinas hidrazônicas aromáticas e análogos isotéricos de enxofre e oxigênio

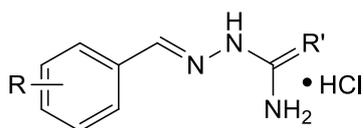
Para obtenção das aminoguanidinas substituídas na amina da posição 1, partiu-se dos aldeídos aromáticos correspondentes, realizando sua condensação com aminoguanidina, tiosemicarbazida ou semicarbazida (Esquema 1.1).

**Esquema 1.1. Rota sintética e aldeídos utilizados na síntese dos derivados aminoguanidínicos.**



A Tabela 1.2 apresenta os rendimentos reacionais de todos os compostos obtidos da série proposta, que estiveram compreendidos entre 55 a 99%. De modo geral, os rendimentos foram superiores a 70%, com algumas poucas exceções (**2c**, **2t**, **4i**, **4o**).

**Tabela 1.0.1. Rendimentos reacionais para aminoguanidinas hidrazônicas e análogos isostéricos**



Código	R	R'*	Rendimento (%)
<b>2a</b>	H	NH	83
<b>2b</b>	<i>p</i> -OH	NH	94
<b>2c</b>	<i>m</i> -OMe	NH	60
<b>2d</b>	<i>p</i> -OMe	NH	90
<b>2e</b>	<i>p</i> -OH, <i>m</i> -OMe	NH	94
<b>2f</b>	<i>p</i> -OMe, <i>m</i> -OH	NH	98
<b>2g</b>	<i>m,p</i> -(OMe) <sub>2</sub>	NH	88
<b>2h</b>	<i>m,p</i> -(OCH <sub>2</sub> O)	NH	92
<b>2i</b>	<i>p</i> -OH, <i>m,m'</i> -( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub>	NH	90
<b>2j</b>	<i>o</i> -Cl	NH	82
<b>2k</b>	<i>m</i> -Cl	NH	92
<b>2l</b>	<i>p</i> -Cl	NH	91
<b>2m</b>	<i>o,o'</i> -Cl <sub>2</sub>	NH	80
<b>2n</b>	<i>o,p</i> -Cl <sub>2</sub>	NH	79
<b>2o</b>	<i>m,p</i> -Cl <sub>2</sub>	NH	96

Tabela 1.2 *Continuação*

2p	<i>m,m'</i> -Cl <sub>2</sub>	NH	79
2q	<i>p</i> -F	NH	88
2r	<i>p</i> -Br	NH	94
2s	<i>p</i> -CN	NH	93
2t	2-piridil	NH	55
2u	3-piridil	NH	92
2v	4-piridil	NH	90
2w	2-indolil	NH	76
2x	3-indolil	NH	90
2y	4-quinolil	NH	85
3a	H	S	97
3d	<i>p</i> -OMe	S	92
3g	<i>m,p</i> -(OMe) <sub>2</sub>	S	99
3i	<i>p</i> -OH, <i>m,m'</i> -( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub>	S	95
3k	<i>m</i> -Cl	S	81
3l	<i>p</i> -Cl	S	73
3m	<i>o,o'</i> -Cl <sub>2</sub>	S	72
3n	<i>o,p</i> -Cl <sub>2</sub>	S	83
3o	<i>m,p</i> -Cl <sub>2</sub>	S	92
3p	<i>m,m'</i> -Cl <sub>2</sub>	S	63
3s	<i>p</i> -CN	S	93

**Tabela 1.2 Continuação**

<b>4g</b>	<i>m,p</i> -(OMe) <sub>2</sub>	O	87
<b>4i</b>	<i>p</i> -OH, <i>m,m'</i> -( <i>t</i> -Bu) <sub>2</sub>	O	64
<b>4°</b>	<i>m,p</i> -Cl <sub>2</sub>	O	58

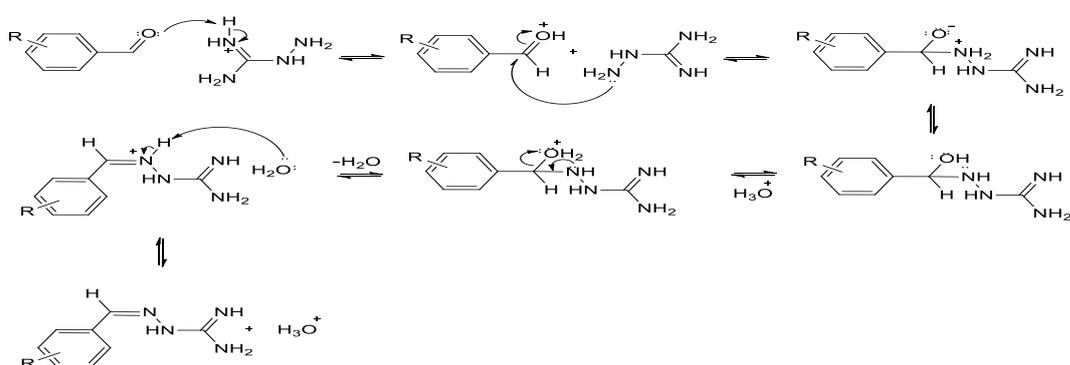
A otimização da síntese desses compostos mediante o uso de micro-ondas foi realizada anteriormente pelo autor (FRANÇA, 2014), resultando em rendimentos comparáveis com a metodologia de refluxo com a vantagem de tempos reacionais mais curtos. Contudo, a metodologia em refluxo foi preferida neste trabalho devido à possibilidade de obtenção de quantidades maiores em um único procedimento, já que o reator disponível para síntese em micro-ondas no laboratório é compatível com quantidades inferiores a 250 mg. Além disso, como o volume de solvente é determinado pelo tamanho do balão reacional em que se fará o refluxo, a quantidade de solvente pode ser facilmente ajustada para permitir a cristalização dos produtos durante o arrefecimento da mistura reacional. Como o recipiente de micro-ondas disponível comporta um máximo de 6 mL de solvente, o mesmo não pode ser feito com as quantidades almejadas sem a necessidade de várias repetições.

O mecanismo de formação desses compostos inicia com a protonação do grupo carbonila, tornando-o mais eletrofílico. A aminoguanidina ataca o grupo protonado para gerar um intermediário tetraédrico carbinolamina. Em seguida, o grupo OH sofre protonação, convertendo-o, assim, em um excelente grupo de saída. Então, o íon oxônio abandona sob a forma de água, formando uma dupla ligação C=N. Por fim, este último intermediário é desprotonado para gerar a guanilidrazona correspondente, conforme Esquema 1.2.

As quantidades necessárias para a avaliação da atividade anticitocina dos componentes dessa série foram enviadas para o Laboratório de Biologia Celular da Universidade Federal de Alagoas e os testes com células THP-1 se encontram neste momento em desenvolvimento.

Além disso, várias dessas substâncias apresentaram atividade antitumoral (EPIFÂNIO, 2011; FRANÇA, 2016) e deram origem a outras séries de derivados que estão sendo exploradas por outros alunos de programas de mestrado e doutorado orientados pelos professores Dr. João Xavier de Araújo-Júnior e Dr. Thiago Mendonça de Aquino.

**Esquema 1.2. Mecanismo reacional para formação dos derivados aminoguanidínicos**



Adaptado de Carey (2007).

## 5.3 Caracterização Estrutural

### 5.3.1 Caracterização estrutural de aminoguanidinas hidrazônicas aromáticas e análogos isostéricos de enxofre e oxigênio

A partir da análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H dos derivados dessa série, pode-se verificar um singlete de hidrogênio desblindado referente ao hidrogênio da posição imínica, o qual está presente em todas as substâncias. Este sinal aparece em torno de  $\delta$  7,27-9,05. Em todos os compostos, os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos aparecem entre  $\delta$  6,59-8,98, com deslocamentos em campo mais alto quando há grupos de maior eletronegatividade como substituintes do anel. Para uma melhor visualização, a Tabela 1.3 apresenta os principais deslocamentos químicos dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H para os derivados aminoguanidínicos obtidos.

**Tabela 1.0.1. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN <sup>1</sup>H para os derivados aminoguanidínicos (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz)**

Composto	Imínico	Aromáticos	Outros
<b>*2a</b>	8,19	7,43; 7,84	
<b>*2b</b>	8,06	6,83; 7,66	
<b>2c</b>	7,62	6,89; 6,99; 7,07; 7,24	3,69 (OMe)
<b>2d</b>	7,97	6,92; 7,66; 7,96	3,76 (OMe)
<b>*2e</b>	8,04	6,83; 7,13; 7,50	3,83 (OMe)
<b>*2f</b>	8,04	6,95; 7,18; 7,33	3,79 (OMe)
<b>*2g</b>	8,09	6,97; 7,23; 7,54	3,80 (OMe)
<b>*2h</b>	8,07	6,94; 7,17; 7,64	6,05 (OCH <sub>2</sub> O)
<b>*2i</b>	8,09	7,50	1,38 ( <i>t</i> -Bu)
<b>2j</b>	8,22	7,36; 7,87	
<b>*2k</b>	8,17	7,47; 7,74; 8,06	
<b>*2l</b>	8,15	7,45; 7,85	
<b>*2m</b>	8,42	7,45; 7,57	
<b>2n</b>	8,74	7,81; 7,89; 8,30;	
<b>*2o</b>	8,16	7,68; 7,79; 8,24	
<b>2p</b>	7,81	7,43; 7,55	
<b>*2q</b>	8,87	7,79; 7,31	
<b>*2r</b>	8,17	7,63; 7,81	
<b>*2s</b>	8,24	7,87; 8,04	

**Tabela 1.3 Continuação**

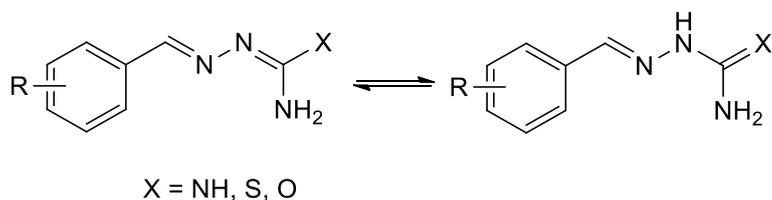
<b>2u</b>	8,48	7,31; 7,77; 7,92; 8,35	
<b>2v</b>	7,65	7,38; 8,30	
<b>*2w</b>	7,63	6,59; 6,92; 7,10; 7,25; 7,44	
<b>*2x</b>	8,36	7,12; 7,19; 7,45; 7,8; 8,28	
<b>*2y</b>	9,05	7,72; 7,84; 8,09; 8,40; 8,18; 8,98	
<b>3a</b>	8,04	7,36; 7,75	
<b>3d</b>	7,98	6,94; 7,70	3,75 (OMe)
<b>3g</b>	7,94	6,93; 7,14; 7,44	3,73 e 3,76 (OMe)
<b>3i</b>	7,96	7,42	1,38 ( <i>t</i> -Bu)
<b>*3k</b>	8,00	7,41; 7,63; 8,04	
<b>3l</b>	8,01	7,45; 7,83	
<b>3m</b>	8,27	7,39; 7,51	
<b>3n</b>	8,39	7,38; 7,53; 8,16	
<b>*3o</b>	7,98	7,62; 7,70; 8,22	
<b>3p</b>	7,95	7,57; 7,92	
<b>*3s</b>	8,05	7,85; 8,01	
<b>4g</b>	7,27	6,92; 7,12	3,72 (MeO)
<b>4i</b>	7,96	7,43	1,38 ( <i>t</i> -Bu)
<b>4o</b>	8,06	7,78; 7,61	

\*Os espectro de RMN foram descritos em publicações anteriores do grupo de pesquisa (EPIFANIO, 2011; FRANCA et al. 2016).

Há relatos de que a configuração da ligação imínica de tiossemicarbazonas pode ser tanto *E* como *Z* a depender do padrão de substituição do aldeído aromático utilizado na condensação (KARABATSOS, 1964). No entanto, experimentos de NOE diferencial da ligação imínica de arilidrazonas mostram que o estereoisômero *E* é mais estável que o *Z* devido a fatores estéricos (HOLZER & GYÖRGYDEÁK, 1992).

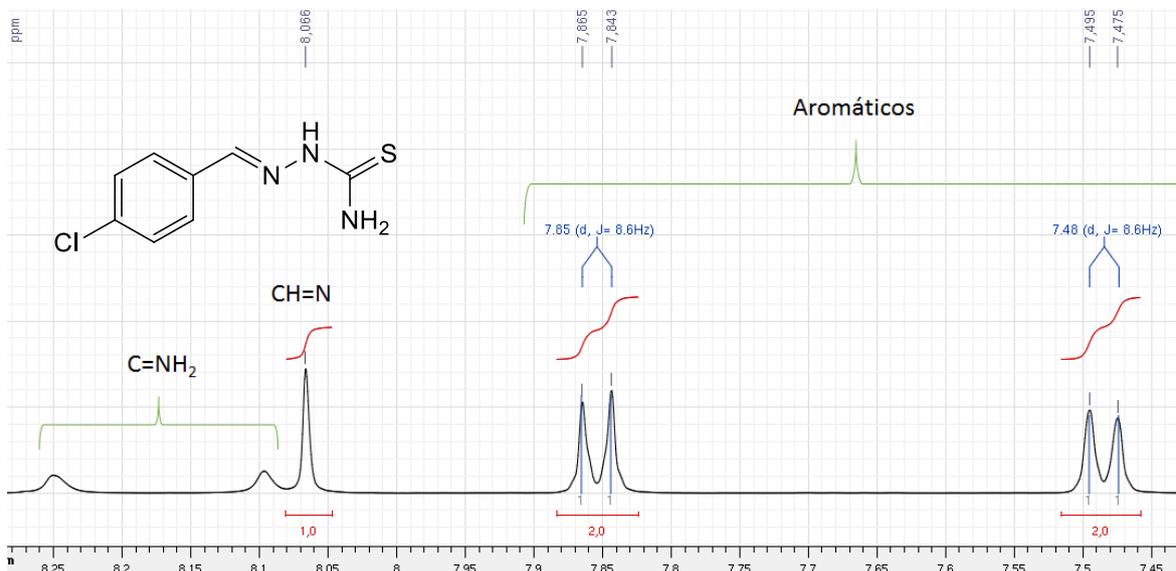
Em adição, os derivados podem coexistir em equilíbrio tautomérico (Esquema 3). A deslocalização eletrônica resulta em caráter parcialmente duplo da ligação C-N e pode ser evidenciado nos espectros obtidos. Os hidrogênios do NH<sub>2</sub> apresentam dois sinais não equivalentes, em virtude da rotação restrita da ligação C-NH<sub>2</sub> por causa da dupla ligação parcial que resulta em hidrogênios diastereotópicos (TENÓRIO et al, 2005). Os compostos sem substituinte no nitrogênio guanidínico assumem preferencialmente forma tautomérica em que há conjugação com o anel aromático em solução de DMSO-*d*<sub>6</sub> (HOLZER & GYÖRGYDEÁK, 1992).

**Esquema 1.3. Equilíbrio tautomérico dos derivados aminoguanidínicos**



A Figura 1.4 ilustra o espectro para o composto **31** para fins representativos desse fenômeno.

**Figura 1.4** Espectro representativo ampliado de RMN  $^1\text{H}$  para a hidrazinacarbotoioamida **3l**, destacando-se os singletos referentes aos grupos CH imínico e hidrogênios aromáticos (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz).



Com relação à RMN de  $^{13}\text{C}$ , os sinais referentes aos carbonos imínicos aparecem na faixa de deslocamento de  $\delta$  137,6 a 148,9. Por sua vez, os carbonos da região da guanidina e ureia foram identificados na entre  $\delta$  151,3 e  $\delta$  159,7. Já os carbonos da função tioureia foram deslocados para campo mais baixo, sendo exibidos entre  $\delta$  177,4 e  $\delta$  178,8.

**Tabela 1.0.2** Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  para os derivados aminoguanidínicos (DMSO- $d_6$ ; 100 MHz)

Composto	Imínico	Aromáticos	Guanidina, tioureia, ureia	Outros
<b>*2<sup>a</sup></b>	147,3	128,0; 129,1; 130,9; 133,8	155,8	
<b>*2<sup>b</sup></b>	147,5	116,0; 124,7; 129,8; 160,2	155,6	
<b>2c</b>	147,9	111,7; 116,6; 120,8; 130,0; 134,1; 158,9	154,6	55,3 (OMe)
<b>2d</b>	145,5	115,2; 129,5; 161,0	159,7	56,4 (OMe)

Tabela 1.4 *Continuação*

<b>*2e</b>	147,7	110,0; 115,6; 123,1; 125,2; 148,5; 149,7	155,5	56,2 (OMe)
<b>*2f</b>	147,0	112,0; 113,8; 121,0; 126,6; 147,6; 150,4	155,6	56,1 (OMe)
<b>*2g</b>	147,3	109,1; 111,6; 123,0; 126,5; 149,5; 151,4	155,7	56,1, 56,4 (OMe)
<b>*2h</b>	146,8	105,9; 108,6; 124,8; 128,3; 148,4; 149,8	155,7	102,0 (OCH <sub>2</sub> O)
<b>*2i</b>	148,9	124,9; 139,6; 155,5	156,9	30,6; 35,0 ( <i>t</i> -Bu)
<b>2j</b>	144,3	127,2; 127,6; 130,0; 132,2; 134,0; 144,3	154,7	
<b>*2k</b>	145,7	126,8; 127,3; 130,5; 131,0; 134,1; 136,0	155,8	
<b>*2l</b>	146,0	129,2; 129,7; 132,8; 135,4	155,8	
<b>*2m</b>	142,9	129,5; 130,0; 132,1; 134,5	155,7	
<b>2n</b>	144,5	128,4; 128,9; 129,6; 130,1; 135,1; 137,1;	155,8	
<b>*2°</b>	144,7	128,4; 129,0; 131,3; 132,2; 133,1; 134,6	155,8	
<b>2p</b>	145,1	125,9; 130,1; 135,1; 136,4	155,0	
<b>*2q</b>	144,5	116,3; 129,8; 133,7; 148,9	155,2	
<b>*2r</b>	146,1	124,3; 129,9; 132,1; 133,1	155,7	

Tabela 1.4 *Continuação*

<b>*2s</b>	145,3	112,6; 119,1; 128,6; 133,0; 138,3	155,8	
<b>2t</b>	144,6	124,8; 126,4; 139,9; 147,1; 148,3	155,6	
<b>2u</b>	144,8	124,4; 129,3 135,0, 147,6; 150,0	154,7	
<b>2v</b>	141,1	121,5; 144,7; 148,9	154,7	
<b>*2w</b>	139,0	108,1; 111,5; 120,1; 121,5; 124,5; 127,6; 132,0; 137,3	154,4	
<b>*2x</b>	145,3	121,2; 122,7; 123,2; 124,3; 132,2; 137,5	155,2	
<b>*2y</b>	143,4	119,0; 123,8; 125,3; 128,1; 130,1; 130,2; 137,0; 148,7; 150,6	155,7	
<b>3<sup>a</sup></b>	143,2	127,7; 129,1; 130,4; 134,4	177,9	
<b>3d</b>	143,2	114,6; 126,9; 129,4; 161,1	177,5	55,6 (OMe)
<b>3g</b>	143,6	108,7; 111,6; 122,8; 127,0; 149,4; 151,0	177,4	55,9; 56,0 (OMe)
<b>3i</b>	144,7	124,5; 125,6; 139,6, 156,5	177,6	30,6; 34,9 ( <i>t</i> -Bu)
<b>*3k</b>	141,0	126,4; 127,0; 129,9; 130,9; 134,2; 136,8	178,5	
<b>3l</b>	141,3	129,1; 129,4; 133,6; 134,7	178,4	

**Tabela 1.4 Continuação**

<b>3m</b>	138,4	129,6; 130,0; 131,6; 134,6	178,4	
<b>3n</b>	137,8	127,5; 128,5; 129,0; 130,4; 133,8; 134,9	178,4	
<b>*3°</b>	139,9	128,2; 128,6; 131,2; 132,2; 132,3; 135,5	178,6	
<b>3p</b>	139,0	125,5; 128,6; 134,4; 137,9	178,2	
<b>*3s</b>	140,4	111,9; 128,3; 132,9; 139,2	178,8	119,2 (CN)
<b>4g</b>	143,9	110,0; 112,9; 122,5; 128,2	151,3	56,7; 56,8 (MeO)
<b>4i</b>	142,4	123,9; 126,3; 139,6; 155,7	157,5	14,4; 22,6 ( <i>t</i> -Bu)
<b>4°</b>	137,6	127,3; 128,0; 131,2; 131,6; 132,1; 135,9	157,2	

\*Os espectro de RMN foram descritos em publicações anteriores do grupo de pesquisa (EPIFANIO, 2011; FRANCA et al. 2016).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, o quimiotipo aminoguanidínico foi identificado em moléculas pequenas portadoras de atividade anticitocina e foi utilizado como hipótese para planejar uma série de substâncias como potenciais candidatos a compostos anticitocinas tendo em vista novos protótipos para tratamento da artrite reumatoide.

Com base na molécula protótipo foram sintetizadas três séries de substâncias pertencentes às classes das aminoguanidinas, tiossemicarbazonas e semicarbazonas, utilizando-se substituintes de natureza diferente na função arilidrazona para inserção de diversidade molecular. Além disso, os substituintes aromáticos empregados foram selecionados de modo a permitir um estudo extensivo da relação estrutura-atividade dessas substâncias.

Os compostos foram sintetizados através de reações de condensação, apresentando bons rendimentos, geralmente superiores a 70%. Além disso, a metodologia empregada permite a obtenção de substâncias de elevada pureza sem necessidade de purificação adicional por cromatografia.

Apesar da simplicidade estrutural das moléculas sintetizadas, moléculas deveras complexas do ponto de vista estrutural tornam o processo de obtenção mais dispendioso e oneroso, já que frequentemente envolvem várias etapas sintéticas, agregando maior consumo de tempo para purificações subsequentes, além dos gastos com os reagentes necessários às sínteses. Visto que este estudo constitui o passo inicial no longo processo de desenvolvimento de protótipos de fármacos, optou-se por moléculas pudessem ser facilmente obtidas e purificáveis, de modo a explorar a viabilidade do quimiotipo aminoguanidínico como candidato ao desenvolvimento de novas moléculas com atividade anticitocina que possam ser utilizados para tratamento de doenças inflamatórias crônicas, particularmente a artrite reumatoide.

Os derivados sintetizados encontram-se em testes com células THP-1 para a avaliação da atividade anticitocina. A depender dos resultados da atividade biológica dos derivados aqui sintetizados, novos processos de modificação molecular para identificar poderão ser realizados em estudos posteriores para a obtenção de novas gerações de moléculas inspiradas nesse quimiotipo, com a finalidade de otimização da atividade farmacológica, da toxicidade e das características farmacocinéticas.

Por fim, novas séries de moléculas inspiradas no esqueleto aminoguanidínicos estão sendo desenvolvidas em trabalhos paralelos de mestrado e doutorado com a finalidade de buscar novos compostos-protótipos para tratamento de doenças neoplásicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU-AMER, Y. et al. Tumor Necrosis Factor Receptors Types 1 and 2 Differentially Regulate Osteoclastogenesis. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 35, p. 27307–27310, 1 set. 2000.
- ANDREAKOS, E.; FOXWELL, B.; FELDMANN, M. Is targeting Toll-like receptors and their signaling pathway a useful therapeutic approach to modulating cytokine-driven inflammation? **Immunological Reviews**, v. 202, p. 250–265, 2004.
- AREND, W. P. et al. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. **Annual review of immunology**, v. 16, p. 27–55, jan. 1998.
- AREND, W. P. Cytokine imbalance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: The role of interleukin-1 receptor antagonist. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 30, n. 5, p. 1–6, abr. 2001.
- ARKIN, M. R.; WELLS, J. A. Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 3, n. 4, p. 301–17, abr. 2004.
- ASANO, T. et al. Identification, Synthesis, and Biological Evaluation of 6-[(6R)-2-(4-Fluorophenyl)-6-(hydroxymethyl)-4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3(2H)-one (AS1940477), a Potent p38 MAP Kinase Inhibitor. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 17, p. 7772–7785, 2012.
- ASTRY, B.; HARBERTS, E.; MOUDGIL, K. D. A cytokine-centric view of the pathogenesis and treatment of autoimmune arthritis. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 31, n. 12, p. 927–940, 2011.
- BAINBRIDGE, J.; SIVAKUMAR, B.; PALEOLOG, E. Angiogenesis as a therapeutic target in arthritis: Lessons from oncology. **Current Pharmaceutical Design**, v. 12, n. 21, p. 2631–2644, 2006.
- BLACK, R. A. et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- $\alpha$  from cells. **Nature**, v. 385, n. 6618, p. 729–33, 20 fev. 1997.
- BOGOYEVITCH, M. A. et al. Targeting the JNK MAPK cascade for inhibition: basic science and therapeutic potential. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1697, n. 1–2, p. 89–101, 11 mar. 2004.
- BONGARTZ, T. et al. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. **JAMA**, v. 295, n. 19, p. 2275–85, 17 maio 2006.
- BOTTINI, N.; FIRESTEIN, G. S. Epigenetics in rheumatoid arthritis: a primer for rheumatologists. **Current rheumatology reports**, v. 15, n. 11, p. 372, nov. 2013.
- BREEDVELD, F. C. Leflunomide: mode of action in the treatment of rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 59, n. 11, p. 841–849, 1 nov. 2000.
- BRENNAN, F. M. et al. Inhibitory effect of TNF  $\alpha$  antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 2, n. 8657, p. 244–7, 29 jul. 1989.
- BURMESTER, G. R.; FEIST, E.; DÖRNER, T. Emerging cell and cytokine targets in rheumatoid arthritis. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 10, n. 2, p. 77–88, fev. 2014.
- CHATENOUD, L.; BLUESTONE, J. A. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity. **Nature reviews. Immunology**, v. 7, n. 8, p. 622–32, ago. 2007.

- CHO, M. J.; JULIANO, R. Macromolecular versus small-molecule therapeutics: drug discovery, development and clinical considerations. **Trends in biotechnology**, v. 14, n. 5, p. 153–8, maio 1996.
- CHU, S. Y. et al. Suppression of rheumatoid arthritis B cells by XmAb5871, an anti-CD19 antibody that coengages B cell antigen receptor complex and Fcγ receptor IIb inhibitory receptor. **Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)**, v. 66, n. 5, p. 1153–64, maio 2014.
- COHEN, S. Small molecular therapies for rheumatoid arthritis: where do we stand? **Expert opinion on investigational drugs**, v. 21, n. 1, p. 23–31, jan. 2012.
- COLMEGNA, I.; OHATA, B. R.; MENARD, H. A. Current understanding of rheumatoid arthritis therapy. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 91, n. 4, p. 607–20, abr. 2012.
- DASGUPTA, S. et al. Current perspective of TACE inhibitors: A review. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 2, p. 444–459, 2009.
- DAVIS, J. M.; COLANGELO, J. Small-molecule inhibitors of the interaction between TNF and TNFR. **Future medicinal chemistry**, v. 5, n. 1, p. 69–79, jan. 2013.
- DAYER, J.-M.; MOLNARFI, N.; BURGER, D. From cellular receptors to transduction-transcription pathways for cytokines: At which level should the inhibition be targeted in inflammation? **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 5, n. SUPPL. 1, p. S83–S96, 2005.
- ELLERIN, T.; RUBIN, R. H.; WEINBLATT, M. E. Infections and anti-tumor necrosis factor alpha therapy. **Arthritis and rheumatism**, v. 48, n. 11, p. 3013–22, nov. 2003.
- FELDMANN, M. Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis. **Nature reviews. Immunology**, v. 2, n. 5, p. 364–71, maio 2002.
- FELDMANN, M.; BRENNAN, F. M.; MAINI, R. N. **Role of cytokines in rheumatoid arthritis** *Annual Review of Immunology*, 1996. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0029876121&partnerID=40&md5=8c88ac6f22e9c3f8c9f93b49973f3428>>
- FIRESTEIN, G. S. Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Journal of Clinical Rheumatology**, v. 11, n. 3 SUPPL., p. S39–S44, 2005.
- FIRESTEIN, G. S.; KELLEY, W. N. **Kelley's Textbook of Rheumatology, Volume 2**. [s.l: s.n.].
- FOX, D. A. Cytokine blockade as a new strategy to treat rheumatoid arthritis: Inhibition of tumor necrosis factor. **Archives of Internal Medicine**, v. 160, n. 4, p. 437–444, 2000.
- FRANCA, P. H. B. et al. Preliminary in vitro evaluation of the anti-proliferative activity of guanlylhydrazone derivatives. **Acta Pharmaceutica**, v. 66, n. 1, p. 129–137, 1 mar. 2016.
- GABAY, C.; MCINNES, I. B. The biological and clinical importance of the “new generation” cytokines in rheumatic diseases. **Arthritis Research and Therapy**, v. 11, n. 3, 2009.
- GARBER, K. Bispecific antibodies rise again. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 13, n. 11, p. 799–801, 31 out. 2014.
- GERRITSEN, M. E. et al. Regulation of the expression of intercellular adhesion molecule 1 in cultured human endothelial cells derived from rheumatoid synovium. **Arthritis and rheumatism**, v. 36, n. 5, p. 593–602, maio 1993.
- GÓMEZ-REINO, J. J. et al. Treatment of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor

inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. **Arthritis and rheumatism**, v. 48, n. 8, p. 2122–7, ago. 2003.

GORONZY, J. J.; WEYAND, C. M. T-cell regulation in rheumatoid arthritis. **Current opinion in rheumatology**, v. 16, n. 3, p. 212–7, maio 2004.

GRELL, M. et al. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. **Cell**, v. 83, n. 5, p. 793–802, 1 dez. 1995.

HAIDER, S. et al. Design, synthesis and docking studies of 2-benzoxazolinone-based 1,2,4-triazoles as proinflammatory cytokine inhibitors. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, n. 9, p. 4250–4268, 2014.

HARINGMAN, J. J.; LUDIKHUIZE, J.; TAK, P. P. Chemokines in joint disease: the key to inflammation? **Annals of the rheumatic diseases**, v. 63, n. 10, p. 1186–94, out. 2004.

HAYAKAWA, N. et al. Structure-activity relationship study, target identification, and pharmacological characterization of a small molecular IL-12/23 inhibitor, APY0201. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 3021–3029, 2014.

HELLING, B. et al. A specific CD4 epitope bound by tregalizumab mediates activation of regulatory T cells by a unique signaling pathway. **Immunology and cell biology**, v. 93, n. 4, p. 396–405, abr. 2015.

HERMAN, S. et al. Induction of osteoclast-associated receptor, a key osteoclast costimulation molecule, in rheumatoid arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 58, n. 10, p. 3041–3050, 2008.

HOFFMEISTER, R. T. Methotrexate therapy in rheumatoid arthritis: 15 years experience. **The American Journal of Medicine**, v. 75, n. 6, p. 69–73, dez. 1983.

HOLZER, W.; GYÖRGYDEÁK, Z. On the structure of guanylhydrazones derived from aromatic aldehydes. **Monatshefte für Chemie**, v. 123, n. 12, p. 1163–1173, dez. 1992.

HOPKINS, S. J. The pathophysiological role of cytokines. **Legal Medicine**, v. 5, n. SUPPL. 1, p. S45–S57, 2003.

JIMÉNEZ BLANCO, J. L. et al. Urea-, thiourea-, and guanidine-linked glycooligomers as phosphate binders in water. **The Journal of organic chemistry**, v. 71, n. 14, p. 5136–43, 7 jul. 2006.

JOHNSON, R. D.; WANG, Z.-G.; ARNOLD, F. H. Surface Site Heterogeneity and Lateral Interactions in Multipoint Protein Adsorption. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 12, p. 5134–5139, jan. 1996.

KARAMPETSOU, M. P.; LIOSSIS, S.-N. C.; SFIKAKIS, P. P. TNF- $\alpha$  antagonists beyond approved indications: stories of success and prospects for the future. **QJM : monthly journal of the Association of Physicians**, v. 103, n. 12, p. 917–28, 1 dez. 2010.

KAROUZAKIS, E. et al. Molecular and cellular basis of rheumatoid joint destruction. **Immunology Letters**, v. 106, n. 1, p. 8–13, 2006.

KATAOKA, T. Chemical biology of inflammatory cytokine signaling. **Journal of Antibiotics**, v. 62, n. 12, p. 655–667, 2009.

KHAN, M. M. **Immunopharmacology**. Boston, MA: Springer US, 2008.

KHOSHNEVISZADEH, M. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel anti-cytokine 1,2,4-triazine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 21, p.

6708–6717, 2013.

KOHLMEIER, J. E. et al. The outcome of T-cell costimulation through intercellular adhesion molecule-1 differs from costimulation through leucocyte function-associated antigen-1. **Immunology**, v. 108, n. 2, p. 152–7, fev. 2003.

KOPF, M.; BACHMANN, M. F.; MARSLAND, B. J. Averting inflammation by targeting the cytokine environment. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 9, p. 703–718, 2010.

KREMER, J. M. et al. Treatment of rheumatoid arthritis with the selective costimulation modulator abatacept: twelve-month results of a phase iib, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Arthritis and rheumatism**, v. 52, n. 8, p. 2263–71, ago. 2005.

LALLY, F. et al. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. **Arthritis and rheumatism**, v. 52, n. 11, p. 3460–9, nov. 2005.

LAM, J. et al. TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. **The Journal of clinical investigation**, v. 106, n. 12, p. 1481–8, dez. 2000.

LANGE, U. E. W. et al. D-Phe-Pro-Arg type thrombin inhibitors: unexpected selectivity by modification of the P1 moiety. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 13, n. 12, p. 2029–33, 16 jun. 2003.

LEE, D. M.; WEINBLATT, M. E. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 358, n. 9285, p. 903–11, 15 set. 2001.

LEE, J. C. et al. p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Inhibitors—Mechanisms and Therapeutic Potentials. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 82, n. 2–3, p. 389–397, maio 1999.

LEE, P. et al. Evaluation of analgesic action and efficacy of antirheumatic drugs. Study of 10 drugs in 684 patients with rheumatoid arthritis. **The Journal of rheumatology**, v. 3, n. 3, p. 283–94, 1 set. 1976.

LUNDSTRÖM, E. et al. Gene-environment interaction between the DRB1 shared epitope and smoking in the risk of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: all alleles are important. **Arthritis and rheumatism**, v. 60, n. 6, p. 1597–603, jun. 2009.

MACNAUL, K. L. et al. Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts. Synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on stromelysin expression. **The Journal of biological chemistry**, v. 265, n. 28, p. 17238–45, 5 out. 1990.

MAKRYGIANNAKIS, D. et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 67, n. 10, p. 1488–92, out. 2008.

MATERA, M. G.; CALZETTA, L.; CAZZOLA, M. TNF-alpha inhibitors in asthma and COPD: we must not throw the baby out with the bath water. **Pulmonary pharmacology & therapeutics**, v. 23, n. 2, p. 121–8, abr. 2010.

MAUVIEL, A. Cytokine regulation of metalloproteinase gene expression. **Journal of cellular biochemistry**, v. 53, n. 4, p. 288–95, dez. 1993.

MCINNES, I. B.; SCHETT, G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 6, p. 429–442, 2007.

MCINNES, I. B.; SCHETT, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. **The New England**

**journal of medicine**, v. 365, n. 23, p. 2205–19, 8 dez. 2011.

MENET, C. J. et al. Triazolopyridines as Selective JAK1 Inhibitors: From Hit Identification to GLPG0634. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 9323–9342, 2014.

MOJCIK, C. F.; SHEVACH, E. M. Adhesion molecules: a rheumatologic perspective. **Arthritis and rheumatism**, v. 40, n. 6, p. 991–1004, jun. 1997.

MOLL, M.; KUEMMERLE-DESCHNER, J. B. Inflammasome and cytokine blocking strategies in autoinflammatory disorders. **Clinical Immunology**, v. 147, n. 3, p. 242–275, 2013.

MOREL, J.; BERENBAUM, F. Signal transduction pathways: new targets for treating rheumatoid arthritis. **Joint, bone, spine : revue du rhumatisme**, v. 71, n. 6, p. 503–10, nov. 2004.

MORELAND, L. W. et al. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. **The New England journal of medicine**, v. 337, n. 3, p. 141–7, 17 jul. 1997.

MORITA, Y. et al. Antisense oligonucleotides targeting c-fos mRNA inhibit rheumatoid synovial fibroblast proliferation. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 57, n. 2, p. 122–4, fev. 1998.

MOSS, M. L.; SKLAIR-TAVRON, L.; NUDELMAN, R. Drug insight: tumor necrosis factor-converting enzyme as a pharmaceutical target for rheumatoid arthritis. **Nature clinical practice. Rheumatology**, v. 4, n. 6, p. 300–9, jun. 2008.

NASSABEH, N. Rheumatoid arthritis: time to give up on chemokine receptor antagonism for RA therapy? **Nature reviews. Rheumatology**, v. 6, n. 2, p. 62, fev. 2010.

NELSON, F. C.; ZASK, A. The therapeutic potential of small molecule TACE inhibitors. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 8, n. 4, p. 383–92, 23 abr. 1999.

O'SHEA, J. J.; MURRAY, P. J. Cytokine Signaling Modules in Inflammatory Responses. **Immunity**, v. 28, n. 4, p. 477–487, 2008.

OKAMOTO, H.; KOBAYASHI, A. Tyrosine kinases in rheumatoid arthritis. **Journal of Inflammation**, v. 8, 2011.

OSPELT, C. et al. Synovial activation in rheumatoid arthritis. **Frontiers in bioscience : a journal and virtual library**, v. 9, p. 2323–34, 1 set. 2004.

PALEOLOG, E. M. et al. Deactivation of vascular endothelium by monoclonal anti-tumor necrosis factor alpha antibody in rheumatoid arthritis. **Arthritis and rheumatism**, v. 39, n. 7, p. 1082–91, jul. 1996.

PARADOWSKA, A. et al. The function of interleukin 17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 329–334, 2007.

RAHMAN, M. M.; MCFADDEN, G. Modulation of tumor necrosis factor by microbial pathogens. **PLoS pathogens**, v. 2, n. 2, p. e4, fev. 2006.

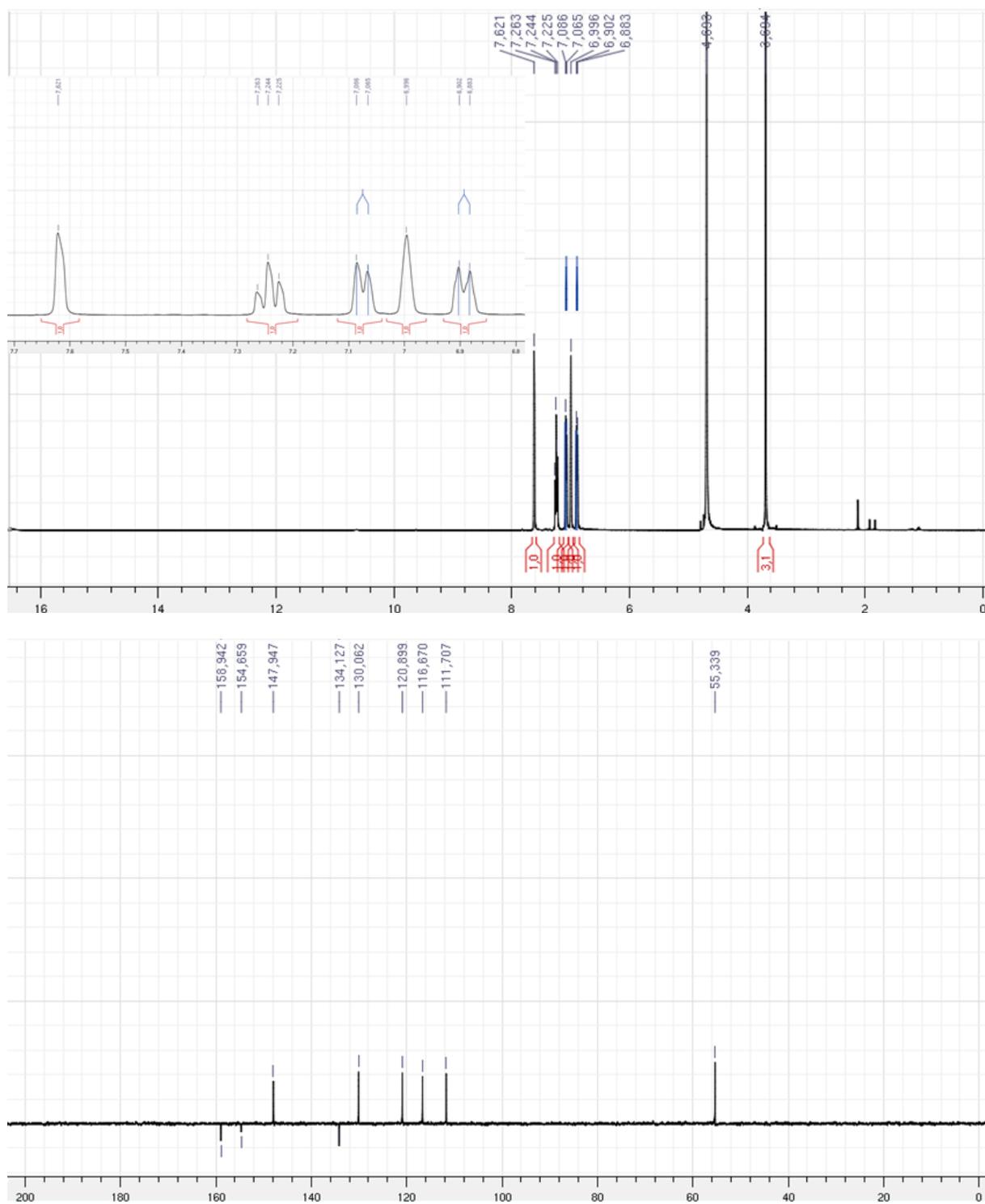
RODRIGUEZ, P. C. et al. A clinical exploratory study with itolizumab, an anti-CD6 monoclonal antibody, in patients with rheumatoid arthritis. **Results in immunology**, v. 2, p. 204–11, jan. 2012.

RUBBERT-ROTH, A.; FINCKH, A. Treatment options in patients with rheumatoid arthritis

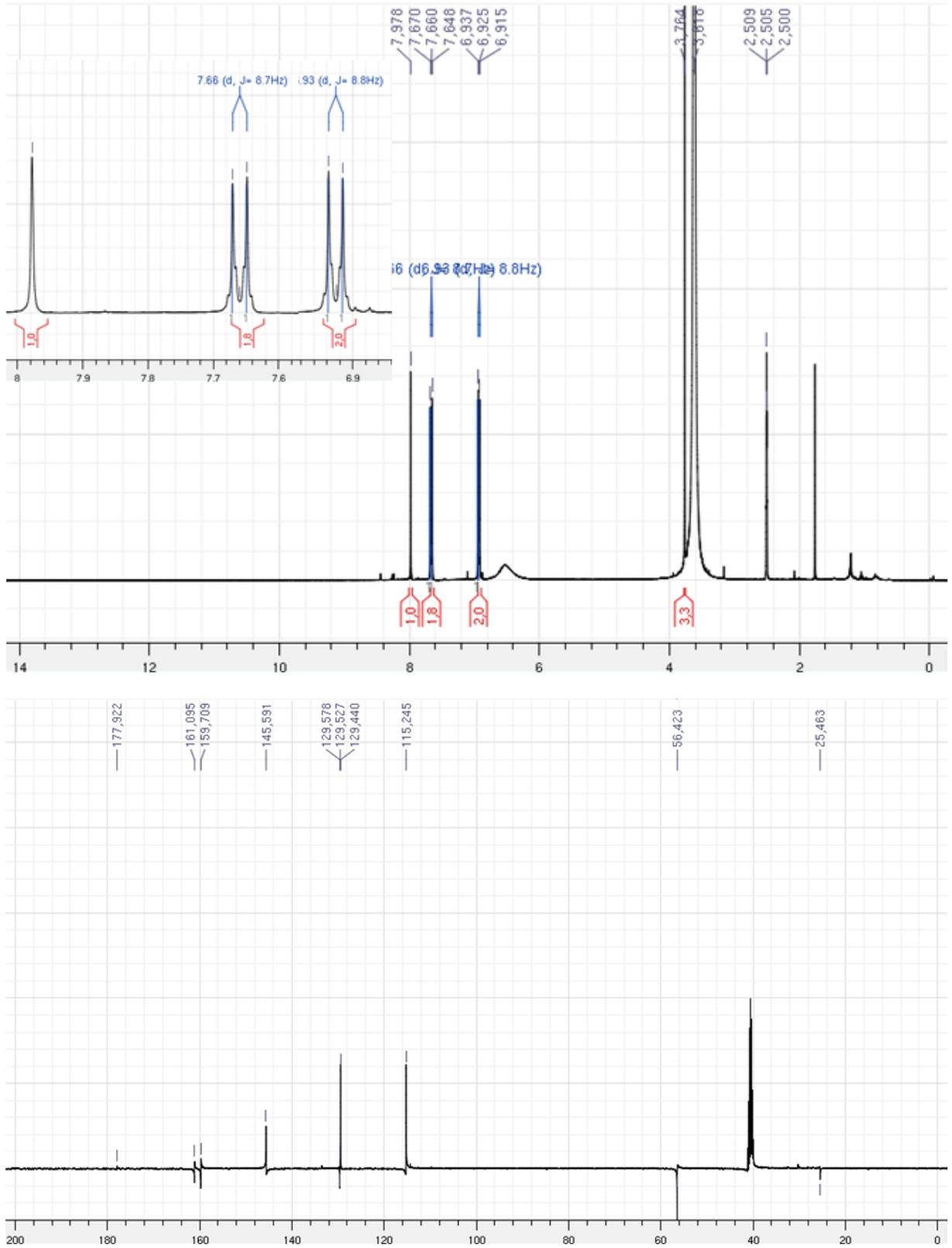
- failing initial TNF inhibitor therapy: a critical review. **Arthritis Research & Therapy**, v. 11, n. Suppl 1, p. S1, jan. 2009.
- SCHETT, G. Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 41, n. 12, p. 1361–1366, 2011.
- SCHMIDTCHEN, F. P.; BERGER, M. Artificial Organic Host Molecules for Anions. **Chemical reviews**, v. 97, n. 5, p. 1609–1646, 5 ago. 1997.
- ŠENOLT, L. et al. Prospective new biological therapies for rheumatoid arthritis. **Autoimmunity Reviews**, v. 9, n. 2, p. 102–107, 2009.
- SFIKAKIS, P. P. The first decade of biologic TNF antagonists in clinical practice: lessons learned, unresolved issues and future directions. **Current directions in autoimmunity**, v. 11, p. 180–210, jan. 2010.
- TAYAL, V.; KALRA, B. S. Cytokines and anti-cytokines as therapeutics - An update. **European Journal of Pharmacology**, v. 579, n. 1–3, p. 1–12, 2008.
- TAYLOR, P. C.; FELDMANN, M. Anti-TNF biologic agents: still the therapy of choice for rheumatoid arthritis. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 5, n. 10, p. 578–82, 1 out. 2009.
- TEDDER, T. F. CD19: a promising B cell target for rheumatoid arthritis. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 5, n. 10, p. 572–7, out. 2009.
- TEITELBAUM, S. L. Bone resorption by osteoclasts. **Science (New York, N.Y.)**, v. 289, n. 5484, p. 1504–8, 1 set. 2000.
- VEALE, D. J.; FEARON, U. Inhibition of angiogenic pathways in rheumatoid arthritis: potential for therapeutic targeting. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**, v. 20, n. 5, p. 941–947, 2006.
- VERVOORDELDONK, M. J.; TAK, P. P. Cytokines in rheumatoid arthritis. **Current rheumatology reports**, v. 4, n. 3, p. 208–217, 2002.
- VIJAYAKRISHNAN, L.; VENKATARAMANAN, R.; GULATI, P. Treating inflammation with the Janus kinase inhibitor CP-690,550. **Trends in pharmacological sciences**, v. 32, n. 1, p. 25–34, jan. 2011.
- WAJANT, H.; PFIZENMAIER, K.; SCHEURICH, P. Tumor necrosis factor signaling. **Cell death and differentiation**, v. 10, n. 1, p. 45–65, jan. 2003.
- WEI, S. et al. IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. **The Journal of clinical investigation**, v. 115, n. 2, p. 282–90, fev. 2005.
- WEYAND, C. M.; GORONZY, J. J. T-cell-targeted therapies in rheumatoid arthritis. **Nature clinical practice. Rheumatology**, v. 2, n. 4, p. 201–10, abr. 2006.
- WILLIAMS, R. O.; PALEOLOG, E.; FELDMANN, M. Cytokine inhibitors in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 4, p. 412–417, 2007.
- YANG, X.; ZHU, L.-J.; YU, X.-Q. Anti-TNF- $\alpha$  therapies in systemic lupus erythematosus. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, 2010.
- ZHENG, H. et al. Resistance to fever induction and impaired acute-phase response in interleukin-1 beta-deficient mice. **Immunity**, v. 3, n. 1, p. 9–19, jul. 1995.
- ZWERINA, J. et al. TNF-induced structural joint damage is mediated by IL-1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 28, p.

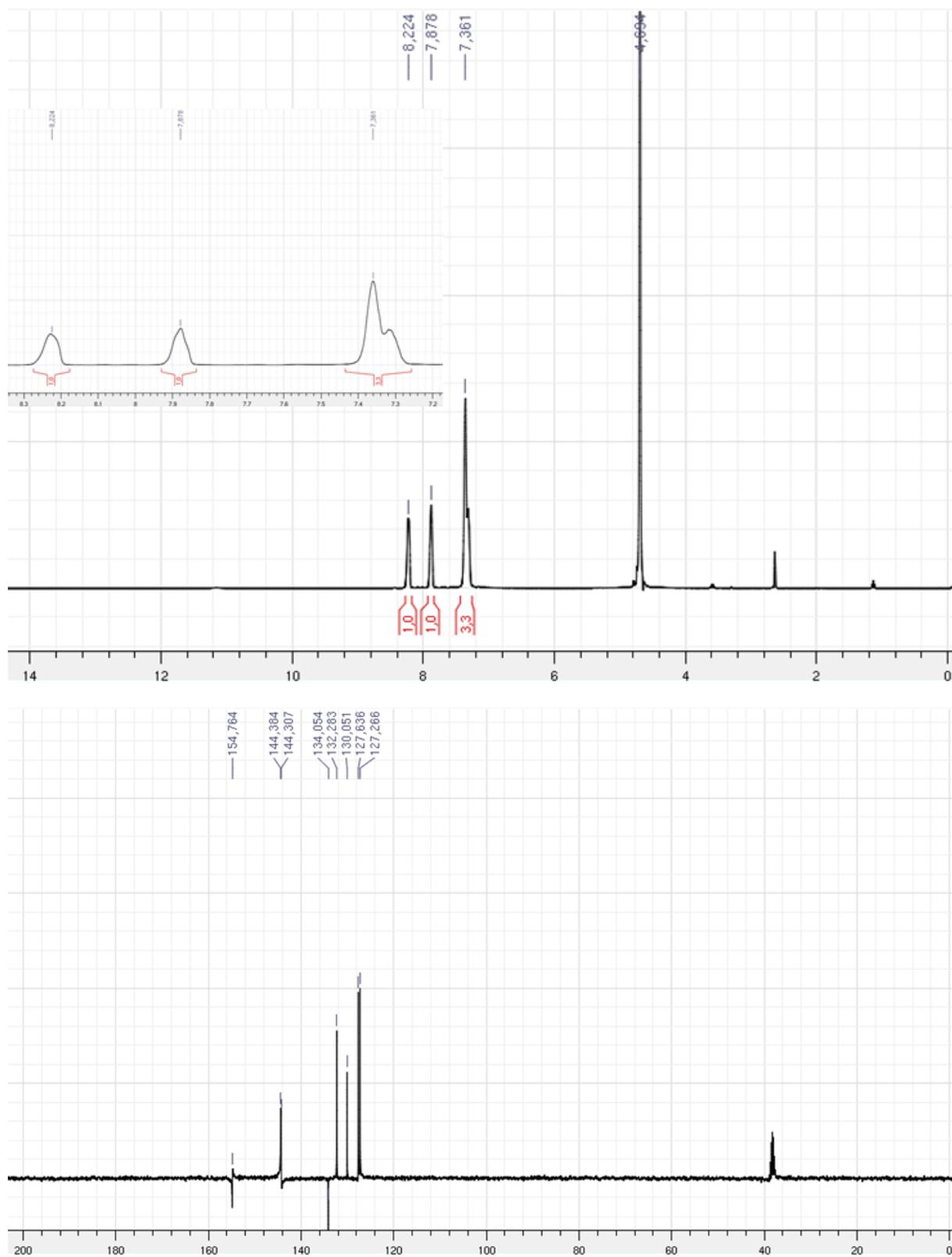
11742-7, 10 jul. 2007.

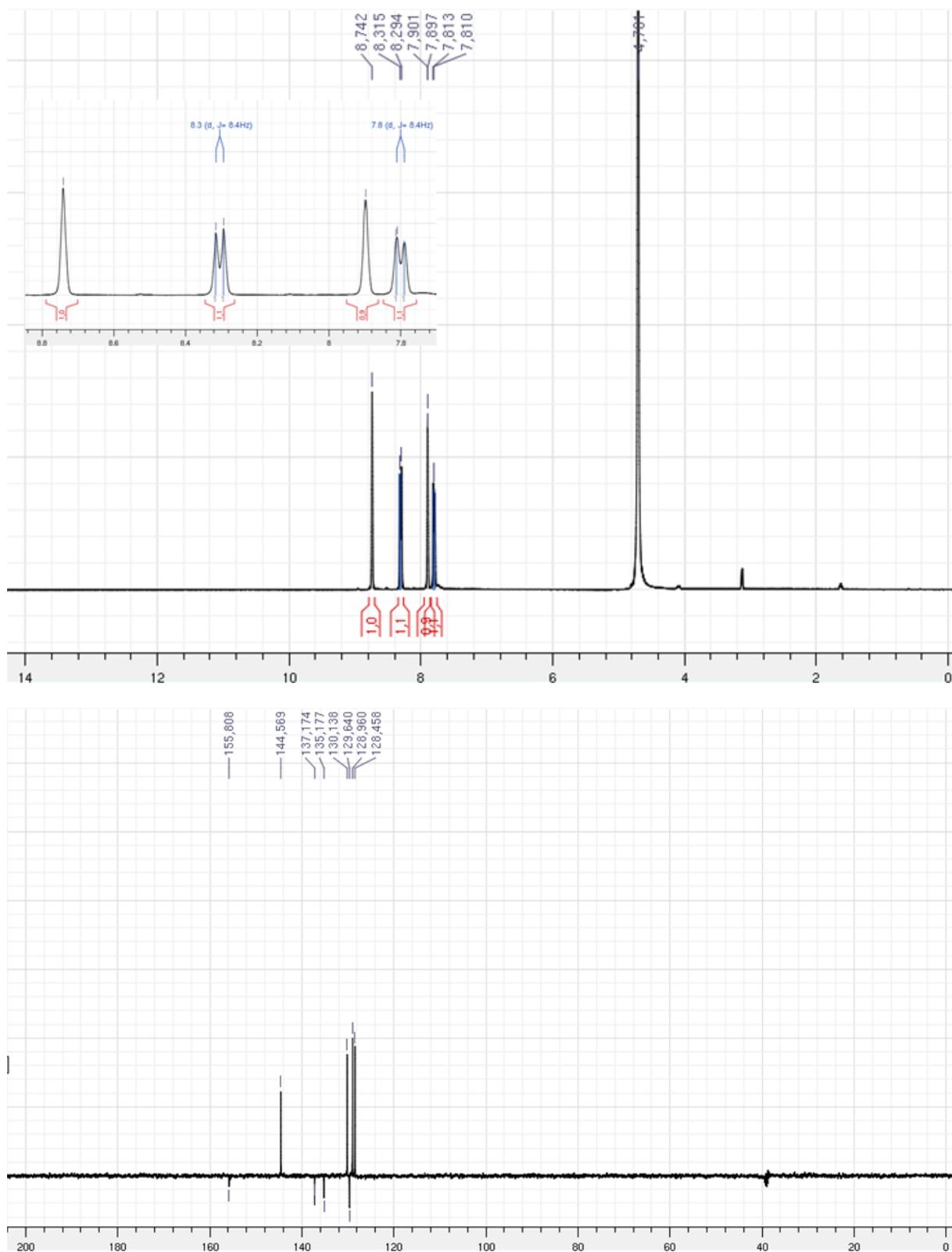
## ANEXOS

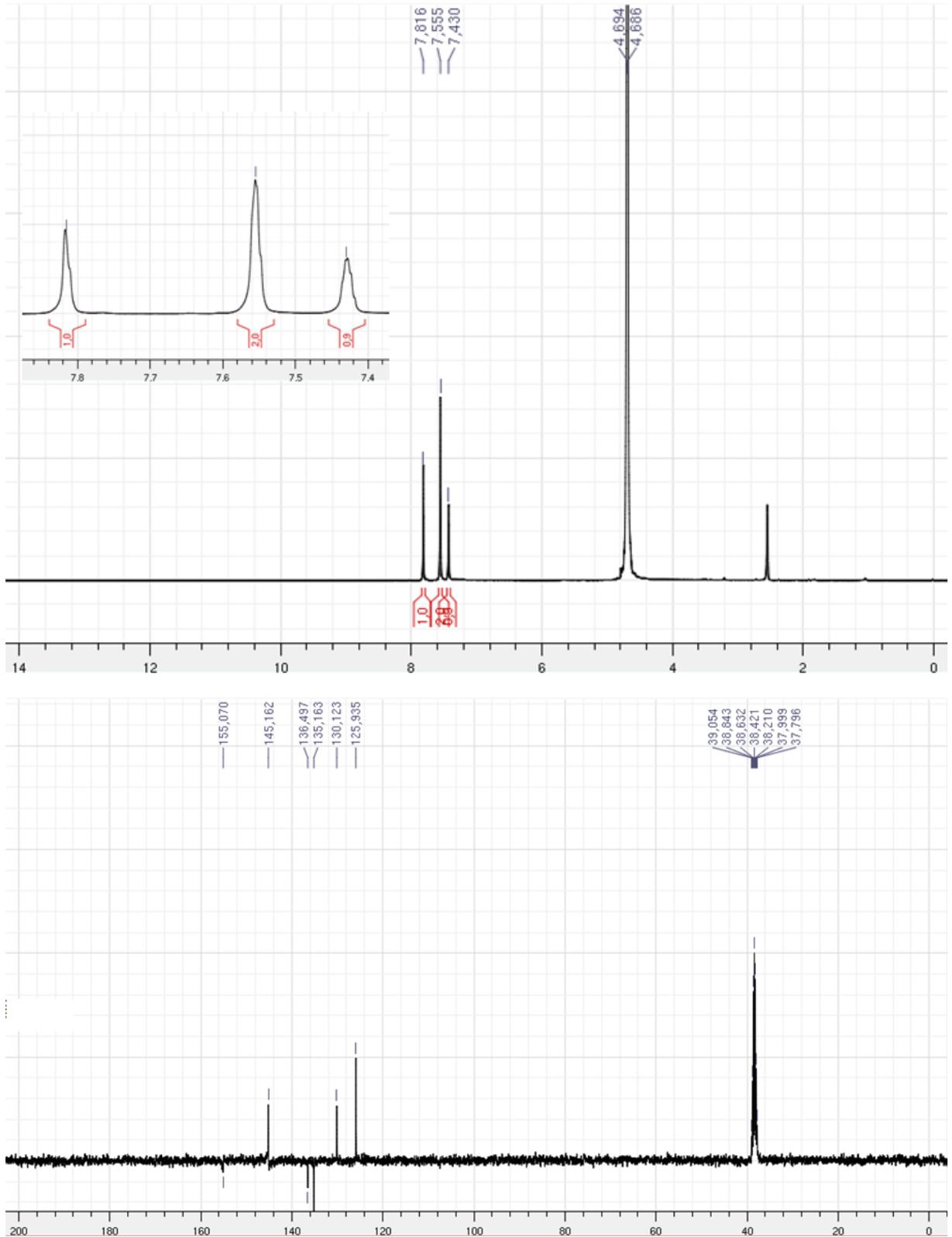
Anexo I Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2c (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

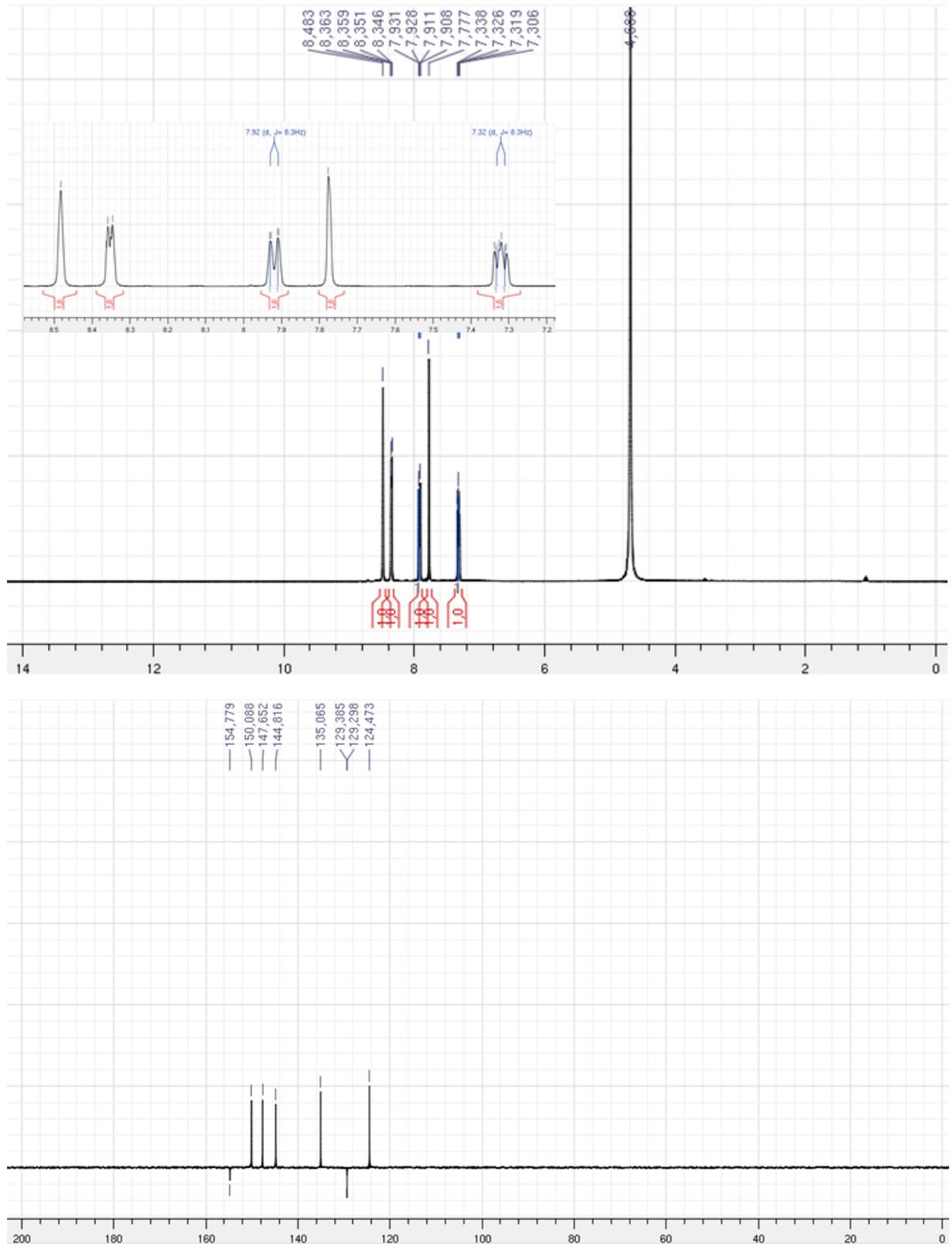
Anexo II Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2d (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

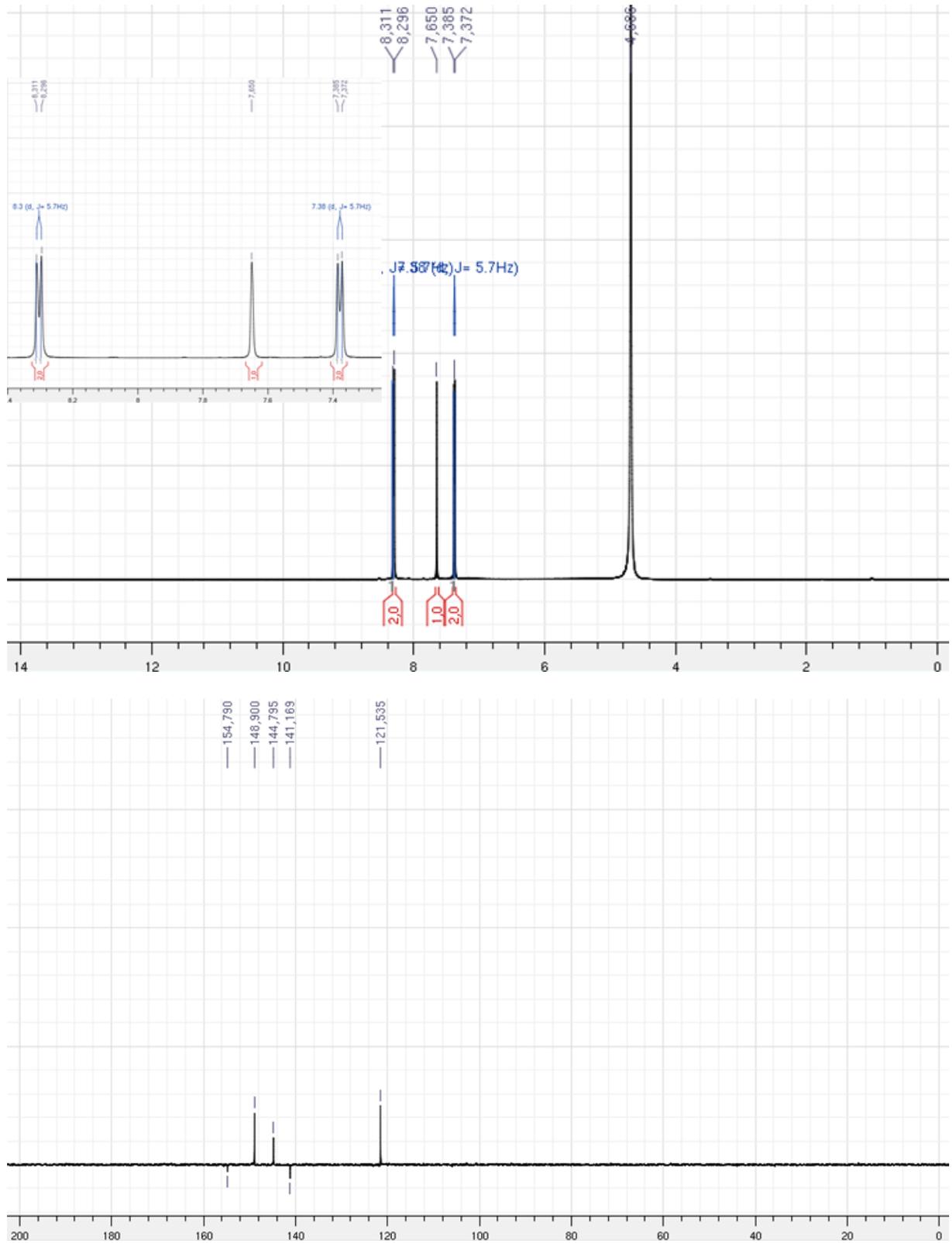


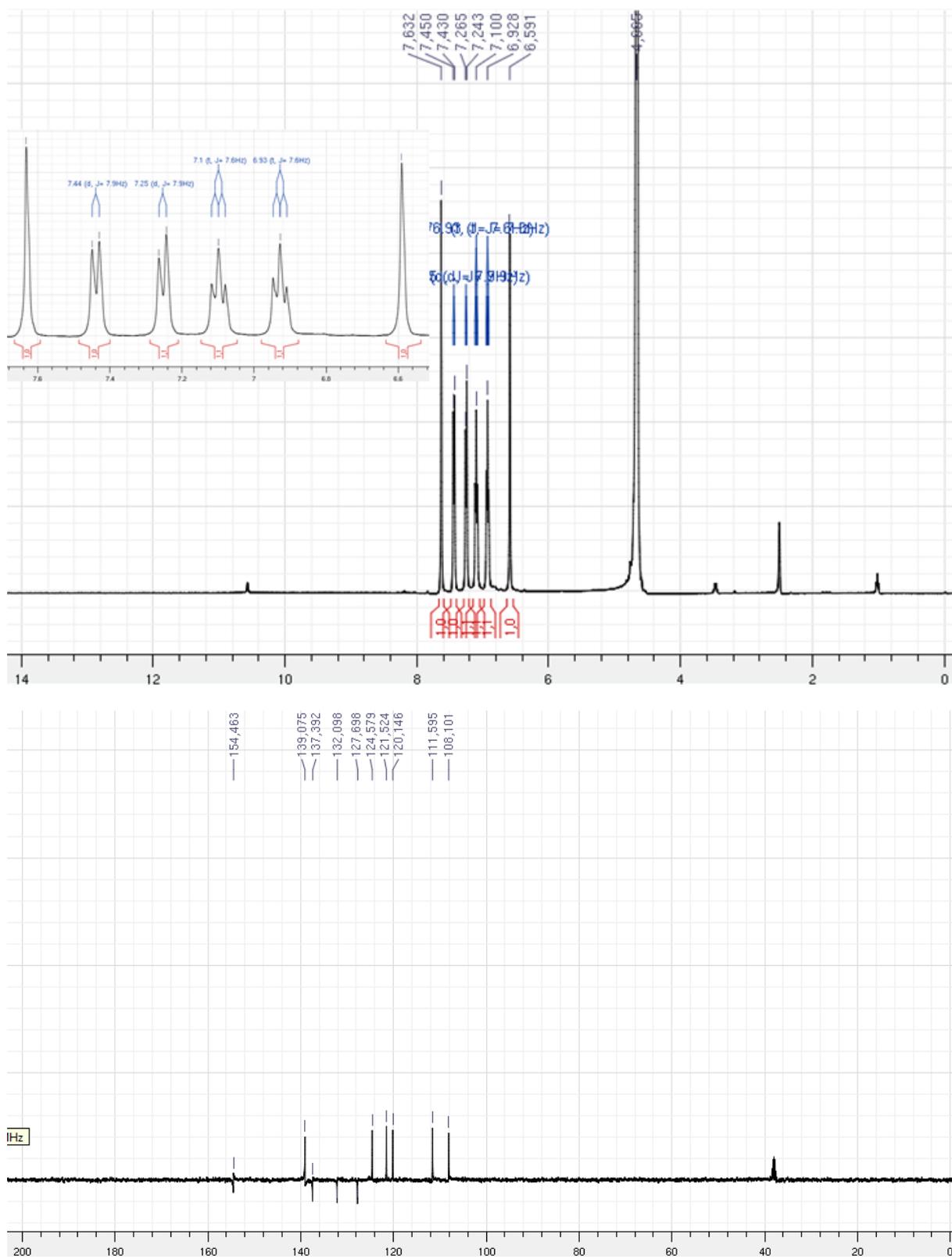
Anexo III Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2j (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

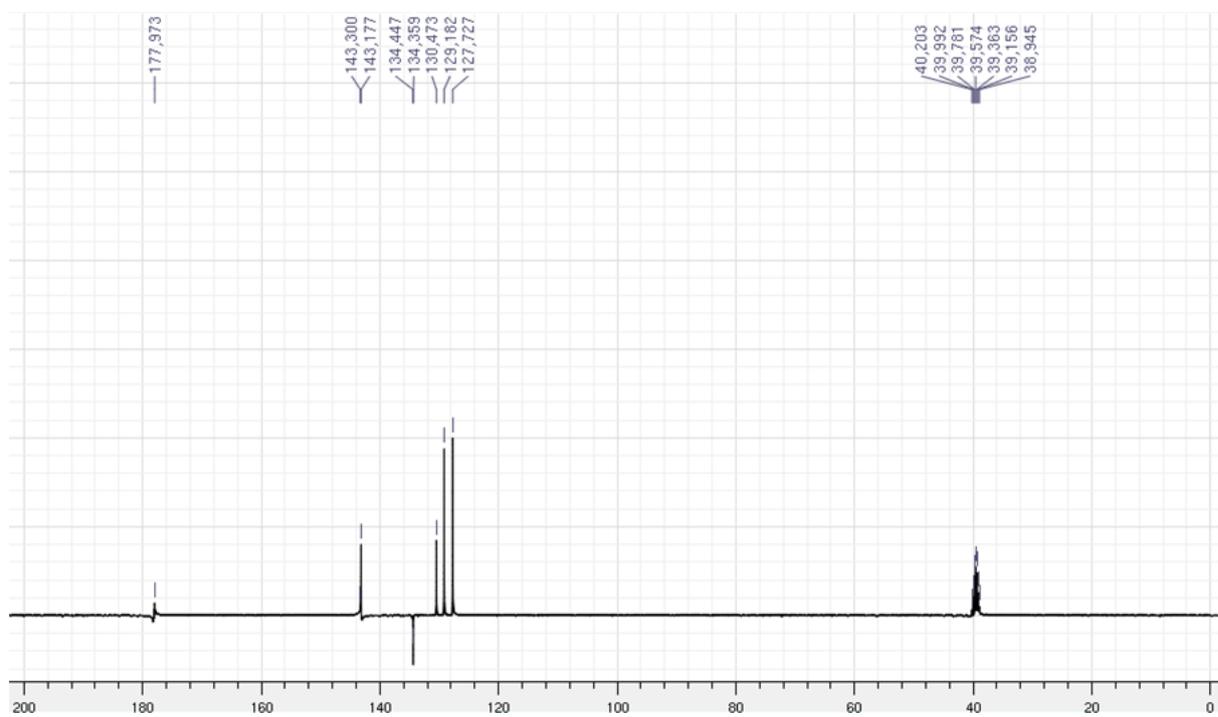
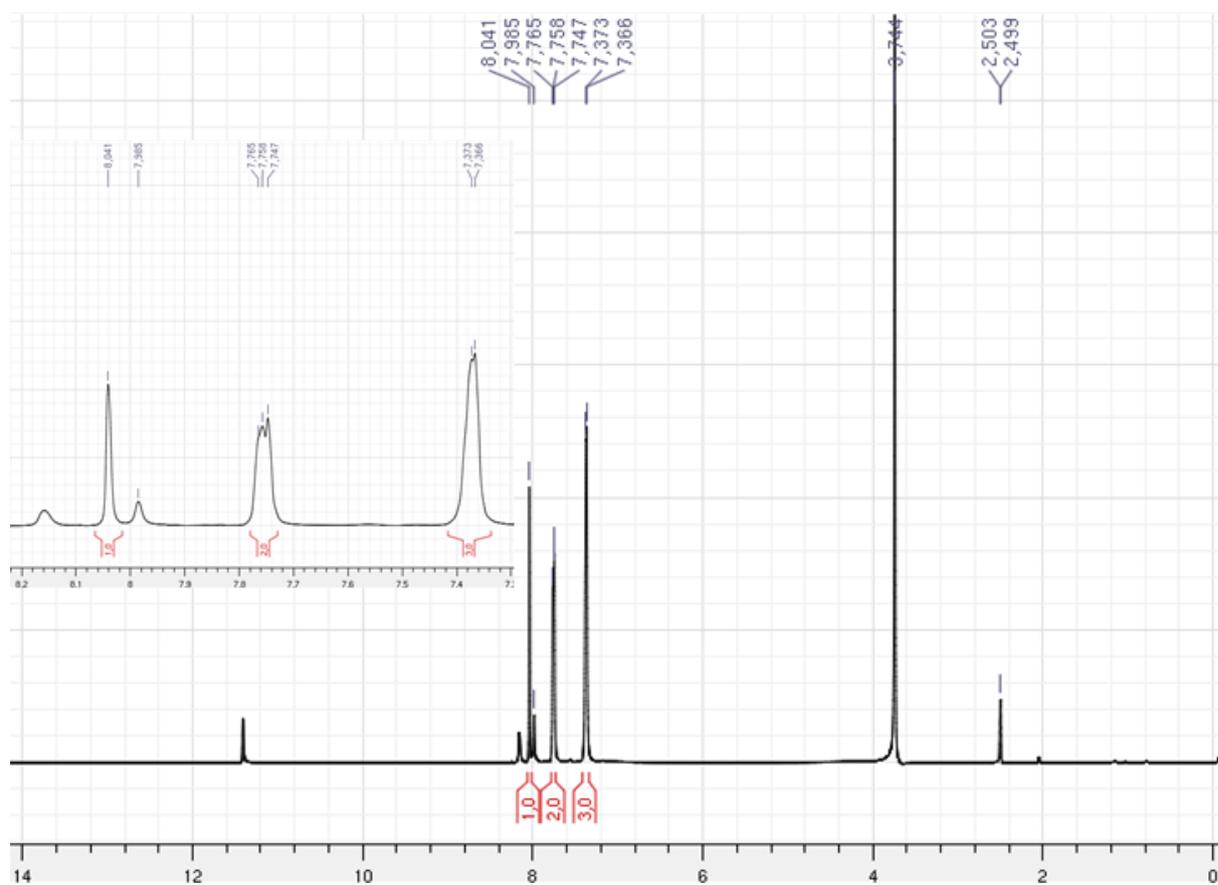
Anexo IV Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2n (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

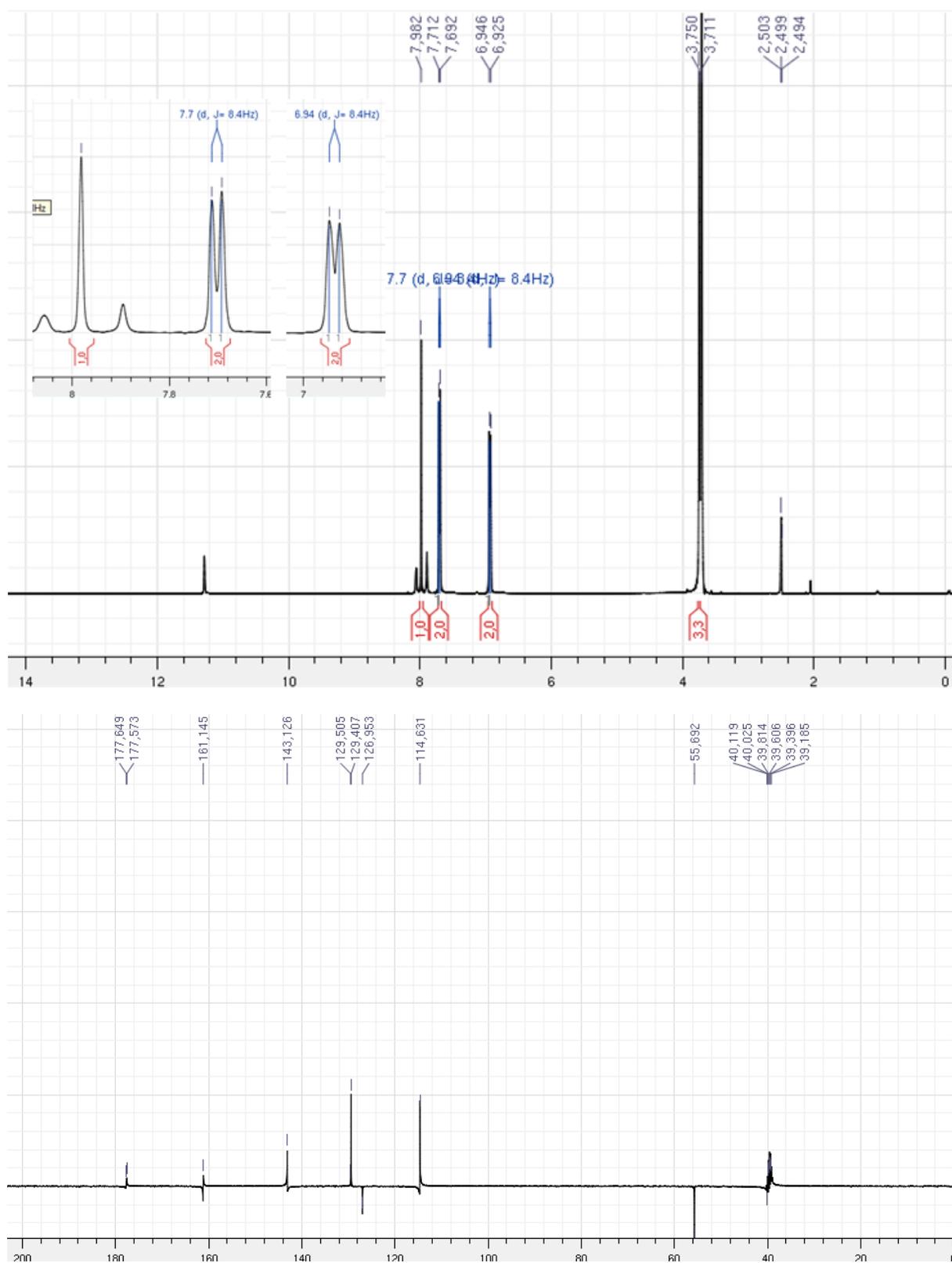
Anexo V Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2p (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

Anexo VI Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2u ( $\text{D}_2\text{O}$ ; 400 MHz)

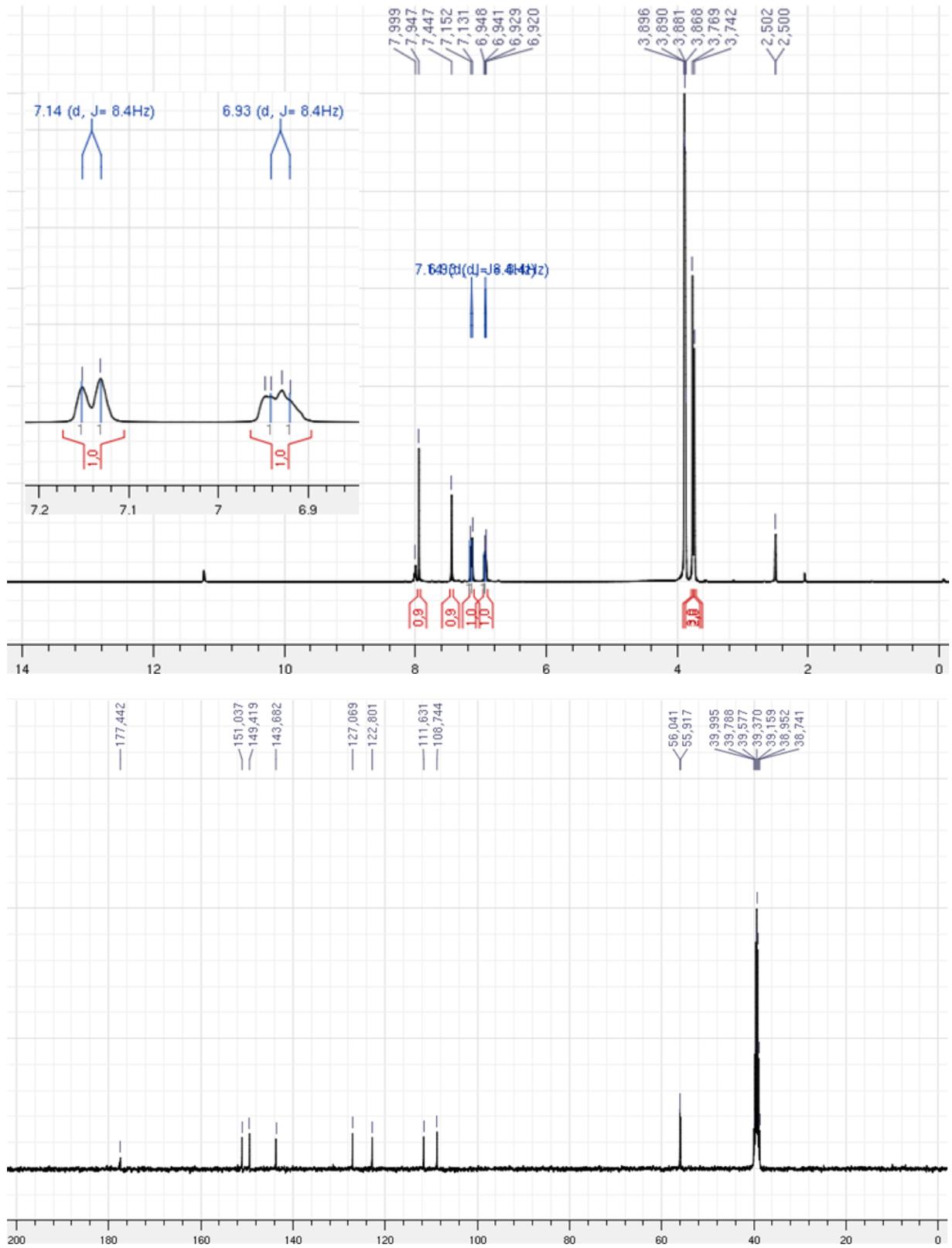
Anexo VII Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2v ( $\text{D}_2\text{O}$ ; 400 MHz)

Anexo IX Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 2w (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

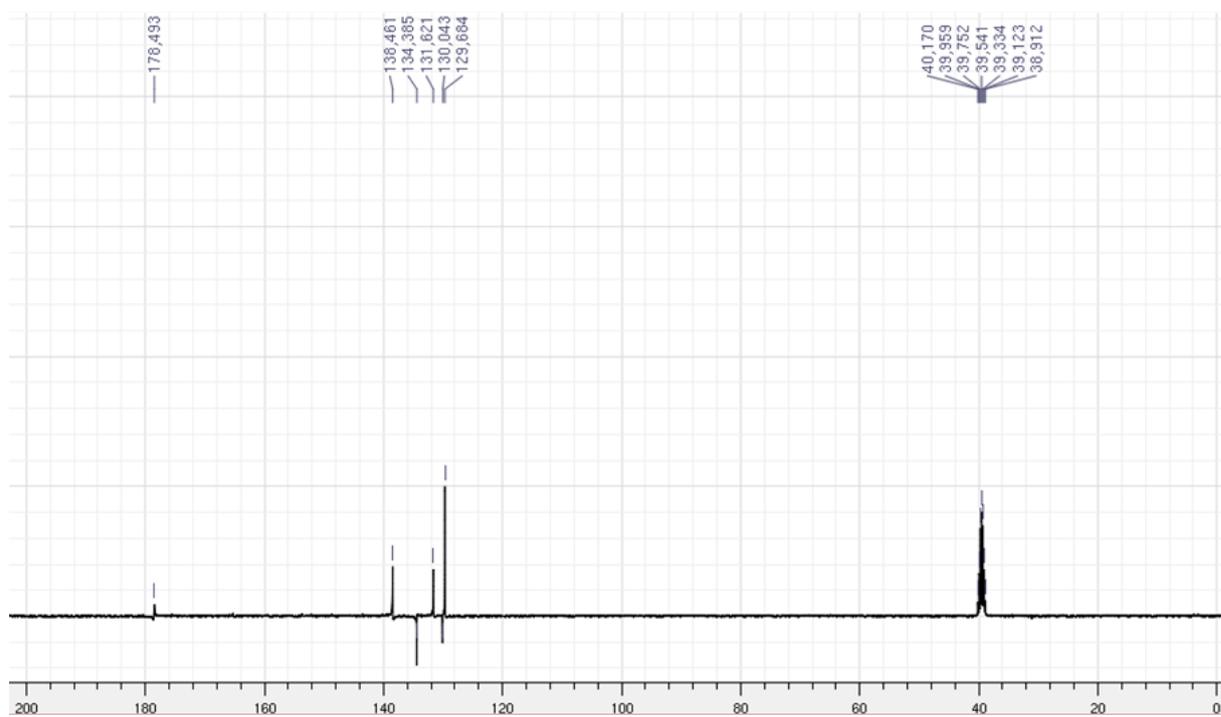
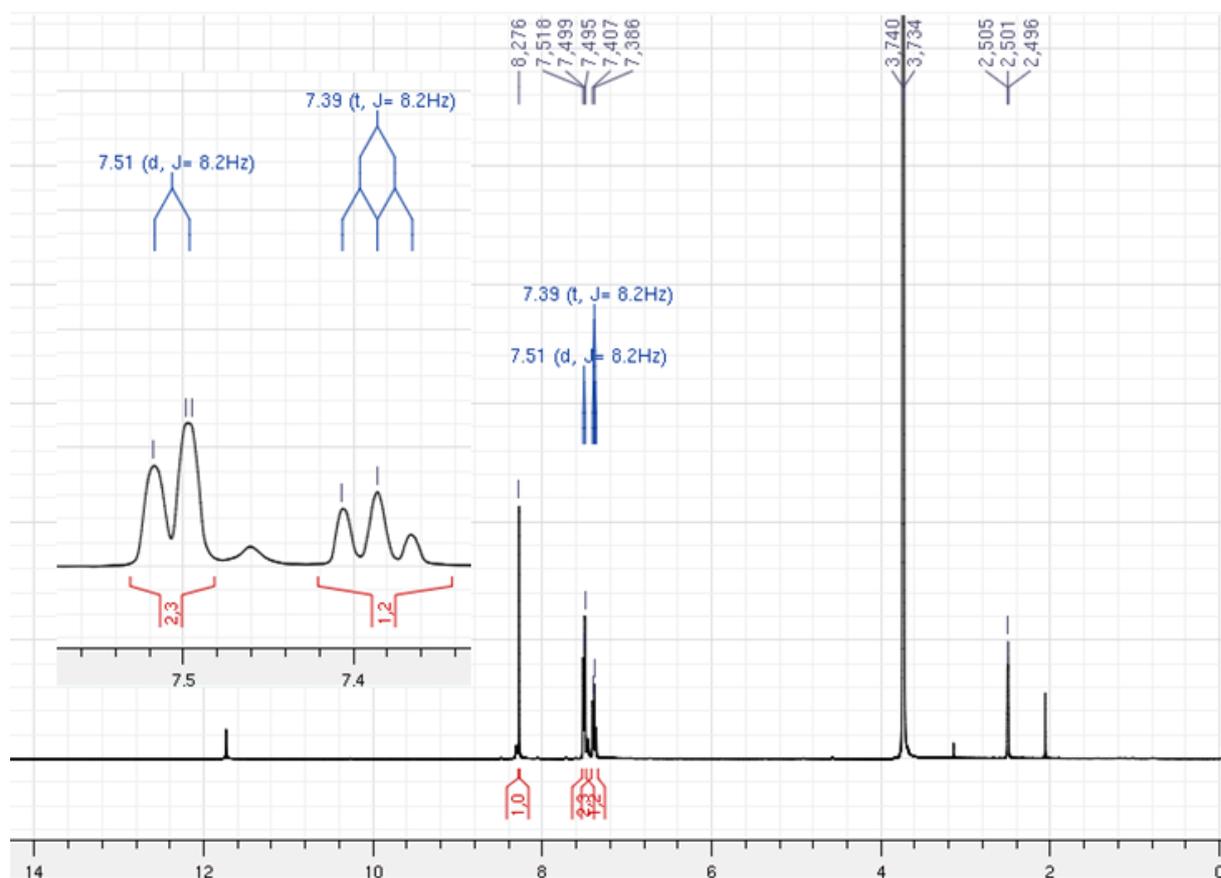
Anexo X Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 3a (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

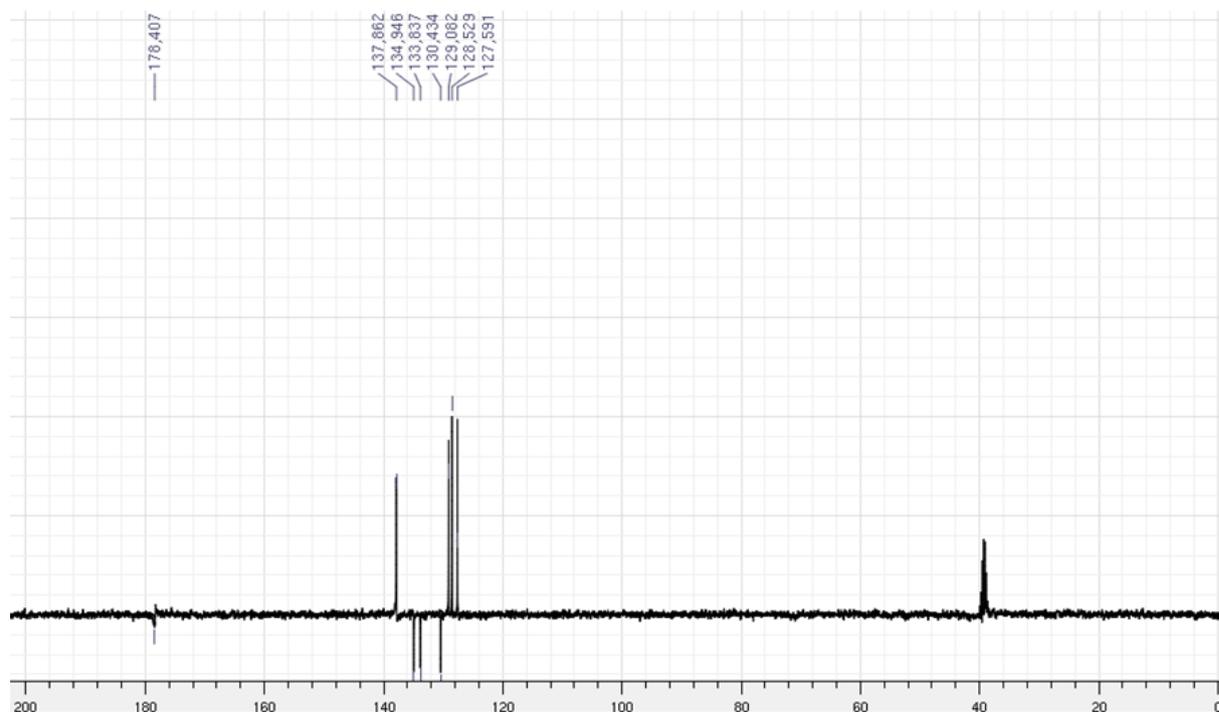
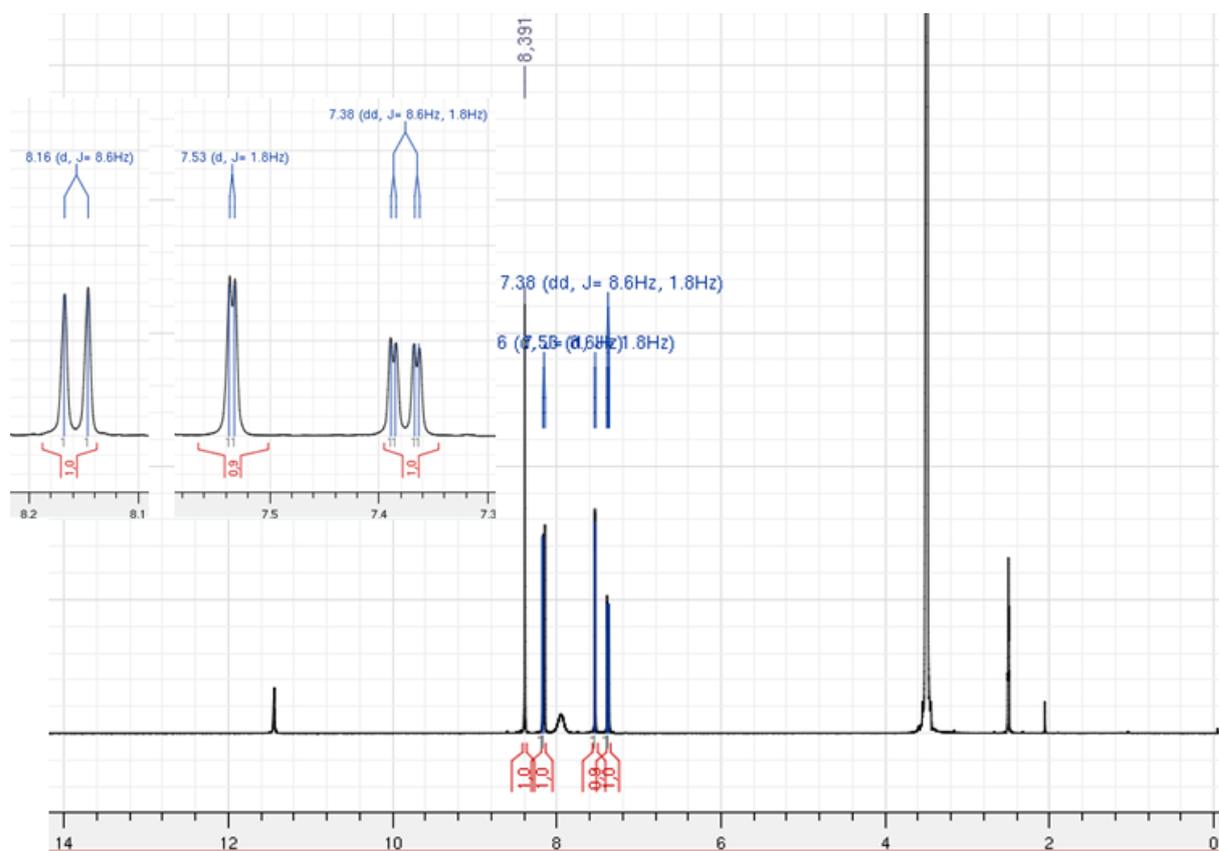
Anexo XI Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 3d (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

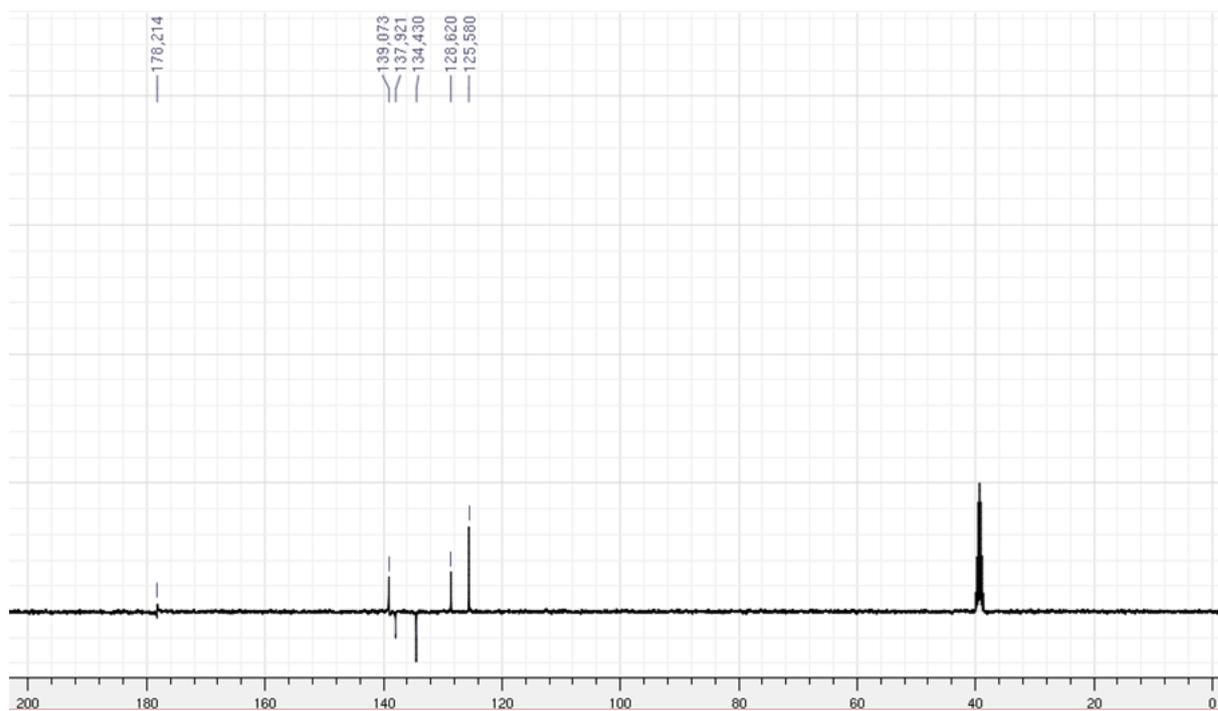
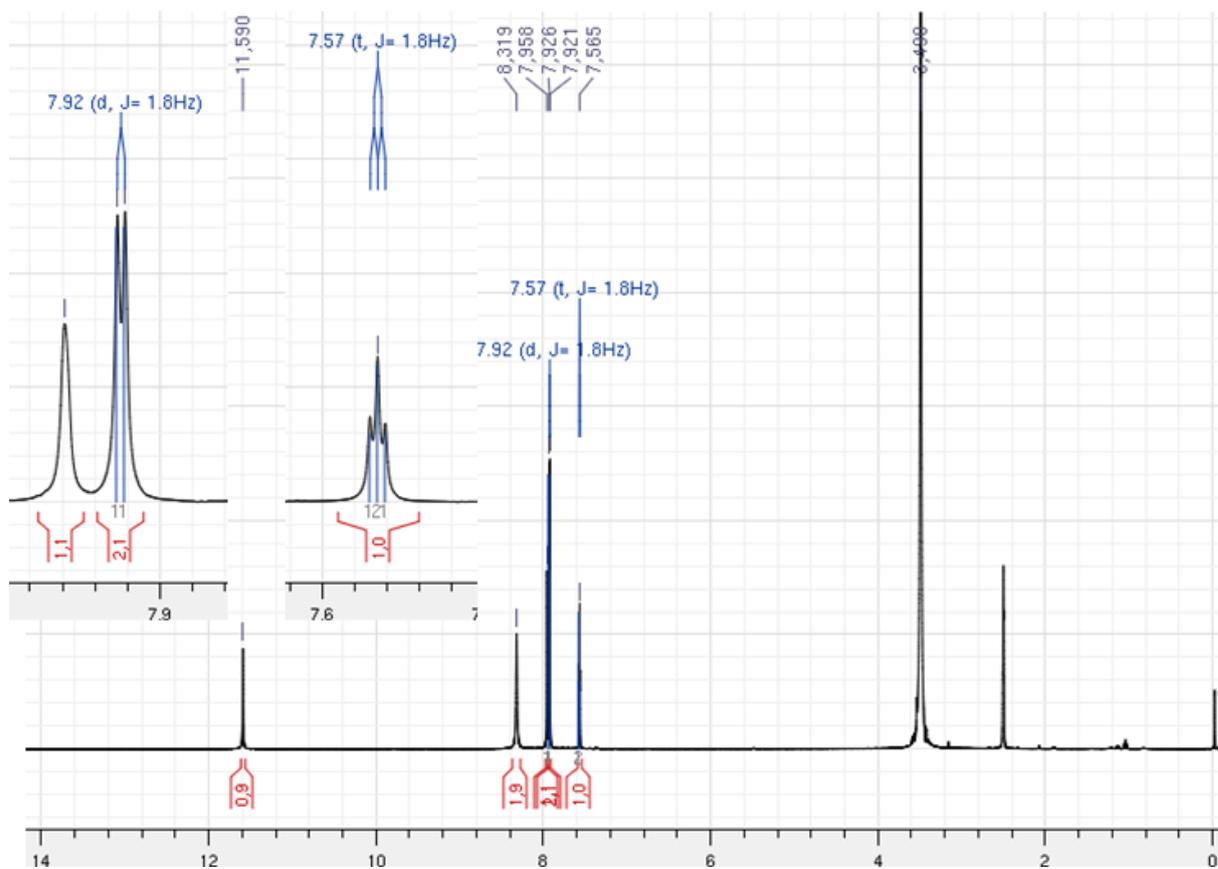
Anexo XII Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado 3g (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

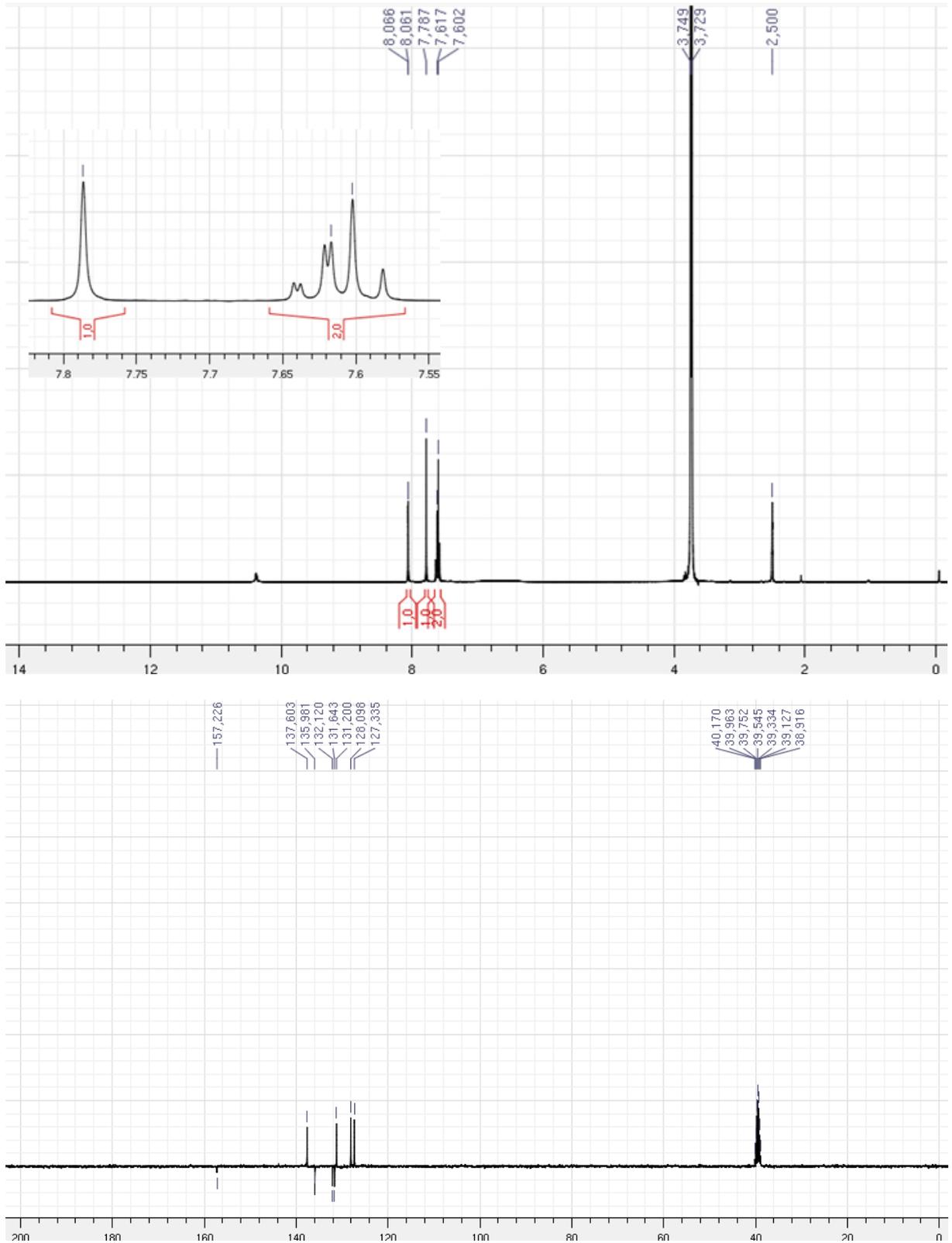


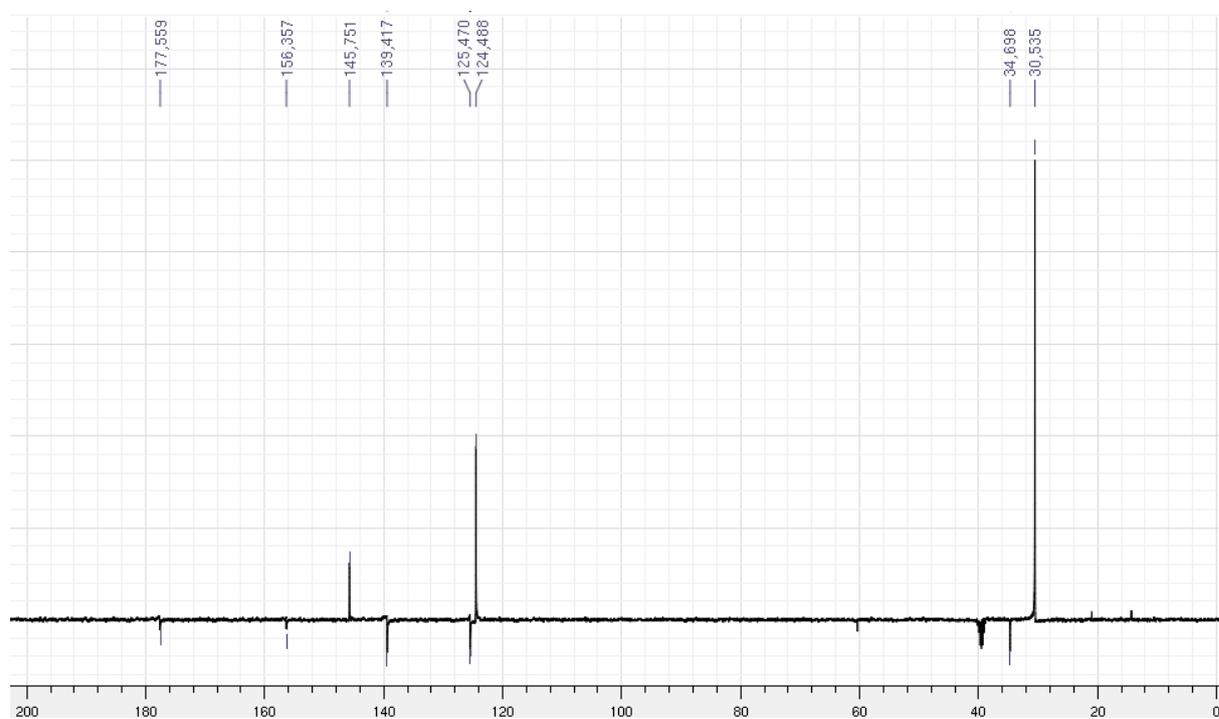
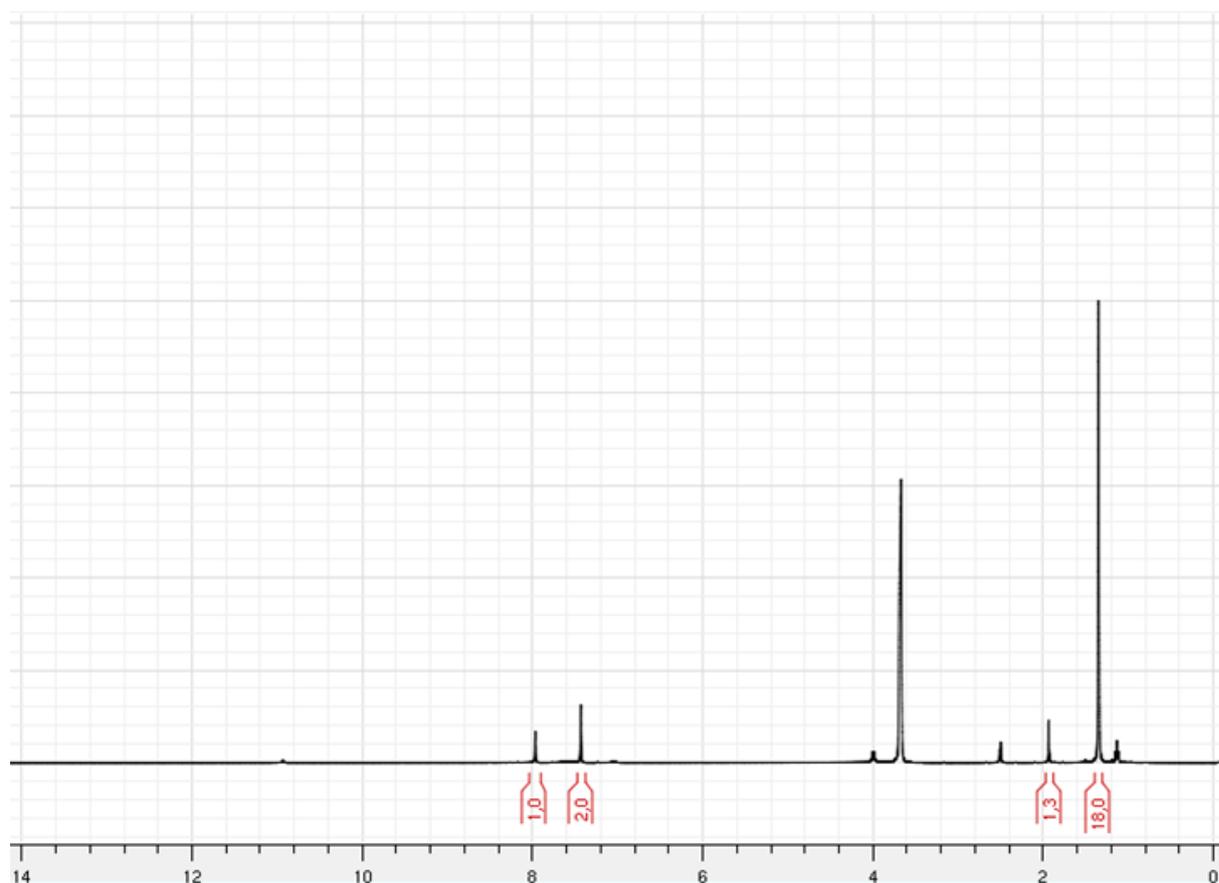


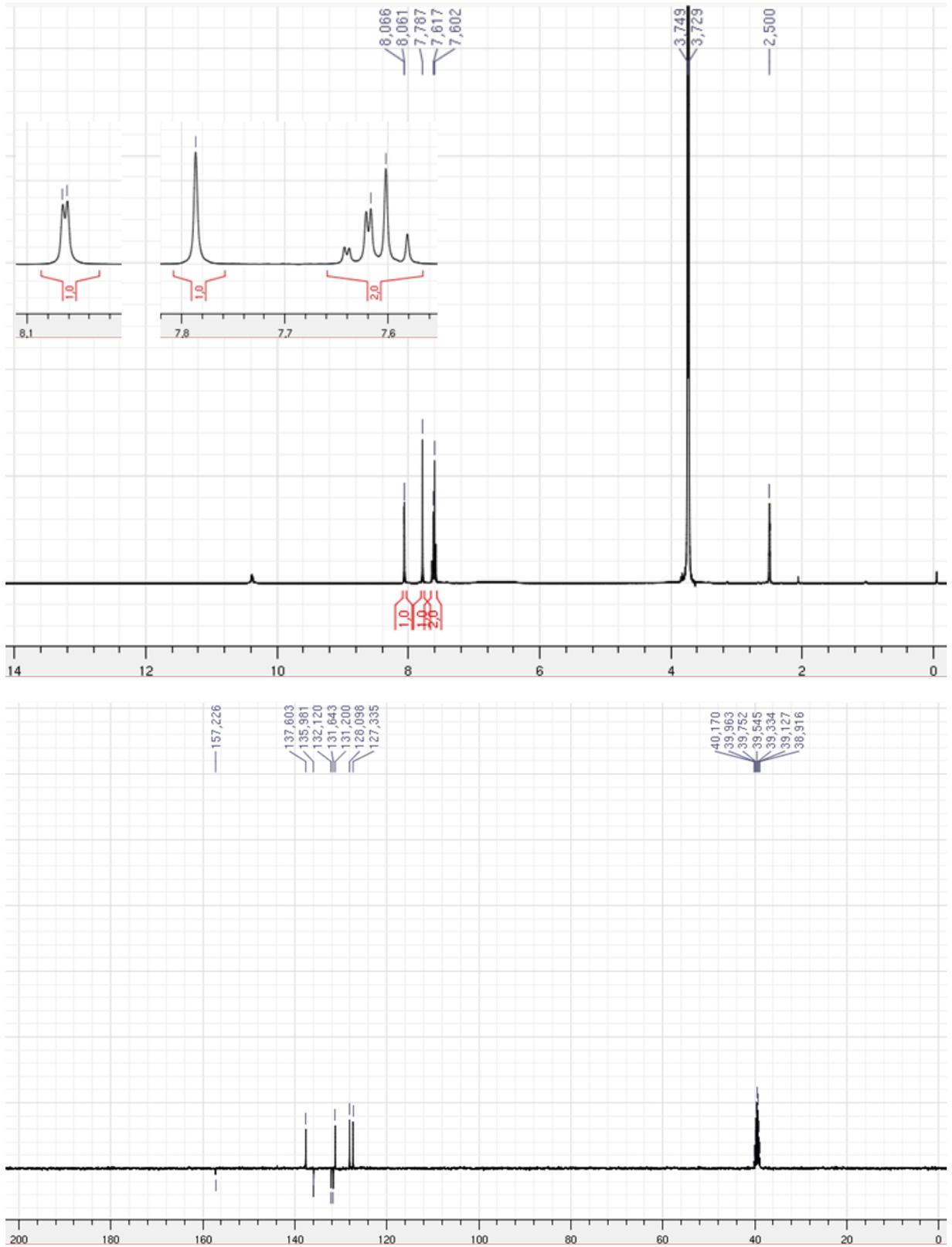
Anexo XIV Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 3m (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

Anexo XV Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 3n (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

Anexo XVI Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 3p (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

Anexo XVII Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 4g (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

Anexo XVIII Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 4i (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

Anexo XIX Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ para o derivado 4o (DMSO- $d_6$ ; 400 MHz)

## **CAPÍTULO II. SÍNTESE DOS COMPONENTES FEROMONAIS DE LEPIDÓPTEROS E COLEÓPTEROS DE INTERESSE ECONÔMICO**

### **1 INTRODUÇÃO**

O Brasil ocupa uma posição de destaque na produção agrícola mundial. Na safra referente a 2016/2017, o país foi o principal produtor e exportador de suco de laranja, além de café e açúcar. Adicionalmente, o país ocupa a 2ª posição na produção de oleaginosas, que inclui a soja, 3ª na produção de grãos, incluindo milho, e a 5ª posição na produção de algodão (USDA, 2018).

Apesar dessa posição privilegiada, o Produto Interno Bruto (PIB) do agronegócio brasileiro, calculado pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea), da Esalq/USP, em parceria com a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), registrou queda de 0,54% em dezembro. Em 2017 a baixa no PIB do agronegócio foi de 4,55% comparativamente ao ano anterior, e a participação do setor no PIB Brasileiro foi de 21,58%.

Dentre os fatores que contribuem para essa menor participação no PIB inclui-se o prejuízo econômico decorrente do ataque de insetos pragas em diversas culturas importantes. Além do aspecto econômico, as perdas ocasionadas pelas pragas têm induzido um crescente aumento no consumo de pesticidas no país, o que tem levantado preocupações pelos impactos em saúde e ambientais decorrentes dessa prática (PIGNATI et al., 2017).

A entrada e a disseminação de pragas exóticas têm se mostrado um problema para a agricultura brasileira nas últimas décadas, pois diversas espécies foram introduzidas no Brasil, comprometendo a produção em diversas culturas e causando grandes prejuízos aos agricultores ao longo dos anos. Estudos recentes apontam uma perda média anual de até 7,7% da produção agrícola brasileira, ou o equivalente a 25 milhões de toneladas, devido ao ataque de moscas, lagartas e outras doenças que atacam as plantas. As perdas do agronegócio brasileiro podem chegar a R\$ 55 bilhões ao ano (OLIVEIRA et al., 2014). As 8 principais culturas do país representam mais de 80% da área plantada total e consistem no cultivo de soja, milho, cana-de-açúcar, arroz, feijão, eucalipto, trigo e café. Entre as culturas com maior número de pragas se destacam citros, soja, arroz, milho e feijão (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009).

Para agravar esse quadro, aproximadamente 500 espécies de pragas quarentenárias ainda apresentam potencial para causar danos significativos às culturas brasileiras e 150 pragas quarentenárias já estão presentes em países sul-americanos próximos às fronteiras brasileiras (LOPES-DA-SILVA et al., 2014). Isso significa que, a qualquer momento, uma nova praga pode chegar ao país sem ser notada, devido à transmissão de plantas, animais, microorganismos e seus respectivos órgãos propagativos, bem como através do vento ou do homem, em um ambiente mais mundo mais globalizado (MARTIN NETO et al., 2016).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Ecologia química, manejo integrado de pragas e a problemática dos pesticidas

Apesar de serem utilizados como a principal medida de contenção contra o problema de insetos pragas, os pesticidas são atualmente um grande problema de saúde pública, considerando o tamanho da população exposta nas proximidades de áreas agrícolas e, em última instância, os consumidores de alimentos (RIGOTTO et al., 2014). Entre 2010 e 2017, segundo dados do Sistema de Informações sobre Condições Obrigatórias de Notificação na internet (SINAN NET), houve 13.030 casos confirmados de intoxicação por agrotóxicos agrícolas de pessoas não expostas no trabalho. Quando se considera a exposição no trabalho, o número aumenta para 20.314 casos confirmados.

Diante do impacto ambiental e social do uso de pesticidas, surge a ideologia do manejo integrado de pragas como uma forma de racionalizar o uso dessas substâncias. Por manejo integrado de pragas se entende a consideração cuidadosa de todas as técnicas de controle disponíveis e integração subsequente de medidas apropriadas que reduzem populações de pragas e minimizam os riscos à saúde humana e ao ambiente associados ao uso de pesticidas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

O conceito de feromônio designa moléculas biologicamente ativas secretadas por um organismo com o propósito de comunicação intraespecífica, sendo forjado por Karlson e Lüscher em 1959 na tentativa de diferenciar tais substâncias de hormônios, já que ambos são produzidos em geral por glândulas, mas os primeiros são liberados no meio externo ao organismo, enquanto que os segundos são secretados no sangue (KARLSON; LÜSCHER, 1959). O termo pode ser melhor compreendido dentro do contexto da ecologia química, já que faz parte da classe dos semioquímicos, substâncias individuais ou misturas dessas que transmitem uma mensagem com o propósito de comunicação entre organismos (MITCHELL, 1981) e podem influenciar os mais variados comportamentos em insetos, incluindo acasalamento, alimentação e oviposição (NORIN, 2007).

Uma vez que a interação entre organismos pode ocorrer dentro da mesma espécie ou entre espécies diferentes, duas grandes divisões de semioquímicos podem ser concebidas, a de aleloquímicos para comunicação interespecífica e a de feromônios para interações intraespecíficas (MCNEIL et al., 2012). Para o primeiro grupo, os aleloquímicos são ainda subdivididos a depender de qual organismo é favorecido pela resposta

desencadeada, se o emissor ou o receptor. Por instância, alomônios são semioquímicos cuja resposta favorece apenas o organismo emissor. Em contraste, cairomônios são aqueles que favorecem o organismo receptor, mas não ao emissor. Por fim, há ainda os sinomônios, cuja resposta é favorável a ambos organismos envolvidos na interação, tanto emissor quanto receptor (HARDEGE, 2009; SBARBATI; OSCULATI, 2006).

De forma análoga, os feromônios são classificados em duas categorias, feromônios liberadores e feromônios primários. Os feromônios liberadores têm efeito reversível imediato nos comportamentos dos organismos receptores, enquanto os feromônios primários causam impactos fisiológicos de longo prazo sobre o desenvolvimento dos organismos receptores (SHOREY, 1973). Os feromônios liberadores podem ser classificados como feromônios sexuais (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010), feromônios de agregação (WERTHEIM et al., 2005), feromônios de trilha (CZACZKES; GRÜTER; RATNIEKS, 2015), e feromônios de alarme (VERHEGGEN; HAUBRUGE; MESCHER, 2010), de acordo com o tipo de mudança comportamental. Um exemplo representativo dos feromônios primários é o feromônio mandibular da rainha em abelhas que previne o desenvolvimento dos ovários da progênie de abelhas fêmeas, tornando-as incapazes de copular (BORTOLOTTI; COSTA, 2014).

Visto que os feromônios podem alterar o comportamento de insetos, aqueles considerados como pragas estando incluídos, a produção sintética dessas substâncias constitui uma ferramenta adequada para o controle de pragas agrícolas (PINTO-ZEVALLOS; ZARBIN, 2013), sendo aplicados dentro de um contexto de manejo integrado de pragas para o monitoramento da densidade populacional dos insetos em culturas e na detecção de espécies invasoras (BAKER, 2008), além da redução de populações com base na estratégia de coleta massal (EL-SAYED et al., 2006), de atrai-e-mata (GREGG; DEL SOCORRO; LANDOLT, 2018), de atrair-repelir (COOK; KHAN; PICKETT, 2007), ou de confusão sexual (CARDE; MINKS, 1995), usando feromônios sexuais ou de agregação.

Atualmente, existem 2.245 insetos pragas cadastrados no AGROFIT, compêndio eletrônico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e, embora no Brasil a pesquisa na identificação, síntese e uso de feromônios tenha se intensificado fortemente nos últimos anos, a maior parte do controle dessas pragas ainda é exercida majoritariamente por meio de inseticidas, havendo 523 produtos dessa classe registrados para uso em diversas culturas, em contraste com 41 feromônios ou atraentes, os quais são mostrados na Tabela 1.

**Tabela 2.1** Informações sobre culturas e pragas aprovadas para uso dos feromônios e atraentes comercializados no Brasil.

Nome comum	Cultura	Praga
<b>1,4-Dimetoxibenzeno</b>	Várias	<i>Diabrotica speciosa</i>
<b>4,8-Dimetildecanal</b>	Grãos armazenados	<i>Tribolium castaneum</i>
<b>5,9-Dimetilpentadecano</b>	Café	<i>Leucoptera coffeella</i>
<b>Acetato de (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienila</b>	Tomate	<i>Tuta absoluta</i>
<b>Acetato de (E,Z,Z)-4,7,10-tridecatrienila</b>	Batata, berinjela, fumo, pimentão, tomate	<i>Phthorimaea operculella</i>
<b>Acetato de (E,Z)-3,5-dodecadienila</b>	Maçã	<i>Bonagota cranaodes</i>
<b>Acetato de (E,Z)-3,8-tetradecadienila</b>	Tomate	<i>Tuta absoluta</i>
<b>Acetato de (E,Z)-4,7-tridecadienila</b>	Batata, berinjela, fumo, pimentão, tomate	<i>Phthorimaea operculella</i>
<b>Acetato de (Z,E)-9,12-tetradecadienila</b>	Grãos armazenados	<i>Ephestia elutella</i>
<b>Acetato de (E,Z)-7,9-dodecadienila</b>	Uva	<i>Lobesia botrana</i>
<b>Acetato de (Z)-11-hexadecenila</b>	Brocólis, couve, repolho	<i>Plutella xilostella</i>
	Várias	<i>Spodoptera frugiperda</i>
<b>Acetato de (Z)-5-dodecenila</b>	Maçã	<i>Bonagota cranaodes</i>
<b>Acetato de (Z)-7-dodecenila</b>	Várias	<i>Spodoptera frugiperda</i> , <i>Pseudoplusia includens</i>
<b>Acetato de (Z)-9-dodecenila</b>	Algodão	<i>Spodoptera frugiperda</i>

Tabela 2.1 *Continuação*

<b>Acetato de (Z)-9-hexadecenila</b>	<b>Maçã</b>	<b><i>Bonagota cranaodes</i></b>
<b>Acetato de (Z)-9-tetradecenila</b>	Várias	<i>Spodoptera frugiperda</i>
<b>Acetato de (Z)-8-dodecenila</b>	Maçã, pêsego	<i>Grapholita molesta</i>
<b>Acetato de (E)-8-dodecenila</b>	Citros, maçã, pêsego	<i>Grapholita molesta</i> , <i>Ecdylopha aurantiana</i>
<b>Álcool laurílico</b>	Maçã, pêsego	<i>Grapholita molesta</i>
<b>Codlure</b>	Maçã e pera	<i>Cydia pomonella</i>
<b>Etanol</b>	Café	<i>Hypothenemus hampei</i>
<b>Eugenol metílico</b>	Fruticulturas	<i>Bactrocera carambolae</i>
<b>(E)-11-hexadecenol</b>	Berinjela, pimentão, tomate	<i>Neoleucinodes elegantalis</i>
<b>(E)-8-dodecenol</b>	Citros	<i>Ecdylopha aurantiana</i>
<b>Gossiplure</b>	Algodão	<i>Pectinophora gossypiella</i>
<b>Grandlure (I, II, III e IV)</b>	Algodão	<i>Anthonomus grandis</i>
<b>Metanol</b>	Café	<i>Hypothenemus hampei</i>
<b>N-2'S-Metilbutil-2-metilbutilamida</b>	Cana-de-açúcar	<i>Migdolus fryanus</i>
<b>Rincoforol</b>	Coco, dendê	<i>Rhynchophorus palmarum</i>
<b>Serricornim</b>	Fumo	<i>Lasioderma serricorne</i>
<b>Sordidim</b>	Banana	<i>Cosmopolites sordidus</i>
<b>Trimedlure</b>	Citros	<i>Ceratitis capitata</i>

Tabela 2.1 *Continuação*

<b>(Z)- 11- Hexadecenal</b>	Várias	<i>Spodoptera frugiperda</i> , <i>Heliothis viresces</i> , <i>Spodoptera frugiperda</i> , <i>Cryptoblabes gnidiella</i> , <i>Helicoverpa armigera</i>
<b>(Z,Z,Z)-3,6,9-Tricosatrieno</b>	Berinjela, pimentão, tomate	<i>Neoleucinodes elegantalis</i>
<b>(Z)-8-Dodecenol</b>	Maçã, pêssego	<i>Grapholita molesta</i>
<b>(Z)-9-Hexadecenal</b>	Várias	<i>Heliothis viresces</i> , <i>Helicoverpa armigera</i>
<b>(Z)-7-Hexadecenal</b>	Várias	<i>Helicoverpa armigera</i> , <i>Helicoverpa zea</i> e <i>Heliothis virescens</i>
<b>(E)-11-Hexadecenal</b>	Berinjela, pimentão, tomate	<i>Neoleucinodes elegantalis</i>

Mais preocupante é a aprovação do Projeto de Lei (PL) nº 6.299 de 2002 em Comissão Especial da Câmara dos Deputados do Brasil, no dia 25 de junho de 2018, cujas alterações promovem centralização do processo de aprovação do registro de agrotóxicos sobre o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em contraste com o estabelecido pela Lei nº 7.802/89 em vigor, que estabelece a articulação conjunta entre o MAPA, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) nesse quesito. Em um panorama global em que há cada vez maior pressão e evidência científica para a redução do uso de pesticidas (HUMAN RIGHTS COUNCIL, 2017; LECHENET et al., 2017), com o manejo integrado de pragas e a agroecologia sendo disseminados como estratégias para o controle de pragas e doenças, a aprovação da nova lei tende a ir contra essa tendência, facilitando ainda mais o uso desses produtos.

Diante desse panorama, este trabalho visa a contribuir para o manejo integrado de três pragas de importância econômica no país, a saber *Anthistarcha binocularis*, *Hyponomeuta taltula* e *Rhynchophorus palmarum* que afetam respectivamente as culturas do caju, da cana-de-açúcar e do coco.

## 2.2 Química de feromônios de lepidópteros e coleópteros

Os lepidópteros compreendem as mariposas e borboletas, sendo a segunda maior ordem em termos de espécies após a ordem Coleoptera, além de ser também aquela com maior quantidade de investigação sobre a biossíntese e o mecanismo de comunicação de feromônios sexuais, levando à identificação dos componentes feromonais de mais de 600 espécies da ordem (LÖFSTEDT; WAHLBERG; MILLAR, 2016). Feromônios sexuais de lepidópteros são secretados geralmente pelas fêmeas adultas, mas em alguns casos os machos podem secretar um feromônio sexual de curto alcance (SCHULZ, 2004a).

Devido ao papel no isolamento reprodutivo, o que é compatível com a função intraespecífica dessas moléculas, as estruturas de feromônios de lepidópteros apresentam grande variabilidade estrutural (SCHULZ, 2004a). Embora estruturalmente diversos, não é incomum verificar semelhanças em suas estruturas, devido a um ancestral em comum ou como resultado de um processo evolucionário convergente (LÖFSTEDT; WAHLBERG; MILLAR, 2016). Atualmente, a classificação atual das estruturas de feromônios está centrada em uma perspectiva biossintética dessas moléculas, ao invés da estrutura em si, apesar dessa segunda característica ser uma implicação da primeira. Inicialmente, a divisão dos feromônios de lepidópteros foi feita em estruturas de tipo I ou tipo II, estando a maioria dos compostos atualmente conhecidos enquadrados no primeiro grupo (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2004).

Os feromônios do tipo I compreendem álcoois, aldeídos e acetatos mono ou di-insaturados, com 10 a 18 átomos de carbono, e são sintetizados *de novo* a partir de ácidos graxos nas glândula feromonais (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2004). Várias enzimas envolvidas na produção de ácidos graxos saturados, como o esteárico e o palmítico, são consideradas como o ponto de partida na biossíntese de feromônios, de modo que as insaturações são introduzidas por meio de várias dessaturases, enquanto que as funcionalidades são inseridas através da ação de outras tantas oxidases, redutases e acetiltransferases (JURENKA, 2004).

Por outro lado, os feromônios do tipo II englobam hidrocarbonetos poli-insaturados e seus respectivos epóxidos, tipicamente com 17 a 25 átomos de carbono em uma cadeia não ramificada (LÖFSTEDT et al., 2012). Ao invés de serem biossintetizados *de novo* como os feromônios do tipo I, as estruturas do tipo II são produzidas a partir de componentes dietários, particularmente dos ácidos linoleico e linolênico, com modificações posteriores a partir de descarboxilases e dessaturases, além de outras enzimas que atuam no alongamento ou encurtamento da cadeia e na epoxidação das insaturações (STANLEY-SAMUELSON et al., 1988). Outro aspecto crucial é que os hidrocarbonetos de tais moléculas não são produzidos nas glândulas feromonais, mas sim em células denominadas enócitos e são posteriormente transportados por meio da hemolinfa para a glândula feromonal, na qual podem sofrer modificações adicionais e de onde são liberados (MATSUOKA et al., 2006).

Löfstedt e colaboradores (2016) recentemente propuseram mais duas categorias de feromônios com base no aspecto biossintético, a saber, tipo III e tipo 0. Visto que os dois primeiros grupos citados anteriormente apresentam moléculas derivadas de ácidos graxos de cadeias lineares, o tipo III compreende estruturas contendo uma ou mais ramificações metílicas (LÖFSTEDT; WAHLBERG; MILLAR, 2016). Em adição, os feromônios tipo III são sintetizados *de novo* nos enócitos (SCHAL; SEVALA; CARDÉ, 1998). No que concerne à biossíntese, há evidências que suportam o fato de que a produção de estruturas com ramificação metílica na posição 2 da cadeia têm origem biossintética em aminoácidos ramificados, como leucina (CHARLTON; ROELOFS, 1991) e valina (JURENKA; SUBCHEV, 2000). Contudo, quando a ramificação se encontra em uma posição diferente, acredita-se que a via de biossíntese de ácidos graxos esteja envolvida, de modo que as ramificações são resultantes do emprego de metilmalonil-CoA ao invés de malonil-CoA (BLOMQUIST et al., 2010).

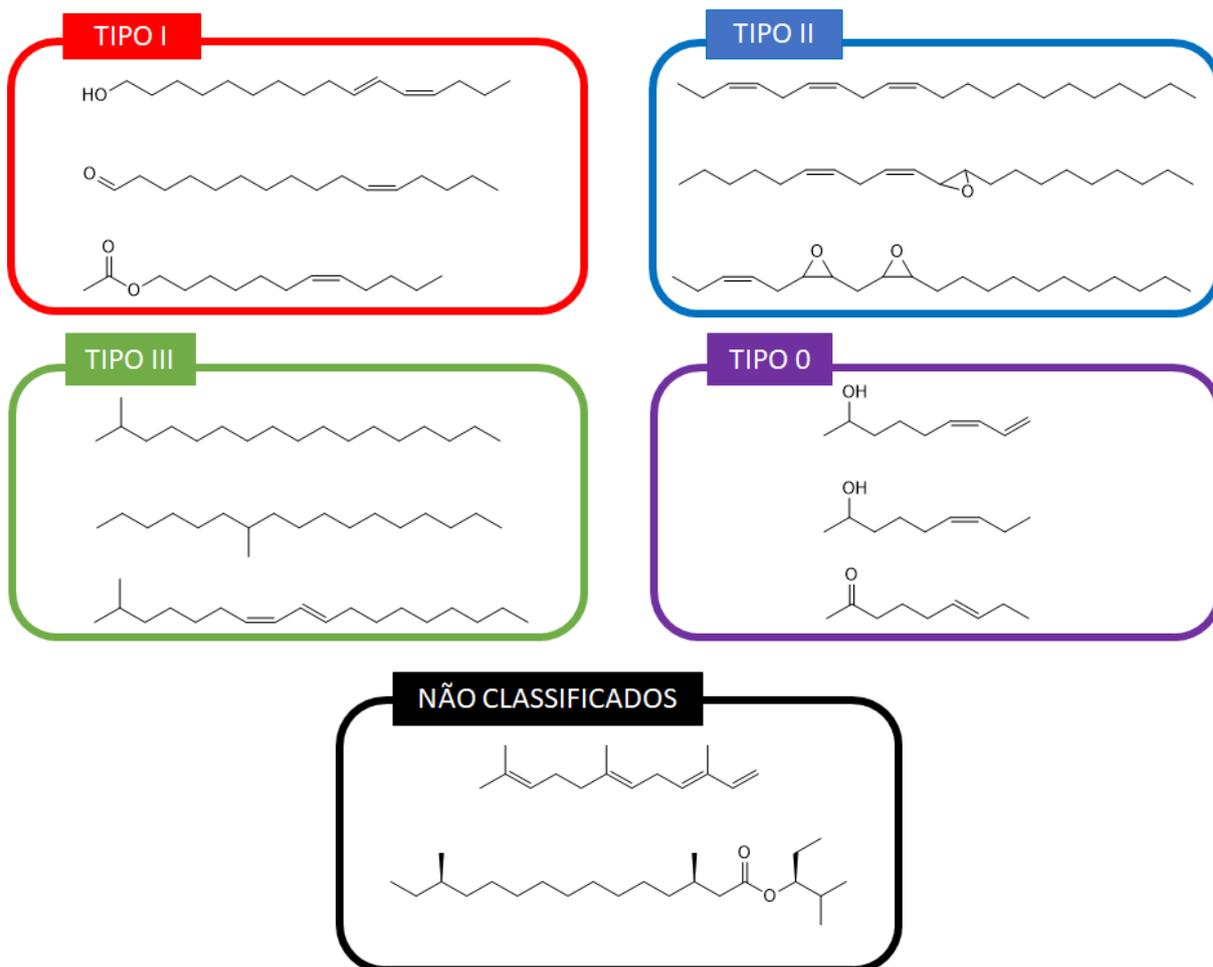
Os feromônios tipo 0 consistem em álcoois secundários e cetonas com 7 a 9 átomos de carbono, que são produzidos e armazenados nas glândulas do sternum V em lepidópteros primitivos da família Eriocraniidae e em tricópteros (LÖFSTEDT; WAHLBERG; MILLAR, 2016). Embora a origem biossintética desses componentes não esteja clara, evidências apontam a ausência de uma dessaturase de cadeia curta e indicam precursores insaturados de cadeia longa (SONG et al., 2014).

Por fim, alguns feromônios não estão relacionados a nenhum dos padrões estruturais citados anteriormente, incluindo, de forma representativa, ésteres de propionato de álcoois secundários da espécie *Barsine expressa*, da tribo Lithosiinae da família Arctiidae (FUJII et al., 2013) e cetonas insaturadas em *Orgyia* spp. na subfamília Lymantriinae (GRANT et al., 2003; GRIES et al., 1997, 1999; SMITH; DATERMAN; DAVES, 1975). Ainda, algumas espécies utilizam como feromônios compostos de origem biossintética terpenoide, como no caso do (*E3,E6*)- $\alpha$ -farneseno na espécie *Hemithea tritonaria* da família Geometridae (YAMAKAWA et al., 2011). Com finalidade ilustrativa, alguns exemplos de feromônios com diferentes categorias estruturais foram agrupados na Figura 2.1.

Os coleópteros compreendem a ordem de insetos com maior número de espécies atualmente conhecidas, com mais de 350.000 representantes catalogados nos mais variados habitats (SCHULZ, 2004b). A diversidade biológica desses organismos é espelhada na diversidade estrutural dos feromônios de agregação e sexuais produzidos por esses insetos, que englobam desde estruturas acíclicas ramificadas e funcionalizadas, até compostos cíclicos de lactonas, macrolídeos e heterociclos de oxigênio que são provenientes do metabolismo de ácidos graxos ou terpenoides (BLOMQUIST; VOGT, 2003).

De forma similar à biossíntese de lepidópteros, a rota de produção de ácidos graxos está envolvida na geração de vários feromônios de coleópteros. A sequência característica de reações que envolvem o alongamento ou encurtamento desses derivados de unidades de acetato ativadas resultam em compostos não ramificados de cadeia longa. Contudo, durante a formação de cadeias, a retenção de ligações duplas e grupos funcionais contendo oxigênio, ou a introdução de grupos funcionais no curso de reações secundárias podem formar moléculas complexas, incluindo estruturas cíclicas e bicíclicas. Ainda, a substituição das unidades de acetato por propanoato ou metilmalonato durante a construção da cadeia gera produtos com ramificações metílicas (FRANCKE; DETTNER, 2004).

Figura 2.1 Classes de feromônios de acordo com os padrões bioquímicos e estruturais.



Estudos mostram que componentes feromonais em coleópteros são produzidos por biossíntese *de novo* ou através da modificação de monoterpênos, como nerol e geraniol, obtidos a partir da dieta (VANDERWEL; OEHLISCHLAGER, 1987). Além disso, o local que a biossíntese ocorre é altamente variável e dependente da família em questão. Contudo, há predominância das glândulas abdominais como sítio de produção feromonal, com poucas exceções documentadas. Por exemplo, em algumas espécies de *Scotyliidae*, a produção e armazenamento dos componentes feromonais ocorre em glândulas localizadas nos palpos vaginais, enquanto que em *Triboleum castaneum*, incluído na família *Tenebrionidae*, a biossíntese ocorre no fêmur protorácico (TILLMAN et al., 1999).

### 2.2.1 A cultura do cajueiro e a *Anthistarcha binocularis*

A terceira estimativa de 2018 para a safra nacional de cereais, leguminosas e oleaginosas da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) prevê uma produção de 133,2 mil toneladas de castanha-de-caju. Apesar de não figurar entre as principais culturas do

país, a cajucultura no Brasil está concentrada no Nordeste e possui elevada importância socioeconômica para a Região, principalmente para o semiárido por gerar postos de trabalho e renda na época mais seca do ano. As agroindústrias beneficiadoras de castanha também são importantes geradoras de empregos diretos e indiretos (VIDAL, 2017).

Além dos problemas estruturais da cadeia produtiva e da forte estiagem pela qual tem passado o Nordeste desde 2012, várias pragas provocam perdas às culturas já fragilizadas. Entre elas, as lagartas de *Anthistarcha binocularis* provocam murcha e secamento dos ramos e inflorescências, impedindo a emissão de novas folhas e flores e causando grandes prejuízos na produção (TEIXEIRA et al., 1991). Do ponto de vista econômico, o ataque da *A. binocularis* gera maior prejuízo quando ocorre na época de floração e frutificação, pois nesse período tem efeito direto sobre a produção dos frutos e da castanha (MELO et al., 1992).

A mariposa *A. binocularis* está inserida na família Gelechiidae, que contém atualmente mais de 4.500 espécies, muitas das quais causam injúrias a culturas importantes por todo o mundo devido às altas densidades populacionais. No Brasil, as espécies de importância econômica incluem *Anticarsia gemmatalis* (soja, amendoim, ervilha, feijão-vagem, feijão), *Pectinophora gossypiella* (algodão), *Stegasta bosquella* (amendoim), *Sitotroga cerealella* (arroz, milho, cevada, centeio, trigo e sorgo armazenados), *Bonagota cranaodes* (maçã), *Phthorimaea operculella* (batata, berinjela, pimentão, tomate), *Anacampsis phytomiella* (caju) e *Tuta absoluta* (tomate) (MAPA, 2018).

Vários feromônios são conhecidos dentro da família Gelechiidae. Majoritariamente, esses componentes consistem em estruturas do tipo I, sendo, álcoois, acetatos e aldeídos derivados dos ácidos palmítico e esteárico a partir dos processos estabelecidos em parágrafos anteriores. Contudo, Löfstedt (2016) aponta para o fato da existência de componentes feromoniais incomuns, como no caso de E4,Z7-13Ac e E4,Z7,Z10-13Ac na traça-da-batatinha, *Phthorimaea operculella*, além de E3,Z8,Z11-14Ac e E3,Z8-14Ac na traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta*. Apesar das funcionalidades químicas peculiares para feromônios do tipo I, as cadeias contendo números ímpares de átomos de carbono, bem como as posições e a configuração *E* das ligações duplas não tem precedentes nessas vias biossintéticas, podendo ser derivados do ácido linolênico ou linoleico.

### 2.2.2 A cultura da cana de açúcar e a *Hyponeuma taltula*

Atualmente o Brasil é o maior produtor e exportador de açúcar, fruto de uma indústria canavieira consolidada e da grande área cultivada no país (CNA, 2018). O Brasil produziu 633,26 milhões de toneladas cana-de-açúcar na safra 2017/2018, de modo que a maior porção dessa produção está concentrada na região Sudeste, com 417,47 milhões de toneladas, em contraste com os 41,14 milhões de toneladas da região Nordeste, conforme (CONAB, 2018). A quantidade total de sacarose gerada a partir da moagem da cana é empregada na produção de açúcar e de etanol, o que resultou respectivamente na produção de 37,87 milhões de toneladas e 27,76 bilhões de litros nesse mesmo período. O valor estimado da cadeia do agronegócio de cana para o PIB de 2017 foi de 156 bilhões de reais, o que correspondeu a aproximadamente 0,36% do PIB do Brasil em 2017 (CEPEA; CNA, 2017; IBGE, 2018).

O último levantamento sobre o impacto econômico de pragas revelou que ocorre uma perda superior a 4,5 milhões de dólares em virtudes de danos diretos de pragas da cana-de-açúcar, além de resultar em consumo de pesticidas que implica em um gasto de aproximadamente 262 mil dólares (OLIVEIRA et al., 2014). Dentre as pragas de importância para o cultivo cana, destacam-se *Diatraea flavipennella*, *Diatraea saccharalis*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Hyponeuma taltula*, *Mahanarva fimbriolata*, *Mahanarva posticata*, *Metamasius hemipterus*, *Migdolus fryanus*, *Sphenophorus levis* e *Telchin licus* (GARCIA, 2013).

A *Hyponeuma taltula* é uma praga amplamente distribuída em todas as regiões brasileiras onde a cultura da cana é prevalente (ZENKER et al., 2007). Algumas preocupações crescentes sobre a *H. taltula* surgiram nos últimos anos devido ao recente aumento na importância das perdas econômicas provocadas por pragas do solo em geral. Como as questões ambientais levaram à adoção de procedimentos mecânicos de colheita e à eliminação gradual da queima da palha da cana-de-açúcar, conforme a Lei 11.241/2002, a permanência da palha sobre o solo resulta em aumento da umidade local e favorece a proliferação de pragas de solo, como a *H. taltula* (Gallo et al. 2002).

Os últimos avanços na filogenia de lepidópteros permitiram o enquadramento de várias espécies que produzem feromônios do tipo II dentro da família Erebiidae, em que a *H. taltula* está inserida (ZAHIRI et al., 2010, 2012). Em uma investigação acerca da ecologia química dessa espécie, foi comprovado que um feromônio produzido pelas fêmeas é responsável por mediar seu comportamento sexual, de modo que algumas moléculas presentes nos extratos das glândulas sexuais foram identificados com base em espectrometria de massas

e propostos como candidatos, incluindo Z3,Z6,Z9-21:H e Z3,Z6,epo9-21:H, estruturas típicas de feromônios tipo II (TRIANA, 2015)

Löfstedt (2016) reconhece que as subfamílias Catocalinae, Calpinae e Hypheninae de Erebidae formam um clado com componentes representantes de feromônios dos tipos II e III, enquanto as outras três subfamílias de que se dispõe de informações sobre feromônios, Herminiinae, Lymantriinae e Arctiinae, formam um grupo irmão com apenas estruturas do tipo II e outras ainda não classificadas.

### 2.2.3 A cultura do coqueiro e o *Rhynchophorus palmarum*

Apesar de não ser proeminente dentro do cenário nacional, a produção do coco tem alta relevância nas regiões Nordeste e Norte do Brasil. Em 2016, foram mais de 234 mil hectares plantados e uma produção de maior que 1,7 milhão de toneladas (IBGE, 2016).

Em *Cocos nucifera*, destaca-se o *Rhynchophorus palmarum* como uma das principais pragas dessa espécie. O dano devastador causado pelo coleóptero resulta do ataque direto ao vegetal e da transmissão do nematódeo responsável pela doença do anel vermelho, *Bursaphelenchus cocophilus* (OEHLSCHLAGER et al., 1993).

O *R. palmarum* pertence à família Curculionidae, que compreende os besouros conhecidos como gorgulhos. A maior parte dos feromônios encontrados em representantes dessa família consistem em feromônios de agregação de longo alcance produzidos por machos. Algumas características estruturais são peculiares a algumas subfamílias. Por exemplo, componentes feromonais com padrões de monoterpênicos cíclicos são encontrados em Curculioninae, Cryptorhynchinae e Pissodinae. Por outro lado, álcoois secundários com ramificações metílicas são comuns em Rhynchophorinae (BLOMQUIST; VOGT, 2003).

A subfamília Rhynchophorinae tem grande relevância em ecologia química já que várias pragas afetam culturas de importância econômica, como cana-de-açúcar (*Metamasius hemipterus*) (RAMIREZ-LUCAS et al., 1996), além de palmas de coco e de óleo (*R. palmarum* e *Rhynchophorus ferrugineus*) (BOARI et al., 2016; SOROKER; COLAZZA, 2017).

Em *Rhynchophorus* spp., vários álcoois secundários com ramificações metílicas foram identificados como feromônios de agregação produzidos por machos. O feromônio de agregação de *R. palmarum*, (2E,4S)-6-metil-2-hepten-4-ol, denominado comumente de

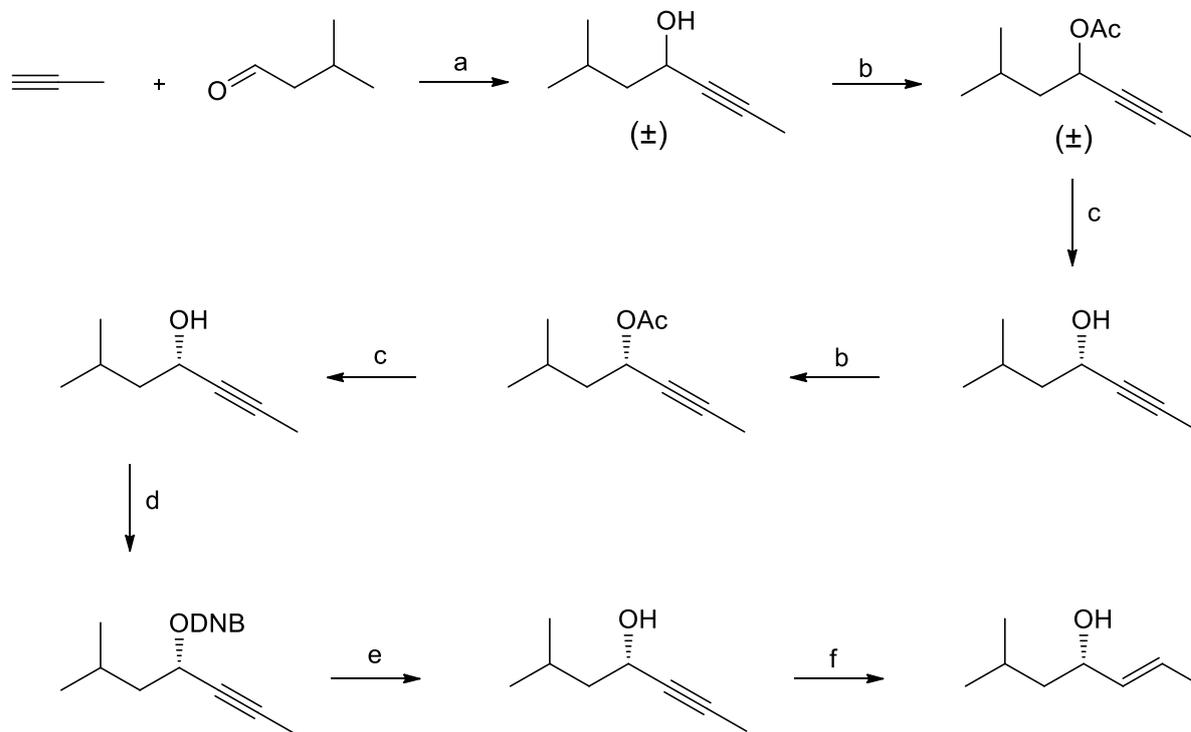
rincoforol, foi descrito em 1991 e desde então tem sido empregado na coleta massal e no monitoramento da praga (ROCHAT et al., 1991). De forma análoga, o álcool (4*S*,5*S*)-4-metil-5-nonanol foi identificado em *R. ferrugineus*, assim como em *M. hemipterus* (HALLETT et al., 1993; RAMIREZ-LUCAS; ROCHAT; ZAGATTI, 1996). Adicionalmente, (4*S*,5*S*)-5-metil-4-octanol foi identificado como feromônio de *Rhynchophorus cruentatus* (WEISSLING; PEREZ; OEHLSCHLAGER, 1994), enquanto seu isômero, (3*S*,4*S*)-3-metil-4-octanol, foi reportado em *Rhynchophorus phoenicis* (GRIES et al., 1993).

Diferentemente de lepidópteros, os coleópteros geralmente não são sensíveis à presença de estereoisômeros não naturais de seus feromônios, uma vez que as misturas racêmicas mostraram-se ativas. A consequência dessa observação é a facilidade de seu uso no manejo integrado de pragas em larga escala, já que uma metodologia de síntese enantiosseletiva não precisa ser utilizada para a obtenção de uma mistura feromonal funcionalmente aplicável no campo, além de reduzir o custo e a complexidade de produção (FRANCKE; DETTNER, 2004).

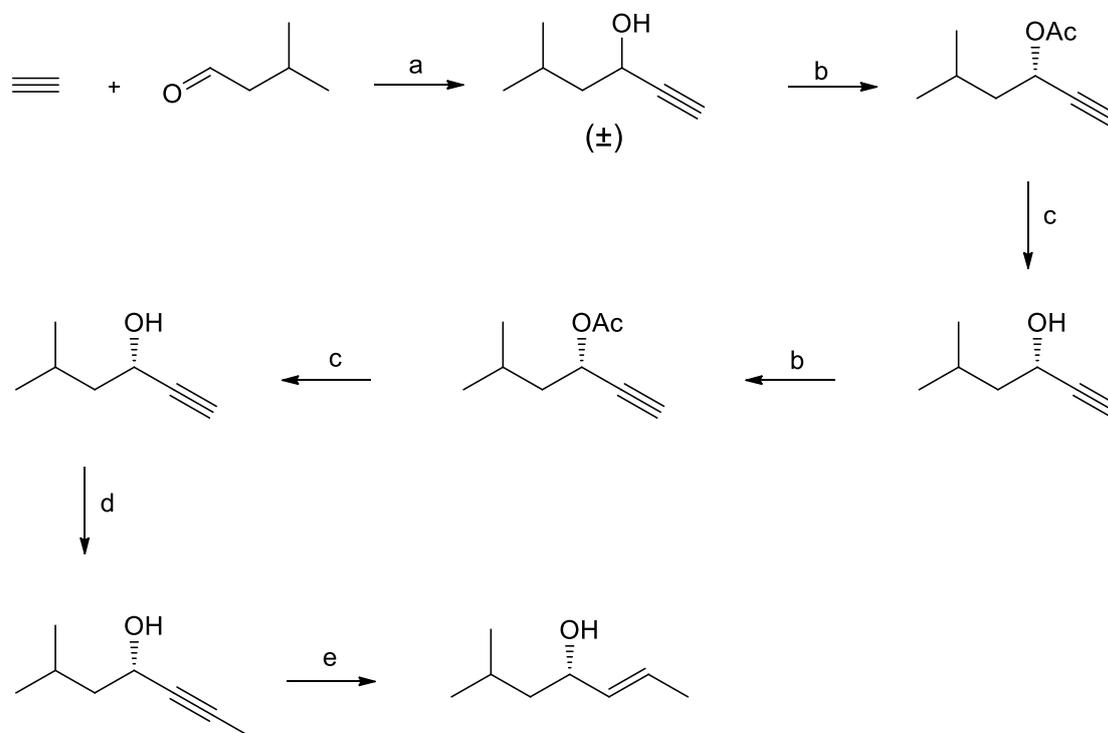
Apesar do longo intervalo desde sua descoberta, apenas algumas poucas metodologias sintéticas foram aplicadas na elaboração do rincoforol. O primeiro relato foi da utilização de uma síntese quimioenzimática utilizando propino e 3-metilbutanal como produtos de partida em um procedimento que envolvia sete etapas (Esquema 2.1) (MORI; ISHIGAMI, 1992). A resolução enzimática em duas etapas é o processo chave para o enriquecimento enantiomérico, com rendimento global de 6,6% com base no carbinol racêmico e 98% de excesso enantiomérico (e.e.).

Em síntese posterior, um procedimento quimioenzimático também foi empregado para a obtenção do rincoforol. A estratégia difere levemente daquela empregada por Mori e colaboradores (1992) pelo uso de uma enzima diferente. Além disso, o método tem origem no acetileno ao invés do propino, de modo que uma reação de alquilação é realizada em uma etapa adiante para a construção da extremidade alílica da molécula. O rendimento global foi de 12,3% com excesso enantiomérico superior a 99% (MARQUES et al., 2008).

**Esquema 2.1 Síntese quimioenzimática do rincoforol conforme Mori et al. (1992) e Marques et al (2008).**



(a)  $n\text{-BuLi}$ , THF; (b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ; (c) Lipase A (Amano), pH 7,5, tampão fosfato, 20% de metanol aquoso; (d) DNBCl, DMAP,  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ; (e)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH/DCM; (f)  $\text{LiAlH}_4$ , THF.



(a)  $n\text{-BuLi}$ ,  $0^\circ\text{C}$ , THF; (b) Novozima 435, acetato de vinila, hexano; (c)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , metanol aquoso; (d)  $n\text{-BuLi}$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , TMEDA,  $\text{Et}_2\text{O}$ , e então  $\text{CH}_3\text{I}$ ; (e)  $\text{LiAlH}_4$ , THF.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Sintetizar os componentes feromonais das pragas de interesse econômico *Anthistarcha binocularis*, *Hyponeuma taltula* e *Rhynchophorus palmarum*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar ambos os diastereoisômeros do 6-dodecen-1-ol e seus derivados acetatos;
- Sintetizar uma mistura contendo o (Z,Z,Z)-3,6,9-henicosatrieno e seus derivados monoepóxidos;
- Avaliar uma metodologia para síntese enantiosseletiva do rincoforol;
- Comparar os dados espectrométricos e cromatográficos dos compostos sintetizados com os dos compostos naturais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As análises foram executadas em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas Shimadzu QP-2010 Ultra, equipado com coluna NST-5 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 $\mu$ m NanoSeparation Technology®) e operando com modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV com varredura entre 35 à 400m/z. As amostras foram injetadas em modo *split* em um volume de 1  $\mu$ L e eluídas sob um fluxo de 1,2 mL/min de hélio. A temperatura inicial foi mantida em 50°C por 5 minutos, sendo posteriormente elevada em uma rampa de 8°C/min até 280°C, na qual foi mantida por mais 5 minutos. A fonte de íons se manteve constante à 200°C e a interface à 250°C. A caracterização dos compostos foi feita pela análise de seu padrão de fragmentação do espectro de massas.

### 4.2 Cromatografia gasosa em fase quiral

As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso (Schimadzu, CG-2010) com uma coluna NST-5 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 $\mu$ m) por injeção em modo *splitless* de 1  $\mu$ L de soluções dos álcoois e acetatos (50 ppm) a 250°C usando hidrogênio como gás de arraste sob um fluxo de 1,1 ml/min. A temperatura inicial foi mantida em 50°C por 5 minutos, sendo posteriormente elevada em uma rampa de 8°C/min até 240°C, na qual foi mantida por mais 10 minutos. O detector de ionização em chama operou a 300°C.

Para a comparação do epóxido, o cromatógrafo foi equipado com uma coluna Rt- $\beta$ DEXm (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 $\mu$ m, Restek®). A injeção de uma solução a 1.000 ppm foi realizada em modo Split (razão de 100 partes) à 220°C e a corrida se desenvolveu sob um fluxo de 0,34 mL/min. O detector de ionização de chama (FID) operou à 220°C e a temperatura inicial foi de 100°C, com uma rampa posterior de 5°C/min até 200°C, temperatura que foi mantida por mais 60 minutos.

Para a análise do rincoforol, uma coluna  $\alpha$ -DEX 120 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 $\mu$ m, Supelco®) foi utilizada. Uma solução do material sintético a 1.000 ppm foi realizada em modo Split (razão de 100 partes) à 200°C e a corrida se desenvolveu sob um fluxo de 1,06 mL/min. O detector de ionização de chama (FID) operou à 200°C e a temperatura inicial da corrida foi de 50°C, com uma rampa posterior de 1°C/min até 120°C.

### 4.3 Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) empregam um sistema Shimadzu composto por uma bomba LC-10ADvp, injetor manual RHEODYNE e detector de arranjos de fotodiodos SPD-M10Avp, operando em 235 nm. Uma coluna de ODS (Aldrich®) com diâmetro de 4,6 mm × 25 cm de comprimento foi utilizada. A separação foi executada por eluição 3,5% de água em MeOH a um fluxo de 1,0 ml/min e 13 frações de volume variável foram coletadas de acordo com a passagem do analito pelo detector. Em cada corrida, 100 microlitros de uma solução a 1 mg/mL da mistura de epóxidos foram injetados, totalizando 39 repetições.

### 4.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz e  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz foram obtidos em espectrômetro BRUKER DPX-500 em solução de  $\text{CDCl}_3$  no Laboratório Ressonância Magnética Nuclear da UFAL. O sinal residual do solvente não deuterado foi utilizado como referência interna para calibração dos deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos espectros, que foram obtidos como partes por milhão. As constantes de acoplamento ( $J$ ) foram expressas em Hertz (Hz) e as multiplicidades dos acoplamentos foram designadas pelas letras iniciais como simpleto (s), duplete (d), duplo duplete (dd), tripleto (t) e multiplete (m).

### 4.5 Preparo de reagentes

Quando necessário, os reagentes e solventes utilizados nas reações e purificações foram tratados por métodos descritos na literatura.

#### 4.5.1 Manganato de bário

A uma suspensão quente (80°C) de 12,7 g hidróxido de bário octaidratado (1 eq., 40,5 mmol) em 600 mL de água deionizada e agitada vigorosamente, foi adicionada uma solução de 6,4 g de permanganato de potássio (1 eq., 40,5 mmol) em 100 mL de água. O recipiente da solução de permanganato foi lavado duas vezes com 25 mL de água destilada e o lavado foi adicionado à suspensão da base. Em seguida, uma solução contendo 6,7 g iodeto de potássio (1 eq., 40,5 mmol) em 15 mL de água foi acrescentada, seguida por mais 15 mL da água de lavagem do recipiente dessa mesma solução. Após 3 horas de agitação a 80°C, a suspensão foi arrefecida até a temperatura ambiente e o precipitado de cor escura foi filtrado em funil de Büchner e lavado com 1.000 mL de água destilada. O material foi então seco em estufa a

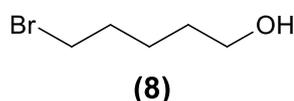
100°C por 18 horas e foi pulverizado em gral, resultando em BaMnO<sub>4</sub> como um pó amorfo de cor escura, com rendimento igual a 95%.

## 4.6 Sínteses

As reações foram monitoradas por meio de cromatografia em camada delgada, com placas (2 cm x 5 cm) de sílica gel 60G em alumínio e misturas contendo 5 a 20% de AcOEt em hexano como eluentes. As placas foram reveladas com solução de vanilina a 3% em mistura de etanol e ácido sulfúrico na proporção de 98,5:1,5.

### 4.6.1 Síntese dos acetatos de (Z)- e (E)-6-dodecenila

#### 4.6.1.1 5-Bromopentan-1-ol (8)



Em um balão de três bocas foram inseridos 20 mL de THP e o material foi submetido a aquecimento com refluxo. Nesse ponto, o 0,72 mL (6,36 mmol) de HBr foi adicionado e a reação foi deixada sob refluxo com agitação por 24 horas. O meio reacional foi lavado 2 vezes com 20 mL de uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e 1 vez com 20 mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi então seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e posteriormente concentrada para recuperar o THP em excesso. Após concentrar em evaporador rotatório, foram recuperados 1,16 g de uma mistura contendo 1,5-dibromopentano e 5-bromopentan-1-ol, na proporção de 3:7.

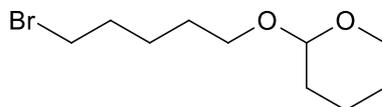
Para a separação da mistura por cromatografia, uma coluna de 2 cm de diâmetro foi utilizada e empacotada com 20 g de sílica gel com granulometria 60-100 mesh, sendo condicionada com hexano. Então, 1,1 g do material foi dissolvido em 1 mL de uma mistura contendo 5% de acetato de etila em hexano. Após a saída do volume morto (~35 mL), o bromopentanol foi detectado em CCD com 5% de acetato em metanol (rf = 0,28) e revelado com uma solução de sulfato cérico a partir da fração 7 (volume de coleta das frações: 8 mL). Nesse ponto do procedimento, o haloálcool foi eluído com 20% de acetato de etila em hexano, rendendo 590 mg (3,5 mmol) do haloálcool, com 55% de rendimento.

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 1,59 – 1,65 (m, 4 H); 1,92 (m, 2H); 3,44 (t, *J* 6,8 Hz, 2 H); 3,68 (t, *J* 6,3 Hz, 2H).

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 24,4; 31,8; 32,5; 33,7; 62,6.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 150 (7,63); 148 (8,18); 69 (75,5); 43 (100).

4.6.1.2 2-(5-Bromopentiloxi)tetraidro-2H-pirano (**9**)



(**9**)

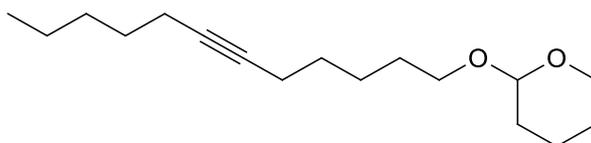
Em um balão de 25 mL, foram colocados 558 mg (1 eq., 3,3 mmol) do 5-bromopentan-1-ol e 15 mL de DCM. A solução foi colocada em banho de gelo por 10 minutos e, em seguida, 335  $\mu$ L de DHP (1,1 eq., 3,7 mmol) foram inseridos juntamente com 3 mg de *p*-TsOH (1% mol). A mistura reacional permaneceu sob agitação por 30 minutos em banho de gelo e por 3 horas à temperatura ambiente, após as quais o meio foi diluído com 50 mL de AcOEt e lavado 2 vezes com 20 mL de uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e uma vez com 20 mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi então seca em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e posteriormente concentrada em evaporador rotatório. O material foi purificado por cromatografia líquida em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro contendo 10 g de sílica gel 60-100 mesh e eluída com hexano, resultando em 643 mg (2,6 mmol) do haloálcool protegido como um óleo incolor (77% de rendimento).

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  1,36 – 1,95 (m, 12 H); 3,36 – 3,55 (m, 4 H); 3,71 – 3,92 (m, 2 H); 4,59 (s, 1 H).

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  19,7; 25,4; 28,0; 29,5; 30,7; 32,7; 33,9; 62,4; 67,4; 98,9.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 151 (6,60); 149 (7,23); 85 (100); 69 (62,61); 41 (59,45).

4.6.1.3 2-(Dodec-6-in-1-iloxi)tetraidro-2H-pirano (**10**)



(**10**)

Em um balão de 25 mL, foram adicionados 10 mL de THF anidro e 441 mg (2 eq., 4,6 mmol) de heptino. A solução foi colocada em banho a -40°C por 15 minutos. Após esse

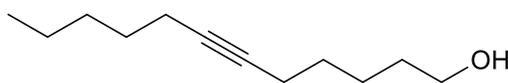
tempo, 2,07 mL (2,25 eq., 5,2 mmol) de uma solução de n-BuLi foi inserida gota a gota e então a reação foi deixada sob agitação por 30 minutos nessa temperatura. Posteriormente, o material foi colocado em banho de gelo por uma hora e uma solução do haloálcool protegido (1,5 eq., 3,4 mmol) em 800  $\mu$ l (2 eq., 4,6 mmol) de HMPA e 1 mL de THF anidro foi acrescentada gota a gota. A mistura reacional permaneceu em banho de gelo por mais 3 horas e então à temperatura ambiente por 12 horas. O meio foi tratado em seguida com 10 mL de solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  aquoso por 15 minutos e procedeu-se com diluição da mistura com 30 mL de AcOEt. A fase orgânica foi lavada uma vez com 20 mL de água e então a fase aquosa foi extraída 2 vezes com 20 mL de AcOEt. As fases orgânicas combinadas foram lavadas 6 vezes com 30 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  e 1 vez com 30 mL de solução saturada de NaCl. Após secar em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrar sob pressão reduzida a  $45^\circ\text{C}$ , para remover o solvente e o heptino em excesso, foi obtido um rendimento de 684 mg. O material foi purificado por cromatografia líquida em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro contendo 15 g de sílica gel 60-100 mesh e eluída com hexano, resultando em 684 mg (2,7 mmol) do produto de interesse (74% de rendimento) como um óleo incolor.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,91 (t,  $J$  6,8 Hz, 3 H); 1,30 – 1,58 (m, 18 H); 2,12 – 2,20 (m, 4 H); 3,38 – 3,55 (m, 2 H); 3,72 – 3,92 (m, 2 H); 4,59 (s, 1 H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  13,9; 18,6; 18,7; 19,67; 22,2 22,3; 25,5; 28,8; 29,0; 29,3; 30,7; 31,0; 62,3; 67,5; 79,9; 80,3; 98,8.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 266 (0,27); 209 (2,12); 195 (7,87); 135 (2,00); 109 (19,11); 95 (31,68); 85 (100); 67 (67,84); 55 (74,18); 41 (49,95).

#### 4.6.1.4 Dodec-6-in-1-ol (**11**)



**(11)**

Em um balão de 25 mL foram colocados 93 mg (0,2 eq., 0,48 mmol) de *p*-TsOH e 12 mL de MeOH. Sob agitação à temperatura ambiente, inseriu-se uma solução de 640 mg (1 eq., 2,4 mmol) do álcool protegido em 1 mL de MeOH, deixando a reação permanecer sob agitação por 5 horas. A mistura foi então diluída com 50 mL de AcOEt e lavada 3 vezes com 20 mL de uma solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e uma vez com 20 mL de solução saturada de NaCl. Após secar com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrar e concentrar em evaporador rotatório, o material foi

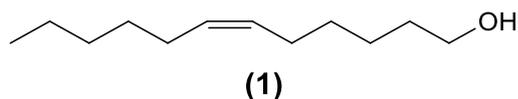
purificado por cromatografia líquida em uma coluna contendo 10 g de sílica gel 60-100 mesh e usando-se como eluentes hexano seguido por uma mistura de 5% de acetato de etila em hexano. Foram obtidos 420 mg (2,3 mmol) do produto como um óleo de coloração amarela (96% de rendimento).

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,91 (t, J 7,0 Hz, 3 H); 1,30 – 1,63 (m, 14 H); 2,12 – 2,22 (m, 3 H); 3,67 (t, J 6,6 Hz, 2 H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  13,9; 18,7; 22,2; 24,9; 28,8; 28,9; 31,0; 32,3; 62,9; 79,8; 80,5.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 135 (3,22); 108 (14,45); 93 (59,51); 79 (90,35); 67 (100); 55 (75,25); 41 (68,78).

#### 4.6.1.5 (*Z*)-Dodec-6-en-1-ol (1)



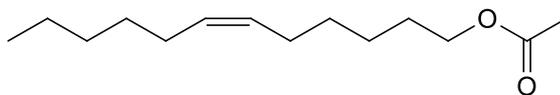
Em um balão de 25 mL, foram inseridos 20 mg (0,09 eq., 0,19 mmol) de catalisador de Lindlar, 10 mL de MeOH e 408 mg (1 eq., 2,2 mmol) do dodeci-6-in-1-ol. A reação foi colocada sob agitação e hidrogênio gasoso foi inserido com auxílio de uma bexiga de borracha acoplada a uma pipeta de pasteur através de um septo. Após 24 horas de reação, a suspensão foi filtrada e o papel de filtro foi lavado com AcOEt. A fase orgânica foi concentrada em evaporador rotatório, resultando em 380 mg (2,1 mmol) de (*Z*)-dodec-6-en-1-ol como um óleo amarelo (92% de rendimento) após purificação por cromatografia em sílica gel com 5% de AcOEt em hexano. O rendimento global obtido para essa molécula foi de 27,7%.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,91 (t, J 7 Hz, 3 H); 1,28 – 1,40 (m, 10 H); 1,59 – 1,64 (m, 2 H); 2,01 – 2,08 (m, 4 H); 3,67 (t, J 6,7 Hz, 2 H); 3,75 (s, 1 H); (5,34 – 5,41 (m, 2 H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 22,6; 25,4; 27,1; 27,2; 29,4; 29,5; 31,5; 32,7; 63,0; 129,5; 130,2.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 166 (3,06); 138 (3,53); 109 (14,52); 95 (47,72); 82 (59,43); 67 (100); 44 (81,10); 41 (61,79).

## 4.6.1.6 Acetato de (Z)-dodec-6-em-1-ila (2)



(2)

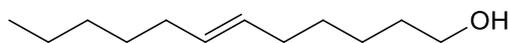
Em um balão de 25 mL foram acrescentados 183 mg (2 eq., 1,8 mmol) de anidrido acético, 219  $\mu$ l (3 eq., 2,7 mmol) de piridina e 166 mg (1 eq., 0,9 mmol) de álcool **1** em 10 mL de DCM. A reação foi deixada à temperatura ambiente sob agitação por 4 horas e a CCD em 10% de acetato de etila em hexano mostrou o término da reação. O material foi diluído com AcOEt (50 mL) e foi lavado 2 vezes 10 mL de HCl a 1 M, 2 vezes com 10 mL de NaHCO<sub>3</sub> a 2,5% e por fim 1 vez com 15 mL de solução saturada de NaCl. Após secar em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrar e concentrar em rotaevaporador, foram obtidos 160 mg (0,71 mmol) do acetato como um óleo incolor (78% de rendimento), após purificação por cromatografia em sílica gel com 1% de AcOEt em hexano. O rendimento global obtido para essa molécula foi de 21,6%.

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  0,91 (t, *J* 7,0 Hz, 3 H); 1,28 – 1,41 (m, 10 H); 1,63 – 1,61 (m, 2 H); 2,00 – 2,06 (m, 4 H); 2,07 (s, 3 H); 4,07 (t, *J* 6,8 Hz, 2 H); 5,34 – 5,41 (m, 2 H).

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  14,1; 21,0; 22,6; 25,5; 27,0; 27,2; 28,5; 29,3; 29,4; 31,5; 64,6; 129,4; 130,3; 171,3.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 166 (11,93); 138 (4,78); 109 (20,93); 95 (59,20); 82 (80,36); 67 (100); 61 (1,33); 43 (96,50); 41 (48,59).

## 4.6.1.7 (E)-dodec-6-en-1-ol (3)



(3)

Em um balão de 250 mL com três bocas, foram pesados 80 g de NaOH (1 eq, 2 mol) e uma coluna de vigreux, empacotada com 20 g (0,4 mol) de CaO seco, foi acoplada à vidraria. Um segundo balão de 10 mL, com uma barra magnética no interior de uma cápsula de vidro, foi colocado na outra extremidade da coluna por meio de um adaptador com duas juntas 14/20 e imerso em banho de acetona refrigerada com nitrogênio líquido até uma temperatura -70°C. As outras entradas do balão maior foram vedadas com septo de borracha e teflon. Então, com

uma seringa, uma solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  foi gotejada no balão contendo a base ao mesmo tempo em que a vidraria era aquecida com pistola térmica.

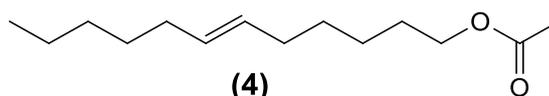
Após coletar 4 mL de amônia líquida no balão menor, 120 mg de sódio metálico (27 eq., 5,2 mmol) foram acrescentados no balão, após remoção momentânea do septo, e a suspensão foi agitada até que se notasse a completa dissolução do sódio, formando uma solução de coloração azul escura. Neste ponto, 25 mg (1 eq., 0,20 mmol) do dodec-6-in-1-ol foram inseridos com uma micropipeta e o material foi deixado sob agitação a  $-70^\circ$  por 3 horas e então a  $-45^\circ\text{C}$  com banho termostático por mais 12 horas, após as quais o banho foi desligado, o septo foi removido e a mistura reacional permaneceu sob agitação até atingir a temperatura ambiente, levando à evaporação da amônia. Com isso, 5 mL de THF foram acrescentados, seguida pela adição gota a gota de 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . A mistura foi transferida para funil de separação, diluída com 30 mL de AcOEt e a fase orgânica foi então lavada 2 vezes com 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , uma vez com 5 mL de solução de NaCl e, posteriormente, foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrada sob pressão reduzida, resultando em 21 mg de um óleo de coloração amarela. O material foi purificado em uma coluna de 1,2 mm de diâmetro, contendo 70 partes de sílica com granulometria 60-100 mesh, sendo eluído subsequentemente com hexano e 2,5% de acetato em hexano, para obter 15 mg (0,08 mmol) do (*E*)-dodec-6-en-1-ol com rendimento igual a 42%. O rendimento global foi de 12,6% para essa molécula.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,90 (t,  $J$  7,1 Hz, 3 H); 1,27 – 1,40 (m, 10 H); 1,59 – 1,63 (m, 2 H); 1,97 – 2,04 (m, 4 H); 3,66 (t,  $J$  6,7 Hz, 2 H); 5,37 – 5,45 (m, 2 H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 22,5; 25,2; 29,3; 29,4; 31,4; 32,5; 32,6; 32,6; 63,1; 130,0; 130,7.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 166 (3,21); 138 (3,42); 109 (13,61); 95 (46,21); 82 (64,65); 67 (100); 44 (4,76); 41 (71,57).

#### 4.6.1.8 Acetato de (*E*)-dodec-6-en-1-ila (4)



O procedimento executado foi similar ao anterior no que concerne ao preparo da amônia e reação de redução. Contudo, após 2 horas de reação à  $-45^\circ\text{C}$  a mistura foi deixada a  $-10^\circ\text{C}$  e 5 mL de AcOEt foi inserido. O meio reacional continuou sob agitação por mais 30 minutos, após os quais procedeu-se com a adição gota a gota de 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . A fase aquosa

foi extraída 2 vezes com 10 mL de AcOEt e a fase orgânica foi seca em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Após concentrar em evaporador rotatório, o material foi purificado em uma coluna de 1,2 mm de diâmetro, contendo 70 partes de sílica com granulometria 60-100 mesh, sendo eluído subsequentemente com hexano e 2,5% de acetato em hexano, para obter o acetato de (*E*)-dodec-6-en-1-ila com rendimento igual a 54%. O rendimento global para esse composto foi de 16,2%.

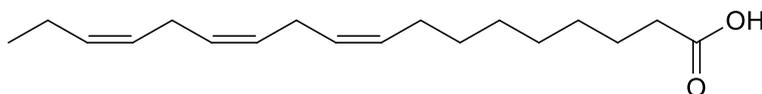
**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 0,90 (t, J 7,1 Hz, 3 H); 1,26 – 1,41 (m, 10 H); 1,63 – 1,67 (m, 2 H); 1,96 – 2,03 (m, 4 H); 2,07 (s, 3 H); 4,07 (t, J 6,8 Hz, 2 H), 5,36 – 5,45 (m, 2 H).

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 14,2; 21,0; 22,5; 25,4; 28,4; 29,2; 29,3; 31,4; 32,4; 32,6; 64,6; 129,8; 130,8; 171,3.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 166 (12,79); 138 (4,77); 109 (20,13); 95 (62,97); 82 (82,05); 67 (100); 61 (1,42); 43 (91,53); 41 (46,31).

#### 4.6.2 Síntese da mistura de (*Z,Z*)-3,6-cis-9,10-epoxieneicosadieno, (*Z,Z*)-3,9-cis-6,7-epoxieneicosadieno e (*Z,Z*)-6,9-cis-3,4-epoxieneicosadieno

##### 4.6.2.1 Ácido (9*Z*,12*Z*,15*Z*)-Octadeca-9,12,15-trienoico (12)



(12)

Para a hidrólise, foram inseridos 500 mL de uma solução a 15% (m/v) de NaOH em MeOH em um balão de um litro. Em seguida, acrescentou-se 25 g de óleo de linhaça e, após 6 horas de refluxo sob agitação, a mistura reacional foi diluída com 1,5 L H<sub>2</sub>O. A fração aquosa foi acidificada em porções de 400 mL com HCl aquoso a 1 M e extraída com 150 mL de AcOEt. As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas em evaporador rotatório para resultar em 18,45g de um óleo amarelo contendo uma mistura de ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e α-linolênico.

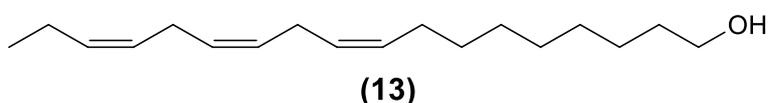
Para enriquecimento da mistura com o ácido α-linolênico, 25 g da mistura contendo os ácidos foram solubilizadas em 1 L de acetona e o material foi deixado à -80°C por 12 horas, após as quais a suspensão foi filtrada a frio e o solvente foi removido sob pressão reduzida para resultar em 11 g de um óleo com coloração amarela e contendo apenas os ácidos insaturados α-linolênico, linoleico e oleico.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,97 (t,  $J$  7,6 Hz, 3 H); 1,22 – 1,39 (m, 10 H); 1,58 – 1,66 (m, 2 H); 1,99 – 2,12 (m, 4 H); 2,30 – 2,36 (m, 2 H); 2,76 – 2,74 (m, 4 H); 5,29 – 5,43 (m, 6 H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,3; 20,5; 24,7; 25,5; 25,6; 27,2; 27,3; 29,0; 29,1; 29,1; 34,1; 127,1; 127,7; 128,2; 128,2; 130,2; 131,9; 179,9.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):**  $[\text{M}]^+$  278 (1,78); 249 (1,09); 222 (3,68); 135 (7,32); 121 (10,58); 108 (31,55); 95 (42,74); 93 (41,27); 79 (100); 67 (78,09); 55 (29,92).

#### 4.6.2.2 (9Z,12Z,15Z)-Octadeca-9,12,15-trien-1-ol (**13**)

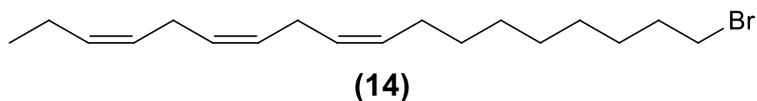


Em um balão de 250 mL, foram colocados 1,7 g de  $\text{LiAlH}_4$  (4 eq., 46 mmol) e 75 mL de THF anidro. Uma solução de 3,2 g da mistura contendo os ácidos insaturados (1 eq., 11,49 mmol, com base na massa do ácido linolênico) em 50 mL de THF anidro foi inserida gota a gota via funil de adição sob agitação à temperatura ambiente por 30 minutos. Após o término da adição da solução, a mistura reacional foi levada a refluxo por 5 horas, após as quais foram adicionados 25 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  com um funil de adição ao longo de 2 horas sob agitação em banho de gelo. Em seguida, 100 mL de  $\text{AcOEt}$  foram acrescentados, a suspensão foi agitada por quinze minutos e a fase orgânica foi posteriormente transferida para funil de separação. A fase aquosa foi extraída mais 2 vezes com 100 mL de  $\text{AcOEt}$  pelo mesmo procedimento e as fases orgânicas reunidas foram subsequentemente tratadas com 150 mL de solução saturada de  $\text{NaCl}$ . A fração orgânica foi então seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e o solvente foi finalmente removido sob pressão reduzida, gerando 2,51 g da mistura de álcoois como um óleo amarelo (83% de rendimento, com base na massa do álcool linolênico).

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,97 (m, 3 H); 1,23 – 1,40 (m, 10 H); 1,50 – 1,61 (m, 2 H); 1,97 – 2,11 (m, 4 H); 2,67 – 2,85 (m, 4 H); 3,59 – 3,66 (m, 2 H); 5,27 – 5,44 (m, 6 H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 20,5; 25,5; 25,6; 25,7; 27,2; 29,2; 29,3; 29,4; 29,5; 32,7; 63,0; 127,1; 127,6; 128,2; 130,3; 131,9.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):**  $[\text{M}]^+$  264 (2,11); 208 (2,85); 135 (9,66); 108 (31,34); 95 (50,48); 93 (46,24); 79 (100); 67 (86,95); 55 (50,83).

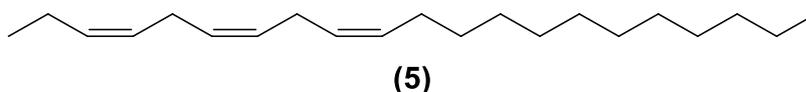
(3Z,6Z,9Z)-18-Bromooctadeca-3,6,9-trieno (**14**)

Em um balão foram inseridos 662 mg de NBS (2 eq., 3,73 mmol), 10 mL de DCM seco e o material foi submetido à agitação em banho de gelo. Após 15 minutos, foram acrescentados 976 mg de trifenilfosfina (2 eq., 3,73 mmol). O material foi deixado sob agitação por 15 minutos em banho de gelo e, então, uma solução de 500 mg da mistura de álcoois (1 eq., 1,86 mmol com base no derivado do ácido oleico) em 10 mL de DCM anidro foram inseridos via funil de adição em um sistema coberto com papel alumínio durante todo o processo. A mistura reacional foi agitada em banho de gelo por 2 horas. Em seguida, foi submetida à agitação à temperatura ambiente por uma hora e meia. Posteriormente, 2 mL de MeOH foram adicionados no balão reacional e a reação foi deixada por mais 2 horas. O meio foi então diluído com 70 mL de AcOEt e a fase orgânica foi lavada com duas vezes com 50 mL de H<sub>2</sub>O, 50 mL de solução saturada de NaCl, seca em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrada sob pressão reduzida, resultando em um sólido de coloração marrom. O sólido foi suspenso em 50 mL de hexano e filtrado em um funil sinterizado contendo 20 g de sílica. O filtro foi lavado mais 2 vezes com 50 mL de hexano e o solvente foi removido em evaporador rotatório para dar 352 mg (1,07 mmol, 57% de rendimento) do brometo **14** como um óleo incolor.

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 0,97 (m, 3 H); 1,24 – 1,49 (m, 52 H); 1,82 – 1,91 (m, 6 H); 1,99 – 2,13 (m, 11 H); 2,77 – 2,87 (m, 6 H); 3,40 – 3,45 (t, *J* 6,9 Hz, 6 H); 5,33 – 5,43 (m, 7 H).

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 14,2; 20,5; 25,6; 27,2; 28,1; 28,7; 29,1; 29,3; 29,5; 29,6; 32,8; 33,9; 127,1; 127,9; 128,2; 129,7; 130,0; 131,9.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 272 (4,81); 270 (4,42); 135 (6,84); 121 (9,64); 108 (40,39); 95 (44,96); 93 (38,20); 79 (100); 67 (81,86); 55 (36,45).

4.6.2.3 (3Z,6Z,9Z)-Henicosa-3,6,9-trieno (**5**)

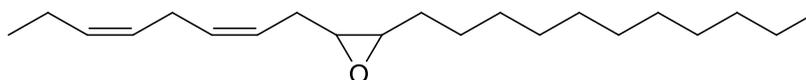
Em um balão de 25 mL, foram colocados 169 mg de Mg granulado (4 eq., 6,97 mmol) e, após vedar com septo, o material foi purgado com nitrogênio por 10 minutos e deixado em

ultrassom por outros 10 minutos. Posteriormente, 10 mL de THF anidro foram adicionados, seguidos pela adição de 857 mg de bromopropano (4 eq., 6,97 mmol). A reação foi deixada sob agitação por uma hora e meia para a formação do aduto.

Em outro balão de 100 mL contendo 40 mL de THF seco e em banho de gelo, 500 mg da mistura de haletos (1 eq., 1,53 mmol com base na massa do brometo **14** e 174  $\mu$ L de uma solução de  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$  em THF a 0,1 M foram inseridos. Após 15 minutos, o reagente de Grignard, formado previamente, foi adicionado rapidamente até ocorrer mudança da coloração para azul escuro. Após duas horas de reação em banho de gelo, a reação foi deixada para aquecer gradativamente ao longo de mais 2 horas, chegando até 18 °C. Nesse ponto, o material foi tratado com 10 mL de uma solução de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a 10%. A fase orgânica foi separada e a aquosa foi extraída 2 vezes com 30 mL de AcOEt. A fase orgânica combinada foi então seca em sulfato de sódio e concentrada sob pressão reduzida, resultando em 331 mg de uma mistura de alcenos (75% de rendimento, com base no brometo **14**) como um óleo verde claro.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 234 (7,56); 135 (8,49); 108(50,80); 97 (35,57); 79 (100); 67 (68,02); 55 (56,15).

#### 4.6.2.4 (Z,Z)-3,6-cis-9,10-Epoxieneicosadieno (**6**)



Em um balão de 5 mL, foram inseridos 10 mg de *m*CPBA (1 eq., 0,6 mmol) e 1 mL de DCM anidro. O balão foi vedado com septo de borracha e purgado com nitrogênio. A solução foi colocada em agitação em banho de gelo por 15 minutos e, então, foi acrescentado uma solução contendo 17 mg da mistura contendo o composto **5** (1 eq., 0,60 mmol com base no composto **5**) em 1 mL de DCM seco. A mistura permaneceu sob agitação em banho de gelo por 1 hora e, posteriormente, à temperatura ambiente por mais 4 horas. Após tal período, o meio foi diluído com 15 mL de AcOEt e a fase orgânica foi lavada 2 vezes com 10 mL de uma solução a 2,5% de  $\text{NaHCO}_3$ . A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrada, e o solvente foi subsequentemente removido em evaporador rotatório, resultando em 15 mg de um óleo de coloração amarela contendo uma mistura de monoepóxidos e diepóxidos. O material foi purificado por CLAE, conforme descrito na subseção 4.3, resultando no composto **6** (2,7 mg, 8,81  $\mu$ mol) com 6,3% de rendimento.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,90-0,98 (m, 6 H); 1,22 – 1,45 (m, 18 H); 1,56 – 1,65 (m, 2 H); 2,03 – 2,09 (m, 2 H); 2,15 – 2,22 (m, 2 H); 2,78 – 2,81 (m, 3 H); 2,91 – 2,94 (m, 1 H), 5,36 – 5,51 (m, 4 H).

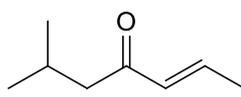
**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 20,5; 25,6; 27,2; 28,1; 28,7; 29,1; 29,3; 29,5; 29,6; 32,8; 33,9; 127,1; 127,9; 128,2; 129,7; 130,0; 131,9.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 183 (3,19); 122 (8,50); 108 (47,37); 93 (40,37); 79 (100), 67 (31,52); 55 (28,78).

#### 4.6.3 Síntese do (2E,4S)-6-metil-2-hepten-4-ol

##### 4.6.3.1 (E)-6-metil-hept-2-en-4-ona (15)

###### 4.6.3.1.1 Oxidação com PCC



(15)

Inicialmente, 2,1 g de PCC (1,5 eq., 10,0 mmol) foram incorporados em 2,7 g de alumina e 1,3 g de  $\text{CaCO}_3$  (2,0 eq., 13,3 mmol) e colocados em um balão de 50 mL, juntamente com 30 mL de DCM destilado com hidreto de cálcio. O material foi colocado em banho de gelo e permaneceu sob agitação por uma hora, que foi seguida pela adição gota a gota de 856 mg (1 eq., 6,68 mmol) de rincoforol racêmico. A reação foi deixada sob agitação por 12 horas. O solvente foi então removido em rotavapor e acrescentou-se hexano. A suspensão foi filtrada em um funil sinterizado contendo 24 g de florissil. O sólido resultante no balão foi lavado mais 3 vezes com 30 mL de hexano e filtrado novamente, resultando em 600 mg (4,75 mmol, 47% de rendimento) da cetona **15** como um óleo marrom após remoção do solvente sob pressão reduzida.

###### 4.6.3.1.2 Oxidação com $\text{MnO}_2$

Alternativamente, 1,7 g (12 eq., 19,55 mmol) de  $\text{MnO}_2$  previamente tratado com ácido nítrico e seco em estufa à 120 °C por 24 horas foi colocado em ultrassom com 10 mL éter de petróleo por uma hora e meia. Então, 214 mg rincoforol racêmico (1 eq., 1,67 mmol) foi inserido e a mistura reacional foi colocada sob agitação à temperatura ambiente por 12 horas. Nenhum produto foi formado. O meio reacional foi filtrado com papel filtro e o sólido foi

lavado com DCM. A fase orgânica combinada foi concentrada sob pressão reduzida, sendo recuperado o produto de partida inalterado.

#### 4.6.3.1.3 *Oxidação com TEMPO*

Em um balão de 100 mL, foram inseridos 15 mL de DCM e o material foi colocado em banho de gelo. Após 20 minutos, foram acrescentados subsequentemente 856 mg de rincoforol racêmico (1 eq., 6,68 mmol), 21 mg de TEMPO (2% mol, 0,13 mmol) e 79 mg de KBr (0,1 eq., 0,67 mmol). Em um segundo banho de gelo, 14 mL de uma solução aquosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> foi misturada com 27 mL de solução aquosa de NaOCl a 2,5%. Em seguida, a fase aquosa foi acrescentada gota a gota sobre a fase orgânica sob agitação vigorosa em banho de gelo. A mistura foi então agitada por 3 horas na mesma temperatura, depois das quais a CCD mostrou o consumo do produto de partida e em seguida a fase aquosa foi separada da fase orgânica e extraída 2 vezes com 20 mL de DCM. As fases orgânicas reunidas foram então lavadas 2 vezes com 30 mL de uma solução saturada de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e 1 vez com 30 mL de salmoura. Após secar em sulfato de sódio, a fração orgânica foi concentrada e o óleo de coloração amarela resultante foi analisado por CG-MS, mas não houve formação do produto esperado.

#### 4.6.3.1.4 *Oxidação de Swern modificada*

Em um balão de 25 mL foram colocados 863 mg de TCT (1,2 eq., 4,68 mmol) e 15 mL de THF. A solução foi submetida à agitação a -40°C e, após 30 minutos, foram acrescentados 1,4 mL de DMSO (5 eq., 19,5 mmol). Após uma hora, 500 mg de rincoforol racêmico (1 eq., 3,9 mmol) foram inseridos e a mistura permaneceu sob agitação por mais 40 minutos nessa temperatura. Posteriormente, 2,2 mL de TEA foram adicionados (4 eq., 15,6 mmol) e a reação seguiu por mais 30 minutos, período após o qual foi submetida à agitação à temperatura por 5 horas. A mistura reacional foi tratada com 15 mL de uma solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl e a fase orgânica foi subsequentemente lavada com 20 mL de solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e 20 mL de salmoura. Após secar em sulfato de sódio, o solvente foi removido em evaporador rotatório, resultando em 53% da cetona **15**.

#### 4.6.3.1.5 *Oxidação com BaMnO<sub>4</sub>*

A uma suspensão de 20 g de BaMnO<sub>4</sub> (4 eq., 78 mmol) em 125 mL de DCM em atmosfera inerte, foram acrescentados 2,5 g de rincoforol racêmico (1 eq., 19,5 mmol). O material foi deixado sob agitação à temperatura ambiente por 18 horas e então a mistura

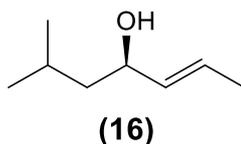
reacional foi filtrada em um funil sinterizado empacotado com 30 g de celite. O sólido no balão foi lavado mais 2 vezes com 100 mL de DCM e a suspensão foi filtrada com celite. Após remoção do solvente em evaporador rotatório, resultou em 1,8 g (14,26 mmol, 73% de rendimento) da cetona **15** como um óleo castanho.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,86 (d,  $J$  6,7 Hz, 6 H); 1,83 (dd,  $J_3$  6,9 Hz,  $J_4$  1,7 Hz); 2,07 (m, 1 H); 2,32 (d,  $J$  7,0 Hz); 6,05 (dd,  $J$  15,8 Hz,  $J$  1,7 Hz); 6,77 (dq,  $J$  15,8 Hz,  $J$  6,9 Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  18,1; 22,6; 25,1; 49,0; 132,3; 142,2; 200,3.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 111 (17,75); 84 (21,62); 69 (100); 41 (37,83).

#### 4.6.3.2 (2E,4S)-6-metil-2-hepten-4-ol (**17**)



Em um balão de 10 mL foram adicionados 4 mL de THF e 45  $\mu\text{L}$  de uma solução de (R)-(+)-2-Metil-CBS-oxazaborolidina em THF a 1 M (4% mol). Então o meio reacional foi agitado por 30 minutos a  $-40^\circ\text{C}$  com atmosfera de nitrogênio, seguido pela adição subsequente de 112  $\mu\text{L}$  de uma solução de  $\text{BH}_3\text{-DMS}$  em THF a 2 M (0,2 eq., 0,22 mmol) e uma solução de 143 mg de rincoforona em 1,0 mL de THF seco (1 eq., 1,12 mmol) ao longo de 3 minutos. O banho termostático foi desligado para que a mistura fosse progressivamente aquecida até a temperatura ambiente. Após 3 horas, o material foi colocado em banho de gelo e 1,0 mL de uma solução aquosa de HCl a 5% foi adicionado. A agitação foi continuada por 30 minutos nessa temperatura e, então, por 30 minutos à temperatura ambiente. A mistura reacional foi diluída com 15 mL de AcOEt e a fase orgânica foi lavada 2 vezes com 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  e 1 vez com 10 mL de solução saturada de NaCl. Por fim, a fração orgânica foi seca em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrada em evaporador rotatório, resultando em 80 mg de uma mistura contendo o composto **16** como um óleo verde.

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,93 (t,  $J$  6 Hz, 6 H); 1,25 – 1,36 (m, 2 H); 1,71 (dd,  $J_2$  6,4 Hz,  $J_3$  1,0 Hz, 3 H); 4,10 – 4,19 (m, 1 H); 5,63 – 5,73.

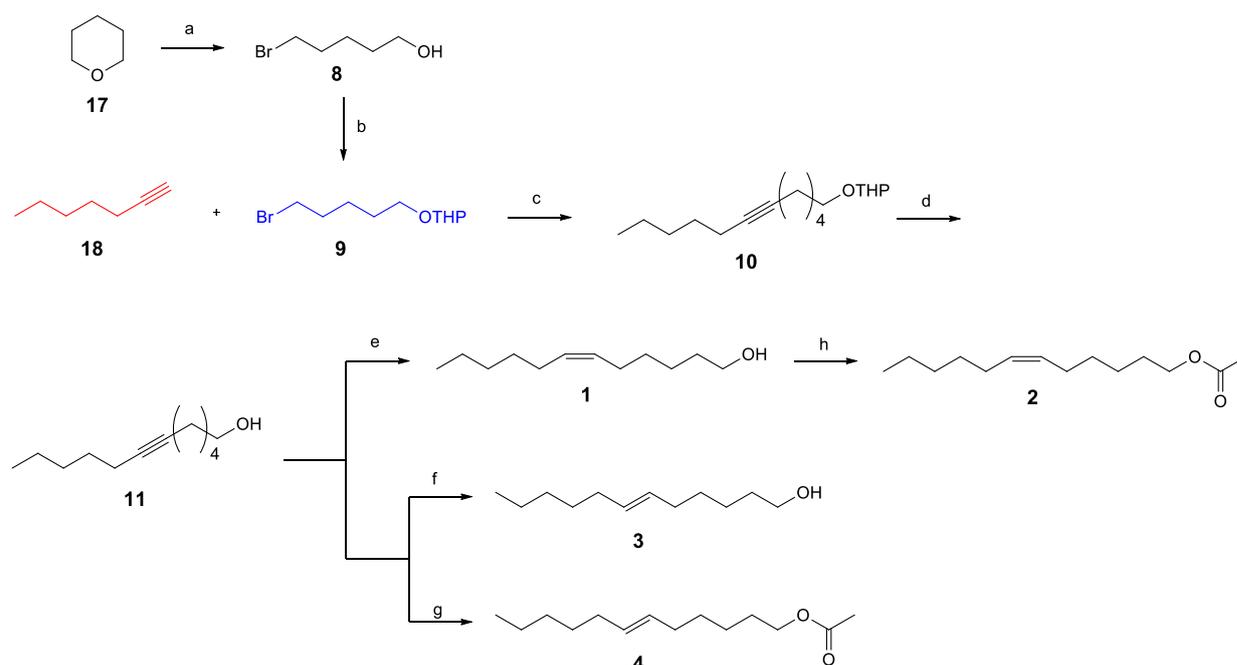
**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  17,6; 22,5; 24,5; 46,4; 71,3; 126,6; 134,6.

**EM (70 eV; m/z; abundância relativa %):** 113 (3,27); 86 (9,43); 71 (100); 43 (25,33).



formar os isômeros *Z* (**1**) e *E* (**3**), respectivamente, do álcool de interesse. A etapa de acetilação foi realizada com metodologias distintas para os álcoois obtidos para resultar nos acetatos correspondentes **2** e **4**. O rendimento global para o acetato *Z* foi de 21,6%, enquanto que para o *E* foi de 16,2%.

**Esquema 2.3** Rota sintética empregada para a obtenção dos componentes feromonais de *A. binocularis*.



(a) HBr, refluxo, 55%; (b) DHP, *p*-TsOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 77%; (c) *n*-BuLi, THF, HMPA, -78°C, 74%; (d) *p*-TsOH, MeOH, 96%; (e) Lindlar, H<sub>2</sub>, MeOH, 92%; (f) Na/NH<sub>3</sub>, THF, -78°C, então H<sub>2</sub>O, 42% (f) Na/NH<sub>3</sub>, THF, -78°C, então AcOEt, 54%; (h) Ac<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 78%.

A reação de monobromação do THP para levar ao composto **8** foi realizada com HBr a 48% sob condições de refluxo, em que o próprio THP foi utilizado como solvente. Nesse caso, ocorre formação de uma mistura contendo os derivados monobromado e dibromado, que foram separados por cromatografia em sílica gel, resultando em 55% de rendimento para o bromoálcool **8**.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **8** (Figura 2.2a) mostra a presença de dois tripletos, um em δ 3,44 e outro em δ 3,68, integrando para dois hidrogênios cada, referentes aos grupos metilênicos adjacentes aos heteroátomos de bromo e oxigênio, respectivamente, como esperado pelo efeito da eletronegatividade sobre o deslocamento químico. Além disso, ao invés de se observar um triplo tripleto para os hidrogênios da posição C(4), ocorre um quinteto com valor de *J* igual a 7,3 Hz, possivelmente devido às proximidades dos valores das

constantes de acoplamento com os hidrogênios das posições C(3) e C(5) que leva à sobreposição dos sinais. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.2b) destaca-se o sinal referente ao carbono carbinólico em  $\delta$  62,6.

**Figura 2.2** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o composto **8**, destacando-se os singletos referentes aos grupos  $\text{CH}_2$  em posição alfa aos heteroátomos ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente).

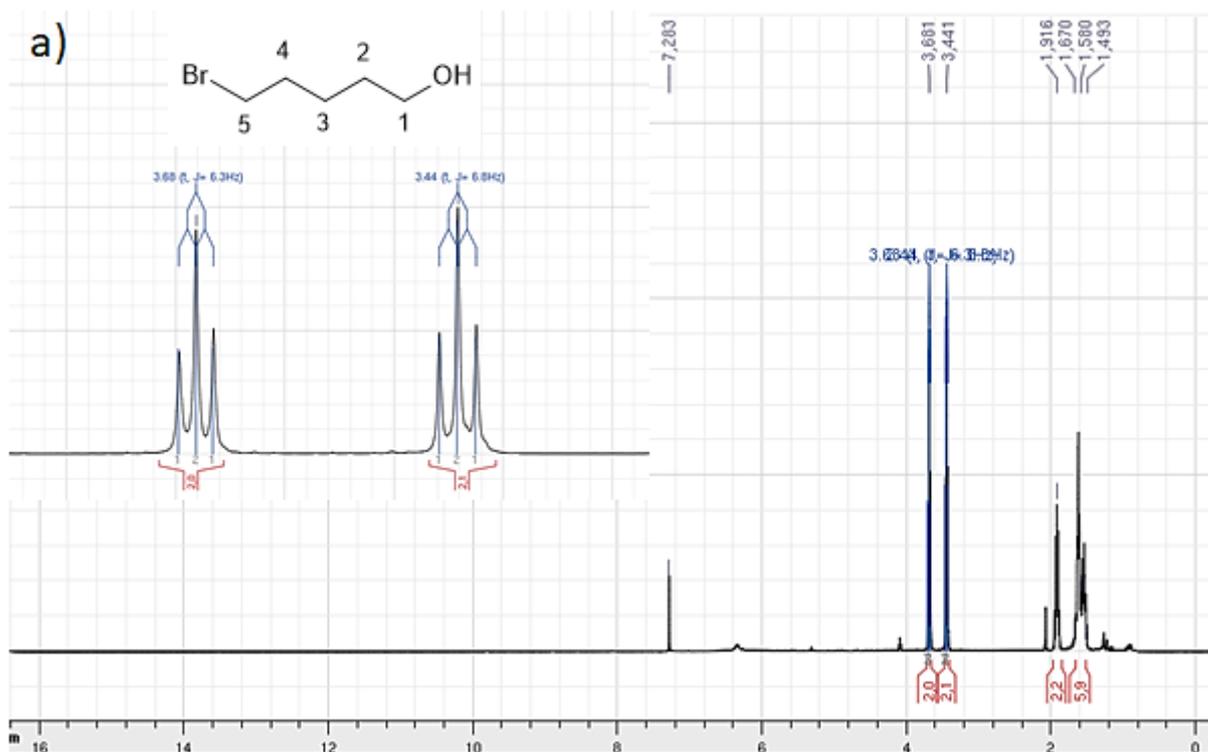
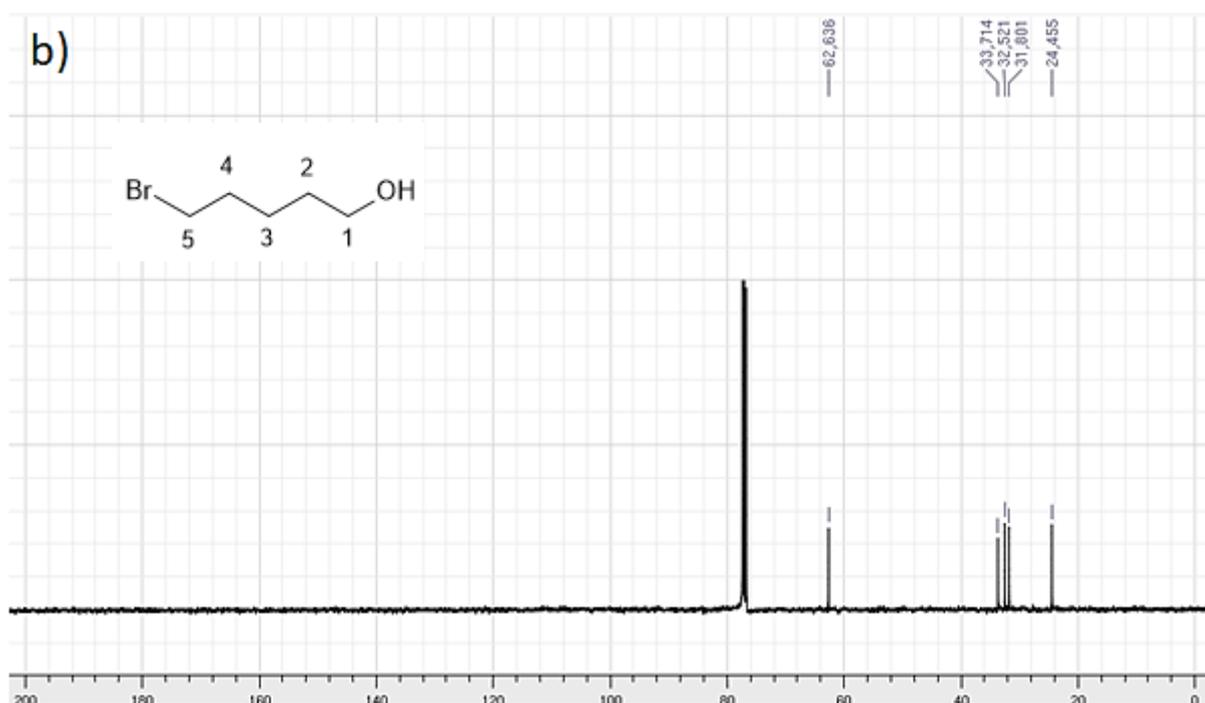
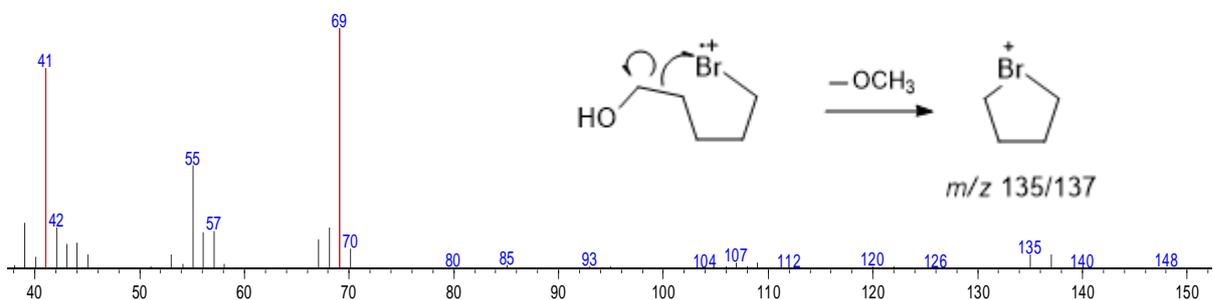


Figura 2.2 *Continuação.*

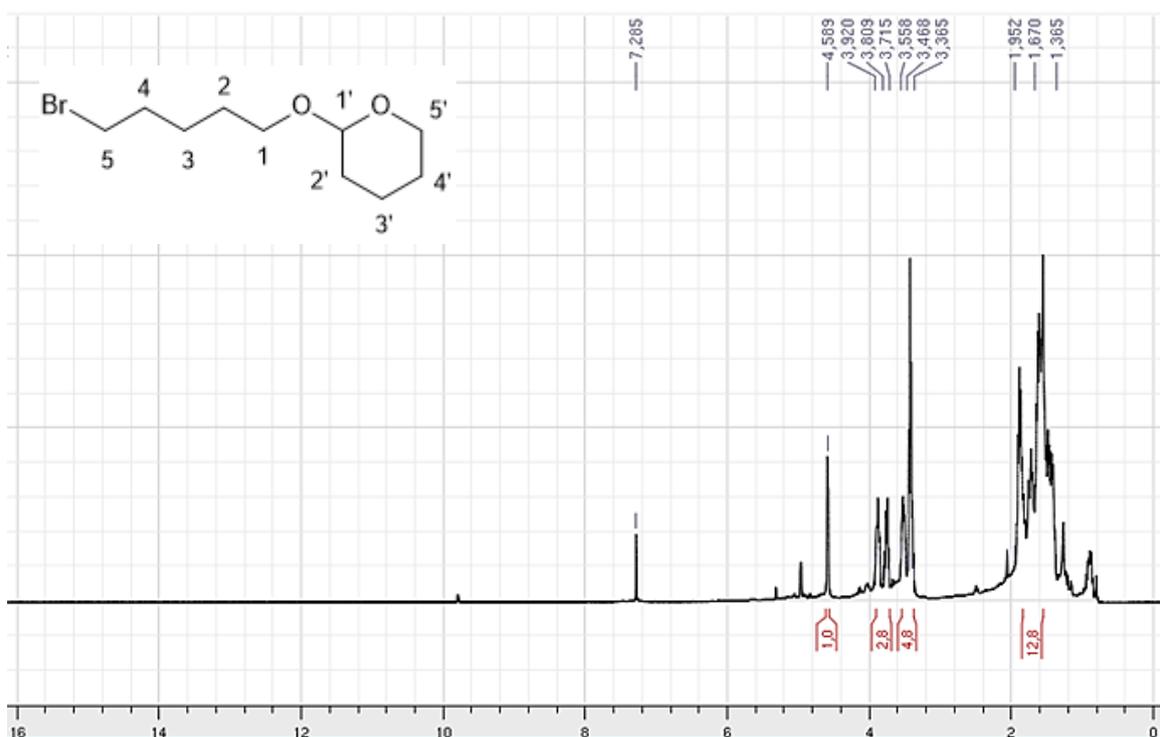
Por fim, a espectrometria de massa mostra a contribuição isotópica do átomo de bromo, com a presença do fragmento de desidratação em  $m/z$  148 e 150, além dos fragmentos característicos em  $m/z$  135 e 137 do íon bromônio cíclico (GROSS, 2017).

Figura 2.3 Espectro de massas do composto **8**, destacando a formação do fragmento com  $m/z$  135/137.

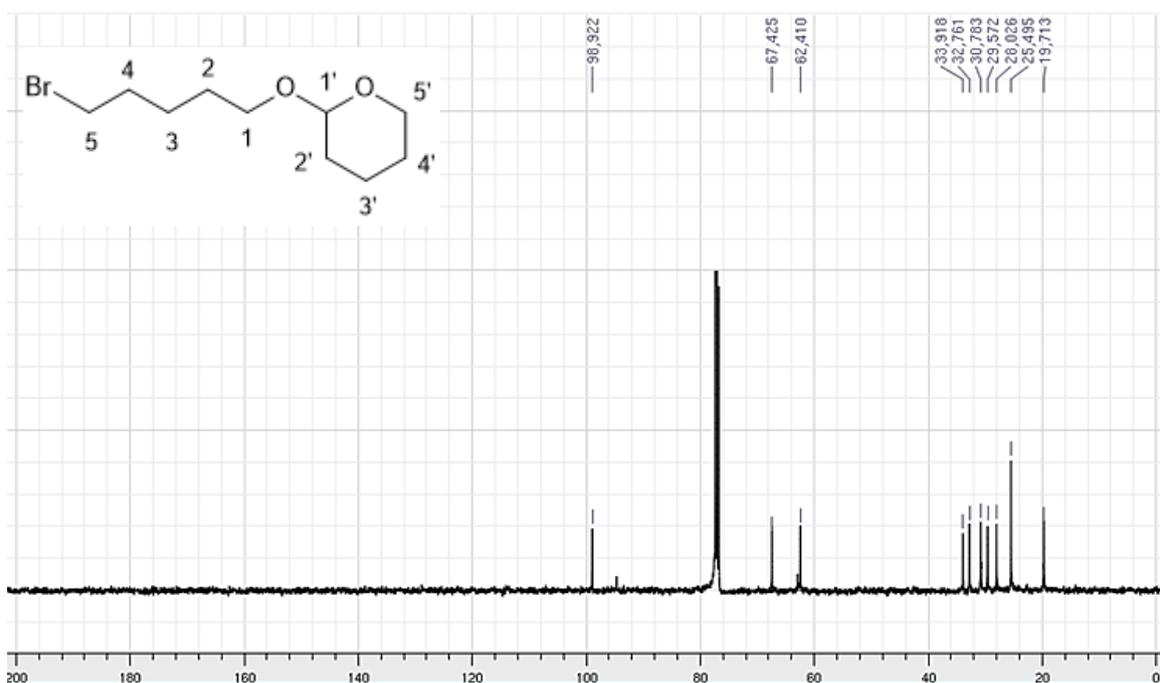
Para evitar a reação de abstração de próton da função hidroxila pelo ânion acetilto, uma etapa de proteção foi executada para inserir o grupo tetraidropiranil e conferir estabilidade ao intermediário frente a bases fortes. A reação foi realizada com DHP para formar o derivado contendo o éter tetraidropiranílico correspondente **19** com rendimento igual a 77% após purificação por cromatografia.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.4) mostra o aparecimento de um singlete em  $\delta$  4,59 integrado para 1 hidrogênio e que corresponde ao átomo ligado ao carbono cetálico do grupo protetor. Esse mesmo carbono aparece em  $\delta$  98,9 no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.5).

**Figura 2.4** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o composto 9 ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).

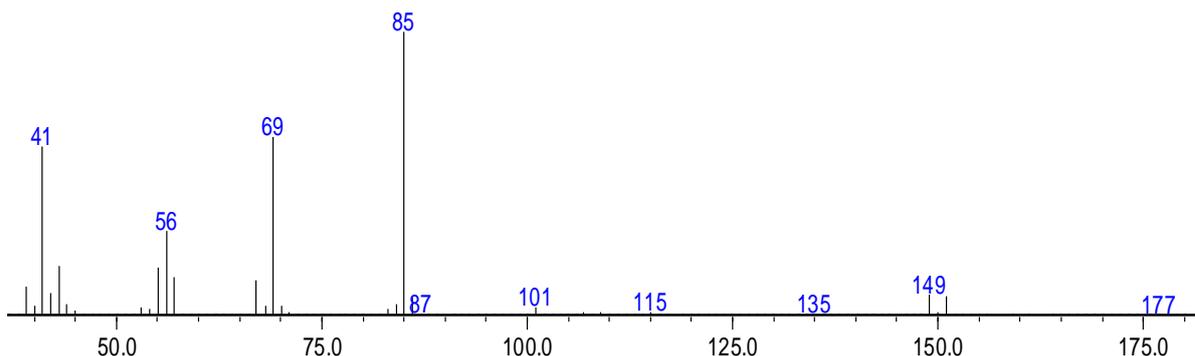


**Figura 2.5** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto 9 ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).

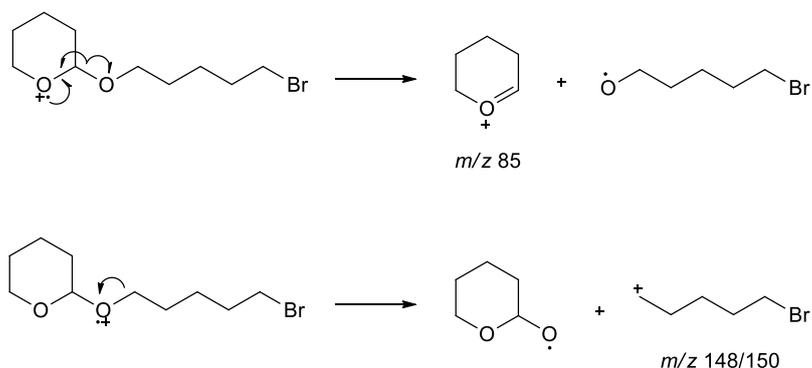


Em adição, é possível verificar o pico base em  $m/z$  85 no espectro de massas (Figura 2.6) que se refere ao cátion tetraidropirílio formado pela clivagem  $\alpha$  ao carbono cetálico, além do fragmento com contribuição isotópica em  $m/z$  149 e 151 que resulta da clivagem indutiva (Esquema 2.4).

**Figura 2.6** Espectro de massas do composto **9**.



**Esquema 2.4** Formação dos íons fragmentos com  $m/z$  85 e  $m/z$  148/150.

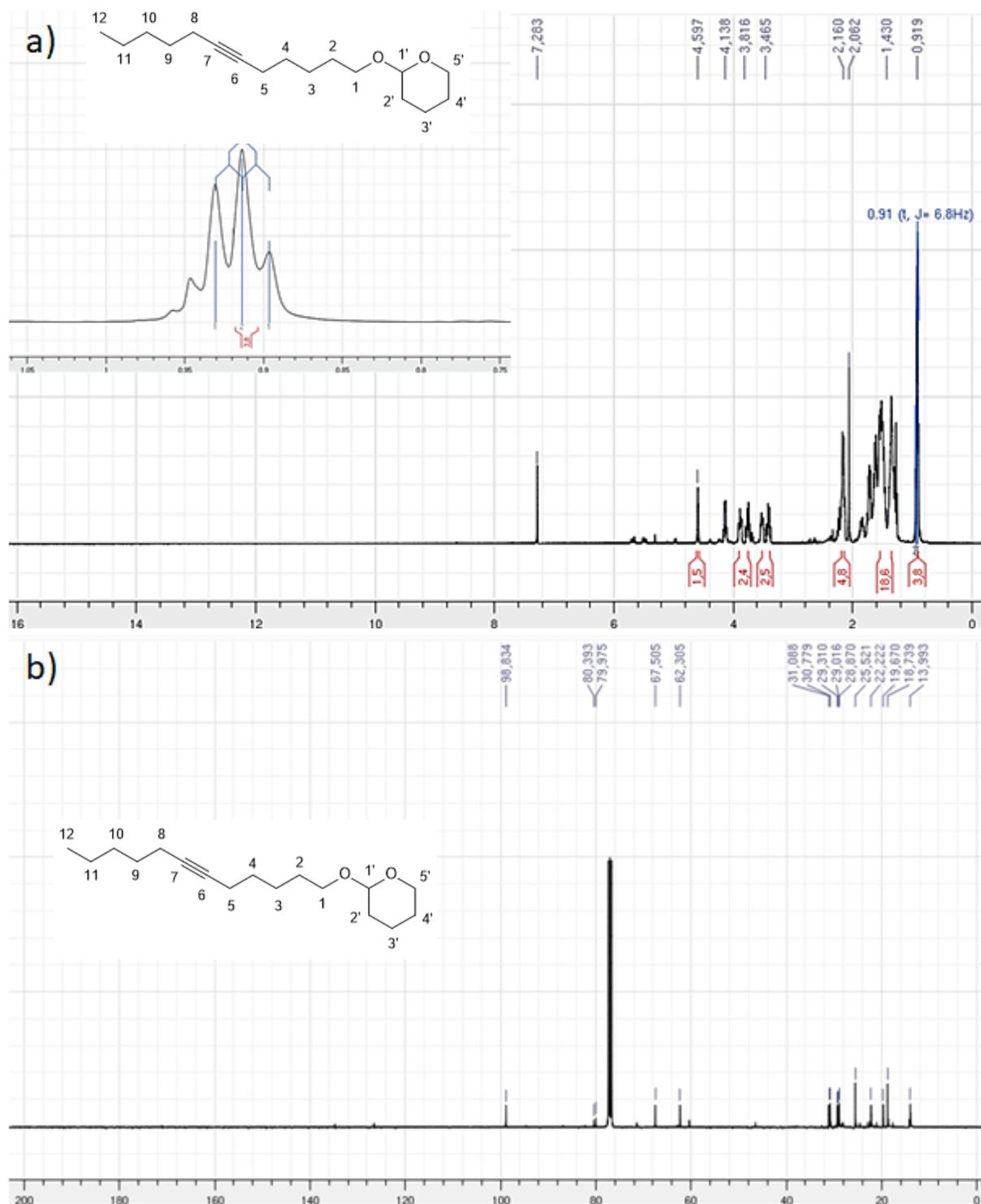


O acoplamento de compostos através do uso de um acetileno de lítio consiste no método clássico para a construção de cadeias longas monoinsaturadas de feromônios ou seus derivados epoxidados. O uso de uma base forte de organolítio, geralmente  $n$ -BuLi, permite gerar o ânion acetileno *in situ* para realizar a substituição de haletos (GIBB et al., 2006; ZARBIN et al., 2007). Dessa forma, o alcino **9** foi submetido à metalacção com  $n$ -BuLi em solução de THF a  $-45^{\circ}\text{C}$  para gerar o acetileno de lítio correspondente e, então, a reação de acoplamento foi realizada com o bromoálcool protegido **9** mediante o uso de HMPA como cossolvente, fornecendo o produto **10** com rendimento igual a 74% após purificação por cromatografia em sílica gel.

O HMPA tem sido usado extensivamente como um aditivo na química de organolítios, pois está entre os mais fortes doadores de pares de elétrons e tem a capacidade de solvatar cátions ao invés de ânions (REICH, 2012). Essa habilidade de coordenação confere ao HMPA características peculiares. Por exemplo, o uso de HMPA aumenta drasticamente as velocidades de uma ampla variedade de reações de organolítio, além de influenciar significativamente a regio- ou a estereoquímica (REICH, 2013). Os efeitos de reatividade ou seletividade do HMPA são geralmente racionalizados em termos de mudanças no estado de agregação ou na estrutura do par de íons envolvendo compostos metalados com lítio. A quebra de agregados para formar monômeros reativos ou pares de íons separados por solvente é frequentemente utilizada como explicação para os efeitos desse composto (REICH et al., 2002).

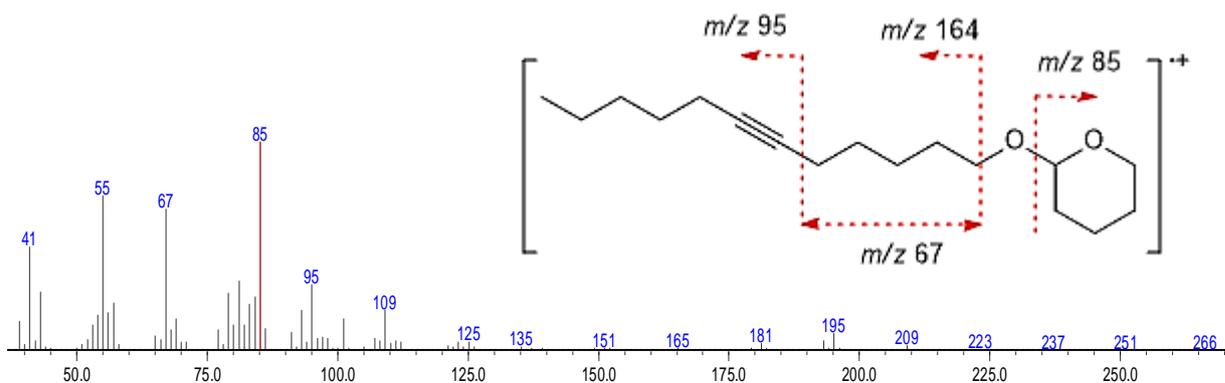
Pelo espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.7a) do composto **10**, verifica-se a presença do hidrogênio ligado ao carbono cetálico como um singlete em  $\delta$  4,59. Já os hidrogênios das posições propargílicas aparecem em  $\delta$  2,12-2,20. O carbono cetálico aparece em  $\delta$  98,8 no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.7b). Em adição, os sinais correspondentes a ambos os carbonos da ligação tripla são mostrados em  $\delta$  79,9 e 80,4.

Figura 2.7 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o composto 10 ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente).



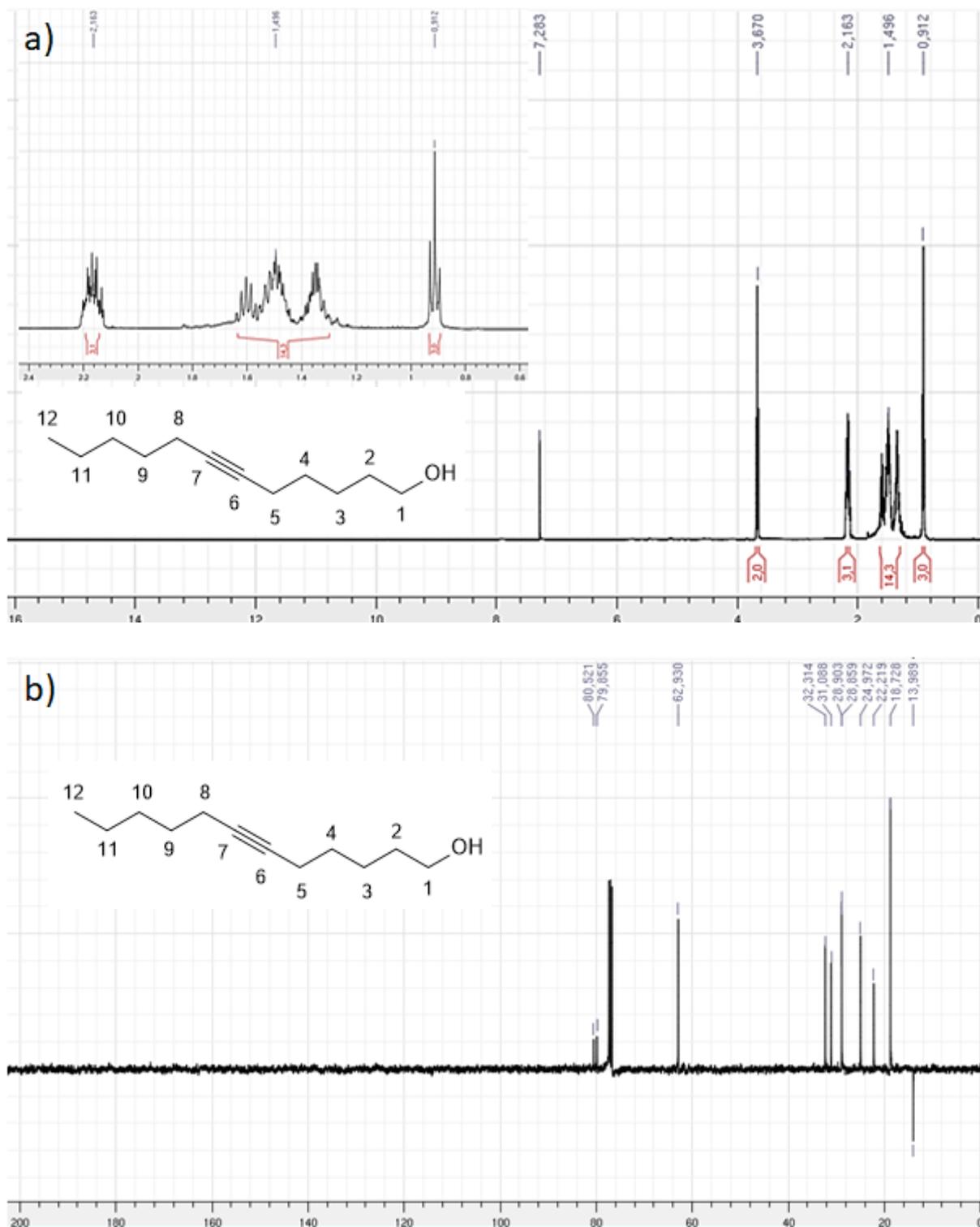
O pico do íon molecular é observado em  $m/z$  266 e o pico base em  $m/z$  85 representa o mesmo fragmento descrito anteriormente, o cátion tetraidropirfílio, além do gragmento com  $m/z$  95 referente à clivagem a à ligação tripla (Figura 2.8).

**Figura 2.8** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **10**.



A remoção do grupo protetor foi realizada posteriormente em solução metanólica de ácido *p*-toluenossulfônico à temperatura ambiente, fornecendo o álcool **11** com rendimento equivalente a 92%. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.9a) desse composto mostra um tripleto em  $\delta$  3,67 correspondente aos dois hidrogênios carbinólicos. Além disso, o sinal referente ao carbono ligado à hidroxila aparece em  $\delta$  62,9 no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.9b), assim como os carbonos da ligação tripla são observados em  $\delta$  79,8 e 80,5. Além disso, é possível verificar a saída do grupo protetor, já que os sinais de hidrogênio metilênicos do grupo THP não mais aparecem na faixa de  $\delta$  1,30 – 1,63, conforme mostra a diferença na integral dos hidrogênios dessa faixa em relação ao composto precursor, indicando a alteração de 18 para 14 hidrogênios nessa região. A ausência do sinal referente ao hidrogênio do carbono cetálico em  $\delta$  4,59 também corrobora com o produto esperado.

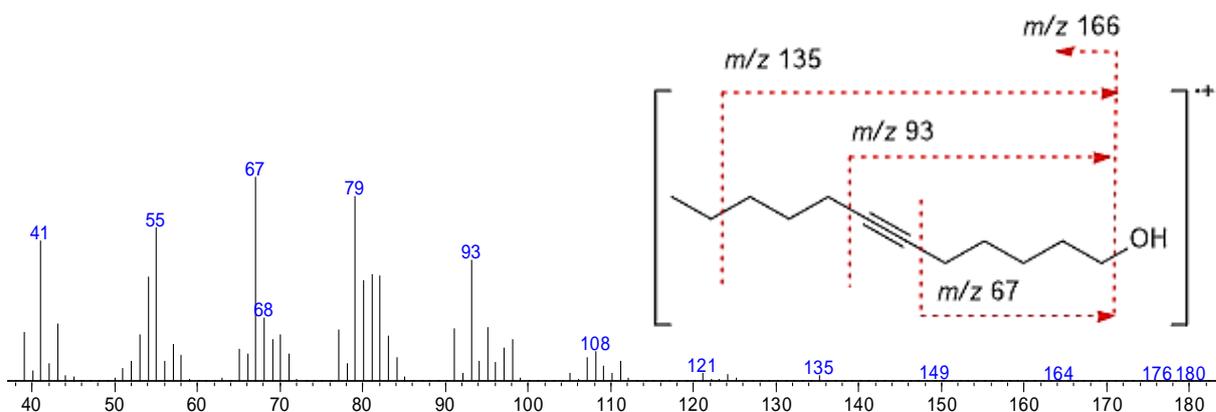
Figura 2.9 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o composto **11** ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente).



Analisando o espectro de massas do composto **11**, foi possível observar a presença do fragmento  $m/z$  135, relativo à saída de um grupo etila a partir do fragmento desidratado com  $m/z$  164. Este mesmo fragmento com  $m/z$  164 pode ainda dar origem ao íon com  $m/z$  93 a partir de clivagem  $\alpha$  à ligação tripla que, por sua vez, pode resultar ao fragmento com  $m/z$  67

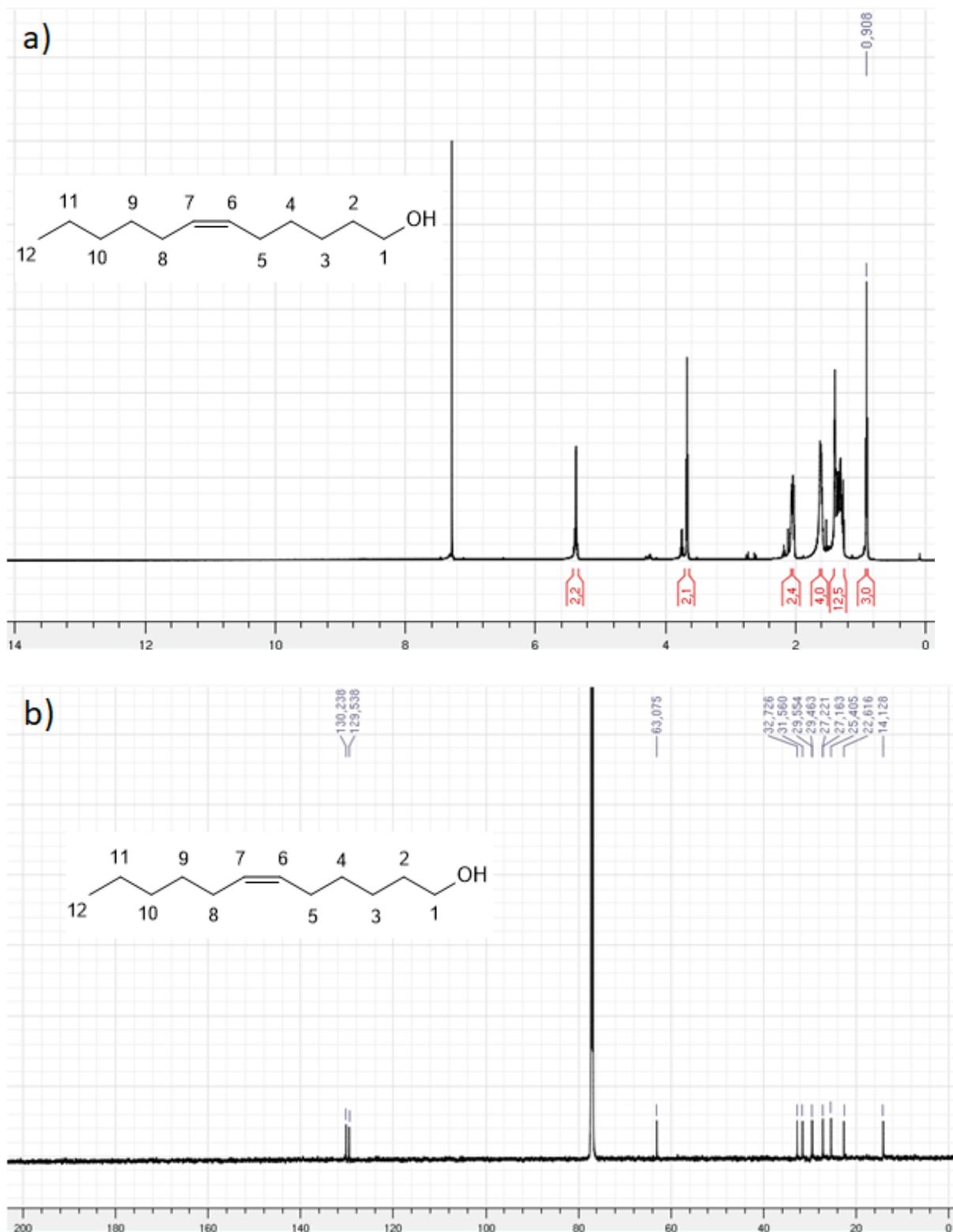
do pico base por perda de acetileno (Figura 2.10). A ausência do pico base com  $m/z$  85 também indica a remoção do grupo THP.

**Figura 2.10** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **11**.



A redução parcial da ligação tripla para formar o composto **1** foi executada em suspensão de catalisador de Lindlar em metanol com atmosfera de hidrogênio, resultando em 92% do álcool **1**. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.11a) destaca-se a presença de um multiplete em  $\delta$  5,34 – 5,41 ppm integrado para 2 hidrogênios e que se refere àqueles da ligação dupla, e o tripleto dos hidrogênios carbinólicos em  $\delta$  3,67 ppm. Somado a esse evento, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.11b) exibiu dois picos em  $\delta$  129,54 e 130,24 ppm para os carbonos olefínicos, além do carbono carbinólico em  $\delta$  63,07 ppm.

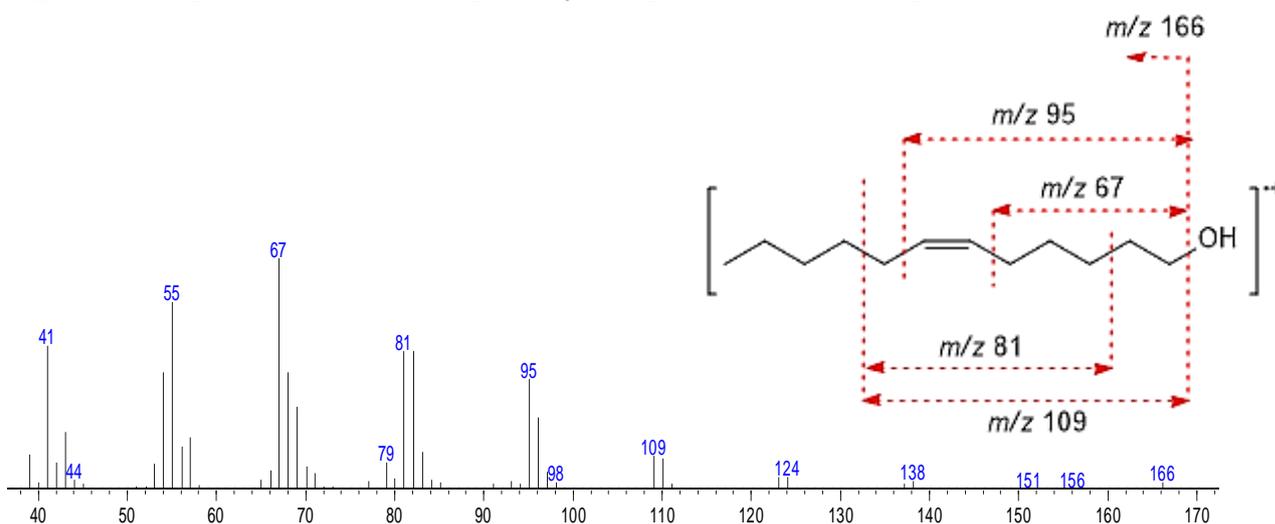
Figura 2.11 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o (Z)-dodec-6-en-1-ol (1) ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz e 125 MHz, respectivamente).



A espectrometria de massas (Figura 2.12) mostrou ainda o fragmento de  $m/z$  166 correspondente ao íon molecular desidratado, além dos fragmentos com  $m/z$  137, 123, 109, 95, 81 e 67 referentes à série homóloga do cátion  $[\text{CH}_2(\text{CH})_3(\text{CH}_2)_n]^+$  (MCLAFFERTY;

TUREČEK, 1993). Ainda, a molécula sofre rearranjos e migração de hidrogênio, sendo possível observar uma segunda série homóloga para o cátion  $[\text{CH}_2(\text{CH})_4(\text{CH}_2)_n]^+$  que correlaciona com os íons  $m/z$  138, 124, 110, 96, 82 e 68.

**Figura 2.12** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **1**.



Por outro lado, o álcool **3** foi formado a partir da metodologia que emprega sódio metálico dissolvido em amônia líquida. Devido ao elevado custo da amônia líquida, a mesma foi preparada no laboratório a partir da neutralização de um ácido fraco, nesse caso o  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , e uma base forte, como  $\text{KOH}$  ou  $\text{NaOH}$ . A reação de redução realizada sob condições de baixa temperatura resultou no álcool **3** com rendimento igual a 42% após purificação por cromatografia. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.13) mostra um tripleto integrável para 2 hidrogênios da posição carbinólica em  $\delta$  3,66 ppm, além de um multipletto em  $\delta$  5,37 – 5,45 ppm referente aos dois hidrogênios olefínicos. Adicionalmente, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.14) é possível visualizar o sinal referente ao carbono carbinólico em  $\delta$  63,10 ppm, enquanto os carbonos olefínicos podem ser encontrados em  $\delta$  130 e 130,73 ppm.

Figura 2.13 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o (*E*)-dodec-6-en-1-ol (3) ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz e 125 MHz, respectivamente).

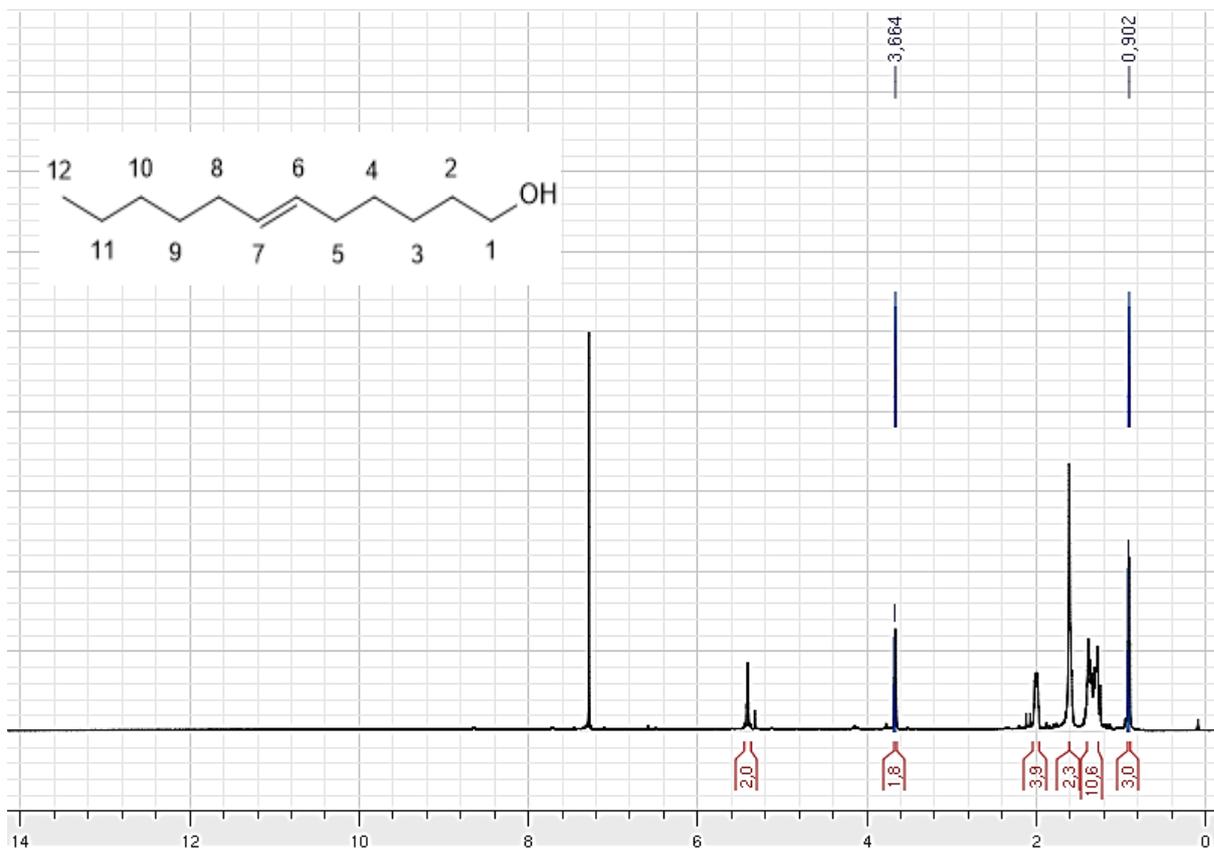
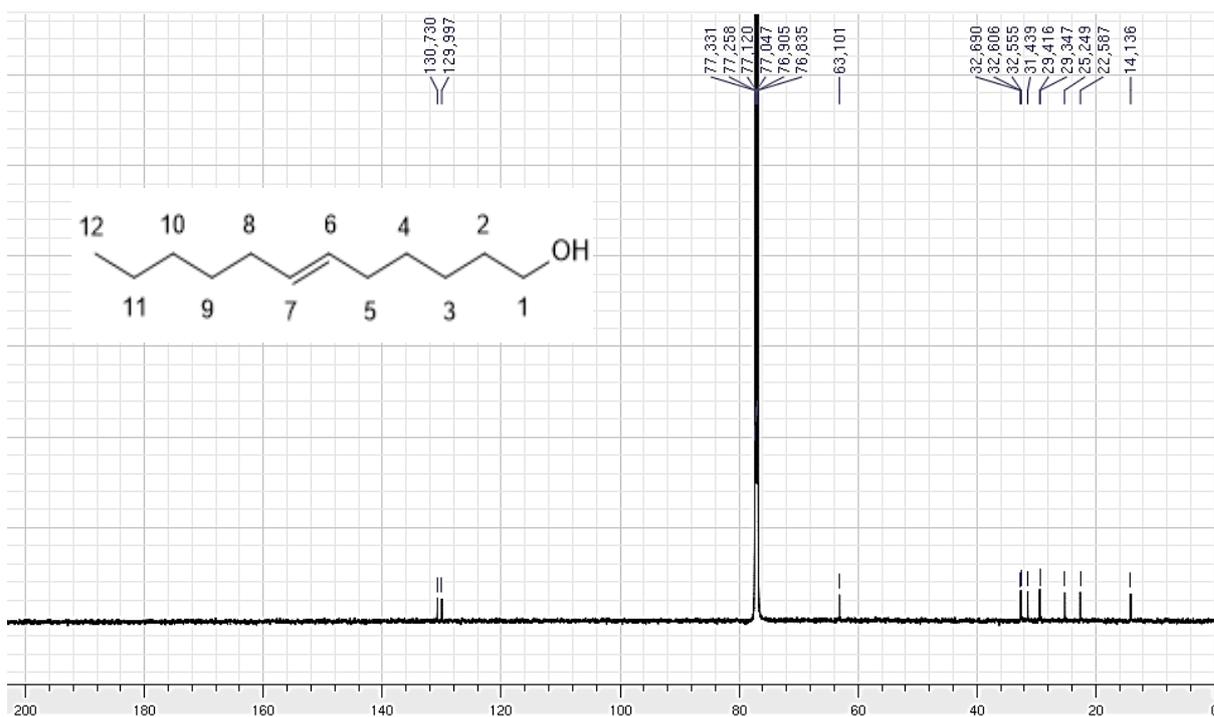
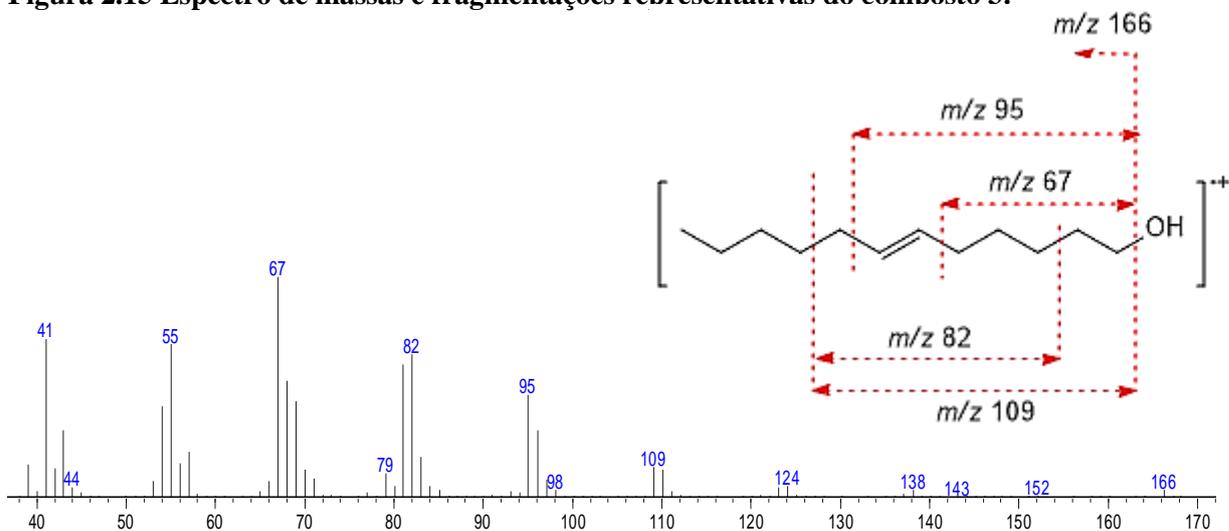


Figura 2.14 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o (*E*)-dodec-6-en-1-ol (3) ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz).



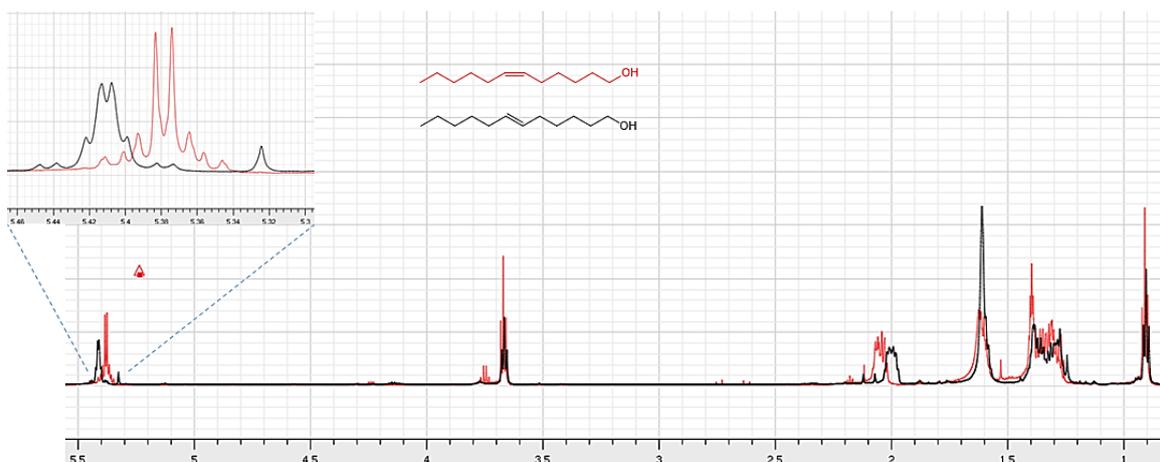
O espectro de massas (Figura 2.15) para esse composto mostra um padrão de fragmentação idêntico ao composto **1**.

**Figura 2.15** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **3**.



A sobreposição entre os espectros dos compostos **1** e **3** mostra uma ligeira diferença nos deslocamentos dos hidrogênios, conforme Figura 2.16. É possível diferenciá-los a partir dos deslocamentos dos hidrogênios olefínicos, já que no composto **1** os deslocamentos químicos desses hidrogênios aparecem em  $\delta$  5,34 – 5,41, enquanto que no composto **3** eles são exibidos em  $\delta$  5,37 – 5,45. Um segundo ponto de distinção é o deslocamento químico dos hidrogênios alílicos, que aparecem em  $\delta$  2,01 – 2,08 no (*Z*)-dodec-6-en-1-ol (**1**), mas para o (*E*)-dodec-6-en-1-ol são mostrados em  $\delta$  1,97 – 2,04.

**Figura 2.16** Sobreposição dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos álcoois **1** e **3**.



O composto **3** foi sintetizado a partir de acetilação do álcool **1** com anidrido acético em diclorometano, gerando o produto de interesse com um rendimento igual a 78%. A análise

de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.17a) exibiu um singlete em  $\delta$  2,07 integrado para 3 hidrogênios do grupo acetil. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.17b) destaca-se a presença do carbono acílico em  $\delta$  171,3.

**Figura 2.17** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o acetato de (*Z*)-dodec-6-em-1-ila (2) ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz e 150 MHz, respectivamente).

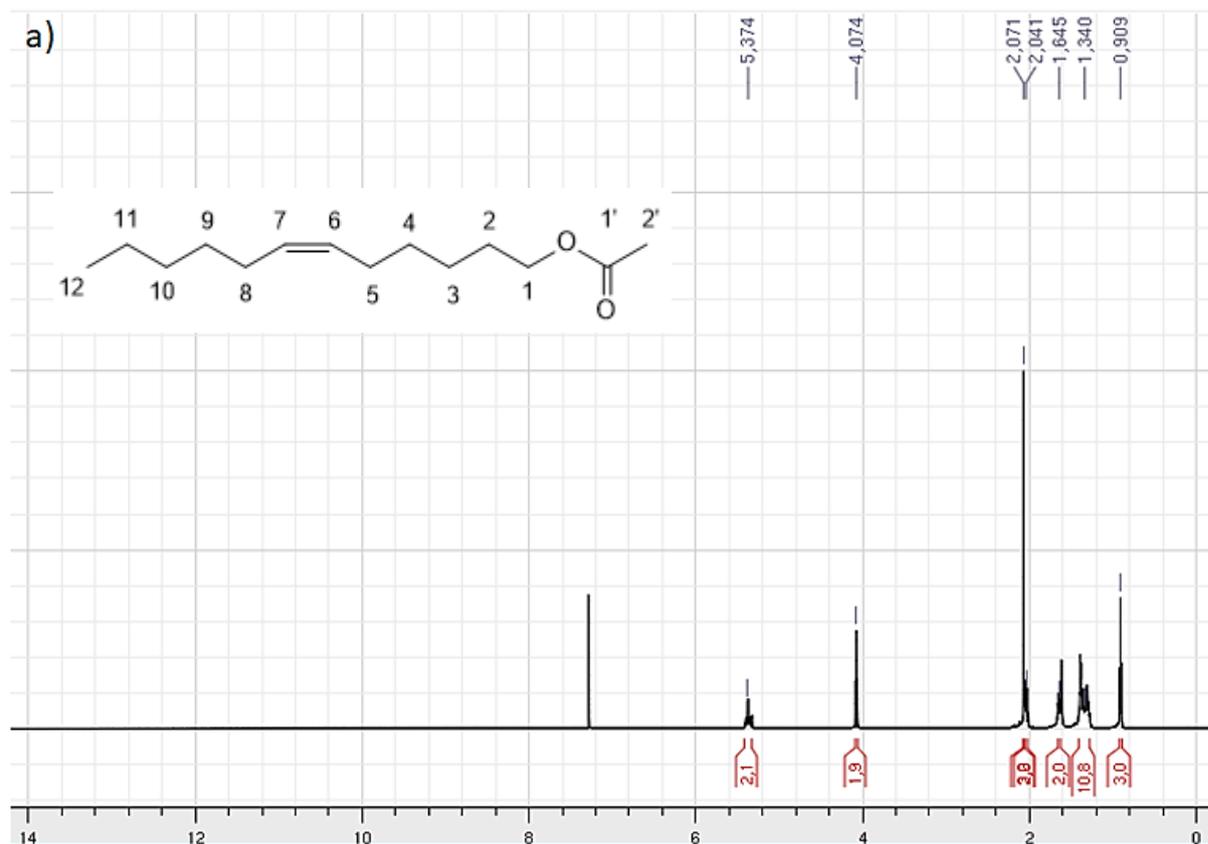
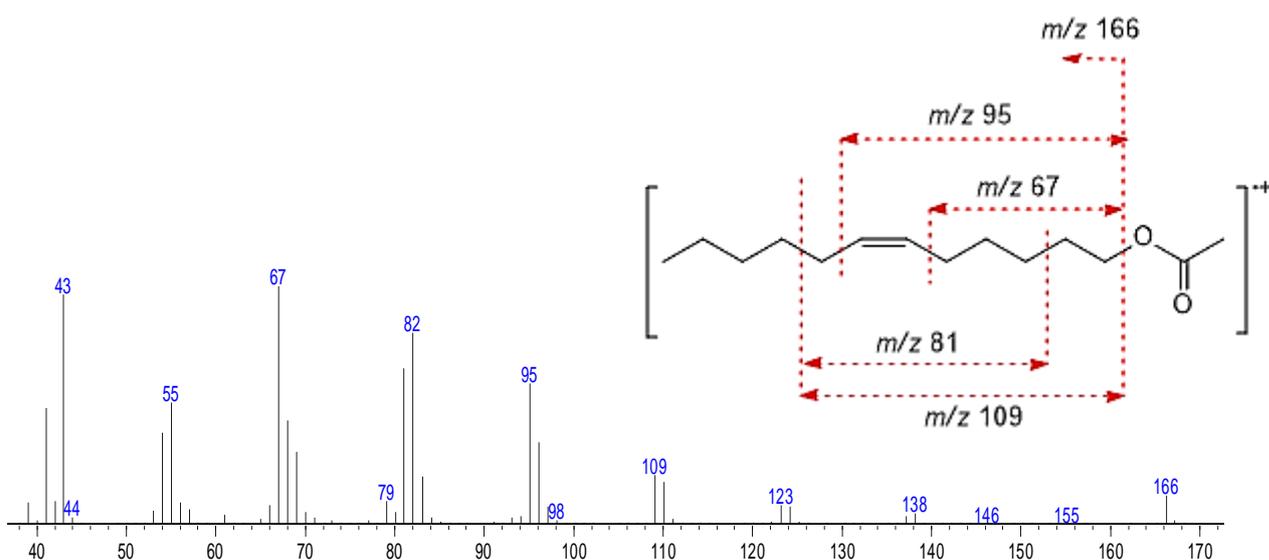


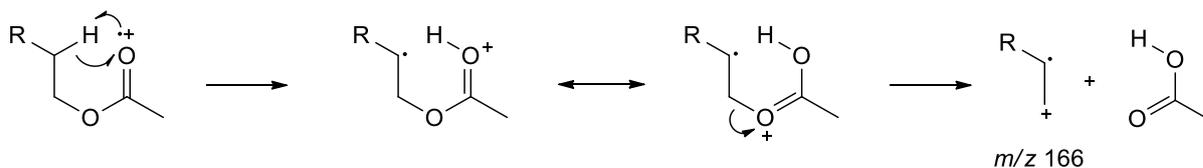
Figura 2.17 Continuação.



O espectro de massas (Figura 2.18) mostra o fragmento com  $m/z$  166 característico de rearranjo de McLafferty seguido por clivagem, ocorrendo a liberação de molécula neutra de ácido acético, conforme Esquema 2.5. Ainda, a formação dos íons com  $m/z$  109, 95, 81 e 67 pode ser explicada com base no padrão proposto anteriormente para o composto **1**. Além disso, o composto apresentou o íon diagnóstico  $m/z$  61 característico de acetatos e que corresponde ao ácido acético protonado ( $[\text{CH}_3\text{COOH}_2]^+$ ).

Figura 2.18. Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **2**.

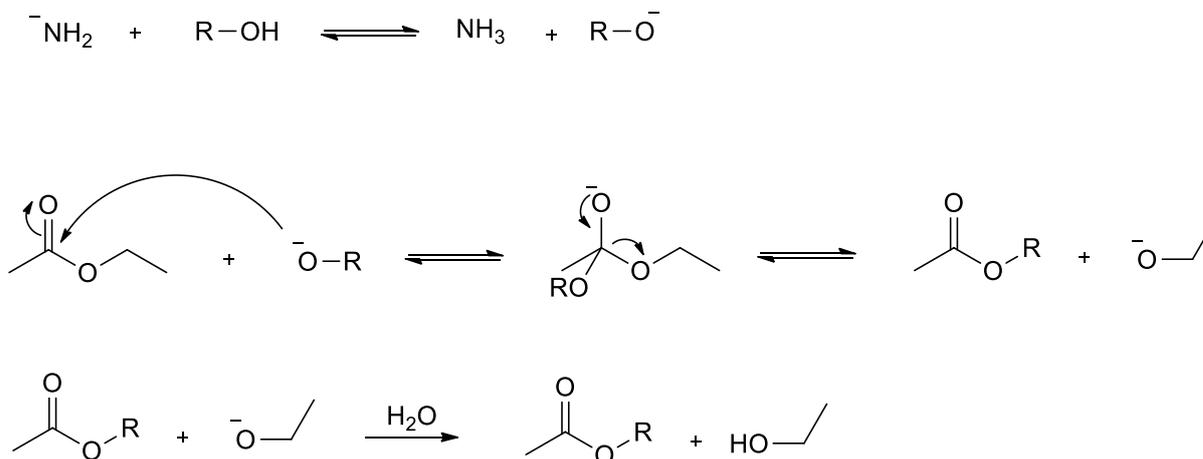
### Esquema 2.5 Mecanismo de formação do íon fragmento com $m/z$ 166



Adaptado de (MCLAFFERTY; TUREČEK, 1993).

Em contrapartida, o acetato **4** para a ligação dupla foi gerado por transesterificação após a redução parcial com sódio e amônia. A reação de redução gera amideto de sódio como produto colateral e, ao proceder com a adição de acetato de etila, foi possível transesterificar o álcool **3**. O procedimento foi baseado em método que utiliza *tert*-butóxido de potássio e acetato de etila para a transesterificação de álcoois primários (SINGHA; RAY, 2016). O mecanismo envolve o o ânion alcóxido correspondente do álcool **3**, formado a partir da reação com o amideto, e acetato de etila que foi adicionado em excesso ao término da reação de redução. O mecanismo envolve inicialmente uma reação típica entre ácido e base, havendo um equilíbrio entre a base e o alcóxido formado. A etapa seguinte consiste em uma reação de transesterificação, que é seguida pela remoção do etóxido através de tratamento com água, como ilustra o Esquema. 2.6.

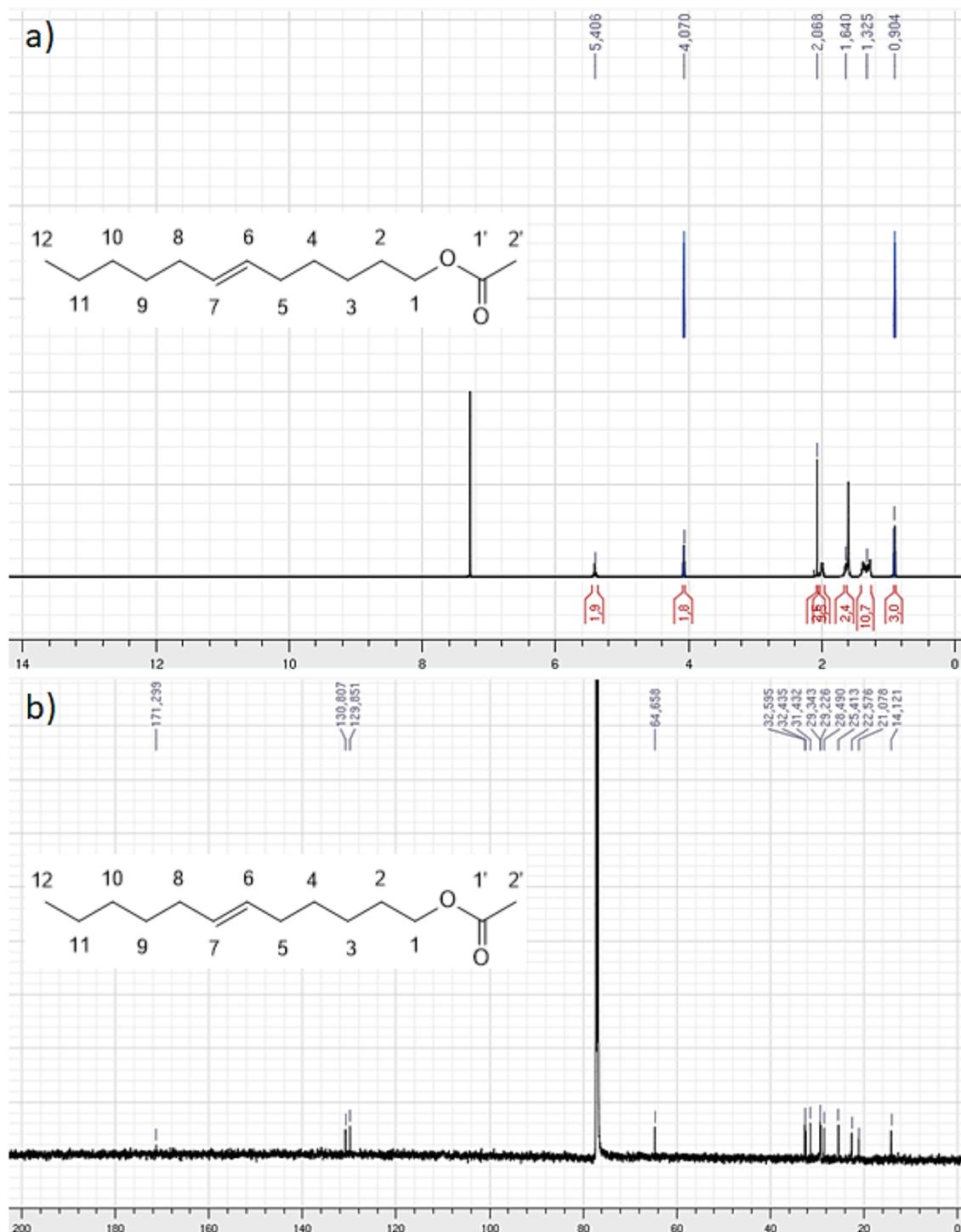
### Esquema 2.6 Mecanismo de transesterificação a partir do acetato de etila



Adaptado de Singha et al. (2016).

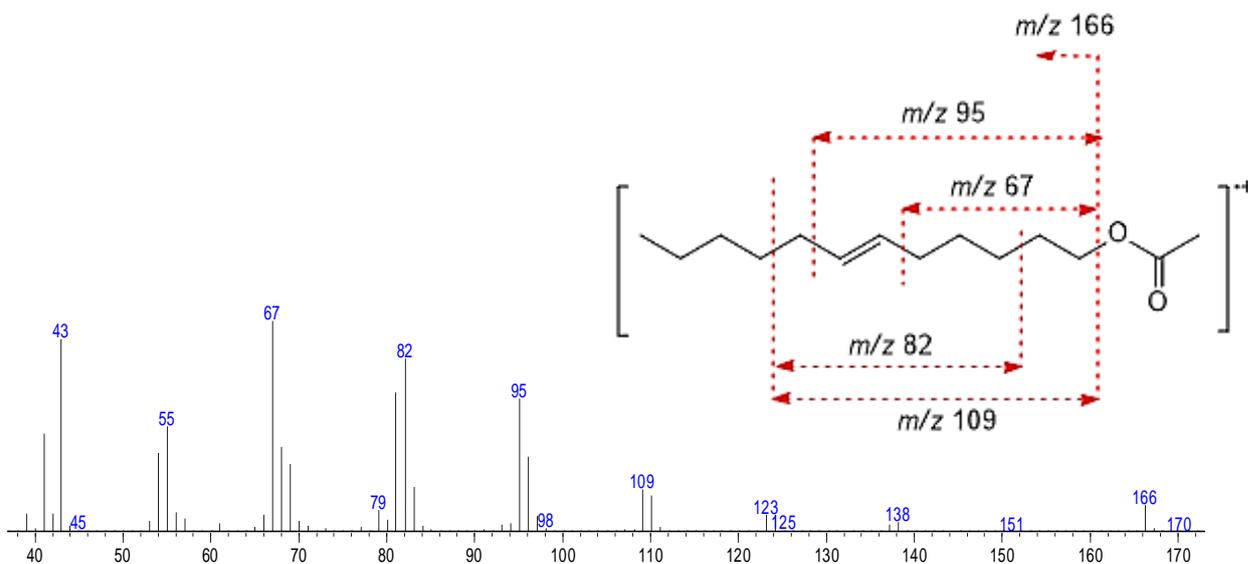
A análise de RMN de  $^1H$  (Figura 2.19a) para o acetato **4** mostra o singlete em do grupo acetil em  $\delta$  2,07 ppm integrado para 3 hidrogênios. Em adição, o carbono acílico é exibido em  $\delta$  171,30 ppm no espectro de RMN de  $^{13}C$  desse mesmo composto (Figura 2.19b).

Figura 2.19 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o acetato de (*E*)-dodec-6-em-1-ila (**4**) ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz e 125 MHz, respectivamente).



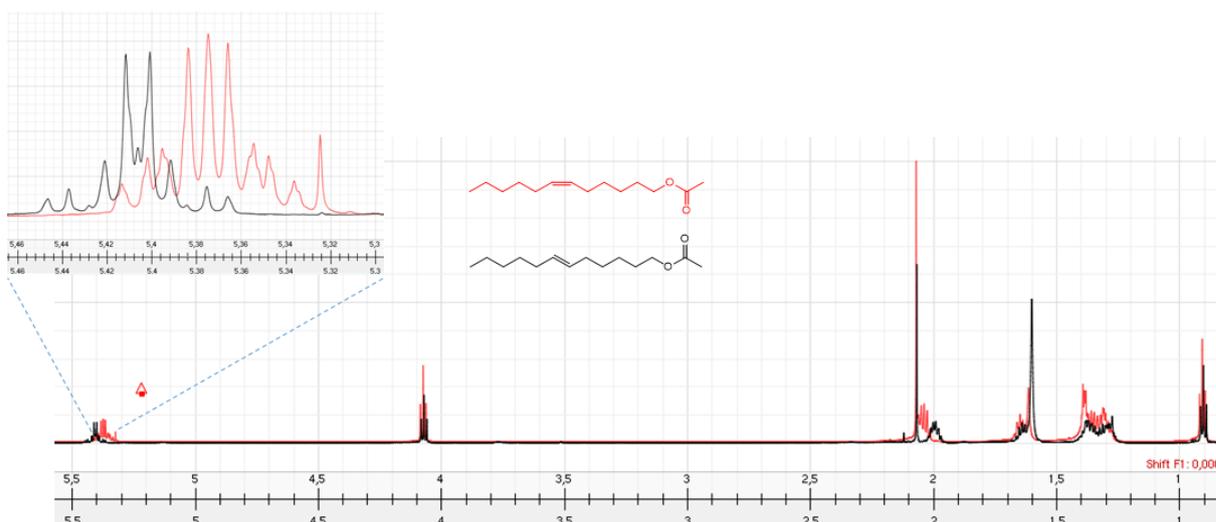
O espectro de massas do composto **4** (Figura 2.20) mostra o mesmo padrão de fragmentação que o composto **2**.

**Figura 2.20** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **4**.



A sobreposição dos espectros de hidrogênio de ambos os acetatos é mostrada na Figura 2.21, sendo possível observar os diferentes deslocamentos químicos dos hidrogênios olefínicos, já que no composto **2** eles aparecem na faixa de  $\delta$  5,34 – 5,41, enquanto que no acetato **4** eles são exibidos entre  $\delta$  5,36 – 5,45. Além disso, os hidrogênios alílicos também mostram ligeira diferença quanto aos deslocamentos químicos, aparecendo em  $\delta$  2,00 – 2,06 para o composto **2**, mas em  $\delta$  1,96 – 2,03 para o composto **4**.

**Figura 2.21** Sobreposição dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos acetatos **2** e **4**.



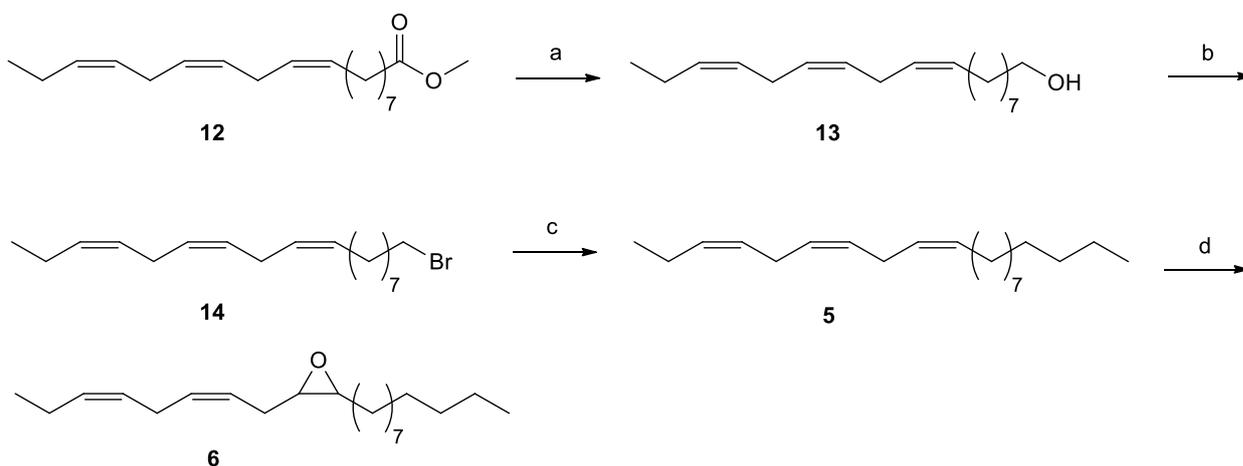
## 5.2 Síntese do componente feromonal de *H. taltula*

A obtenção do componente feromonal (*Z,Z*)-3,6-cis-9,10-epoxi-eicosadieno (**6**) foi feita a partir do ácido (9*Z*,12*Z*,15*Z*)-9,12,15-octadecatrienoico (ácido  $\alpha$ -linolênico), já que

este apresenta a estrutura olefínica desejada para a inserção do epóxido. O ácido poli-insaturado, por sua vez, foi obtido por meio da purificação do óleo de *Linum usitatissimum*, que apresenta esse ácido graxo como componente majoritário em sua constituição (ORSAVOVA et al., 2015). Para tanto, os triacilgliceróis presentes no óleo foram convertidos aos ácidos graxos correspondentes mediante hidrólise com NaOH, para posterior fracionamento por meio de cristalização à baixa temperatura para remover ácidos saturados e fornecer uma fração enriquecida com os os ácidos insaturados.

O procedimento de síntese ilustrado no Esquema 2.7 envolveu inicialmente a redução da mistura de ácidos insaturados, seguida por uma etapa de bromoção para gerar os haletos que foram utilizados subsequentemente em uma reação de substituição com o aduto de Grignard de três átomos de carbono para realizar a extensão da cadeia. Finalmente, o material obtido foi epoxidado para fornecer uma mistura de regioisômeros e seus respectivos enantiômeros *cis*, que são produtos do mecanismo estereoespecífico de adição *sin*. O rendimento global para a síntese da mistura de enantiômeros do epóxido de interesse foi de 6,3%.

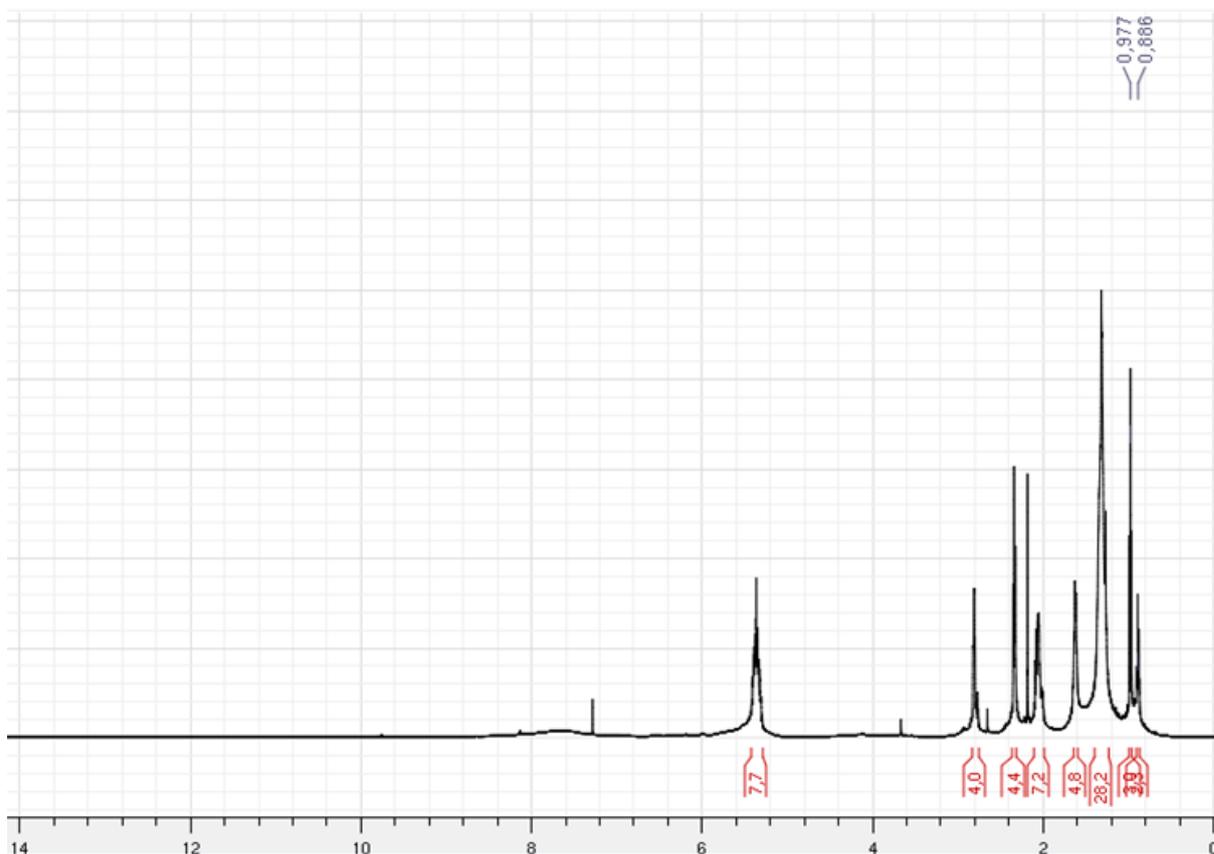
**Esquema 2.7** Rota sintética empregada para a obtenção dos componentes feromonais de *H. taltula*.



(a) LiAlH<sub>4</sub>, THF, refluxo, 82%; (b) NBS, PPh<sub>3</sub>, DCM, 57%; (c) Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>, THF, 0°C, RMgX, 75%; (d) mCPA, DCM, 0°C, 18%.

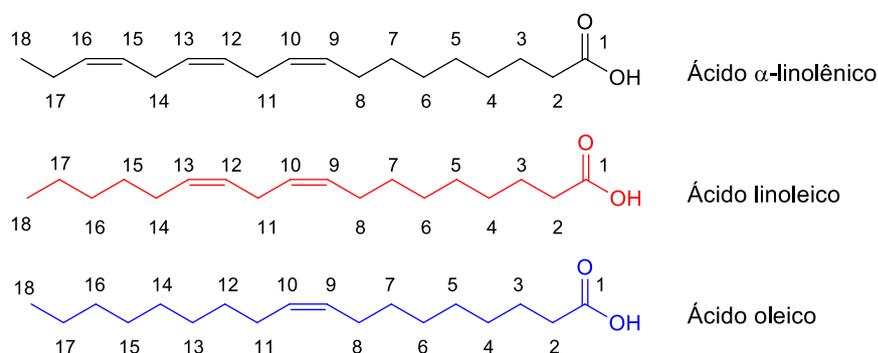
O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 2.22) exhibe os sinais para a mistura contendo os ácidos linolênico, linoleico e oleico. Sendo assim, os dados de RMN de <sup>1</sup>H foram agrupados na Tabela 2.2 para melhor apresentação, juntamente com as respectivas estruturas.

Figura 2.22 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a mistura de ácidos insaturados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).



Excetuando-se os sinais referentes aos hidrogênios  $\omega$  da cadeia dos ácidos, todos os outros picos aparecem sobrepostos. Com base nas integrais dos grupamentos metílicos é possível estimar a proporção do ácido linolênico em relação à mistura dos outros dois ácidos como sendo de 3:2. Os sinais referentes aos hidrogênios bisalílicos das posições H(11) e H(14) são exibidos como multipletos em  $\delta$  2,75 – 2,83. Por outro lado, os hidrogênios das posições alílicas aparecem em  $\delta$  1,99 – 2,11. Os hidrogênios metilênicos em posição  $\alpha$  à carboxila se apresentam como um triplete em  $\delta$  2,34, enquanto aqueles em  $\beta$  são exibidos como um multiplete em  $\delta$  1,59 – 1,64. Os hidrogênios olefínicos são encontrados no multiplete em  $\delta$  5,29 – 5,42. Finalmente, os sinais em  $\delta$  1,23 – 1,40 se referem aos hidrogênios metilênicos das outras posições.

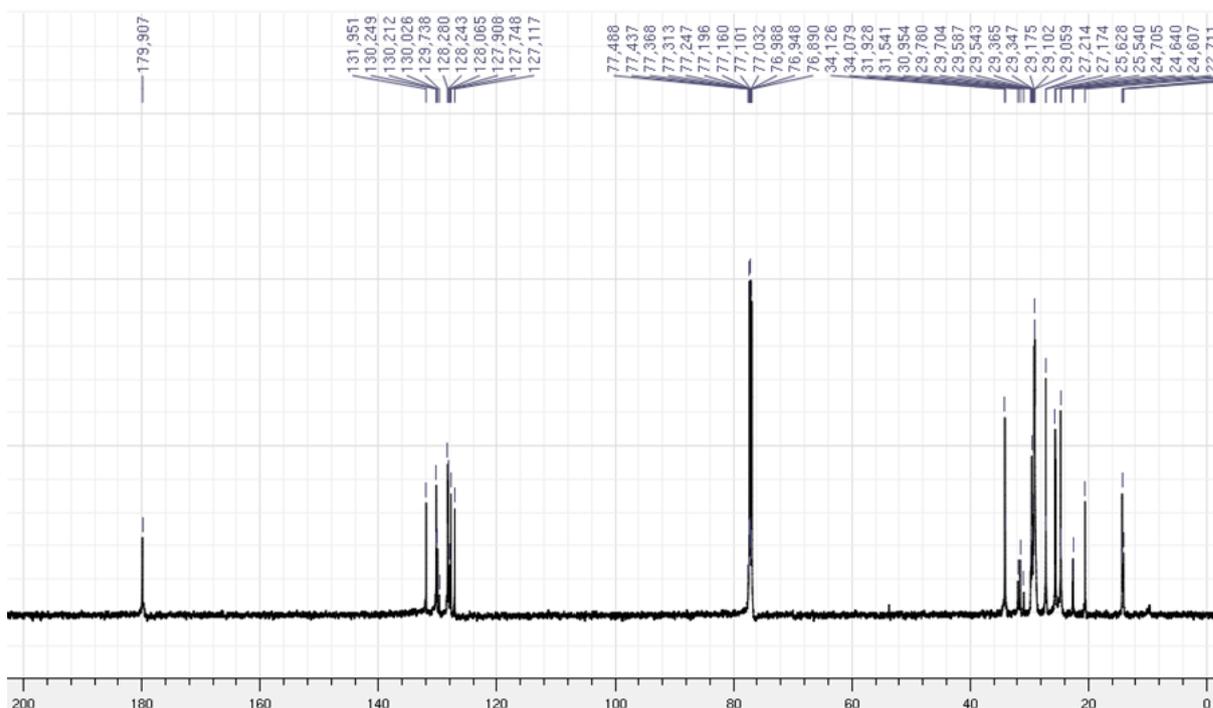
**Tabela 2.2** Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  para a mistura de ácidos insaturados do óleo de linhaça



Deslocamento	Átomos	Integral Esperada (1:1:1)	Integral Observada
0,87	H(18), H(18)	6	2
0,98	H(18)	3	3
1,23 – 1,40	H(4-7), H(4-7), H(15-17), H(4-7), H(12-17)	42	28
1,59 – 1,64	H(3), H(3), H(3)	6	4
1,99 – 2,11	H(8), H(17), H(8), H(14), H(8), H(11)	12	7
2,31 – 2,36	H(2), H(2), H(2)	6	4
2,75 – 2,83	H(11), H(14), H(11)	6	4
5,29 – 5,42	H(9), H(10), H(9), (H10), H(12), H(13), H(9), (H10), H(15), H(16)	12	7

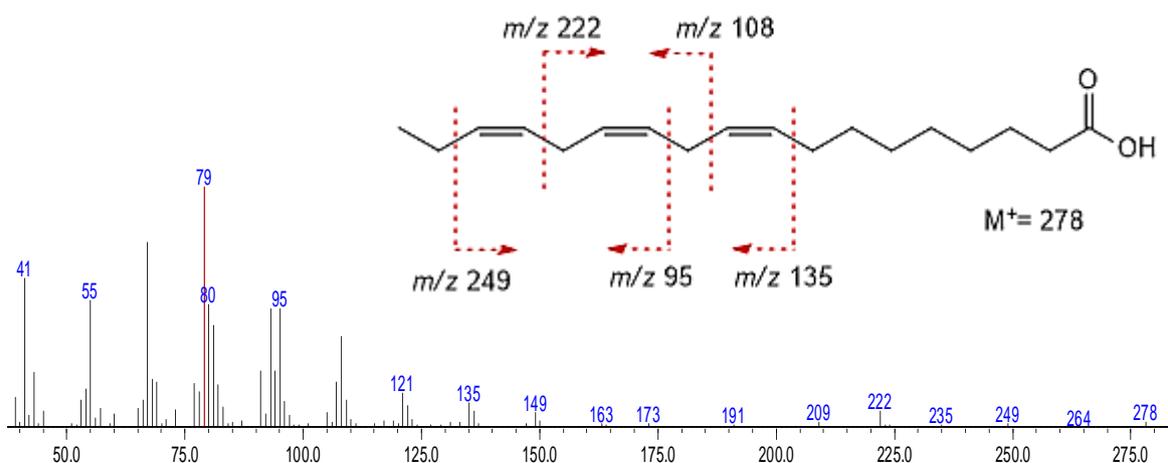
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.23) mostra os carbonos olefínicos do ácido linolênico em  $\delta$  127,1, 127,7, 128,2, 128,2, 130,2 e 131,9 ppm. O carbono do grupo carboxila é exibido em  $\delta$  179,9 ppm, enquanto o carbono metílico aparece em  $\delta$  14,3 ppm.

**Figura 2.23** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a mistura de ácidos insaturados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).

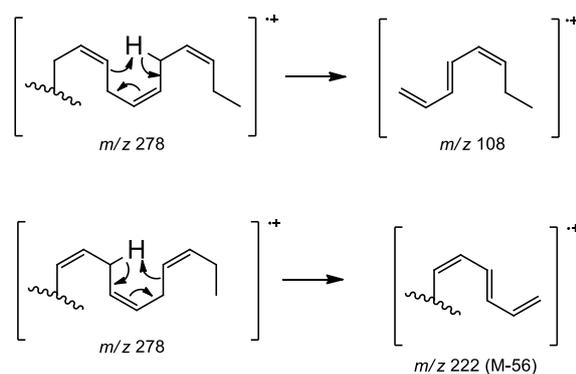


O espectro de massas (Figura 2.24) também mostra o pico do íon molecular com  $m/z$  278. Além disso, para essa classe de compostos poli-insaturados, um pico com  $m/z$  108 define uma ligação dupla terminal n-3 em um sistema homoconjugado (DOBSON; CHRISTIE, 2002; FELLEBERG et al., 1987; HOLMAN; RAHM, 1971). Esse íon é formado a partir de rearranjo de hidrogênio  $\gamma$  da posição C(14) e ruptura da ligação entre as posições C(10) e C(11), dando origem a um sistema conjugado que estabiliza a carga positiva, conforme Esquema 2.8. Se o hidrogênio  $\gamma$  da posição C(11) sofrer rearranjo, a ruptura ocorre na ligação entre C(14) e C(15) e o sistema conjugado é formado no lado oposto da molécula, dando origem ao fragmento M-56, que corresponde ao íon com  $m/z$  222 para o ácido linolênico (BRAUNER; BUDZIKIEWICZ; BOLAND, 1982). Além disso, o pico base em  $m/z$  79 é característico de trienos e outros polienos homoconjugados com configuração *Z* para as ligações duplas (HEJAZI; HIBBERT; EBRAHIMI, 2011; MJ; PETERSEN, 2003). Há várias especulações sobre a formação desse íon, embora nenhuma tenha sido confirmada. Alguns mecanismos sugeridos envolvem os íons com  $m/z$  222 e  $m/z$  108 após uma etapa de clivagem  $\alpha$ , podendo ocorrer a formação do cátion cicloexadienílio por meio de fechamento de anel (APARAMARTA et al., 2018; HEJAZI et al., 2009). Outros fragmentos representativos do ácido  $\alpha$ -linolênico correspondem àqueles em  $m/z$  249, 135 e 95 que derivam da clivagem  $\alpha$  em relação às ligações duplas.

Figura 2.24 Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 12.

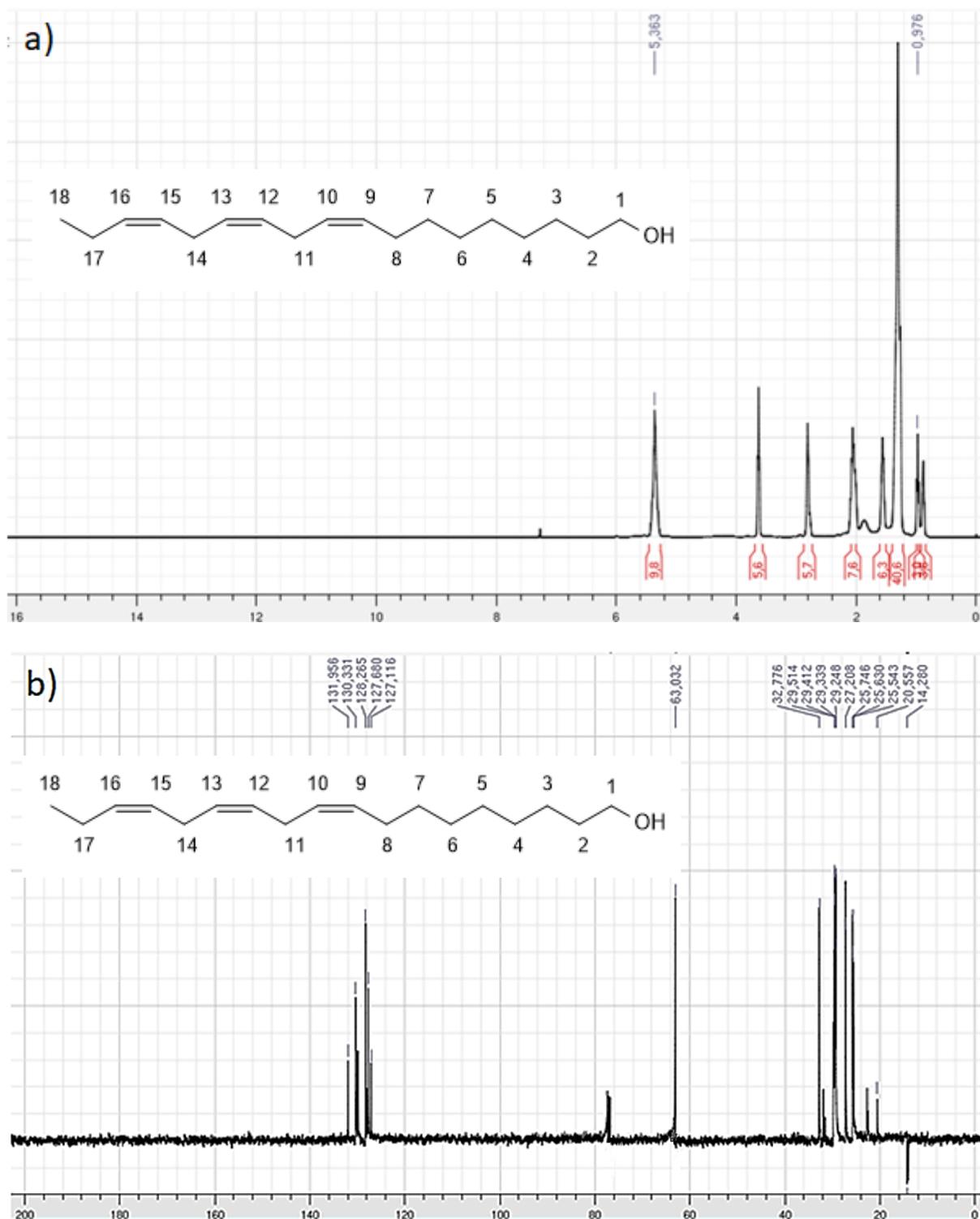


Esquema 2.8 Mecanismo de fragmentação de massa do ácido  $\alpha$ -linolênico



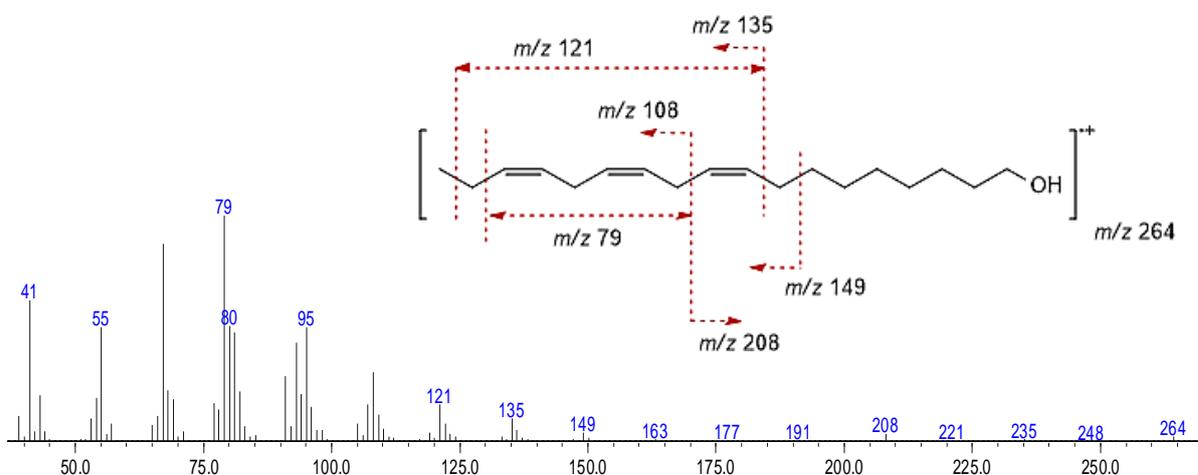
A redução dos ácidos graxos insaturados do óleo de linhaça aos álcoois correspondentes foi alcançada por meio do uso de  $\text{LiAlH}_4$  em refluxo de THF. O rendimento obtido nessa etapa foi de 82% com base na massa do álcool linolênico. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de álcoois (Figura 2.25a) mostra os hidrogênios carbinólicos para a mistura de álcoois como um multiplete em  $\delta$  3,59 – 3,66. O deslocamento no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.25b) exhibe o sinal do carbono oxigenado em  $\delta$  63,0.

Figura 2.25 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  a mistura de álcoois insaturados derivados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente).



O espectro de massas (Figura 2.26) também mostra a presença do íon molecular com  $m/z$  264, além do íon M-56, com  $m/z$  208, que resulta do rearranjo de hidrogênio  $\gamma$  seguido por rompimento da ligação entre C(14) e C(15), um padrão de fragmentação particular de sistema homoconjugado  $\omega$ -3,6,9.

**Figura 2.26** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 13.



A reação de bromação foi feita por meio da reação de Appel adaptada (HANESSIAN; PONPIPOM; LAVALLEE, 1972), empregando NBS ao invés de tetra-halometanos para ativar a trifenilfosfina e permitir o ataque do oxigênio hidroxílico sobre o fósforo para gerar o intermediário oxifosfônio. Digno de nota é o fato de que a reação deve proceder ao abrigo da luz para evitar a bromação alílica do álcool, formando produtos colaterais que, além de reduzir significativamente o rendimento, tornam difícil a purificação da molécula de interesse. A RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.27) da mistura de brometos indica a presença dos hidrogênios adjacentes ao heteroátomo em  $\delta$  3,42 como um tripleto enquanto o átomo de carbono correspondente aparece em  $\delta$  33,99 no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 2.28).

Figura 2.27 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de brometos insaturados derivados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).

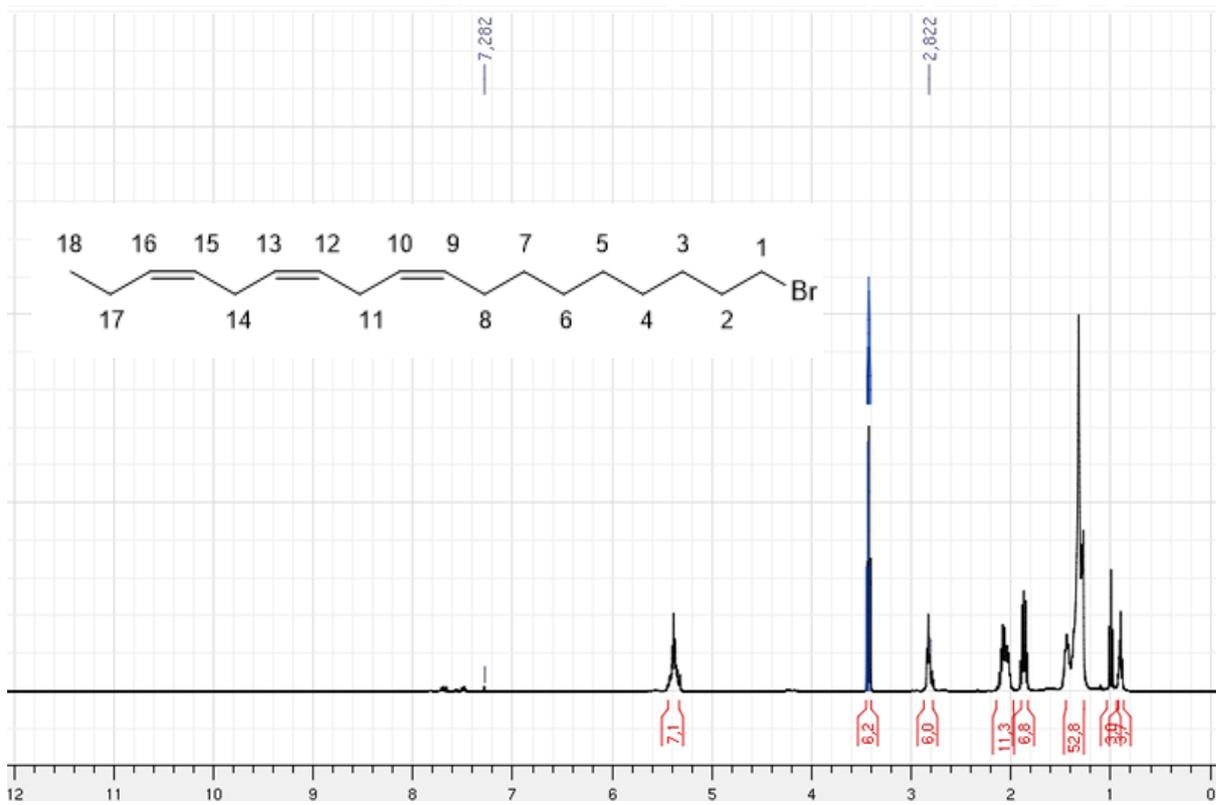
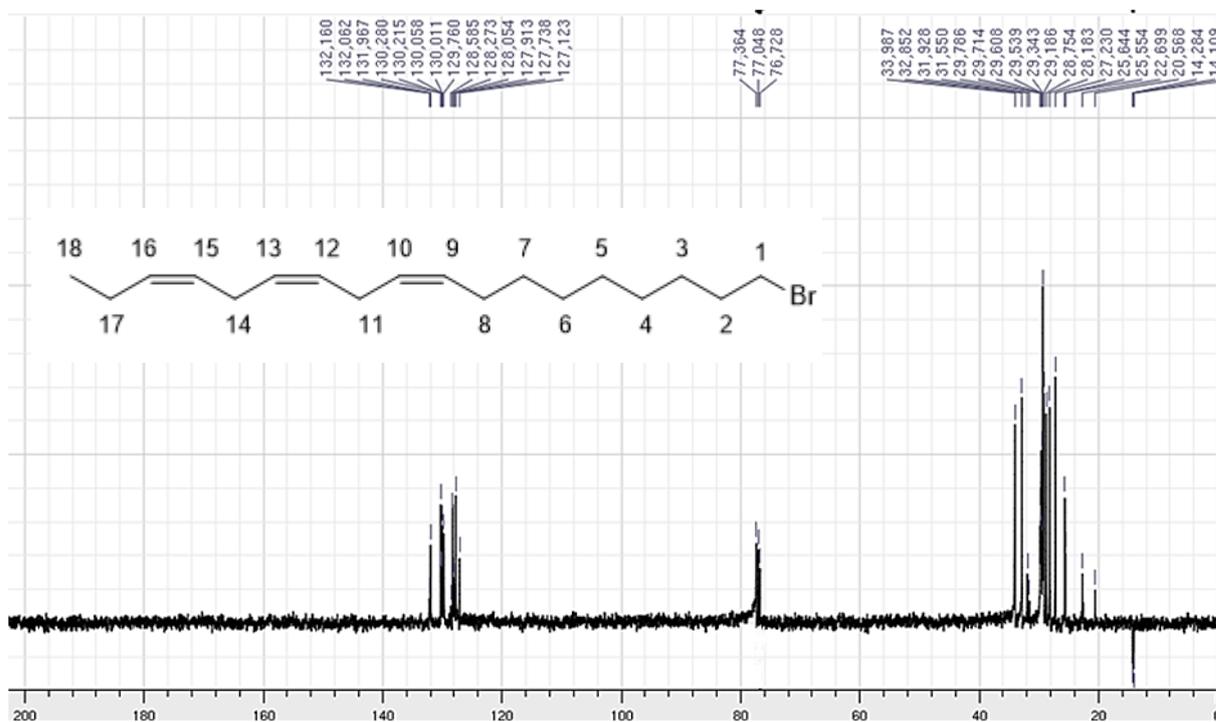
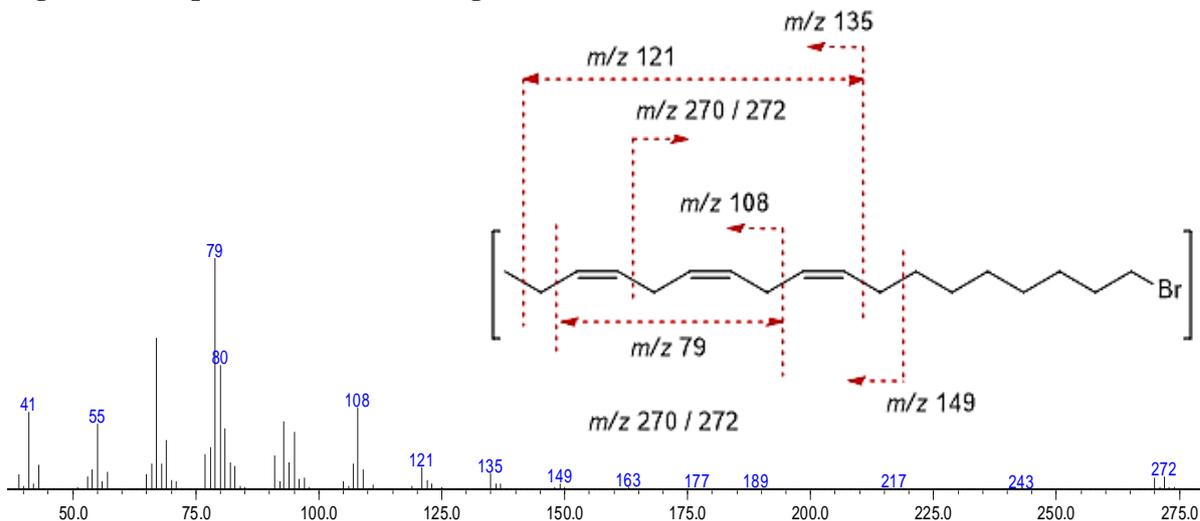


Figura 2.28 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mistura de brometos insaturados derivados do óleo de linhaça ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).



Novamente, o espectro de massas mostra a formação do fragmento M-56 para cada uma das contribuições isotópicas do átomo de bromo em  $m/z$  270 e 272 (Figura 2.29). O padrão de fragmentação é similar aos precursores, apresentando os íons com  $m/z$  149, 135, 121, 108 e 79.

**Figura 2.29** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto 14.



Para a extensão da cadeia, procedeu-se com a reação de substituição usando o aduto de Grignard de três átomos de carbono formado a partir do bromopropano de modo que o uso posterior de quantidades catalíticas de  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$  permitiu a obtenção do produto de acoplamento. O emprego de cobre como catalisador de reações de substituição por reagentes de Grignard é um procedimento descrito originalmente por Tamura e Kochi (1971). Os autores descreveram o uso do sal de cobre solúvel em solventes orgânicos, tetraclorocuprato de dilítio, como catalisador de acoplamentos cruzados entre brometos de alquila e reagentes de Grignard. O procedimento foi posteriormente aplicado a diversos sulfonatos, incluindo tosilatos (FOUQUET; SCHLOSSER, 1974; TAMURA; KOCHI, 1971).

Contudo, a reação se provou difícil de trabalhar, pois ou não havia a formação de produtos, ou ocorria a formação de uma mistura contendo o produto de acoplamento e os produtos de desproporcionamento, dando origem a uma olefina terminal e o seu respectivo alceno. A investigação sobre a cinética e mecanismo da reação entre o brometo de etilmagnésio e o bromoetano mostrou que a reação procede através da formação de um intermediário de alquicobre(I) e que o desproporcionamento predomina a temperaturas mais elevadas, sendo necessário temperaturas mais baixas para obter o produto de acoplamento cruzado (TAMURA; KOCHI, 1972).

Entretanto, foi observado que, mesmo a baixas temperaturas, a reação tende a não ocorrer devido à precipitação do aduto de Grignard, sendo necessário diluir consideravelmente os reagentes no meio reacional, em um processo que foi otimizado a partir de mais de 50 repetições para encontrar as melhores condições. A Tabela 2.3 mostra alguns dos resultados mais significativos desse processo. Quando a reação é executada à temperatura elevada (ACP13, ACP14, ACP15, ACP6), os resultados são difíceis de reproduzir, havendo uma variação entre a proporção da mistura contendo o produto de acoplamento e de desproporcionamento. Além disso, o resultado depende também da velocidade de adição dos reagentes (ACP14, ACP16). A proporção é geralmente maior para o produto de acoplamento à temperatura ambiente (ACP22, ACP23, ACP25), embora a reação não tenha ocorrido em todos os casos (ACP20, ACP21). Em banho de gelo e sob alta concentração (ACP17, ACP19), a reação não procede já que ocorre precipitação do aduto de Grignard. O melhor resultado (ACP53) foi aquela executada em banho de gelo com elevada diluição, além de envolver o acréscimo do aduto de Grignard sobre a solução contendo o brometo e o tetraclorocuprato de dilítio.

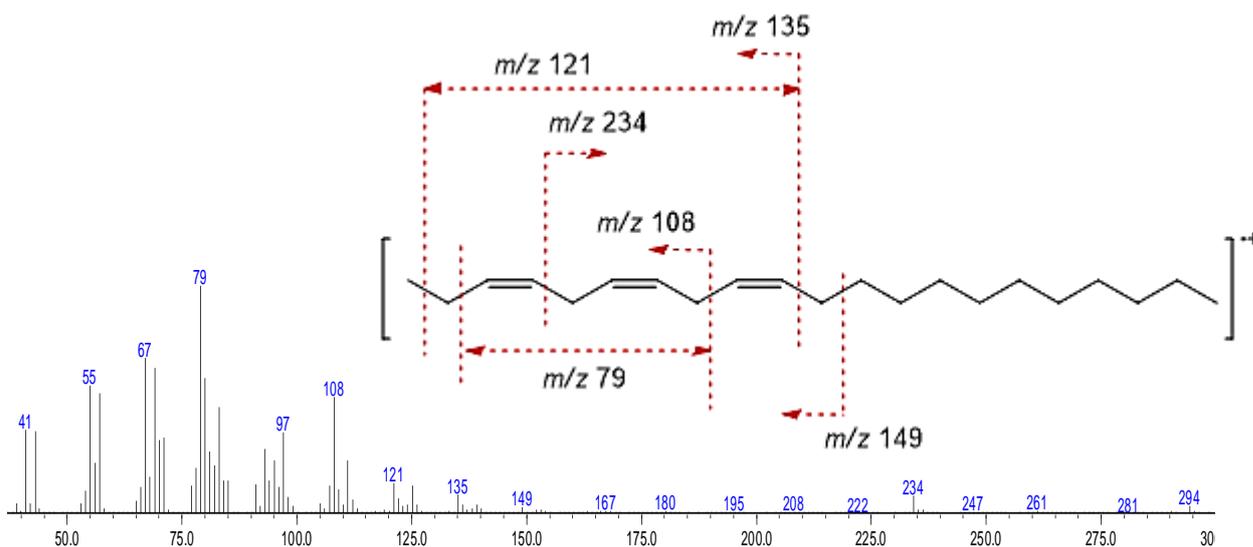
**Tabela 2.3 Procedimentos de otimização na reação de substituição do brometo (14) por reagente de Grignard**

Procedimento	Tempo (h)	Produto obtido	Proporção (% área CG)	Temperatura	Observações
ACP13	24	HC1+HC2	45:55	Refluxo	
ACP14	24	HC2+PP	20:80	Refluxo	Adição lenta do haleto
ACP15	3	HC1+HC2	79:21	Refluxo	
ACP16	4	HC1+HC2	29:71	Refluxo	Adição lenta do haleto
ACP17	3	HC2+PP	37:63	Banho de gelo	
ACP19	5	HC2+PP	11:89	Banho de gelo	
ACP20	12	HC2+PP	47:53	T.A.	
ACP21	12	HC2+PP	55:45	T.A.	
ACP22	22	HC1+HC2	25:75	T.A.	
ACP23	22	HC1+HC2	33:67	T.A.	
ACP24	24	HC1+HC2	45:55	T.A.	
ACP53	24	HC1+HC2	3,5:96,5	Banho de gelo	Diluição considerável, aduto sobre haleto

HC1 – produto de desproporcionamento; HC2 – produto de acoplamento; PP – produto de partida.

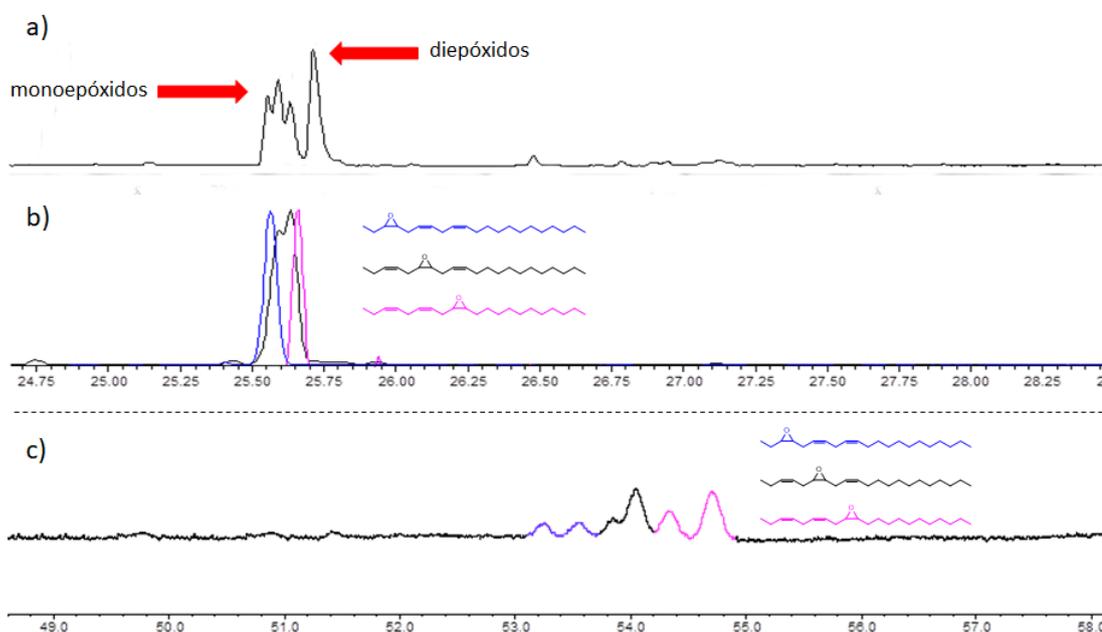
O espectro de massas do composto **5** (Figura 2.30) mostra a presença do fragmento com M-56, com  $m/z$  234 e o mesmo padrão de fragmentação dos precursores também pode ser visualizado, já que os mesmos íons são encontrados.

**Figura 2.30** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **5**.



A mistura de regioisômeros epoxidados e seus respectivos enantiômeros foi obtida a partir de oxidação com *m*CPBA em DCM. A análise da mistura por CG-EM mostrou a formação dos três regioisômeros dos monoepóxidos, além de uma mistura contendo diepóxidos. A análise por cromatografia em coluna quiral de  $\beta$ -ciclodextrina mostra os seis enantiômeros dos monoepóxidos, conforme ilustrado na Figura 2.31. Os pares enantioméricos dos monoepóxidos foram purificados por cromatografia líquida de alta eficiência em mistura de metanol e água, com rendimento de 18% para o (*Z,Z*)-3,6-*cis*-9,10-epoxi-henicosadieno.

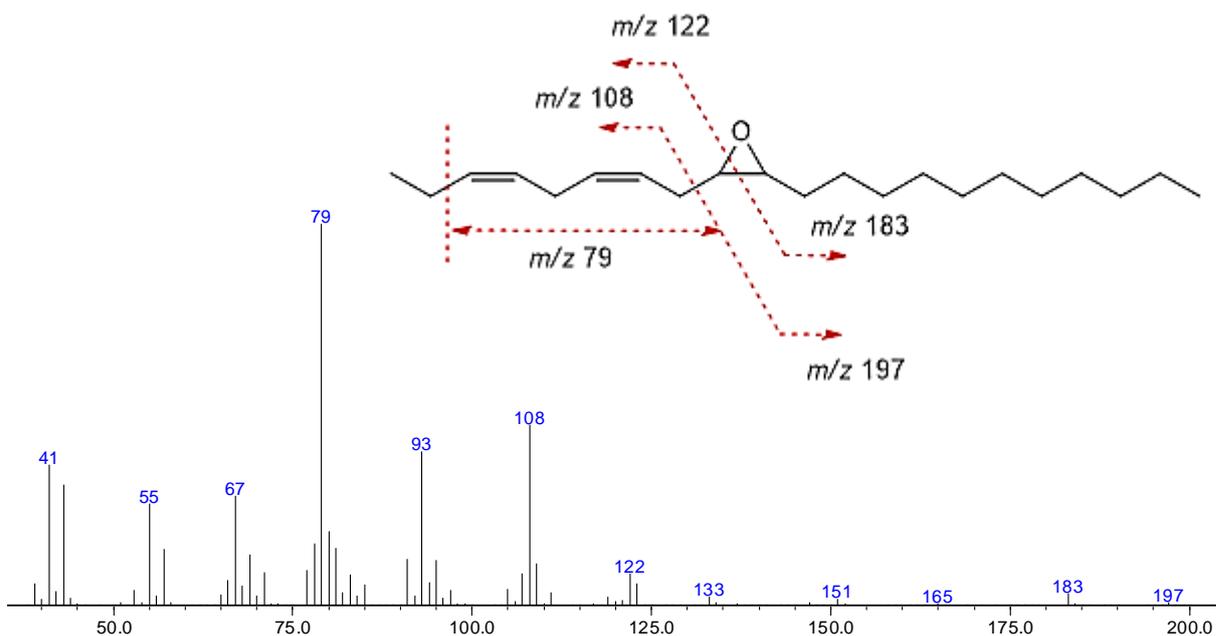
**Figura 2.31** Análise por cromatografia gasosa da mistura de epóxidos derivados do (Z3,Z6,Z9)-hencosatrieno.



a) Cromatograma de íons totais da mistura de monoepóxidos e diepóxidos em coluna NST-5; b) sobreposição dos cromatogramas de íons totais dos monoepóxidos em coluna NST-5 após purificação por CLAE; c) cromatograma da mistura de monoepóxidos em coluna de  $\beta$ -ciclodextrina.

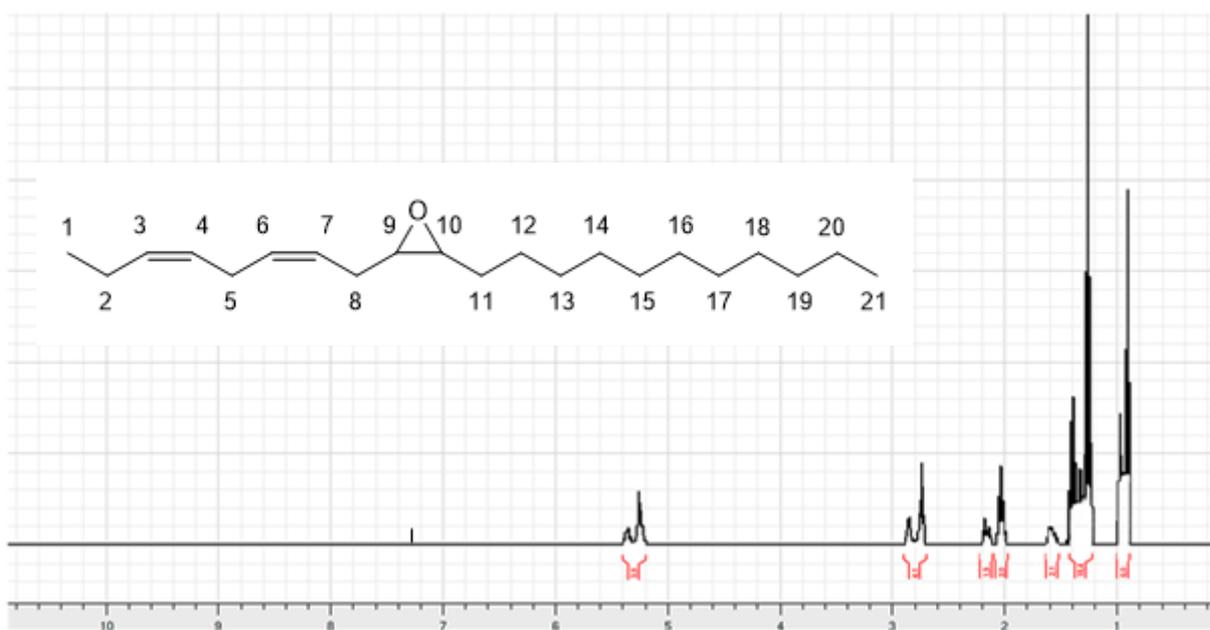
A espectrometria de massas mostra que 3Z,6Z-*cis*-9,10-epóxidos são caracterizados por um pico base com  $m/z$  79, um pico intenso com  $m/z$  108 fragmento devido à fragmentação precedida de rearranjo de hidrogênio  $\gamma$ , e um íon mais fraco, mas distinto com  $m/z$  122 do rearranjo do epóxido e da clivagem de  $[C_9H_{14}]^+$  (Figura 2.32).

**Figura 2.32** Padrão de fragmentação (*Z,Z*)-3,6-*cis*-9,10-epoxi-henicosadieno.



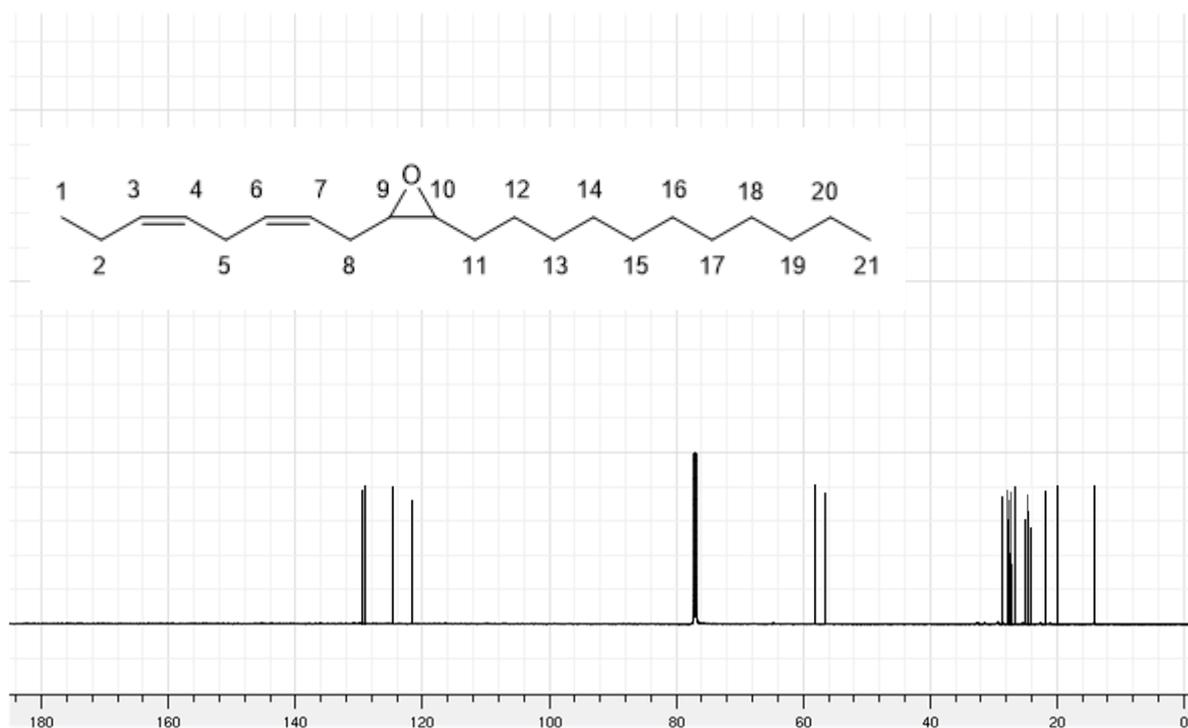
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 2.33) mostra a presença dos hidrogênios metínicos do epóxido, desblindados pela polarização dos elétrons que resulta da diferença de eletronegatividade do oxigênio, em  $\delta$  2,90 – 2,94 e  $\delta$  2,77 – 2,81, embora nessa última faixa ocorra sobreposição com o sinal dos hidrogênios metilênicos da posição bisalílica.

**Figura 2.33** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do (*Z,Z*)-3,6-*cis*-9,10-epoxi-henicosadieno ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).



A RMN de  $^{13}\text{C}$ , por sua vez, exibe os sinais referentes aos átomos de carbono do epóxido em  $\delta$  56,61 e  $\delta$  58,66 ppm, conforme ilustrado na Figura 2.34.

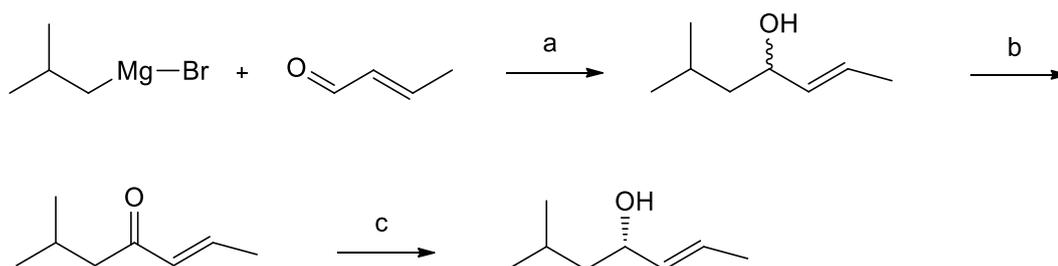
**Figura 2.34** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do (Z,Z)-3,6-cis-9,10-epoxi-henicosadieno ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).



### 5.3 Avaliação da rota para síntese enantiosseletiva do rincoforol

A rota estabelecida para a síntese enantiosseletiva do rincoforol envolve a formação de uma mistura enantiomérica do rincoforol por meio da reação de Grignard entre o crotonaldeído e o brometo de isobutilmagnésio (NAVARRO et al., 2002). Então, o produto foi posteriormente oxidado com manganato de bário para formar a enona correspondente. A etapa chave é a redução de Corey-Bakshi-Shibata, em que a reação foi realizada com um complexo de borano em presença do catalisador de oxazaborolidina quiral de configuração apropriada para formar o (S)-rincoforol, conforme o Esquema 2.9.

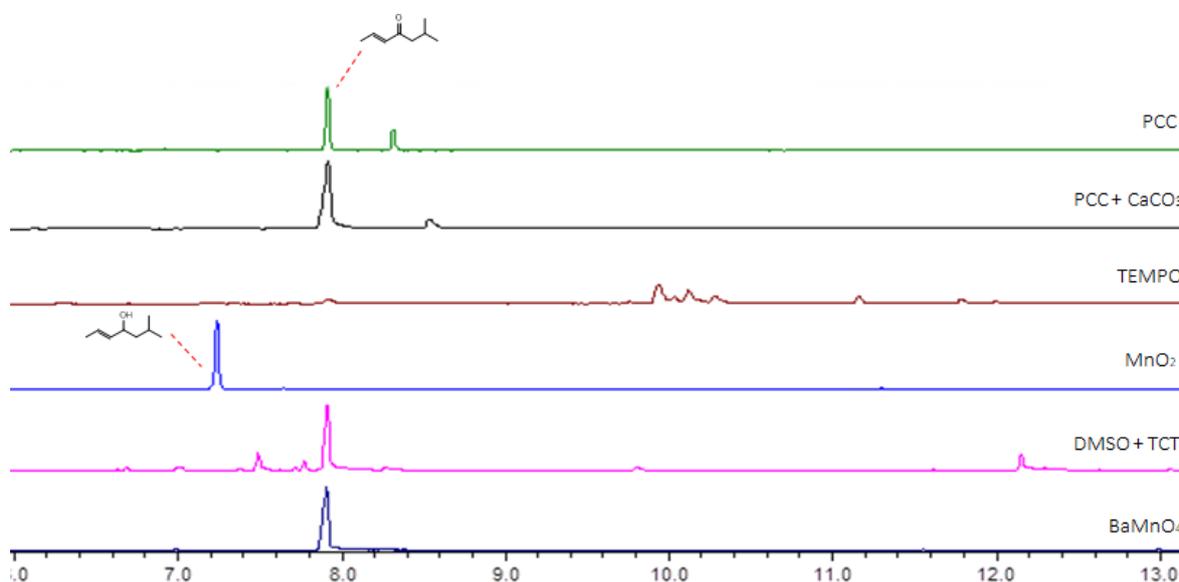
**Esquema 2.9 Rota de síntese assimétrica do (S)-rincoforol partindo da mistura racêmica**



(a) THF; (b) BaMnO<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (c) (*R*)-(+)-2-metil-CBS-oxazaborolidina, BH<sub>3</sub>.DMS, THF

A mistura de enantiômeros do rincoforol foi então submetida à oxidação por diferentes metodologias para comparação dos rendimentos e da complexidade de purificação, já que o rincoforol decompõe ao ser submetido à cromatografia em sílica gel. Os melhores resultados de cada método são apresentados nos cromatogramas de íons totais ilustrados na Figura 2.35. As análises cromatográficas para os vários métodos de oxidação são mostradas foram executadas na concentração de 500 ppm do material recuperado em cada procedimento.

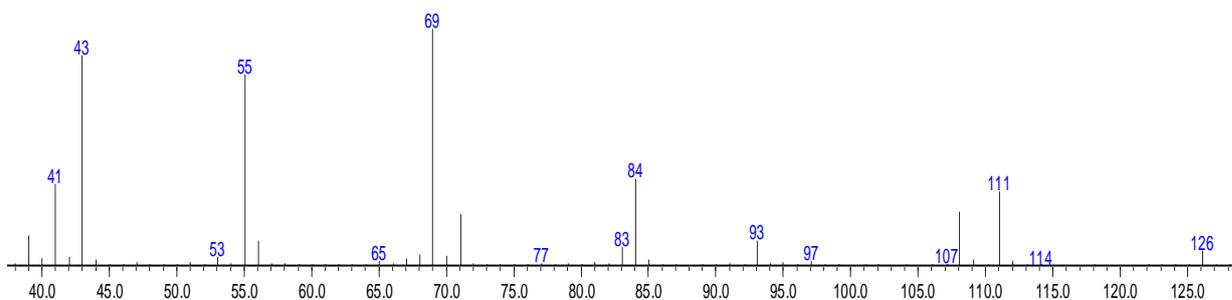
**Figura 2.35 Análises cromatográficas dos diferentes métodos de oxidação da mistura racêmica de rincoforol para fins comparativos.**



O reagente selecionado inicialmente para a oxidação foi o PCC. A reação procede por um período de 6 horas até consumir por completo o material de partida em diclorometano seco. Contudo, a análise por CG-EM mostrou a formação concomitante de um produto colateral não identificado, cujo espectro de massas é mostrado na Figura 2.36. Para verificar se a formação desse produto secundário estava relacionada com migração da ligação dupla,

carbonato de cálcio foi adicionado ao meio reacional, já que esse sal se provou ser particularmente útil para evitar a migração durante a oxidação de álcoois homoalíficos (SETO et al., 2000). Entretanto, não houve nenhum efeito significativo sobre a formação do produto.

**Figura 2.36** Espectro de massas do composto não identificado formado a partir de oxidação da mistura racêmica de rincoforol com PCC .



Algumas tentativas de oxidação com o TEMPO foram executadas como alternativa ao PCC, mas em nenhuma delas houve formação da cetona de interesse em quantidades apreciáveis, além de resultar na formação de uma mistura de vários subprodutos.

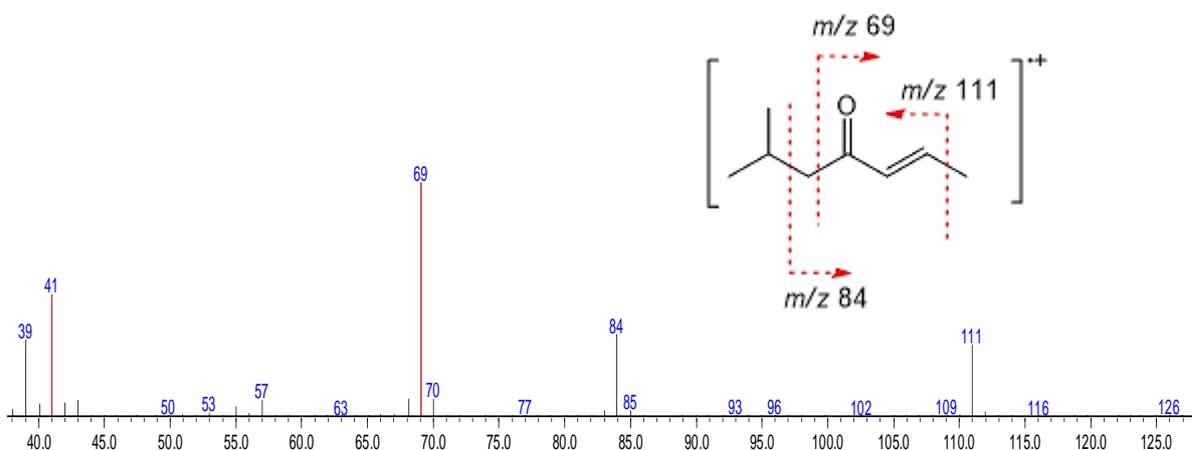
Quando dióxido de manganês foi usado como agente oxidante, quantidades ínfimas da cetona foram obtidas. É relatado que o poder oxidante do  $MnO_2$  depende extensivamente do método de preparação do material. Assim, a sua reatividade pode variar desde a forma de pirolusita, mineral cristalino que é quase completamente incapaz de oxidar álcoois à temperatura ambiente, a formas altamente ativas que devem ser manuseadas com cautela já que podem provocar a ignição espontânea de solventes orgânicos (TOJO; FERNÁNDEZ, 2006). Apesar dos esforços para ativação do óxido de metal adquirido comercialmente, que incluíram tratamento com solução diluída de ácido nítrico, secagem em estufa a  $120^\circ C$  e irradiação com ultrassom, o material de partida foi recuperado majoritariamente inalterado após 48 horas de tentativa de reação.

Uma adaptação do procedimento de oxidação de Swern que usa TCT para ativar o DMSO foi empregada mas, apesar de ocorrer formação considerável da cetona, a presença de outras impurezas torna a etapa de purificação mais complexa. Em contrapartida, o método que apresentou melhor perfil para a etapa de oxidação foi o uso de manganato de bário. Assim como o dióxido de manganês, esse reagente apresenta elevada seletividade para a oxidação de álcoois alíficos, mas diferentemente do anterior, não precisa passar por processo de ativação e gera resultados mais reprodutíveis. O manganato de bário foi preparado de acordo com o procedimento descrito na seção experimental e, quando usado como uma suspensão em DCM,

promove oxidação de todo o material de partida, sem formação de nenhum outro produto colateral. Em adição, a filtração em Celite® permite remover facilmente o sólido residual e obter a cetona com elevada pureza.

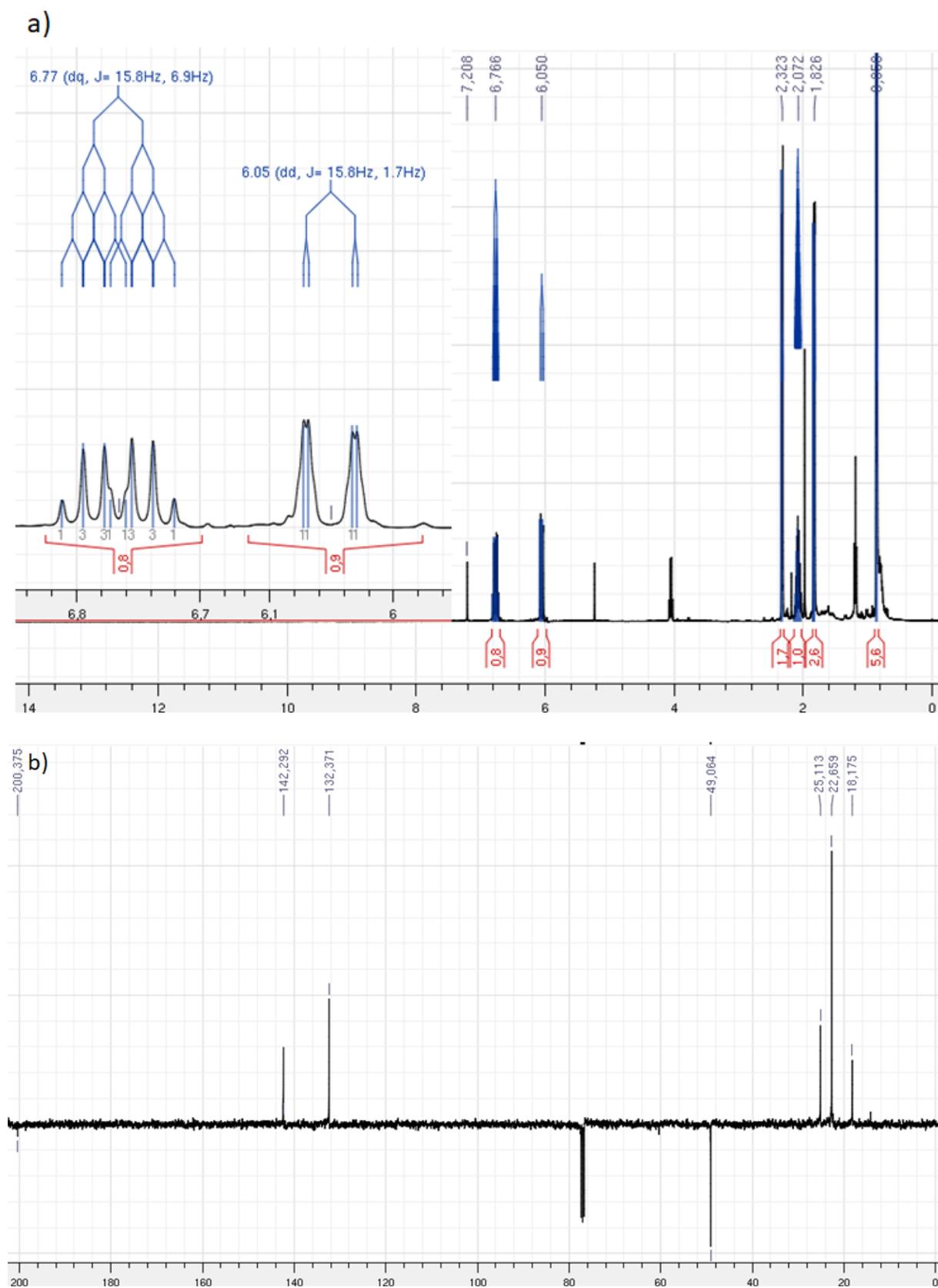
O espectro de massa do composto **15** (Figura 2.37) mostra a presença do fragmento com  $m/z$  69, resultante da clivagem  $\alpha$  à carbonila. Além disso, é possível observar o fragmento com  $m/z$  111 decorrente da perda de um radical metil, bem com o fragmento com  $m/z$  84 derivado do rearranjo de McLafferty.

**Figura 2.37** Espectro de massas e fragmentações representativas do composto **15**.



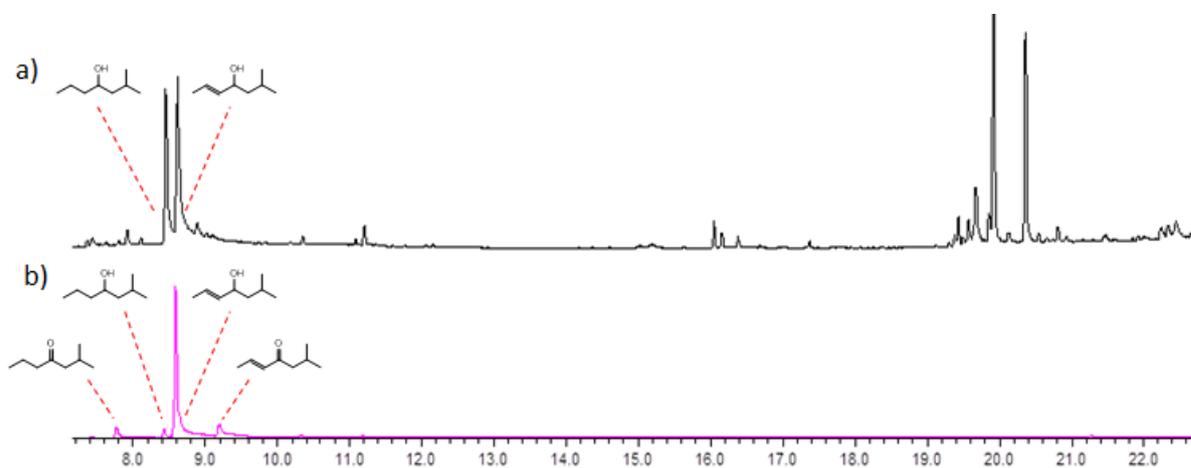
A RMN de  $^1\text{H}$  da cetona mostra a presença de um duplo quarteto referente ao hidrogênio olefínico da posição  $\beta$  à carbonila, em  $\delta$  6,77, e um duplo duplete para o segundo hidrogênio olefínico  $\alpha$  à cetona em  $\delta$  6,05. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  exibe o carbono acílico em  $\delta$  200,0 ppm, enquanto os carbonos da ligação dupla aparecem em  $\delta$  142,2  $\alpha$  à carbonila, e  $\delta$  132,3,  $\beta$  à carbonila. Os dados espectroscópicos são ilustrados na Figura 2.38.

Figura 2.38 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da rincoforona (15) ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz e 100 MHz, respectivamente).



A etapa de redução assimétrica empregou o catalisador (*R*)-(+)-2-Metil-CBS-oxazaborolidina e o  $\text{BH}_3$  como doador de hidreto. Contudo, em 20 repetições do procedimento, variando-se a temperatura, a quantidade de borano e a quantidade de catalisador, na maior parte delas ocorreu a formação de uma mistura complexa de diversos produtos de maior peso molecular que não puderam ser identificados. Em algumas delas, foi possível observar a obtenção do rincoforol e do álcool saturado correspondente em conjunto com a mistura. Apenas em uma, o rincoforol foi obtido com elevado rendimento, de 82%, apesar de haver contaminação pelos produtos colaterais de redução da ligação dupla tanto no álcool como na cetona de partida (Figura 2.39).

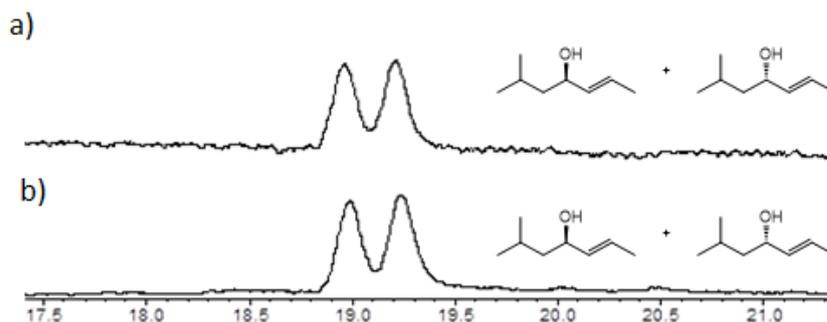
**Figura 2.39** Análise cromatográfica da etapa de redução assimétrica da rincoforona.



a) Cromatograma de íons totais com os picos referentes ao rincoforol e ao produto de excesso de redução (apontados pelas linhas vermelhas intermitentes), além dos picos de produtos colaterais; b) cromatograma de íons totais do procedimento com melhor rendimento, indicando o rincoforol e outros produtos colaterais minoritários.

A análise por cromatografia gasosa quiral para estabelecer o excesso enantiomérico do produto obtido, entretanto, revelou que praticamente não houve alteração na proporção dos enantiômeros em comparação com o material de partida, conforme ilustrado na Figura 2.40. Isso sugere que a redução ocorreu sem a participação do catalisador ao se fazer a adição do borano por último sobre a mistura reacional. Em contrapartida, a adição da cetona sobre a solução contendo o borano e o catalisador resulta majoritariamente na formação de diversos subprodutos, talvez pela interferência da acidez do próprio borano como ácido de Lewis, já que um perfil cromatográfico similar pode ser observado quando o rincoforol é submetido à purificação por sílica gel.

**Figura 2.40** Análise por cromatografia gasosa quiral do produto obtido na tentativa de redução assimétrica da rincoforona.

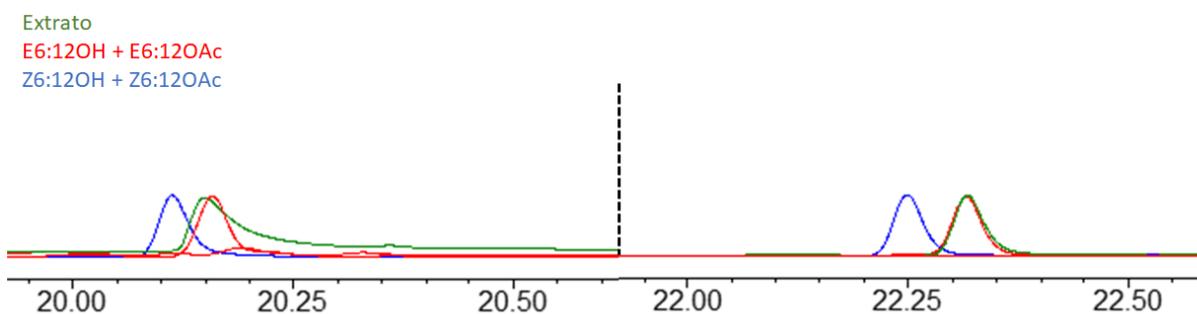


a) mistura de enantiômeros do material de partida cedido pela Interacta Química; b) mistura de produtos obtidos pela tentativa de redução assimétrica. A ordem das estruturas químicas na imagem não reflete a ordem de eluição dos enantiômeros.

#### 5.4 Análise comparativa dos dados cromatográficos e espectrométricos

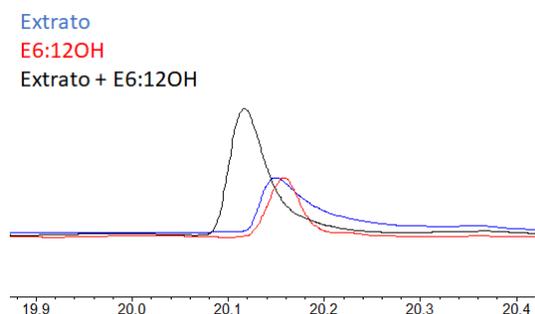
A comparação com extrato dos compostos sintéticos injetados em solução de hexano a 50 ppm confirma que o acetato com ligação dupla de configuração *E* é aquele presente no extrato, havendo sobreposição extada entre os picos. Já o álcool *E* apresenta tempo de retenção mais próximo ao composto do extrato em relação ao composto álcool *Z*, mas a sobreposição não é extada, provavelmente devido ao efeito da matriz, pois como se mostra a Figura 2.41, o pico do álcool no extrato não se encontra bem definido.

**Figura 2.41** Comparação entre o extrato da glândula sexual de *A. binocularis* e os compostos sintéticos.



Para evitar ambiguidade, o álcool *E* foi coinjetado com o extrato e verificou-se a coeluição de ambos os compostos em um pico bem definido sem cauda, com o consequente aumento da área sob o pico, conforme Figura 2.42. Os índices de Kovats dos compostos presentes no extrato natural e dos compostos sintéticos são mostrados na Tabela 2.4.

**Figura 2.42** Coinjeção do extrato de *A. binocularis* com o álcool sintético com configuração *E* para a ligação dupla.

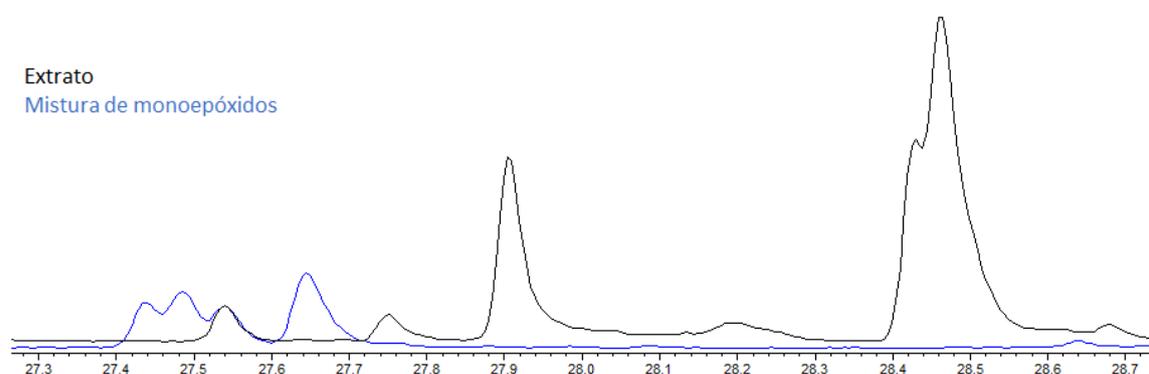


**Tabela 2.4** Índices de Kovats dos compostos naturais e sintéticos da mistura feromonal de *A. binocularis*

Compostos	Índice de Kováts		
	Gland	E	Z
Dodec-6-en-1-ol	1442	1442	1440
Acetato de dodec-6-en-1-ila	1576	1577	1571

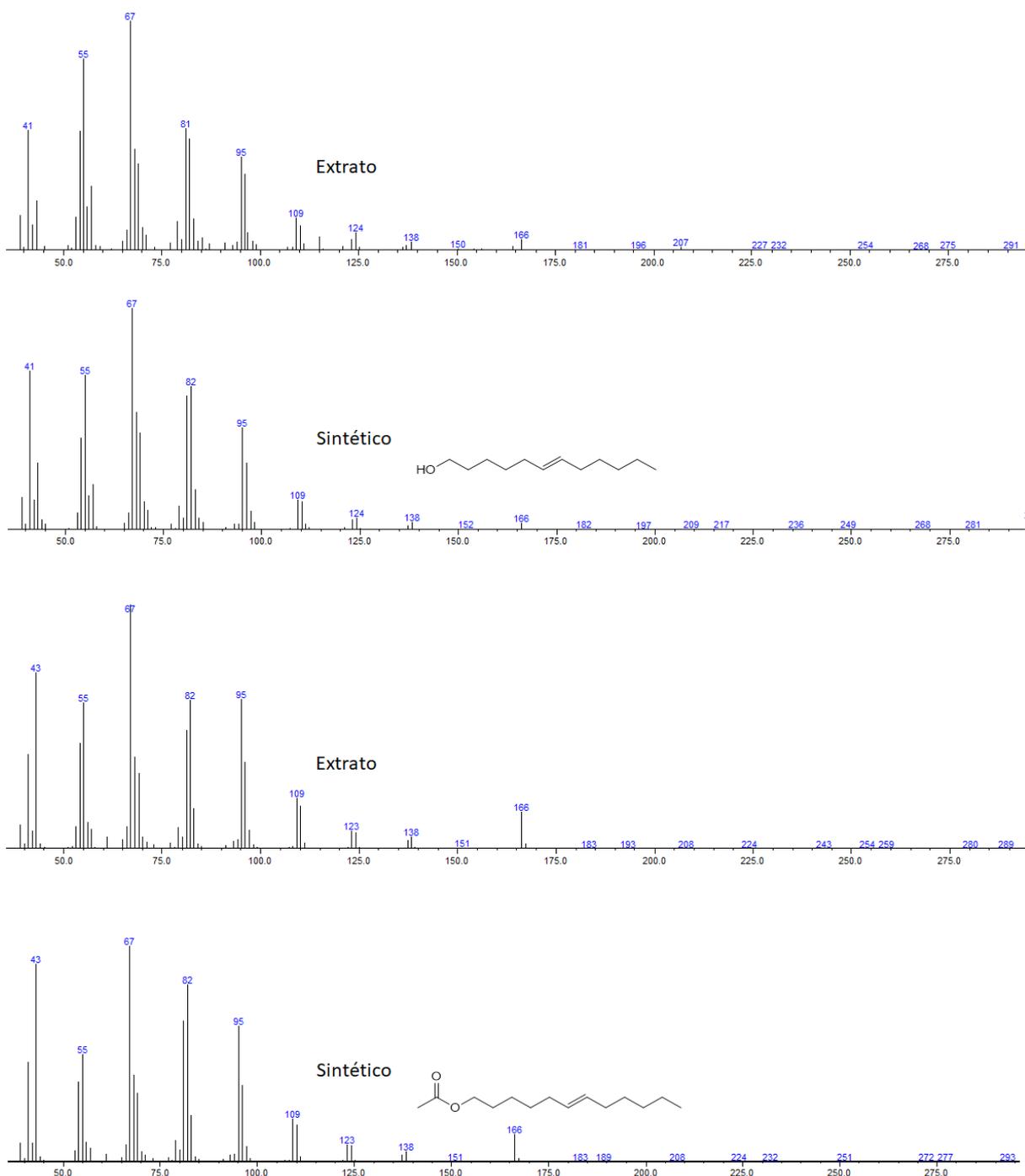
Para a *H. taltula*, a mistura de epóxidos foi injetada e comparada com o extrato das glândulas sexuais dessa espécie. Verifica-se que um dos enantiômeros do monoepóxido da posição 9 apresenta o mesmo tempo de retenção,  $t_r = 27,54$  minutos, que o composto no extrato, como ilustrado na Figura 2.43.

**Figura 2.43** Análise comparativa do extrato da glândula sexual de *H. taltula* e da mistura sintética de monoepóxidos.



Os dados espectrométricos também corroboram para a confirmação estrutural dos componentes feromonais de *A. binocularis*, pois, como pode ser observado na Figura 2.44, há similaridade indubitável entre os espectros de massas dos compostos caracterizados no extrato e aqueles obtidos por procedimento sintético.

**Figura 2.44** Comparação dos espectros de massas dos compostos caracterizados nos extratos de *A. binocularis* e os compostos sintéticos de referência.



Componentes de feromônios sexuais de Lepidoptera podem ser categorizados em diferentes tipos com base nas suas estruturas químicas e vias biossintéticas. Assim, é amplamente reconhecido que os compostos do tipo I compreendem álcoois graxos, acetatos ou álcoois com esqueletos de 10 a 18 carbonos e são biossintetizados *de novo* a partir de acetato na glândula feromonal (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2004; LÖFSTEDT; WAHLBERG; MILLAR, 2016). Feromônios sexuais foram previamente descritos em 14 espécies da família Gelechiidae e consistem em estruturas do tipo I, principalmente acetatos, com um único relato de um álcool primário, E5-10:OH, em *Anarsia lineatella* (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2004). Para espécies dentro desta família, ligações duplas com configuração (*E*)- não são incomuns já que E5-10:OAc e E5-10:OH foram identificados como componentes de feromônios sexuais em *A. lineatella* (ROELOFS et al., 1975), E7-10:OAc em *Aproaerema anthyllidella* (ARN, 1997) E11-16:OAc em *Helcystogramma triannulella* (HIRANO; MURAMOTO; HORIIKE, 1976), E4-13:OAc em *Keiferia lycopersicella* (CHARLTON et al., 1991), E3-13:OAc em *Scrobipalpa heliopa* (BAKER et al., 1985), E3-12:OAc em *Scrobipalpa ocellatella* (RENOU et al., 1980) e E3-14:OAc em *Symmetrischema tangolias* (GRIEPINK et al., 1995) e E3-12:OAc em *Tecia solanivora* (NESBITT et al., 1985).

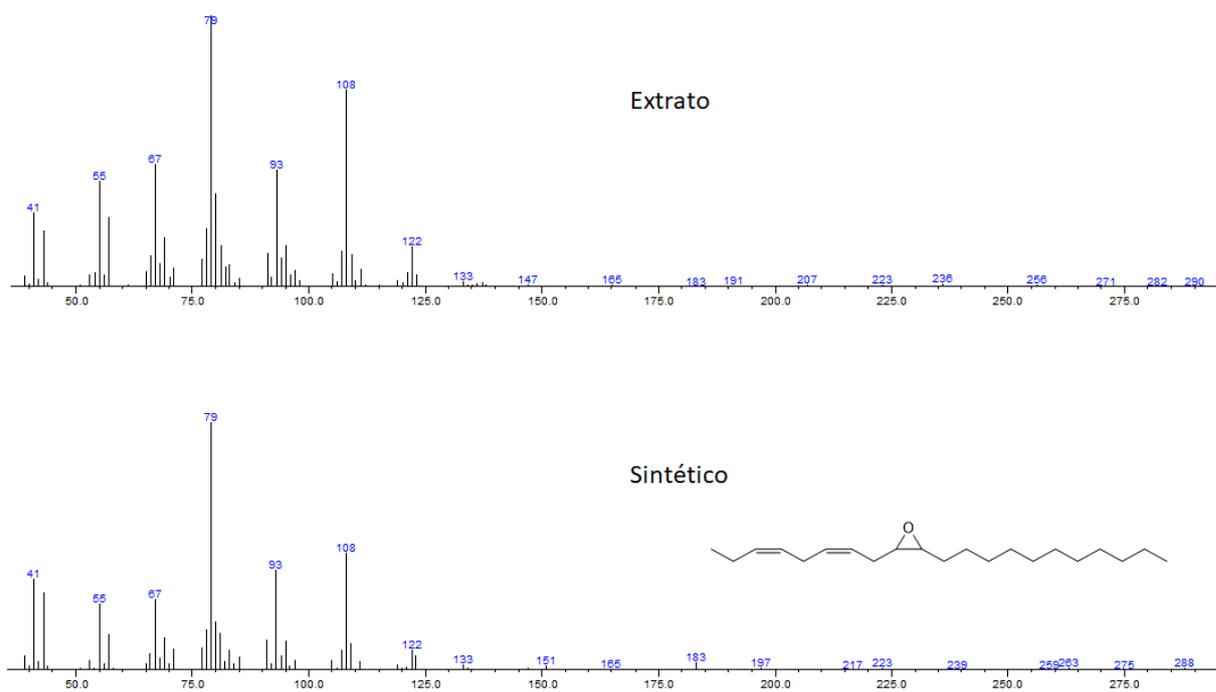
Até o momento, este é o primeiro relato de um feromônio monoenil tipo I com insaturação na posição 6 em Lepidoptera. Ando e colaboradores (2004) analisaram todos os componentes do feromônio tipo I relatados na época e apontaram a ausência de compostos monoinsaturados nas posições 4- e 6-. Além disso, eles previram a existência de tais compostos com base na atratividade de algumas espécies para E4-12:OAc e Z6-14:OAc. De fato, E6-12:OH foi previamente relatado como um atraente para *Dendrolimus superans sibiricus* (KLUN et al., 2000). Por outro lado, E6-12:OAc não havia sido descrito como um componente de feromônio, nem havia sido relatado como atraente até o momento. Outros compostos, incluindo E6-14:OAc e Z6-14:OAc, foram relatados como atraentes para *Yponomeuta rorellus* (LÖFSTEDT et al., 1990), enquanto que E6-16:OAc foi encontrado no extrato da glândula de feromônio de *Antheraea pernyi*, mas nenhuma bioatividade foi relatada para este último composto (BESTMANN et al., 1987).

Conforme revisado por Löfstedt e colaboradores (2016), a  $\Delta 11$ -dessaturação combinada com reações de encurtamento de cadeia são responsáveis pela explicação biossintética mais plausível de uma grande quantidade de feromônios sexuais de Lepidoptera monoinsaturados. No entanto, eles também chamaram a atenção para a existência de diferentes dessaturases que

inserir ligações duplas em várias outras posições (ALLISON; CARDÉ, 2016). Por exemplo, algumas rotas podem prosseguir através da  $\Delta 10$ -dessaturase ou  $\Delta 6$ -dessaturase, conforme relatado por estudos anteriores sobre *Planotortrix excessana* e *Antheraea pernyi* (ALBRE et al., 2012; FOSTER; ROELOFS, 1988; WANG et al., 2010). Assim, pode-se esperar que o primeiro passo de uma suposta via biossintética para os componentes feromônicos de *A. binocularis* ocorra pela  $\Delta 1$ -dessaturação do palmitoil-CoA para produzir E10-16:AcilCoA, seguido por duas reações subsequentes de encurtamento de cadeia para gerar precursor. E6-12:AcilCoA. Este precursor seria então reduzido para E6-12 OH e acetilado para E6-12:OAc de uma forma similar às sequências biossintéticas descritas para *P. excessana* (FOSTER; ROELOFS, 1988), com exceção da etapa adicional de encurtamento da cadeia.

De igual forma, a análise do espectro de massas do composto previamente referenciado como bioativo (TRIANA, 2015) e presente no extrato da glândula de *H. taltula* confirma a presença do epóxido na posição 9,10 derivado do trieno de 21 átomos de carbono. Dentro do contexto da subfamília Herminiinae, da qual a *H. taltula* está inserida, apenas uma única outra espécie, *Tetanolita mynesalis*, teve seu feromônio identificado como sendo uma mistura de (6S,7R)-Z3,epo6,Z9-21:H e Z3,Z6,Z9-21:H (HAYNES et al., 1996). Contudo, ao se adotar uma perspectiva quimiossistemática mais ampla, não é incomum encontrar estruturas do tipo II em espécies da família Erebidae, que abrange a Herminiinae. Por instância, todos os noctuoides que apresentam feromônios desse tipo pertencem à família mais recentemente formada Erebidae (ZAHIRI et al., 2012), que também contém duas subfamílias com feromônios tipo III, Lymantriinae e Arctiinae. Todas as outras subfamílias de noctuoides apresentam aparentemente apenas estruturas do tipo I. A Figura 2.45 mostra a comparação dos espectros dos compostos natural e sintético.

**Figura 2.45** Comparação dos espectros de massas dos compostos caracterizados nos extratos de *H. taltula* e o composto sintético de referência.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma vez que quantidades menores que miligramas de feromônios estão disponíveis a partir de organismos por isolamento, sua síntese é de suma importância para o estabelecimento de suas estruturas e também para o estudo de suas aplicações práticas no controle de pragas. Em conjunto, os dados cromatográficos e espectrométricos permitiram a identificação dos componentes feromonais previamente hipotetizados como responsáveis pela atividade como feromônios sexuais dos dois lepidópteros pragas estudadas.

Os diastereoisômeros *E* e *Z* dos álcoois e acetatos da cadeia de 12 átomos de carbono com insaturação na posição 6 foram sintetizados com a finalidade de confirmação estrutural dos candidatos propostos a componentes feromonais de *A. binocularis*. Sendo assim, os compostos sintéticos permitiram estabelecer de forma unívoca a estrutura dos dois componentes ativos da mistura feromonal dessa espécie, o álcool e o acetato com configuração *E* para a ligação dupla.

Para a *H. taltula*, uma estrutura já havia sido relatada como potencial candidato ao componente da mistura feromonal e a síntese desses compostos aqui realizada levou à confirmação do epóxido Z3,Z6,epo9-21:H como componente de fato do feromônio dessa espécie.

Com os resultados obtidos, testes de campo poderão ser realizados para verificar a atratividade dos compostos em campo e determinar sua viabilidade na confecção de armadilhas para controle e monitoramento de *H. taltula* e *A. binocularis* em cultivos de cana-de-açúcar e cajueiro.

Com relação à síntese assimétrica do rincoforol, não foi possível otimizar a metodologia para a obtenção de um produto enantiomericamente enriquecido. Apesar da redução de Corey-Bakshi-Shibata ser empregada com êxito na redução de diversas cetonas, alguma provável interferência da acidez do próprio borano pode estar relacionada com a falha da metodologia sintética. Tal hipótese se baseia no indicativo de que um perfil cromatográfico similar pode ser visualizado ao tentar purificar o material de partida ou a cetona por meio de cromatografia em sílica gel.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRE, J. et al. Sex pheromone evolution is associated with differential regulation of the same desaturase gene in two genera of leafroller moths. **PLoS Genetics**, v. 8, n. 1, 2012.
- ANDO, T.; INOMATA, S.; YAMAMOTO, M. Lepidopteran Sex Pheromones. In: **The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I**. Springer, 2004. p. 51–96.
- APARAMARTA, H. W. et al. Separation and identification of fatty acid in triacylglycerol isolated from Calophyllum oil. **ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 13, n. 2, p. 442–451, 2018.
- ATTYGALLE, A. B. et al. (3E,8Z,11Z)-3,8,11-tetradecatrienyl acetate, major sex pheromone component of the tomato pest *Scrobipalpa absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 4, n. 3, p. 305–14, 1996.
- BAKER, R. et al. Sex pheromone of tobacco stem borer, *Scrobipalpa heliopa* (Lower) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 11, n. 8, p. 989–998, 1985.
- BAKER, T. C. Use of pheromones in IPM. In: RADCLIFFE, E. B.; HUTCHISON, W. D.; CANCELADO, R. E. (Eds.). **Integrated Pest Management**. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. p. 273–285.
- BESTMANN, H.-J. et al. Identification of Three Sex Pheromone Components of the Female Saturniid Moth *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae)\*. **Z. Naturforsch C**, v. 42, n. 5, p. 631–636, 1987.
- BLOMQUIST, G. J. et al. Pheromone production in bark beetles. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, n. 10, p. 699–712, out. 2010.
- BLOMQUIST, G. J.; VOGT, R. G. **Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology**. Elsevier, 2003.
- BOARI, A. J. et al. **Anel-Vermelho da Palma de Óleo**. Belém: EMBRAPA, 2016.
- BORTOLOTTI, L.; COSTA, C. **Chemical Communication in the Honey Bee Society**. CRC Press/Taylor & Francis, 2014.

BRAUNER, A.; BUDZIKIEWICZ, H.; BOLAND, W. Studies in chemical ionization mass spectrometry: V—localization of homoconjugated triene and tetraene units in aliphatic compounds. **Organic Mass Spectrometry**, v. 17, n. 4, p. 161–164, 1982.

CARDE, R. T.; MINKS, A. K. Control of Moth Pests by Mating Disruption: Successes and Constraints. **Annual Review of Entomology**, v. 40, n. 1, p. 559–585, 1995.

CEPEA; CNA. **PIB Cadeias do Agronegócio**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Relatorio\\_PIBAGRO\\_Cadeias\\_1\\_sem\\_2017\\_.pdf](https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Relatorio_PIBAGRO_Cadeias_1_sem_2017_.pdf)>. Acesso em: 20 jul. 2018.

CHARLTON, R. E. et al. Identification of sex pheromone of tomato pinworm, *Keiferia lycopersicella* (Wals.). **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, n. 1, p. 175–183, 1991.

CHARLTON, R. E.; ROELOFS, W. L. Biosynthesis of a volatile, methyl-branched hydrocarbon sex pheromone from leucine by arctiid moths (*Holomelina* spp.). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 18, n. 2, p. 81–97, 1991.

CNA. **CANA-DE-AÇÚCAR**. Disponível em: <[http://www.cnabrasil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/cana\\_de\\_acucar\\_balanco\\_2017.pdf](http://www.cnabrasil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/cana_de_acucar_balanco_2017.pdf)>. Acesso em: 20 jul. 2018.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira - Cana-de-açúcar**, v. 4 - Safra 2017/2018, n. 4. CONAB, Brasília, 2018.

COOK, S. M.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A. The Use of Push-Pull Strategies in Integrated Pest Management. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 375–400, 2007.

CZACZKES, T. J.; GRÜTER, C.; RATNIEKS, F. L. W. Trail Pheromones: An Integrative View of Their Role in Social Insect Colony Organization. **Annual Review of Entomology**, v. 60, n. 1, p. 581–599, 2015.

DOBSON, G.; CHRISTIE, W. W. Mass spectrometry of fatty acid derivatives. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, n. 1, p. 36–43, 2002.

EL-SAYED, A. M. et al. Potential of Mass Trapping for Long-Term Pest Management and Eradication of Invasive Species. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 5, p. 1550–1564, 2006.

FELLENBERG, A. J. et al. Simple mass spectrometric differentiation of the  $n-3, n-6$  and  $n-9$  series of methylene interrupted polyenoic acids. **Biological Mass Spectrometry**, v. 14, n. 3, p. 127–129, 1987.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

**International code of conduct on the distribution and use of pesticides (revised version) : adopted by the hundred and twenty-third session of the FAO Council in November 2002.** [s.l.] Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003.

FOUQUET, G.; SCHLOSSER, M. Improved Carbon-Carbon Linking by Controlled Copper Catalysis. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 13, n. 1, p. 82–83, 1974.

FOSTER, S. P.; ROELOFS, W. L. Sex pheromone biosynthesis in the leafroller moth *Planotortix excessana* by  $\Delta 10$  desaturation. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 1988.

FRANCKE, W.; DETTNER, K. Chemical Signalling in Beetles. In: [s.l.] Springer, Berlin, Heidelberg, 2004. p. 85–166.

FUJII, T. et al. Propionates and Acetates of Chiral Secondary Alcohols: Novel Sex Pheromone Components Produced by a Lichen Moth *Barsine expressa* (Arctiidae: Lithosiinae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 1, p. 28–36, 2013.

GARCIA, J. F. **MANUAL DE IDENTIFICAÇÃO DE PRAGAS DA CANA.** [s.l.: s.n.].

GIBB, A. R. et al. Identification of sex pheromone components of a New Zealand geometrid moth, the common forest looper *Pseudocoremia suavis*, reveals a possible species complex. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 4, p. 865–879, 2006.

GRANT, G. G. et al. (Z,Z)-6,9-Heneicosadien-11-One, Labile Sex Pheromone of the Whitemarked Tussock Moth, *Orgyia leucostigma*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 3, p. 589–601, 2003.

GREGG, P. C.; DEL SOCORRO, A. P.; LANDOLT, P. J. Advances in Attract-and-Kill for Agricultural Pests: Beyond Pheromones. **Annual Review of Entomology**, v. 63, n. 1, p. 453–470, 2018.

GRIEPINK, F. C. et al. Isolation and identification of sex pheromone of *Symmetrischema tangolias* (Gyen) (Lepidoptera: Gelechiidae). **J. Chem. Ecol.**, v. 21, n. 12, p. 2003–2013, 1995.

- GRIES, G. et al. Aggregation pheromone of the African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* F. **Naturwissenschaften**, v. 80, n. 2, p. 90–91, 1993.
- GRIES, G. et al. (Z)6, (E)8-Heneicosadien-11-One: Synergistic Sex Pheromone Component of Douglas-Fir Tussock Moth, *Orgyia pseudotsugata* (McDunnough) (Lepidoptera: Lymantriidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 1, p. 19–34, 1997.
- GRIES, G. et al. Synergistic Sex Pheromone Components of White-Spotted Tussock Moth, *Orgyia thyellina*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 5, p. 1091–1104, 1999.
- GROSS, J. H. **Mass Spectrometry: A Textbook**. 3. ed. Berlin: Springer, 2017.
- HALLETT, R. H. et al. Aggregation pheromones of two asian palm Weevils, *Rhynchophorus ferrugineus* and *R. vulneratus*. **Naturwissenschaften**, v. 80, n. 7, p. 328–331, 1993.
- HANESSIAN, S.; PONPIPOM, M. M.; LAVALLEE, P. Procedures for the direct replacement of primary hydroxyl groups in carbohydrates by halogen. **Carbohydrate Research**, v. 24, n. 1, p. 45–56, 1972.
- HARDEGE, J. D. **Chemical ecology**. Eolss Publishers, 2009.
- HAYNES, K. F. et al. Identification of sex pheromone of *Tetanolita mynesalis* (Lepidoptera: Noctuidae), a prey species of bolas spider, *Mastophora hutchinsoni*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 1, p. 75–89, 1996.
- HEJAZI, L. et al. Discrimination Among Geometrical Isomers of  $\alpha$ -Linolenic Acid Methyl Ester Using Low Energy Electron Ionization Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 20, n. 7, p. 1272–1280, 2009.
- HEJAZI, L.; HIBBERT, D. B.; EBRAHIMI, D. Identification of the geometrical isomers of  $\alpha$ -linolenic acid using gas chromatography/mass spectrometry with a binary decision tree. **Talanta**, v. 83, n. 4, p. 1233–1238, 2011.
- HIRANO, C.; MURAMOTO, H.; HORIIKE, M. Sex pheromone produced by female sweet potato leaf folder moth. **Die Naturwissenschaften**, v. 63, n. 9, p. 439, 1976.
- HOLMAN, R. T.; RAHM, J. J. Analysis and characterization of polyunsaturated fatty acids. **Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids**, v. 9, p. 13–90, 1971.
- HUMAN RIGHTS COUNCIL. **Report of the Special Rapporteur on the right to food** GE. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://documents-dds->

ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/G17/017/85/PDF/G1701785.pdf?OpenElement>. Acesso em: 11 jul. 2018.

HUMMEL, H. E. et al. Clarification of the Chemical Status of the Pink Bollworm Sex Pheromone. **Science**, v. 181, n. 4102, p. 873–875, 1973.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal - culturas temporárias e permanentes**. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam\\_2016\\_v43\\_br.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2016_v43_br.pdf)>. Acesso em: 23 jul. 2018.

IBGE. **IBGE | Agência de Notícias | PIB avança 1,0% em 2017 e fecha ano em R\$ 6,6 trilhões**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2013-agencia-de-noticias/releases/20166-pib-avanca-1-0-em-2017-e-fecha-ano-em-r-6-6-trilhoes.html>>. Acesso em: 20 jul. 2018.

JURENKA, R. Insect Pheromone Biosynthesis. In: **The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I**. [s.l.] Springer, Berlin, Heidelberg, 2004. p. 97–132.

JURENKA, R. A.; SUBCHEV, M. Identification of cuticular hydrocarbons and the alkene precursor to the pheromone in hemolymph of the female gypsy moth, *Lymantria dispar*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 43, n. 3, p. 108–115, 2000.

KARLSON, P.; LÜSCHER, M. ‘Pheromones’: a New Term for a Class of Biologically Active Substances. **Nature**, v. 183, n. 4653, p. 55–56, 1959.

KLUN, J. A. et al. A Sex Attractant for the Siberian Moth *Dendrolimus superans sibiricus* (Lepidoptera: Lasiocampidae). **Journal of Entomological Science**, v. 35, n. 2, p. 158–166, 2000.

LECHENET, M. et al. Reducing pesticide use while preserving crop productivity and profitability on arable farms. **Nature Plants**, v. 3, n. 3, p. 17008, 2017.

LÖFSTEDT, C. et al. Behavioural and electrophysiological activity of unsaturated analogues of the pheromone tetradecyl acetate in the small ermine moth *Yponomeuta rorellus*. **Physiological Entomology**, v. 15, n. 1, p. 47–54, 1990.

LÖFSTEDT, C. et al. (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-pentacosapentaene and (9Z,11E)-tetradecadienyl acetate: Sex pheromone of the spruce coneworm *Dioryctria abietella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 136, n. 1–2, p. 70–78, 2012.

LÖFSTEDT, C.; WAHLBERG, N.; MILLAR, J. Evolutionary Patterns of Pheromone Diversity in Lepidoptera. In: **Pheromone Communication in Moths: Evolution, Behavior, and Application**. University of California Press, 2016.

LOPES-DA-SILVA, M. et al. The Role of Natural and Human-Mediated Pathways for Invasive Agricultural Pests: A Historical Analysis of Cases from Brazil. **Agricultural Sciences**, v. 05, n. 07, p. 634–646, 9 jun. 2014.

MAPA. **AGROFIT**. Disponível em:

<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/ap\\_praga\\_consulta\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_praga_consulta_cons)>. Acesso em: 19 jul. 2018.

MARQUES, F. A. et al. Chemoenzymatic Synthesis of the Aggregation Pheromones (S)-2-methyl-4-octanol and (4S, 2E)-6-methyl-2-hepten-4-ol. **Letters in Organic Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 69–72, 2008.

MARTIN NETO, L. et al. Pesquisa, desenvolvimento e inovações em face de ameaças sanitárias para a agropecuária brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. i–viii, 2016.

MATSUOKA, K. et al. Transport of a hydrophobic biosynthetic precursor by lipophorin in the hemolymph of a geometrid female moth which secretes an epoxyalkenyl sex pheromone. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 36, n. 7, p. 576–583, 2006.

MCLAFFERTY, F. W.; TUREČEK, F. **Interpretation of mass spectra**. 4. ed. Sausalito: University Science Books, 1993.

MCNEIL, J. N.; MILLAR, J. G.; CHAPMAN, R. F. Chemical communication: pheromones and allelochemicals. In: SIMPSON, S. J.; DOUGLAS, A. E. (Eds.). **The Insects**. Cambridge: Cambridge University Press, 2012. p. 857–900.

MELO, Q. M. S. et al. **Efeito do Deltamethrin e Mancozeb sobre *Anthistarcha binocularis* (LEP., Gelechiidae), *Selenothrips rubrocinctus* (THIS., Thripidae) e *Aphis gossypii* (HOM., Aphididae) em cajueiro**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/418944/1/Bp006.pdf>>.

Acesso em: 2 jul. 2018.

MINKS, A. K. List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants. By H. Arn, M. Tóth and E. Priesner. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 43, n. 3, p. 244–244, 1987.

MITCHELL, E. R. (ED.). **Management of Insect Pests with Semiochemicals**. Boston, MA: Springer US, 1981.

MJ; PETTERSEN. **Determination of trans double bonds in polyunsaturated fatty acid methyl esters from their electron impact mass spectra**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://eurekamag.com/pdf/003/003707355.pdf>>. Acesso em: 28 ago. 2018.

MORI, K.; ISHIGAMI, K. Pheromone synthesis. CXLV. Synthesis of the enantiomers of rhynchophorol [(E)-6-methyl-2-hepten-4-ol], the male-produced aggregation pheromone of the american palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*. **Liebigs Annalen der Chemie**, n. 11, p. 1195–1198, 1992.

NAVARRO, D. M. DO A. F. et al. Aspectos práticos relacionados ao uso do Rincoforol, o feromônio de agregação da Broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro: análise de sua eficiência em campo. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 32–36, 2002.

NESBITT, B. F. et al. Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalopsis solanivora*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 38, n. 1, p. 81–85, 1985.

NORIN, T. Semiochemicals for insect pest management\*. **Pure Appl. Chem**, v. 79, n. 12, p. 2129–2136, 2007.

OEHLSCHLAGER, A. C. et al. Development of a Pheromone-Based Trapping System for *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 86, n. 5, p. 1381–1392, 1993.

OLIVEIRA, C. M. et al. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50–54, 2014.

ORSAVOVA, J. et al. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 6, p. 12871–90, 2015.

PIGNATI, W. A. et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3281–3293, 2017.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; ZARBIN, P. H. G. A Química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1509–1513, 2013.

RAMIREZ-LUCAS, P. et al. Chemical identification, electrophysiological and behavioral activities of the pheromone of *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 323–330, 1996.

RAMIREZ-LUCAS, P.; ROCHAT, D.; ZAGATTI, P. Field trapping of *Metamasius hemipterus* with synthetic aggregation pheromone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 80, n. 3, p. 453–460, 1996.

REICH, H. J. et al. The effect of HMPA on the reactivity of epoxides, aziridines, and alkyl halides with organolithium reagents. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 45, p. 13386–7, 2002.

REICH, H. J. What's Going on with These Lithium Reagents? **Journal of Organic Chemistry**, v. 77, n. 13, p. 5471-5491, 2012.

REICH, H. J. Role of Organolithium Aggregates and Mixed Aggregates in Organolithium Mechanisms. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 9, p. 7130-7178, 2013.

RENOU, M. et al. L'acétoxy-1 dodecène 3E, composant principal de la phéromone sexuelle de la teigne de la betterave: *Scrobipalpa ocellatella* Boyd. (Lépidoptère Gelechiidae). **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, v. 90, n. 1–5, p. 275–289, 2009.

RIGOTTO, R. M. et al. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 7, p. 1360–1362, 2014.

ROCHAT, D. et al. Male-produced aggregation pheromone of the american palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera, Curculionidae): Collection, identification, electrophysiological activity, and laboratory bioassay. **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, n. 11, p. 2127–2141, 1991.

ROELOFS, W. et al. Sex Pheromone of the Peach Twig Borer Moth (*Anarsia lineatella*)<sup>12</sup>. **Environmental Entomology**, v. 4, n. 4, p. 580–582, 1975a.

ROELOFS, W. L. et al. Sex pheromone of the potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella*. **Life Sciences**, v. 17, n. 5, p. 699–705, 1975b.

- SBARBATI, A.; OSCULATI, F. Allelochemical communication in vertebrates: kairomones, allomones and synomones. **Cells, tissues, organs**, v. 183, n. 4, p. 206–19, 2006.
- SCHAL, C.; SEVALA, V.; CARDÉ, R. T. Novel and Highly Specific Transport of a Volatile Sex Pheromone by Hemolymph Lipophorin in Moths. **Naturwissenschaften**, v. 85, n. 7, p. 339–342, 1998.
- SCHULZ, S. (STEFAN). **The chemistry of pheromones and other semiochemicals**. Springer, 2004a.
- SCHULZ, S. (STEFAN). **The chemistry of pheromones and other semiochemicals**. Springer, 2004b.
- SETO, H. et al. Synthesis of 6-oxy functionalized campest-4-en-3-ones: efficient hydroperoxidation at C-6 of campest-5-en-3-one with molecular oxygen and silica gel. **Steroids**, v. 65, n. 8, p. 443–449, 1 ago. 2000.
- SHOREY, H. H. Behavioral Responses to Insect Pheromones. **Annual Review of Entomology**, v. 18, n. 1, p. 349–380, 28 jan. 1973.
- SINGHA, R.; RAY, J. K. Selective acetylation of primary alcohols by ethyl acetate. **Tetrahedron Letters**, v. 57, n. 48, p. 5395–5398, nov. 2016.
- SMITH, R. G.; DATERMAN, G. E.; DAVES, G. D. Douglas-fir tussock moth: sex pheromone identification and synthesis. **Science (New York, N.Y.)**, v. 188, n. 4183, p. 63–4, 4 abr. 1975.
- SONG, M. et al. exo-Brevicommin Biosynthesis in the Fat Body of the Mountain Pine Beetle, *Dendroctonus ponderosae*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, n. 2, p. 181–189, 16 fev. 2014.
- SOROKER, V.; COLAZZA, S. **Handbook of major palm pests : biology and management**. Wiley, 2017.
- STANLEY-SAMUELSON, D. W. et al. Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 9, n. 1, p. 1–33, 1988.
- TABATA, J.; KUBOTA, S. Sex pheromone of the iris gelechiid moth *Monochroa divisella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 164, n. 2, p. 113–119, ago. 2017.

- TAMURA, M.; KOCHI, J. Coupling of Grignard Reagents with Organic Halides. **Synthesis**, v. 1971, n. 06, p. 303–305, 1971.
- TAMURA, M.; KOCHI, J. K. Copper-catalyzed coupling of grignard reagents and alkyl halides in tetrahydrofuran solutions. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 42, n. 1, p. 205–228, 16 ago. 1972.
- TEIXEIRA, L. M. S. et al. Recomendações para o controle de pragas e doenças do cajueiro. **EMBRAPA-CNPq. Comunicado Técnico**, 1991.
- TILLMAN, J. A et al. Insect pheromones--an overview of biosynthesis and endocrine regulation. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 29, n. 6, p. 481–514, 1999.
- TOJO, G.; FERNÁNDEZ, M. (MARCOS I. . **Oxidation of alcohols to aldehydes and ketones : a guide to current common practice**. Springer, 2006.
- TRIANA, M. F. **Ecologia química da Broca-Peluda da Cana-de-açúcar, *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebididae, Herminiinae)**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2015.
- USDA. **World Agricultural Production**. Disponível em:  
<<https://apps.fas.usda.gov/PSDOnline/app/index.html#/app/home>>. Acesso em: 16 jul. 2018.
- VANDERWEL, D.; OEHLISCHLAGER, A. C. Biosynthesis of Pheromones and Endocrine Regulation of Pheromone Production in Coleoptera. **Pheromone Biochemistry**, p. 175–215, 1987.
- VERHEGGEN, F. J.; HAUBRUGE, E.; MESCHER, M. C. Alarm Pheromones—Chemical Signaling in Response to Danger. **Vitamins & Hormones**, v. 83, p. 215–239, 2010.
- VICK, K. W. et al. (Z-E)-7,11-hexadecadien-1-ol acetate: The sex pheromone of the angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella*. **Experientia**, v. 30, n. 1, p. 17–18, 1974.
- VIDAL, M. F. Cajucultura nordestina continua em declínio. **Caderno Setorial ETENE**, v. 2, n. 22, p. 1–11, 2017.
- WEISSLING, T. J.; PEREZ, A. L.; OEHLISCHLAGER, C. Aggregation pheromone of palmetto weevil, *Rhynchophorus cruentatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). **Article in Journal of Chemical Ecology**, 1994.

- WERTHEIM, B. et al. PHEROMONE-MEDIATED AGGREGATION IN NONSOCIAL ARTHROPODS: An Evolutionary Ecological Perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 50, n. 1, p. 321–346, 7 jan. 2005.
- WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 1, p. 80–100, 28 jan. 2010.
- YAMAKAWA, R. et al. Novel components of the sex pheromones produced by emerald moths: Identification, synthesis, and field evaluation. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 1, p. 105–113, 2011.
- YANG, C. Y. et al. Female Sex Pheromone of the Gelechiid Moth *Scrobipalpa salinella* (Zeller). **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 11, p. 1216–1221, 2011.
- ZAHIRI, R. et al. A new molecular phylogeny offers hope for a stable family level classification of the Noctuoidea (Lepidoptera). **Zoologica Scripta**, v. 40, n. 2, p. 158-173, 2010.
- ZAHIRI, R. et al. Molecular phylogenetics of Erebidae (Lepidoptera, Noctuoidea). **Systematic Entomology**, v. 37, n. 1, p. 102–124, 2012.
- ZARBIN, P. H. G. et al. Sex pheromone of *Lonomia obliqua*: Daily rhythm of production, identification, and synthesis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, n. 3, p. 555–565, 2007.
- ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722–731, 2009.
- ZENKER, M. M. et al. Caracterização morfológica dos imaturos de *Hyponeuma taltula* (Schaus) (Lepidoptera, Noctuidae, Herminiinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 4, p. 1101–1107, 2007.
- WANG, H.-L. et al. Neofunctionalization in an ancestral insect desaturase lineage led to rare  $\Delta 6$  pheromone signals in the Chinese tussah silkworm. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, n. 10, p. 742–751, 2010.