



**Universidade de Brasília
Instituto de Química**

**Estudo da Ecologia Química do Percevejo Praga do Arroz
Oebalus poecilus (Dallas, 1851): identificação, síntese e
bioensaios em laboratório do feromônio sexual**

Márcio Wandré Moraes de Oliveira

Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Carlos Kleber Zago de Andrade

**Brasília
Julho/2011**

**Dedico este trabalho à minha
querida esposa Luciana,
companheira de sempre e ao
nosso filho, Marcos Vinícius.**

AGRADECIMENTOS

À minha família, por ter sido o alicerce de minha vida.

Ao professor Carlos Kleber, pela paciência e pela grande orientação.

À Dra. Maria Carolina, pelos conhecimentos e pelas batalhas travadas para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Miguel Borges e ao Dr. Raul Laumann, pelos conhecimentos sobre insetos e por mostrarem que conhecimento, caráter e simpatia podem andar juntos na pesquisa.

Aos amigos de Embrapa, Alex, Helinho, Isabella e Dudu, pela alegria transmitida dia após dia.

Ao Kadu, pelo companheirismo, inclusive nos momentos de maior atividade da Lei de Murphy.

À Angélica, pela ajuda nos infravermelhos e nas dúvidas químicas.

À Otilie, pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C de 300 MHz.

Aos colegas de LaQMOS, pela companhia sempre saudável no laboratório.

Ao professor Peter e ao Rafael, pela disponibilidade em ajudar, sempre que solicitados.

RESUMO

Este trabalho descreve a identificação do feromônio sexual do percevejo *Oebalus poecilus* (Dallas, 1851), (Hemiptera: Pentatomidae), bem como os procedimentos para sua síntese. O percevejo *Oebalus poecilus* está entre as principais pragas de arroz no Brasil, tanto em ecossistemas de terras altas como nos de várzeas, causando grandes prejuízos nessas lavouras. A principal forma de controle dessa praga tem sido a utilização de inseticidas, que são conhecidamente prejudiciais à saúde humana e a todas as espécies de animais e insetos. A busca por alternativas ecologicamente corretas, nos guiou na tentativa de identificação do feromônio sexual. A análise de extratos obtidos das aerações de machos e fêmeas mostrou que os machos produziam um composto específico, que poderia ser o feromônio sexual desta espécie. Este composto foi identificado como zingiberenol. A síntese dos oito isômeros possíveis do zingiberenol a partir de (*S*) e (*R*)- citronelal foi conduzida. Foram realizadas três etapas: Adição de Michael seguida de condensação aldólica intramolecular e posterior metilação com metil lítio. Bioensaios com os compostos sintetizados indicam que a mistura dos dois isômeros menos polares vindo do (*S*)-citronelal é atrativa para as fêmeas dessa espécie.

ABSTRACT

This work describes the identification of sex pheromone of the stinkbug *Oebalus poecilus* (Dallas, 1851), (Hemiptera: Pentatomidae), as well as the procedures for pheromone synthesis. *Oebalus poecilus* is one of the major pests of rice throughout Brasil, in both upland and lowland environment, causing great grain losses. The most common method to control this pest has been the use of insecticides, which are notoriously harmful to human health and for all species of animals and insects. The search for environmentally friendly alternatives, guided us in trying to identify sex pheromone of *O. poecilus*. Analysis of extracts obtained from aerations of males and females showed that males produce a specific compound, which could be the sex pheromone of this species; this compound was identified as zingiberenol. The synthesis of the eight possible isomers of the starting zingiberenol from (*S*) and (*R*) - citronellal was conducted. Were performed three steps: Michael's addition, followed by intramolecular aldol condensation and subsequent methylation with methyl lithium. Bioassays with these compounds indicated that the mixture of the two less polar isomers that come from the (*S*) -citronellal is attractive to the females.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. FORMAS DE CONTROLE DE PRAGAS NO BRASIL	1
1.1.1. Inseticidas.....	1
1.1.2. Semioquímicos.....	2
1.2. FEROMÔNIOS E SÍNTESE ORGÂNICA	6
1.3. ANÁLISES COMPORTAMENTAIS DE INSETOS: BIOENSAIOS....	9
1.4. ARROZ E SUA IMPORTÂNCIA	12
1.5. OEBALUS POECILUS	13
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL:.....	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
3.1. ESTUDOS DA ECOLOGIA QUÍMICA DO PERCEVEJO <i>OEBALUS POECILUS</i>	19
3.1.1. Análise Química dos voláteis dos insetos	19
3.2. SÍNTESE DE SEMIOQUÍMICOS.....	24
3.2.1. Síntese dos Isômeros do bisabolol.....	24
3.3. SÍNTESE DO COMPOSTO (7).....	25
3.3.1. Formação de 2-(4-metilciclohex-3-enil)-propan-1-ol (4).....	25
3.3.2. Obtenção do 2-(4-metilciclohex-3-enil)-propanal (5).....	29
3.3.3. 6-metil-2-(4-metilciclohex-3-enil)-hept-5-en-3-ol (7)	32
3.3.4. 4-(1-bromopropan-2-il)-1-metilciclohex-1-eno (9).....	34
3.3.5. 2-metil-6-(4-metilciclohex-3-enil)hept-2-en-4-ol (8)	37
3.3.6. Conclusão.....	Erro! Indicador não definido.
3.4. SÍNTESE DOS ISÔMEROS DO ZINGIBERENOL (1-METIL-4-(6-METIL-HEPT-5-EN-2-IL)-CICLOHEX-2-ENOL)	39
3.4.1. (3R)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)oct-6-enal (13).....	39
3.4.2. 4-((R)-6-metil-hept-5-en-2-il)ciclohex-2-enona (14).....	40
3.4.3. 1-metil-4-((R)-6-metil-hept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol (15)	43
3.5. ANÁLISES QUÍMICAS DO ZINGIBERENOL	49
3.6. BIOENSAIOS	52
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	55
5. PARTE EXPERIMENTAL	57
5.1. ESTUDOS DA ECOLOGIA QUÍMICA DO PERCEVEJO <i>OEBALUS POECILUS</i>	57
5.1.1. Criação dos insetos	57
5.1.2. Coletas dos voláteis dos insetos	58
5.1.3. Análises Químicas	58
5.2. SÍNTESE DE SEMIOQUÍMICOS.....	59
5.2.1. Procedimentos Gerais	59
5.3. PROCEDIMENTOS:.....	61
5.3.1. disiamilborano (2)	61

5.3.2.	2-(4-methylciclohex-3-enil)propan-1-ol (4).....	61
5.3.3.	2-(4-metilciclohex-3-enil)-propanal (5).....	63
5.3.4.	metil-(4-metilciclohex-3-enil)-hept-5-en-3 (7).....	64
5.3.5.	4-(1-bromopropan-2-il)-1-metilciclohex-1-ene (9).....	65
5.3.6.	(3 <i>R</i>)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)oct-6-enal (13).....	66
5.3.7.	(<i>R</i>)-6-metilhept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enona (14).....	66
5.3.8.	zingiberenol a partir do (<i>R</i>)-citronelal (15).....	67
5.3.9.	(3 <i>S</i>)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)oct-6-enal (17).....	69
5.3.10.	(<i>S</i>)-6-metilhept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enona (18).....	69
5.3.11.	zingiberenol a partir do (<i>S</i>)-citronelal (19).....	70
5.4.	BIOENSAIOS	72
5.4.1.	Bioensaios com insetos	72
5.4.2.	Bioensaios com extratos de machos e compostos sintetizados....	73
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia Gasosa
CGEM	Cromatografia Gasosa acoplada a espectrômetro de massas
CTF	Catálise por transferência de fase
DEATMS	Dietilamina Trimetilsilano
Et	Etila
HMDS	Hexametildissilazana
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m/z</i>	Relação massa carga
Me	Metila
MVC	Metil vinil cetona
MeLi	Metil Lítio
MIP	Manejo integrado de pragas
MSTFA	N-Metiltrimetilsililtrifluoroacetamida
NBS	N-Bromossucinimida
PCC	Cloro Cromato de Piridínio
p.f.	ponto de fusão
Ph	Fenila
ppm	Partes por milhão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
TA	Temperatura Ambiente
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
μ.max	Freqüência de absorção máxima
δ	Deslocamento químico

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1.1 - Bombicol	3
Fig. 1.2 - Bombical	3
Fig. 1.3 - Componentes do feromônio de agregação do bicudo-do algodoeiro..	5
Fig. 1.4 - Serricornina.....	6
Fig. 1.5- Olfatômetro em Y para bioensaios de dupla escolha.....	10
Fig. 1.6 – Olfatômetro de 4 escolhas.....	10
Fig. 1.7 – Túnel de vento (esquerda) e seu motor (direita)	11
Fig. 1.8 - Percevejo <i>Oebalus poecilus</i>	13
Fig. 1.9 – Grãos de arroz danificados por <i>O. poecilus</i> - foto de H.F. Prando. ...	15
Fig. 3.1- Perfil cromatográfico gasoso do extrato de machos e fêmeas de <i>O. poecilus</i>	19
Fig. 3.2 - Espectro de massas do composto (12) dos machos de <i>O. poecilus</i> . 21	
Fig. 3.3 - Espectro de massas do alfa bisabolol.....	21
Fig. 3.4 - Espectro de massas da oxidação com PCC do extrato de <i>O. poecilus</i>	22
Fig. 3.5 – Fração do perfil cromatográfico do extrato de machos <i>O. poecilus</i> antes (parte inferior) e depois de reação com PCC (parte superior).....	22
Fig. 3.6 - Isômeros sugeridos para a síntese inicial	24
Fig. 3.7 – CCD do composto (4) e do limoneno (3)	26
Fig. 3.8 - Espectro de RMN ¹ H de (4), p-ment-1-en-9-ol. (CDCl ₃ , 300 MHz)....	26
Fig. 3.9 - Espectro de RMN ¹³ C de (4), p-ment-1-en-9-ol. (CDCl ₃ , 75 MHz).....	27
Fig. 3.10 Infravermelho do composto (4) , (pastilha de NaCl).	28
Fig. 3.11 - Espectro de massas de (4) (CG-EM).	28
Fig. 3.12 – CCD do composto (5) e do composto (4)	29
Fig. 3.13 - Espectro de RMN ¹ H do composto (5)	30
Fig. 3.14 - Espectro de RMN ¹³ C do composto (5)	30
Fig. 3.15 - Espectro de massas do composto (5)	31

Fig. 3.16 – Infravermelho do composto (5)	31
Fig. 3.17 - Espectro de RMN ¹ H do composto (7)	32
Fig. 3.18 - Espectro de RMN ¹³ C do composto (7)	33
Fig. 3.19 - Espectro de massas do composto (7)	33
Fig. 3.20 – Espectro de infravermelho da mistura de isômeros de (7)	34
Fig. 3.21 - Espectro de RMN ¹ H composto (9)	35
Fig. 3.22 - Espectro de RMN ¹³ C do composto (9)	36
Fig. 3.23 - Espectro de massas do composto (9)	36
Fig. 3.24 - Padrão de fragmentação do zingiberenol e do composto 12	38
Fig. 3.25 - Espectro de RMN ¹ H do composto (14)	41
Fig. 3.26 - Espectro de RMN ¹³ C do composto (14)	42
Fig. 3.27 – Infravermelho do composto (14)	42
Fig. 3.28 – CCD do composto (15) (mistura de isômeros) e (14)	43
Fig. 3.29 - RMN ¹ H dos diastereoisômeros (15b) - isômeros mais polares.....	44
Fig. 3.30 - RMN ¹³ C dos diastereoisômeros (15b) - isômeros mais polares. ...	44
Fig. 3.31 - Espectro de massas do composto (15b) - isômeros mais polares..	45
Fig. 3.32 Infravermelho de (15b) - isômeros mais polares.....	45
Fig. 3.33 - RMN ¹ H dos diastereoisômeros (15a) - isômeros menos polares..	46
Fig. 3.34 - RMN ¹³ C do composto (15a) - isômeros menos polares.....	47
Fig. 3.35 - Espectro de massas do composto (15a) - isômeros menos polares.	47
Fig. 3.36 - Espectro de infravermelho de (15a) - isômeros menos polares.....	48
Fig. 3.37– 8 isômeros do zingiberenol divididos em dois grupos de 4 isômeros.	49
Fig. 3.38 – Perfil cromatográfico do extrato de machos <i>O. poecilus</i> . e dos 4 isômeros do Zingiberenol.	49
Fig. 3.39 – Padrões de fragmentação do composto (12) dos machos de <i>O.</i> <i>poecilus</i> e do zingiberenol.....	50
Fig. 3.40 – Extrato de <i>O. poecilus</i> e Zingiberenol silanizados (perfis cromatográficos).....	50

Fig. 3.41– Dois grupos de diastereoisômeros do zingiberenol.....	51
Fig. 3.42 – Bioensaios de fêmeas versus machos/fêmeas.	52
Fig. 3.43 - Bioensaios de fêmeas versus extratos de machos/hexano.....	52
Fig. 3.44 - Bioensaios de fêmeas versus (<i>S</i>)-zingiberenol menos polares/hexano.....	53
Fig. 3.45 - Bioensaios de fêmeas versus (<i>R</i>)-zingiberenol menos polares/hexano.....	53

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.1 - Rota sintética da mistura de isômeros da Serricornina, principal componente do feromônio do bicho-do-fumo.....	7
Esquema 1.2 - Rota sintética para o Grandisol (Grandlure I), um componente do feromônio do bicudo- do-algodoeiro.....	8
Esquema 3.1 - Rota sintética para o composto 7 (isômero do bisabolol).....	24
Esquema 3.2 - Rota sintética para o composto 8 (isômero do bisabolol).....	25
Esquema 3.3 – Oxidação do zingiberenol com PCC.....	38
Esquema 3.4 – Rota sintética do Zingiberenol a partir do (<i>R</i>)-citronelal	39
Esquema 3.5 – Rota sintética do Zingiberenol a partir do (<i>S</i>)-citronelal.....	39
Esquema 3.6 - Rota sintética do (3 <i>R</i>)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)Oct-6-enal	40
Esquema 3.7- Formação de zingiberenol à partir de (14).....	43

1. INTRODUÇÃO

O controle de pragas é um dos grandes problemas na agricultura. No âmbito mundial, alternativas mais ecológicas para o controle e manejo de pragas vem sendo utilizadas há bastante tempo. No Brasil, o principal método de controle de pragas ainda é o uso de inseticidas,¹ mas o uso de semioquímicos vem crescendo nos últimos tempos.

1.1. Formas de Controle de pragas no Brasil

1.1.1. Inseticidas

A principal forma de controle de pragas no Brasil é por meio de inseticidas, que embora seja eficiente, não são específicos, atuando não somente sobre a praga-alvo, mas sobre toda a fauna. Uma importante implicação do controle químico é a possibilidade dos insetos praga se tornarem resistentes aos inseticidas o que favorece a recuperação mais rápida de sua população, já que a população de inimigos naturais é diminuída. Além disso, muitos inseticidas possuem efeitos cumulativos, portanto, causarão danos não apenas no momento de sua aplicação, mas por um longo período.²

Em 1999, no Brasil foram utilizados cerca de 2,5 a 3 milhões de toneladas de agrotóxicos por ano. Em 2002, o Brasil já era o quarto maior consumidor de agrotóxicos no mundo,³ em 2008 o país se tornou o maior consumidor mundial de agrotóxicos e em 2009 consumiu cerca de 1 bilhão de litros destes produtos.⁴

Além do alto consumo de agrotóxicos, o Brasil se tornou o principal destino para a utilização de produtos proibidos em outros comércios.⁷ Um exemplo de agrotóxico proibido em países da União Européia e que continua a

¹ Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa **2010**.

² Moreira, J. C.; Jacob, S.C.; Peres, F.; Lima, J. S.; Araujo, A. L. *Ciênc. Saúde Coletiva*. **2002**, 7, 299.

³ Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – SINDAG **2009**.

⁴ Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa **2009**.

ser utilizado no Brasil é o endossulfam. Não bastasse isso, a importação desse produto aumentou em mais de 500 mil toneladas de 2008 para 2009.⁵

Uma alternativa para reduzir o uso de defensivos agrícolas no controle de pragas é o desenvolvimento de agentes mais específicos e menos prejudiciais ao meio-ambiente, que venham a atingir apenas as espécies-alvo.^{6,7} Desta forma, a utilização de semioquímicos se mostra como uma alternativa bastante viável no controle e monitoramento de insetos.

1.1.2.Semioquímicos

Semioquímicos são substâncias emitidas por plantas, animais e outros organismos, que induzem respostas comportamentais ou fisiológicas nos indivíduos receptores da mesma ou diferentes espécies.⁸

Os semioquímicos podem ser divididos em: Aleloquímicos e Feromônios.

- **Aleloquímicos:** São semioquímicos produzidos pelos indivíduos de uma espécie que modificam o comportamento dos indivíduos de uma outra espécie, são agentes interespecíficos.

Os Aleloquímicos podem ser divididos em:

- **Alomônios:** aleloquímicos onde quem se beneficia é a espécie que emite.
- **Sinomônios:** Aleloquímicos onde as duas espécies são beneficiadas, tanto o emissor quando o receptor.

⁵ Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa **2010**.

⁶ Bras. Ecol.; **1998**, 8, 39.

⁷ Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. **2001**, 22- setembro/outubro

⁸ Wood, W. F.; *J. Chem. Educ.* **1983**, 60, 531.

- **Cairomônios:** Aleloquímico onde a espécie receptora é que se beneficia.

Os feromônios são semioquímicos produzidos pelos indivíduos de uma espécie e que modificam o comportamento de indivíduos da mesma espécie, sendo agentes intra-específicos. Os feromônios podem ser classificados segundo a sua função no comportamento do inseto como: sexual, de alarme, de agregação, de trilhas, entre outros.¹⁰

Dentre os vários tipos de feromônio, os atraentes sexuais têm se mostrado os mais interessantes para o uso no manejo de pragas, pois atingem somente a espécie de interesse.

Na ordem Lepidoptera, em geral, a fêmea é que libera o feromônio sexual para atrair os machos para o acasalamento.⁹

O primeiro feromônio sexual isolado e identificado foi o da mariposa do bicho da seda, *Bombyx mori* (1959).¹⁰ O composto identificado foi o bombicol (Fig. 1.1), e posteriormente foi identificado o bombical (Fig. 1.2), como parte do feromônio sexual deste inseto.

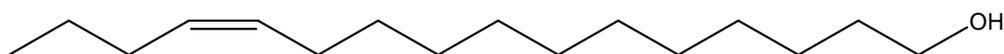


Fig. 1.1 - Bombicol

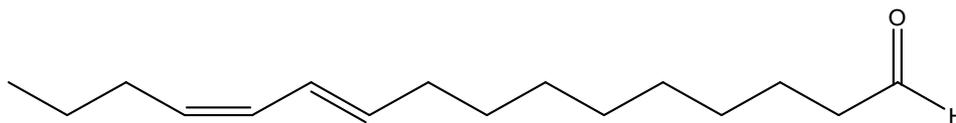


Fig. 1.2 - Bombical

No geral, os feromônios são liberados pelos insetos em quantidades da ordem de nanogramas/dia, o que dificulta a identificação estrutural com os métodos analíticos existentes. Essa é uma justificativa, para o fato de que pouco mais de 6000 feromônios sexuais tenham sido identificados,(levando-se

⁹ Metcalf, R. L.; *Mikrochim. Acta.* **1998**, 129, 167.

¹⁰ Zarbin, P. H. G.; Rodrigues, M. A. C. M.; Lima, E. R. *Quim. Nova.* **2009**, 32, 722.

em consideração que o número estimado de insetos-praga esteja em torno de cem mil.¹¹

Os feromônios podem ser utilizados de várias formas no controle de pragas. Dentre elas, pode-se citar:

- Monitoramento, que pode auxiliar na determinação do nível de infestação de uma espécie em determinada área.
- Coleta massal, onde se utiliza o feromônio sintético em grande quantidade de armadilhas, para capturar o maior número possível do inseto-praga, visando à supressão da população, mantendo-a abaixo do nível de dano econômico.
- “Atrai e mata”, que consiste basicamente da utilização de dois componentes: um atrativo (feromônio, atrativo visual ou ambos) e um controlador do inseto (inseticida de contato, regulador de crescimento, esterilizador ou um organismo patogênico), capturando e matando o inseto-alvo.
- Confusão sexual, por meio da liberação de feromônio sintético na área que se deseja controlar a praga, com o intuito de atrapalhar o inseto na localização do parceiro, impedindo ou diminuindo o número de acasalamentos.

Existem vários casos de usos bem sucedidos de semioquímicos no Brasil. Dentre eles, podem-se citar os trabalhos realizados nas plantações de algodão, que sofrem com mais de 30 diferentes pragas da Ordem Coleoptera e Lepidoptera.¹² Os feromônios são utilizados no monitoramento e na interrupção de acasalamento, com conseqüente diminuição da população da espécie alvo.

¹¹ <http://www.cenedcursos.com.br/manejo-integrado-de-insetos-praga.html> - acesso em **02/04/2011**.

¹² Tamhankar, A. J.; Gahukar, R. T.; Rajendran, T. P. *Integrated Pest Manag. Review*. **2000**, 5, 11.

Feromônios de várias pragas do algodão já foram identificados e mostram-se, efetivos economicamente, nas áreas de cultivo, e não agressivos ao ambiente.¹³

No Brasil, o monitoramento do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* por meio de armadilhas de feromônio, tem sido usado desde 1983.¹³ O feromônio de agregação utilizado - que atrai tanto machos quanto fêmeas - consiste de uma mistura de 4 compostos de origem terpênica que são produzidos somente pelos machos da espécie: 2-((1*R*)-1-metil-2-(prop-1-en-2-il)ciclobutil) etano (**grandlure I**); (*E*)-2-(3,3-dimetil-ciclohexilideno) etanol (**grandlure II**); (*Z*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldeído (**grandlure III**) e (*E*)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldeído (**grandlure IV**),¹⁴ Fig.1.3.

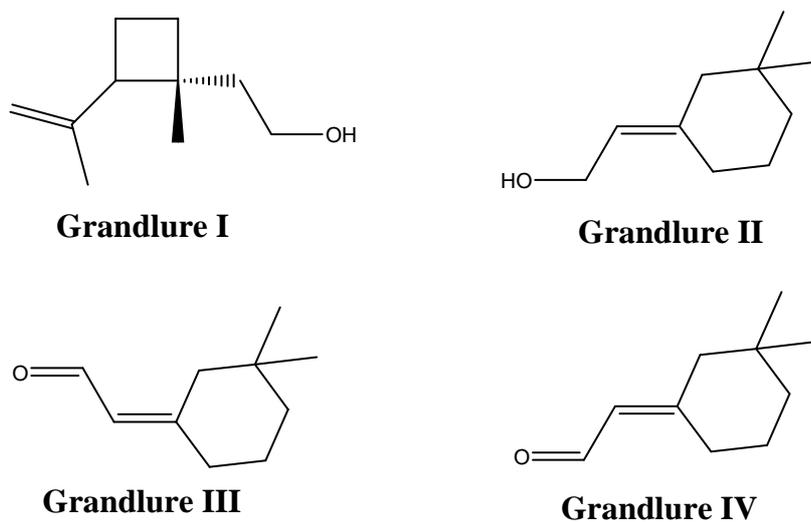


Fig. 1.3 - Componentes do feromônio de agregação do bicudo-do algodoeiro.

O primeiro feromônio comercializado no Brasil foi o do bicho-do-fumo, *Lasioderma serricorne*, que é, inclusive, um dos feromônios mais utilizados no país nos últimos dez anos.¹³ Seu principal componente é o (4*S*,6*S*,7*S*)-7-hidróxi-4,6-dimetil-3-nonanona (**serricornina**), Fig.1.4.

¹³ Bento, J. S. WORKSHOP TECNOLÓGICO SOBRE "PRAGAS DA CANA-DE-AÇÚCAR", 2007, Painel 4 .

¹⁴ Mori, K. in *The Total Synthesis of Natural Products*, ApSimon, J.,Ed.; John Wiley: New York, 1981; 4, 1.

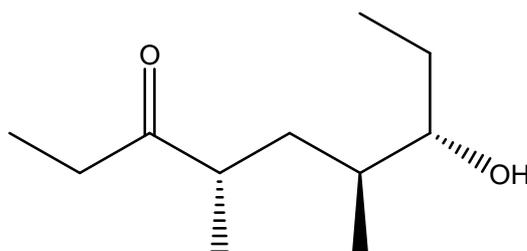


Fig. 1.4 - Serricornina

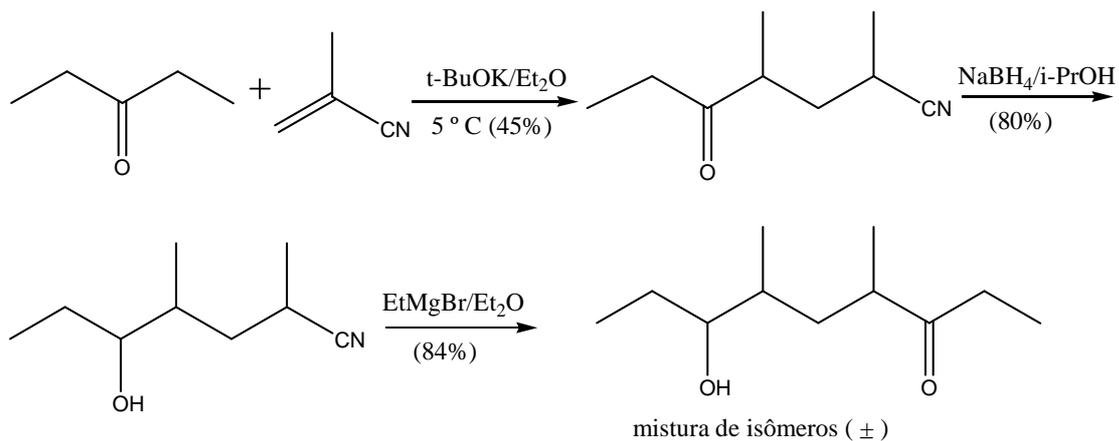
Além do feromônio, é empregado um atraente alimentar, que, adicionado à armadilha, tem a finalidade de tornar o produto mais eficiente na atração deste inseto. O feromônio vem sendo utilizado desde 1986 no monitoramento de *L. serricone* em armazéns de fumo, nas principais regiões produtoras do país e em navios usados no transporte do produto exportado.¹²

1.2. Feromônios e Síntese Orgânica

Os feromônios normalmente são compostos voláteis que pertencem a diversas classes químicas, tais como: ésteres, alcoóis, aldeídos, sesquiterpenos, tendo frequentemente em sua estrutura a presença de um ou mais centros estereogênicos, além de uma ou mais possibilidades de configurações (*E*) ou (*Z*) (insaturações ou estruturas cíclicas). Do ponto de vista da Química Orgânica, esses fatores fazem com que as sínteses se tornem, muitas vezes, bastante complexas, pois devido à especificidade dos insetos em relação aos seus feromônios, frequentemente há a necessidade de se utilizar sínteses enantioseletivas para produzir apenas o composto produzido pelo inseto (sem a presença de outros isômeros). Essa especificidade é tão grande, que muitas vezes a presença de outro enantiômero em uma mistura pode ser suficiente para inibir a atividade biológica do(s) composto(s) feromonal(is) ou mesmo agir como repelente.¹⁵

Em muitos casos, inicialmente, parte-se para a síntese da mistura de isômeros (feromônio do bicho-do-fumo, por exemplo), Esquema 1.1, para ser utilizado no campo, mas nem sempre o isômero é bioativo.¹⁵

¹⁵ Levinson, A; Levinson, H.; *Naturwissenschaften* **1999**, 86, 138.

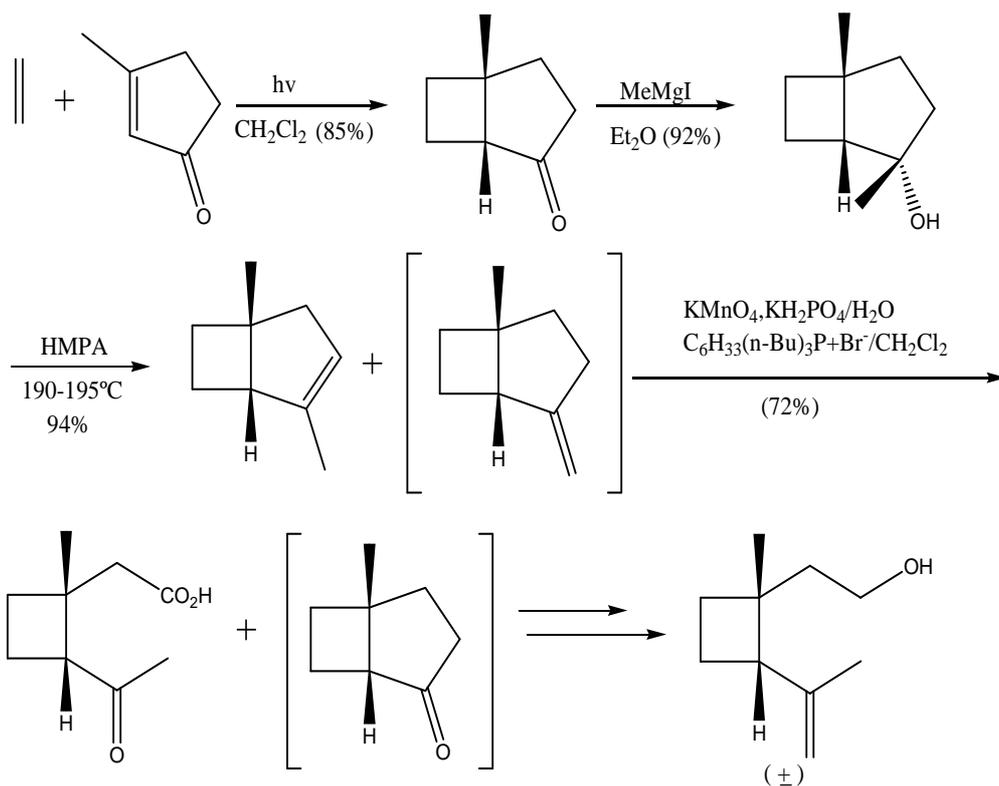


Esquema 1.1 - Rota sintética da mistura de isômeros da Serricornina, principal componente do feromônio do bicho-do-fumo.

Na literatura, há relatos de vários métodos de síntese para se obter os compostos com suas configurações iguais aos dos feromônios naturais.¹⁶

Um exemplo de mistura feromonal em que a presença de algum isômero interfere na atividade biológica é o feromônio de agregação do bicudo-do-algodoeiro,¹⁵ cuja síntese está descrita no Esquema 1.2.

¹⁶ <http://www.cenedcursos.com.br/manejo-integrado-de-insetos-praga.html> - acessado em 02/04/2011.



Esquema 1.2 - Rota sintética para o Grandisol (Grandlure I), um componente do feromônio do bicudo- do-algodoeiro

A mistura feromonal é formada por 4 compostos e todos eles têm configurações que precisam ser “respeitadas” para serem bioativos.¹⁷

A síntese de feromônios é uma parte importantíssima na obtenção de semioquímicos para uso na agricultura. A principal referência, em sínteses de feromônios é o professor Kenji Mori, cujo nome está relacionado a uma grande quantidade de compostos feromonais^{17,18,19,20} provenientes de insetos oriundos de várias partes do mundo, inclusive do Brasil.

¹⁷ Mori, K. *Tetrahedron*, **1989**, *45*, 3233.

¹⁸ Borges, M.; Mori, K.; Costa, M. L. M.; Sujii, E. R. *J. Appl. Entomol.* **1998**, *122*, 335.

¹⁹ Borges, M.; Schmidt, F. G. V.; Sujii, E. R.; Medeiros, M. A.; Mori, K. Zarbin, P. H. G.; Ferreira, T. B. *Physiol. Entomol.* **1998**, *23*, 202.

²⁰ Brézot, P.; Malosse, C.; Mori, K.; Renou, M. *J. Chem. Ecol.* **1994**, *20*, 3133.

No âmbito nacional, existem também, vários nomes relacionados à síntese de feromônios de insetos. Dentre eles podem-se citar: Dr. Jaswant Mahajan (prof. aposentado da UnB), Dra. Lúcia Helena Baptistella (Unicamp), uma das pioneiras na síntese do primeiro feromônio sexual de percevejos no Brasil (*Nezara viridula*), Dr. Paulo Zarbin (UFPR), Arlene Corrêa e Luciane G. Batista-Pereira (UFSCAR), dentre outros.

O interesse de vários químicos orgânicos na síntese de feromônios mostra que esta é uma área rica em possibilidades de desenvolvimento de metodologias na área sintética, além de ser de grande importância para a agricultura.

1.3. Análises comportamentais de insetos: bioensaios.

A síntese de feromônios é uma etapa muito importante na utilização de semioquímicos na agricultura. No entanto, apenas por meio de testes em laboratório com os insetos (bioensaios) e testes de campo (análise da resposta dos insetos na lavoura) é possível determinar a eficiência dos compostos sintetizados.

Em laboratório, é bastante comum a utilização de bioensaios com olfatômetros (em Y, 4 escolhas, túnel de vento, etc.), Fig. 1.5, 1.6 e 1.7, que são equipamentos que permitem que se possa averiguar a “preferência” dos insetos por uma ou mais opções (tratamentos e controles).

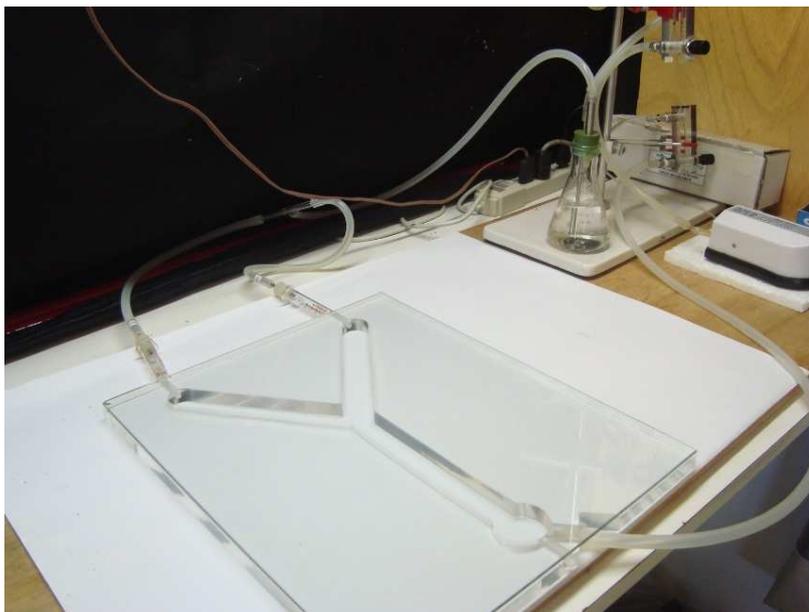


Fig. 1.5- Olfatômetro em Y para bioensaios de dupla escolha.



Fig. 1.6 – Olfatômetro de 4 escolhas



Fig. 1.7 – Túnel de vento (esquerda) e seu motor (direita)

Na interpretação dos resultados de bioensaios, frequentemente se faz necessário o uso de análises estatísticas. Dentre elas, pode-se citar o uso do teste Qui quadrado: que “é um teste de associação entre variáveis independentes e cujas observações são discretas”²¹(escala nominal). “O seu objetivo é verificar se a distribuição das freqüências observadas se desvia significativamente das freqüências esperadas”.²¹

Este tipo de teste é adequado para os experimentos de bioensaios com duas escolhas, visto que se parte do princípio de que um inseto utilizado no experimento tem igual chance de ir para qualquer um dos lados do olfatômetro em Y. Isso permite avaliar se a predominância de escolha por um dos lados (tratamento ou controle) é significativa ou não (normalmente se usa um intervalo de confiança de 95%). Dessa forma, é possível saber se há atração significativa do inseto para o tratamento utilizado.

²¹ <http://pt.scribd.com/doc/19461644/Quiquadrado-Passo-a-Passo>, acessado em 03/03/11.

1.4. Arroz e sua importância

O arroz é um dos principais alimentos consumidos no mundo, sendo um dos mais importantes em termos de valor econômico.²² As culturas asiáticas têm este alimento como a base de sua dieta e cerca de 90% de todo o arroz produzido no mundo é cultivado e consumido na Ásia,¹⁸ no entanto, também é o principal alimento nos países da América do Sul, que é o segundo centro consumidor e produtor deste grão.²³

Fora do continente asiático, o Brasil é o principal produtor de arroz e no âmbito mundial, se encontra entre os dez maiores. No Brasil, o arroz tem uma importância econômica muito grande, estando atrás, em valores financeiros brutos, apenas da soja, milho, café e cana de açúcar. A maior produção de arroz no Brasil se encontra na Região Sul, sendo o Rio Grande do Sul o principal produtor.²³

Assim como outras culturas, o arroz enfrenta vários problemas em sua produção, principalmente devido ao ataque de várias pragas, sendo as principais: a lagarta *Spodoptera frugiperda*, os percevejos *Tibraca limbativentris* (percevejo do colmo) e *Oebalus poecilus* (percevejo das panículas).²³

²²http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoBrasil/ca_p01.htm- acessado em 09/11/2010.

²³http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoBrasil/ca_p01.htm- acessado em 09/11/2010.

1.5. *Oebalus poecilus*

Não existem muitas informações sobre a ecologia química da maioria das pragas do arroz, incluindo o percevejo *Oebalus poecilus* (Dallas, 1851), (Hemiptera: Pentatomidae), Fig. 1.8. Dessa forma, a pesquisa nessa área se torna muito importante.



Fig. 1.8 - Percevejo *Oebalus poecilus*

O percevejo *O. poecilus* é encontrado em plantações de arroz em todo o Brasil, tanto em ecossistemas de terras altas como no de várzeas.²⁴ Como os outros percevejos, esse inseto possui metamorfose incompleta, pois passa pelas fases de ovo, ninfa e adulto.²⁵

Os percevejos *O. poecilus* costumam colocar suas posturas nas folhas das plantas e, quando há grandes populações, as posturas também podem ser colocadas nos colmos e panículas.²⁰ Os ovos de *O. poecilus* são de coloração inicial verde-clara e formato cilíndrico, levemente arredondados na base²⁶ e se tornam avermelhados pouco antes da emergência da ninfa. Ovos inférteis não sofrem alteração de cor, permanecendo verde-claro ou verde-amarelado.^{20, 27,28}

²⁴ Costa, E. C.; Link, D. *Ver. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguiana* **1998/99**, 5/6, 29.

²⁵ Squire, F. A.; *Agr. J. Brit. Guiana* **1934**, 4, 245.

²⁶ Costa Lima, A. da. *Escola Nacional de Agronomia Série Didática* **1940**, 3, 351.

²⁷ AmaraL, S. F. do. *O Biológico* **1949**, 15, 97.

A fase de ovo dura, em média, de 4 a 7 dias, sendo dependente da temperatura.²⁹ Após a eclosão, o percevejo passa por 4 períodos ninfais (ínstares) antes de se tornar adulto. Este período dura, em média, 30 dias e também é variável em função da temperatura.³⁰ Os insetos adquirem maturidade sexual com cerca de 16,4 dias para machos e 16,1 dias para fêmeas,²² no entanto já foram visualizados acasalamentos com idades bem inferiores a estas (cerca de 7 dias) em laboratório.

Tanto a ninfa quanto o adulto (dependendo da densidade populacional) pode causar grandes prejuízos à cultura do arroz, visto que não só insetos adultos se alimentam das panículas, mas também as ninfas (do 2º ao 5º estágio).³¹ Eles se alimentam das espiguetas e das ramificações primárias e secundárias da panícula.

A alimentação nas espiguetas de arroz, no início do estágio leitoso, provoca um desenvolvimento anormal das sementes, resultando em uma gluma vazia ou em redução do tamanho dos grãos. No estágio pastoso, os grãos tornam-se manchados e estruturalmente enfraquecidos, podem quebrar durante o processo de polimento reduzindo a porcentagem de grãos de arroz inteiros.²⁵ Grãos atacados e que não quebram durante o processo de polimento aparecem manchados e assim causam redução na classificação, Fig 1.9.

²⁸ Rossetto, C. J.; Silveira Neto, S.; Link, D.; Grazia-Vieira, J.; Amante, E.; Souza, D. de; Banzato, N. V.; Oliveira, A. M. *Reunião do Comitê de arroz para as Américas - FAO, 2, e Contribuições Técnicas da Delegação Brasileira, Brasília: DNPE. 1971-1972*, 149.

²⁹ Baughman, T. W.; Sworen, J. C.; Wagener, K. B. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10943.

³⁰ Squire, F. A. *J. Brit. Guiana* **1934**, *4*, 245

³¹ Ferreira, E.; Vieira, N. R. A.; Rangel, P. H. N. *Anais Embrapa Clima Temperado* **1999**, 432.



Fig. 1.9 – Grãos de arroz danificados por *O. poecilus*- foto de H.F. Prando.

Grãos originados de espiguetas atacadas têm menor poder germinativo e menor valor comercial.²⁵ Além de atuar diretamente nas plantas, o *Oebalus poecilus* atua, também, como vetor de fungos como *Helminthosporium oryzae*, *Nigrospora oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium spp.*, *Cladosporium spp.* e *Penicillium sp.* Quatro percevejos por metro quadrado de plantação já são suficientes para definir o nível de dano econômico na cultura do arroz.²⁵

Em estudos feitos em 10 genótipos de arroz irrigado, as perdas qualitativas foram superiores às perdas quantitativas.²⁵ Estes prejuízos quantitativos e, principalmente, qualitativos no arroz, explicam porque o *Oebalus poecilus* vem sendo considerado uma das principais pragas desta cultura.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral:

Estudar a Ecologia química do percevejo *Oebalus poecilus*.

2.2. Objetivos específicos:

2.2.1 - Identificar e sintetizar o feromônio sexual do percevejo-praga do arroz *Oebalus poecilus*

2.2.2 - Identificar os compostos defensivos de machos e fêmeas de *Oebalus poecilus*.

2.2.3 - Avaliar a potencialidade do uso do feromônio sexual no monitoramento e/ou controle da praga no campo, por meio de estudos comportamentais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estudos da Ecologia Química do percevejo *Oebalus poecilus*.

3.1.1. Análise Química dos voláteis dos insetos

Análises dos extratos de machos e fêmeas de *O. poecilus*, obtidos das coletas de voláteis, por CG-DIC mostraram que os extratos das aerações dos machos continham apenas um composto específico em relação às fêmeas, o composto 12. Como para outros pentatomídeos, nos adultos de *O. poecilus* foram identificados uma série de compostos comuns a ambos os sexos, como hidrocarbonetos e aldeídos, identificados como: : 6-metil-hept-5-en-2-ona (1), octanal (2), (*E*)-2-octenal (3), undecano (4), nonanal (5), dodecano (6), decanal (7), tridecano (8), tetradecano (9), pentadecano (10) e hexadecano (11), Fig. 3.1.

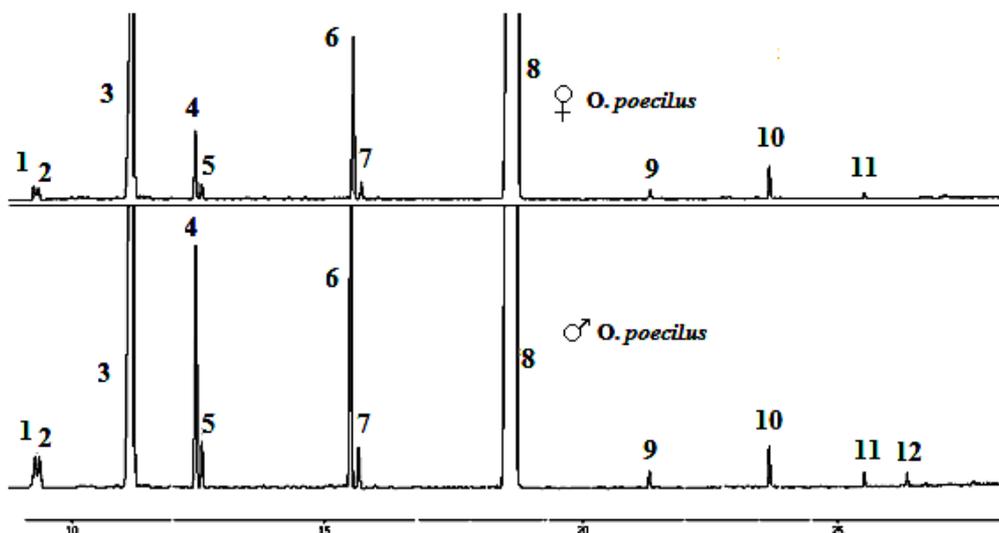


Fig. 3.1- Perfil cromatográfico gasoso do extrato de machos e fêmeas de *O. poecilus*

Os compostos mais abundantes foram o (*E*)-2-octenal e o tridecano, Tabela 1. Isso foi observado em 15 extratos de machos, contendo de 20 a 50 insetos e em 15 extratos de fêmeas contendo de 18 a 50 insetos.

Composto	Índice de Kováts (KI)	Quantidade média liberada (N=5) (ng/inseto/24 h) (média ± dp)	
		Machos	Fêmeas
6-metil-hept-5-en-2-ona	989	12,70 ± 7,06	1,33±1,41
octanal	1005	12,16 ± 11,47	3,40 ± 4,59
(<i>E</i>)-oct-2-enal	1063	912,07 ± 526,15	106,74 ± 122,71
undecano	1100	86,95 ± 60,39	17,30 ± 15,21
nonanal	1107	22,54 ± 23,53	1,88 ± 2,46
dodecano	1200	131,17 ± 96,57	66,06 ± 56,05
decanal	1206	18,94 ± 9,11	1,06 ± 1,33
tridecano	1300	4863,91 ± 2508,48	4739,92 ± 2704,15
tetradecano	1400	7,97 ± 4,32	6,76 ± 5,67
pentadecano	1500	25,35 ± 14,91	18,44 ± 22,63
hexadecano	1600	3,87 ± 3,09	1,71 ± 2,24

Tabela 1 – Concentração dos compostos defensivos e índices de Kovats

A análise do padrão de fragmentação do composto (**12**), específico dos machos, (Fig.3.2) sugere que o mesmo poderia ser um sesquiterpeno, evidenciado pela presença dos fragmentos m/z 69, correspondente ao íon $C_5H_9^+$; fragmento m/z 93 relativo ao íon $C_7H_9^+$ e fragmento m/z 119 para o íon $C_9H_{11}^+$. Observou-se também, possível íon molecular em m/z 222 e um íon em m/z 204 (M-18) de uma provável perda de água, devido à presença de um grupo (OH).

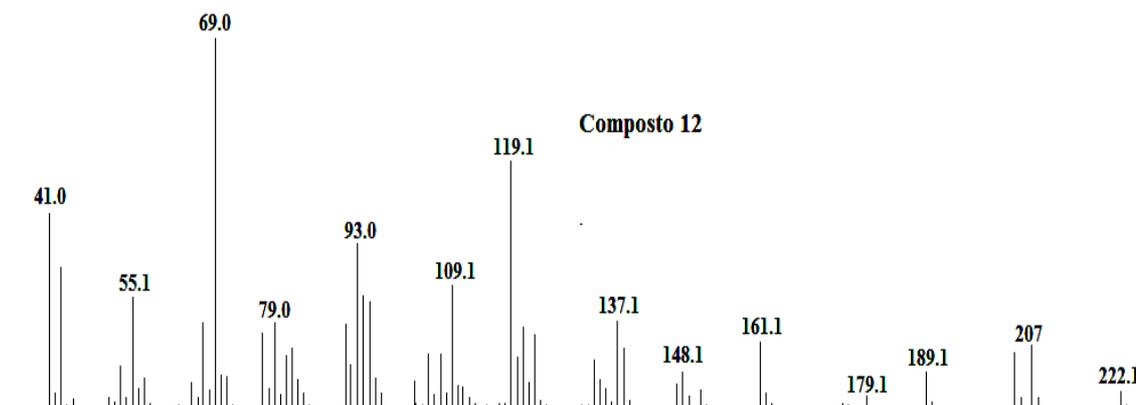


Fig. 3.2 - Espectro de massas do composto (12) dos machos de *O. poecilus*

Diante dessas informações, procurou-se por possíveis padrões originais que fossem isômeros do composto 12. Foram feitas injeções do padrão original do α -Bisabolol [6-metil-2-(4-metilciclohex-3-enil)-hept-5-en-2-ol] em CG e CGEM para comparações de seu tempo de retenção e padrão de fragmentação com o composto 12. No entanto, foi observado que o tempo de retenção era diferente e seu padrão de fragmentação, apesar de semelhante, diferia principalmente no que se refere às abundâncias dos íons, Fig.3.3.

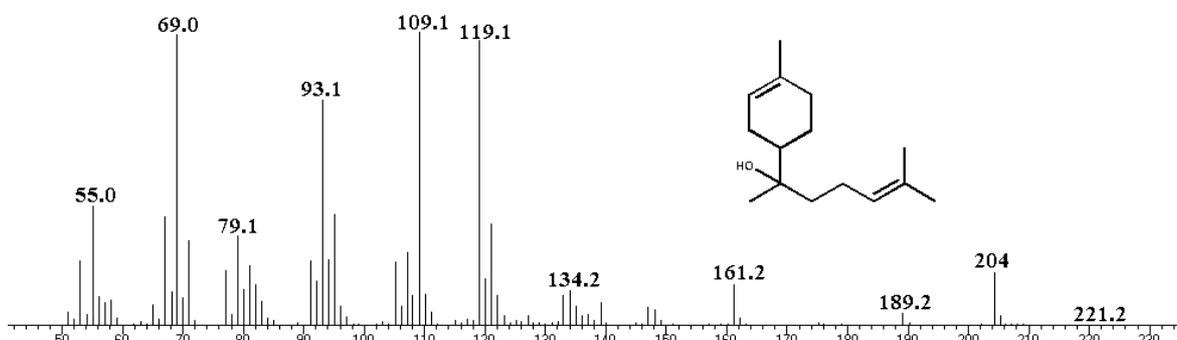


Fig. 3.3 - Espectro de massas do alfa bisabolol

Foi realizada a reação de oxidação do extrato de machos com PCC, na tentativa de estabelecer se o possível grupo OH era pertencente a um álcool primário/ secundário ou terciário.

Foi observada a formação de um composto com provável íon molecular em m/z 220. A presença do íon m/z 205 (M-15), correspondente a uma possível perda de CH_3 dá mais suporte para inferir-se que m/z 220 é o íon

molecular, Fig. 3.4. Essa massa é condizente com a oxidação do grupo OH de um composto com massa de 222. Além disso, o pico no GC referente ao composto 12 Fig. 3.5 desapareceu, indicando que o mesmo reagiu com o PCC. Diante disto, foi descartada a presença de álcool terciário, Fig. 3.5.

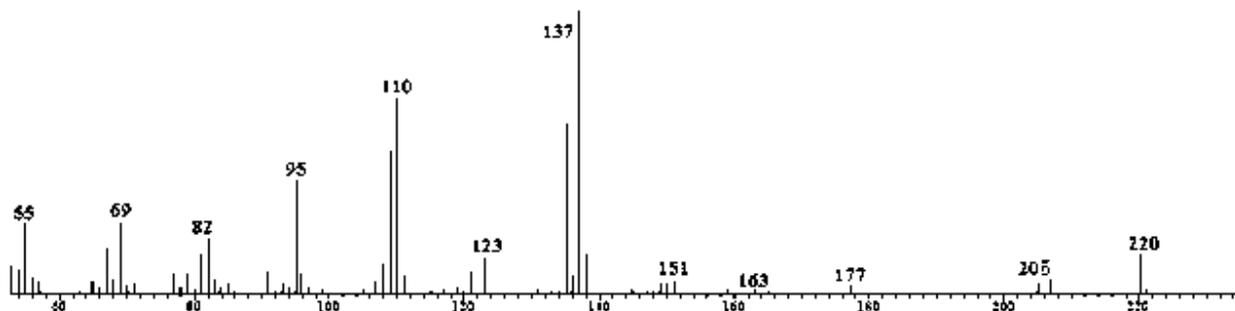


Fig. 3.4 - Espectro de massas da oxidação com PCC do extrato de *O. poecilus*

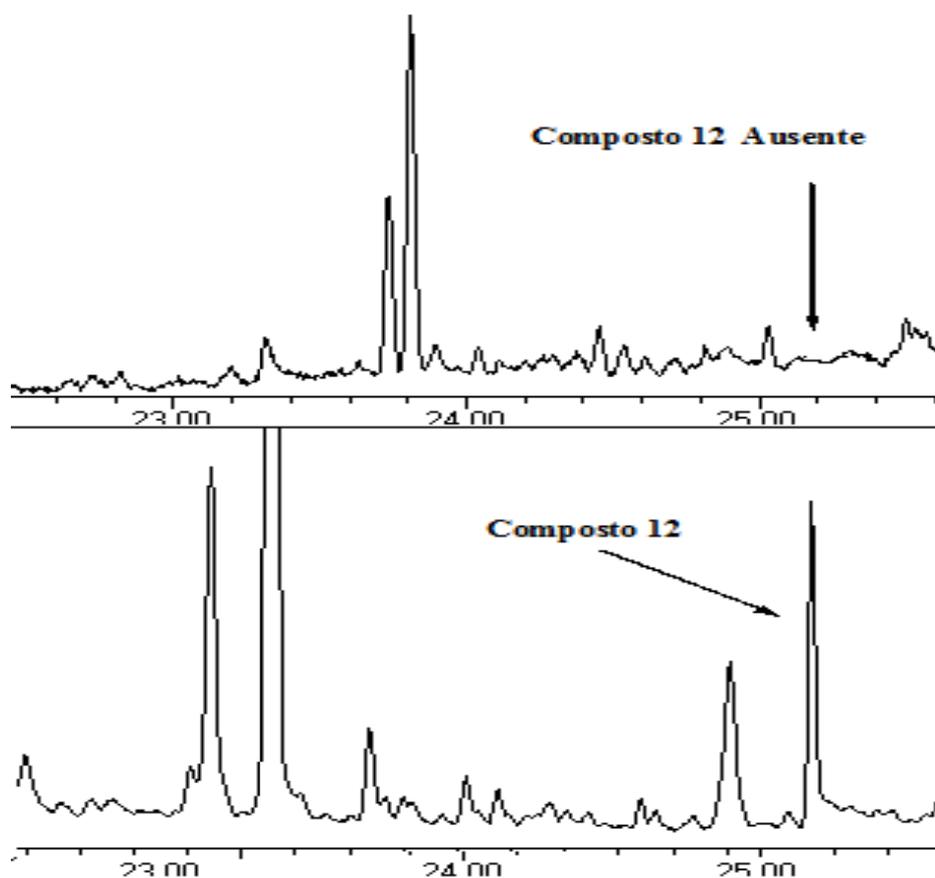


Fig. 3.5 – Fração do perfil cromatográfico do extrato de machos *O. poecilus* antes (parte inferior) e depois de reação com PCC (parte superior)

As análises dos extratos de machos e fêmeas de *O. poecilus* mostraram que, como outros hemípteros, produzem uma série de compostos defensivos em comum, tendo como composto majoritário o tridecano, no entanto a proporção entre os componentes difere dos outros pentatomídeos já estudados,^{32,33} mostrando que esses compostos também podem ser utilizados pelos insetos como indicadores da especificidade. A função dos compostos defensivos ainda não está totalmente esclarecida. Alguns compostos, como o tridecano, têm função de alarme, mas ainda é necessário conduzir bioensaios e estudos comportamentais para identificar a função dos compostos individualmente e na mistura.

Na maioria dos pentatomídeos estudados, até o momento, quem libera o feromônio sexual é o macho da espécie^{29,30}, o que se manteve também no percevejo *Oebalus poecilus*.

O composto específico dos machos corresponde a um sesquiterpeno com provável massa molar 222, sendo um isômero do bisabolol.

³² Moraes, M. C. B.; Pareja, M.; Laumann, R. A.; Borges, M.; *Neotr. Entomol.* **2008**, *37*, 489.

³³ Aldrich, J. R.; Oliver, J. E.; Lusby, W. R.; Kochansky, J. P.; Borges, M.; *J. Chem. Ecol.* **1994**, *20*, 1103.

3.2. Síntese de semioquímicos

3.2.1. Síntese dos Isômeros do bisabolol

Baseado no padrão de fragmentação do composto 12 e da provável estrutura de um álcool primário ou secundário (em função do composto gerado da reação com PCC) foram sugeridas duas estruturas (isômeros do α -bisabolol) para serem sintetizadas, Fig.3.6, de maneira que se pudesse comparar os tempos de retenção e padrão de fragmentação destes compostos com o composto 12.

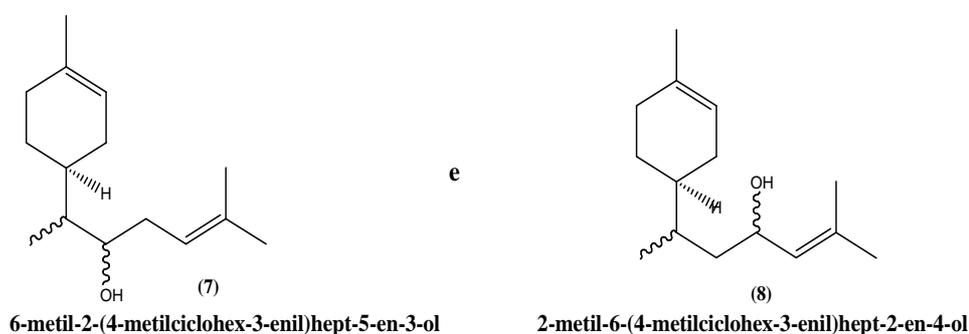
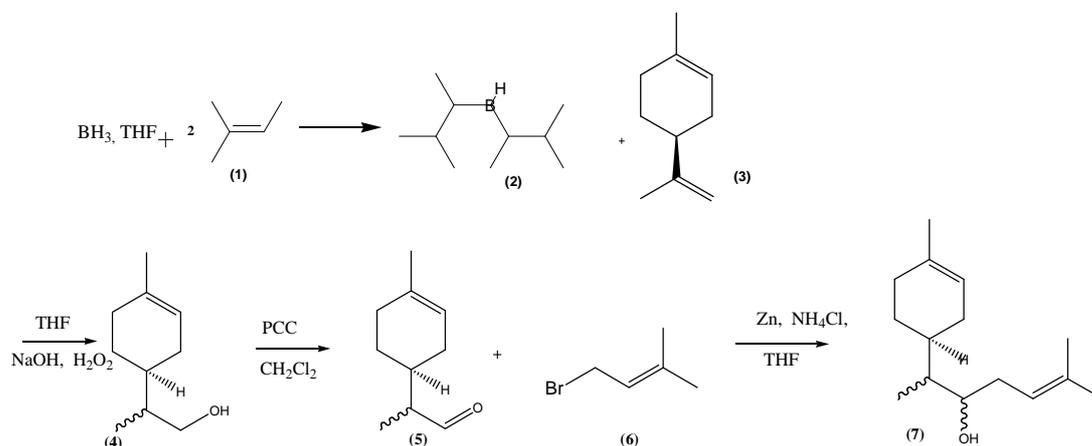
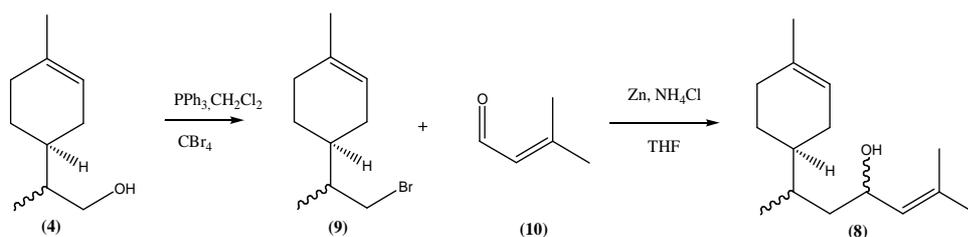


Fig. 3.6 - Isômeros sugeridos para a síntese inicial

Foram propostas as seguintes rotas sintéticas para os isômeros 7 e 8:



Esquema 3.1 - Rota sintética para o composto 7 (isômero do bisabolol)



Esquema 3.2 - Rota sintética para o composto 8 (isômero do bisabolol)

3.3. Síntese do composto (7)

3.3.1. Formação de 2-(4-metilciclohex-3-enil)-propan-1-ol (4)

A primeira etapa para síntese do composto (7) é a formação do borano impedido para a hidroboração do (-)-limoneno (3). A hidroboração direta com BH_3 em THF não seria eficiente para nossos objetivos, visto que não haveria seletividade devido à ligação do boro a ambas as insaturações. Em função disso, preparamos inicialmente o borano impedido (2) (Disiamilborano), de acordo com o Technical Bulletin da Aldrich,³⁴ que, por causa do impedimento estéreo iria atuar somente na ligação dupla fora do anel.

Após a preparação de (2), foi adicionado (3) seguindo-se o procedimento descrito por Pawson et al.³⁵ Após a adição do NaOH e de H_2O_2 e transcorridos os 30 minutos para finalizar a reação, observou-se, através de CCD, a formação de um composto mais polar, Fig.3.7.

³⁴ *Technical Bulletin AL-109, 1996*, revised.

³⁵ Pawson, P. A.; Cheung, H. C.; Gurbaxani, S.; Saucy, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 336.

CCD 30% acetato de etila/éter de petróleo

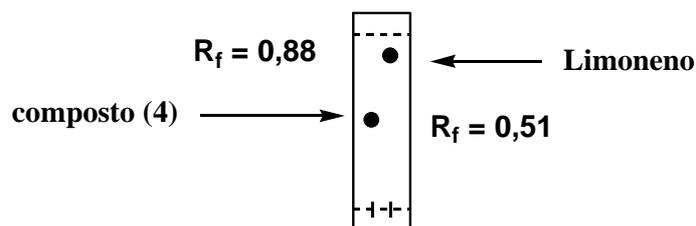


Fig. 3.7 – CCD do composto (4) e do limoneno (3)

A formação de (4) foi evidenciada na análise de RMN ^1H , onde se observa o aparecimento de dois multipletos na região entre 3,45 e 3,60 ppm, relativos aos dois hidrogênios carbinólicos do produto. É possível, também, a visualização de dois dubletos na região em torno de 0,91 ppm, referentes aos hidrogênios do CH_3 da cadeia alquílica. A presença de dois dubletos, e não apenas um, é explicada pelo fato da reação formar uma mistura de dois isômeros. Também é possível observar que a reação ocorreu seletivamente na ligação dupla exocíclica, pois o pico em 5,36 ppm, referente ao hidrogênio da insaturação no anel, permanece no espectro e não há picos na região de 4,7 ppm, referentes à outra ligação dupla do composto de partida (3), Fig.3.8.

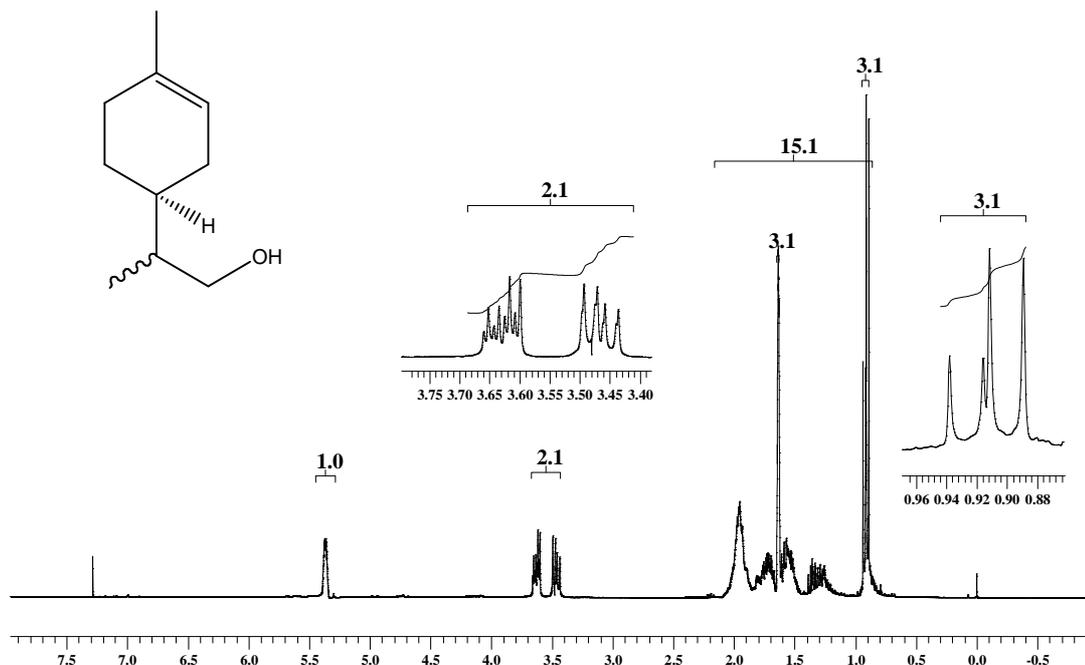


Fig. 3.8 - Espectro de RMN ^1H de (4), p-ment-1-en-9-ol, (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C , os picos em 66,1 e 65,9 ppm (referentes aos carbonos carbinólicos), também nos dão suporte para inferir que houve a formação dos dois isômeros do álcool esperado, Fig. 3.9. Os picos em 120,5 e 133,8 ppm são respectivamente do carbono secundário e do carbono terciário da ligação dupla no anel. Também se observa a presença de 2 isômeros na expansão dessas regiões no espectro, Fig. 3.9.

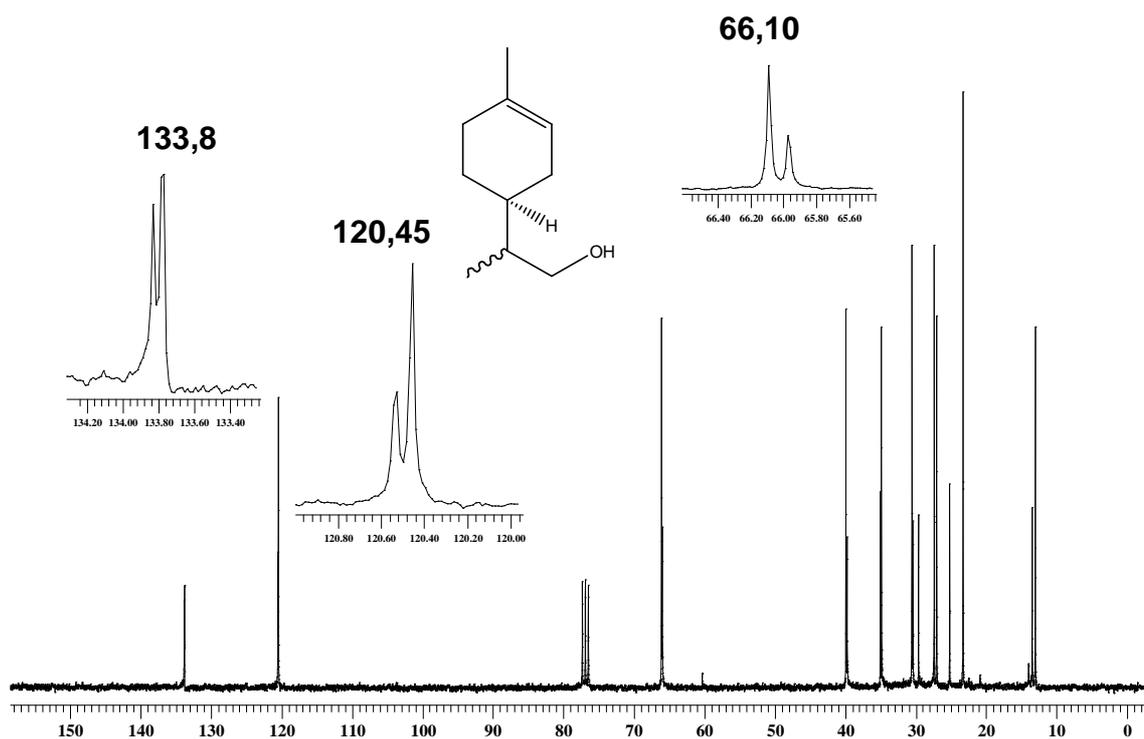


Fig. 3.9 - Espectro de RMN ^{13}C de (4), p-ment-1-en-9-ol, (CDCl_3 , 75 MHz).

Na região do IV de **(4)**, observa-se o estiramento de O-H em 3390 cm^{-1} , Fig. 3.10.

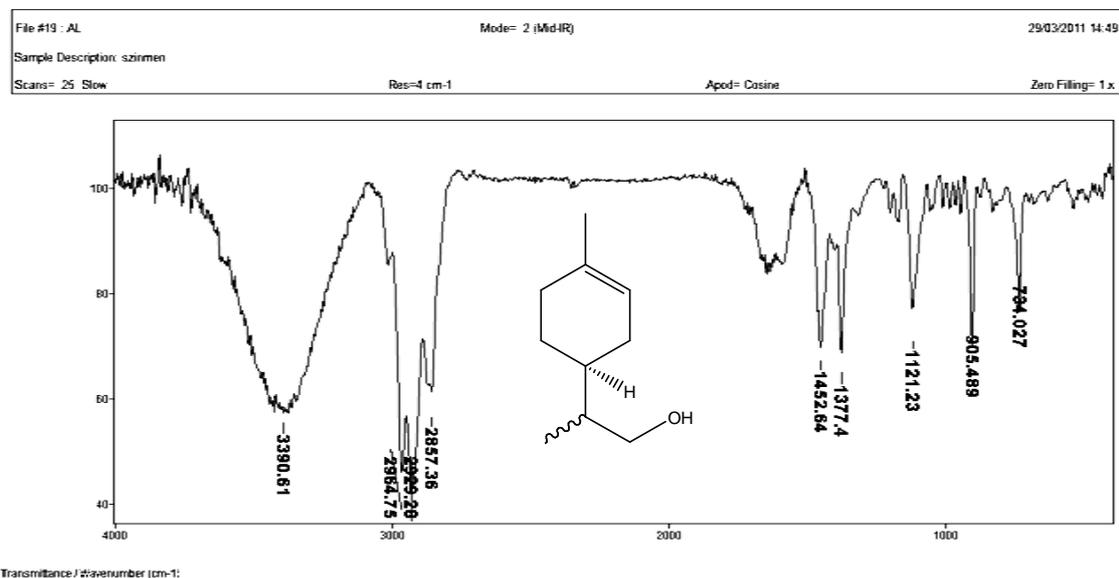


Fig. 3.10 Infravermelho do composto **(4)**, (pastilha de NaCl).

No espectro de massas, o padrão de fragmentação do composto está de acordo com a biblioteca NIST 2008, sendo possível observar o íon molecular em m/z 154 e o íon m/z 136 (M-18), referente à perda de H_2O , Fig. 3.11.

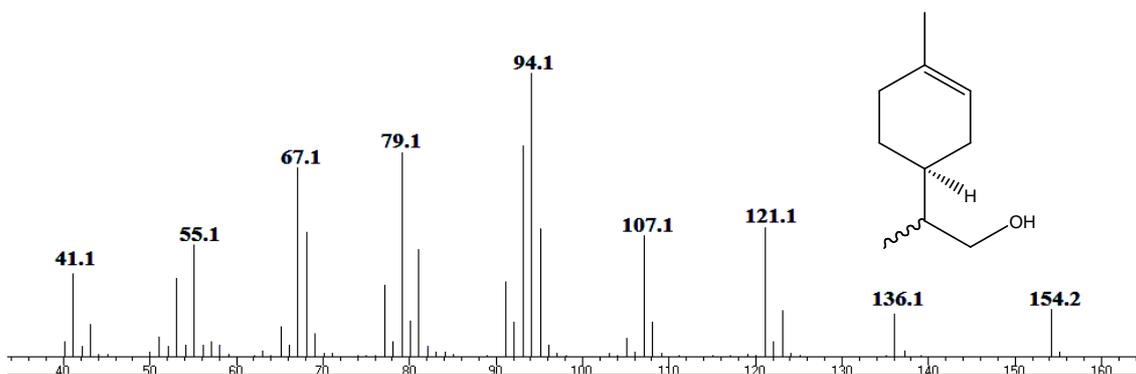


Fig. 3.11 - Espectro de massas de **(4)**, (CG-EM).

3.3.2. Obtenção do 2-(4-metilciclohex-3-enil)-propanal (5)

A reação de oxidação de (4) se processou rapidamente (1 hora e meia) com o uso do PCC, com 81% de rendimento. O fim da reação pôde ser acompanhado por CCD onde se observou a formação de um composto menos polar (“spot” localizado mais acima na placa eluída com 30% acetato de etila em hexano), Fig. 3.12.

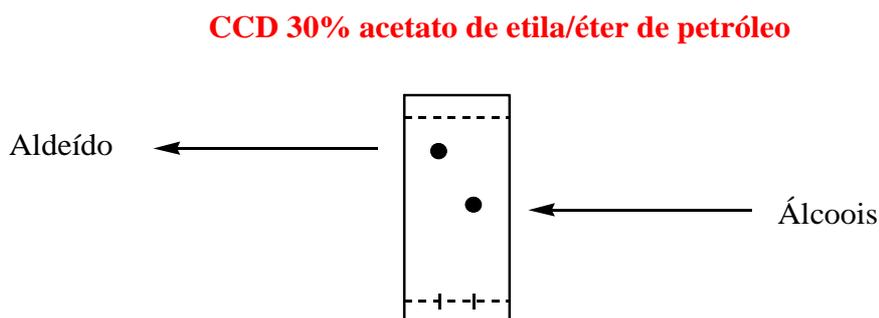


Fig. 3.12 – CCD do composto (5) e do composto (4)

O espectro de RMN ^1H evidenciou a presença de dois dubletos na região de 9,60 ppm, relativos ao hidrogênio de aldeído, e de um multiplete em 2,28 ppm, relativo ao hidrogênio α -carbonila. A presença destes dois dubletos evidencia a formação de dois isômeros de aldeídos, visto que o material de partida (4) era uma mistura de dois isômeros. Observa-se, também, o desaparecimento dos hidrogênios carbinólicos na região de 3,45 e 3,60 ppm, como mais uma confirmação de que ocorreu a reação no grupo OH de (4), Fig. 3.13.

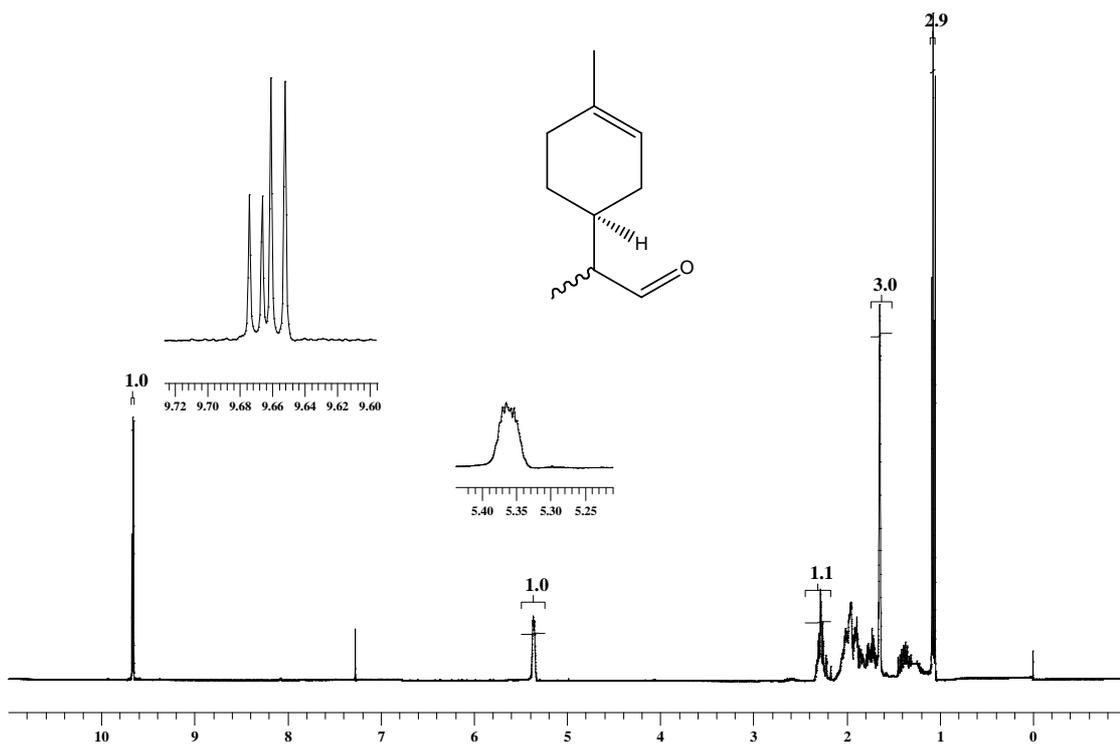


Fig. 3.13 - Espectro de RMN ^1H do composto **(5)**, (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C , observa-se o pico característico de aldeído em 205 ppm (dois picos, em função dos dois isômeros formados) e também os picos característicos dos carbonos da ligação dupla no anel em 134,0 e 119,8 ppm, Fig.3.14.

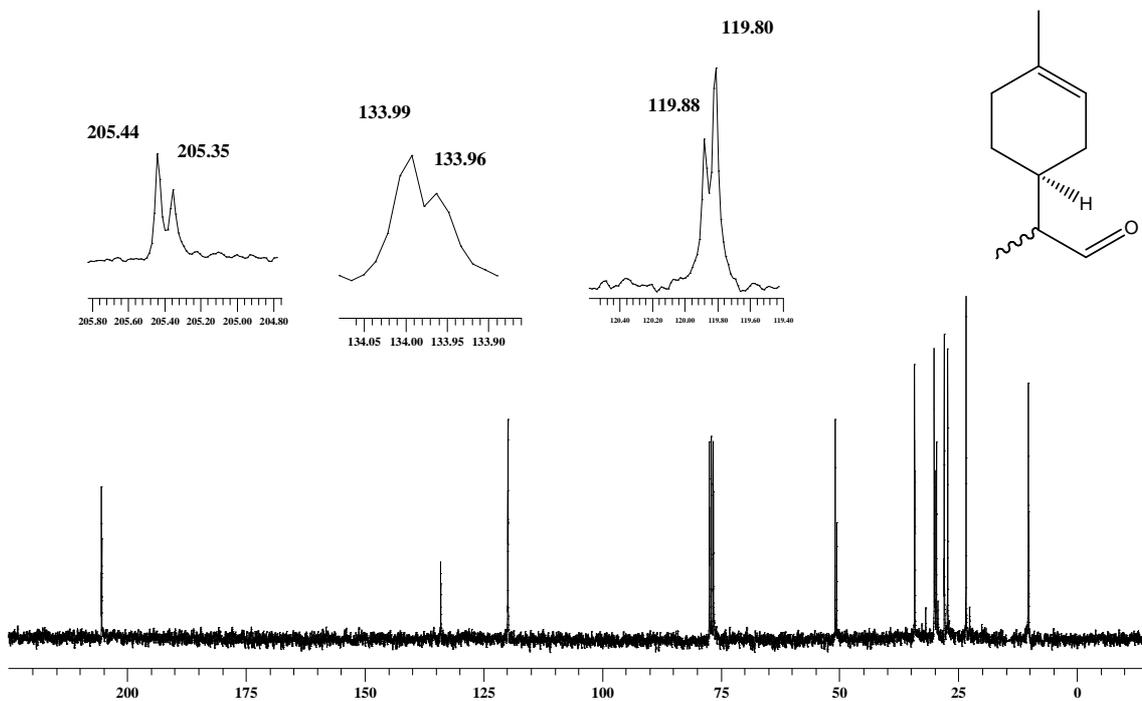


Fig. 3.14 - Espectro de RMN ^{13}C do composto **(5)**, (CDCl_3 , 75 MHz).

O espectro de massas do produto formado **(5)** condiz com o padrão de fragmentação do composto esperado na oxidação de **(4)**, de acordo com a biblioteca NIST (2008), sendo possível observar um provável íon molecular em m/z 152 (subsidiado ainda pela presença do íon m/z 137 correspondente a (M-15). A presença de um pico intenso em m/z 94 corresponde a $C_7H_{10}^+$, Fig. 3.15.

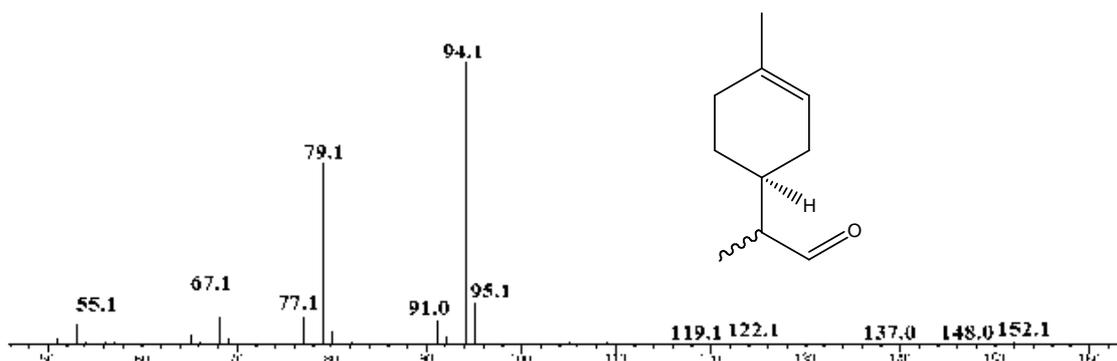


Fig. 3.15 - Espectro de massas do composto **(5)** , (CG-EM).

No espectro de infravermelho do composto **(5)** é possível ver a banda característica da carbonila em 1725 cm^{-1} .

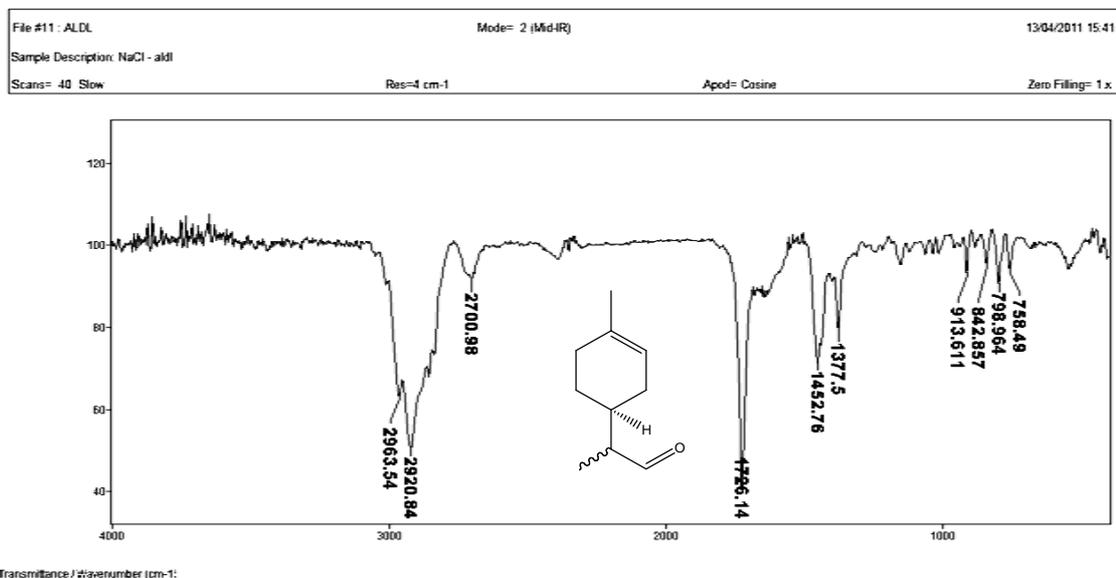


Fig. 3.16 – Infravermelho do composto **(5)** , (pastilha de NaCl).

3.3.3. 6-metil-2-(4-metilciclohex-3-enil)-hept-5-en-3-ol (7)

A reação de adição nucleofílica à carbonila se processa bem com reagentes de Grignard, no entanto, estes muitas vezes são difíceis de serem formados devido à necessidade de eliminação de qualquer quantidade de água. Como alternativa, utilizamos a reação de Barbier-Grignard, onde o reagente de Grignard é formado “in situ”. A reação do aldeído (5) com o brometo de prenila (6) comercial se mostrou rápida (1 hora e meia) e com rendimento moderado (45%). O espectro de RMN ^1H evidenciou a presença dos hidrogênios da ligação dupla no anel e na cadeia aberta em 5,40 e 5,10 ppm, respectivamente. Também é possível observar a presença do pico em 3,38 ppm, referente ao hidrogênio carbinólico, Fig.3.17

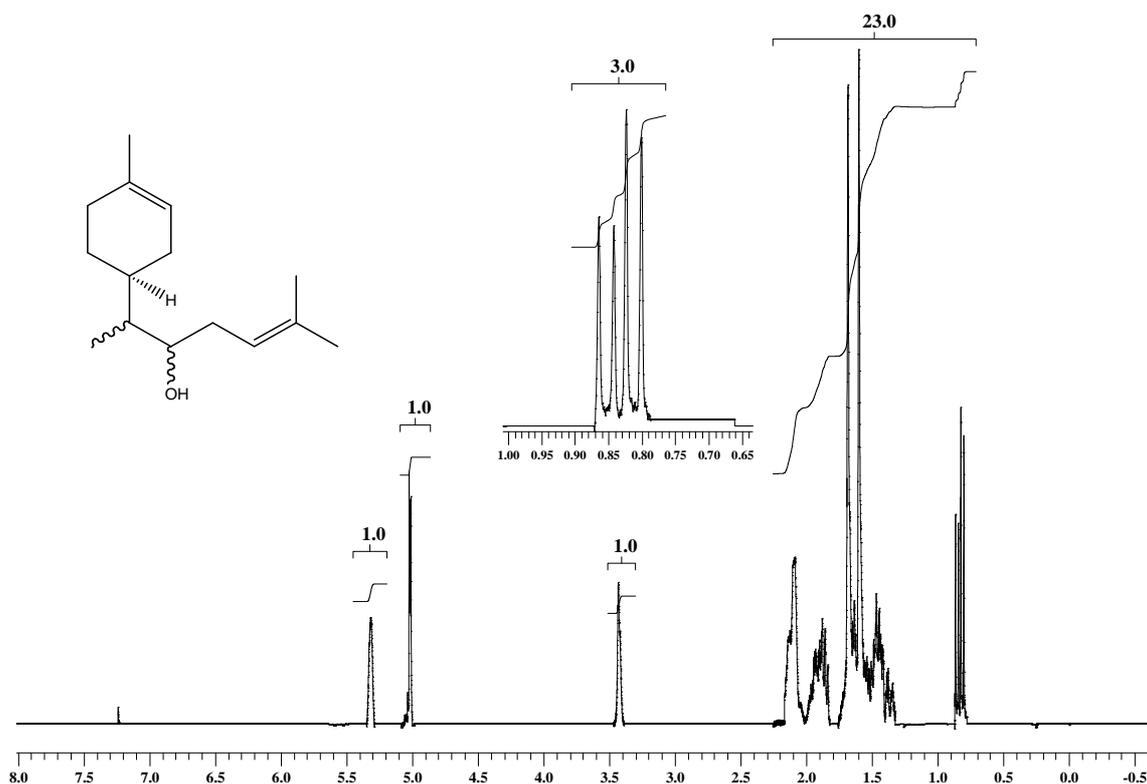


Fig. 3.17 - Espectro de RMN ^1H do composto (7), (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C , pode-se observar o pico característico de carbono carbinólico em cerca de 71 ppm, além dos carbonos das duplas na região entre 119 e 135 ppm, Fig. 3.18.

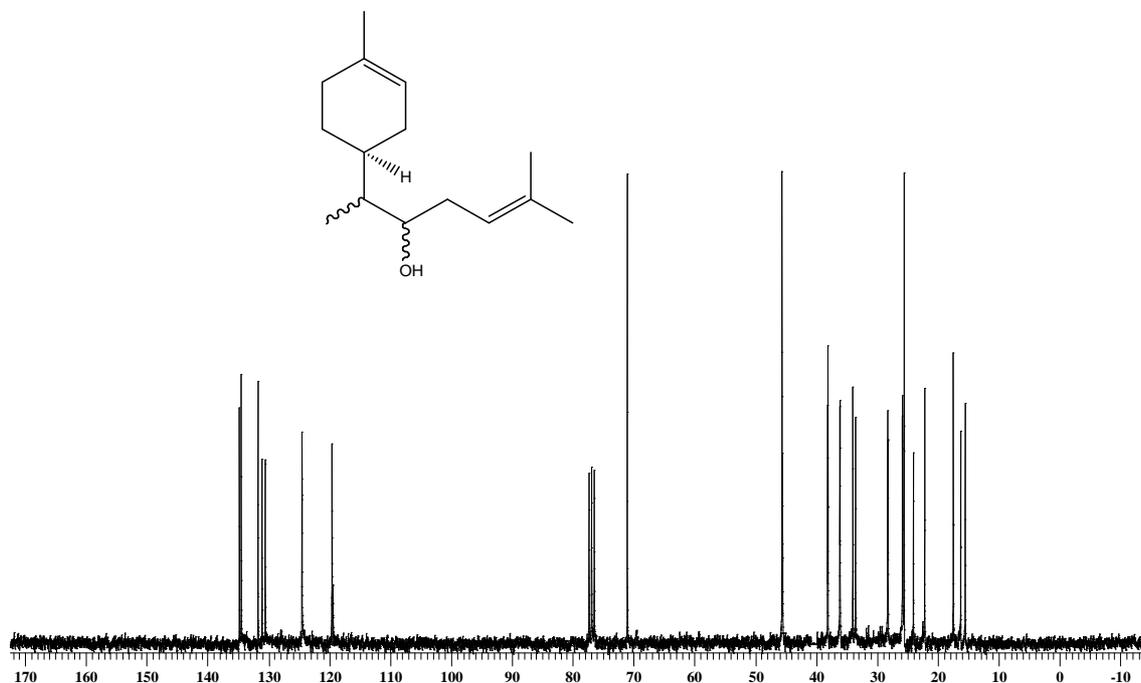


Fig. 3.18 - Espectro de RMN ^{13}C do composto (7), (CDCl_3 , 75 MHz).

O espectro de massas do composto formado nos mostra um padrão de fragmentação com provável íon molecular em m/z 222. O íon m/z 207 é de uma provável perda de grupo CH_3 (M-15), o que dá mais suporte para inferir-se que 222 é realmente o íon molecular e que estaria de acordo com a massa do composto esperado da reação de adição nucleofílica no aldeído (5). O íon m/z 189, (M-33) de uma provável perda de CH_3 e H_2O , permite inferir a presença de um grupo OH, Fig.3.19.

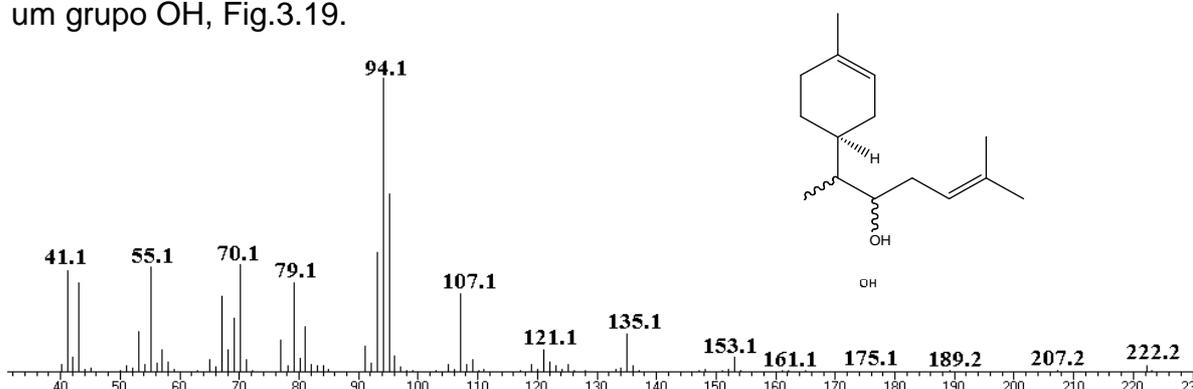


Fig. 3.19 - Espectro de massas do composto (7), (CG-EM).

No espectro de infravermelho, é possível visualizar a banda característica do grupo OH em 3483 cm^{-1} , Fig. 3.20.

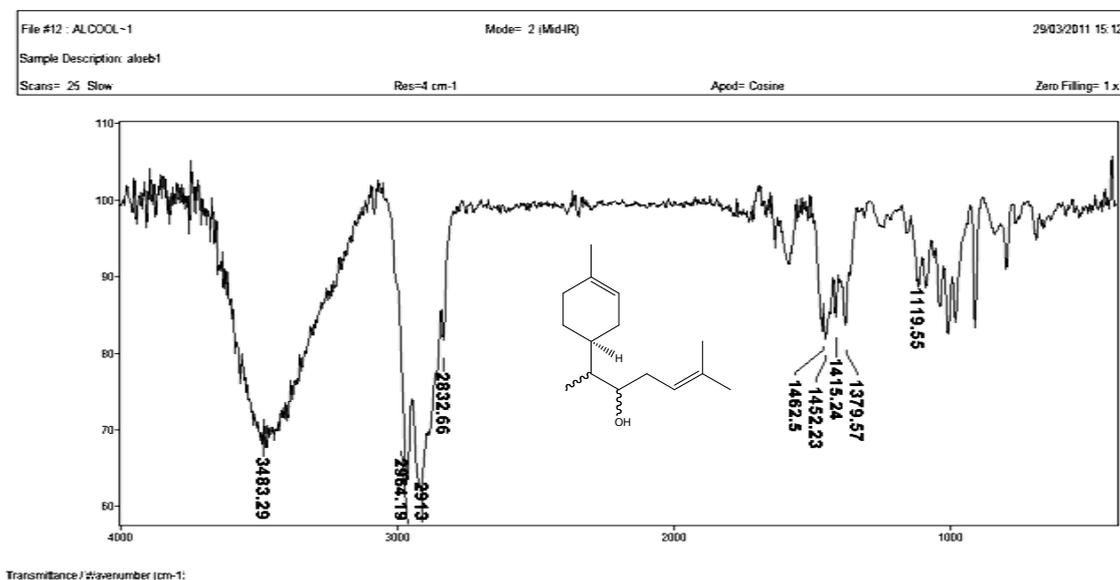


Fig. 3.20 – Espectro de infravermelho da mistura de isômeros de (7) , (pastilha de NaCl).

3.3.4. 4-(1-bromopropan-2-il)-1-metilciclohex-1-eno (9)

Utilizou-se a síntese descrita por *Baughman et. al.*³⁶, utilizando CBr_4 e PPh_3 , em diclorometano, feita em uma única etapa, à temperatura ambiente , 4 horas e rendimento de 71%.

A reação se mostrou bastante simples e na etapa de adição de hexano para separar o composto (9) do fosfinóxido (co-produto da reação), notou-se que a filtração não era tão necessária, pois mesmo contendo pequenas quantidades do fosfinóxido na amostra, a purificação seria fácil, visto que o composto obtido foi cromatografado apenas com hexano puro e o fosfinóxido gerado não era solúvel neste solvente. Deste modo, a realização do procedimento de separação do fosfinóxido do composto (9), utilizando apenas

³⁶ Baughman, T. W.; Sworen, J. C.; Wagener, K. B. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10943.

a separação da fração hexânica com pipeta Pasteur, se mostrou bastante eficiente para evitar perdas do brometo produzido.

Na caracterização de **(9)**, observou-se que este tinha o espectro de RMN ^1H muito parecido com o de **(4)**, ambos contendo basicamente os mesmos picos e pequenas diferenças nos deslocamentos químicos. É possível se observar uma pequena mudança, nos multipletos na região de 3,37 a 3,51 ppm em relação a **(4)** (estes se encontram mais próximos entre si do que em **(4)**), Fig.3.21.

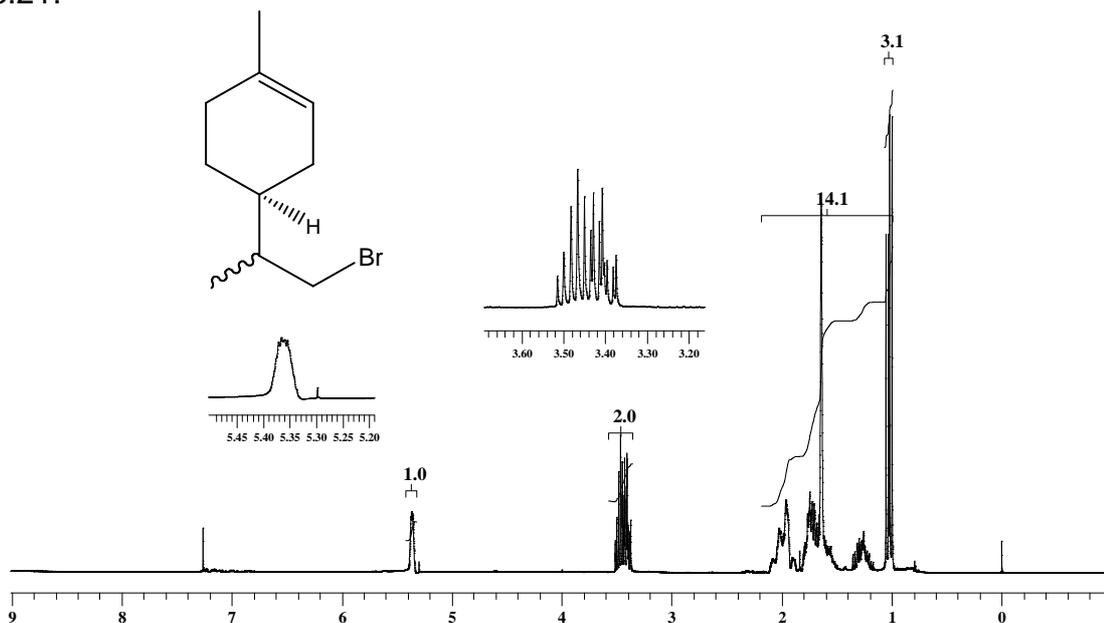


Fig. 3.21 - Espectro de RMN ^1H composto **(9)**, (CDCl_3 , 300 MHz).

O espectro de RMN ^{13}C de **(9)** não mostrou a presença dos picos em torno de 66 e 67 ppm (característicos do carbono carbinólico), de forma que podemos inferir que na reação o grupo OH (proveniente do composto **(4)**) desapareceu, e que houve a formação do composto **(9)**, Fig. 3.22.

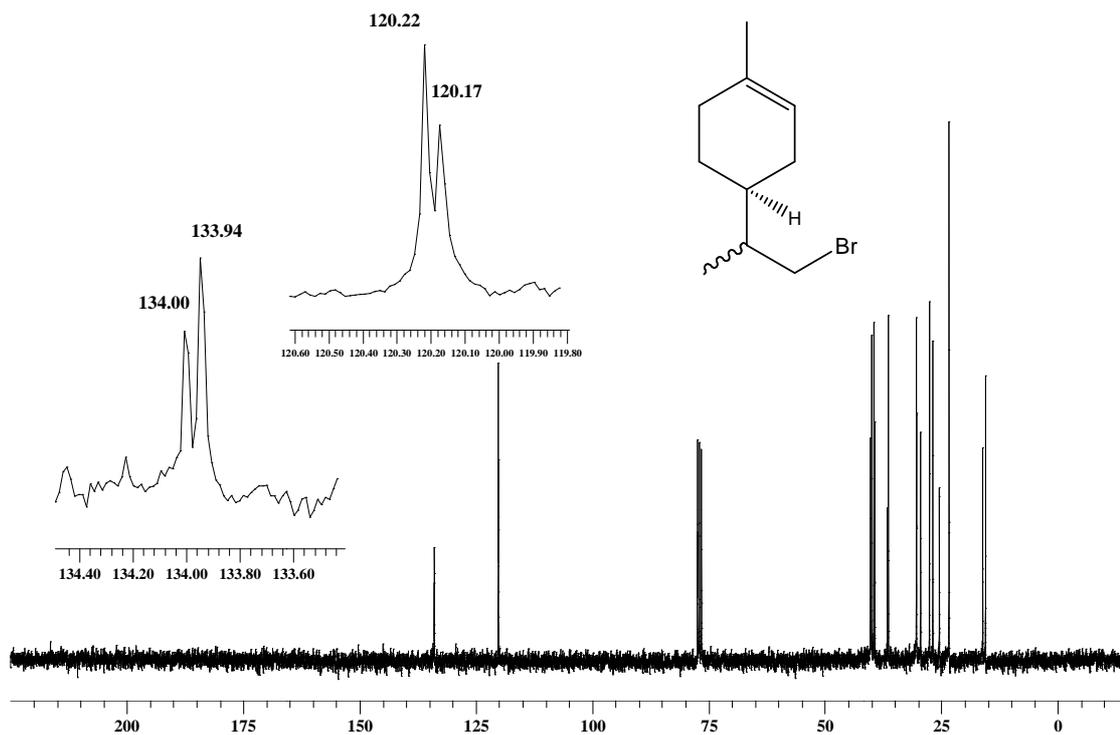


Fig. 3.22 - Espectro de RMN ^{13}C do composto (9), (CDCl_3 , 75 MHz).

O espectro de massas do composto (9) mostra a presença de um composto com provável íon molecular em m/z 216 e a razão isotópica em relação ao íon m/z 218 ($M+2$) é típica de compostos contendo bromo, Fig.3.23.

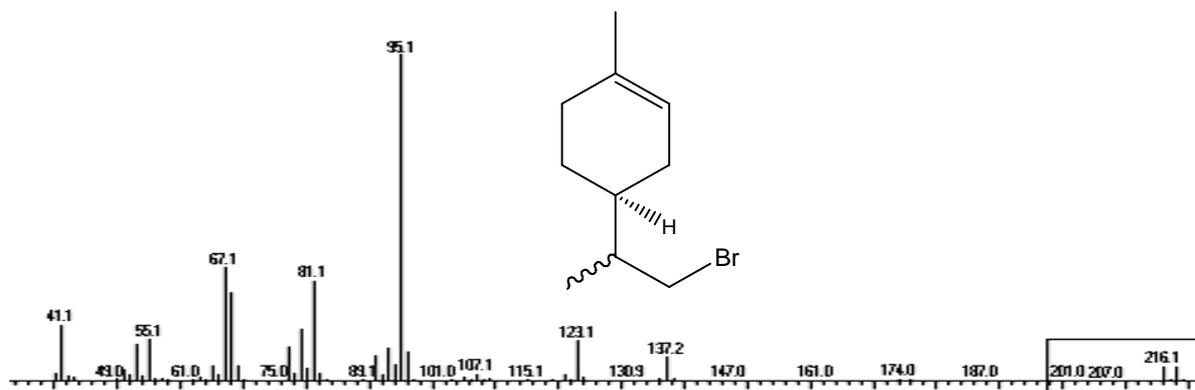


Fig. 3.23 - Espectro de massas do composto (9), (CG-EM).

3.3.5. 2-metil-6-(4-metilciclohex-3-enil)hept-2-en-4-ol (8)

Para a síntese do composto (8), realizou-se a reação de (9) com o metil crotonaldeído (10), na presença de zinco, cloreto de amônio em THF (Barbier-Grignard) durante 2 horas, como na reação para sintetizar (7). Após duas horas de reação, através de CCD, não se observou alteração no composto inicial.

Mantêve-se, então, a reação por 20 horas, mas o composto pretendido não foi formado, sendo o material de partida recuperado.

Na literatura, há relatos de que reações do tipo Barbier-Grignard funcionam muito bem com brometos de alila,³⁷ em função disso, acredita-se que esta foi uma das razões para que não ocorresse a reação, visto que o brometo utilizado não era alílico. Posteriormente, reações com reagentes de Grignard serão efetuadas para tentativa da síntese deste composto.

O padrão de fragmentação e o tempo de retenção do composto (7) não coincidiam com o composto específico de machos de *O. poecilus*. Em função disso, novas tentativas para identificação do feromônio sexual deste percevejo foram feitas.

Recentemente, o grupo de Semioquímicos da Embrapa Cenargen, havia identificado o feromônio sexual de outro percevejo do arroz, *Tibraca limbativentris*,³⁸ cujos machos produziam como feromônio sexual o composto zingiberenol. O padrão de fragmentação do composto 12 era idêntico ao padrão de fragmentação de um dos isômeros do zingiberenol, Fig. 3.24, e seu tempo de retenção coincidia com um dos isômeros do zingiberenol.

³⁷ Li, C. J.; *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5643.

³⁸ Borges, M.; Birkett, M.; Aldrich, J. R.; Oliver, J. E.; Chiba, M.; Murata, Y.; Laumann, R. A.; Barrigossi J. A. F.; Pickett, J. A.; Moraes, M. C. B. *J. Chem. Ecol.* **2006**, *32*, 2749.

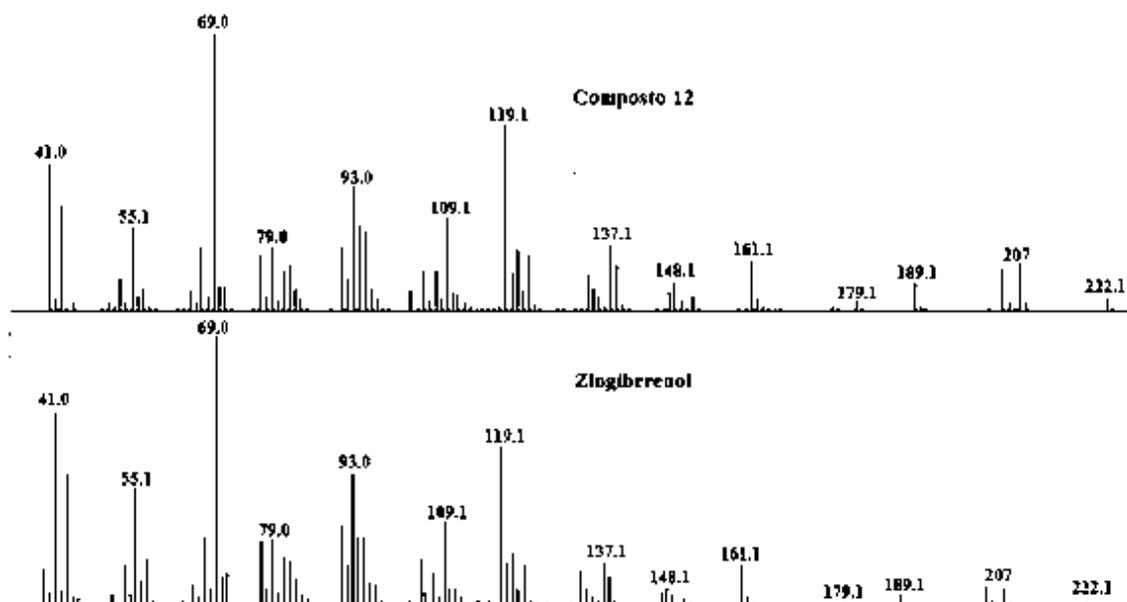
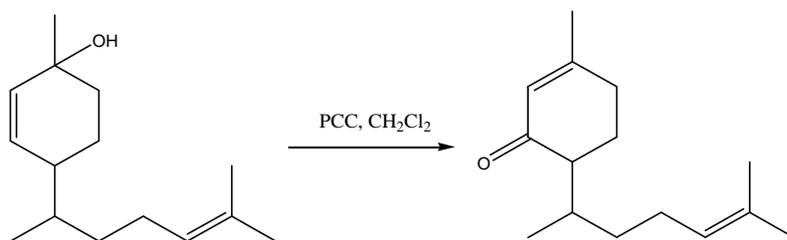


Fig. 3.24 - Padrão de fragmentação do zingiberenol e do composto 12, (CG-EM).

Apesar de este composto ser um álcool terciário, é alílico e sua reação com PCC é viável, justificando o fato do composto específico de *O. poecilus* ter reagido com PCC.

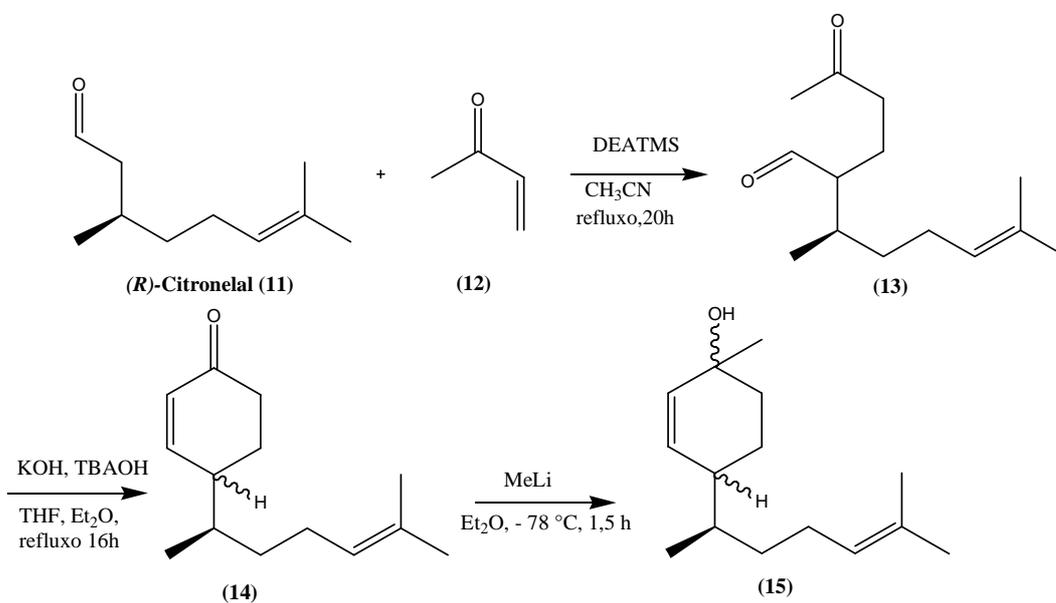


Esquema 3.3 – Oxidação do zingiberenol com PCC.

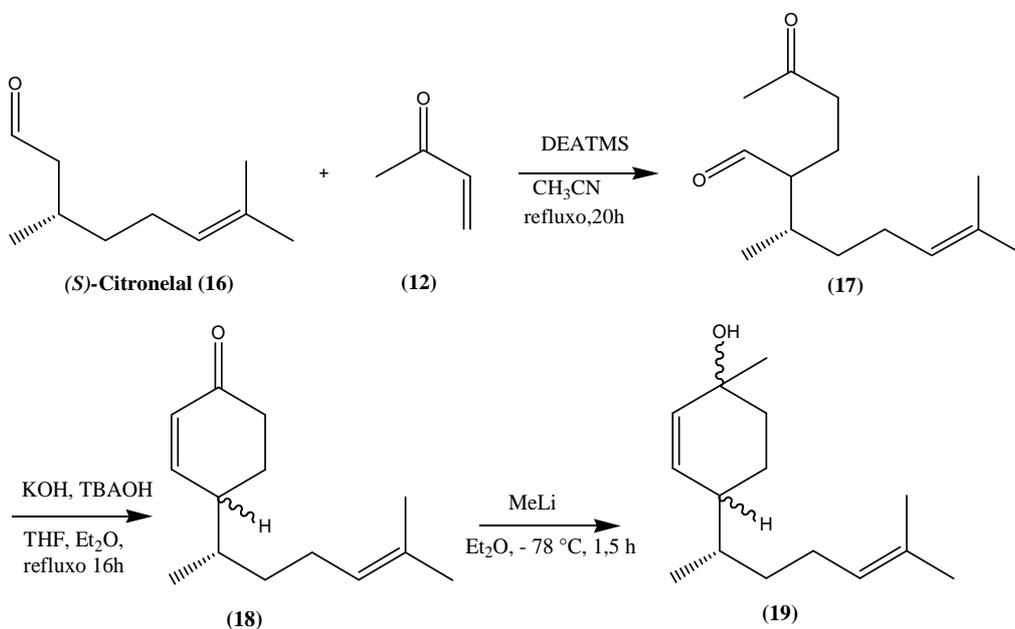
Em função disso, iniciou-se a síntese dos 8 isômeros possíveis para o zingiberenol, a partir do (*R*) e (*S*)- citronelal, seguindo a rota proposta por Hagiwara *et al.*³⁹, Esquema 3.4, para comparações do tempo de retenção e padrão de fragmentação, além da realização de bioensaios com os insetos e estes compostos.

³⁹ Hagiwara, H.; Okabe, T.; Ono, H.; Kamat, V. P.; Hoshi, T.; Suzuki, T.; Ando, M. *Perkin Trans.* **2002**, 1, 895.

3.4. Síntese dos Isômeros do Zingiberenol (1-metil-4-(6-metil-hept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enol)



Esquema 3.4 – Rota sintética do Zingiberenol a partir do (*R*)-citronelal

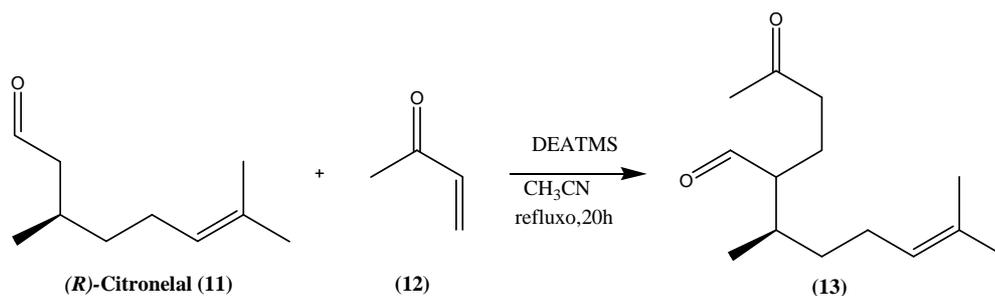


Esquema 3.5 – Rota sintética do Zingiberenol a partir do (*S*)-citronelal

³⁹ Hagiwara, H.; Okabe, T.; Ono, H.; Kamat, V. P.; Hoshi, T.; Suzuki, T.; Ando, M. *Perkin Trans.* **2002**, *1*, 895.

3.4.1. (3R)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)oct-6-enal (13)

Iniciou-se a síntese do zingiberenol a partir do (*R*)-citronelal (11) seguindo o procedimento descrito por Hagiwara,³⁹ de maneira que o composto (13) obtido não foi purificado, sendo utilizado diretamente na síntese de (14)



Esquema 3.6 - Rota sintética do (3*R*)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)Oct-6-enal

3.4.2.4- ((*R*)-6-metil-hept-5-en-2-il)ciclohex-2-enona (14)

A segunda etapa da sequência consistia de uma condensação aldólica intramolecular, que se processou com a utilização de TBAOH como catalisador de transferência de fase, utilizando-se THF e Et₂O como solventes. Em um primeiro momento, realizou-se a síntese apenas com o Et₂O como solvente, mas observou-se uma redução grande no rendimento (30%), comparado com o rendimento obtido com a utilização dos dois solventes (85%) que é bem próxima dos valores citados em Hagiwara.³⁹

O espectro de RMN ¹H estava de acordo com os dados da ref. 39, onde foram observados os picos em 5,10 ppm (referente aos hidrogênios da ligação dupla na cadeia aberta do composto), 6,03 ppm e 6,87 ppm (referentes aos hidrogênios da ligação dupla no anel). Foi possível visualizar a presença de dois isômeros do composto, visto que foram observados dois dubletos em cerca de 0,92 ppm, referentes ao grupo metila alquílica (se fosse apenas um composto teríamos apenas um dubleto) Fig. 3.25.

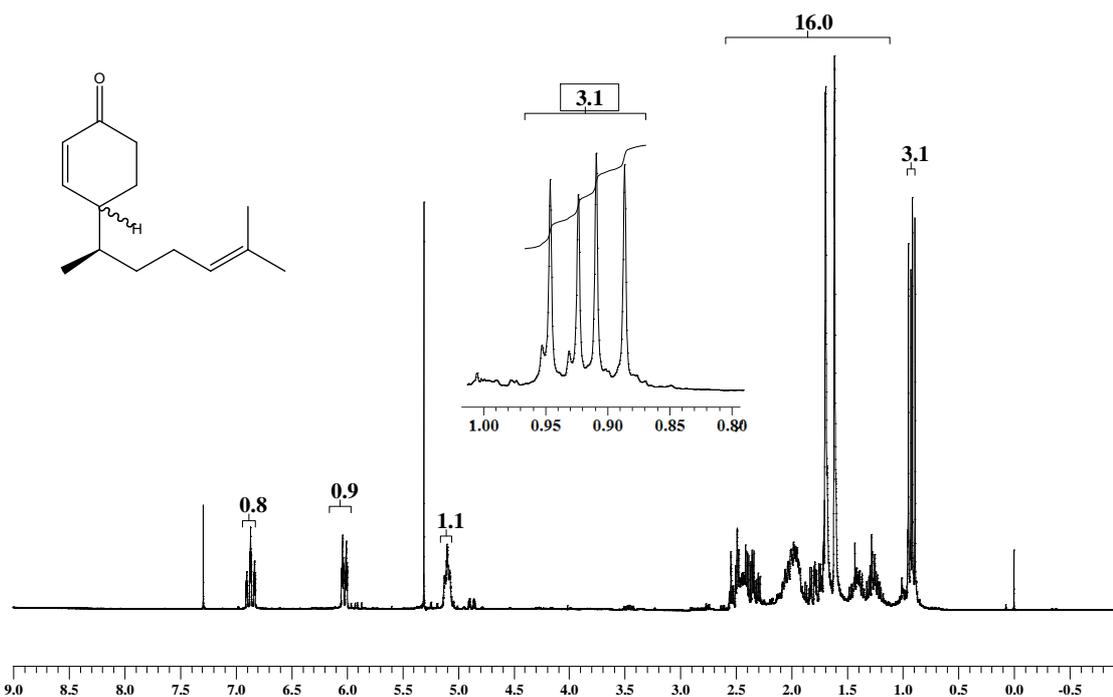


Fig. 3.25 - Espectro de RMN ^1H do composto **(14)**, (CDCl_3 , 300 MHz).

O espectro de RMN ^{13}C nos mostra a presença do carbono característico da carbonila em 200 ppm. Em 154 e 155 ppm, observa-se a presença do hidrogênio da ligação dupla no anel (são observados estes dois picos e não somente um, em função da formação de dois isômeros : **(R)-4-((R)-6-metilhept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enona** e **(S)-4-((R)-6-metilhept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enona**. Esses sinais evidenciam o fechamento do anel, que ocorre da eliminação do grupo OH, Fig. 3.26

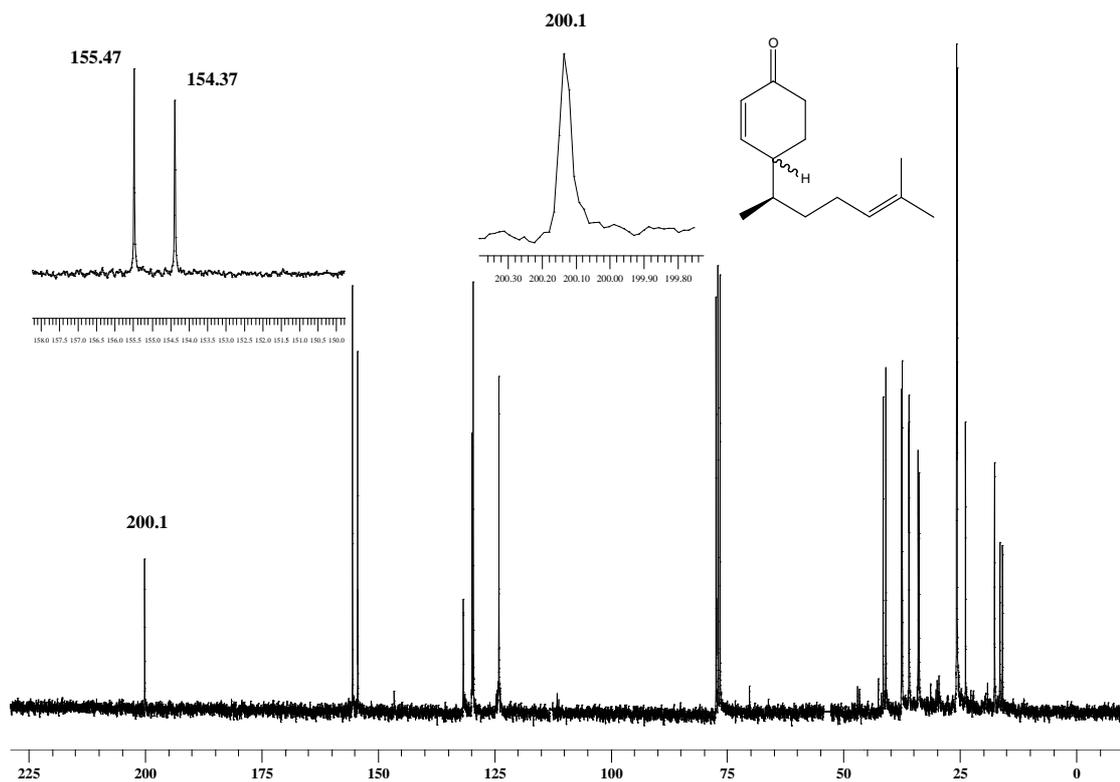


Fig. 3.26 - Espectro de RMN ^{13}C do composto (14), (CDCl_3 , 75 MHz).

No infravermelho visualiza-se o pico característico da carbonila em 1692 cm^{-1} , Fig. 3.27.

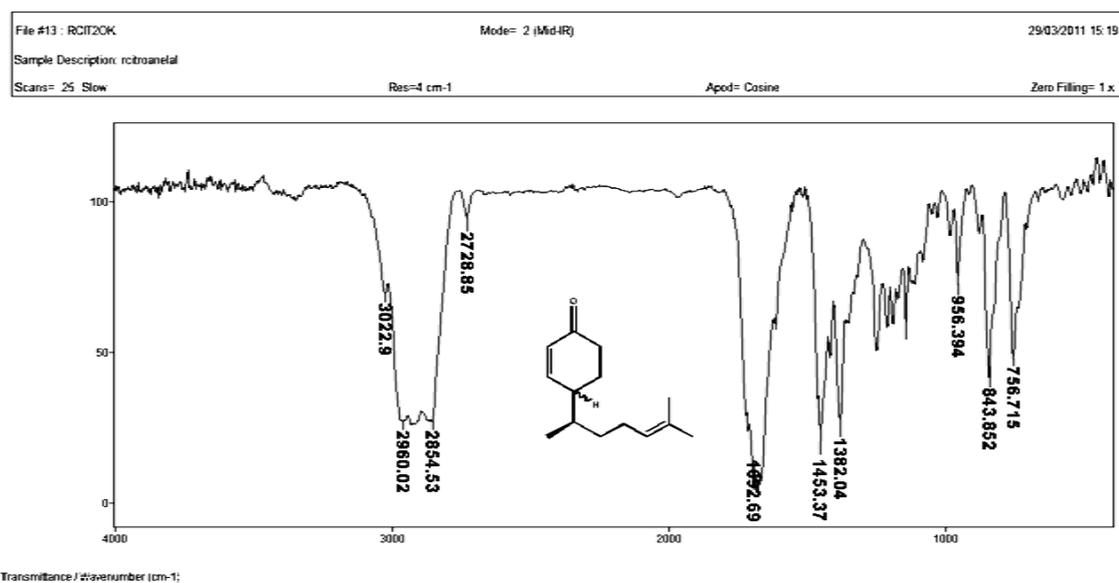
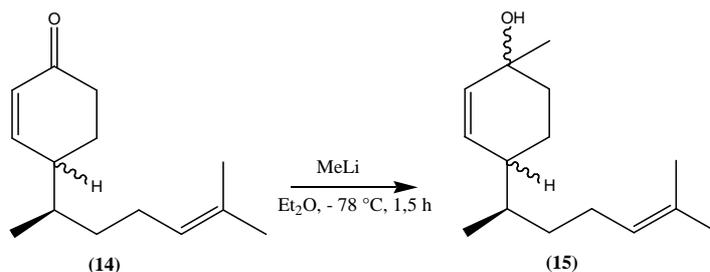


Fig. 3.27 – Infravermelho do composto (14), (pastilha de NaCl).

3.4.3. 1-metil-4-((*R*)-6-metil-hept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol (**15**)

Na formação de (**15**), tem-se a adição nucleofílica na carbonila de (**14**), através da reação com metil lítio. A reação se processou rápido (cerca de 1 hora e meia) e foi monitorada por CCD onde se observou a formação de dois “spots” mais polares (localizados mais abaixo em relação à (**14**), na placa eluída com diclorometano), Esquema 3.7.



Esquema 3.7- Formação de zingiberenol à partir de (**14**)

Observou-se, que os compostos formados não eram revelados na luz UV, o que nos indicava que o sistema enona era inexistente nas estruturas formadas, Fig.3.28.

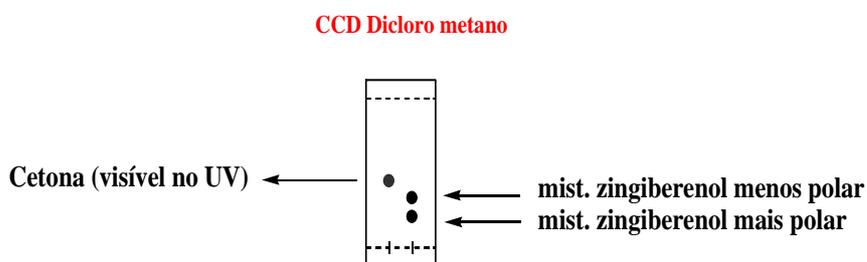


Fig. 3.28 – CCD do composto (**15**) (mistura de isômeros) e (**14**)

Na separação em cromatografia flash, foi possível separar os 4 isômeros formados em dois grupos de dois diastereoisômeros: (**15a**) – os isômeros menos polares e (**15b**) os mais polares. A formação de (**15b**) é evidenciada pelo espectro de RMN ¹H, onde se pode observar a presença dos multipletos na região de 5,48 a 5,65 ppm, (referentes aos dois hidrogênios da ligação dupla no anel), e na região de 5,10 ppm (hidrogênio da ligação dupla da cadeia aberta). É possível verificar a presença de dois isômeros em função dos dois dubletos na região de 0,80 a 0,87 ppm, referentes à metila ligada ao carbono

alquílico da cadeia aberta de cada diastereoisômero. Pode-se observar, também, os singletos relativos às 3 metilas, do anel e da cadeia aberta, respectivamente em 1,27, 1,60 e 1,69 ppm, Fig. 3.29.

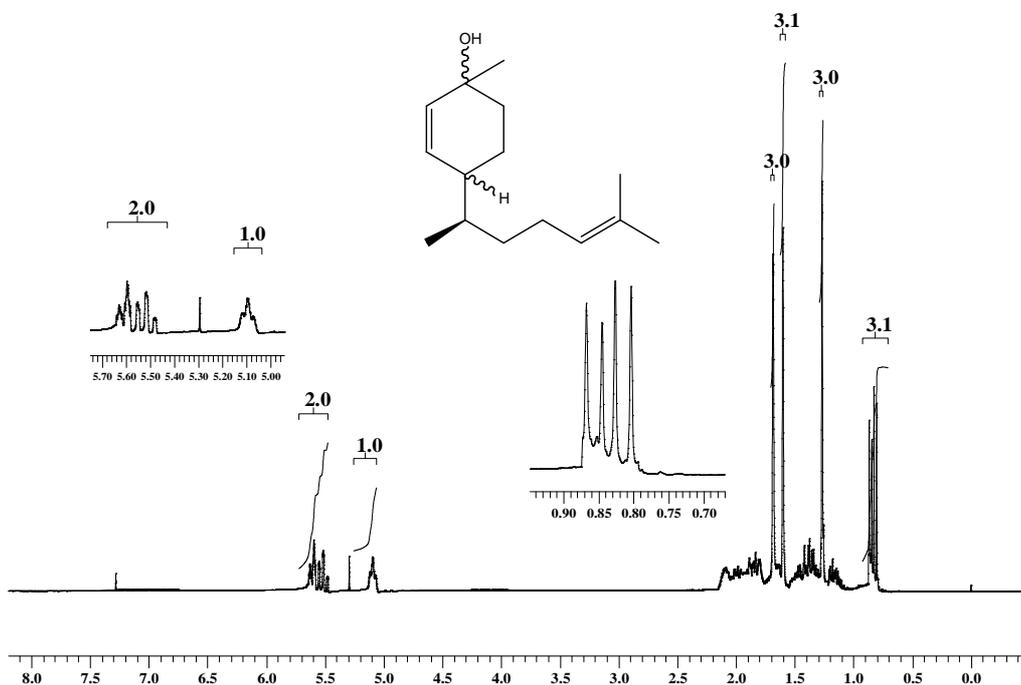


Fig. 3.29 - RMN ^1H dos diastereoisômeros (**15b**) - isômeros mais polares, (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN ^{13}C , observa-se o pico típico de carbono carbinólico em 69,7 ppm.

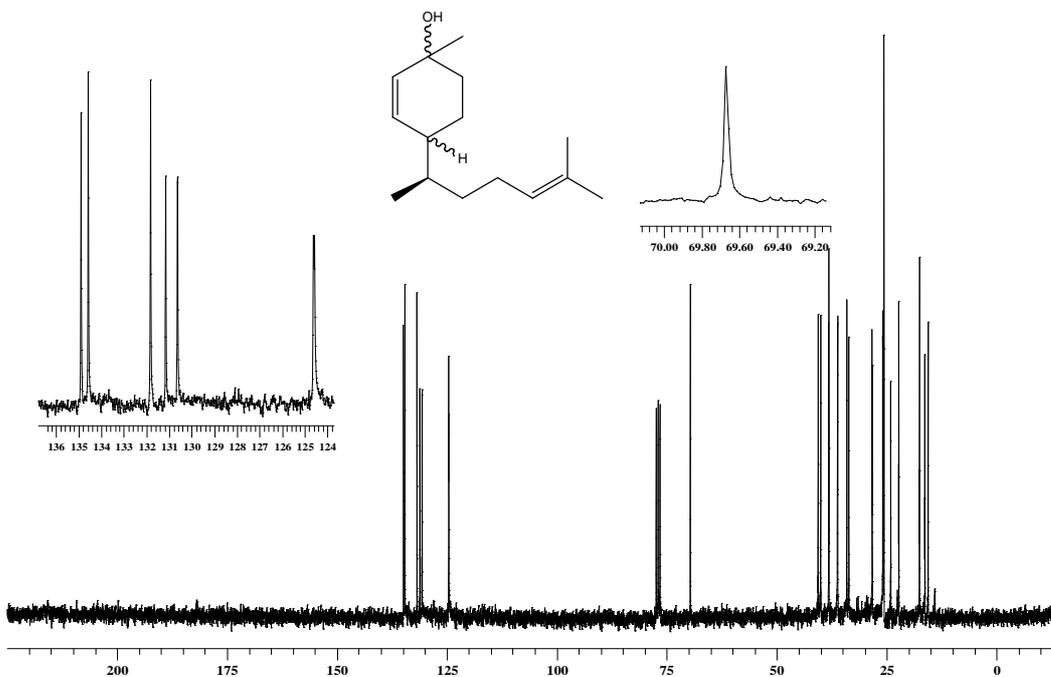


Fig. 3.30 - RMN ^{13}C dos diastereoisômeros (**15b**) - isômeros mais polares, (CDCl_3 , 75 MHz).

No padrão de fragmentação, evidencia-se a presença do íon m/z 222 como possível íon molecular. Observa-se também a presença do íon m/z 204, condizente com uma possível perda de água (M-18), Fig. 3.31.

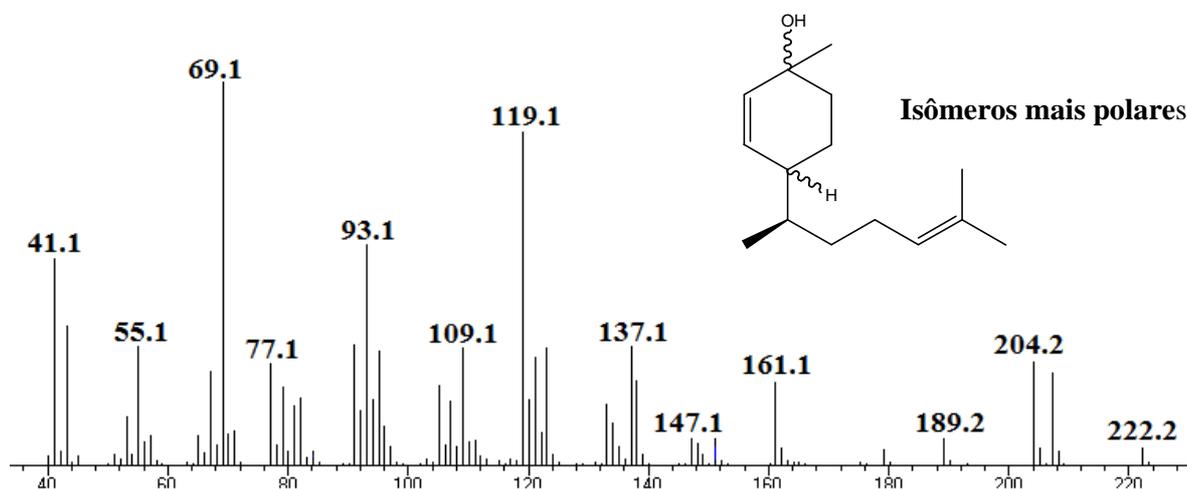


Fig. 3.31 - Espectro de massas do composto **(15b)** - isômeros mais polares, (CG-EM).

O espectro de infravermelho evidencia a banda característica do grupo OH em 3383 cm^{-1} , Fig. 3.32.

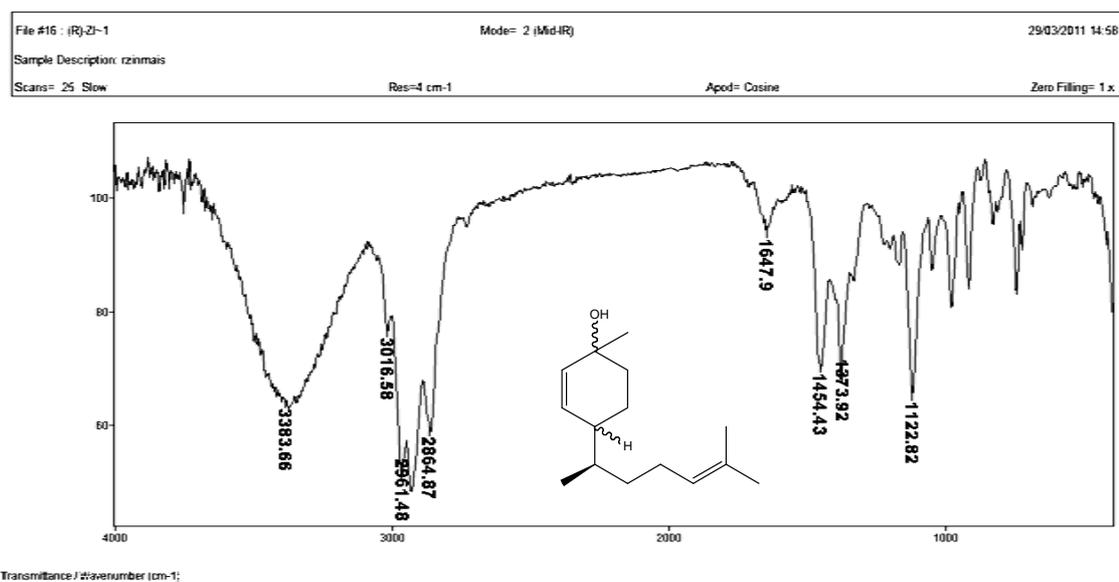


Fig. 3.32 Infravermelho de **(15b)** - isômeros mais polares, (pastilha de NaCl).

O espectro de RMN ^1H de **(15a)** é bem semelhante ao espectro de **(15b)**, a única diferença está na região logo acima de 2,00 ppm. Observa-se que o multipletto, relativo ao hidrogênio de um dos centros assimétricos nos diastereoisômeros menos polares **(15a)**, tem um deslocamento menor (2,10 ppm), Fig. 3.33, que o hidrogênio dos diastereoisômeros mais polares, indicando que este hidrogênio deve sofrer algum tipo de interação que faça com que seu sinal, no espectro, esteja mais deslocado para a esquerda.

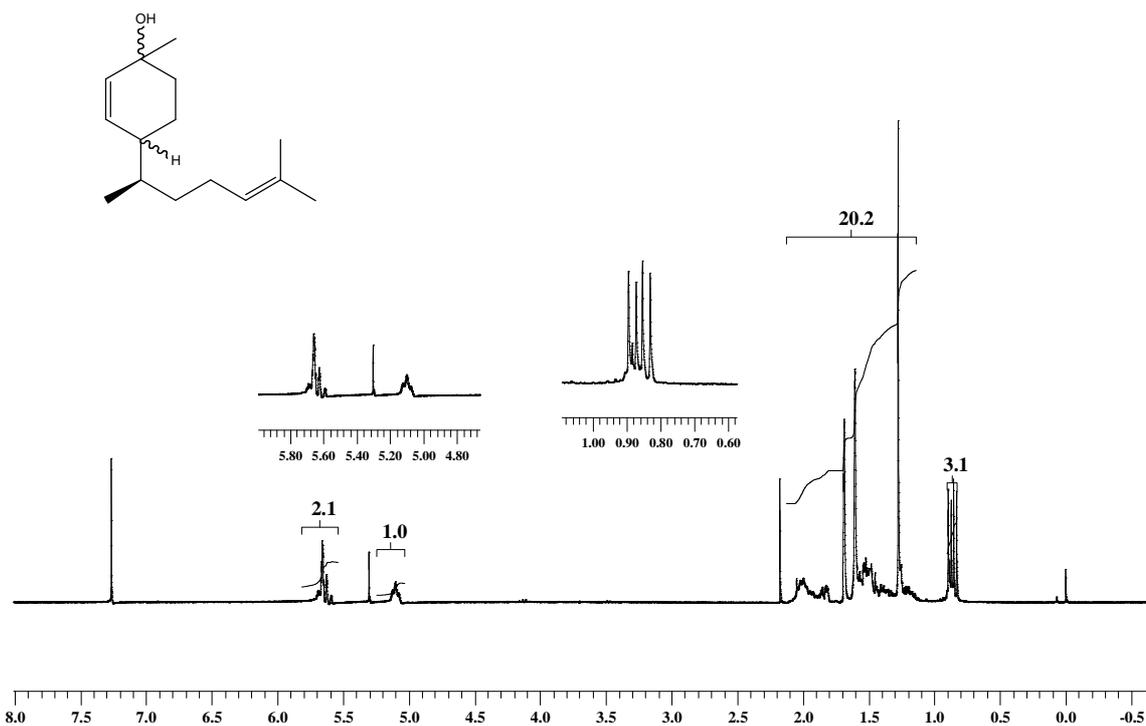


Fig. 3.33 - RMN ^1H dos diastereoisômeros **(15a)** - isômeros menos polares, (CDCl_3 , 300 MHz).

O espectro de RMN ^{13}C dos diastereoisômeros **(15a)**, Fig.3.34 é praticamente idêntico ao espectro de **(15b)**.

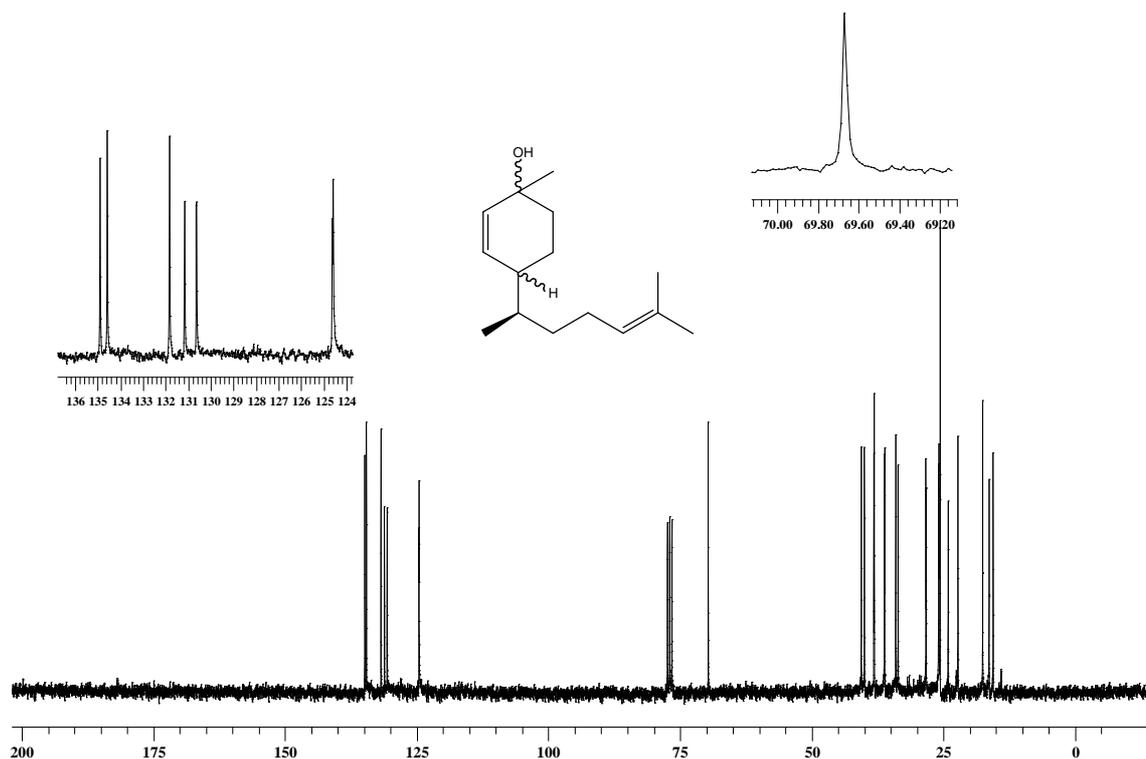


Fig. 3.34 - RMN ^{13}C do composto **(15a)** - isômeros menos polares, (CDCl_3 , 75 MHz).

O espectro de massas de **(15a)** Fig. 3.35, mostra que o íon m/z 119 possui uma abundância maior em relação ao espectro de **(15b)** de maneira que se pode inferir que a diferença espacial das estruturas, de alguma forma, interfere na fragmentação dos compostos.

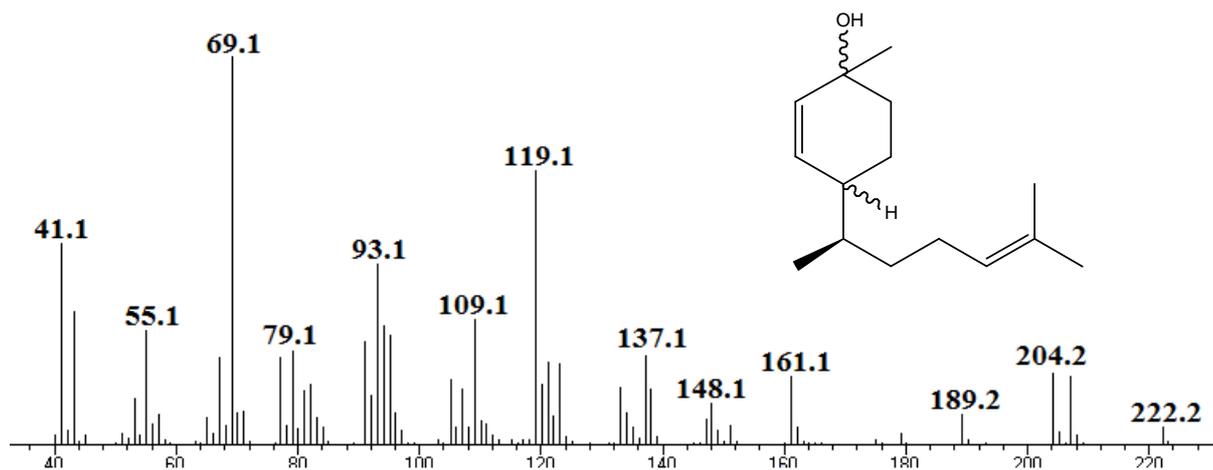


Fig. 3.35 - Espectro de massas do composto **(15a)** - isômeros menos polares.

O espectro de infravermelho de **(15a)** é praticamente idêntico ao de **(15b)**
.Fig.3.36

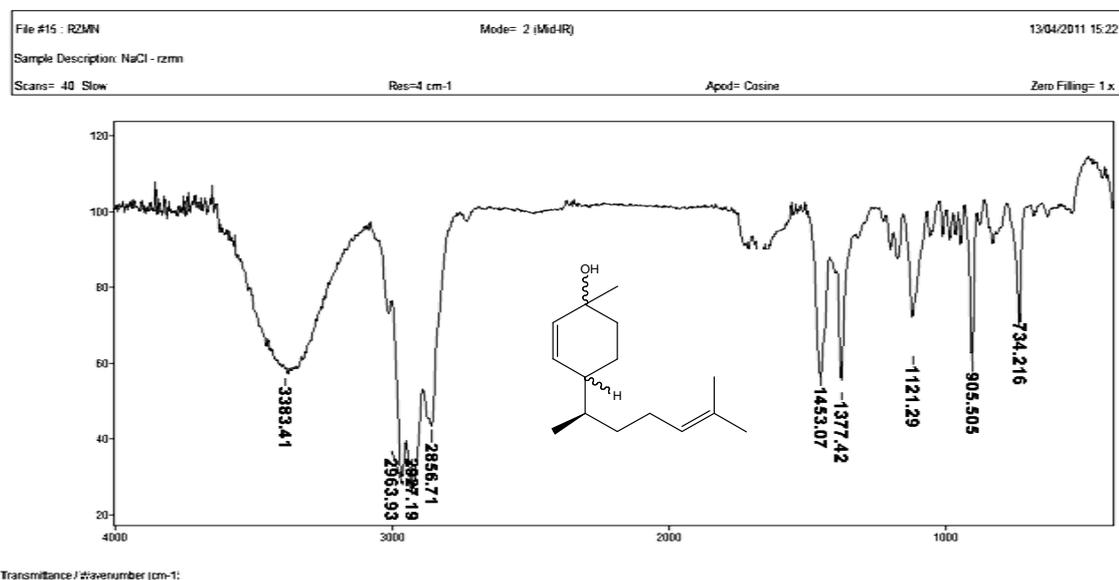


Fig. 3.36 - Espectro de infravermelho de **(15a)** - isômeros menos polares, (pastilha de NaCl).

A síntese dos 4 isômeros do zingiberenol a partir do (*S*)-citronelal **(19)** foi realizada da mesma forma que a síntese dos 4 isômeros do zingiberenol a partir do (*R*)-citronelal. Os espectros (RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e massas) foram idênticos aos do zingiberenol vindo do (*R*)-citronelal.

3.5. Análises Químicas do zingiberenol

Após a síntese dos 8 isômeros possíveis do zingiberenol - que foram produzidos em dois grupos de 4 isômeros (um grupo vindo do (*R*) e o outro do (*S*)- citronelal), Figura 3.37 - estes foram comparados com o tempo de retenção e o padrão de fragmentação do extrato de machos de *O. poecilus*.

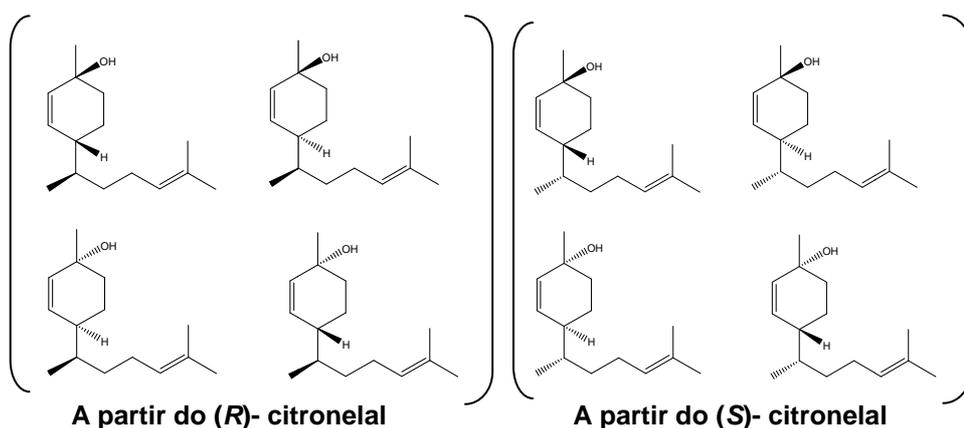


Fig. 3.37– 8 isômeros do zingiberenol divididos em dois grupos de 4 isômeros.

Em cada grupo de 4 isômeros (vindo do (*R*) e do (*S*)-citronelal),foi possível observar que o composto específico do *O. poecilus* coincidia com um desses 4 isômeros. No entanto, um dos isômeros do zingiberenol, em cada grupo de 4 isômeros, não foi resolvido em CG, Fig. 3.38.

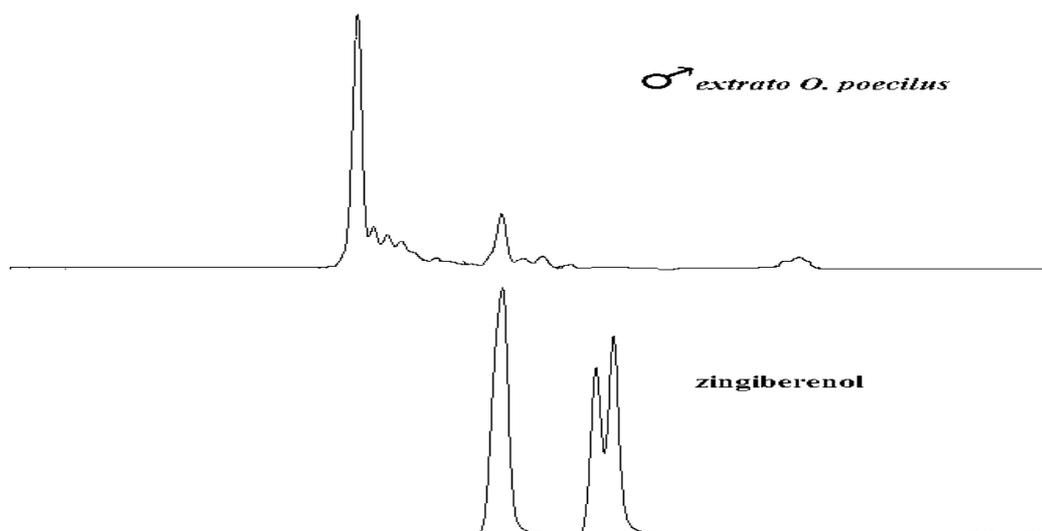


Fig. 3.38 – Perfil cromatográfico do extrato de machos *O. poecilus*. e dos 4 isômeros do Zingiberenol.

Comparações do espectro de massas dos isômeros menos polares do zingiberenol sintetizado (*R* e *S*), com o espectro do composto **(12)**, mostraram que estes eram bastante coincidentes, Fig.3.39.

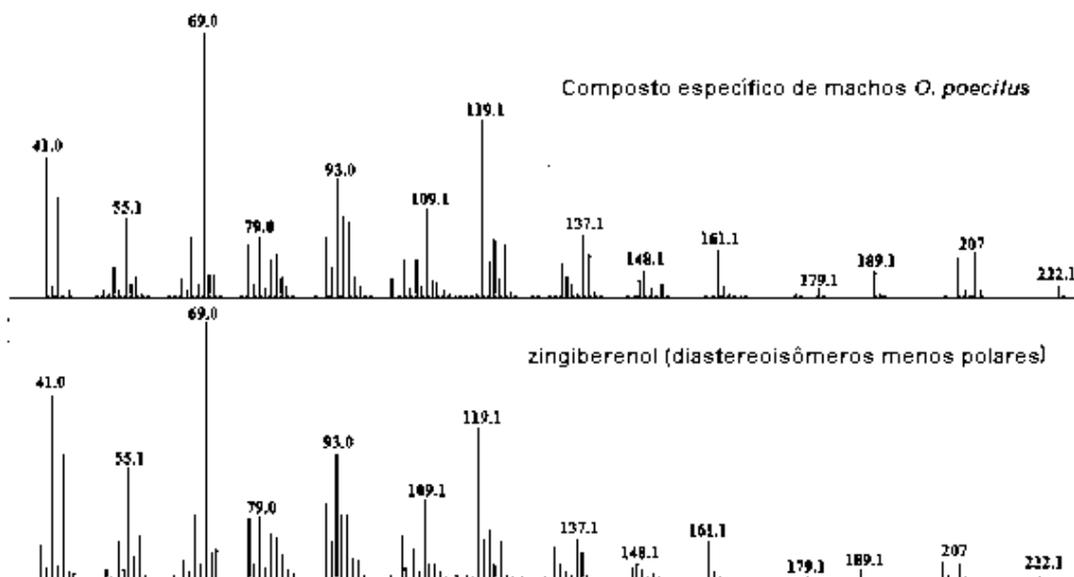


Fig. 3.39 – Padrões de fragmentação do composto **(12)** dos machos de *O. poecilus* e do zingiberenol.

Para uma melhor resolução dos isômeros do zingiberenol, realizou-se a silanização, com MSTFA, deste composto. Sua comparação com o extrato de *O. poecilus* silanizado mostrou que o segundo isômero do zingiberenol silanizado (**2**)- (pertencente ao grupo dos isômeros menos polares) coincidia com composto **(12)** silanizado, Fig. 3.40.

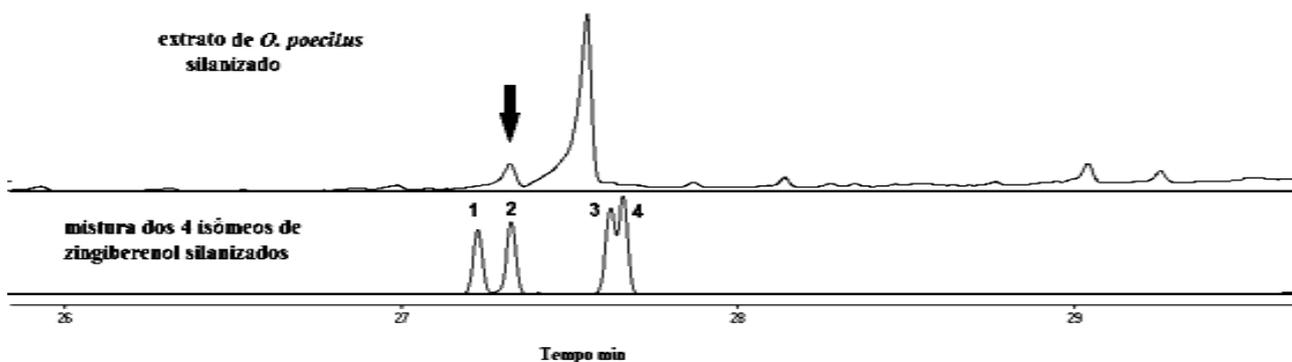


Fig. 3.40 – Extrato de *O. poecilus* e Zingiberenol silanizados (perfis cromatográficos).

A única forma de realmente se poder afirmar que um composto é ou não um feromônio é através de estudos comportamentais.

Diante destas informações, foram conduzidos bioensaios para determinar a atividade dos compostos sintetizados, frente aos insetos.

Decidiu-se utilizar as misturas contendo os isômeros menos polares, vindo do (*R*) e do (*S*)- citronelal, visto que os isômeros mais polares não coincidem com o composto específico dos machos, Figura 3.41.

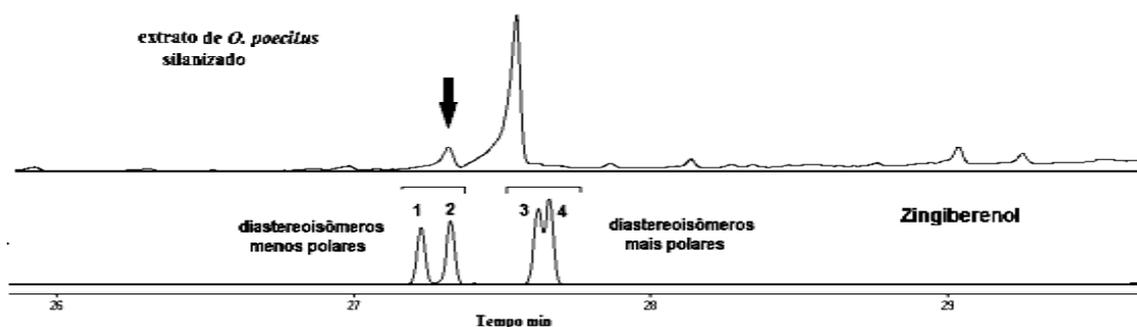


Fig. 3.41– Dois grupos de diastereoisômeros do zingiberenol

Além dos bioensaios com fêmeas versus os compostos e hexano, também foram realizados bioensaios com as fêmeas versus machos e fêmeas como escolhas e também fêmeas versus extratos de machos e hexano.

3.6. Bioensaios

Nos bioensaios em olfatômetro em Y, as fêmeas foram atraídas para o odor de machos vivos, mas não para o odor de fêmeas vivas, ($\chi^2 = 12,90$, $P < 0,001$, $N = 57$), Fig. 3.42.

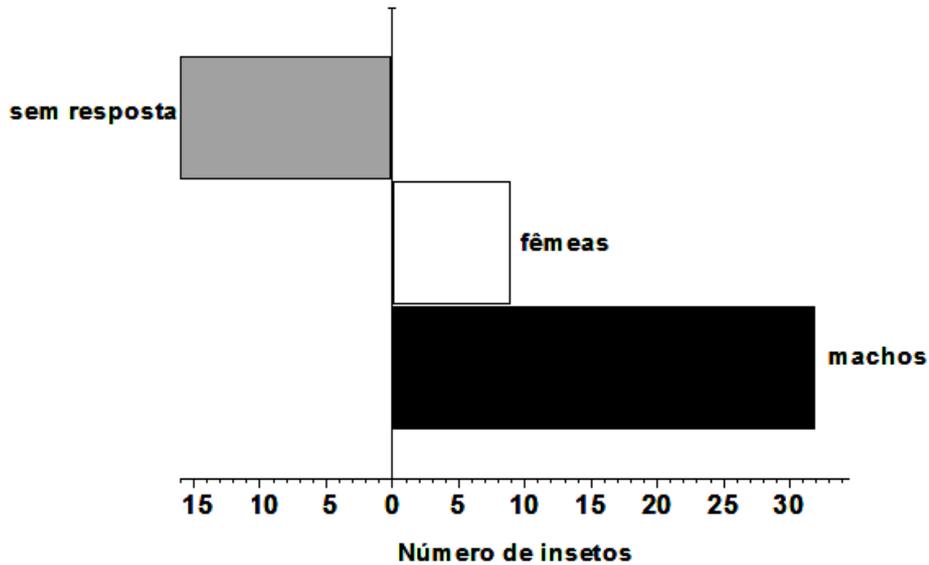


Fig. 3.42 – Bioensaios de fêmeas versus machos/fêmeas.

Nos bioensaios com fêmeas versus extrato de machos/hexano, as fêmeas foram mais atraídas para o extrato de machos (tratamento) do que para o controle hexânico, ($\chi^2 = 12,30$, $P < 0,001$; $N = 57$), Fig. 3.43

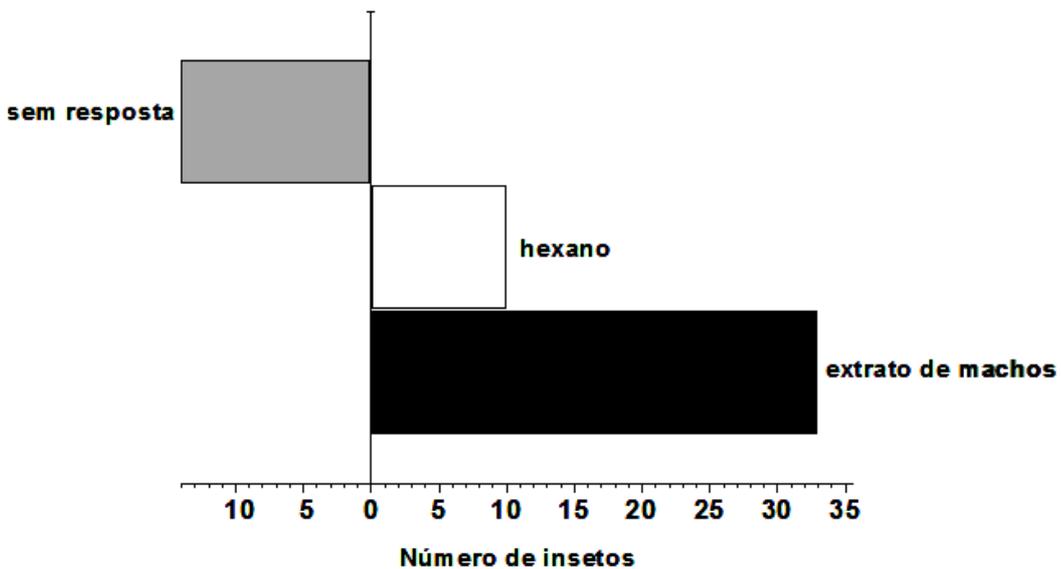


Fig. 3.43 - Bioensaios de fêmeas versus extratos de machos/hexano.

Os bioensaios com fêmeas versus frações do zingiberenol menos polares (vindo do (S)- Citronelal)/hexano) mostraram que as fêmeas foram mais atraídas para os compostos sintetizados (tratamento) do que para o controle hexânico, ($\chi^2 = 14,40$, $P < 0,001$; $N = 57$), Fig 3.44.

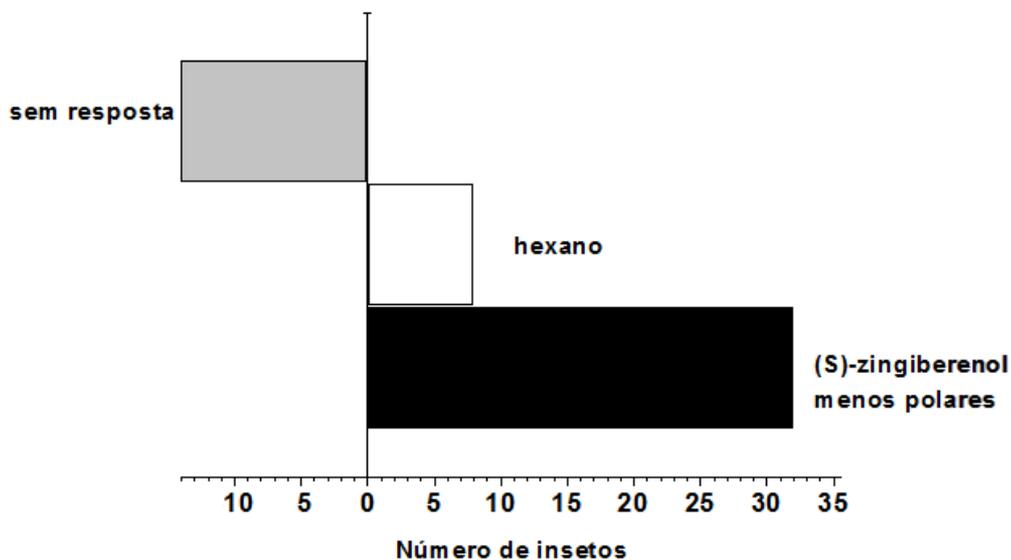


Fig. 3.44 - Bioensaios de fêmeas versus (S)-zingiberenol menos polares/hexano

Nos bioensaios com fêmeas versus zingiberenol menos polares (vindo do (R)- Citronelal)/hexano, os resultados mostram que a mistura desses compostos utilizados no tratamento não foi atrativa para as fêmeas, Fig. 3.45, ($\chi^2 = 0,22$; $P > 0,001$, $N = 57$)

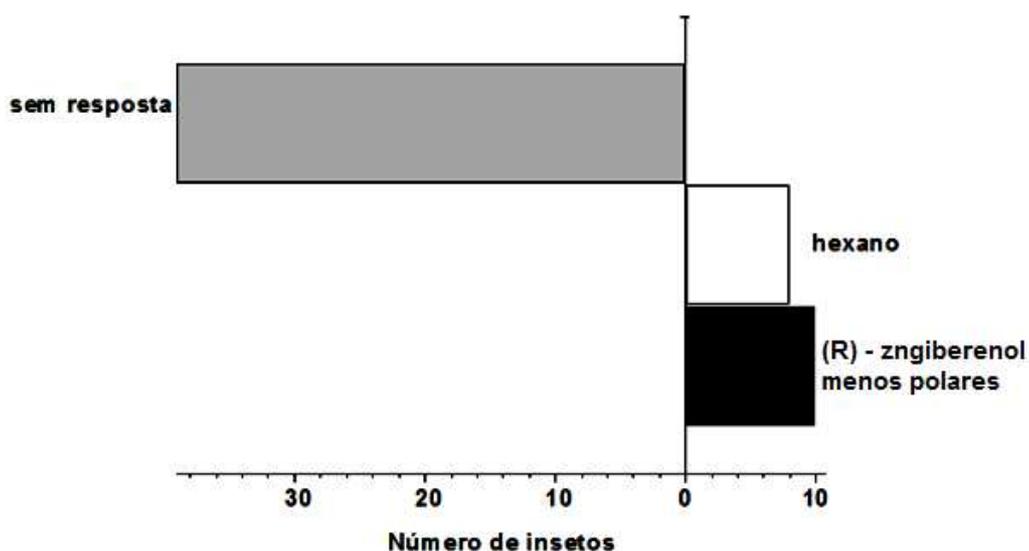


Fig. 3.45 - Bioensaios de fêmeas versus (R)-zingiberenol menos polares/hexano.

CONCLUSÃO

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos mostram que os machos do percevejo *O. poecilus* possuem um composto específico como provável feromônio sexual. Este composto é um dos diastereoisômeros menos polares do zingiberenol.

Não foi possível estabelecer, ainda, a configuração absoluta deste feromônio, mas experimentos posteriores poderão elucidá-la.

As respostas das fêmeas nos bioensaios com o diastereoisômeros menos polares, formados a partir do (*R*) e do (*S*)-citronelal indicam que elas foram atraídas pela mistura dos compostos vinda do (*S*)-citronelal. Embora a mistura dos isômeros menos polares do (*R*)-zingiberenol não tenha se mostrado atrativa para as fêmeas de *O. poecilus*, ainda não podemos definir (com os bioensaios realizados até o momento) que o isômero aí contido não seja atrativo. Há relatos na literatura de que a presença de algum(ns) enantiômero(s) possa inibir a atividade de um feromônio.⁴⁰ Sendo assim, bioensaios posteriores poderão esclarecer essa questão.

Testes em campo serão feitos futuramente a fim de avaliar a efetividade das misturas. Se os resultados forem positivos, existirão boas perspectivas com relação à produção em grande escala de um novo produto comercial, visto que a síntese do zingiberenol é relativamente rápida e tem altos rendimentos em todas as etapas, além da facilidade de separação dos diastereoisômeros mais e menos polares.

⁴⁰ Levinson, A.; Levinson, H. *Naturwissenschaften* **1999**, 86, 138.

PARTE EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Estudos da Ecologia Química do percevejo *Oebalus poecilus*.

5.1.1. Criação dos insetos

Adultos de *Oebalus poecilus* usados na pesquisa eram procedentes de uma criação mantida em casa telada na Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO (16°4'S e 49° 14'W). Os insetos eram criados em plantas de arroz, *Oryza sativa*, mantidas em vasos grandes (5 kg) em casa de vegetação. No laboratório, os insetos foram criados em recipientes plásticos de 5 litros contendo panículas de arroz, vagem e amendoin, sendo este alimento retirado e repostado 3 vezes por semana,⁴¹ a 26 ± 1 °C e $65 \pm 10\%$ de umidade relativa, sob fotoperíodo de 14 horas de luz/ 10 horas de escuro. A maioria das massas de ovos foram colocadas sobre as plantas de arroz e, 3 vezes por semana, estas plantas foram transferidas para novos recipientes de plástico, onde as ninfas foram criadas da mesma forma que os insetos citados anteriormente. Para evitar interações entre os sexos, os machos foram separados das fêmeas após a sua última muda de exúvia (5º ínstar). Para todos os experimentos, adultos sexualmente maduros (> 8 dias de idade) foram utilizados.

⁴¹ Cavalcante, A. C. S.; Cordeiro, D. M.; Laumann, R. A.; Moraes, M. C. B., Barrigossi, J. A. F.; Borges, M.; *Embrapa-Cenargen, Bolet. Pesq.* **2004**, *78*, 18.

5.1.2. Coletas dos voláteis dos insetos

Os voláteis foram coletados de grupos de 15 a 50 machos ou fêmeas (dependendo da disponibilidade) de *Oebalus poecilus* (N = 40). Para minimizar a liberação dos compostos de defesa, os insetos foram gentilmente colocados em recipientes de vidro de 1 litro.⁴² Ar foi introduzido no recipiente através de um tubo de vidro contendo carvão ativado (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, EUA). Os voláteis foram coletados em um tubo (15 x 1,5 cm) contendo Super Q como adsorvente (100 mg; Alltech Associates, Inc., Deerfield, IL, EUA), que estava conectado a uma bomba de vácuo (~ 1 L / min). Estes adsorventes foram eluídos com hexano (4 x 0,5 mL por amostra) e cada amostra foi concentrada a aproximadamente 1 uL/ inseto sob um fluxo suave de nitrogênio para posterior análise.

5.1.3. Análises Químicas

Os extratos foram quantificados por cromatografia gasosa acoplada a detecção por ionização de chamas (CG-DIC) , (CG Shimadzu; coluna DB-5MS, 30 m x 0,25 mm , filme de 0,25 µm, J&W Scientific e CG Agilent ; coluna DB-5, 30 m x 0,25 mm d, 0,25 µm, Supelco), utilizando como programa de temperatura de 50 °C por 1 min, 5 °C/min até 150 °C por 0,1 min, 10 °C/min até 250 °C por 10 min. Amostras de 1 µL foram injetadas usando Hélio como gás de arraste e um detector de ionização por chama (DIC) a 270 °C.

Extratos selecionados foram analisados por cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM), usando um equipamento Agilent 5975C inert XL EI/ CI MSD, triple axis detector, o qual estava diretamente acoplado a um cromatógrafo gasoso Agilent 7890A. O cromatógrafo gasoso foi equipado com uma coluna DB-5 , 30 m x 0,25 mm d, 0,25 µm, Supelco. Hélio foi usado como gás de arraste. A ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV, temperatura da fonte de 270 °C). Os dados foram coletados e avaliados com o software ChemStation. Identificação dos compostos dos extratos das aerações de ambos os sexos de *O. poecilus* foi

⁴² Zhang, A.; Borges, M.; Aldrich, J.; R.; Camp, M. J. *Neotropical Entomol.* **2003**, 32, 713.

feita por comparação dos tempos de retenção no CG-DIC com os dos padrões usando coluna apolares e cálculo do índice de Kovats (CG Shimadzu; coluna DB-5MS, 30 m x 0,25 mm, filme de 0,25 μ m, J&W Scientific e utilizando o mesmo programa citado acima.

Os compostos foram identificados por comparação do padrão de fragmentação com espectros da biblioteca NIST (2008) e confirmados através da injeção de padrões autênticos no CG-EM.

Para avaliar a quantidade média dos compostos defensivos liberada pelos insetos, cinco amostras foram selecionadas e os compostos foram quantificados usando o método do padrão interno: 4 μ L do composto 16-hexadecanolídeo, na concentração de 0,5 mg/mL foi adicionados ao extrato e o volume dessa mistura foi concentrado para 100 μ L de volume final.

Para confirmar a presença do grupo hidroxila no composto específico do macho, uma microsilanização foi realizada usando N-metil-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (MSTFA) em frasco de vidro de 2 mL. Uma alíquota de 50 μ L foi retirada de um extrato de aeração, (20 machos de *O. poecilus*), concentrado sob um fluxo de nitrogênio até quase secar e redissolvido em 100 μ L de MSTFA. A amostra foi aquecida em banho-maria à 60 $^{\circ}$ C por 1 hora e analisado diretamente no CG-EM, usando as condições descritas anteriormente. A mesma reação foi realizada com uma solução padrão de zingiberenol (2 μ L de 100 mg/mL).

5.2. Síntese de Semioquímicos

5.2.1. Procedimentos Gerais

Os reagentes e solventes foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação adicional, exceto nas reações que requiseram um maior grau de pureza. A secagem de solventes, quando necessária, foi realizada com adição de hidreto de cálcio (acetonitrila), ou sódio metálico e benzofenona (THF e éter etílico), seguido de destilação sob atmosfera inerte.

Os extratos orgânicos foram secos em sulfato de sódio anidro e os solventes removidos em rotaevaporador. As temperaturas criogênicas foram obtidas utilizando-se gelo seco e acetona.

As análises em cromatografia em camada delgada foram efetuadas em placas de sílica gel suportada em alumínio 60F 254 /0,2 mm (Merck), utilizando como reveladores: luz ultravioleta e 5% de ácido molibdofosfórico em etanol.

Os produtos foram purificados por cromatografia rápida sob pressão (Flash Column Chromatography) tendo como eluente hexano-acetato de etila em concentrações apropriadas.

Os espectros de massas foram efetuados em um cromatógrafo gasoso (Agilent 7890A equipado com uma coluna DB-5, 30 m x 0,25 mm d, 0,25 μ m, Supelco), acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 5975C inert XL EI/CI MSD, triple axis detector e utilizando-se Hélio como gás de arraste. A ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV, temperatura da fonte de 270 $^{\circ}$ C). Os dados foram coletados e avaliados com o software ChemStation utilizando a Biblioteca NIST (2008).

As análises por cromatografia gasosa foram realizadas em cromatógrafo modelo GC Shimadzu; coluna DB-5MS, 30 m x 0,25 mm, filme de 0,25 μ m, J&W Scientific e cromatógrafo Agilent 7890A; coluna DB-5, 30 m x 0,25 mm d, 0,25 μ m, Supelco, ambos acoplados a detector por ionização de chamas (CG-DIC). Foram utilizados programas de temperatura de 50 $^{\circ}$ C por 1 min, 5 $^{\circ}$ C/min até 150 $^{\circ}$ C por 0,1 min, 10 $^{\circ}$ C/min até 250 $^{\circ}$ C por 10 min. Amostras de 1 μ L foram injetadas usando Hélio como gás de arraste e um detector de ionização por chama (DIC) a 270 $^{\circ}$ C.

Os espectros de IV foram registrados nos espectrômetros Bomem Hartmann & Braun (MB – 100), com valores de λ max expressos em cm^{-1} .

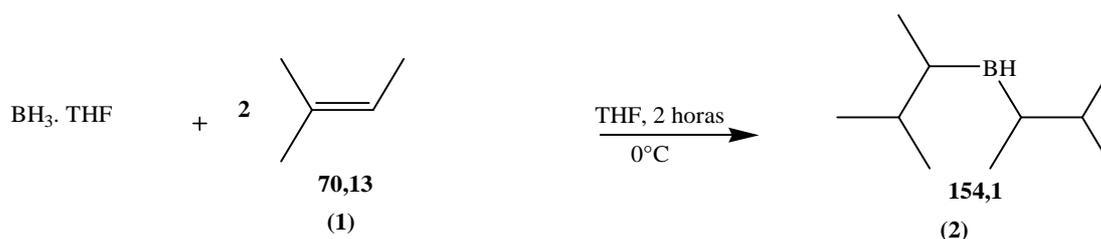
Os espectros de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75,46 MHz) foram registrados em espectrômetro Varian (7,05 T). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm). Os experimentos de RMN ^1H foram referenciados ao TMS (σ 0,0) como padrão interno e os de RMN ^{13}C ao CDCl_3 (σ 77, 0), respectivamente.

As constantes de acoplamento (J) estão expressas em Hertz (Hz). Para indicar as multiplicidades dos sinais, foram adotadas as seguintes abreviações:

s (singleto), d (dubleto), t (tripleto), q (quadrupeto), qt (quintupeto), m (multipeto), sl (singleto largo), dd (duplo dupeto).

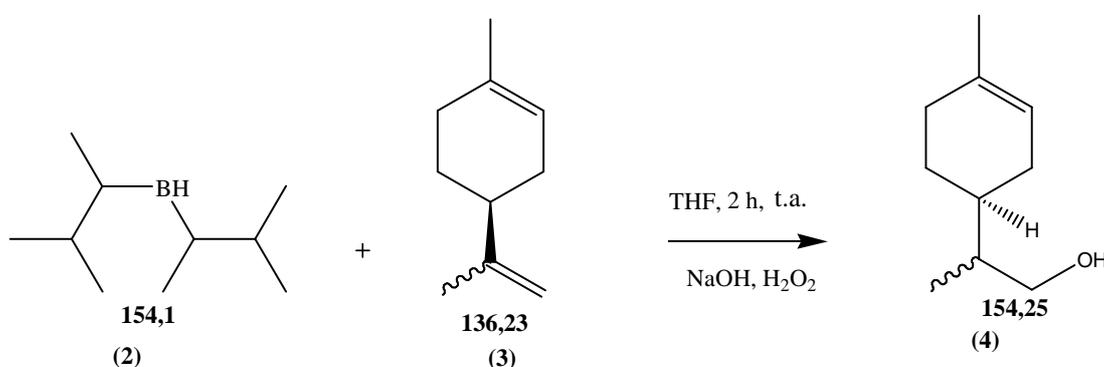
5.3. Procedimentos:

5.3.1. diisamilborana (2)



Em um balão de uma boca, tampado com septo de borracha, seco, com fluxo de argônio e resfriado a 0°C em banho de gel o, foi adicionado o borano em THF (20,0 mL, 20,0 mmol) e mantido sob agitação. Em seguida, adicionou-se, gota a gota, o 2-metil-2-buteno (20,0 mL, 40,0 mmol). A mistura foi mantida em agitação por 2 horas e estava pronta para reagir com a olefina.

5.3.2.2-(4-metilciclohex-3-enil)propan-1-ol (4)



No balão contendo o disiamilborano (20,0 mmol, 40,0 mL) em fluxo de argônio, resfriado a 0 °C, foi adicionado, gota a gota, o (-)-limoneno (2,64 g, 19,0 mmol, 3,04 mL) dissolvido em THF seco (15,0 mL). Após a adição do limoneno, a mistura foi mantida sob agitação por 2 horas à temperatura ambiente. Foi adicionado NaOH 2 M (40,0 mmol, 20,0 mL) e resfriou-se a mistura em banho de gelo para adição, gota a gota, do peróxido de hidrogênio 30% (12 mL). Após a adição, manteve-se a reação à temperatura ambiente por 30 minutos sob agitação. Evaporou-se a mistura e extraiu-se com CH₂Cl₂ (3 x de 20 mL). A fase orgânica foi lavada com brine (3 x de 20 mL) e água (3 x de 20 mL) e foi seca com Na₂SO₄ e evaporada. A mistura foi purificada por cromatografia flash com 20% de EtOAc/hexano, fornecendo **4** em 67% de rendimento (1,93 g).

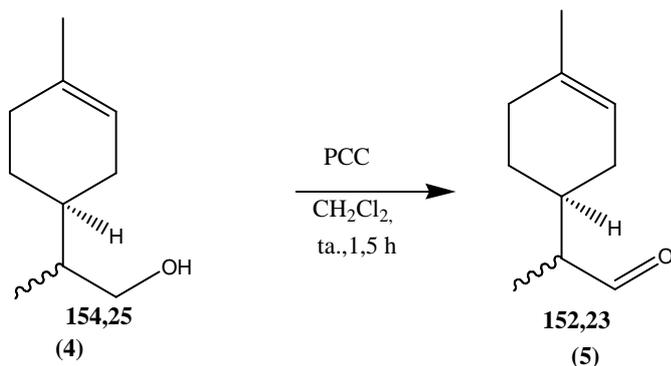
IV (NaCl, λ_{max} , cm⁻¹): 3390, 2964, 2929, 2857, 1452, 1374, 1121.

CG-EM: *m/z* 154 (16), 136 (16), 121 (44), 107 (41), 94 (100), 79 (69), 67 (63), 55 (37), 41 (28),

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, *J*): 0,91 (d; 6,7; CH₃), 0,94 (d, 6,6; CH₃), 1,64 (s, CH₃, anel), 1,21–2,07 (m, 13H), 3,50 (m, CH, carbinólico), 3,67 (m, CH, carbinólico), 5,38 (m, CH, dupla no anel).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 133,7; 120,5; 66,1; 40,0; 35,0; 30,5; 27,4; 23,3, 13,5.

5.3.3.2-(4-metilciclohex-3-enil)-propanal (5)



Em um balão de 50 mL, seco e com septo, foi adicionado o PCC (700,0 mg, 1 eq., 3,2 mmol) e colocado na bomba de vácuo por 1 hora para retirar a água, após isso foi adicionada a peneira molecular (que foi ativada a 350 °C por 4 horas) e o álcool (500,0 mg, 1 eq, 3,2 mmol) diluído em dicloro metano (20,0 mL). A reação foi mantida por agitação por 1 hora e meia e acompanhada por cromatografia camada delgada. Após este tempo, a mistura foi filtrada em Florisil[®] utilizando-se diclorometano como eluente. O material foi separado em coluna flash com EtOAc/hexano (1%), fornecendo **5** em 81% de rendimento (400,0 mg).

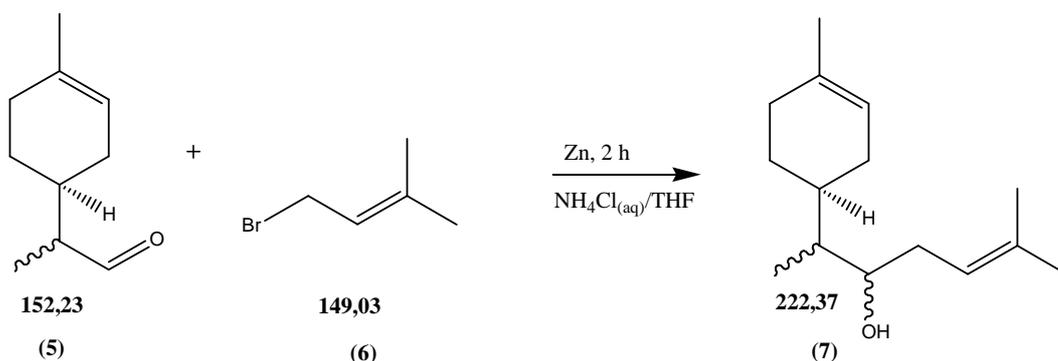
IV (NaCl, λ_{\max} , cm⁻¹): 2963, 2920, 1725, 1451, 1374.

CG-EM: m/z 152 (1), 137 (15), 119 (13), 94 (7), 79 (2), 67 (14), 55 (19),

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, *J*): 1,06 (d; 3,7; CH₃), 1,09 (d, 4,0; CH₃), 1,91 (s, CH₃, anel), 1,30–2,30 (m, 8H), 5,37 (m, CH, dupla no anel), 9,66 (d; 2,6; CH₃), 9,67 (d, 2,42; CH₃).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 205,4; 134,0; 119,9; 50,2; 40,0; 35,0; 30,5; 27,4; 23,3, 13,5.

5.3.4. metil-(4-metilciclohex-3-enil)-hept-5-en-3 (7)



Em um balão de 50 mL, seco e com uma barra magnética, foi adicionado o aldeído (65,0 mg, 0,43 mmol). Adicionou-se em seguida o THF (10,0 mL) e a solução saturada de cloreto de amônio (10,0 mL). À solução de aldeído, sob agitação vigorosa e à temperatura ambiente, foi adicionado o brometo de prenila (128 mg, 0,86 mmol) e logo em seguida o zinco em pó (0,85 mg, 1,27 mmol) (ativado com ácido clorídrico e lavado com água destilada e em seguida com etanol e depois éter, filtrado e colocado na bomba de vácuo para secar). A mistura foi mantida sob agitação por 2 horas. O material foi separado em coluna flash com EtOAc/hexano (5%), fornecendo (7) em 45% de rendimento (42,0 mg).

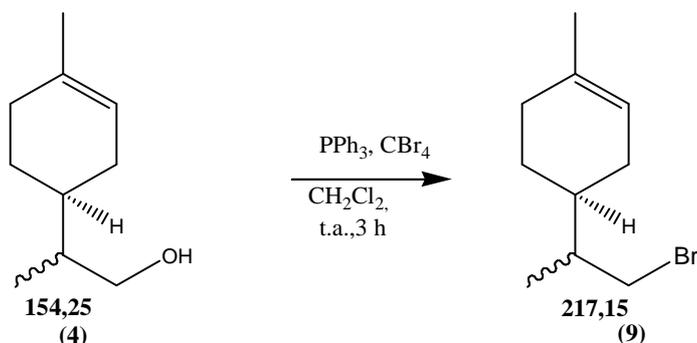
IV (NaCl, λ_{max} , cm^{-1}): 3483, 2964, 2913, 2832, 1452, 1119.

CG-EM: m/z 222 (5), 207 (1), 189 (2), 135 (16), 121 (9), 107 (25), 94 (100), 79 (25), 70 (29), 55 (18)

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J): 0,84 (d; 3,6; CH_3), 0,87 (d, 3,7; CH_3), 1,61 (s, CH_3 , 3H), 1,68 (s, CH_3 cadeia alquílica e cíclica),; 1,10–2,16 (m, 9H), 3,43 (m, CH, 1H carbinólico), 5,04 (m; CH, dupla da cadeia aberta), 5,32 (m, CH, dupla do anel) .

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 134,8; 131,7; 124,5; 120,6; 71,0; 40,5; 36,1; 30,5; 25,5; 23,3, 15,6.

5.3.5. 4-(1-bromopropan-2-il)-1-metilciclohex-1-ene (9)



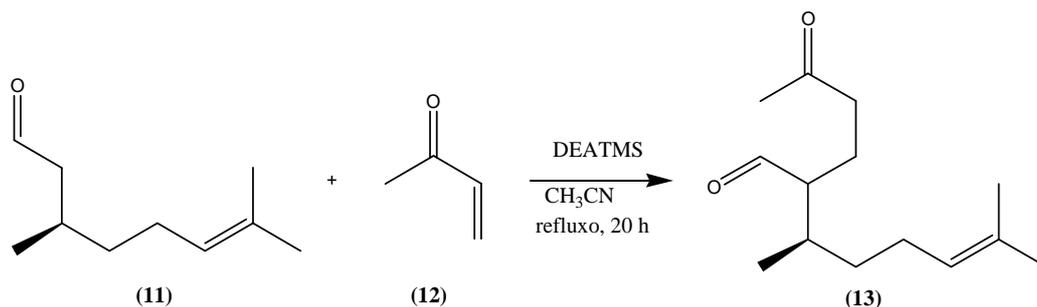
Em um balão de 3 bocas, foi adicionado o álcool **(4)** (340,0 mg, 2,20 mmol) e o tetrabrometo de carbono (925,0 mg, 2,27 mmol), dissolvido em dicloro metano (20,0 mL). O balão foi resfriado a 0 °C e adicionou-se trifetilfosfina (680,0 mg, 2,59 mmol) em pequenas porções, via adicionador de sólidos, com vigorosa agitação. Após a adição da trifetilfosfina, a solução foi agitada por 4 horas à temperatura ambiente. A mistura foi evaporada e concentrada para um óleo marrom e rapidamente foi adicionado hexano (20,0 mL). Formou-se um precipitado branco e o filtrado foi retirado com pipeta Pasteur e coletado em um balão. O material foi purificado em cromatografia flash com hexano puro, fornecendo **8** em 71% de rendimento (315,0 mg).

CG-EM: *m/z* 218 (4), 216 (4), 195 (7), 123 (11), 95 (100), 81 (29), 67 (34), 55 (12), 41 (17),

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, *J*): 1,02 (d; 6,6; CH₃), 1,05 (d, 6,6; CH₃), 1,64 (s, CH₃, anel), 1,21–2,09 (m, 8H), 3,37–3,51 (m, CH₂ ligado ao bromo), 5,37 (m, CH, dupla no anel).

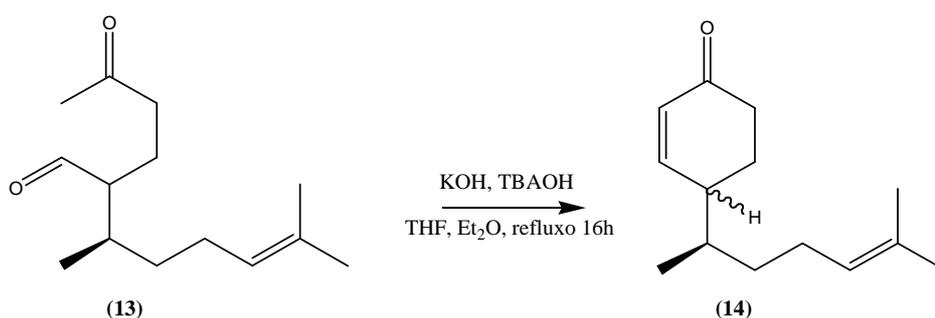
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 134,1; 120,2; 40,3; 36,7; 30,4; 27,6; 23,4, 16,1.

5.3.6. (3*R*)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)oct-6-enal (13)



Uma solução de (*R*)-(+)-citronelal 90% (2,78 g; 16,21 mmol; 3,3 mL), metil vinil cetona (3,16 g; 40,52 mmol; 3,8 mL) e dietilamina trimetilsilano (2,43 mg; 16,21 mmol; 3,3 mL) em acetonitrila (200 mL) foi refluxada por 20 h com agitação e em atmosfera de nitrogênio. Após este período, a mistura foi evaporada em evaporador rotatório e posteriormente em bomba de vácuo para eliminação do excesso de MVC. O produto bruto foi utilizado na etapa seguinte sem purificação prévia.

5.3.7. (*R*)-6-metilhept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enona (14)



Ao resíduo da reação anterior, em THF (60,0 mL) e Et₂O (250 mL), sob agitação e em atmosfera de nitrogênio, adicionou-se solução aquosa de hidróxido de potássio 5% (250 ml) e de tetrabutilamônio 30% (10,0 mL). A mistura foi aquecida (35 °C) e mantida em refluxo por 16 horas. A fase orgânica foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL), lavada com água (2 x 20 mL) e

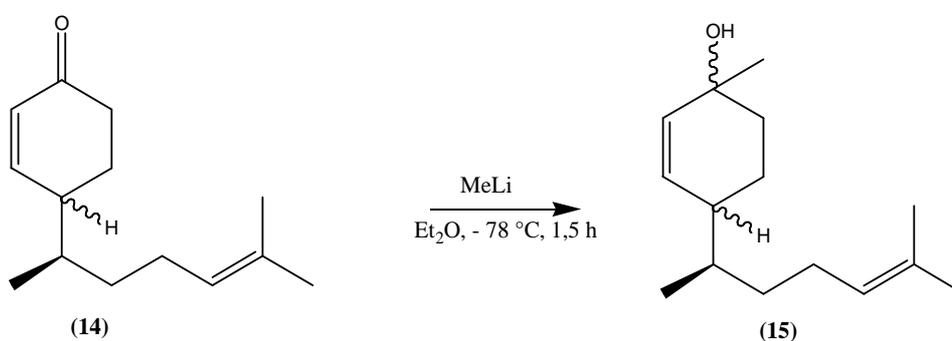
brine (2 x 20 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. A mistura foi purificada por cromatografia flash (EtOAc/hexano)- 2% a 10% de EtOAc, fornecendo **(14)** em 85% de rendimento (2,96 g).

IV (NaCl, λ_{max} , cm^{-1}): 3023, 2960, 2854, 1693, 1453, 1382.

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J): 0,91 (d; 6,9; CH_3), 0,95 (d, 6,8; CH_3), 1,61 (s, CH_3), 1,63 (s, CH_3), 1,12–2,6 (m, 11H), 5,1 (m, CH da dupla na cadeia aberta), 6,04 (d, CH, dupla no anel), 6,86 (m, CH, dupla no anel).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 200,1; 155,5; 131,7; 129,8; 124,0; 41,5; 37,6; 35,9; 34,0; 25,7; 17,6; 16,4.

5.3.8. zingiberenol a partir do (*R*)-citronelal (**15**)



Em um balão seco, tampado com septo de borracha e em atmosfera de nitrogênio, foi adicionada a cetona **(14)** (2,60 g, 12,60 mmol) diluída em éter (50,0 mL) e manteve-se sob agitação. Resfriou-se a mistura a -78°C e adicionou-se gota a gota o metil lítio (1,6 M em éter etílico), (35,0 mL, 56,0 mmol). A solução adquiriu uma coloração amarelo claro. Manteve-se a mistura em agitação por 1 hora e meia e parou-se a reação adicionando-se solução saturada de cloreto de amônio até a neutralização completa (testada com fita de pH). Extraíu-se a mistura com acetato de etila (3 x de 20 mL), lavou-se com água (2 x 20 mL) e brine (2 x de 20 mL), secou-se com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o resíduo orgânico. A mistura foi purificada em

cromatografia flash (EtOAc/hexano)- 1% a 15% de EtOAc, fornecendo **(15)** em 71% de rendimento (1,98 g) na forma de 2 grupos de diastereoisômeros: menos polares **(15a)** e mais polares **(15b)**.

(15a) :

IV (NaCl, λ_{\max} , cm^{-1}): 3383, 2964, 2927, 2856, 1453, 1377, 1121.

CG-EM: m/z 222 (5), 207 (15), 204 (13), 189 (7), 179 (2), 161 (14), 137 (19), 119 (62), 109 (28), 93 (41), 77 (19), 69 (100), 55 (30), 41 (50).

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J): 0,85 (d; 6,7; CH_3), 0,89 (d, 6,6; CH_3), 1,26 (s, CH_3 , anel), 1,60 (s, CH_3), 1,70 (s, CH_3), 1,11–2,12 (m, 11H), 5,10 (m, CH, alílico cadeia aberta) e 5,67 (m, CH, alílico anel).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 134,1; 133,5; 133,4; 133,0; 131,3; 124,8; 124,7; 67,4; 67,3; 41,0; 40,3; 37,4; 37,3; 36,2; 34,1; 33,5; 29,6; 25,9; 25,8; 22,2; 20,0; 17,6; 16,3; 15,7.

(15b) :

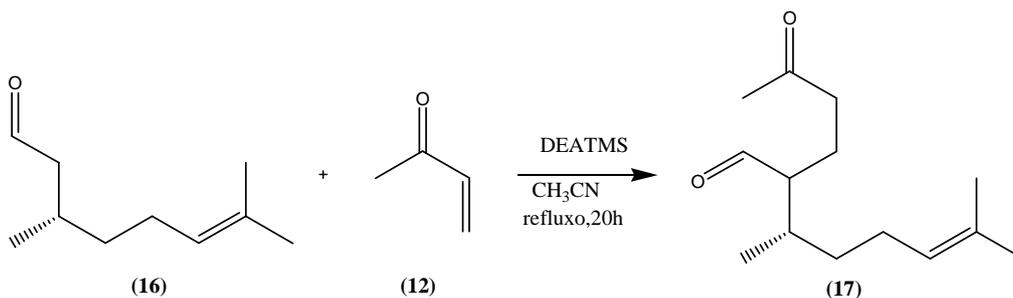
IV (NaCl, λ_{\max} , cm^{-1}): 3377, 2965, 2935, 2860, 1453, 1378, 1121.

CG-EM m/z 222 (4), 207 (20), 204 (28), 189 (6), 179 (4), 161 (25), 137 (28), 119 (93), 109 (31), 93 (68), 77 (28), 69 (100), 55 (29), 41 (50).

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J): 0,87 (d; 6,7; CH_3), 0,83 (d, 6,6; CH_3), 1,27 (s, CH_3 , anel), 1,61 (s, CH_3), 1,69 (s, CH_3), 1,21–2,22 (m, 11H), 5,12 (m, CH, alílico cadeia aberta) e 5,67 (m, CH, alílico anel).

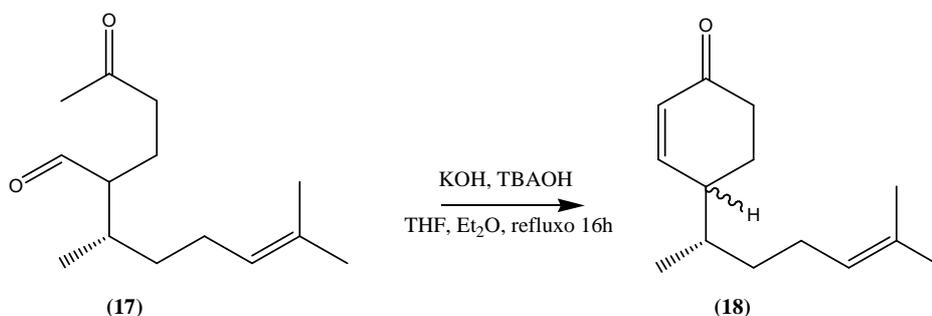
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 134,8; 134,3; 132,1; 131,4; 130,8; 124,6; 68,8; 40,6; 40,0; 38,4; 38,2; 36,3; 36,1; 34,1; 33,8; 28,4; 28,2; 25,9; 25,6; 24,0; 22,2; 17,6; 16,3; 15,6.

5.3.9.(3S)-3,7-dimetil-2-(3-oxobutil)oct-6-enal (17)



Uma solução de (*R*)-(+)-citronelal (1,88 g; 13,61 mmol; 2,2 mL) , metil vinil cetona (2,13 g; 34,04 mmol; 2,5 mL) e dietilamina trimetilsilano (1,75 g; 13,61 mmol; 2,2 mL) em acetonitrila (144 mL) foi refluxada por 20 h com agitação e em atmosfera de nitrogênio. Após este período a mistura foi evaporada por evaporador rotatório e posteriormente em bomba de vácuo para eliminação do excesso de MVC. O produto bruto foi utilizado na etapa seguinte sem purificação prévia.

5.3.10. (S)-6-metilhept-5-en-2-il)-ciclohex-2-enona (18)



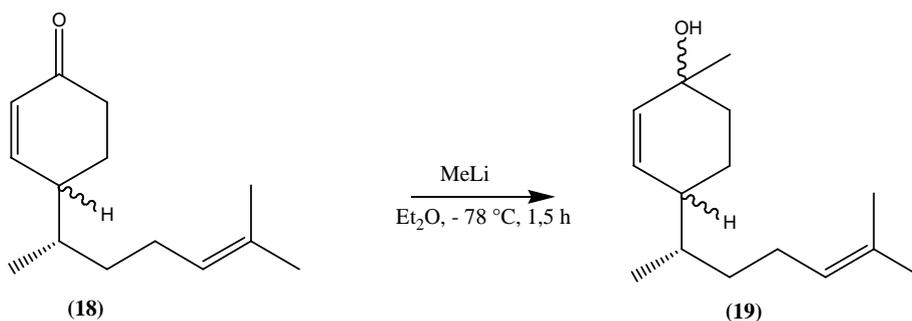
Ao resíduo da reação anterior, em THF (40,0 mL) e Et₂O (170 mL), agitação e em atmosfera de nitrogênio, adicionou-se solução aquosa de hidróxido de potássio 5% (170 mL) e de tetrabutylamônio 30% (7,0 mL). A mistura foi aquecida (35 °C) e mantida em refluxo por 16 horas. A fase orgânica foi extraída com acetato de etila (3 x 15 mL), lavada com água (15 mL) e brine (2 x 15 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. A mistura foi purificada por cromatografia flash (EtOAc/hexano)- 2% a 10% de EtOAc, fornecendo **(18)** em 86% de rendimento (2,0 g).

IV (NaCl, λ_{max} , cm⁻¹): 3023, 2960, 2854, 1693, 1453, 1382.

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, *J*): 0,91 (d; 6,9; CH₃), 0,95 (d, 6,8; CH₃), 1,61 (s, CH₃), 1,63 (s, CH₃), 1,12–2,60 (m, 11H), 5,1 (m, CH da dupla na cadeia aberta), 6,04 (d, CH, dupla no anel), 6,86 (m, CH, dupla no anel).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 200,1; 155,5; 131,7; 129,8; 124,0; 41,5; 37,6; 35,9; 34,0; 25,7; 17,6; 16,4.

5.3.11. zingiberenol a partir do (S)-citronelal (**19**)



Em um balão seco, tampado com septo de borracha e em atmosfera de nitrogênio, foi adicionada a cetona **(14)** (1,70 g, 8,30 mmol) diluída em éter (35,0 mL) e manteve-se sob agitação. Resfriou-se a mistura a -78 °C e adicionou-se gota a gota o metil lítio (1,6 M em éter etílico), (23,0 mL, 37,0 mmol). A solução adquiriu uma coloração amarelo claro. Manteve-se a mistura em agitação por 1 hora e meia e parou-se a reação adicionando-se solução

saturada de cloreto de amônio até a neutralização completa (testada com fita de pH). Extraíu-se a mistura com acetato de etila (3 x de 15 mL) , lavou-se com água (15 mL) e brine (2 x de 15 mL), secou-se com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o resíduo orgânico . A mistura foi purificada por cromatografia flash (EtOAc/hexano)- 1% a 15% de EtOAc, fornecendo **(19)** em 80% de rendimento (1.48 g) na forma de 2 grupos de diastereoisômeros: menos polares **(19a)** e mais polares **(19b)**.

(19a) :

IV (NaCl, λ_{\max} , cm^{-1}): 3383, 2964, 2927, 2856, 1453, 1377, 1121.

CG-EM: m/z 222 (5), 207 (15), 204 (13), 189 (7), 179 (2), 161 (14), 137 (19), 119 (62), 109 (28), 93 (41), 77 (19), 69 (100), 55 (30), 41 (50). Isômero coincidente com composto específico dos machos de *O. poecilus*.

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J): 0,85 (d; 6,7; CH_3), 0,89 (d, 6,6; CH_3), 1,26 (s, CH_3 , anel), 1,60 (s, CH_3), 1,70 (s, CH_3), 1,11–2,12 (m, 11H), 5,10 (m, CH, alílico cadeia aberta) e 5,67 (m, CH, alílico anel).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 134,1; 133,6; 133,3; 133,0; 131,3; 124,7 124,6; 67,4; 67,3; 41,0; 40,4; 37,4; 37,2; 36,2; 34,1; 33,5; 29,6; 25,9; 25,8; 22,1; 20,0; 17,6; 16,3; 15,7.

(19b) :

IV (NaCl, λ_{\max} , cm^{-1}): 3377, 2965, 2935, 2860, 1453, 1378, 1121.

CG-EM m/z 222 (4), 207 (20), 204 (28), 189 (6), 179 (4), 161 (25), 137 (28), 119 (93), 109 (31), 93 (68), 77 (28), 69 (100), 55 (29), 41 (50).

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, J)]: 0,87 (d; 6,7; CH₃), 0,83 (d, 6,6; CH₃), 1,27 (s, CH₃, anel), 1,61 (s, CH₃), 1,69 (s, CH₃), 1,21–2,22 (m, 11H), 5,12 (m, CH, alílico cadeia aberta) e 5,67 (m, CH, alílico anel).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 134,7; 134,4; 132,0; 131,2; 130,8; 124,6; 68,8; 40,6; 40,0; 38,3; 38,2; 36,2; 36,1; 34,1; 33,6; 28,3; 28,2; 25,9; 25,6; 24,0; 22,2; 17,6; 16,3; 15,6.

5.4. Bioensaios

5.4.1. Bioensaios com insetos

Os experimentos foram realizados para determinar se as fêmeas eram atraídas pelo machos como acontece com outras espécies de percevejos.⁴³⁻

⁴⁶ A atração das fêmeas pelo odor de machos e fêmeas foi testada em um olfatômetro em Y, no qual foi colocado um macho em um dos braços, uma fêmea no outro braço e a fêmea a ser testada na extremidade do olfatômetro em Y. Nos braços, foram colocadas mangueiras conectadas a seringas de vidro limpas e ligadas a uma pequena bomba de ar com fluxo de 0,4 L/min e um filtro de carvão (20/40 mesh). O ar foi umidificado fazendo-o passar através de um recipiente contendo água destilada, localizado entre o filtro de carvão e os braços do olfatômetro. Na extremidade do Y, foi conectada uma mangueira ligada a uma bomba de vácuo com fluxo de 0,3 L/min.

⁴³ Borges, M.; *Ann. Soc. Entomol. Brasil.* **1995**, *24*, 215.

⁴⁴ McBrien, H. L.; Millar, J. G. *CABI Publishing, London, UK*, **1999**, 1797.

⁴⁵ Millar, J. G. *Springer Verlag, Berlin, Heildel, Germany*, **2005**, *240*, 37.

⁴⁶ Moraes, M. C. B.; Millar, J. G.; Laumann, R. A.; Suii, E. R.; Pires, C. P. S.; Borges, M. *J. Chem. Ecol.* **2005**, *31*, 1405.

Foram consideradas como respostas a primeira escolha da fêmea testada, isto é, o primeiro braço do olfatômetro que o inseto escolheu e permaneceu por tempo igual/superior a 60 segundos, ou o braço que o inseto escolheu por 3 vezes e permaneceu por pelo menos 30 segundos em cada escolha.

A posição dos braços do olfatômetro foram invertidas entre controle e tratamento após cada três repetições para evitar vício de resposta em função da posição. Os aparatos foram limpos com detergente neutro sem fragrância, enxaguados com água e secos ao ar. Estes eram limpos sempre que necessário.

Os insetos eram gentilmente colocados dentro das seringas (inseto-tratamento e controle) e mantidos por 3 minutos antes de ligar o sistema (para minimizar a liberação de compostos defensivos). As fêmeas a serem liberadas eram gentilmente colocadas na entrada da base do Y e seu padrão de comportamento (resposta) foi registrado por 15 minutos. Os machos e fêmeas (tratamento e controle) eram trocados a cada 3 bioensaios ou quando não se obtivesse resposta alguma.

5.4.2. Bioensaios com extratos de machos e compostos sintetizados

Os bioensaios com extratos e compostos sintetizados (diastereoisômeros menos polares, vindo do (*R*) e do (*S*)- citronelal, separadamente), foram realizados como descrito acima. As soluções de teste de estímulo (extratos de machos) eram correspondente a 1 equivalente individual liberado pelo macho em 24 horas e foram colocadas em um pedaço de papel de filtro (1,5 cm de comprimento/ 0,5 cm de largura). O controle consistia de papel de filtro tratado com hexano.

Os bioensaios com os compostos sintetizados, foram realizados da mesma maneira que os extratos de machos, utilizando-se uma solução 0,1 mg/mL (10 µL por papel- seguindo o mesmo padrão utilizado na referência 28).

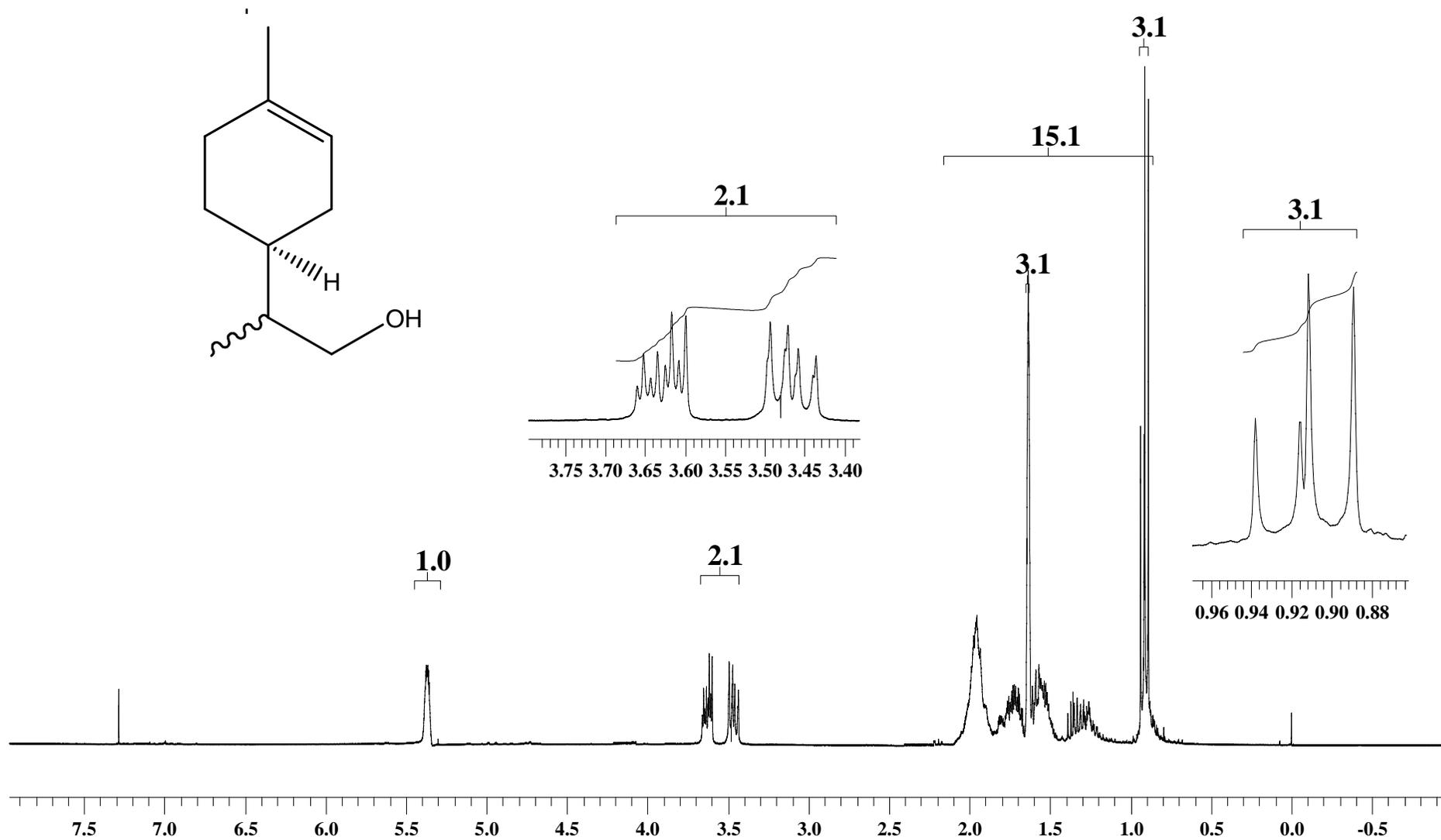
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

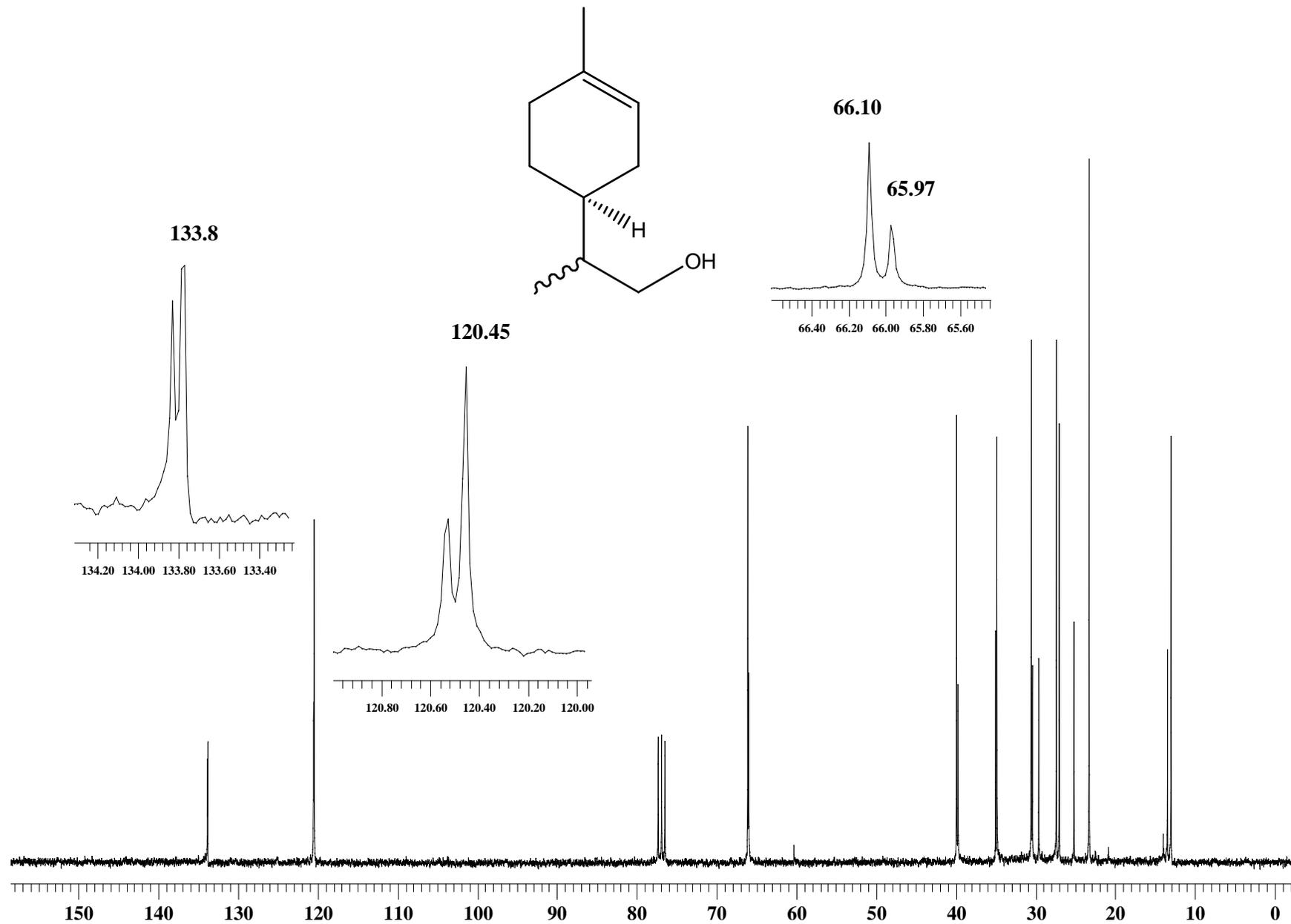
1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa **2010**.
2. Moreira, J. C.; Jacob, S. C.; Peres, F.; Lima, J. S.; Araujo, A. L. *Ciênc. Saúde Coletiva*. **2002**, 7, 299.
3. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – SINDAG **2009**.
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa **2009**.
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- Anvisa **2010**.
6. *Bras. Ecol.*; **1998**, 8, 39.
7. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. **2001**, 22- setembro/outubro
8. Wood, W. F.; *J. Chem. Educ.* **1983**, 60, 531.
9. Metcalf, R. L.; *Mikrochim. Acta*. **1998**, 129, 167.
10. Zarbin, P. H. G.; Rodrigues, M. A. C. M.; Lima, E. R. *Quim. Nova*. **2009**, 32, 722.
11. <http://www.cenedcursos.com.br/manejo-integrado-de-insetos-praga.html> - acesso em **02/04/2011**.
12. Tamhankar, A. J.; Gahukar, R. T.; Rajendran, T. P. *Integrated Pest Manag. Review*. **2000**, 5, 11.
13. Bento, J. S. WORKSHOP TECNOLÓGICO SOBRE “PRAGAS DA CANA-DE-AÇÚCAR”, **2007**, Painele 4 .
14. Mori, K. in *The Total Synthesis of Natural Products*, ApSimon, J.,Ed.; John Wiley: New York, **1981**; 4, 1.
15. Levinson, A; Levinson, H. *Naturwissenschaften* **1999**, 86, 138.
16. <http://www.cenedcursos.com.br/manejo-integrado-de-insetos-praga.html> - acessado em 02/04/2011.
17. Mori, K. *Tetrahedron*, **1989**, 45, 3233.
18. Borges, M.; Mori, K.; Costa, M. L. M.; Sujii, E. R. *J. Appl. Entomol.* **1998**, 122, 335.
19. Borges, M.; Schmidt, F. G. V.; Sujii, E. R.; Medeiros, M. A.; Mori, K. Zarbin, P. H. G.; Ferreira, T. B. *Physiol. Entomol.* **1998**, 23, 202.
20. Brézot, P.; Malosse, C.; Mori, K.; Renou, M. *J. Chem. Ecol.* **1994**, 20, 3133.
21. <http://pt.scribd.com/doc/19461644/Quiquadrado-Passo-a-Passo>, acessado em 03/03/11.
22. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>- acessado em 09/11/2010.
23. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>- acessado em 09/11/2010.
24. Costa, E. C.; Link, D. *Ver. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana*. **1998/99**, 5/6, 29.
25. Squire, F. A.; *Agr. J. Brit. Guiana* **1934**, 4, 245.
26. Costa Lima, A. da. *Escola Nacional de Agronomia Série didática* **1940**, 3, 351.
27. AmaraL, S. F. do. *O Biológico* **1949**, 15, 97.
28. Rossetto, C. J.; Silveira Neto, S.; Link, D.; Grazia-Vieira, J.; Amante, E.; Souza, D. de; Banzato, N. V.; Oliveira, A. M. *Reunião do Comitê de*

- arroz para as Américas - FAO, 2, e Contribuições Técnicas da Delegação Brasileira, Brasília: DNPE. 1971- 1972, 149.
29. Baughman, T. W.; Sworen, J. C.; Wagener, K. B. *Tetrahedron* **2004**, 60, 10943.
 30. Squire, F. A. *Agr. J. Brit. Guiana* **1934**, 4, 245.
 31. Ferreira, E; Vieira, N. R. A.; Rangel, P. H. N. *Anais Embrapa Clima Temperado* **1999**, 432.
 32. Moraes, M. C. B.; Pareja, M.; Laumann, R. A.; Borges, M.; *Neotr. Entomol.* **2008**, 37, 489.
 33. Aldrich, J. R.; Oliver, J. E.; Lusby, W. R.; Kochansky, J. P.; Borges, M.; *J. Chem. Ecol.* **1994**, 20, 1103.
 34. *Technical Bulletin AL-109*, **1996**, revised.
 35. Pawson, P. A.; Cheung, H. C.; Gurbaxani, S.; Saucy, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 336.
 36. Baughman, T. W.; Sworen, J. C.; Wagener, K. B. *Tetrahedron* **2004**, 60, 10943.
 37. Li, C. J.; *Tetrahedron* **1996**, 52, 5643.
 38. Borges, M.; Birkett, M.; Aldrich, J. R.; Oliver, J. E.; Chiba, M.; Murata, Y.; Laumann, R. A.; Barrigossi J. A. F.; Pickett, J. A.; Moraes, M. C. B. *J. Chem. Ecol.* **2006**, 32, 2749.
 39. Hagiwara, H.; Okabe, T.; Ono, H.; Kamat, V. P.; Hoshi, T.; Suzuki, T.; Ando, M. *Perkin Trans.* **2002**, 1, 895.
 40. Levinson, A.; Levinson, H. *Naturwissenschaften* **1999**, 86, 138.
 41. Cavalcante, A. C. S.; Cordeiro, D. M.; Laumann, R. A.; Moraes, M. C. B., Barrigossi, J. A. F.; Borges, M.; *Embrapa-Cenargen, Bolet. Pesq.* **2004**, 78, 18.
 42. Zhang, A.; Borges, M.; Aldrich, J.; R.; Camp, M. J. *Neotropical Entomol.* **2003**, 32, 713.
 43. Borges, M.; *Ann. Soc. Entomol. Brasil.* **1995**, 24, 215.
 44. Mcbrien, H. L.; Millar, J. G. *CABI Publishing, London, UK*, **1999**, 1797.
 45. Millar, J. G. *Springer Verlag, Berlin, Heildel, Germany*, **2005**, 240, 37.
 46. Moraes, M. C. B.; Millar, J. G.; Laumann, R. A.; Suii, E. R.; Pires, C. P. S.; Borges, M. *J. Chem. Ecol.* **2005**, 31, 1405.

ANEXOS



Espectro de RMN ^1H do composto (4)



Espectro de RMN ^{13}C do composto (4)

File #10 : AL

Mode= 2 (Mid-IR)

29/03/2011 14:49

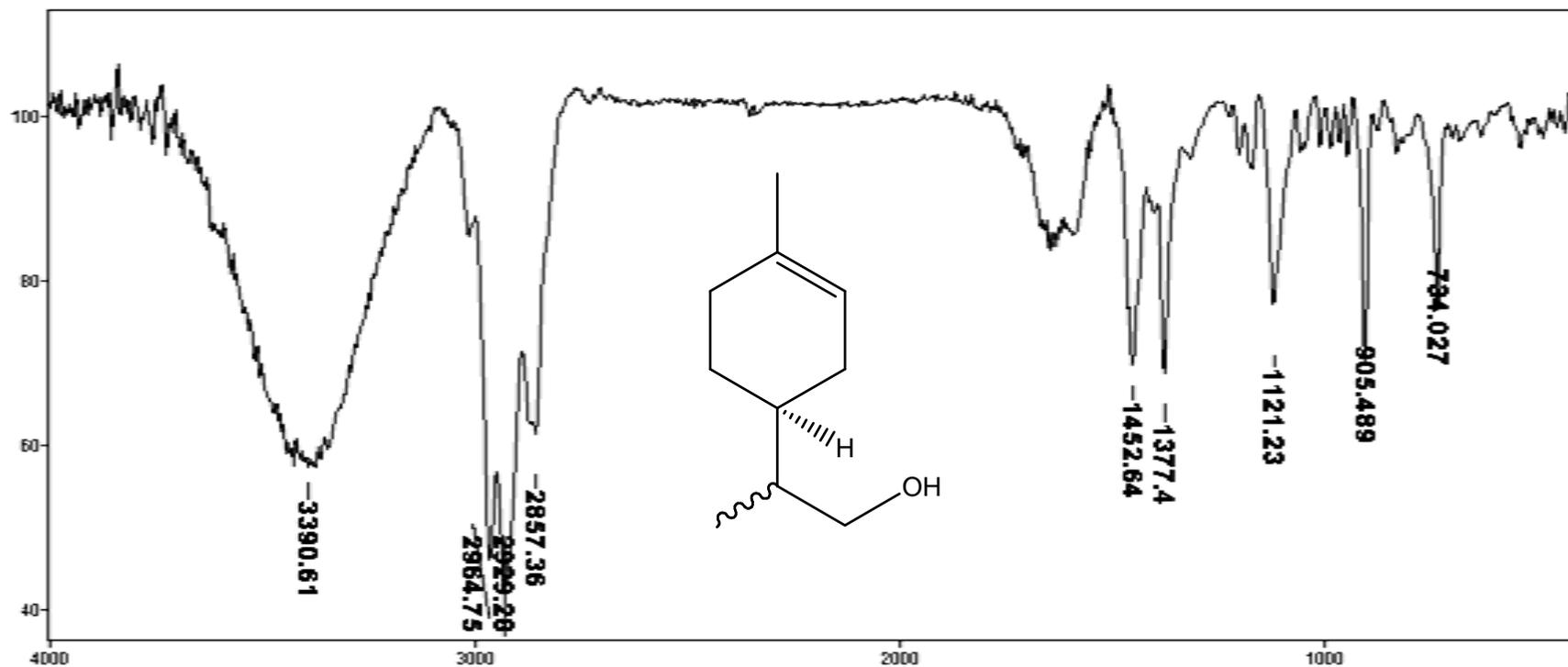
Sample Description: szinmen

Scans= 25 Slow

Res=4 cm-1

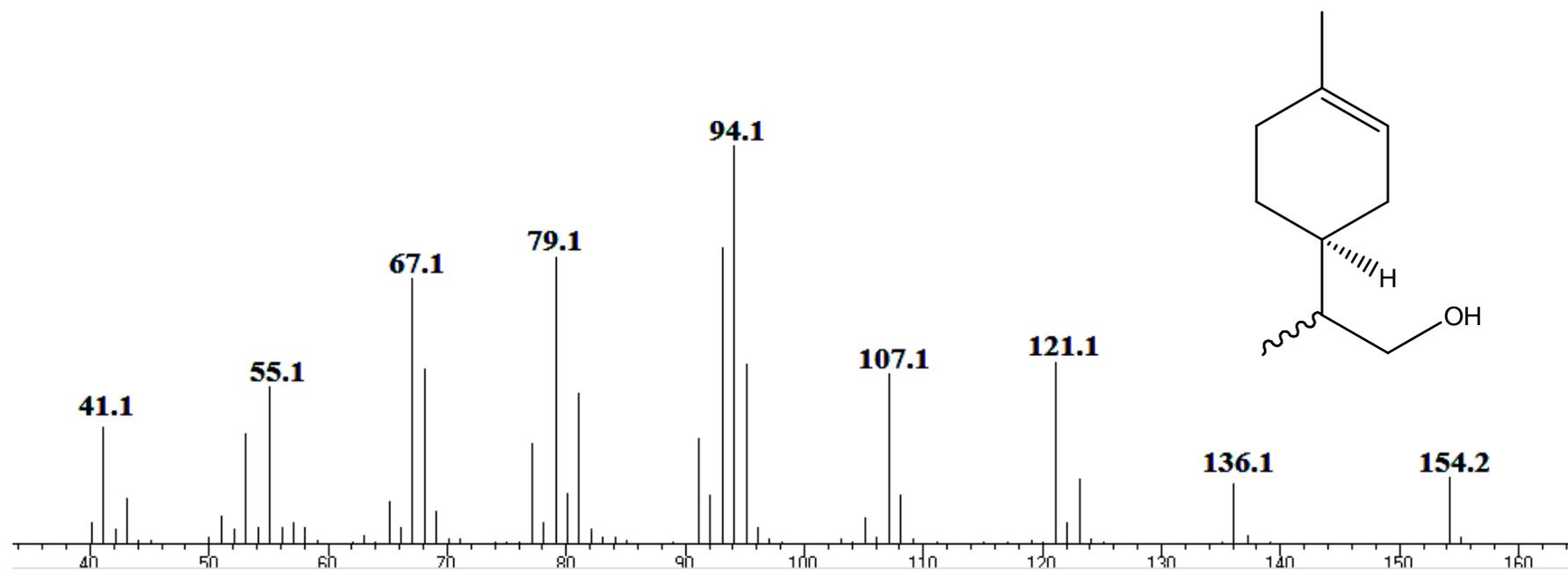
Apod= Cosine

Zero Filling= 1 x

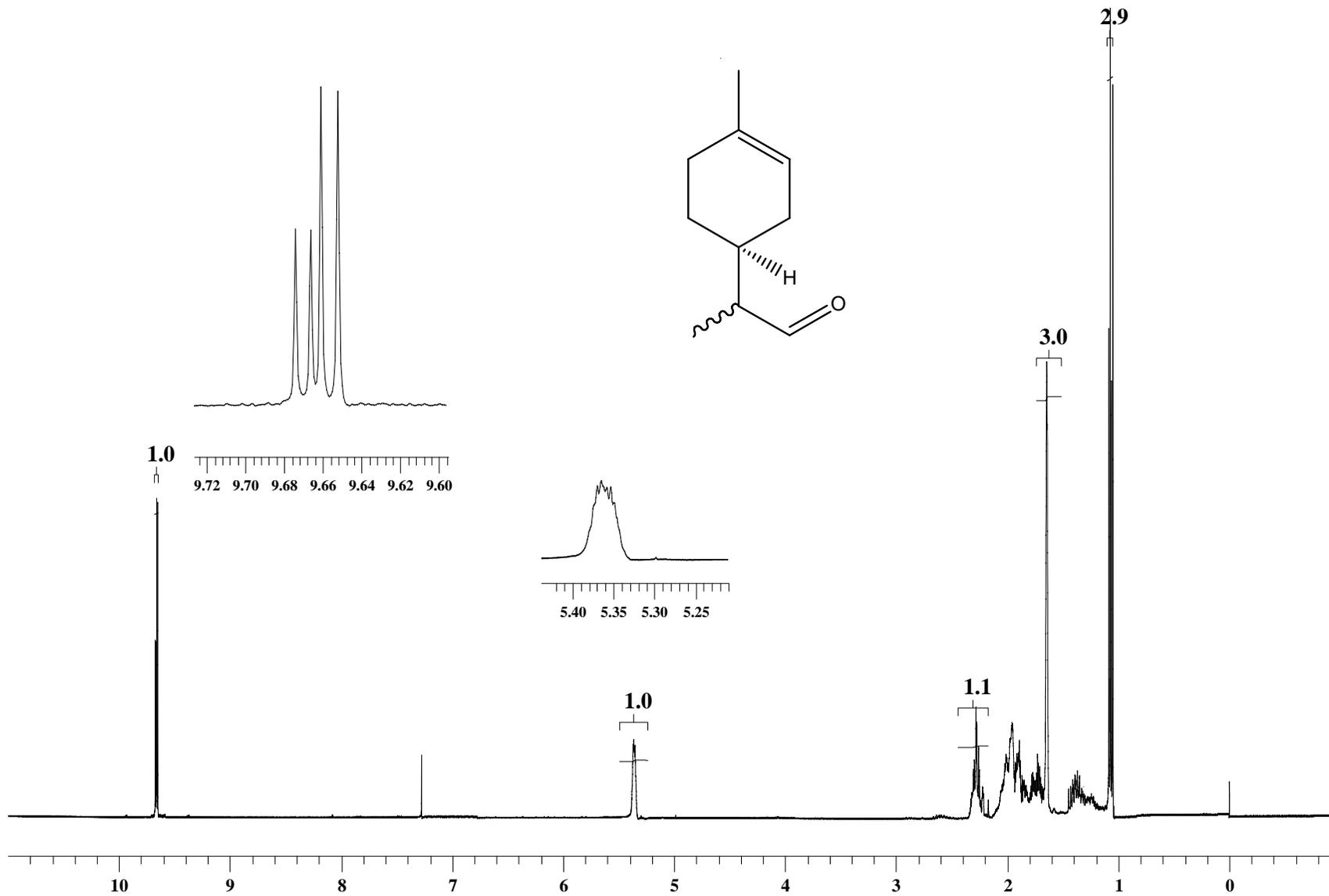


Transmittance / Wavenumber (cm-1)

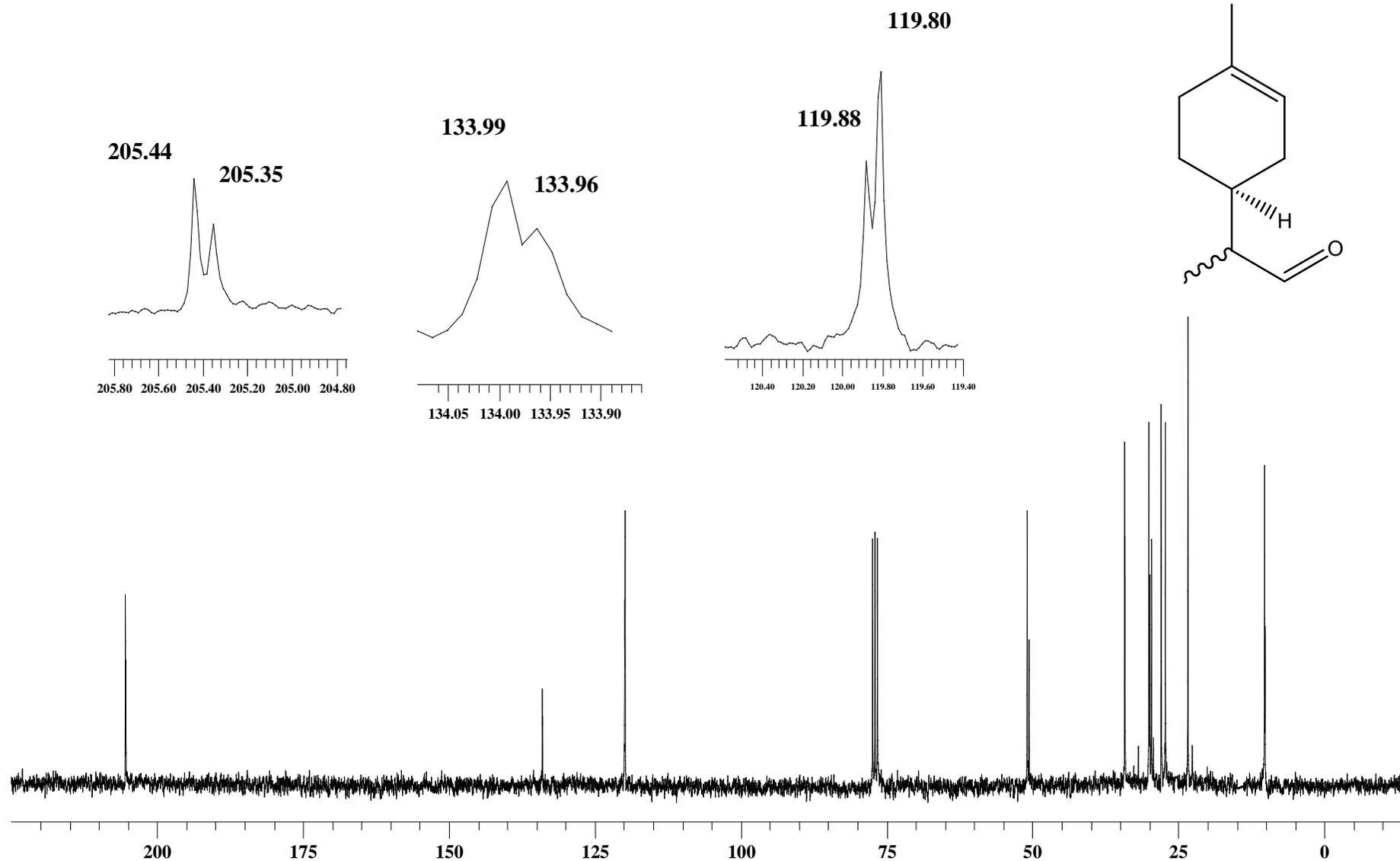
Espectro de infravermelho do composto (4)



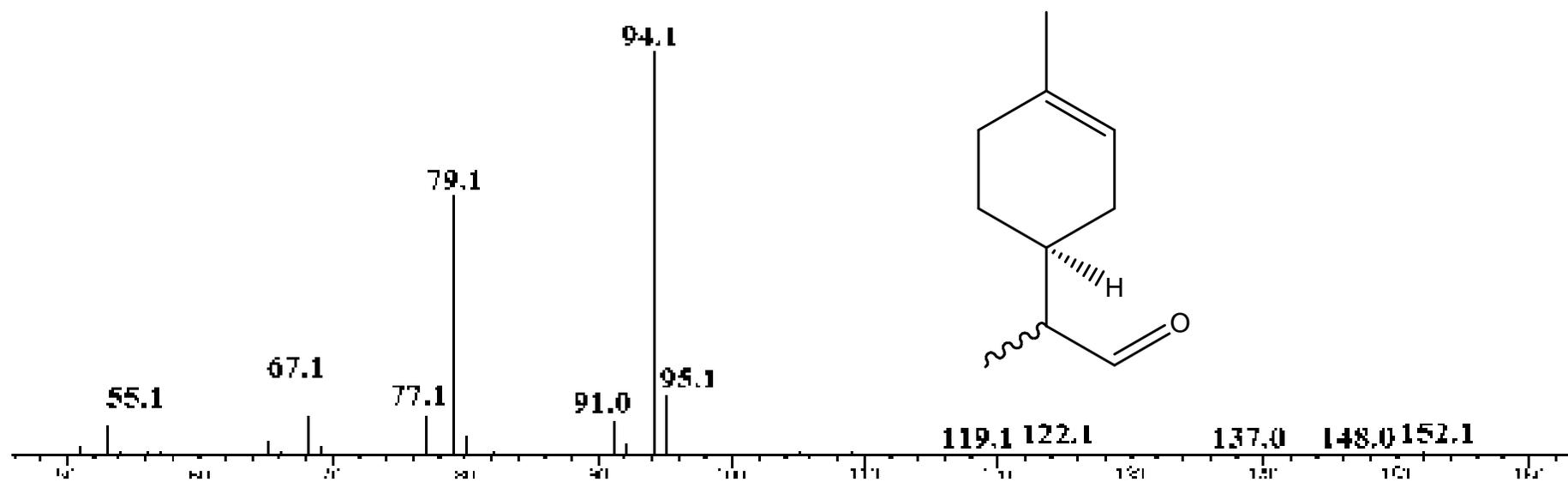
Espectro de massas (ESI) do Composto (4)



Espectro de RMN 1H do composto (5)



Espectro de RMN ^{13}C do composto (5)



Espectro de massas do composto (5)

File #11 : ALDL

Mode= 2 (Mid-IR)

13/04/2011 15:41

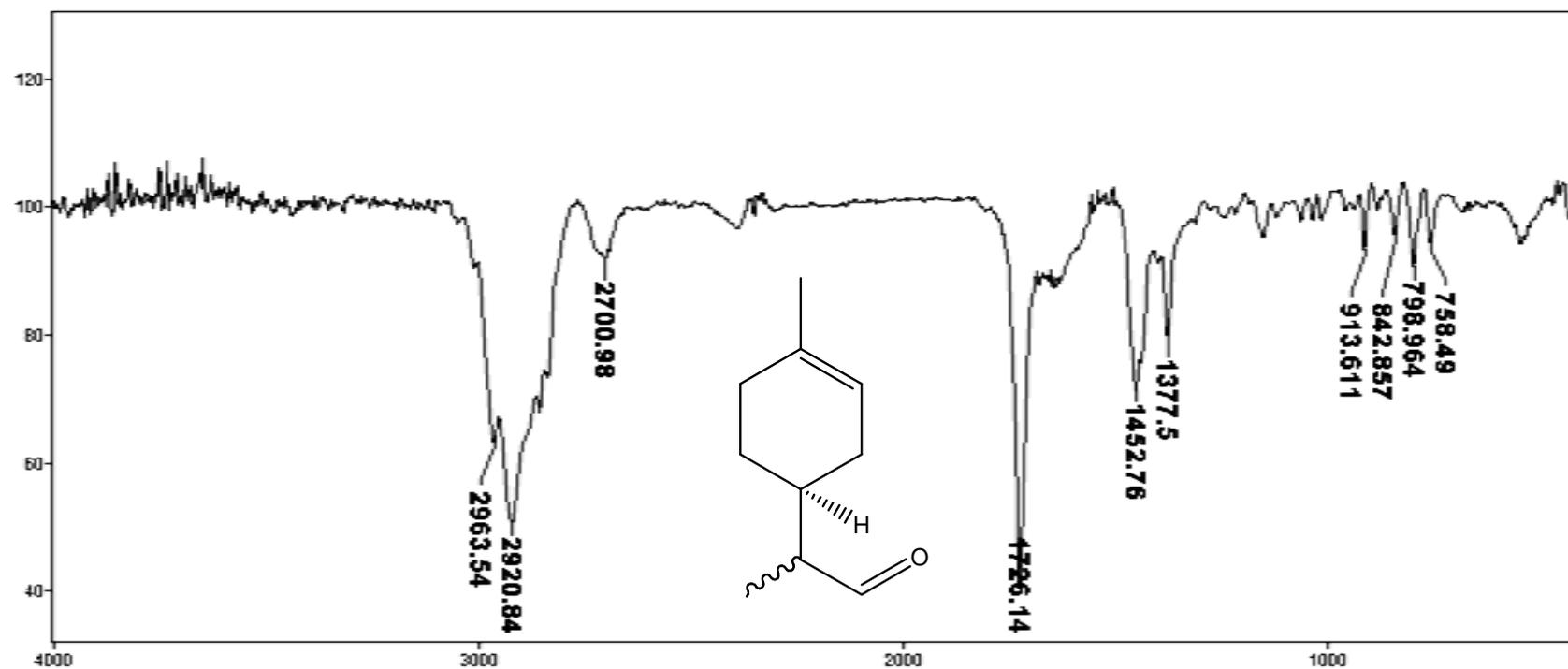
Sample Description: NaCl - ald

Scans= 40 Slow

Res=4 cm-1

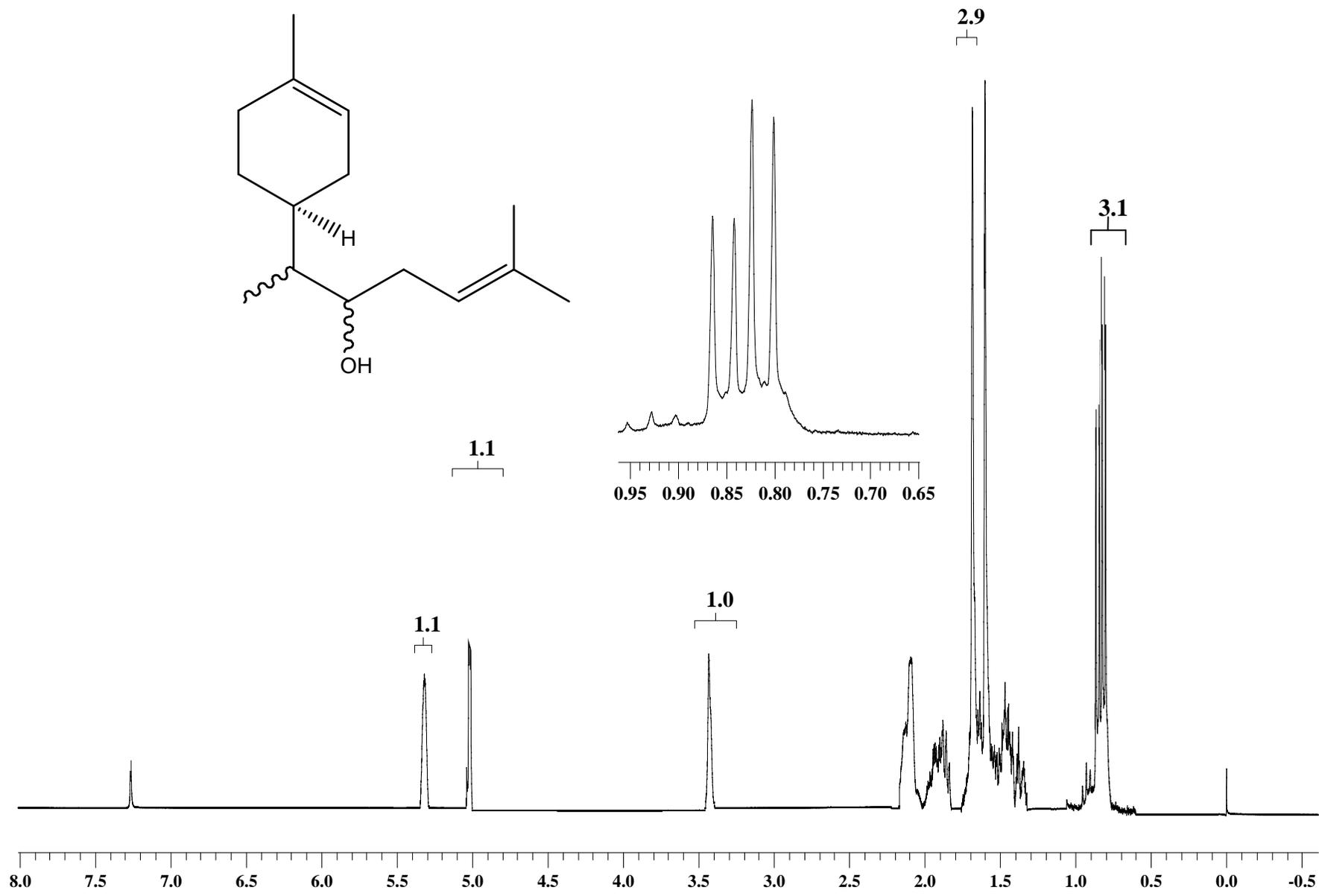
Apod= Cosine

Zero Filling= 1 x

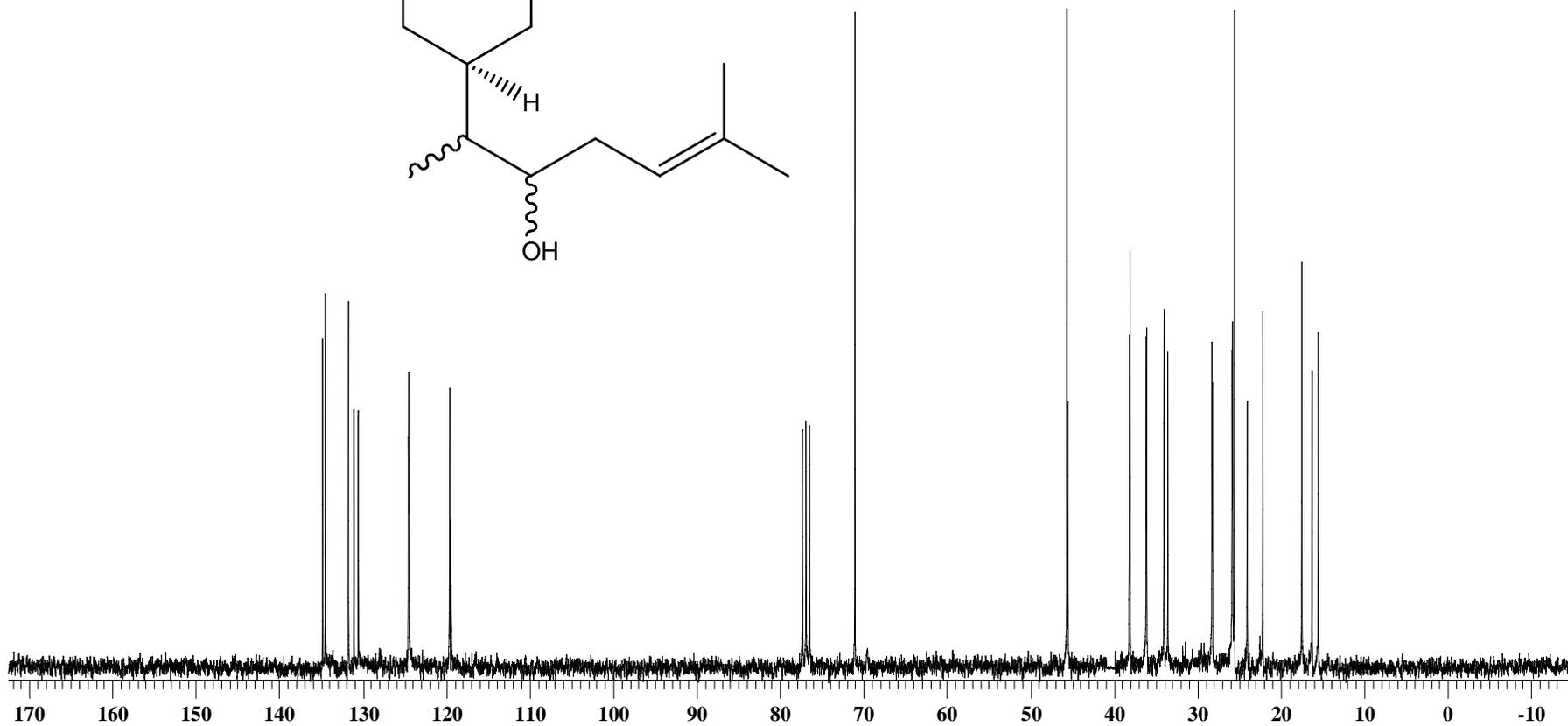
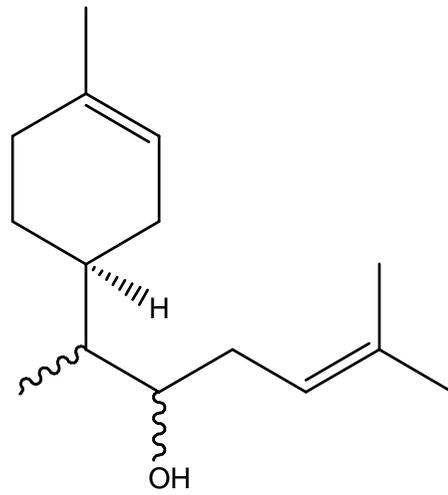


Transmittance / Wavenumber (cm⁻¹)

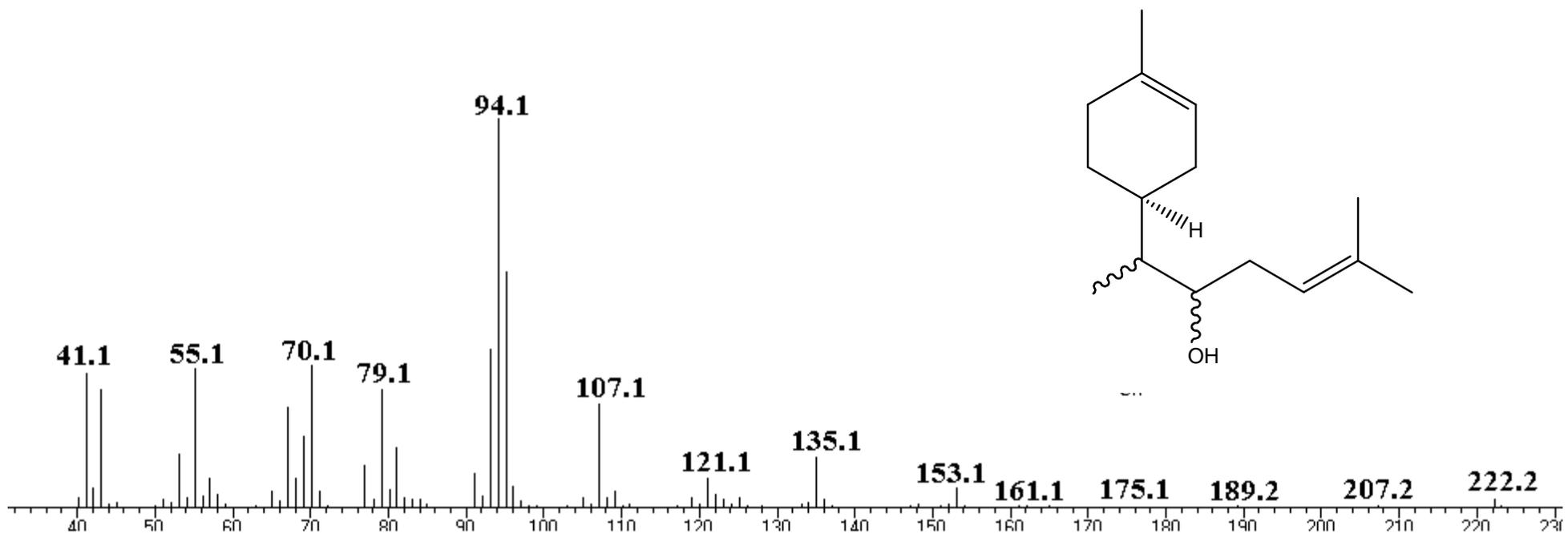
Espectro de infravermelho do composto (5)



Espectro de RMN ^1H do Composto (7)



Espectro de RMN ^{13}C do Composto (7)



Espectro de massas do compostos (7)

File #12 : ALCOOL-1

Mode= 2 (Mid-IR)

29/03/2011 15:12

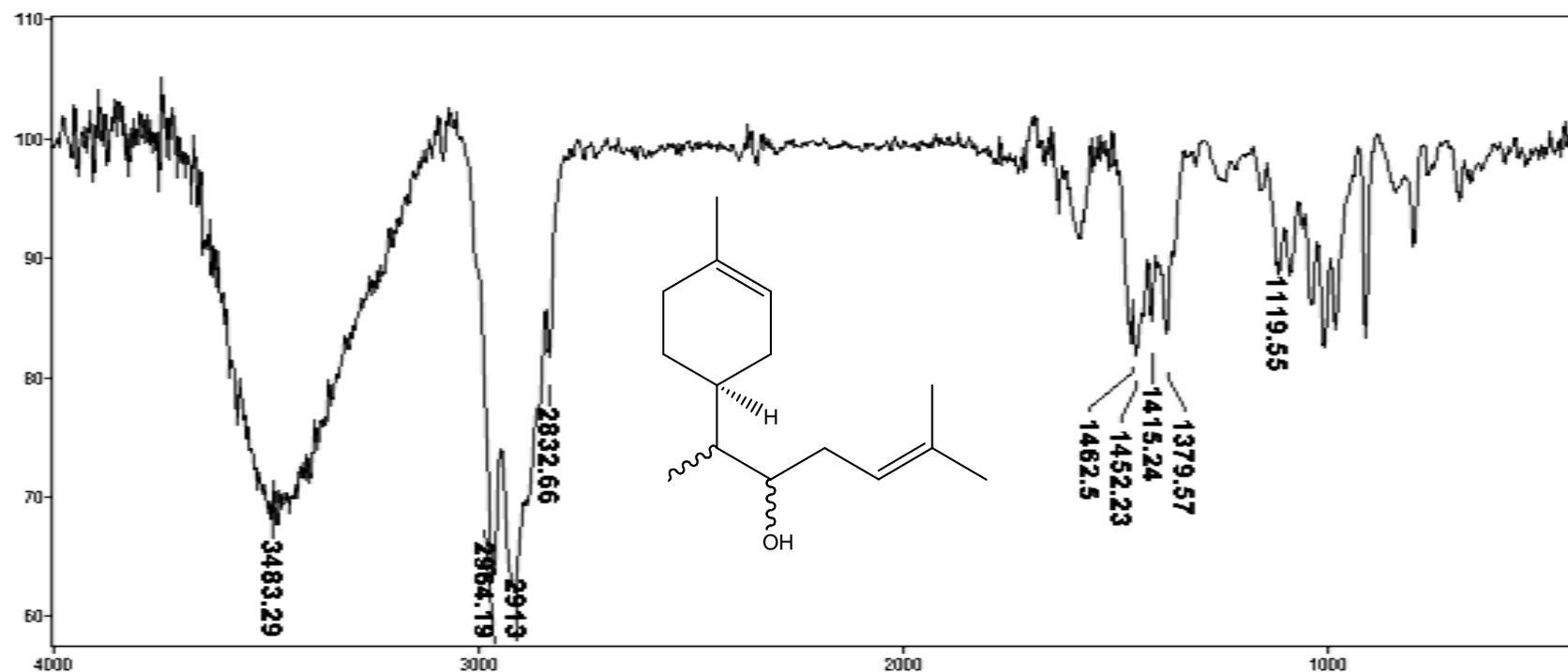
Sample Description: aloeb1

Scans= 25 Slow

Res=4 cm-1

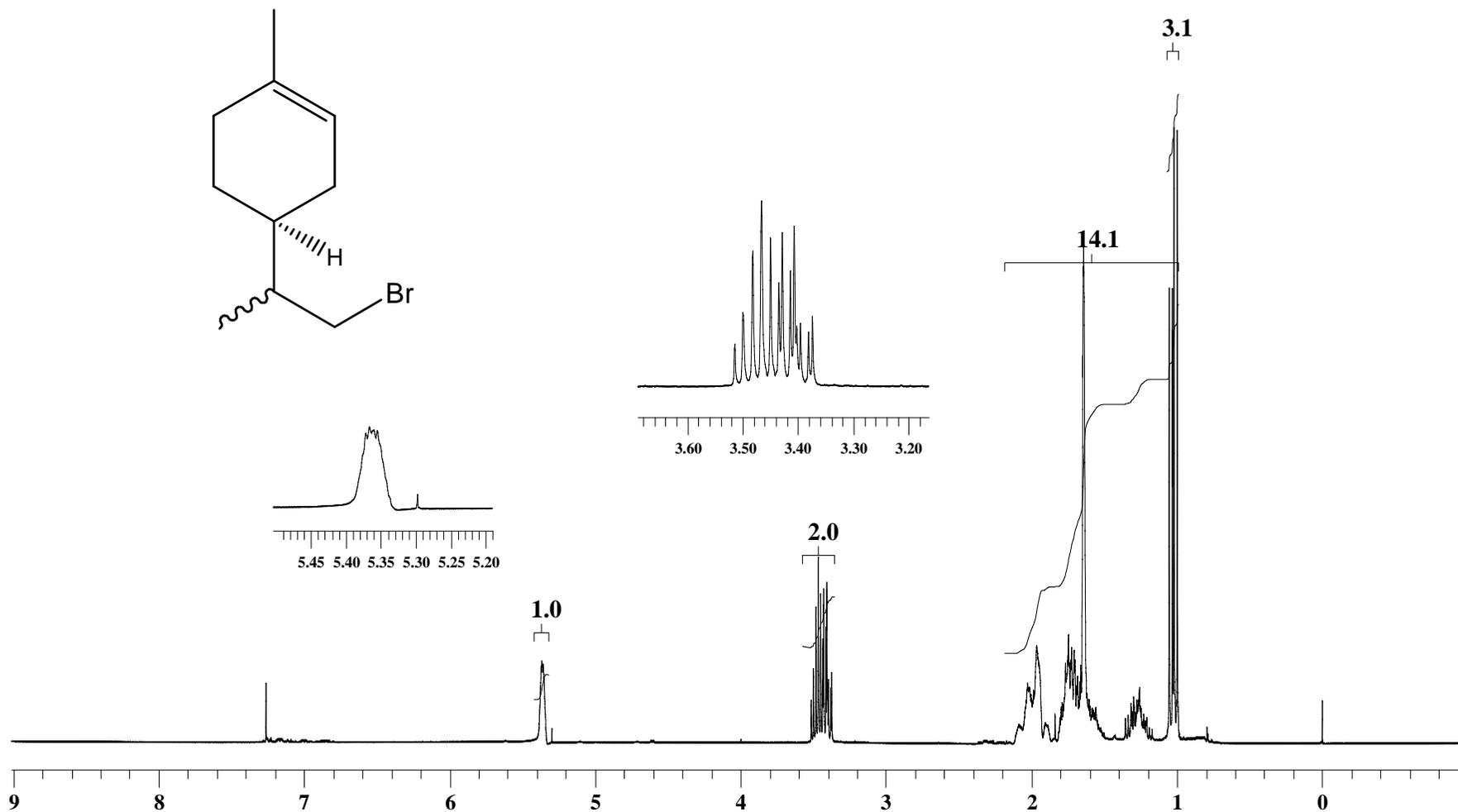
Apod= Cosine

Zero Filling= 1 x

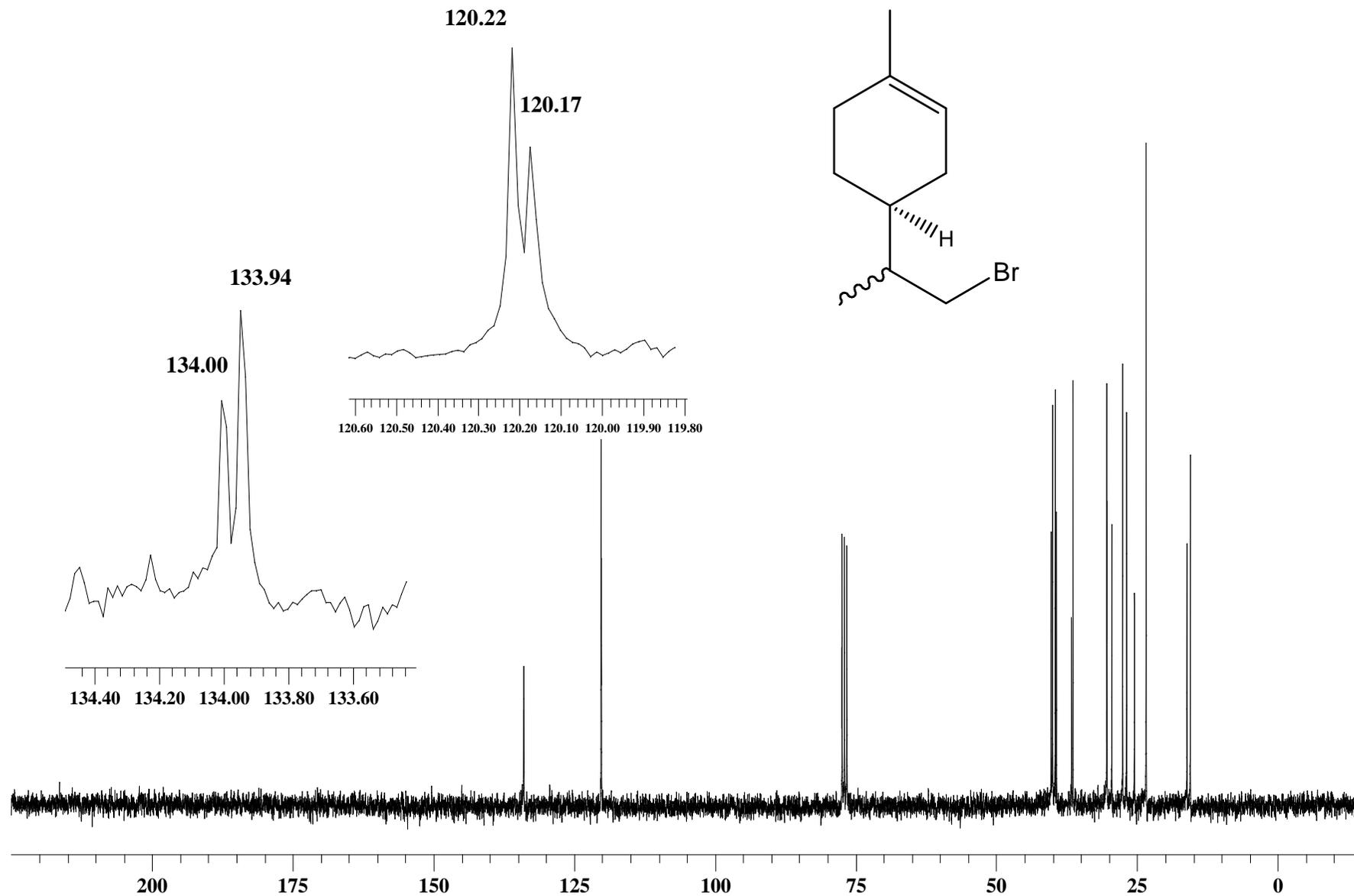


Transmittance / Wavenumber (cm-1)

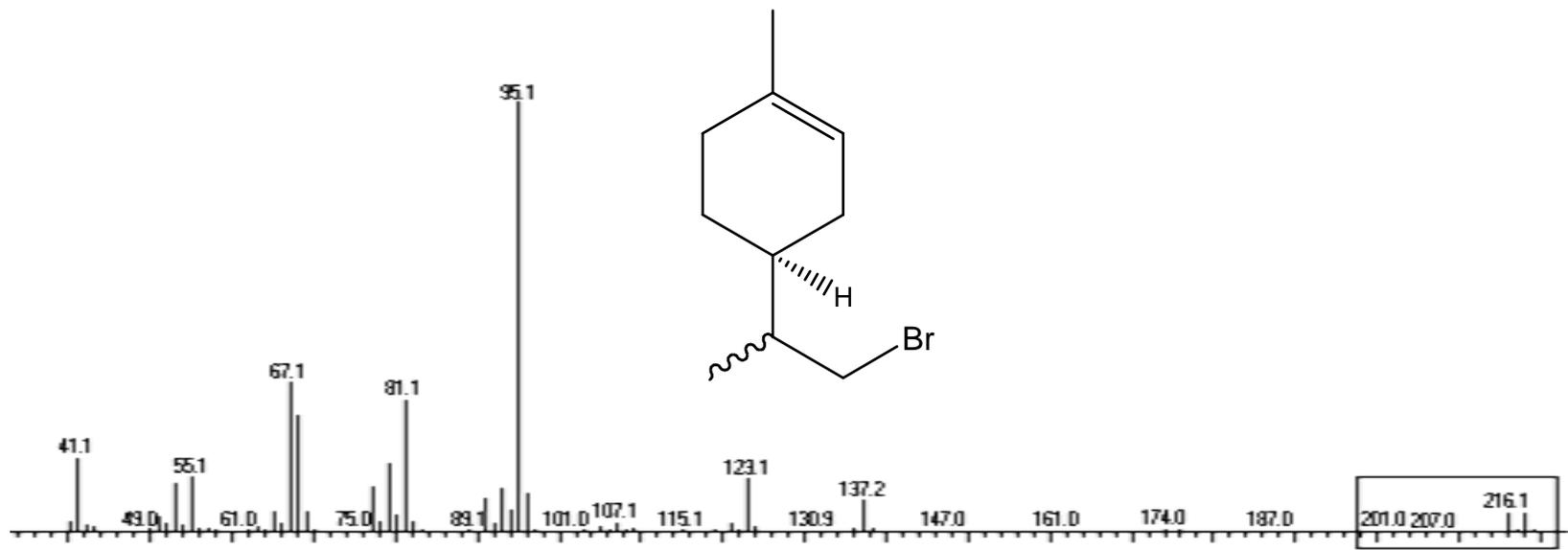
Espectro de infravermelho da mistura dos 4 isômeros de (7)



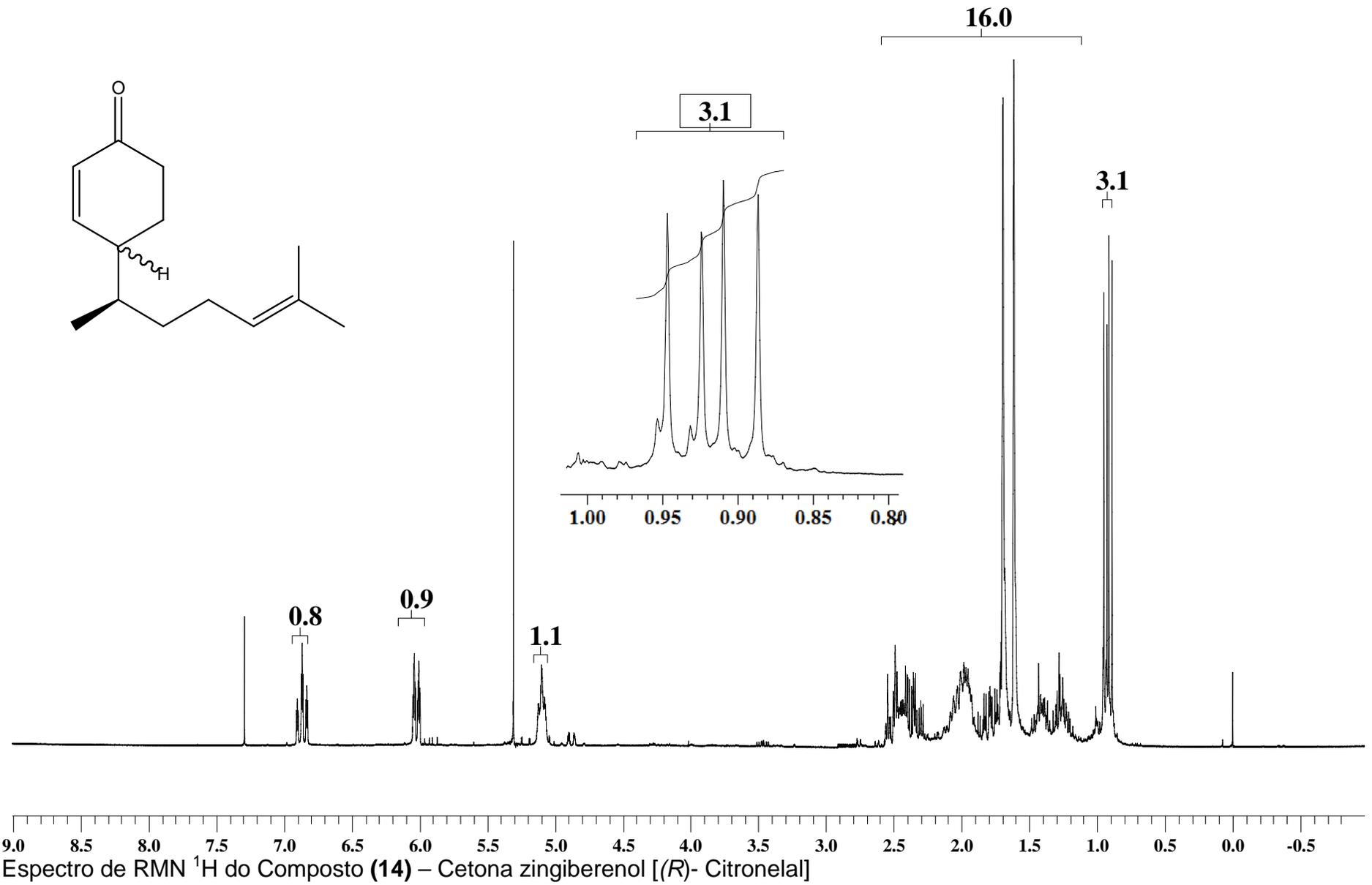
Espectro de RMN ¹H do Composto (9).

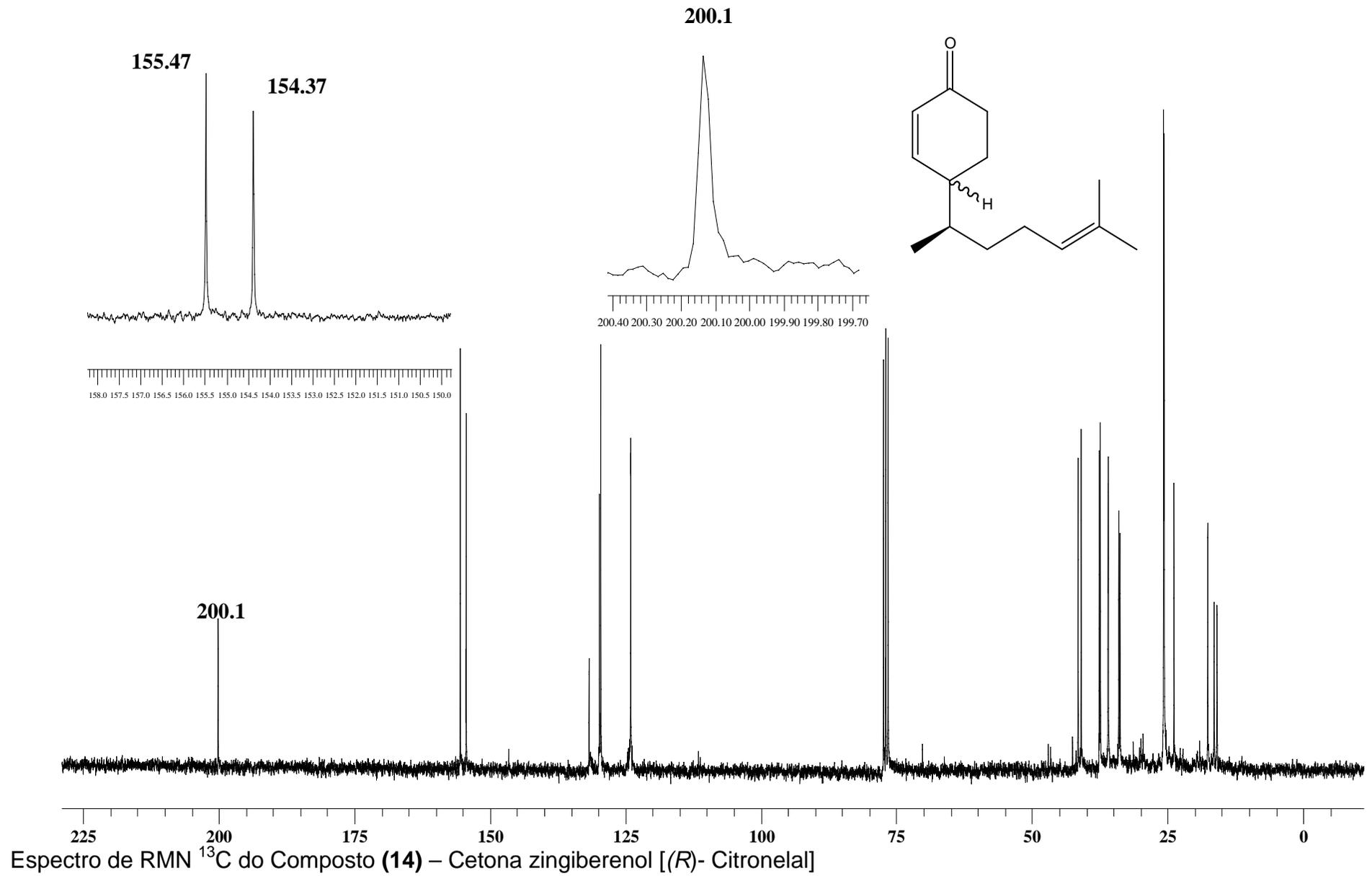


Espectro de RMN ^{13}C do Composto (9).



Espectro de massas do Composto (9)





File #13 : RCIT20K

Mode= 2 (Mid-IR)

29/03/2011 15:19

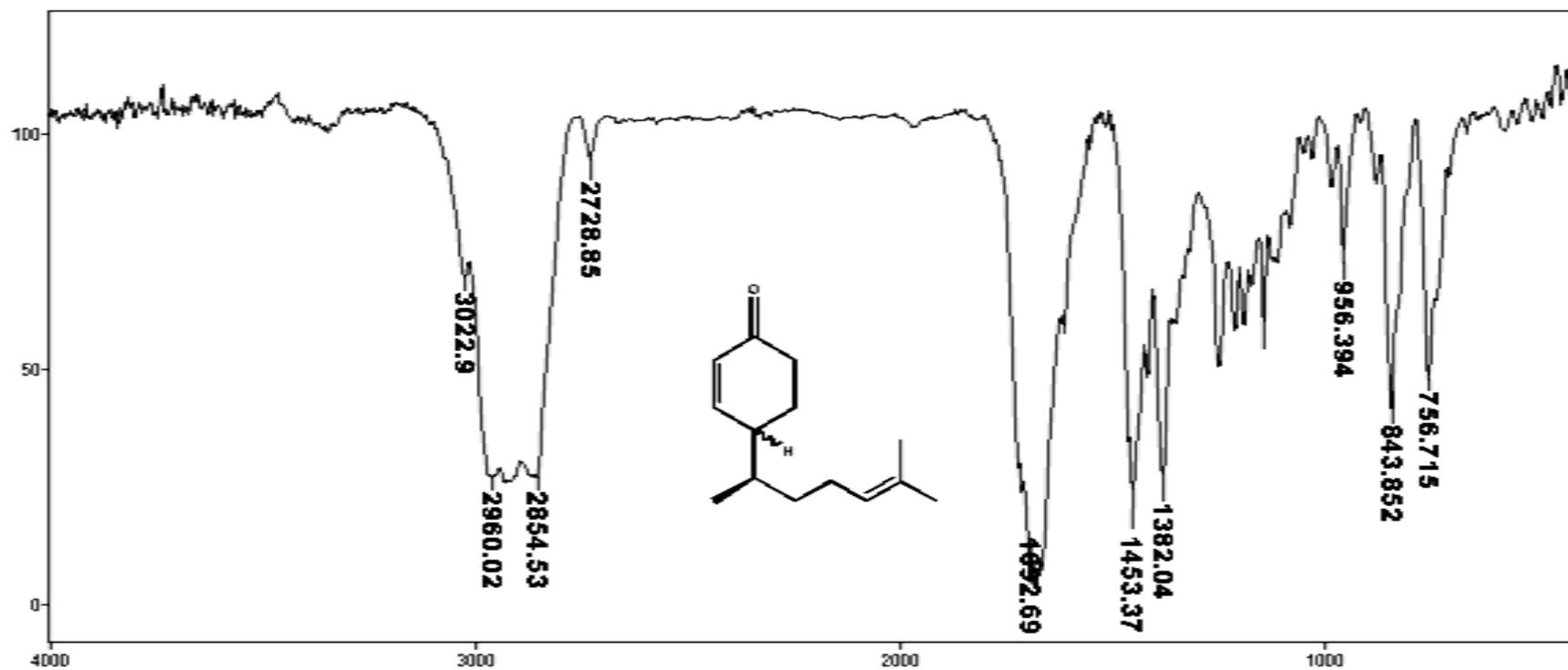
Sample Description: roitroanelal

Scans= 25 Slow

Res=4 cm-1

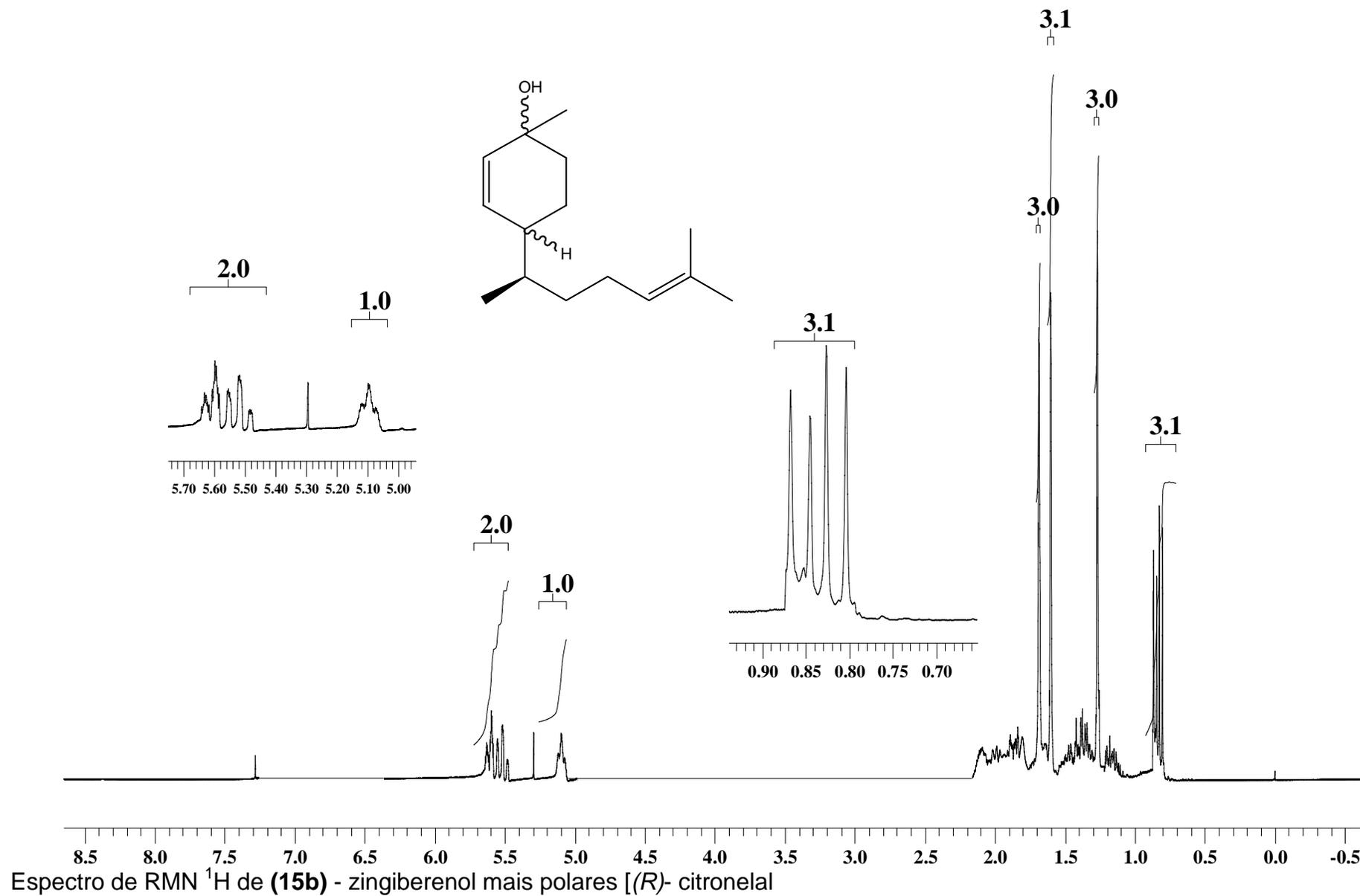
Apod= Cosine

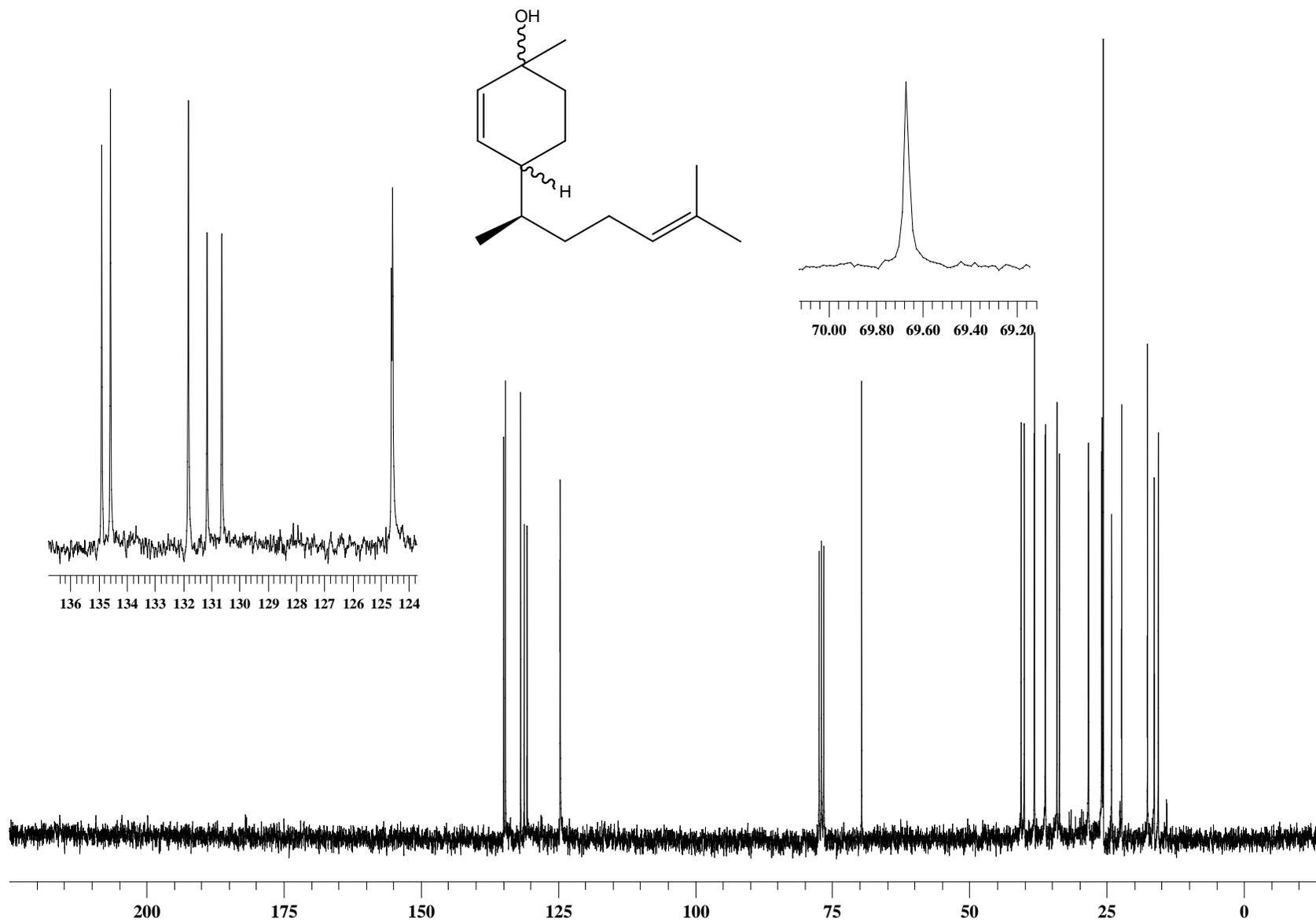
Zero Filling= 1 x



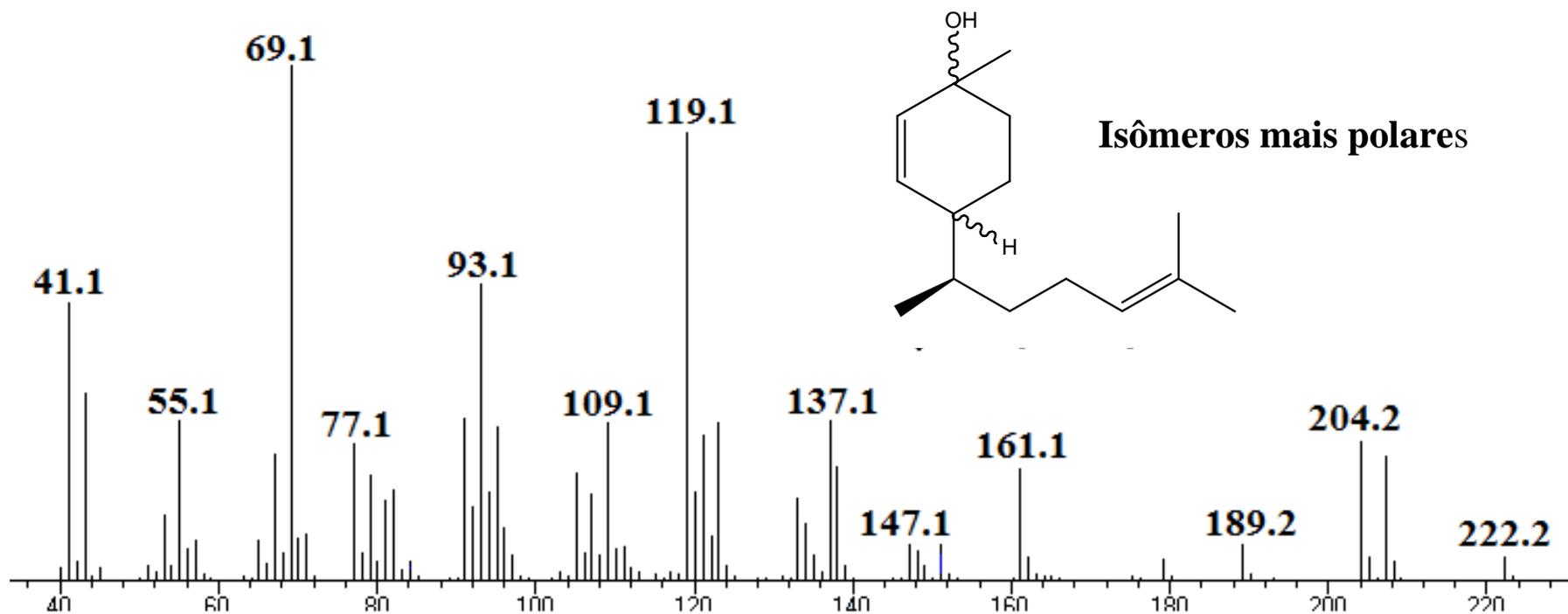
Transmittance / Wavenumber (cm⁻¹)

Espectro de infravermelho do composto (14)





Espectro de RMN ^{13}C de **(15b)** - zingiberenol mais polares [(*R*)- citronelal]



Espectro de massas de **(15b)** - zingiberenol mais polares [(*R*)- citronela]

File #15 : R2MN

Mode= 2 (Mid-IR)

13/04/2011 15:22

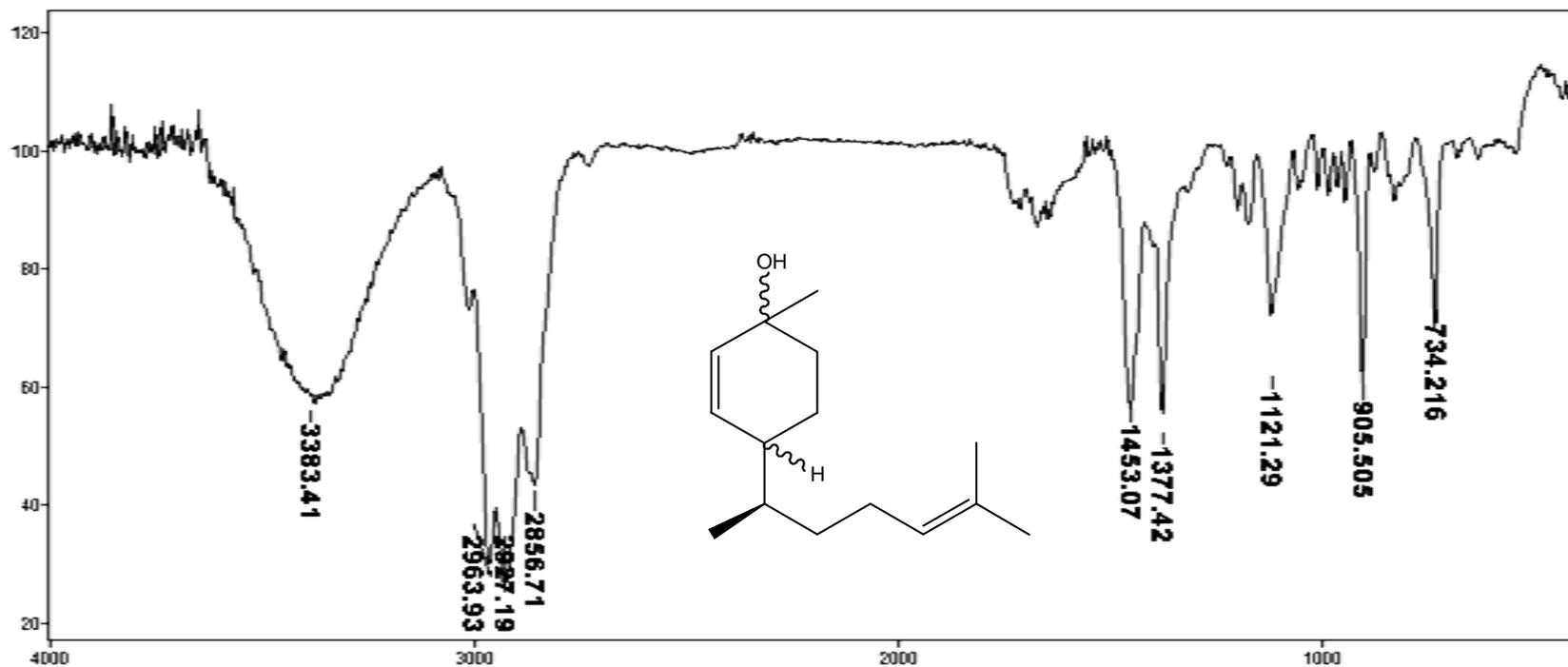
Sample Description: NaCl - rzmn

Scans= 40 Slow

Res=4 cm-1

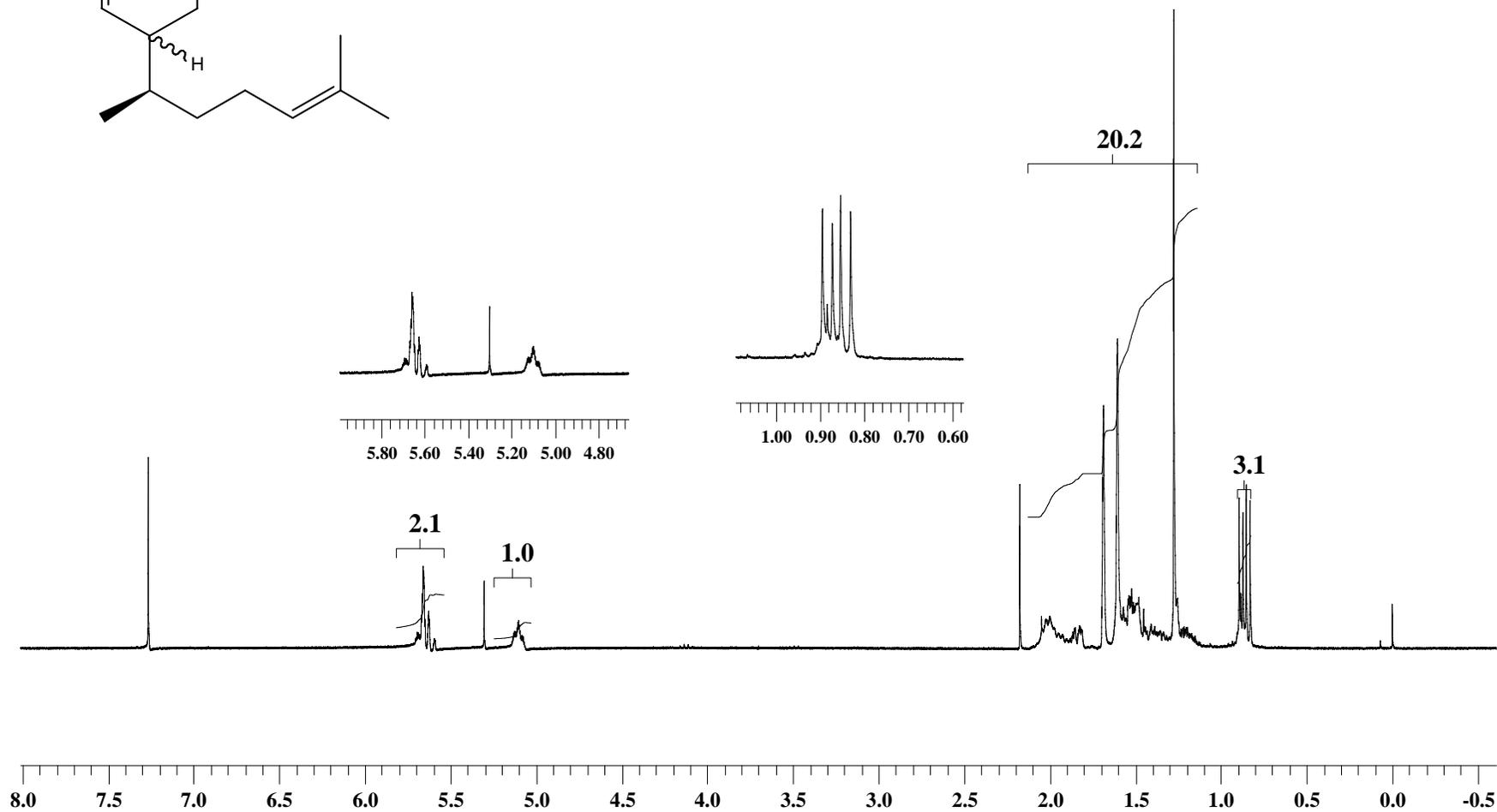
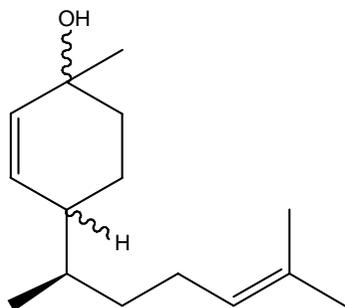
Apod= Cosine

Zero Filling= 1x

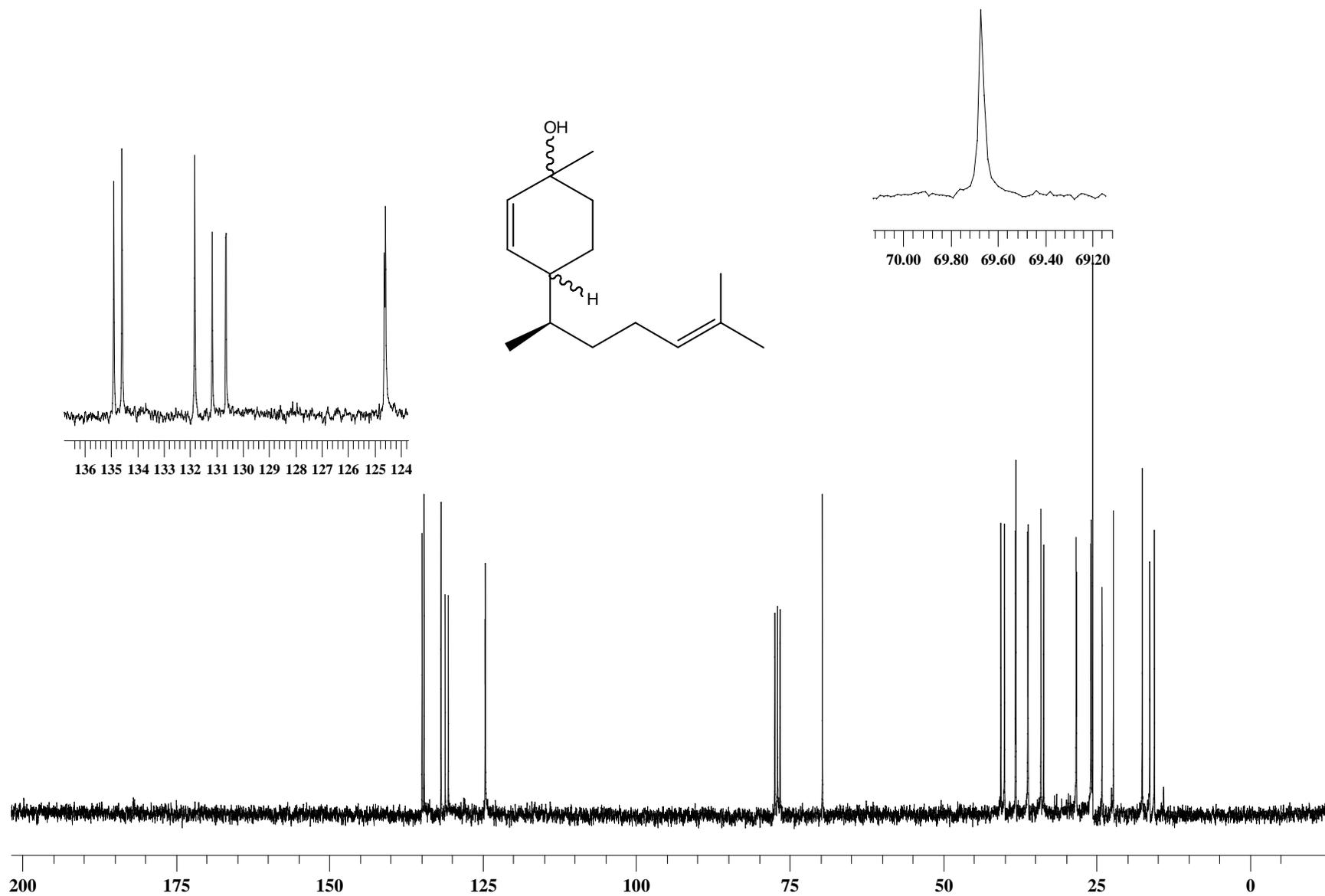


Transmittance / Wavenumber (cm-1)

Espectro de infravermelho do (*R*)- zingiberenol mais polares (**15b**)



Espectro de RMN ^1H de **(15a)** - zingiberenol menos polares [(*R*)- citronelal]



Espectro de RMN ^{13}C de **(15a)** - zingiberenol menos polares [(*R*)- citronelal]

File #16 : (R)-Z1-1

Mode= 2 (Mid-IR)

29/03/2011 14:58

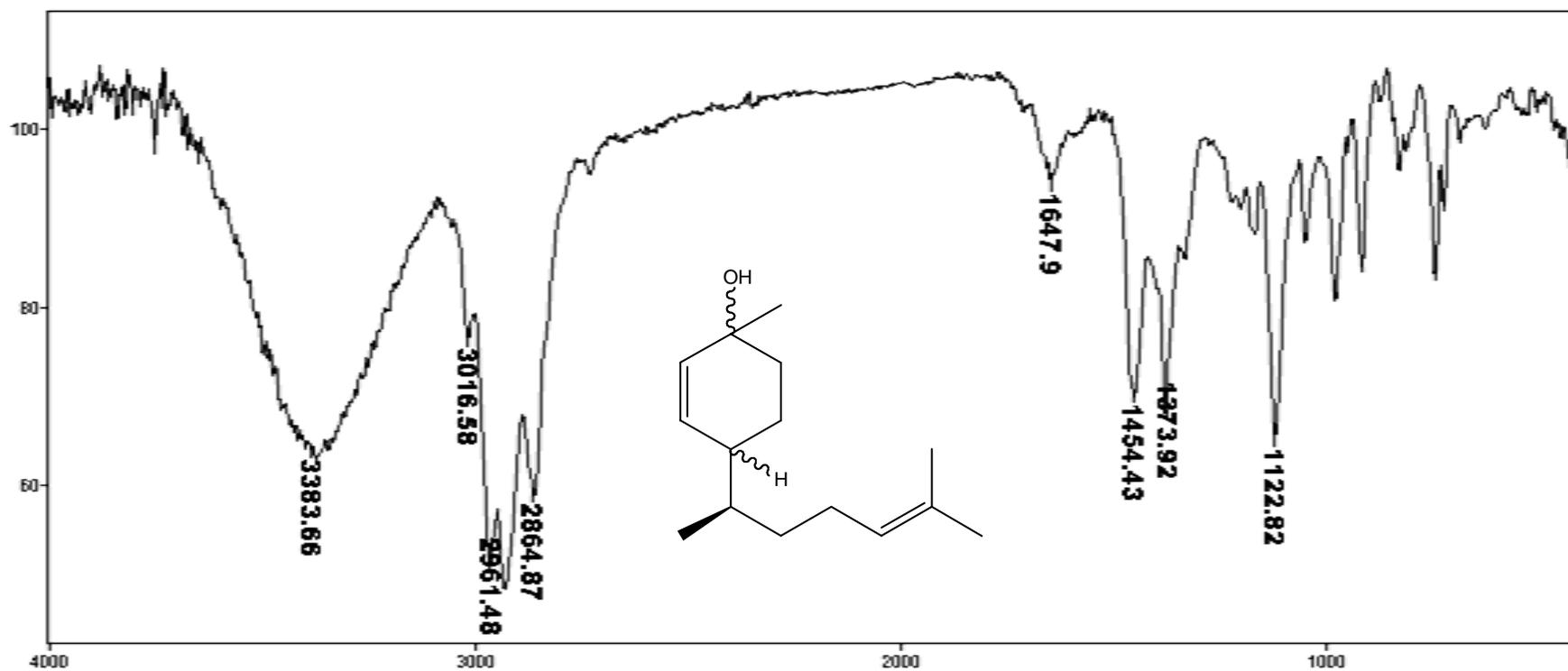
Sample Description: rzinmais

Scans= 25 Slow

Res=4 cm-1

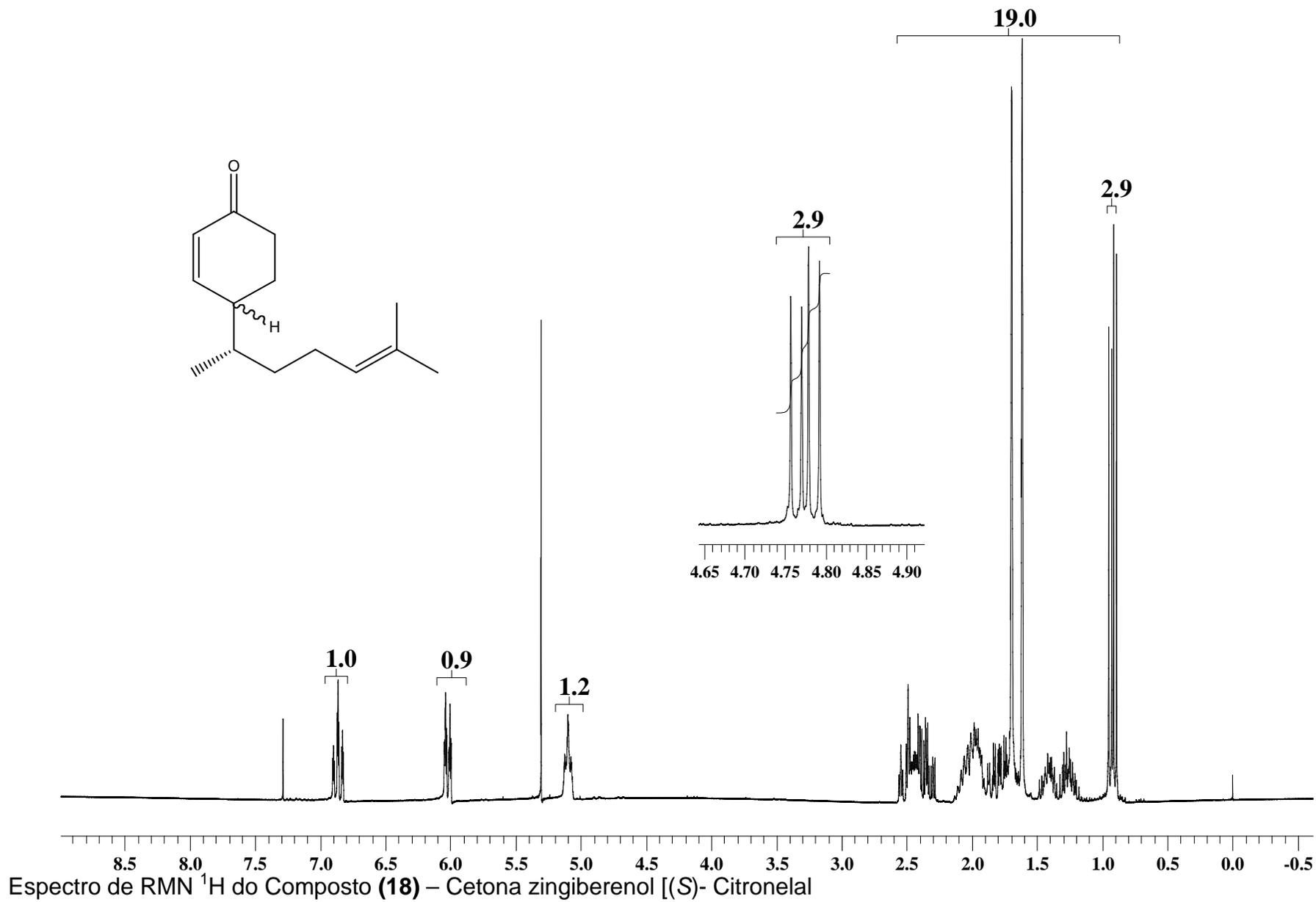
Apod= Cosine

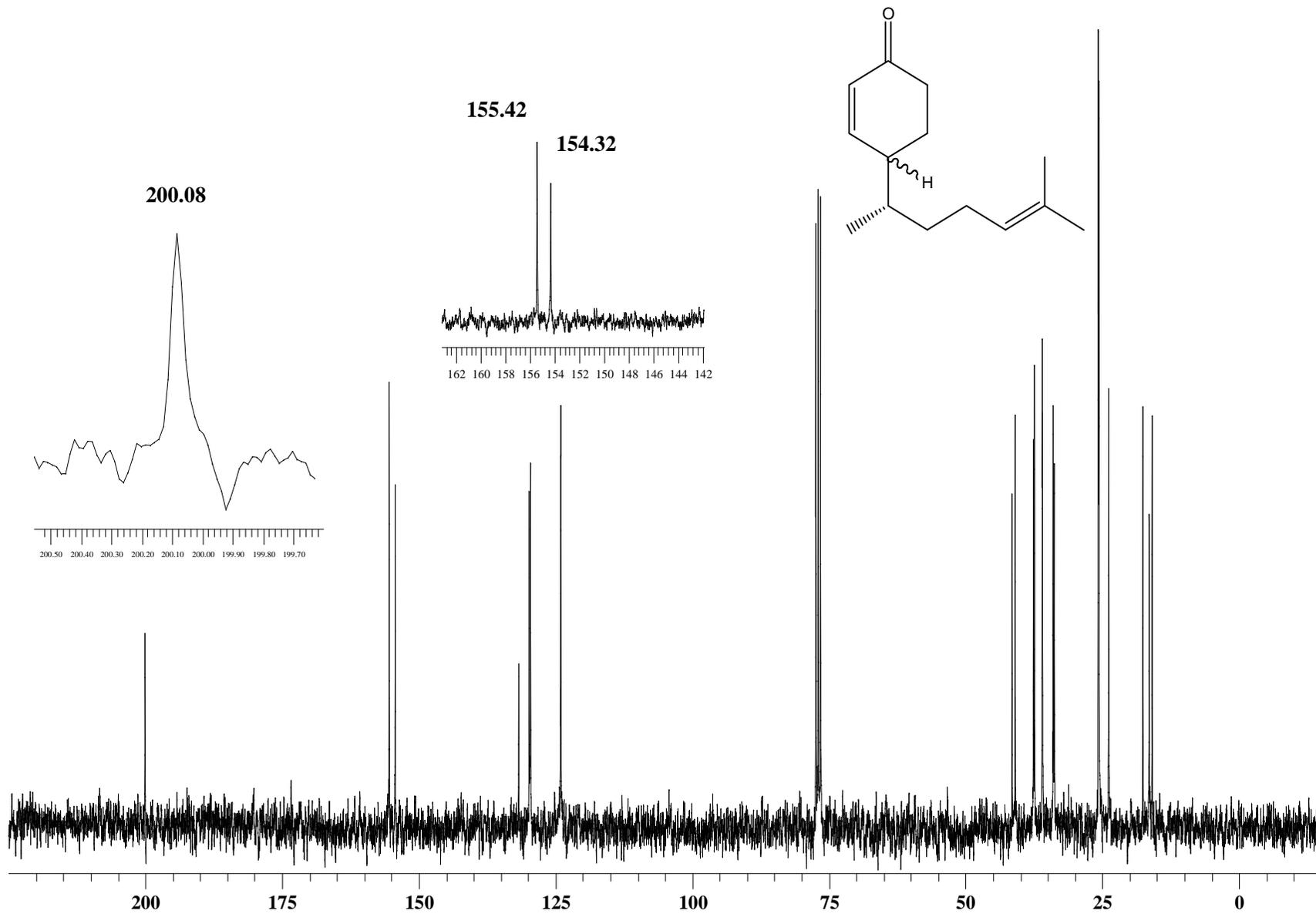
Zero Filling= 1 x



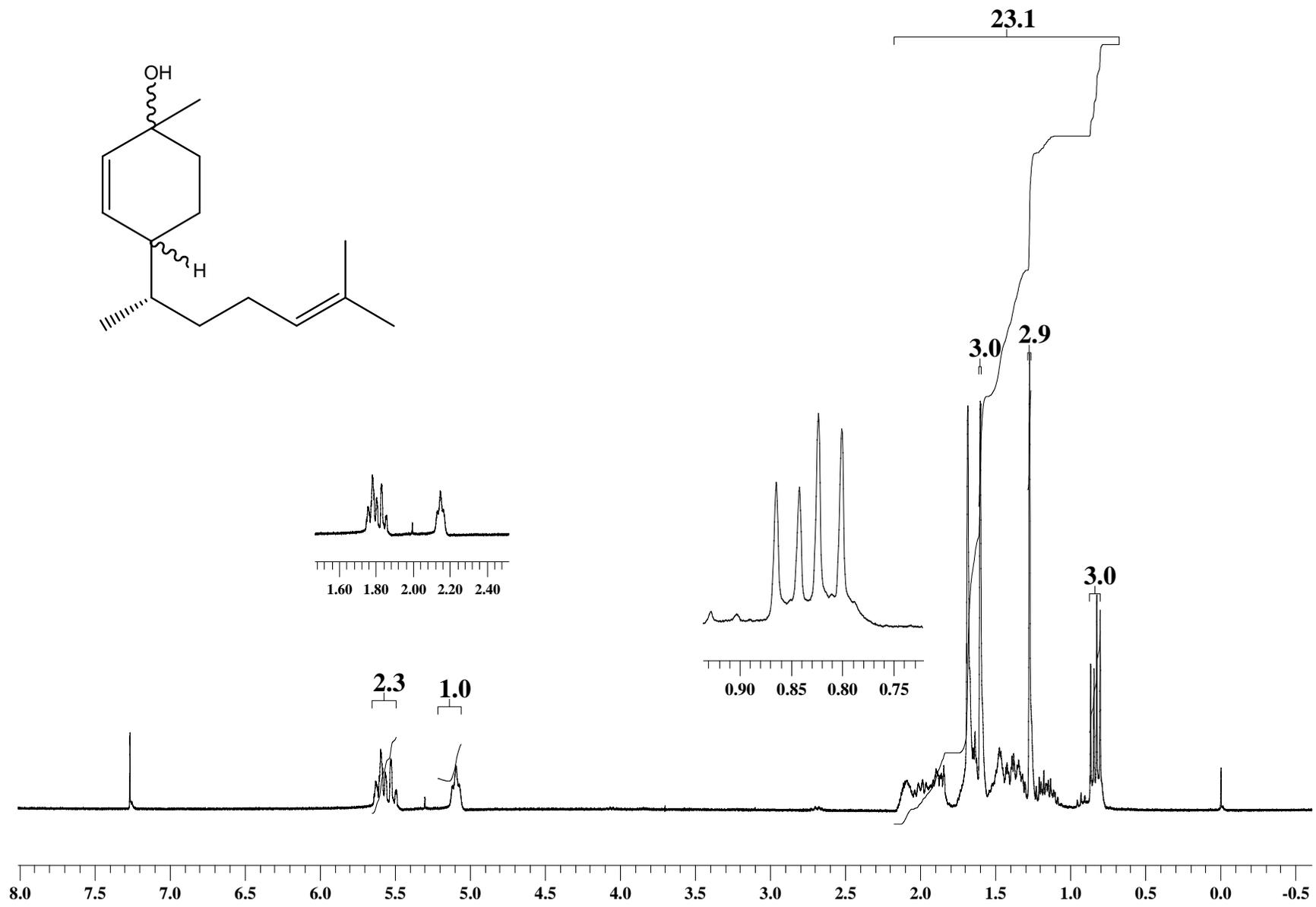
Transmittance / wavenumber (cm⁻¹);

Espectro de infravermelho do (R)- zingiberenol menos polares (**15a**)

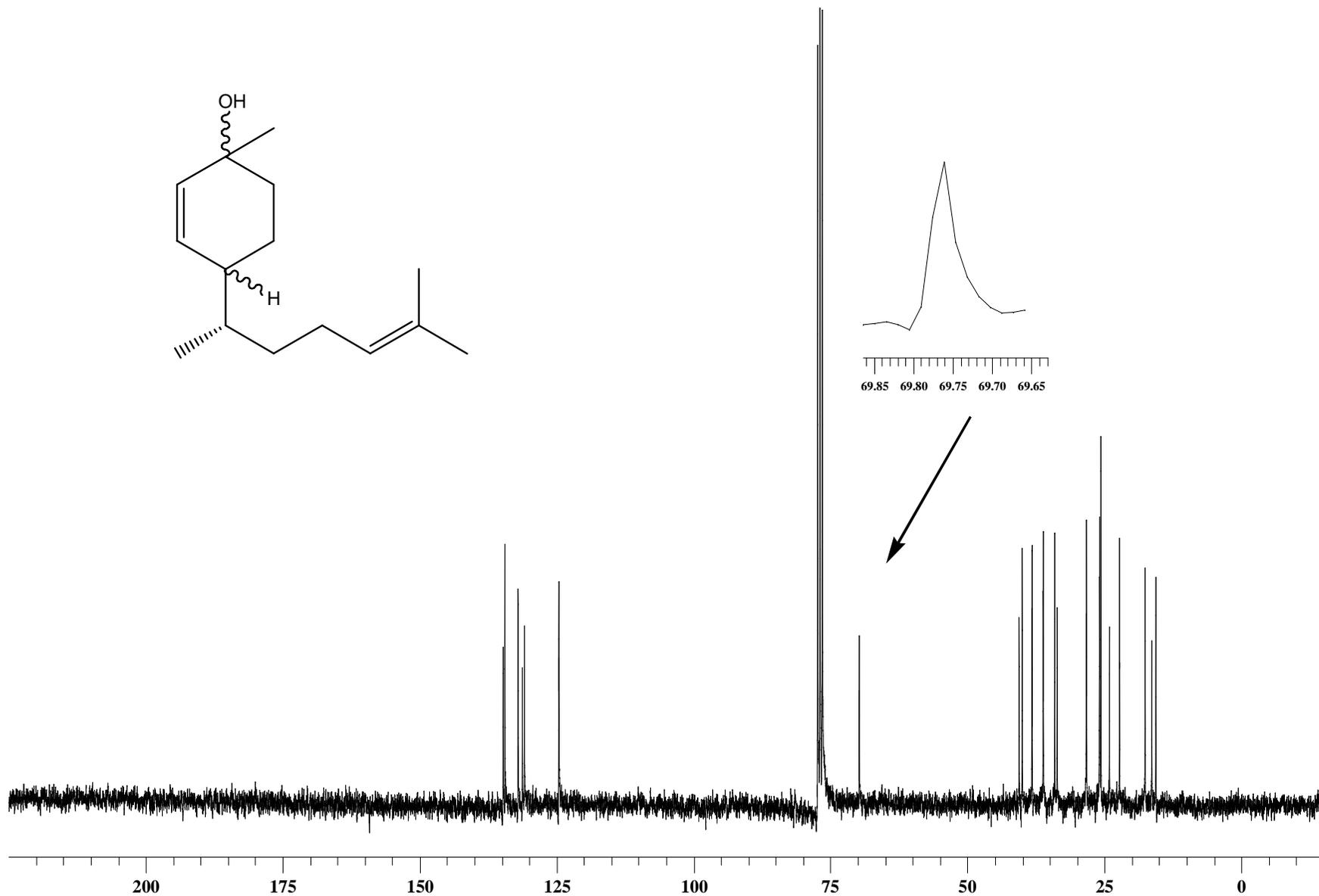
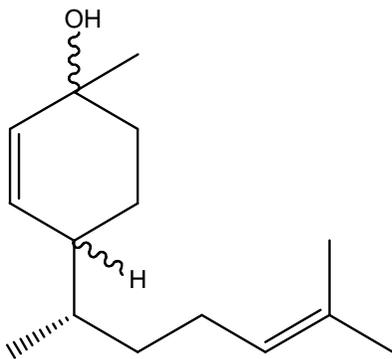




Espectro de RMN ^{13}C do Composto **(18)** – Cetona zingiberenol [(S)- Citronelal



Espectro de RMN ¹H de **(19b)** - zingiberenol mais polares [(S)- citronelal]



Espectro de RMN ¹³C de **(19b)** - zingiberenol mais polares [(S)- citronelal]

File #17 : S2MAOK

Mode= 2 (Mid-IR)

13/04/2011 15:29

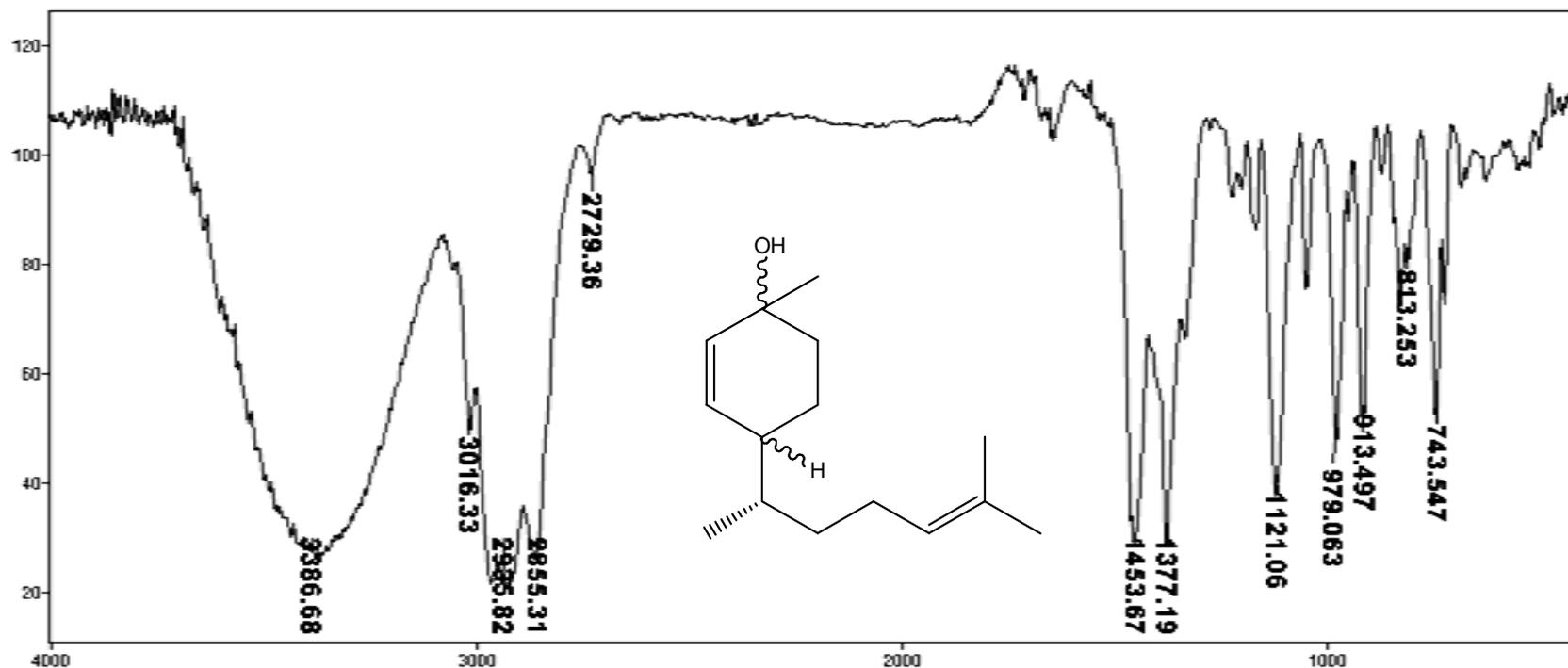
Sample Description: NaCl - szma

Scans= 15 Slow

Res=4 cm-1

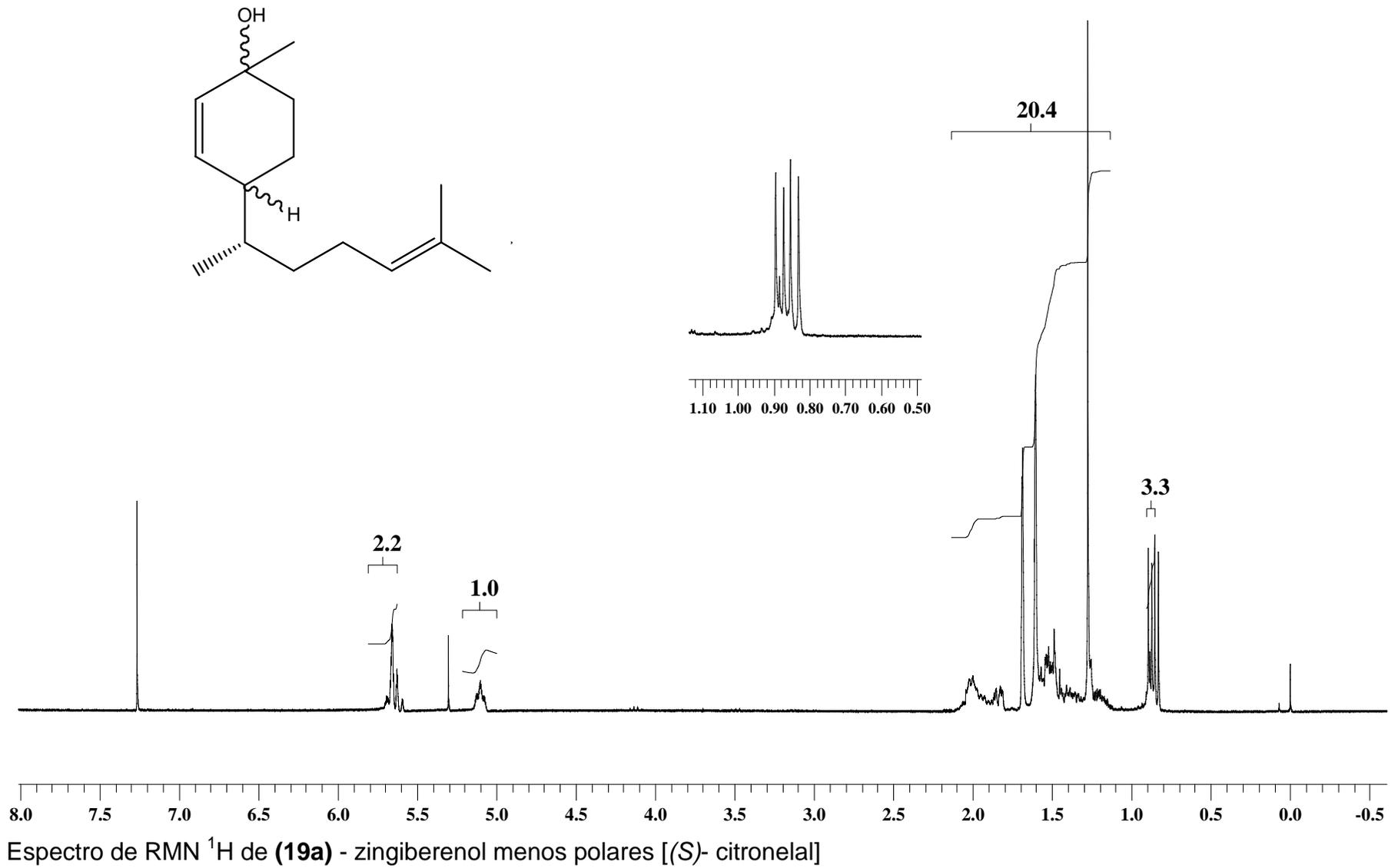
Apod= Cosine

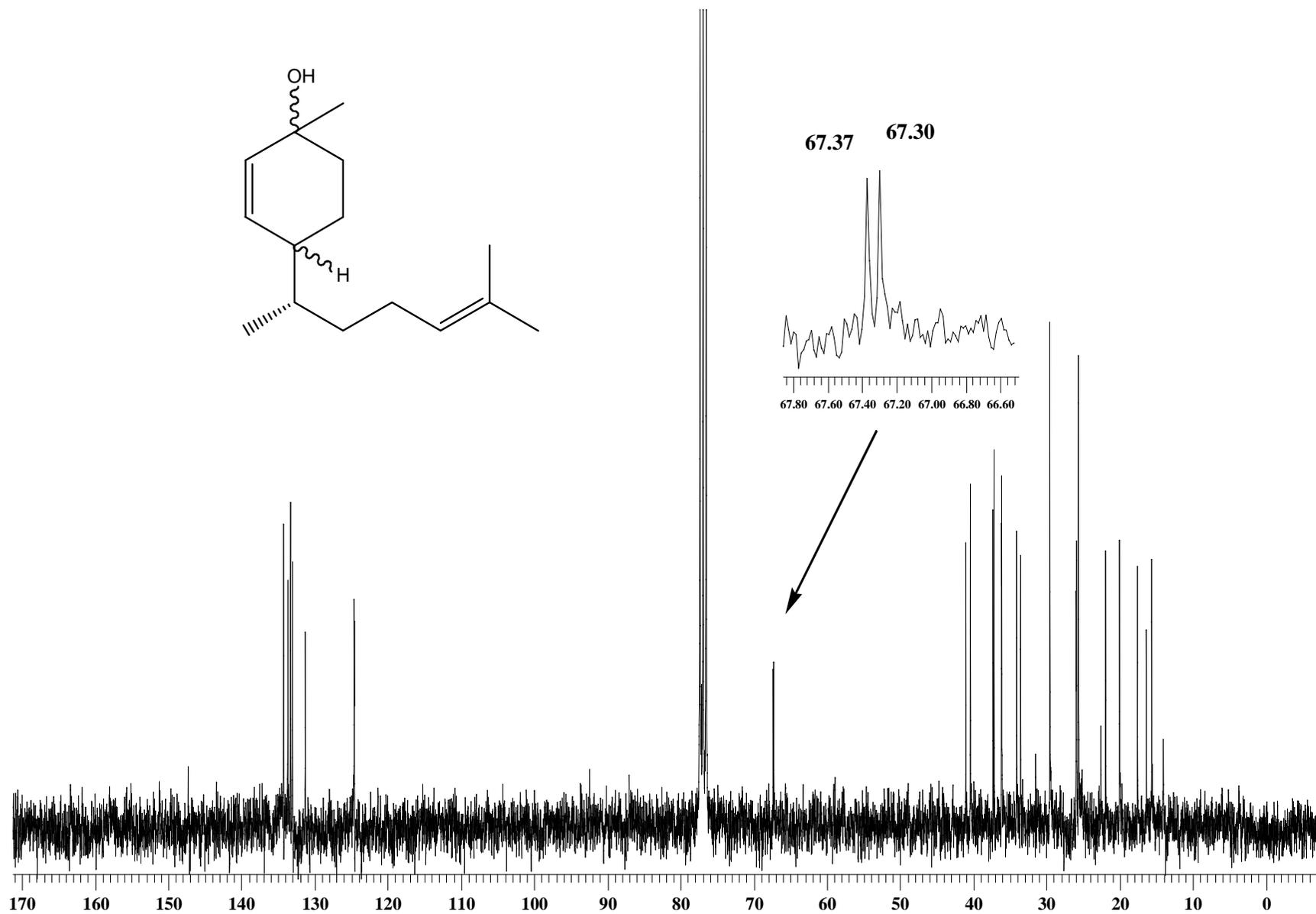
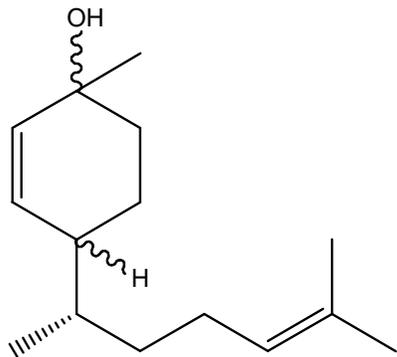
Zero Filling= 1 x



Transmittance / Wavenumber (cm-1)

Espectro de infravermelho do **(19b)** - zingiberenol mais polares [(S)- citronelal]





Espectro de RMN ^{13}C de **(19a)** - zingiberenol menos polares [(S)- citronela]

File #18 : S2MN

Mode= 2 (Mid-IR)

13/04/2011 15:50

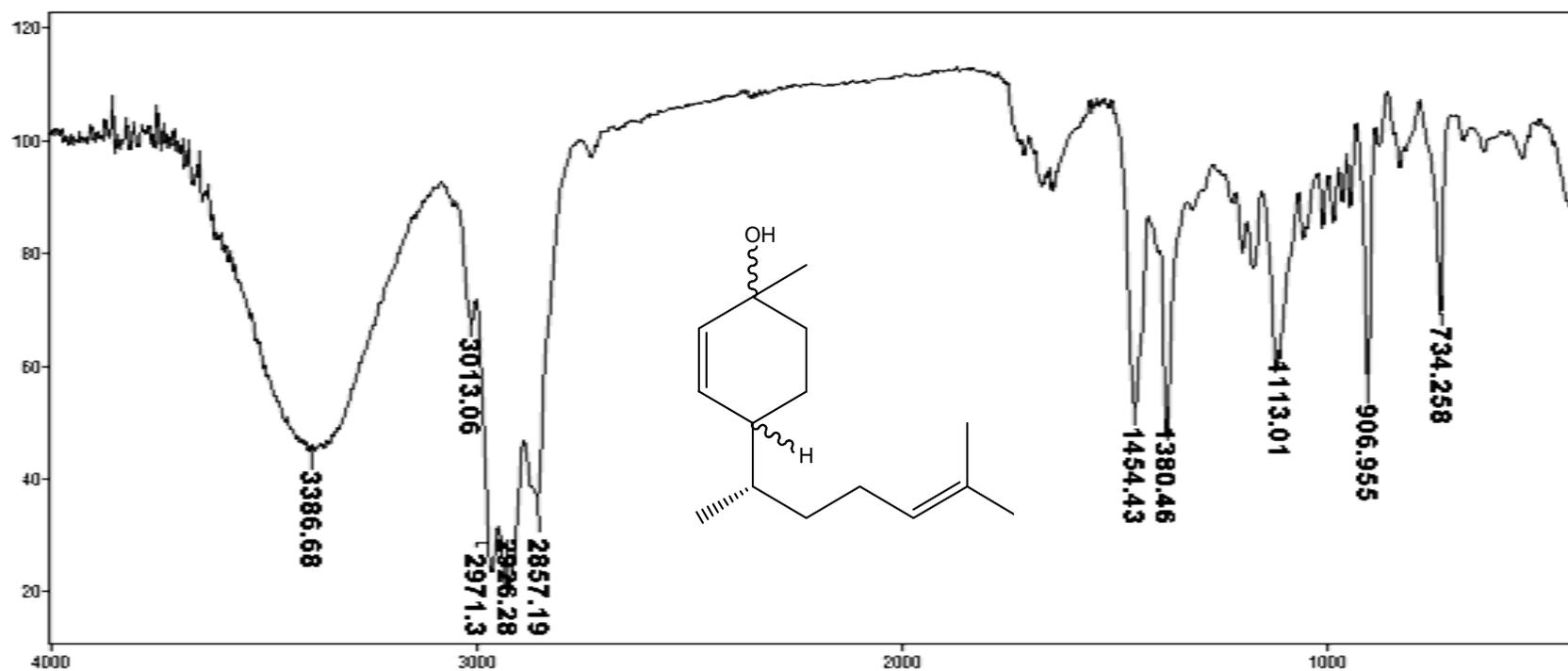
Sample Description: NaCl - szmn

Scans= 40 Slow

Res=4 cm-1

Apod= Cosine

Zero Filling= 1x



Transmittance / Wavenumber (cm⁻¹)

Espectro de Infravermelho de **(19a)** - zingiberenol menos polares [(S)- citronelal]