

**DOUGLAS HENRIQUE FOCKINK**

**IDENTIFICAÇÃO E SÍNTESE DO FEROMÔNIO SEXUAL DOS BESOUROS  
NECRÓFAGOS DE INTERESSE FORENSE *Oxelytrum discicolle* E *Oxelytrum  
erythrurum* (COLEOPTERA: SILPHIDAE)**

**Curitiba**

**2013**



DOUGLAS HENRIQUE FOCKINK

**IDENTIFICAÇÃO E SÍNTESE DO FEROMÔNIO SEXUAL DOS BESOUROS  
NECRÓFAGOS DE INTERESSE FORENSE *Oxelytrum discicolle* E *Oxelytrum  
erythrurum* (COLEOPTERA: SILPHIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química, Área de Concentração Química Orgânica.

Orientador: Paulo Henrique Gorgatti Zarbin

Curitiba

2013

*Dedico esse trabalho aos meus pais Florentina e Astério, e as minhas irmãs Sandra e Simone que fazem parte dessa conquista, obrigado pelo apoio, compreensão e incentivo. Em especial, a minha sobrinha Isabel pela constante alegria proporcionada na minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por ter me dado força nos momentos mais difíceis e por estar sempre presente na minha vida.

Ao Dr. Paulo H. G. Zarbin pela oportunidade do desenvolvimento deste trabalho e aos conhecimentos adquiridos ao longo do processo de orientação.

À Dra. Ana Luísa L. Lordello pelas valiosas contribuições na avaliação da disciplina de Seminários, no exame de qualificação e desta dissertação.

Ao Dr. Massuo J. Kato pela pronta disponibilidade em avaliar este trabalho.

Ao Dr. Kleber M. Mise pelo auxílio na criação dos insetos e reflexões proporcionadas sobre a entomologia forense.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade concedida e à Capes pelo suporte financeiro durante o mestrado.

À Daiane Szczerbowski, Diogo Vidal, Emir Saad e Rafael Soldi pela agradável convivência diária no laboratório de síntese e pelo auxílio na elaboração dos espectros de RMN.

À Carla Fávaro, Camila Martins e Priscila Strapasson por proporcionarem momentos descontraídos no laboratório, tornando assim o trabalho mais prazeroso.

Aos demais integrantes do Laboratório de Semioquímicos pelas discussões e estímulo para o desenvolvimento do trabalho: Ana Cris Pellegrino, Angela Cortés, Delia Pinto, Gabriela Torrens, Liah Aira e Miryan Coracini.

Ao Robson Rosseto por todo incentivo, compreensão e conselhos no desenvolver deste trabalho.

Aos queridos amigos Cleonice Hilbig, Edson Tartaia, Jaqueline Pazinato e Priscila Sabino pelos momentos alegres e apoio.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	ii
ÍNDICE DE ESQUEMAS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Ecologia Química de insetos .....	3
2.2 Comunicação Química .....	3
2.3 Entomologia Forense .....	4
2.4 Besouros Necrófagos.....	6
2.4.1 <i>Oxelytrum discicolle</i> .....	7
2.4.2 <i>Oxelytrum erythrurum</i> .....	7
3. OBJETIVOS.....	9
3.1 Objetivos gerais.....	9
3.2 Objetivos específicos.....	9
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
4.1 Criação dos insetos em laboratório .....	10
4.2 Extração dos voláteis dos insetos.....	10
4.3 Análises químicas .....	11
4.4 Microderivatizações.....	12
4.4.1 Hidrogenação catalítica.....	12
4.4.2 Redução parcial com hidrazina (NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ) .....	12
4.4.3 Metilação de ligações duplas carbono-carbono.....	12
4.5 Bioensaios com olfatômetro de dupla-escolha .....	13
4.6 Análises Estatísticas .....	14
4.7 Sínteses .....	14
4.7.1 Síntese do (Z)-1,8-heptadecadieno (9) .....	14
4.7.1.1 Síntese do 7-bromoheptan-1-ol (2).....	14
4.7.1.2 Síntese do 2-(7-bromoheptiloxi)-tetraidro-2H-pirano (3) .....	15
4.7.1.3 Síntese do 2-(heptadec-8-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (5).....	15
4.7.1.4 Síntese do 8-heptadecan-1-ol (6) .....	16
4.7.1.5 Síntese do (Z)-8-heptadecan-1-ol (7) .....	17

4.7.1.6 Síntese do 1-bromo-(8 <i>Z</i> )-heptadeceno (8) .....	17
4.7.1.7 Síntese do ( <i>Z</i> )-1,8-heptadecadieno (9).....	18
4.7.2 Síntese do ( <i>Z</i> )-1,10-nonadecadieno (18) .....	19
4.7.2.1 Síntese do 9-bromononan-1-ol (11).....	19
4.7.2.2 Síntese do 2-(9-bromononiloxi)-tetraidro-2 <i>H</i> -pirano (12) .....	19
4.7.2.3 Síntese do 2-(nonadec-10-iniloxi)-tetraidro-2 <i>H</i> -pirano (14).....	20
4.7.2.4 Síntese do 10-nonadecin-1-ol (15) .....	20
4.7.2.5 Síntese do ( <i>Z</i> )-10-nonadecen-1-ol (16).....	21
4.7.2.6 Síntese do 1-bromo-(10 <i>Z</i> )-nonadeceno (17) .....	21
4.7.2.7 Síntese do ( <i>Z</i> )-1,10-nonadecadieno (18).....	22
4.7.3 Síntese do ( <i>Z</i> )-1,9-nonadecadieno (27) .....	22
4.7.3.1 Síntese do 8-bromooctan-1-ol (20) .....	22
4.7.3.2 Síntese do 2-(8-bromooctiloxi)-tetraidro-2 <i>H</i> -pirano (21).....	23
4.7.3.3 Síntese do 2-(nonadec-9-iniloxi)-tetraidro-2 <i>H</i> -pirano (23).....	23
4.7.3.4 Síntese do 9-nonadecin-1-ol (24) .....	24
4.7.3.5 Síntese do ( <i>Z</i> )-9-nonadecen-1-ol (25) .....	24
4.7.3.6 Síntese do 1-bromo-(9 <i>Z</i> )-nonadeceno (26) .....	25
4.7.3.7 Síntese do ( <i>Z</i> )-1,9-nonadecadieno (27).....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
5.1 <i>Oxelytrum discicolle</i> .....	26
5.1.1 Identificação estrutural.....	26
5.1.2 Síntese do composto macho-específico majoritário .....	35
5.2 <i>Oxelytrum erythrurum</i> .....	41
5.2.1 Identificação estrutural.....	41
5.2.2 Síntese do composto macho-específico majoritário .....	46
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ESPECTROS SELECIONADOS PARA A SÍNTESE DO ( <i>Z</i> )-1,8-HEPTADECADIENO ....	58
Espectro de massas do composto <b>2</b> .....	59
Espectro na região do infravermelho do composto <b>2</b> .....	59
Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto <b>2</b> .....	60
Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do composto <b>2</b> .....	60
Espectro de massas do composto <b>3</b> .....	61
Espectro na região do infravermelho do composto <b>3</b> .....	61
Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto <b>3</b> .....	62
Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do composto <b>3</b> .....	62
Espectro de massas do composto <b>5</b> .....	63

Espectro na região do infravermelho do composto <b>5</b> .....	63
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>5</b> .....	64
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>5</b> .....	64
Espectro de massas do composto <b>6</b> .....	65
Espectro na região do infravermelho do composto <b>6</b> .....	65
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6</b> .....	66
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6</b> .....	66
Espectro de massas do composto <b>7</b> .....	67
Espectro na região do infravermelho do composto <b>7</b> .....	67
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>7</b> .....	68
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>7</b> .....	68
Espectro de massas do composto <b>8</b> .....	69
Espectro na região do infravermelho do composto <b>8</b> .....	69
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>8</b> .....	70
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>8</b> .....	70
Espectro de massas do composto <b>9</b> .....	71
Espectro na região do infravermelho do composto <b>9</b> .....	71
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>9</b> .....	72
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>9</b> .....	72
<b>ESPECTROS SELECIONADOS PARA A SÍNTESE DO (Z)-1,10-NONADECADIENO</b> ....	<b>73</b>
Espectro de massas do composto <b>11</b> .....	74
Espectro na região do infravermelho do composto <b>11</b> .....	74
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>11</b> .....	75
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>11</b> .....	75
Espectro de massas do composto <b>12</b> .....	76
Espectro na região do infravermelho do composto <b>12</b> .....	76
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>12</b> .....	77
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>12</b> .....	77
Espectro de massas do composto <b>14</b> .....	78
Espectro na região do infravermelho do composto <b>14</b> .....	78
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>14</b> .....	79
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>14</b> .....	79
Espectro de massas do composto <b>15</b> .....	80
Espectro na região do infravermelho do composto <b>15</b> .....	80
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>15</b> .....	81
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>15</b> .....	81
Espectro de massas do composto <b>16</b> .....	82

Espectro na região do infravermelho do composto <b>16</b> .....	82
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>16</b> .....	83
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>16</b> .....	83
Espectro de massas do composto <b>17</b> .....	84
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>17</b> .....	84
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>17</b> .....	85
Espectro de massas do composto <b>18</b> .....	86
Espectro na região do infravermelho do composto <b>18</b> .....	86
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>18</b> .....	87
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>18</b> .....	87
<b>ESPECTROS SELECIONADOS PARA A SÍNTESE DO (Z)-1,9-NONADECADIENO.....</b>	<b>88</b>
Espectro de massas do composto <b>20</b> .....	89
Espectro na região do infravermelho do composto <b>20</b> .....	89
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>20</b> .....	90
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>20</b> .....	90
Espectro de massas do composto <b>21</b> .....	91
Espectro na região do infravermelho do composto <b>21</b> .....	91
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>21</b> .....	92
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>21</b> .....	92
Espectro de massas do composto <b>23</b> .....	93
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>23</b> .....	93
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>23</b> .....	94
Espectro de massas do composto <b>24</b> .....	95
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>24</b> .....	95
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>24</b> .....	96
Espectro de massas do composto <b>25</b> .....	97
Espectro na região do infravermelho do composto <b>25</b> .....	97
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>25</b> .....	98
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>25</b> .....	98
Espectro de massas do composto <b>26</b> .....	99
Espectro na região do infravermelho do composto <b>26</b> .....	99
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>26</b> .....	100
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>26</b> .....	100
Espectro de massas do composto <b>27</b> .....	101
Espectro na região do infravermelho do composto <b>27</b> .....	101
Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>27</b> .....	102
Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto <b>27</b> .....	102



## ÍNDICE DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Reação de redução parcial, mostrando o estado de transição cíclico.....	32
<b>Esquema 2.</b> Principais fragmentos formados por ionização eletrônica.....	33
<b>Esquema 3.</b> Principais adutos formados por ionização eletrônica do componente feromonal majoritário de <i>O. discicolle</i> .....	34
<b>Esquema 4.</b> Rota sintética para obtenção do (Z)-1,8-heptadecadieno.....	35
<b>Esquema 5.</b> Rota sintética para obtenção do (Z)-1,10-nonadecadieno.....	46
<b>Esquema 6.</b> Rota sintética para obtenção do (Z)-1,9-nonadecadieno.....	47
<b>Esquema 7.</b> Proposta de rota biossintética para obtenção do (Z)-1,10-nonadecadieno e (Z)-1,8-heptadecadieno.....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Adultos de <i>Oxelytrum discicolle</i> (A), <i>O. erythrurum</i> (B) e <i>O. cayennense</i> (C)....	2
<b>Figura 2.</b> Classificação dos semioquímicos.....	4
<b>Figura 3.</b> Coleta de insetos encontrados em um cadáver.....	5
<b>Figura 4.</b> Besouros necrófagos pertencentes às famílias Cleridae (A), Dermestidae (B), Hesteridae (C), Silphidae (D), Scarabaeidae (E) e Staphylinidae (F).....	6
<b>Figura 5.</b> Câmaras de aeração (A) e coluna contendo polímero de adsorção (B). ....	10
<b>Figura 6.</b> Sistema de aeração para obtenção dos voláteis da carcaça de um rato ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	11
<b>Figura 7.</b> Olfatômetro em Y utilizado nos bioensaios.....	13
<b>Figura 8.</b> Comparação dos cromatogramas obtidos dos extratos de machos e fêmeas de <i>O. discicolle</i> , evidenciando os compostos macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B).....	26
<b>Figura 9.</b> Respostas de machos (M) e fêmeas (F) de <i>O. discicolle</i> aos voláteis presentes nos extratos dos machos e aos voláteis da carcaça de um rato (fase inchada). ....	27
<b>Figura 10.</b> Emissão dos componentes feromonais majoritário (A) e minoritário (B) por machos de <i>O. discicolle</i> . ....	28
<b>Figura 11.</b> Emissão dos compostos feromonais majoritário (A) e minoritário (B) por machos de <i>O. discicolle</i> na fotofase e escotofase (n=6) .....	29
<b>Figura 12.</b> Espectro na região do infravermelho dos compostos feromonais macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) de <i>O. discicolle</i> .....	30
<b>Figura 13.</b> Espectro de massas dos compostos feromonais macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) de <i>O. discicolle</i> .....	30
<b>Figura 14.</b> Espectros na região do infravermelho (A) e massas (B) referente ao produto hidrogenado dos compostos macho-específicos de <i>O. discicolle</i> .....	31
<b>Figura 15.</b> Espectros de massas dos produtos da reação de metioloação, evidenciando a posição das ligações duplas dos compostos monoinsaturados. A: Adutos formados para a ligação terminal, B: Adutos formados para a ligação dupla na posição 8 ou 9. ....	34
<b>Figura 16.</b> Espectro de massas do produto da reação de metioloação com o composto diinsaturado. ....	35
<b>Figura 17.</b> Estrutura proposta para o componente majoritário liberado por <i>O. discicolle</i> . ....	35
<b>Figura 18.</b> Espectro na região do infravermelho do composto <b>7</b> . ....	37
<b>Figura 19.</b> Cromatograma resultante da coinjeção em coluna EC-1 do composto produzido pelos machos <i>O. discicolle</i> e do ( <i>Z</i> )-1,8-heptadecadieno. ....	38
<b>Figura 20.</b> Espectros de massas do ( <i>Z</i> )-1,8-heptadecadieno (A) e do composto macho específico de <i>O. discicolle</i> (B).....	39

<b>Figura 21.</b> Espectros na região do infravermelho do (Z)-1,8-heptadecadieno (A) e do composto macho específico de <i>O. discicolle</i> (B).....	39
<b>Figura 22.</b> Respostas de fêmeas de <i>O. discicolle</i> aos compostos feromonais sintéticos e aos voláteis da carcaça de um rato (fase inchada). .....	40
<b>Figura 23.</b> Comparação dos cromatogramas de machos e fêmeas de <i>O. erythrurum</i> , evidenciando os compostos macho-específicos majoritário e minoritário.....	41
<b>Figura 24.</b> Emissão dos componentes macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) por machos de <i>O. erythrurum</i> . .....	42
<b>Figura 25.</b> Emissão dos compostos sexo-específicos majoritário (A) e minoritário (B) por machos de <i>O. erythrurum</i> na fotofase e escotofase (n=6).....	42
<b>Figura 26.</b> Espectro na região do infravermelho dos compostos macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) de <i>O. erythrurum</i> . .....	43
<b>Figura 27.</b> Espectro de massas do composto macho-específico majoritário (A) e minoritário (B) de <i>O. erythrurum</i> . .....	43
<b>Figura 28.</b> Espectros na região do infravermelho (A) e massas (B) referente ao produto hidrogenado dos compostos macho-específicos de <i>O. erythrurum</i> . .....	44
<b>Figura 29.</b> Espectro de massas dos produtos da reação de metilação, evidenciando a posição da ligações duplas nos carbonos 8 ou 9. ....	45
<b>Figura 30.</b> Estruturas propostas para o composto macho-específico majoritário liberado por <i>O. erythrurum</i> . .....	45
<b>Figura 31.</b> Cromatograma do composto majoritário produzido pelos machos <i>O. erythrurum</i> e dos produtos sintéticos (Z)-1,9-nonadecadieno (27) e (Z)-1,10-nonadecadieno (18).....	47
<b>Figura 32.</b> Espectros de massas do (Z)-1,9-nonadecadieno (A), (Z)-1,10-nonadecadieno (B) e do composto macho específico de <i>O. erythrurum</i> (C).....	48

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Proporção relativa dos produtos obtidos da redução parcial com hidrazina dos compostos feromonais de <i>O. discicolle</i> .....	33
<b>Tabela 2.</b> Proporção relativa dos produtos obtidos da redução parcial com hidrazina dos compostos feromonais de <i>O. erythrurum</i> .....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa ou cromatógrafo gasoso
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-IVTF	Cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia na região do infravermelho
DCM	Diclorometano
DHP	3,4-diidro-2 <i>H</i> -pirano
DMDS	Dissulfeto de dimetila
DMSO	Dimetilsulfóxido
FID	Detector de ionização de chama (do inglês, <i>flame ionization detector</i> )
IPM	Intervalo Pós-morte
HMPA	hexametilfósforoamida (do inglês, <i>hexamethylphosphoramide</i> )
KI	Índice de Kovats (do inglês, <i>Kovats index</i> )
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
<i>n-BuLi</i>	<i>n</i> -butillítio
<i>p-TSA</i>	Ácido <i>p</i> -toluenosulfônico (do inglês, <i>p-toluenesulfonic acid</i> )
RMN	Ressonância magnética nuclear
<i>t-BuOK</i>	<i>t</i> -butóxido de potássio
THF	Tetraidrofurano
THP	Tetraidropirano
δ	Deslocamento químico
<i>v</i>	Número de onda

## RESUMO

Besouros de carniça fazem parte da grande diversidade de insetos coletados em cadáveres. No Brasil, os besouros do gênero *Oxelytrum* tem grande importância forense na estimativa do intervalo pós-morte (IPM). Análises em cromatografia gasosa dos extratos de aeração obtidos de machos e fêmeas de *Oxelytrum discicolle* revelaram a presença de dois compostos macho-específicos. Bioensaios mostraram que os voláteis de machos são atrativos para fêmeas juntamente com o odor da fonte alimentar (extrato de uma carcaça). A estrutura química dos compostos foi elucidada através de análise dos espectros de massas e de infravermelho, assim como por análise dos produtos de microderivatizações de hidrogenação catalítica, redução parcial e metilação. Por meio destas informações, foram propostas como componente majoritário o (Z)-1,8-heptadecadieno e como minoritário o 1-heptadeceno. O componente minoritário foi identificado por coinjeção com padrão comercial, enquanto que uma rota sintética foi desenvolvida para obter o componente majoritário e o produto sintético coeluiu em três diferentes colunas cromatográficas. Bioensaios em olfatômetro em Y mostraram que a mistura dos padrões sintéticos nas mesmas proporções que a encontrada no extrato natural juntamente com a fonte alimentar foram atrativos para as fêmeas. Para a espécie *O. erythrurum* as análises dos extratos de machos e fêmeas também mostraram a presença de dois compostos macho-específicos, que foram identificados como (Z)-1,10-nonadecadieno (majoritário) e 1-nonadeceno (minoritário). Os resultados contribuem tanto para a compreensão da ecologia química destas espécies como para seu potencial em tornar as estimativas do IPM mais precisas.

## ABSTRACT

Carrion beetles are part of the great diversity of insects found on cadavers. In Brazil, the beetles of the genus *Oxelytrum* have great forensic importance in the post mortem interval estimation (PMI). Gas chromatographic analysis of aeration extracts from female and male *Oxelytrum discicolle* revealed the presence of two male-specific compounds. Bioassay showed that the extracts of males are attractive to females along with the odor of the food source (carcass extracts). The chemical structure of the compounds was elucidated by mass and infrared spectra analyses, as well as by analysis of microderivatization products of catalytic hydrogenation, partial reduction and methylthiolation. Through this information it was proposed as the major component (*Z*)-1,8-heptadecadiene and as minor 1-heptadecene. The minor component was identified by co-injection with commercial standard, while a seven steps synthetic route was developed to obtain the major component, which co-eluted with the natural product on three different GC stationary phases. Y-tube olfactometer assays showed that the mixture of synthetic standards in the same proportion found in natural extracts were lightly attractive to females. For male and female *O. erythrurum*, the chromatographic profile of volatiles also showed the presence of two male-specific compounds, which were identified as (*Z*)-1,10-nonadecadiene (major) and 1-nonadecene (minor). The results contribute both to the understanding of the chemical ecology of *O. discicolle* and indicated the called attention to the accuracy of PMI estimation.

## 1. INTRODUÇÃO

Quando um organismo de uma comunidade morre, seus restos se tornam uma fonte de alimento e abrigo para uma grande variedade de espécies.<sup>1</sup> Os principais representantes são os artrópodes, e dentre eles, os insetos são a fauna primária associada com a carcaça,<sup>2-6</sup> servindo de base para estudos de entomologia forense.

A entomologia forense é a área da ciência que estuda a fauna associada a cadáveres no contexto médico-legal, sendo estes organismos utilizados na caracterização de crimes.<sup>7-10</sup> As pesquisas nesta área têm crescido gradativamente em função das aplicações práticas na atividade de um perito criminal, contribuindo para a resolução de casos.<sup>7</sup>

Após 72 horas do óbito, análises morfológicas e de temperatura corpórea podem não ser suficientes para identificar quando a morte ocorreu.<sup>11</sup> Nestes casos, o estudo de sucessão e ciclo de vida dos insetos presentes no cadáver permite estimar quando ocorreu a morte ou quanto tempo o cadáver ficou exposto ao ambiente.<sup>12</sup>

A atividade dos insetos necrófagos acelera a putrefação e a desintegração do corpo, ocasionando alterações físico-químicas da matéria orgânica.<sup>13</sup> Em consequência destas alterações, pode ocorrer uma sucessão de espécies de insetos, pois cada etapa do processo de decomposição oferece condições ideais para o desenvolvimento de determinada espécie.<sup>14-15</sup>

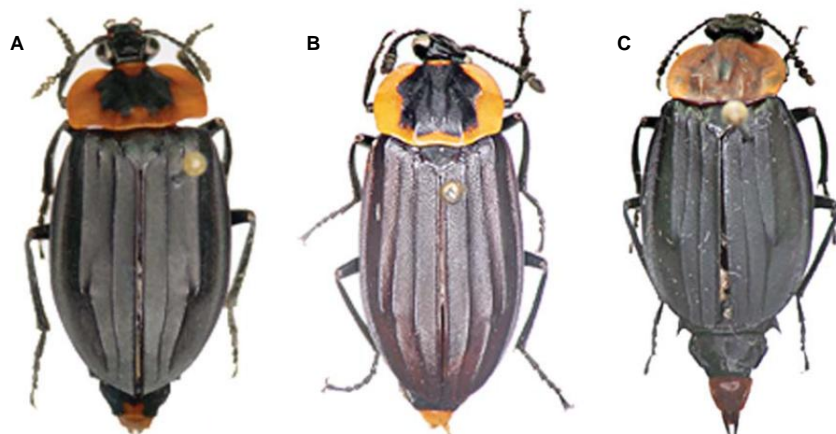
No processo de sucessão, o desenvolvimento da fauna é afetado por muitos fatores como temperatura, umidade, sazonalidade, vento, chuva, acessibilidade e região geográfica.<sup>14, 16</sup> Assim, quando os dados sazonais locais estão disponíveis, a sequência de insetos que colonizaram o cadáver de uma vítima que morreu de causas desconhecidas pode ser utilizada para determinar o tempo decorrido desde a morte, conhecido como intervalo pós-morte (IPM).<sup>15</sup>

Entre as espécies necrófagas, as moscas (Diptera) e os besouros (Coleoptera) são considerados os mais importantes decompositores, uma vez que seus estágios imaturos utilizam essencialmente a carcaça como fonte de alimento para o seu desenvolvimento.<sup>15</sup> Ambos os grupos são diversos, embora os besouros possuam mais espécies conhecidas (cerca de 300 mil espécies no mundo), sendo considerada a segunda maior ordem de insetos de interesse forense.<sup>17</sup>

Os besouros necrófagos pertencentes à família Silphidae são conhecidos como besouros de carniça (do inglês, *carrion beetles*), devido a sua associação com o processo de decomposição de carcaças de vertebrados. Tanto os adultos quanto as larvas da maioria das espécies se alimentam da carcaça<sup>18</sup> e por isso têm sido reconhecidos como potencialmente úteis na investigação forense, podendo ser indicadores do intervalo pós-morte quando constituem parte do vestígio entomológico.<sup>14, 19</sup>



No Brasil, há registros das espécies *Oxelytrum discicolle*, *O. erythrurum* e *O. cayennense* (Figura 1), cujas larvas e adultos foram relatadas alimentando-se e ovipositando em carcaças expostas.<sup>20</sup>



**Figura 1.** Adultos de *Oxelytrum discicolle* (A), *O. erythrurum* (B) e *O. cayennense* (C). (Fotos: Kleber Mise)

Nas espécies desta família, um ou ambos os sexos devem localizar e preparar o cadáver para o desenvolvimento de suas larvas, porém os machos e fêmeas podem acasalar antes ou após a carcaça ter sido localizada. A competição pela carcaça é muitas vezes violenta, tanto intra quanto interespecificamente, sendo que na maioria dos casos o besouro de maior tamanho consegue o domínio ou a defesa da carcaça, especialmente para os machos.<sup>21</sup>

Além de procurar a carcaça, os besouros machos sexualmente maduros podem gastar uma quantidade considerável de tempo para tentar atrair parceiras, adotando uma postura característica e emitindo um sinal na ausência ou mesmo depois de terem localizado a carcaça. As fêmeas são atraídas para a cópula pelo sinal químico liberado pelos machos. No entanto, a cópula pode acontecer independente do macho estar ou não no domínio da carcaça.<sup>22</sup>

Portanto, a parte integrante do comportamento animal é a comunicação, definida como um processo que envolve a transmissão de sinais entre organismos. Em algumas situações confere vantagens apenas para o organismo emissor e seu grupo; em outras, apenas para os organismos receptores ou para ambos.<sup>23-24</sup>

Os sinais químicos e defesas produzidos pela ordem Coleoptera tem sido objeto de numerosos estudos que se concentram sobre a ocorrência, biossíntese e significância biológica destes compostos.<sup>25</sup> No entanto, algumas famílias de coleópteros têm recebido pouca investigação, dentre estas, a família de importância forense Silphidae.<sup>26</sup> Assim, o estudo de semioquímicos, em especial feromônios, pode fornecer informações sobre a

comunicação química das espécies de Silphidae encontradas no Brasil, e em consequência, ajudar no aprimoramento da datação do intervalo pós-morte. Desta forma, este é o primeiro estudo de ecologia química para as espécies *O. discicolle* e *O. erythrurum*.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Ecologia Química de Insetos**

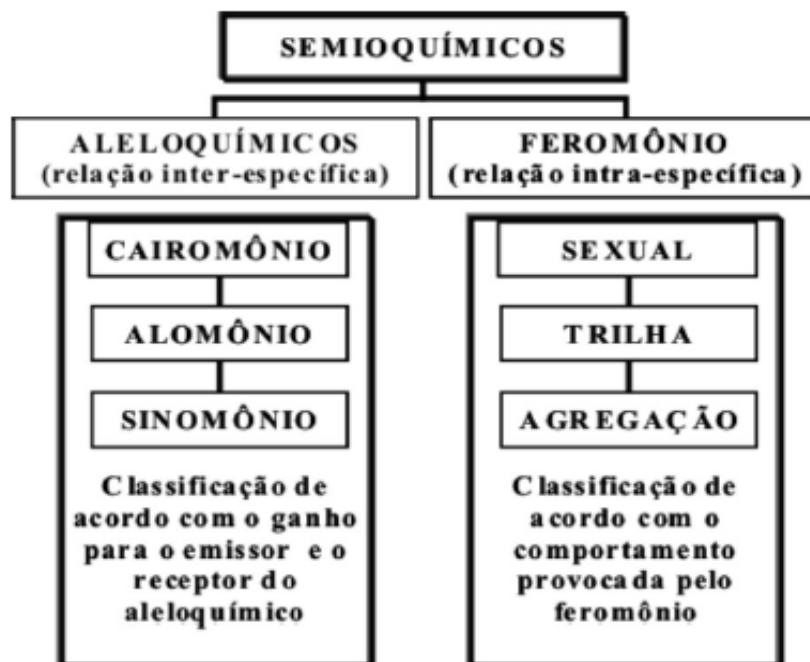
Os animais se comunicam através da visão, audição ou pelo sistema olfativo, sendo este último mediado por sinais químicos. O estudo destas substâncias químicas utilizadas para as interações entre organismos é conhecido de ecologia química.<sup>24</sup>

Dentre os vários grupos de animais, os insetos são os que mais dependem do olfato para desempenhar suas atividades comportamentais,<sup>27</sup> e os sinais químicos se destacam como grandes responsáveis pela comunicação entre os insetos e o ambiente.<sup>28</sup> Zarbin et al.<sup>29</sup> relatam que estes sinais agem como gatilhos fisiológicos de reações comportamentais específicas no indivíduo receptor da mensagem química. É através da detecção e emissão destes compostos que os insetos encontram parceiros para o acasalamento, alimento ou presa, escolhem local de oviposição, se defendem contra predadores e organizam suas comunidades, no caso dos insetos sociais.

A percepção dos sinais químicos dos insetos é captada pelas antenas, cujos pelos olfativos capturam as moléculas decodificando a informação carregada no odor.<sup>30</sup> Desta forma, para que o reconhecimento dos compostos químicos presentes no ambiente seja traduzido na linguagem do sistema nervoso e produza um impulso elétrico que será transmitido aos centros cerebrais, o inseto deve ter a capacidade de perceber estes compostos, converter a informação codificada na estrutura e determinar a concentração das moléculas de odor para produzir uma resposta comportamental na intensidade adequada.<sup>31-32</sup>

### **2.2 Comunicação Química**

As substâncias químicas utilizadas na comunicação entre insetos, que provocam uma mudança fisiológica ou comportamental em outro organismo são denominadas de semioquímicos, os quais podem ser aleloquímicos ou feromônios, dependendo da ação que provocam. Os aleloquímicos são substâncias de ação interespecífica, sendo classificados de cairomônio os compostos que beneficiam o receptor do sinal, de alomônio os que beneficiam o emissor e de sinomônio quando os dois são beneficiados. Os feromônios são substâncias químicas de ação intraespecífica e podem atuar como atraentes sexuais, marcadores de trilhas ou propiciar comportamentos de agregação, alarme e dispersão (Figura 2).<sup>33</sup>



**Figura 2.** Classificação dos semioquímicos.<sup>29</sup>

O termo feromônio foi introduzido por Karlson e Lüscher<sup>34</sup> e deriva das palavras gregas “pherein” que significa transferir e “hormon” que significa excitar. É o semioquímico mais estudado, sendo definido como substâncias químicas utilizadas pelos insetos para comunicação entre indivíduos de uma mesma espécie, produzindo uma resposta comportamental ou fisiológica favorável ao receptor, ao emissor ou ambos os organismos na interação.<sup>23</sup>

### 2.3 Entomologia Forense

Entomologia forense é o ramo da ciência forense que estuda os insetos em procedimentos legais, sendo estes insetos usados na detecção de crimes por um longo tempo.<sup>7-8</sup> Os chineses, por exemplo, usaram a presença de moscas e outros insetos como parte de uma investigação de cena do crime,<sup>8</sup> havendo desde então grandes progressos na área durante as últimas décadas.<sup>35-39</sup>

Os estudos da fauna associada a cadáveres são uma importante aplicação da entomologia para a medicina legal, em que dados armazenados podem ser utilizados como indicadores forenses.<sup>19</sup>

A estimativa do intervalo pós-morte (IPM) em medicina legal é usualmente realizada através da análise dos fenômenos cadavéricos, os quais diferem em função de diversos fatores de influência, como, por exemplo, a temperatura e umidade. Portanto, o diagnóstico da morte é cercado de dúvidas, sendo vários os métodos capazes de estimar o IPM: evaporação tegumentar (perda de água através superfície epitelial); rigidez cadavérica (endurecimento das fibras musculares); resfriamento do corpo (temperatura

oral e retal do corpo); livores cadavéricos (manchas vermelho-violáceas sob a pele); autólise e putrefação (rompimento das membranas celulares e desintegração dos tecidos); gases da putrefação; cristais no sangue putrefeito (lâminas cristalóides no sangue putrefeito); crioscopia do sangue (ponto crioscópico do sangue após a morte); crescimento dos pelos da barba; conteúdo estomacal e fundo de olho (fragmentação de coluna sanguínea).<sup>13</sup>

Normalmente, nos métodos tradicionais descritos acima, o IPM e a sua estimativa são inversamente proporcionais, isto é, quanto maior for o IPM, menor é a possibilidade de acurada determinação. Porém, com auxílio de conhecimentos entomológicos, quanto maior o intervalo mais segura é a estimativa. O método entomológico pode ser muito útil, sobretudo, com um tempo de morte superior a três dias se dá pela coleta dos insetos encontrados em um cadáver (Figura 3). As duas maneiras de datação do IPM via o método entomológico são: tempo de desenvolvimento dos imaturos (estimativa da idade de um inseto associado a um corpo em decomposição) e padrão de sucessão dos insetos (composição da comunidade de artrópodes conforme progride o processo de decomposição).<sup>40</sup>



**Figura 3.** Coleta de insetos encontrados em um cadáver.<sup>39</sup>

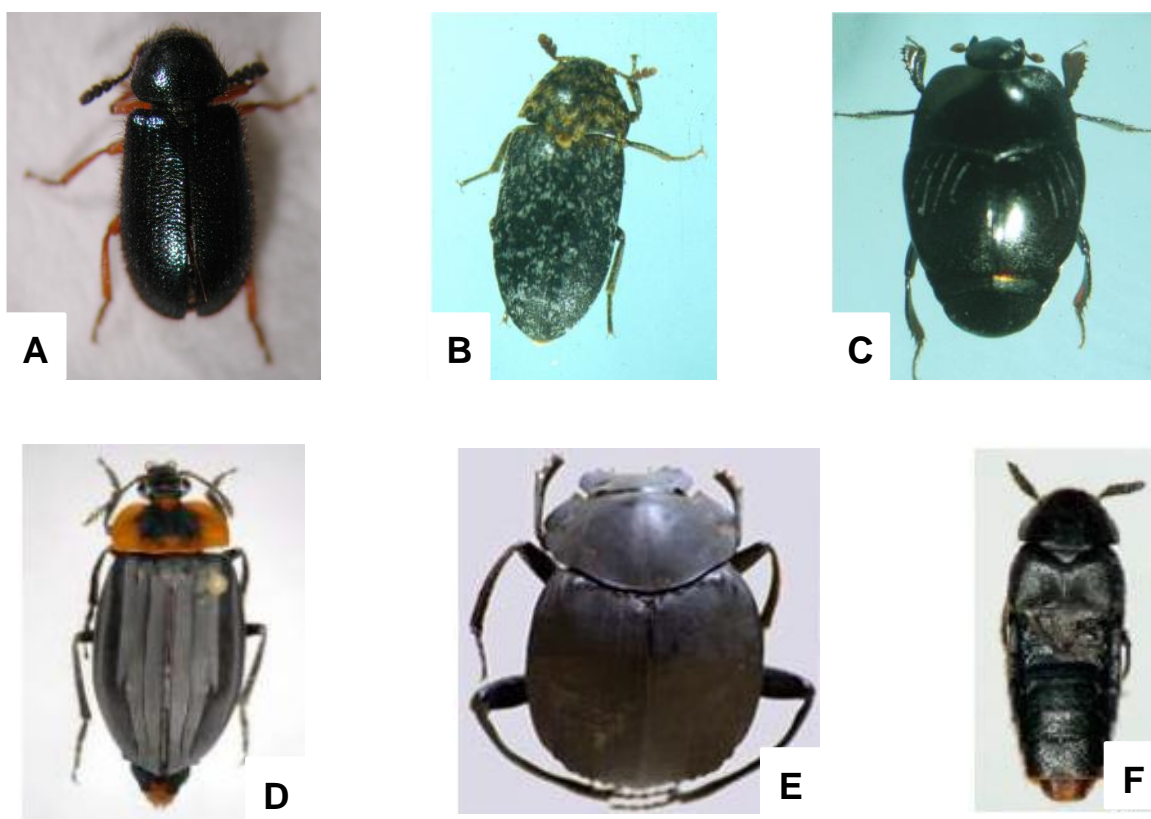
Uma grande variedade de insetos é atraída por cadáveres e, portanto, fornecem a maioria das informações nas investigações forenses entomológicas. Os principais grupos são os besouros e moscas, ambos diversos, embora os besouros possuam mais espécies conhecidas.<sup>17</sup> Conforme Gennard,<sup>41</sup> em algumas das famílias somente as fases juvenis se alimentam de carcaça enquanto que, em outras, tanto os estágios juvenil e

adulto vão se alimentar da carcaça (chamados de necrófagos). No entanto, outras famílias de insetos têm hábito predador, ou seja, se alimentam dos insetos necrófagos que estão presentes na carcaça.

Os insetos necrófagos alimentam-se da matéria orgânica em decomposição como fonte proteica, visando estimular a oviposição ou para desenvolvimento de suas fases imaturas. Sua atividade acelera a putrefação e a desintegração do corpo. A alimentação e a reprodução desses insetos estão associadas à decomposição,<sup>39</sup> a qual pode variar segundo a ação de fatores como temperatura, umidade, precipitação ou insolação, além de fatores bióticos, representados pela fauna e flora.<sup>42</sup>

## 2.4 Besouros Necrófagos

Coleoptera é a segunda maior ordem de interesse forense, com vários representantes necrófagos (Figura 4), porém seus hábitos alimentares podem variar entre os estágios larval e a vida adulta. Devido à competição com moscas (Díptera), que são mais ágeis, atingindo a carcaça rapidamente, os besouros necrófagos ocorrem, em geral, durante estágios mais avançados da decomposição.<sup>43</sup> Estes besouros podem ser usados para estimar o intervalo pós-morte,<sup>20</sup> ou seja, a estimativa da idade de um inseto associado a um corpo em decomposição.



**Figura 4.** Besouros necrófagos pertencentes às famílias Cleridae (A), Dermestidae (B), Hesteridae (C), Silphidae (D), Scarabaeidae (E) e Staphylinidae (F).<sup>20, 44-45</sup>

Em um estudo conduzido por Mise et al.,<sup>46</sup> enfocando a fauna de Coleoptera em carcaça de suíno, foram encontradas 4360 besouros pertencentes a 112 espécies de 26 famílias, sendo 12 famílias consideradas de potencial forense, nos quais se encontram os Silphidae. De acordo com Smith<sup>19</sup> a família Silphidae está entre as famílias de interesse forense.

Os besouros desta família são comumente chamados de besouros de carniça (do inglês, *carrion beetles*) devido a sua associação com o processo de decomposição de carcaças de vertebrados. Tanto os adultos e as larvas se alimentam da carcaça;<sup>18</sup> e em conjunto com as moscas e outros besouros são de grande importância nos estudos da entomologia forense.<sup>40, 47</sup>

Observações recentes feitas por Midgley e Villet<sup>48</sup> mostraram que a espécie *Thanatophilus micans* (Silphidae) pode localizar cadáveres e começar a se reproduzir dentro de 24 horas após a morte e, portanto, a utilidade potencial de estimativas baseadas nesta espécie é igual à daquela baseada em moscas. Besouros fazem parte taxonomicamente e ecologicamente da diversa comunidade de insetos necrofágos,<sup>19, 49-54</sup> proporcionando assim um amplo espectro potencial de fontes em evidência.<sup>43</sup>

No Brasil, a família Silphidae é representada principalmente pelas espécies *O. cayennense*, *O. discicolle* e *O. erythrurum*, sendo as duas últimas as mais comumente encontradas na região Sul.<sup>20</sup>

#### **2.4.1 *Oxelytrum discicolle***

*Oxelytrum discicolle* é um representante importante da fauna de insetos associados a cadáveres.<sup>41</sup> A espécie está distribuída no sul do Brasil e do Paraguai, em parte do centro e norte da América do Sul e também da América Central ao México.<sup>55</sup>

Este besouro de carcaça é a espécie mais coletada da família Silphidae na América Latina,<sup>18</sup> e constitui um indicador forense na região Neotropical. Muitos adultos são atraídos por iscas de carcaça, geralmente à noite. No Brasil, Moura et al.<sup>56</sup> encontraram adultos e larvas de *O. discicolle* em carcaça de ratos no estado do Paraná, enquanto que Carvalho et al.<sup>57</sup> encontraram larvas de *O. discicolle* em carcaça de porco no estado de São Paulo.

A espécie é abundante em carcaças grandes, ocorrendo durante quase todo o processo de decomposição, sendo sua presença condicionada à vegetação circundante e à temperatura.<sup>47</sup>

#### **2.4.2 *Oxelytrum erythrurum***

Esta espécie é muito comum no norte da Argentina, Bolívia, sul do Brasil, Paraguai, sudeste do Peru e Uruguai. No Brasil, sua distribuição engloba Mato Grosso,

Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. Ocorre geralmente em ambientes abertos e de floresta.<sup>18</sup>

Estudos realizados por Centeno et al.<sup>58</sup> que identificaram adultos de *O. erythrurum* em uma carcaça de porco, relatam o aparecimento da espécie no início da decomposição, dois dias após a exposição da carcaça. Também há relatos de adultos e larvas coletados em cadáveres humanos.<sup>59-60</sup>

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos gerais**

Estudar a comunicação química das espécies *O. discicolle* e *O. erythrurum* visando a extração e a identificação estrutural dos componentes do feromônio sexual.

#### **3.2 Objetivos específicos**

1. Desenvolver a criação massal de *O. discicolle* e *O. erythrurum* para extração dos voláteis e bioensaios em laboratório;

2. Identificar, sintetizar e caracterizar os componentes sexo-específicos encontrados nos extratos;

3. Realizar bioensaios para avaliar a eficiência de atratividade do feromônio sintético em laboratório;



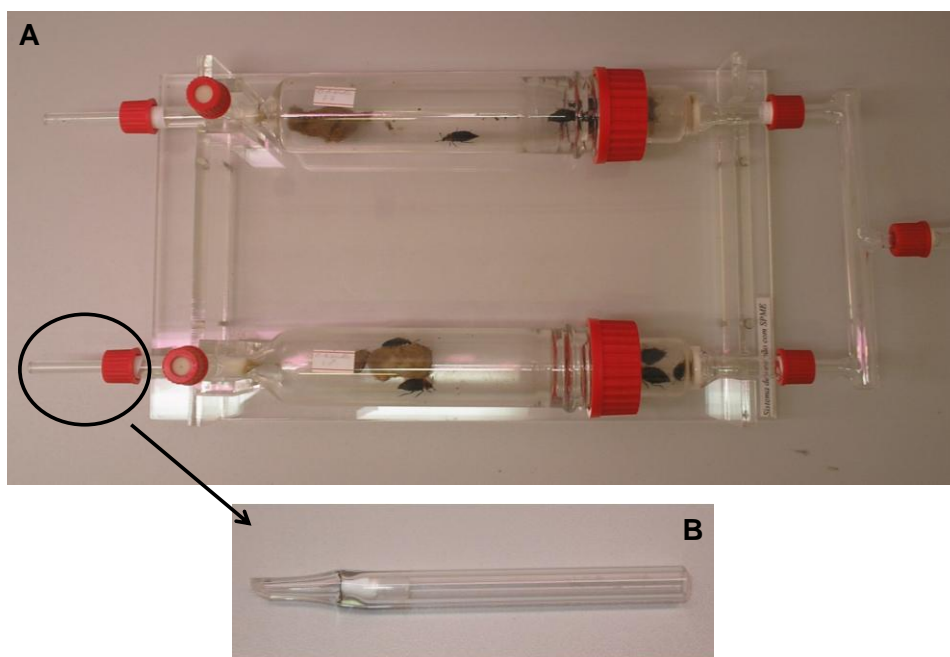
## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Criação dos insetos em laboratório

A criação dos insetos foi realizada em ambiente controlado (estufa B.O.D), com temperatura de  $25 \pm 1$  °C e umidade relativa de  $65 \pm 15$  %. Adultos e larvas de *O. discicolle* e *O. erythrurum* foram coletados na reserva “mata viva” dentro da área experimental da UFPR. Os insetos foram alimentados com carne moída e utilizou-se o fotoperíodo de 12:12 (fotofase/escotofase).

### 4.2 Extração dos voláteis dos insetos

Foram utilizados sete exemplares de cada sexo em câmaras de aeração distintas,<sup>61</sup> as quais possuíam algodão umedecido diariamente e fluxo de ar de  $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ . Os voláteis foram capturados em colunas contendo polímero de adsorção (HayeSep-D) (Figura 5). A cada dois dias os insetos foram alimentados com carne moída sem a coluna de adsorção, que foi colocada 24 horas depois, quando a carne tivesse sido consumida. Esse procedimento foi realizado de modo a minimizar a captura dos compostos provenientes da carne.

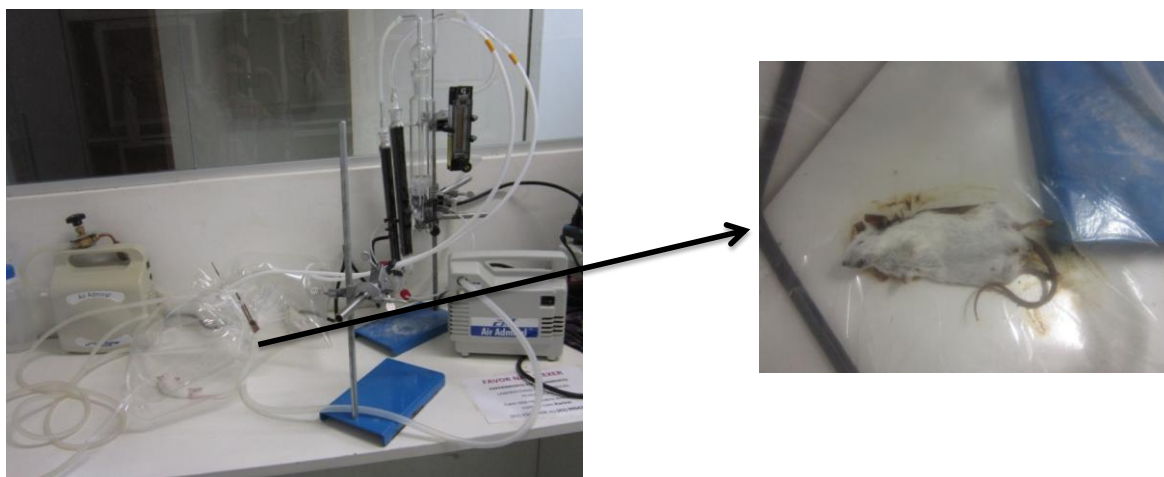


**Figura 5.** Câmaras de aeração (A) e coluna contendo polímero de adsorção (B). (Fotos: Douglas Fockink)

No teste de dinâmica de emissão dos voláteis, foram utilizados insetos após a emergência, e as extrações foram realizadas a cada 5 dias com  $400 \mu\text{L}$  de hexano bidestilado. Os extratos foram concentrados com leve fluxo de ar para  $160 \mu\text{L}$  e então armazenados em freezer a  $-20$  °C.

O mesmo procedimento foi realizado no teste de emissão dos voláteis de acordo com o fotoperíodo, na fase do dia com luz (fotofase) e sem luz (escotofase), sendo as extrações realizadas no final de cada fase, ou seja, a cada 12 horas.

Os voláteis da carcaça de um rato de laboratório (*Rattus norvegicus*) na fase inchada foram cedidos pela aluna de doutorado Karine Vairo (PPG-Entomologia) e foram obtidos conforme mostra a Figura 6.



**Figura 6.** Sistema de aeração para obtenção dos voláteis da carcaça de um rato (*Rattus norvegicus*). (Fotos: Karine Vairo)

### 4.3 Análises químicas

Os extratos dos machos e fêmeas provenientes das extrações foram analisados por cromatografia a gás (CG) Shimadzu GC-2010, empregando-se uma coluna cromatográfica RTX-5 (30 m x 0,25 mm d. i. x 0,25 µm espessura do filme; J&W Scientific, Folsom, California, EUA). O modo de injeção foi o splitless, na quantidade de 1 µL por amostra, sendo a temperatura do injetor 250 °C. A temperatura do forno iniciou-se em 50 °C durante um minuto, elevada até 250 °C em 7 °C por minuto e então mantida por 10 minutos nesta temperatura. O gás de arraste foi o hélio com fluxo de 1 mL por minuto, sendo utilizado o detector de ionização por chama (FID) na temperatura de 270 °C. Para as coinjeções dos extratos com o padrão sintético e determinação do índice de Kovats (KI),<sup>62</sup> também foram utilizadas as colunas capilares RTX-WAX (Restek, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e EC-1 (Alltech, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm).

Os espectros de massas foram obtidos através de análises dos extratos em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) Shimadzu QP 2010 Plus, operando no modo de ionização eletrônica a 70 eV. Foram empregadas a mesma coluna capilar e as mesmas condições de análise às utilizadas nas análises de CG, e a linha de transferência operou a 270 °C.

Os espectros na região do infravermelho, foram obtidos em um equipamento DiscovIR-GC Spectra (Spectra Analysis, Marlborough, *Massachusetts*, USA; 4000-750  $\text{cm}^{-1}$ ), acoplado a um cromatógrafo gasoso (CG-IVTF) Shimadzu GC-2010. A coluna capilar e as condições de análise foram iguais às utilizadas na análise de GC. Os compostos foram depositados em um disco de seleneto de zinco, resfriado a  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  e os espectros obtidos com resolução de  $8\text{ cm}^{-1}$ .

#### **4.4 Microderivatizações**

##### **4.4.1 Hidrogenação catalítica** <sup>63</sup>

Em um vial contendo 20  $\mu\text{L}$  do extrato diluído em 50  $\mu\text{L}$  de hexano, adicionou-se aproximadamente 0,5 mg da mistura catalítica Paládio/Carbono 5 %. Produziu-se vácuo no sistema e então borbulhou-se gás hidrogênio de 5 em 5 minutos, com agitações nos intervalos. Após 30 minutos finalizou-se o processo e adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de hexano. Filtrou-se em uma pipeta de Pasteur contendo algodão, concentrou-se ao volume inicial (20  $\mu\text{L}$ ) com leve fluxo de ar e analisou-se por CG-EM.

##### **4.4.2 Redução parcial com hidrazina ( $\text{NH}_2\text{NH}_2$ )** <sup>63</sup>

Evaporou-se até quase *secura* 10  $\mu\text{L}$  do extrato e então diluiu-se em 20  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto. Adicionou-se 10  $\mu\text{L}$  de hidrato de hidrazina ( $\text{NH}_2\text{NH}_2$ ) 10 % v/v em etanol e 10  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 0,6 % v/v em etanol. Aqueceu-se até  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5, 20 e 40 minutos. Após o período de aquecimento, resfriou-se a mistura reacional e adicionou-se 20  $\mu\text{L}$  de ácido clorídrico (HCl) 10 %. Extraíu-se com três porções de 40  $\mu\text{L}$  de hexano e concentrou-se para o volume inicial (10  $\mu\text{L}$ ) para análise em CG-EM.

##### **4.4.3 Metioloção de ligações duplas carbono-carbono** <sup>63-64</sup>

Em uma ampola selada misturou-se 10  $\mu\text{L}$  do produto obtido na redução parcial com 10  $\mu\text{L}$  de dissulfeto de dimetila (DMDS) e 10  $\mu\text{L}$  de iodo em dissulfeto de carbono 5 % m/v ( $\text{I}_2$  em  $\text{CS}_2$ ). Aqueceu-se até  $60^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Adicionou-se então 2 gotas de solução de tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 10 % m/v e extraíu-se com três porções de 20  $\mu\text{L}$  de hexano. Secou-se com sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anidro, concentrou-se para o volume inicial (10  $\mu\text{L}$ ) e analisou-se por CG-EM.

Para a microrreação com o extrato natural, aqueceu-se a mistura reacional a  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Os procedimentos de extração foram idênticos aos realizados para a reação com o produto monoinsaturado.

#### 4.5 Bioensaios com olfatômetro de dupla-escolha

A resposta comportamental de machos e fêmeas virgens para os extratos contendo os compostos sexo-específicos, os voláteis da carcaça de um rato (fase inchada) e para os compostos sintéticos foi verificada em um olfatômetro em Y. Utilizou-se um fluxo de ar contínuo de 2,5 L/min, previamente umidificado e filtrado com carvão ativado. O olfatômetro em forma de Y possui 4 cm de diâmetro, com o tubo principal com 40 cm de comprimento e dois braços menores de 20 cm de comprimento cada, conforme mostra a figura 7.



**Figura 7.** Olfatômetro em Y utilizado nos bioensaios. (Foto: Douglas Fockink)

Na extremidade de cada braço do olfatômetro foi colocada uma fonte de odor em um pedaço de papel filtro (2 x 2 cm) impregnado com a solução tratamento *versus* o controle. Um inseto foi introduzido na base do tubo principal do olfatômetro e seu comportamento foi observado durante 5 minutos. Considerou-se como resposta quando o inseto caminhava contra o fluxo de ar em direção à fonte de odor, avançava por mais de 5 cm em algum dos braços e permanecia por mais de 2 minutos no braço escolhido. Foi considerado como não resposta quando o inseto não saía do tubo principal. A cada 5 insetos, o olfatômetro foi invertido para evitar qualquer interferência externa e a fonte de odor foi renovada a cada repetição.

Foram conduzidos os seguintes experimentos:

- T1= extrato natural x hexano (controle);
- T2= extrato da carcaça x hexano (controle);
- T3= extrato natural + extrato da carcaça x hexano (controle);
- T4= extrato natural x extrato da carcaça (controle);
- T5= extrato natural + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle).

- T6= (Z)-1,8-heptadecadieno + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle).
- T7= 1-heptadeceno + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle).
- T8= (Z)-1,8-heptadecadieno + 1-heptadeceno + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle).

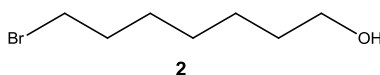
#### 4.6 Análises Estatísticas

As respostas dos machos e fêmeas nos bioensaios foram analisadas pelo teste Qui-Quadrado. Os testes foram realizados com o programa BioEstat versão 5.0.

#### 4.7 Sínteses

##### 4.7.1 Síntese do (Z)-1,8-heptadecadieno (9)

###### 4.7.1.1 Síntese do 7-bromoheptan-1-ol (2) <sup>65</sup>



Em um balão de fundo redondo sob agitação magnética, adicionou-se 4,00 g (30,30 mmol) de 1,7-heptanodiol (1) em cerca de 40,0 mL de tolueno. Com agitação constante, adicionou-se 2,0 mL de ácido bromídrico (HBr) 48 %. Acoplou-se um sistema de refluxo juntamente com um sistema de coleta *Dean-Stark* e elevou-se a temperatura até cerca de 130°C. A reação foi acompanhada por análise em cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando hexano/acetato de etila 7:3. Após 6 horas de reação ainda era verificada a presença do diol no meio reacional, então adicionou-se mais 2,0 mL de HBr 48 % para o completo consumo do diol. Após o término da reação dissolveu-se em 40,0 mL de acetato de etila e lavou-se com solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) e cloreto de sódio (NaCl). Secou-se com sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) anidro e concentrou-se o solvente em evaporador rotatório. O produto bruto foi purificado por cromatografia líquida em coluna de sílica gel (hexano/acetato de etila 7:3), resultando no 7-bromoheptan-1-ol (2) em 84 % de rendimento (4,98 g, 25,54 mmol).

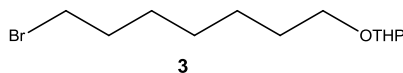
**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 1,28-1,66 (m, 8H); 1,79-1,95 (m, 2H); 3,41 (t, J=6,8 Hz, 2H); 3,65 (t, J=6,4 Hz, 2H) (Página 60).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 62,9; 33,9; 32,7; 32,6; 28,5; 28,1; 25,6 (Página 60).

**EM: m/z (%):** 176 (1); 150 (32); 148 (33); 97 (33); 81 (11); 70 (9); 69 (83); 68 (15); 67 (19); 56 (17); 55 (100); 43 (18); 42 (14); 41 (48) (Página 59).

**IV (ν Max, cm<sup>-1</sup>):** 983; 1031; 1061; 1227; 1355; 1468; 2860; 2936; 2974; 3349; 3415 (Página 59).

#### 4.7.1.2 Síntese do 2-(7-bromoetiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**3**)<sup>66</sup>



Adicionou-se em um balão de fundo redondo sob agitação magnética, alguns cristais de ácido *p*-toluenossulfônico monohidratado (*p*-TSA) em 3,0 mL de diclorometano (DCM) até completa dissolução. Em seguida, adicionou-se 4,33 g (20,20 mmol) de 7-bromoheptan-1-ol (**2**) e 1,7 mL (18,63 mmol) de 3,4-diidro-2H-pirano (DHP). Agitou-se a temperatura ambiente por 22 horas e então adicionou-se água destilada e extraiu-se com DCM. Lavou-se a fase orgânica com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e secou-se com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Evaporou-se o solvente em pressão reduzida e o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel utilizando hexano/acetato de etila 9:1. Obteve-se o composto **3** em 90 % de rendimento (5,27 g, 18,89 mmol).

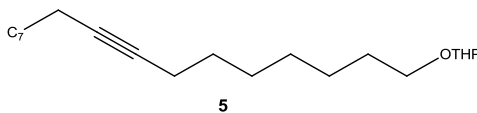
**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 1,38-1,93 (m, 16H); 3,32-3,56 (m, 4H); 3,68-3,93 (m, 2H); 4,56-4,59 (m, 1H) (Página 62).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 19,7; 25,5; 26,0; 28,1; 28,6; 29,6; 30,8; 32,7; 33,9; 62,3; 67,5; 98,9 (Página 62).

**EM: m/z (%):** 279 (2); 277 (2); 150 (2); 148 (2); 137 (1); 135 (1); 97 (18); 85 (100); 84 (9); 69 (9); 67 (9); 57 (12); 56 (23); 55 (37); 43 (11); 41 (20) (Página 61).

**IV (ν Max, cm<sup>-1</sup>):** 724; 814; 872; 984; 1028; 1075; 1139; 1204; 1352; 1466; 2859; 2938 (Página 61).

#### 4.7.1.3 Síntese do 2-(heptadec-8-inoiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**5**)<sup>67</sup>



Em um balão de fundo redondo sob agitação magnética preparou-se uma solução contendo 1,3 mL (7,39 mmol) de decino e 5,0 mL de tetrahidrofurano (THF) a temperatura ambiente. Resfriou-se a solução a -78 °C e adicionou-se lentamente 2,0 mL de *n*-BuLi (3,26 molL<sup>-1</sup>). Agitou-se por 30 minutos a temperatura de 0 °C e então adicionou-se 1,00 g (3,58 mmol) de 2-(7-bromoetiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**3**) juntamente com 0,7 mL de hexametilfosforamida (HMPA) anidra. Agitou-se por mais 8 horas a 0 °C. Diluiu-se em hexano e lavou-se a fase orgânica com água destilada e solução saturada de NaCl. Secou-se com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporou-se o solvente sob

vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano/acetato de etila 9:1) com 91 % de rendimento (1,09 g, 0,32 mmol).

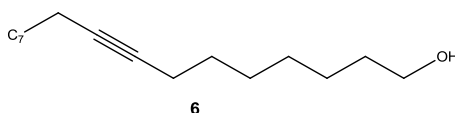
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,84-0,91 (m, 3H); 1,24-1,90 (m, 28H); 2,10-2,22 (m, 4H); 3,32-3,55 (m, 2H); 3,68-3,93 (m, 2H); 4,56-4,60 (m, 1H) (Página 64).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 18,4; 18,2; 19,8; 22,7; 25,6; 26,2; 28,6; 28,9; 29,0; 29,1; 29,2; 29,2; 29,3; 29,8; 30,9; 31,9; 62,4; 67,7; 80,2; 80,4; 98,9 (Página 64).

**EM:  $m/z$  (%):** 336 (1), 101 (13), 95 (15); 85 (100); 84 (11); 83 (10); 82 (10); 81 (22); 79 (13); 69 (10); 67 (28); 57 (11); 56 (8); 55 (26); 43 (12); 41 (17) (Página 63).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 870; 1034; 1085; 1206; 1352; 1464; 2856; 2931 (Página 63).

#### 4.7.1.4 Síntese do 8-heptadecin-1-ol (**6**)<sup>68</sup>



O 2-(heptadec-8-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (**5**) (0,98 g, 2,93 mmol) foi misturado com cerca de 10,0 mL de metanol em um balão de fundo redondo sob agitação magnética. Adicionou-se alguns cristais de *p*-TSA e a mistura foi agitada durante 10 horas em temperatura ambiente. Evaporou-se o solvente e diluiu-se em éter etílico. Lavou-se a fase orgânica com água destilada e solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . Secou-se com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrou-se em evaporador rotatório. Purificou-se em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **6** em 93 % de rendimento (0,69 g, 2,74 mmol).

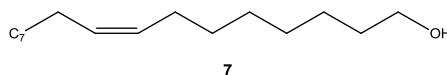
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,84-0,92 (m, 3H); 1,25-1,60 (m, 22H); 2,09-2,18 (m, 4H); 3,63 (t,  $J=6,5$  Hz, 2H) (Página 66).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 18,4; 18,8; 22,7; 25,7; 28,6; 28,8; 28,9; 29,0; 29,1; 29,2; 29,3; 31,9; 32,8; 63,0; 80,1; 80,4 (Página 66).

**EM:  $m/z$  (%):** 252 (1); 152 (13); 124 (15); 121 (30); 111 (11); 110 (20); 109 (21); 108 (12); 107 (23); 98 (19); 97 (19); 96 (38); 95 (59); 94 (22); 93 (40); 91 (15); 83 (22); 82 (68); 81 (97); 80 (35); 79 (66); 77 (14); 69 (32); 68 (51); 67 (100); 66 (10); 57 (19); 56 (10); 55 (74); 53 (14); 43 (31); 41 (56) (Página 65).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 725; 974; 1063; 1298; 1470; 2852; 2932; 3315 (Página 65).

#### 4.7.1.5 Síntese do (Z)-8-heptadecen-1-ol (**7**)<sup>69</sup>



Adicionou-se a um reator de hidrogenação 0,30 g (1,19 mmol) de 8-heptadecin-1-ol (**6**), 5,0 mL de metanol, cerca de 15 mg de Pd/CaCO<sub>3</sub> e 20 mg de quinolina. O meio reacional foi submetido a atmosfera de hidrogênio (10 atm) sob temperatura ambiente em um reator Parr® (modelo 3910). Após 2 horas de agitação filtrou-se a mistura com auxílio de um papel filtro e evaporou-se o metanol. Diluiu-se em hexano e a fase orgânica foi lavada com água destilada e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo e purificou-se em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano/acetato de etila 8:2), obtendo-se o composto **7** com 77 % de rendimento (0,23 g, 0,90 mmol).

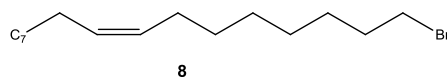
**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 0,88 (m, 3H); 1,24-1,38 (m, 20H); 1,50-1,62 (m, 2H); 1,97-2,06 (m, 4H); 3,63 (t, J=6,5 Hz, 2H); 5,27-5,42 (m, 2H) (Página 68).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 14,1; 22,7; 25,8; 27,2; 27,3; 29,3; 29,4; 29,4; 29,6; 29,6; 29,7; 29,8; 32,0; 32,8; 63,1; 129,8; 130,0 (Página 68).

**EM: m/z (%):** 236 (7); 124 (17); 123 (15); 110 (25); 109 (26); 97 (26); 96 (69); 95 (54); 83 (43); 823 (100); 81 (79); 79 (11); 71 (12); 70 (16); 69 (50); 68 (48); 67 (78); 57 (30); 56 (21); 55 (91); 54 (35); 43 (35); 41 (54) (Página 67).

**IV (ν Max, cm<sup>-1</sup>):** 729; 1068; 1378; 1468; 1656; 2856; 2924; 3004; 3321; 3414 (Página 67).

#### 4.7.1.6 Síntese do 1-bromo-(8Z)-heptadeceno (**8**)<sup>70</sup>



Na mistura de 0,15 g (0,59 mmol) do (Z)-8-heptadecen-1-ol (**7**) e tetrabrometo de carbono (0,24 g, 0,72 mmol) em DCM a 0 °C, adicionou-se solução de trifenilfosfina (0,23 g, 0,87 mmol em 3,0 mL de DCM). Agitou-se a mistura reacional a temperatura ambiente durante 1 hora, evaporou-se até quase seca e purificou-se por cromatografia líquida em coluna de sílica gel, utilizando hexano/acetato de etila 8:2. Obteu-se 0,15 g (0,47 mmol) do composto **8** (83 % de rendimento).



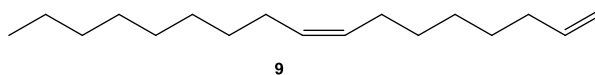
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,83-0,92 (m, 3H), 1,22-1,52 (m, 20H); 1,86 (m, 2H); 1,97-2,06 (m, 4H), 3,41 (t,  $J=6,8$  Hz, 2H); 5,26-5,44 (m, 2H) (Página 70).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 22,8; 27,2; 27,3; 28,2; 28,7; 29,1; 29,4; 29,4; 29,6; 29,7; 29,9; 32,0; 32,9; 34,1; 129,8; 130,2 (Página 70).

**EM:  $m/z$  (%):** 319 (1); 318 (4); 317 (1); 316 (4); 150 (12); 148 (12); 125 (13); 111 (29); 109 (10) 98 (18); 97 (64); 75 (15); 85 (10); 84 (20); 83 (77); 82 (23); 81 (26); 71 (20); 70 (37); 69 (82); 68 (15); 67 (33); 57 (50); 56 (40); 55 (100); 54 (27); 43 (41); 42 (11); 41 (62) (Página 69).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 721; 1223; 1265; 1467; 2852; 2922; 3006 (Página 69).

#### 4.7.1.7 Síntese do (Z)-1,8-heptadecadieno (**9**)<sup>71</sup>



O 1-bromo-(8Z)-heptadeceno (**8**) (0,10 g, 0,31 mmol) em 0,8 mL de benzeno foi misturado com 0,8 mL de solução de terc-butóxido de potássio ( $t\text{-BuOK}$ )  $1 \text{ molL}^{-1}$  em dimetilsulfóxido (DMSO). Após 30 minutos de reação, a mistura foi acidificada com HCl  $1 \text{ molL}^{-1}$ , a camada superior separada e a fase aquosa extraída com hexano. O combinado foi seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, concentrado sob pressão reduzida e purificado por coluna cromatográfica de sílica gel utilizando como fase móvel hexano, resultando no composto **9** com 76 % de rendimento (0,05 g, 0,22 mmol).

**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,80-0,95 (m, 3H); 1,18-1,46 (m, 18H); 1,90-2,13 (m, 6H); 4,87-5,06 (m, 2H); 5,26-5,44 (m, 2H); 5,71-5,92 (m, 1H) (Página 72).

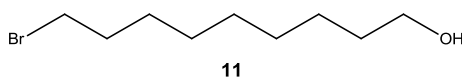
**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 22,8; 27,2; 27,3; 28,9; 28,9; 29,4; 29,4; 29,6; 29,7; 29,9; 32,0; 33,9; 114,2; 129,8; 130,1; 139,2 (Página 72).

**EM:  $m/z$  (%):** 236 (9); 138 (10); 124 (14); 123 (12); 110 (30); 109 (28); 97 (22); 96 (69); 95 (52); 83 (34); 82 (80); 81 (89); 79 (12); 70 (10); 69 (48); 68 (59); 67 (89); 57 (24); 56 (16); 55 (100); 54 (52); 53 (11); 43 (38); (8); 41 (76) (Página 71).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 729; 912; 992; 1458; 1641; 2853; 2923; 3001; 3079 (Página 71).

## 4.7.2 Síntese do (Z)-1,10-nonadecadieno (18)

### 4.7.2.1 Síntese do 9-bromononan-1-ol (11)



Foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.1, empregando-se o 1,9-nonanodiol (**10**) (3,00 g, 18,75 mmol) e 1,5 mL de HBr 48 %. O 9-bromononan-1-ol (**11**) foi obtido em 83 % de rendimento (3,48 g, 15,60 mmol).

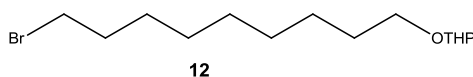
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  1,24-1,47 (m, 10H); 1,49-1,64 (m, 2H); 1,78-1,93 (m, 2H); 3,41 (t,  $J=6,8$  Hz, 2H); 3,63 (t,  $J=6,5$  Hz, 2H) (Página 75).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  25,7; 28,1; 28,7; 29,3; 29,4; 32,7; 32,8; 34,1; 62,9 (Página 75).

**EM:  $m/z$  (%):** 204 (1); 150 (11); 148 (12); 137 (19); 135 (19); 97 (47); 83 (36); 82 (14); 81 (14); 70 (12); 69 (75); 68 (17); 67 (18); 57 (13); 56 (16); 55 (100); 54 (11); 43 (23); 42 (16); 41 (63) (Página 74).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 732; 976; 1016; 1060; 1217; 1361; 1468; 2859; 2933; 2972; 3356; 3421 (Página 74).

### 4.7.2.2 Síntese do 2-(9-bromononiloxi)-tetraidro-2H-pirano (12)



O intermediário (**12**) foi obtido conforme descrito no item 4.7.1.2, utilizando-se 3,00 g (13,45 mmol) do 9-bromononan-1-ol (**11**) e 1,5 mL de DHP. O 2-(9-bromononiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**12**) foi obtido com 89 % de rendimento (3,67 g, 11,97 mmol).

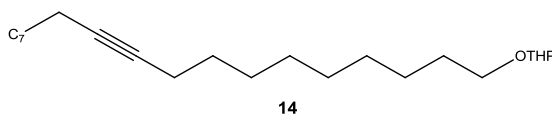
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  1,27-1,92 (m, 20H); 3,32-3,55 (m, 4H); 3,67-3,93 (m, 2H); 4,53-4,61 (m, 1H) (Página 77).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  19,7; 25,5; 26,2; 28,1; 28,7; 29,3; 29,4; 29,7; 30,8; 32,8; 34,0; 62,3; 67,6; 98,8 (Página 77).

**EM:  $m/z$  (%):** 307 (2); 305 (2); 85 (100); 84 (11); 83 (10); 69 (17); 57 (14); 56 (21); 55 (18); 43 (11); 41 (17) (Página 76).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 719; 1211; 1463; 1475; 2853; 2924 (Página 76).

#### 4.7.2.3 Síntese do 2-(nonadec-10-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (**14**)



Foi empregado o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.3 para a obtenção do composto **14**. Foram utilizados 2,8 mL (15,44 mmol) de 1-decino (**13**), 7,5 mL de *n*-BuLi (2,56 molL<sup>-1</sup>), 2,30 g (7,49 mmol) de 2-(9-bromononiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**12**) e 1,35 mL de HMPA. Foram obtidos 2,45 g (6,73 mmol) do 2-(nonadec-10-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (**14**) (90 % de rendimento).

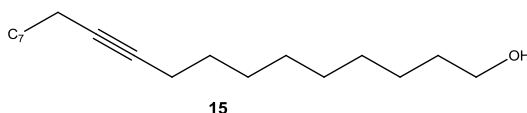
**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 0,83-0,92 (m, 3H); 1,21-1,88 (m, 32H); 2,09-2,24 (m, 4H); 3,31-3,57 (m, 2H); 3,65-3,94 (m, 2H); 4,55-4,61 (m, 1H) (Página 79).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 14,2; 18,5; 18,8; 19,7; 22,7; 25,6; 26,3; 28,6; 28,8; 28,9; 29,2; 29,2; 29,3; 29,5; 29,5; 29,6; 29,8; 30,8; 31,9; 62,4; 67,7; 80,3; 80,3; 98,9 (Página 79).

**EM: m/z (%):** 364 (1); 101 (27); 95 (17); 85 (100); 81 (19); 69 (12); 67 (26); 57 (11); 55 (22); 43 (11); 41 (16) (Página 78).

**IV (ν Max, cm<sup>-1</sup>):** 726; 817; 1033; 1083; 1144; 1207; 1353; 1474; 2851; 2928 (Página 78).

#### 4.7.2.4 Síntese do 10-nonadecin-1-ol (**15**)



O 10-nonadecin-1-ol (**15**) foi obtido com o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.4, empregando-se 2,00 g (5,49 mmol) do composto **14**. O rendimento foi de 92 % (1,41g, 5,04 mmol).

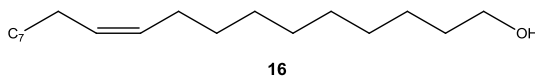
**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 0,83-0,93 (m, 3H); 1,21-1,62 (m, 26H); 2,09-2,18 (m, 4H); 3,63 (t, J=6,6 Hz, 2H) (Página 81).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 14,1; 18,8; 22,7; 25,8; 28,9; 28,9; 29,2; 29,2; 29,2; 29,3; 29,4; 29,6; 29,7; 29,7; 31,9; 23,8; 63,0; 80,2; 80,3 (Página 81).

**EM: m/z (%):** 152 (25); 135 (14); 124 (21); 121 (21); 110 (30); 109 (27); 97 (18); 96 (59); 95 (65); 93 (31); 83 (23); 82 (73); 81 (99); 80 (22); 79 (46); 69 (38); 68 (49); 67 (100); 57 (18); 55 (73); 54 (38); 43 (31); 41 (56) (Página 80).

IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ): 719; 959; 1069; 1473; 2851; 2923; 3261 (Página 80).

#### 4.7.2.5 Síntese do (Z)-10-nonadecen-1-ol (**16**)



Foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.5, empregando-se 1,00 g (3,57 mmol) do 10-nonadecin-1-ol (**15**), que resultou na formação do composto **16** em 83 % de rendimento (0,83 g, 2,94 mmol).

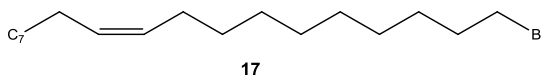
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,86-0,92 (m, 3H); 1,20-1,40 (m, 24H); 1,51-1,61 (m, 2H); 1,94-2,07 (m, 4H); 3,63 (t,  $J=6,5$  Hz, 2H); 5,26-5,43 (m, 2H) (Página 83).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 22,7; 25,8; 27,2; 29,3; 29,3; 29,4; 29,5; 29,5; 29,6; 29,8; 31,9; 32,8; 63,0; 129,8; 129,9 (Página 83).

**EM:  $m/z$  (%):** 264 (4); 124 (14); 123 (13); 110 (21); 109 (23); 97 (29); 96 (64); 95 (44); 85 (21); 83 (44); 82 (100); 81 (64); 69 (50); 68 (38); 67 (59); 59 (29); 57 (27); 56 (15); 55 (74); 54 (23); 43 (33); 41 (49) (Página 82).

IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ): 730; 1069; 1470; 2855; 2923; 3004; 3322; 3420 (Página 82).

#### 4.7.2.6 Síntese do 1-bromo-(10Z)-nonadeceno (**17**)



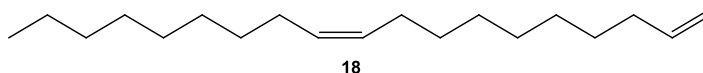
O composto **17** foi obtido através do mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.6. Foram utilizados 0,60 g (2,13 mmol) do (Z)-10-nonadecen-1-ol (**16**), 0,84 g (2,53 mmol) de tetrabrometo de carbono e 0,84 g (3,19 mmol) de trifenilfosfina, resultando no 1-bromo-(10Z)-nonadeceno (**17**) em 87 % de rendimento (0,63 g, 1,74 mmol).

**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,82-0,93 (m, 3H); 1,19-1,50 (m, 24H); 1,85 (m, 2H); 1,93-2,06 (m, 4H); 3,41 (t,  $J=6,8$  Hz, 2H); 5,30-5,43 (m, 2H) (Página 84).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 22,8; 27,3; 28,3; 28,9; 29,2; 29,3; 29,3; 29,4; 29,5; 29,6; 29,7; 29,7; 29,8; 32,0; 32,7; 32,9; 130,3; 130,5 (Página 85).

**EM:  $m/z$  (%):** 207 (3); 151 (4); 148 (6); 125 (12); 111 (28); 110 (11); 109 (13); 97 (58); 69 (27); 95 (23); 84 (17); 83 (70); 82 (40); 81 (38); 71 (20); 70 (31); 69 (77); 68 (28); 67 (44); 57 (51); 65 (33); 57 (51); 56 (33); 55 (100); 54 (27); 43 (44); 41 (63) (Página 84).

#### 4.7.2.7 Síntese do (Z)-1,10-nonadecadieno (**18**)



Foi empregado o procedimento descrito no item 4.7.1.7 para obtenção do composto **18**. Foram utilizados 0,5 g (1,46 mmol) de 1-bromo-(10Z)-nonadeceno (**17**), 2,8 mL de benzeno e 2,8 mL da solução de *t*-BuOK 1 molL<sup>-1</sup>. O (Z)-1,10-nonadecadieno (**18**) foi obtido em 79 % de rendimento (0,30 g, 1,14 mmol).

**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 0,85-0,92 (m, 3H); 1,19-1,44 (m, 22H); 1,93-2,10 (m, 6H); 4,88-5,05 (m, 2H); 5,30-5,39 (m, 2H); 5,71-5,92 (m, 1H) (Página 87).

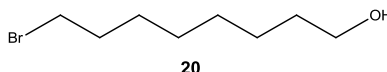
**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 14,2; 22,8; 27,3; 27,3; 29,0; 29,2; 29,4; 29,4; 29,5; 29,6; 29,7; 29,9; 29,9; 32,0; 33,9; 114,2; 129,9; 130,0; 139,3 (Página 87).

**EM: *m/z* (%):** 264 (12); 138 (16); 124 (24); 123 (16); 110 (30); 109 (30); 97 (29); 96 (77); 95 (61); 83 (43); 82 (91); 81 (83); 70 (12); 69 (59); 68 (65); 67 (76); 57 (25); 56 (16); 55 (100); 54 (35); 43 (34); 41 (63) (Página 86).

**IV ( $\nu$  Max, cm<sup>-1</sup>):** 725; 912; 993; 1460; 1643; 2853; 2922; 2959; 3002; 3086 (Página 86).

#### 4.7.3 Síntese do (Z)-1,9-nonadecadieno (**27**)

##### 4.7.3.1 Síntese do 8-bromooctan-1-ol (**20**)



Foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.1, empregando-se o 1,8-octanodiol (**19**) (2,00 g, 14,08 mmol) e 1,91 mL de HBr 48%. O 8-bromooctan-1-ol (**20**) foi obtido em 83 % de rendimento (2,38 g, 11,39 mmol).

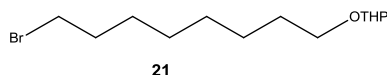
**RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 1,27-1,66 (m, 10H); 1,76-1,98 (m, 2H); 3,41 (t, J=6,8 Hz, 2H); 3,63 (t, J=6,4 Hz, 2H) (Página 90).

**RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):** δ 25,6; 28,1; 28,7; 29,2; 32,7; 32,8; 33,9; 62,8 (Página 90).

**EM: *m/z* (%):** 192 (1); 190 (1); 164 (17); 162 (17); 150 (18); 148 (19); 83 (52); 82 (19); 69 (93); 68 (30); 67 (24); 57 (11); 56 (20); 55 (100); 43 (19); 42 (16); 41 (60) (Página 89).

**IV ( $\nu$  Max, cm<sup>-1</sup>):** 729; 972; 1021; 1064; 1225; 1465; 2860; 2932; 3307; 3382 (Página 89).

#### 4.7.3.2 Síntese do 2-(8-bromooctiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**21**)



O intermediário **21** foi obtido conforme descrito no item 4.7.1.2, utilizando-se 2,38 g (11,40 mmol) do 8-bromooctan-1-ol (**20**) e 1,3 mL de DHP. O 2-(8-bromooctiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**21**) foi obtido com 89 % de rendimento (2,97 g, 10,14 mmol).

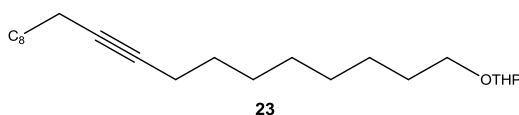
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  1,24- 1,94 (m, 18H); 3,31-3,57 (m, 4H); 3,66-3,94 (m, 2H); 4,54-4,62 (m, 1H) (Página 92).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  19,7; 25,5; 26,1; 28,1; 28,7; 29,2; 29,7; 30,8; 32,8; 33,9; 62,3; 67,6; 98,8 (Página 92).

**EM:  $m/z$  (%):** 293 (2); 291 (2); 150 (1); 148 (1); 137 (1); 135 (1); 85 (100); 84 (10); 69 (25); 57 (15); 26 (24); 55 (20); 43 (11); 41 (20) (Página 91).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 730; 816; 871; 981; 1029; 1080; 1121; 1139; 1356; 1470; 2862; 2933 (Página 91).

#### 4.7.3.3 Síntese do 2-(nonadec-9-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (**23**)



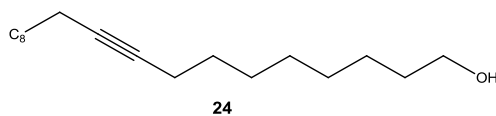
Foi empregado o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.3 para a obtenção do composto **23**. Foram utilizados 0,3 mL (1,64 mmol) de 1-undecino (**22**), 1,3 mL de *n*-BuLi (1,60 molL<sup>-1</sup>), 0,23 g (0,80 mmol) de 2-(8-bromooctiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**21**) e 0,14 mL de HMPA. Foram obtidos 0,26 g (0,71 mmol) do 2-(nonadec-9-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (**23**) (89 % de rendimento).

**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,82-0,92 (m, 3H); 1,19-1,80 (m, 32H); 2,08-2,18 (m, 4H); 3,31-3,56 (m, 2H); 3,67-3,96 (m, 2H); 4,55-4,61 (m, 1H) (Página 93).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 18,7; 18,7; 19,7; 22,7; 25,5; 26,2; 28,8; 28,8; 28,9; 29,0; 29,1; 29,2; 29,3; 29,4; 29,5; 29,7; 30,7; 31,9; 62,3; 67,6; 80,1; 80,2; 98,8 (Página 94).

**EM:  $m/z$  (%):** 293 (1); 101 (22); 95 (18); 85 (100); 84 (16); 83 (12); 81 (21); 79 (11); 69 (14); 67 (28); 57 (12); 56 (12); 55 (35); 43 (17); 41 (24) (Página 93).

#### 4.7.3.4 Síntese do 9-nonadecin-1-ol (**24**)



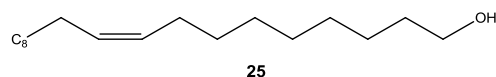
O 9-nonadecin-1-ol (**24**) foi obtido com o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.4, empregando-se 0,22 g (0,60 mmol) do composto **23**. O rendimento foi de 91 % (0,15 g, 0,54 mmol).

**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,84-0,92 (m, 3H); 1,22-1,61 (m, 26H); 2,08-2,18 (m, 4H); 3,63 (t,  $J=6,5$  Hz, 2H) (Página 95).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,2; 18,8; 22,7; 25,8; 28,8; 28,9; 29,1; 29,2; 29,2; 29,3; 29,4; 29,6; 31,9; 32,8; 6,0; 80,2; 80,3 (Página 96).

**EM:  $m/z$  (%):** 280 (2); 166 (18); 138 (16); 135 (19); 124 (17); 121 (31); 112 (31); 110 (20); 109 (31); 108 (12); 107 (19); 98 (19); 97 (20); 96 (58); 95 (72); 94 (21); 93 (37); 83 (27); 82 (77); 81 (96); 80 (29); 79 (52); 69 (40); 68 (54); 67 (100); 57 (19); 55 (71); 54 (40); 43 (34); 41 (51) (Página 95).

#### 4.7.3.5 Síntese do (Z)-9-nonadecen-1-ol (**25**)



Foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.5, empregando-se 0,15 g (0,54 mmol) do 9-nonadecin-1-ol (**24**), que resultou na formação do composto **25** em 65 % de rendimento (0,10 g, 0,35 mmol).

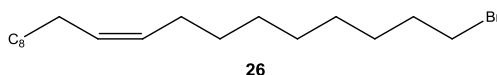
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,83-0,93 (m, 3H); 1,23-1,38 (m, 24H); 1,49-1,63 (m, 2H); 1,94-2,07 (m, 4H); 3,62 (t,  $J=6,6$  Hz, 2H); 5,26-5,43 (m, 2H) (Página 98).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 22,7; 25,7; 27,2; 27,2; 29,2; 29,2; 29,3; 29,3; 29,4; 29,5; 29,6; 29,6; 29,7; 31,9; 32,7; 62,9; 129,8; 129,9 (Página 98).

**EM:  $m/z$  (%):** 282 (1); 138 (12); 124 (20); 123 (18); 111 (13); 110 (30); 109 (29); 97 (33); 96 (78); 95 (54); 83 (48); 82 (100); 81 (70); 71 (15); 70 (17); 69 (57); 68 (49); 67 (17); 57 (32); 56 (21); 55 (88); 54 (32); 43 (45); 41 (56) (Página 97).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 728; 1070; 1471; 2854; 2922; 3005; 3330 (Página 97).

#### 4.7.3.6 Síntese do 1-bromo-(9Z)-nonadeceno (**26**)



O composto **26** foi obtido através do mesmo procedimento descrito no item 4.7.1.6. Foram utilizados 0,06 g (0,22 mmol) do (Z)-9-nonadecen-1-ol (**25**), 0,09 g (0,27 mmol) de tetrabrometo de carbono e 0,08 g (0,29 mmol) de trifenilfosfina, resultando no 1-bromo-(9Z)-nonadeceno (**26**) em 75 % de rendimento (0,06 g, 0,17 mmol).

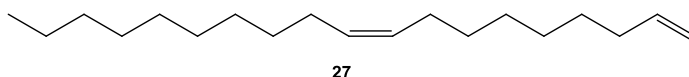
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,81-0,94 (m, 3H); 1,15-1,50 (m, 24H), 1,50 (m, 2H); 1,94-2,12 (m, 4H); 3,40 (t,  $J=6,8$  Hz, 2H); 5,27-5,40 (m, 2H) (Página 100).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 22,7; 27,2; 27,2; 28,2; 28,8; 29,2; 29,2; 29,3; 29,4; 29,6; 29,6; 29,7; 29,8; 31,9; 32,8; 33,9; 129,7; 130,0 (Página 100).

**EM:  $m/z$  (%):** 347 (1); 346 (5); 150 (12); 148 (13); 125 (22); 123 (12); 112 (10); 111 (45); 110 (10); 109 (12); 98 (18); 97 (98); 96 (21); 95 (20); 85 (17); 84 (26); 83 (98); 82 (30); 81 (30); 71 (32); 70 (44); 69 (96); 68 (18); 67 (35); 57 (58); 56 (39); 55 (100); 54 (25); 43 (47); 41 (56) (Página 99).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 722; 1260; 1467; 2852; 2925; 3006 (Página 99).

#### 4.7.3.7 Síntese do (Z)-1,9-nonadecadieno (**27**)



Foi empregado o procedimento descrito no item 4.7.1.7 para obtenção do composto **27**. Foram utilizados 0,06 g (0,17 mmol) de 1-bromo-(9Z)-nonadeceno (**26**), 0,32 mL de benzeno e 0,64 mL da solução de *t*-BuOK 1 molL<sup>-1</sup>. O (Z)-1,9-nonadecadieno (**27**) foi obtido em 93 % de rendimento (0,04 g, 0,16 mmol).

**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  0,83-0,93 (m, 3H), 1,17-1,44 (m, 22H); 1,95-2,10 (m, 6H), 4,88-5,05 (m, 2H); 5,29-5,42 (m, 2H); 5,71-5,92 (m, 1H) (Página 102).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):**  $\delta$  14,1; 22,7; 27,2; 27,2; 28,9; 29,0; 29,1; 29,4; 29,6; 29,6; 29,7; 29,8; 31,6; 31,9; 33,8; 114,1; 129,8; 129,8; 139,2 (Página 102).

**EM:  $m/z$  (%):** 264 (12); 138 (16); 137 (12); 125 (5); 124 (25); 123 (20); 111 (12); 110 (42); 109 (34); 97 (34); 96 (87); 95 (64); 83 (48); 82 (96); 81 (94); 70 (13); 69 (59); 68 (63); 67 (80); 57 (28); 56 (17); 55 (100); 54 (41); 43 (40); 41 (60) (Página 101).

**IV ( $\nu$  Max,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 718; 913; 969; 71473; 1643; 2850; 2922; 3004; 3081 (Página 101).

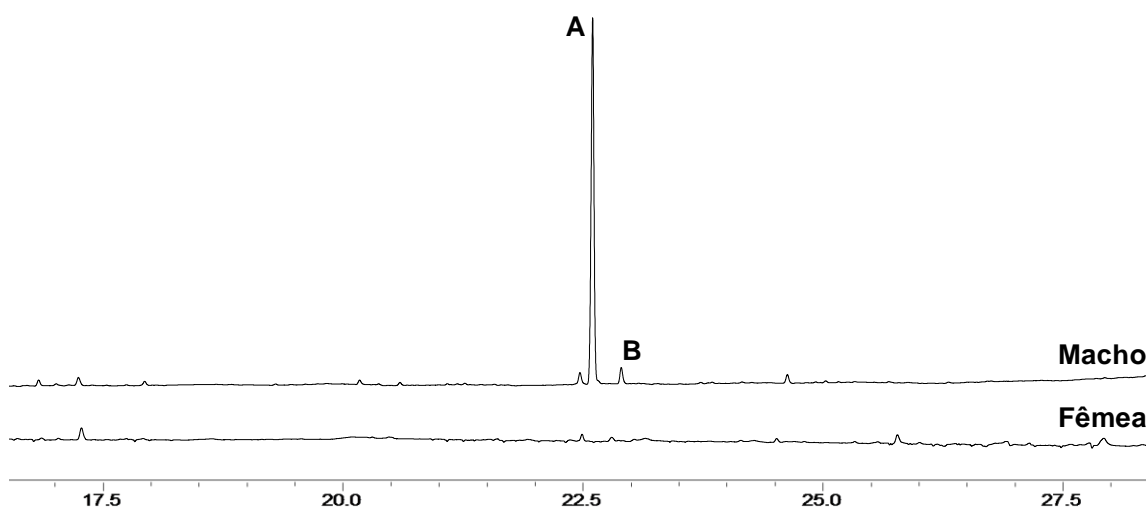


## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 *Oxelytrum discicolle*

#### 5.1.1 Identificação estrutural

A comparação dos cromatogramas obtidos na análise dos voláteis de machos e fêmeas de *O. discicolle* mostraram a presença de dois compostos produzidos somente pelos machos, como pode ser observado na Figura 8. Foram calculados os índices de Kovats em três diferentes colunas (1: 1674 / RTX-5, 1882 / RTX-WAX, e 1673 / EC-1; 2: 1695 / RTX-5, 1871 / RTX-WAX, e 1692 / EC-1).



**Figura 8.** Comparação dos cromatogramas obtidos dos extratos de machos e fêmeas de *O. discicolle*, evidenciando os compostos macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B).

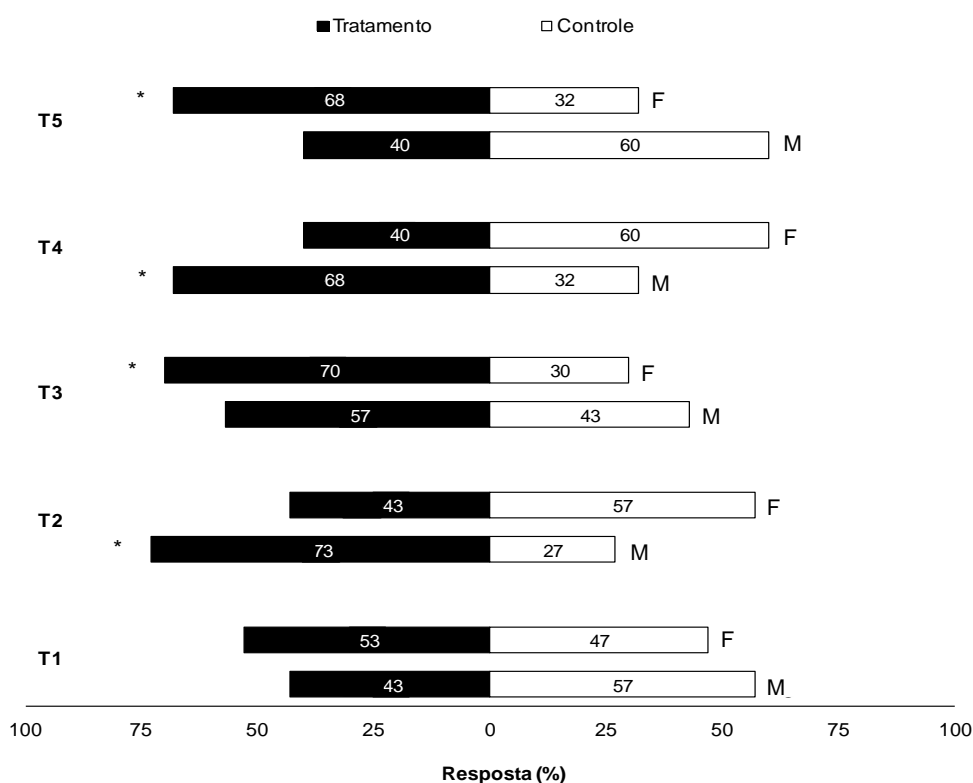
Nos besouros necrófagos da espécie *Nicrophorus* spp. (Coleoptera: Silphidae) a comunicação entre os sexos é mediada por feromônios voláteis do sexo masculino.<sup>22, 72-73</sup> Recentemente, alguns trabalhos relatam esse fato, como o de Haberer et al.<sup>21, 26</sup> que identificaram a estrutura do feromônio produzido pelos machos de *Nicrophorus vespilloides* como sendo o 4-metil heptanoato de etila. Além disso, os mesmos autores verificaram ação interespecífica, onde as espécies *Nicrophorus vespillo* e *Nicrophorus humator* também foram atraídas pelo feromônio.

Desta forma, foram realizados bioensaios para testar a atividade biológica do extrato contendo os compostos macho-específicos (extrato natural) para machos e fêmeas. Para T1 (extrato natural x hexano) não houve preferência significativa tanto para machos ( $p=0,466$ ) quanto para fêmeas ( $p=0,716$ , Figura 9). Em um estudo realizado por Von Hoermann et al.<sup>74</sup> foi observado que machos e fêmeas da espécie *Desmestes maculatus* também não foram atraídos para os voláteis liberados pelos machos. No entanto, o extrato dos voláteis dos machos combinado com o extrato de uma carcaça de

suíno (fonte alimentar) foram fortemente atrativos para as fêmeas. A este efeito da associação dos dois extratos (alimento + inseto) para a atratividade, dá-se o nome de “efeito sinérgico”. Entretanto, os extratos apenas dos voláteis do alimento foram atrativos somente para os machos desta espécie.

Baseado nestes resultados foram realizados testes de atratividade utilizando os voláteis de uma carcaça de um rato na fase inchada. Os bioensaios testando a atratividade de machos e fêmeas para extrato de carcaça x hexano (**T2**), indicaram que os machos preferiram o odor da carcaça (73 %,  $p=0,011$ ) e para as fêmeas não houve preferência ( $p=0,466$ , Figura 9). Esse resultado sugere que os machos são os responsáveis por encontrar a fonte de alimento.

Ao testar o extrato natural + extrato da carcaça *versus* o hexano (**T3**), observou-se que não houve preferência de escolha para os machos ( $p=0,466$ ) e que fêmeas preferiram a combinação dos extratos (70 %,  $p=0,028$ , Figura 9), evidenciando a ação dos compostos macho-específicos como feromônio sexual.



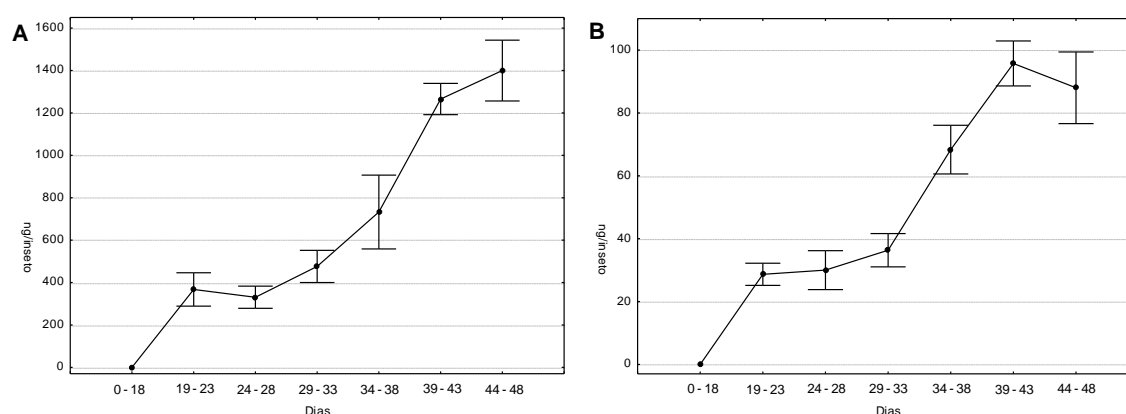
**T1**= extrato natural x hexano (controle); **T2**= extrato da carcaça x hexano (controle); **T3**= extrato natural + extrato da carcaça x hexano (controle); **T4**= extrato natural x extrato da carcaça (controle); **T5**= extrato natural + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle).

**Figura 9.** Respostas de machos (M) e fêmeas (F) de *O. discicolle* aos voláteis presentes nos extratos dos machos e aos voláteis da carcaça de um rato (fase inchada). Os dados foram analisados com o teste Qui-quadrado (\*  $p<0,05$ , ns –  $p>0,05$ ).

Em **T4** (extrato natural x extrato da carcaça) verificou-se preferência significativa ( $p=0,040$ ) dos machos pelo extrato da carcaça (68 %), enquanto que para fêmeas não houve diferença entre os tratamentos ( $p=0,274$ ). Esse teste comprovou a função dos machos em desbravar o ambiente e encontrar alimento.

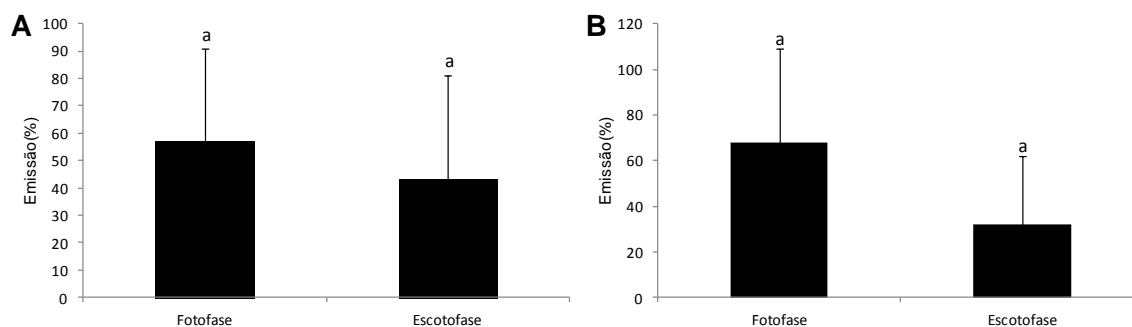
Para confirmar a ação dos compostos presentes no extrato natural como feromônio sexual, testou-se a atratividade do extrato natural + extrato da carcaça *versus* o extrato da carcaça (**T5**). Nesse teste, as fêmeas foram atraídas significativamente para a combinação dos extratos (68 %,  $p=0,048$ ) enquanto que os machos não demonstraram preferência ( $p=0,274$ , Figura 9). Desta forma, foi confirmada a função de atrativo sexual dos compostos emitidos pelos machos.

No teste da dinâmica de emissão de compostos (de 1- 48 dias), observou-se que a partir de 18 dias de idade, os adultos iniciam a liberação de ambos os componentes, que alcançaram o valor máximo de  $1400 \pm 188$  ng/inseto (44-48 dias) para o composto majoritário (**A**) e de  $96 \pm 13$  ng/inseto (39-43 dias) para o minoritário (**B**) (Figura 10).



**Figura 10.** Emissão dos componentes feromonais majoritário (A) e minoritário (B) por machos de *O. discicolle*.

A liberação dos voláteis ocorreu durante a fotofase e escotofase (Figura 11), não havendo diferença significativa entre os períodos ( $p>0,05$ ). Esse resultado sugere que os machos tentam atrair fêmeas para cópula durante a presença ou ausência de luz.



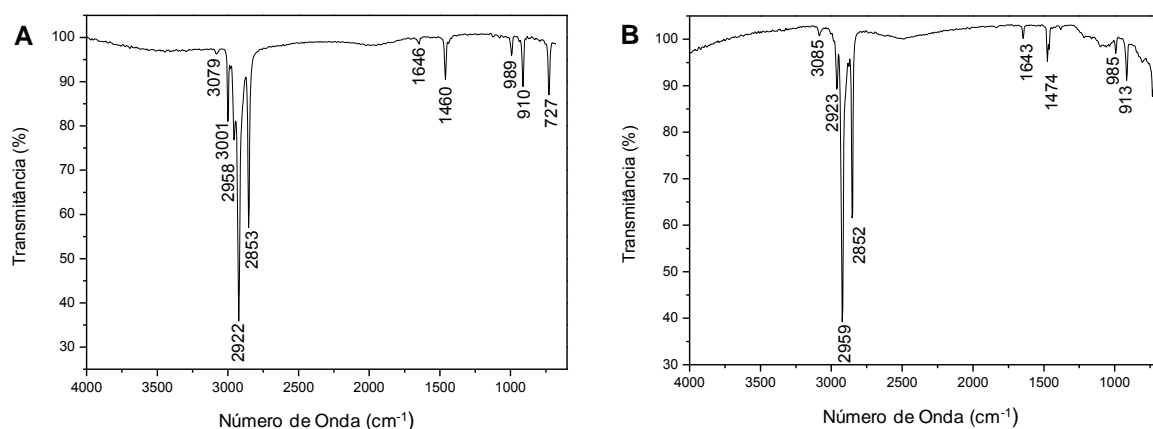
**Figura 11.** Emissão dos compostos feromoniais majoritário (A) e minoritário (B) por machos de *O. discicolle* na fotofase e escotofase (n=6). Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente (teste t,  $p>0,05$ ).

Para identificação estrutural dos prováveis compostos feromoniais sexo-específicos foram realizadas análises em CG-EM e CG-IVTF. No espectro na região do infravermelho do composto majoritário (A) (Figura 12A) é possível verificar bandas características de hidrocarbonetos entre  $2800$  e  $3000\text{ cm}^{-1}$ , além da presença de duas bandas em  $3079$  e  $3001\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento  $\text{Csp}^2\text{-H}$ . O espectro na região do infravermelho do composto minoritário (B) também apresentou as bandas características de hidrocarbonetos e uma banda em  $3085\text{ cm}^{-1}$  relativo a uma ligação dupla (Figura 12B).

Os espectros na região do infravermelho permitem o reconhecimento de grupos vinílicos, por bandas observadas em  $3085 - 3083\text{ cm}^{-1}$  (deformação axial de C-H em  $=\text{C-H}$ ),  $1641\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C=C) e um par de bandas em  $990\pm 5$  e  $910\pm 5\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular fora do plano  $=\text{C-H}$ ).<sup>75-77</sup> Assim, as bandas em  $3079$ ,  $1646$ ,  $989$  e  $910\text{ cm}^{-1}$  presentes no espectro do composto A (Figura 12A), sugerem que uma das ligações duplas é terminal e isolada. Este fato foi confirmado por Attygalle et al.,<sup>78</sup> onde verificaram que para os grupos vinílicos isolados, a intensidade da banda em  $992\text{ cm}^{-1}$  é menor do que a banda em  $914\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que para um dieno 1,3 conjugado de isomeria E, o espectro possui a banda em  $998\text{ cm}^{-1}$  maior do que a em  $902\text{ cm}^{-1}$ .

As bandas de deformação axial de C-H em alcenos de configuração Z e E ocorrem usualmente na região de  $3008 - 3013\text{ cm}^{-1}$  e  $2933 - 2940\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.<sup>78-80</sup> Além disso, o estiramento C=C de alcenos vinílicos e de configuração Z ocorre entre  $1660$  e  $1635\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que o estiramento C=C de compostos de configuração E, trissubstituídos e tetrassubstituídos ocorre entre  $1680$  e  $1665\text{ cm}^{-1}$ . Para alcenos de configuração Z, a deformação angular fora do plano  $=\text{C-H}$  ocorre em  $990\pm 5\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que para alcenos de configuração E ocorre em  $965\pm 5\text{ cm}^{-1}$ .<sup>75</sup> Desta forma, as bandas em  $3001$ ,  $1646$  e  $989\text{ cm}^{-1}$  (Figura 12A) caracterizam a configuração Z da ligação dupla do componente A.

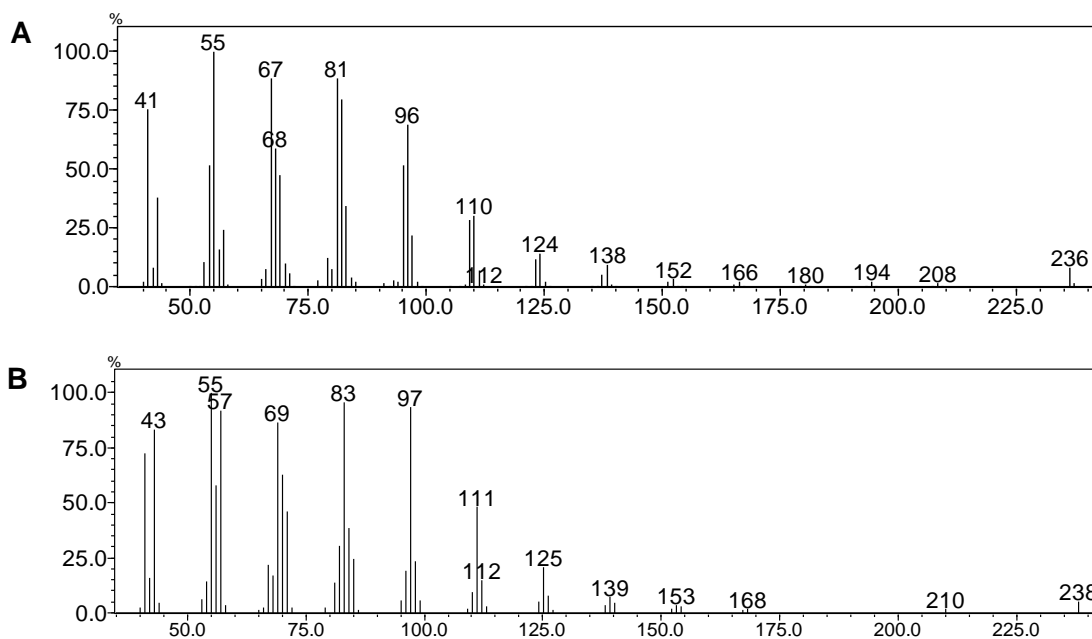
No espectro na região do infravermelho do componente **B** (Figura 12B), é possível observar bandas em 3085, 1643, 985 e 913  $\text{cm}^{-1}$  que sugerem uma ligação dupla terminal.



**Figura 12.** Espectro na região do infravermelho dos compostos feromonais macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) de *O. discicolle*.

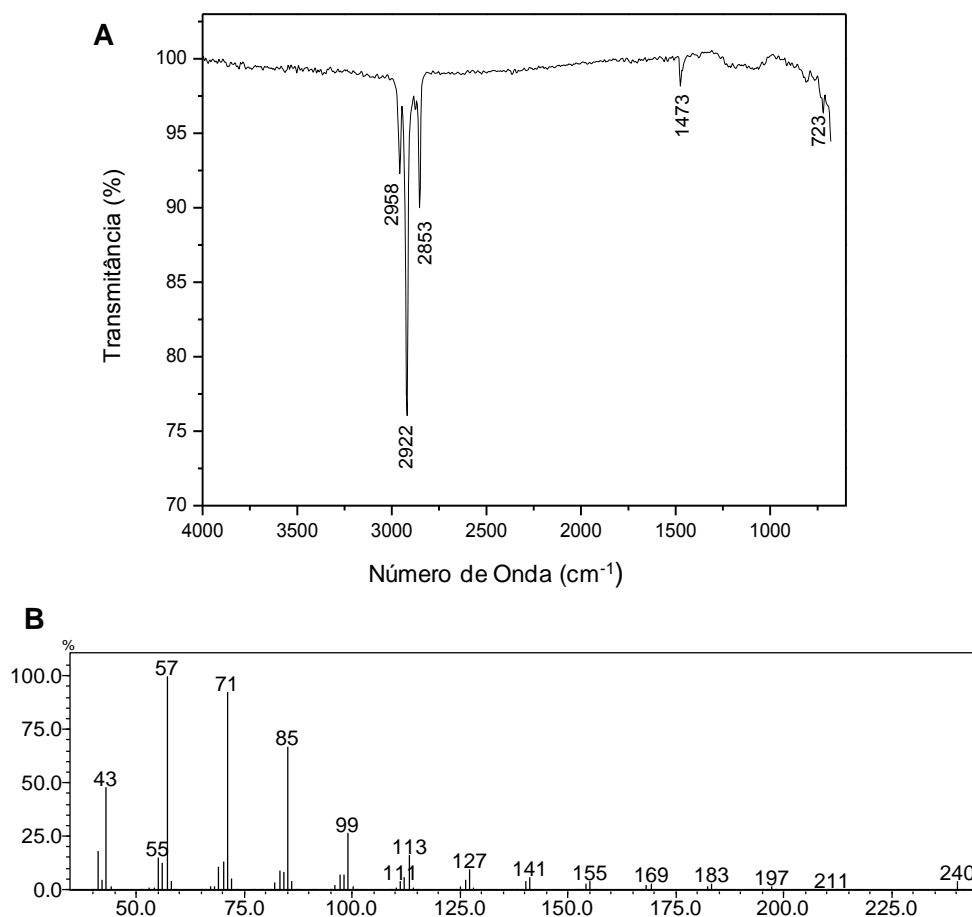
Essas informações são confirmadas pelo espectro do 1-noneno,<sup>81</sup> que apresenta bandas típicas de 1-alcenos, em 3084 e 914  $\text{cm}^{-1}$ , além de um pico pequeno, mas significativo, em 1641  $\text{cm}^{-1}$ .

No espectro de massas verificou-se o pico do íon molecular de  $m/z$  236 ( $M^+$ ) para o composto **A** (Figura 13A) e de  $m/z$  238 ( $M^+$ ) para o composto **B** (Figura 13B). Juntamente com as informações obtidas pelo espectro na região do infravermelho, foi proposto uma fórmula molecular de  $C_{17}H_{32}$  para **A** e  $C_{17}H_{34}$  para **B**.



**Figura 13.** Espectro de massas dos compostos feromonais macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) de *O. discicolle*.

A fim de se comprovar a presença das ligações duplas, os produtos naturais foram submetidos a uma microrreação de hidrogenação catalítica com Pd/C, onde foi possível verificar a formação de um único produto. No espectro na região do infravermelho correspondente ao produto hidrogenado (Figura 14A) observou-se o desaparecimento das bandas características de ligações duplas. Já no espectro de massas (Figura 14B) observou-se o pico do íon molecular  $M^+$  de  $m/z$  240, como resultado da inserção de quatro hidrogênios no composto **A** e dois hidrogênios no **B**. Além disso, foi observada uma sequência de fragmentos com aumento de 14 unidades de massa, acompanhada pela diminuição de intensidade, sugerindo uma cadeia linear. Para confirmar a linearidade do composto, foi realizado a coinjeção do produto hidrogenado com o padrão sintético heptadecano, em duas diferentes colunas (RTX-5 e EC-WAX), sendo observado a coeluição.

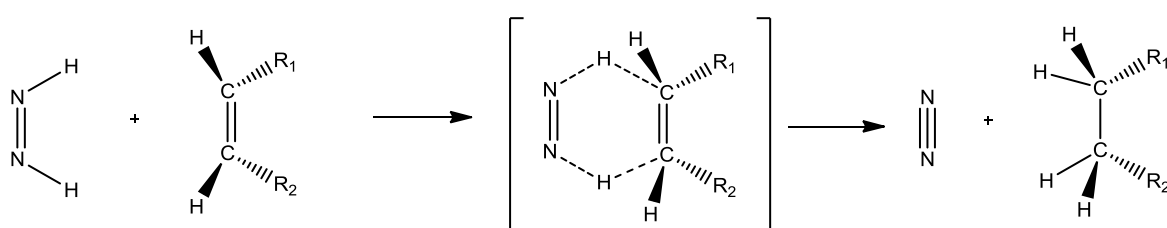


**Figura 14.** Espectros na região do infravermelho (A) e massas (B) referente ao produto hidrogenado dos compostos macho-específicos de *O. discicolle*.

Compostos que possuem ligações duplas, exibem fragmentos característicos no espectro de massas por clivagem alílica, mas também mostram uma forte tendência para isomerizar através da ligação dupla.<sup>82</sup> Assim, nestes compostos a localização das ligações duplas utilizando somente a espectrometria de massas não é possível sem o

uso de derivatizações. O método mais eficiente e comumente utilizado é a metilação com DMDS.<sup>63</sup> Entretanto, a aplicação deste método para compostos polinsaturados não é fácil, além da difícil interpretação do espectro de massas sem parâmetros de comparação. Uma maneira de aplicar o método de DMDS a polienos é realizar primeiro uma redução parcial para produzir compostos monoinsaturados, seguido da formação de derivados do DMDS e análise por CG-EM.<sup>64</sup>

Uma eficiente maneira de realizar essa redução é pelo uso da diimina. O reagente diimina ( $N_2H_2$ ) é formado *in situ* pela oxidação da hidrazina por peróxido de hidrogênio. A adição *syn* dos átomos de hidrogênio na ligação dupla ocorre via um estado de transição cíclico,<sup>83</sup> conforme mostra o Esquema 1.



**Esquema 1.** Reação de redução parcial, mostrando o estado de transição cíclico.

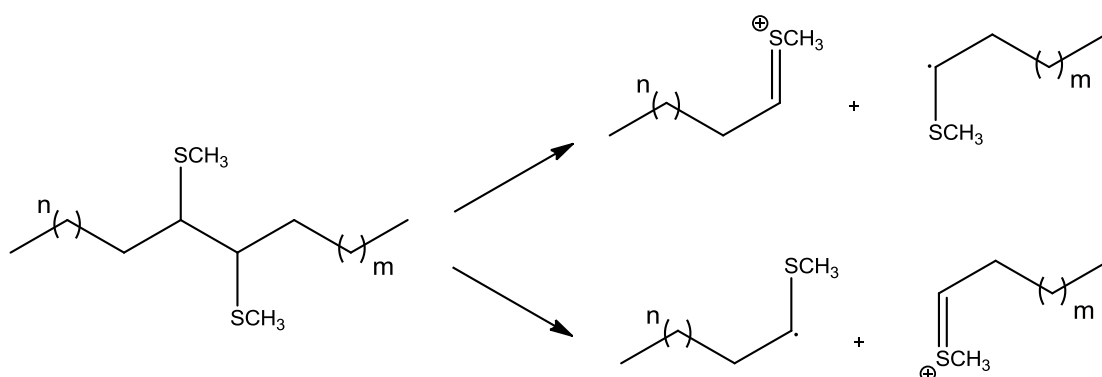
No estudo do feromônio sexual de *Scrobipalpuloidea absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) em escala de 100 ng, foi realizado o procedimento combinado da redução parcial com  $NH_2NH_2/H_2O_2$  seguido da formação de derivado de DMDS para determinar a estrutura completa do constituinte principal (um acetato com três ligações duplas).<sup>84</sup> Similarmente, este método foi utilizado para reduzir uma ligação dupla terminal, que facilitou a determinação da outra ligação dupla no carbono 9 do acetato de (9*E*)-9,11-dodecadienila, um componente feromonal da mariposa vermelha.<sup>85</sup>

Desta forma, o extrato natural foi submetido a uma microrreação com hidrazina, onde diferentes tempos de reação foram avaliados para otimizar a reação e evitar a redução das duas ligações duplas. É possível observar no tempo de 20 minutos uma grande quantidade da insaturação não terminal, sendo a proporção relativa dos produtos obtidos representada da Tabela 1.

**Tabela 1.** Proporção relativa dos produtos obtidos da redução parcial com hidrazina dos compostos feromonais de *O. discicolle*.

Tempo Reação	Produtos obtidos			
	Duas Insaturações	Insaturação Não Terminal	Insaturação Terminal	Saturado
5 minutos	53,5%	34,1%	8,3%	4,1%
20 minutos	13,8%	60,8%	3,8%	21,6%
40 minutos	1,7%	49,8%	1,3%	47,2%

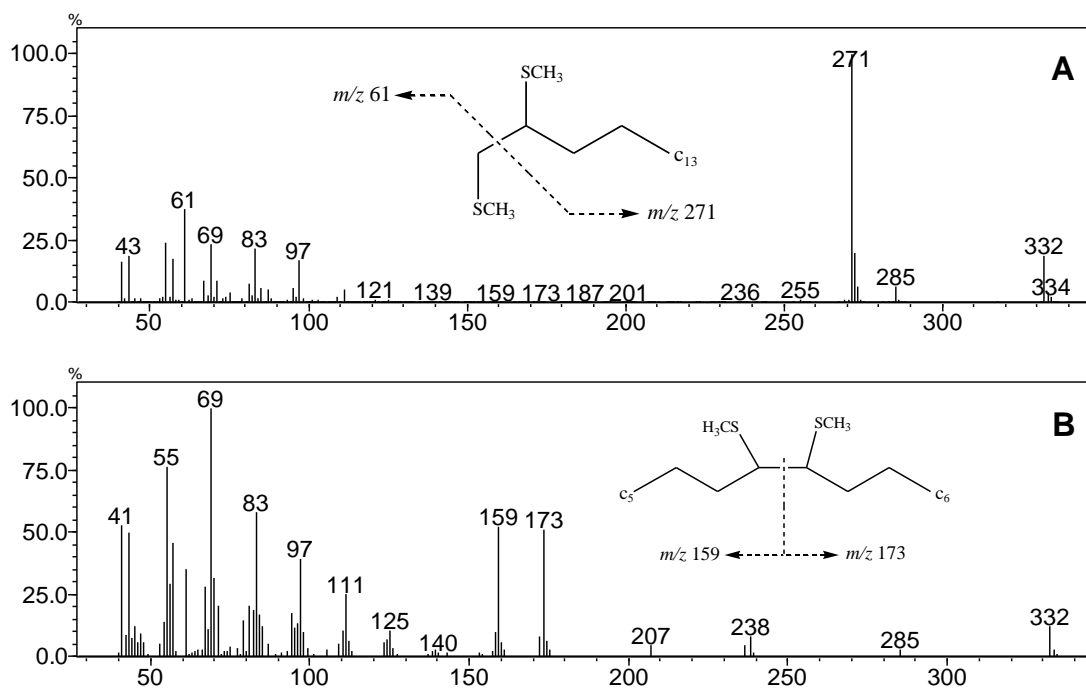
Após a redução, foi realizada a reação para formação de derivados de DMDS. Sem dúvida, este é o mais eficiente e recomendado método para a localização de ligações duplas em cadeias carbônicas. A adição de dissulfeto de dimetila catalizada por iodo, seguida por análise dos adutos em CG-EM, foi primeiramente descrita por Francis e Veland<sup>86</sup> para hidrocarbonetos monoinsaturados e ésteres metílicos de ácidos graxos. A maior parte dos adutos de DMDS apresentam íon molecular intenso, além de fragmentos iônicos típicos, resultantes da clivagem preferencial da ligação entre os dois átomos de carbono contendo os substituintes SCH<sub>3</sub> (Esquema 2). Podem ser observados perdas de 47 unidades de massa (CH<sub>3</sub>S-) do íon molecular, e 48 unidades de massa (CH<sub>3</sub>SH) de outros íons.<sup>63</sup>



**Esquema 2.** Principais fragmentos formados por ionização eletrônica.

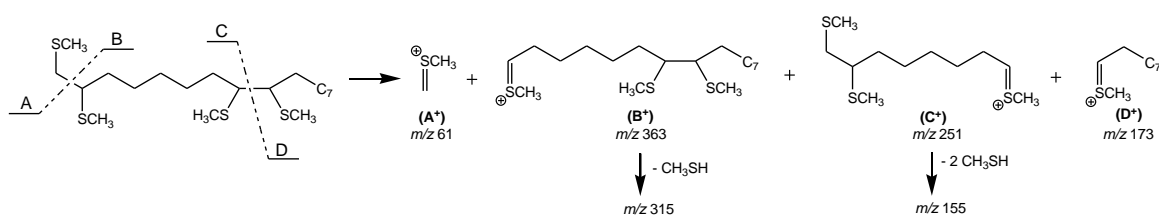
No espectro de massas da Figura 15A é possível verificar fragmentos de  $m/z$  61 e  $m/z$  271 referentes à ligação dupla terminal. O espectro de massas da Figura 15B, revela fragmentos de  $m/z$  159 e  $m/z$  173 referentes a outra ligação dupla, o que sugere a possibilidade destas estarem localizadas nos carbonos 8 ou 9.





**Figura 15.** Espectros de massas dos produtos da reação de metilação, evidenciando a posição das ligações duplas dos compostos monoinsaturados. **A:** Adutos formados para a ligação terminal, **B:** Adutos formados para a ligação dupla na posição 8 ou 9.

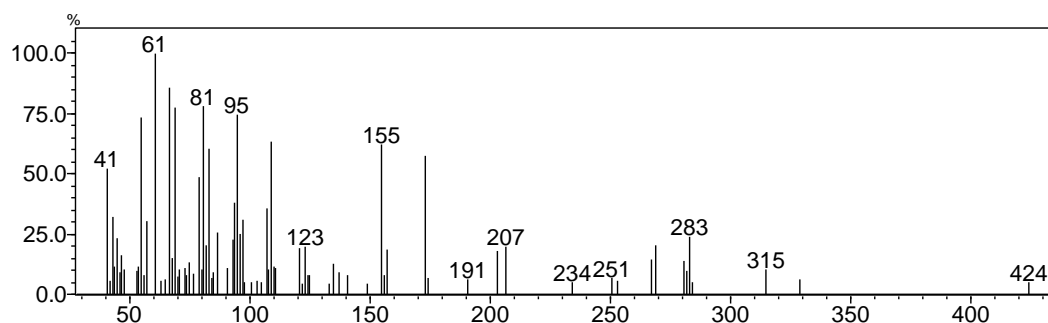
Uma vez de posse dos resultados da reação da metilação para os compostos monoinsaturados, realizou-se o estudo para a obtenção de adutos no composto di-insaturado. Após inúmeras tentativas, com a variação do tempo de reação, temperatura e quantidade dos reagentes, obteve-se os adutos referentes ao composto contendo as duas ligações duplas, conforme mostra o Esquema 3.



**Esquema 3.** Principais adutos formados por ionização eletrônica do componente feromonal majoritário de *O. discicolle*.

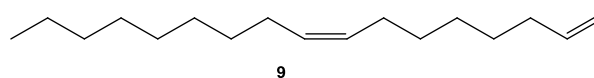
Através da análise do espectro de massas do produto metilado foi possível confirmar que as ligações duplas encontram-se nos carbonos 1 e 8. A posição da ligação dupla terminal foi confirmada pelo fragmento de  $m/z$  315 ( $m/z$  363 - 48 unidades de massa) e pelo fragmento de  $m/z$  61. Os fragmentos de  $m/z$  251,  $m/z$  173 e  $m/z$  155 ( $m/z$  251 - 96 unidades de massa) caracterizam a localização da segunda ligação dupla no

carbono 8. A inserção dos quatro substituintes SCH<sub>3</sub> no produto final resultou no íon molecular de *m/z* 424 (M<sup>+</sup>) (Figura 16).



**Figura 16.** Espectro de massas do produto da reação de metilação com o composto diinsaturado.

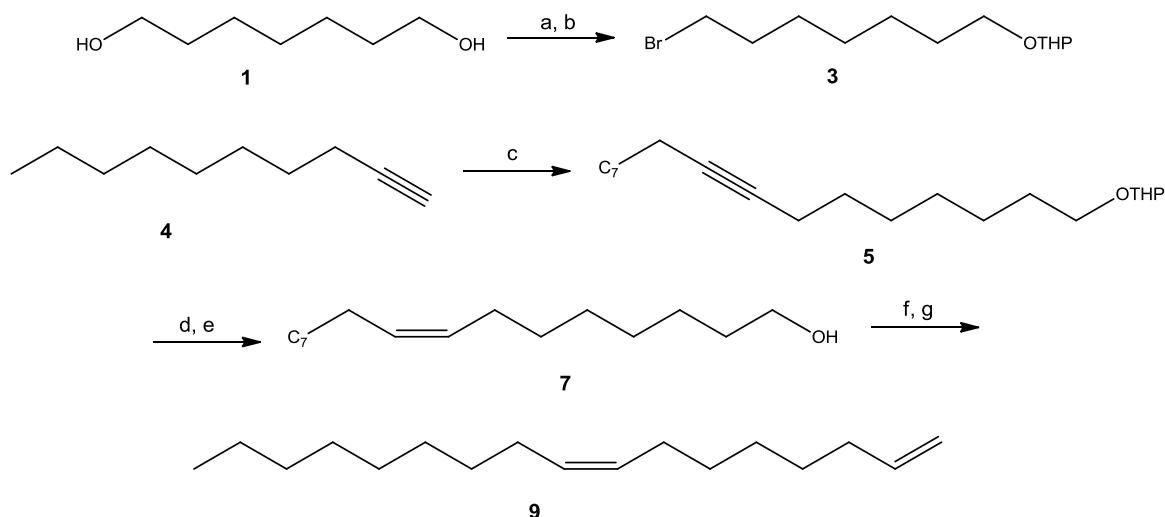
Baseado nestes dados foi proposta a estrutura química do componente majoritário de *O. discicolle* como (*Z*)-1,8-heptadecadieno (**9**) (Figura 17).



**Figura 17.** Estrutura proposta para o componente majoritário liberado por *O. discicolle*.

### 5.1.2 Síntese do composto macho-específico majoritário

Após a proposta estrutural para o composto majoritário sexo-específico de *O. discicolle*, iniciou-se a etapa de síntese para a comprovação estrutural, conforme a rota sintética apresentada no esquema 4.



**Esquema 4.** Rota sintética para obtenção do (*Z*)-1,8-heptadecadieno. (a) HBr 48 %, tolueno, 84 %, (b) DHP, *p*TSA, metanol, 90 %, (c) *n*-BuLi, **3**, HMPA, THF, 91 %, (d) *p*TSA, metanol, 93 %, (e) H<sub>2</sub>, Pd/CaCO<sub>3</sub>, metanol, 77 %, (f) CBr<sub>4</sub>, Ph<sub>3</sub>P, DCM, 83 %, (g) *t*-BuOK, benzeno, 76 %.

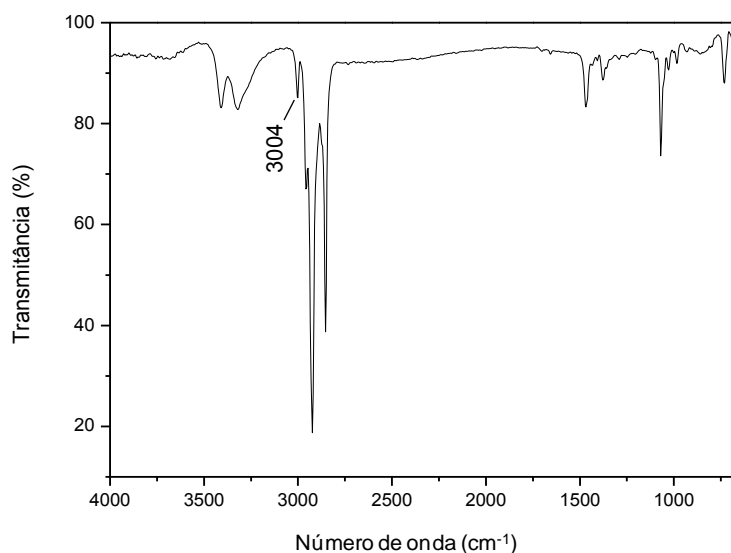
Como etapa inicial, realizou-se uma monobromação de um diol  $\alpha$ ,  $\omega$ -substituído, o 1,7-heptanodiol (**1**) para a formação do 7-bromoheptan-1-ol (**2**) com rendimento de 84 %. Utilizou-se o sistema *Dean-Stark* para remoção azeotrópica de água. A formação indesejada do composto dibromado foi controlada estequiometricamente pela adição de HBr 48 %.<sup>65</sup> O intermediário **2** foi caracterizado pelo seu espectro de massas (Página 59), onde foi possível observar o íon molecular de  $m/z$  148 / 150 com a mesma intensidade, devido a contribuição isotópica do bromo na estrutura. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 60) apresentou dois tripletos em 3,65 (J=6,4 Hz) e 3,41 ppm (J=6,8 Hz), relativos aos hidrogênios do grupo  $\text{CH}_2$  ligados a hidroxila e ao brometo, respectivamente. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 60) destacou-se o sinal do carbono carbinólico em 62,9 ppm. O estiramento da ligação O-H no espectro na região do infravermelho (Página 59), apresentou-se como duas bandas em 3415 e 3349  $\text{cm}^{-1}$ .

A hidroxila do composto **2** é um grupamento funcional reativo, dessa forma, protegeu-se a mesma utilizando DHP, na presença de um catalisador ácido. A formação do éter derivado do tetraidropirano (THP), o 2-(7-bromoheptiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**3**) se deu com 90 % de rendimento. O espectro de massas (Página 61) apresentou um pico base de  $m/z$  85, característico de compostos que possuem o grupo THP. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 61) foi possível verificar a presença de um sinal multipletto entre 4,56 – 4,59 ppm, referente ao hidrogênio cetálico do grupamento THP. O carbono cetálico apresentou no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 62) um sinal em 98,9 ppm. No espectro na região do infravermelho (Página 61) destaca-se a ausência da banda de deformação axial de O-H na região de  $3350\pm 50\text{cm}^{-1}$ .

A reação de alquilação do 2-(7-bromoheptiloxi)-tetraidro-2H-pirano (**3**) com o 1-decino (**4**) resultou na formação do composto **5** com 91 % de rendimento. Nesta reação, inicialmente formou-se um ânion acetilênico metálico, a partir do 1-decino (**4**), empregando-se *n*-BuLi como base para abstração do hidrogênio ácido, ligado ao carbono  $\text{sp}$  do alcino. Este íon foi então alquilado facilmente com o haleto de alquila (**3**), permitindo o aumento da cadeia carbônica. Foi necessário a utilização do co-solvente HMPA, que atua na solvatação do cátion deixando o ânion acetilênico livre para reagir com o brometo.<sup>67</sup> O intermediário **5** foi caracterizado pelo seu espectro de massas (Página 63) que apresentou o íon molecular de  $m/z$  336 e pico base de  $m/z$  85. O hidrogênio cetálico do grupamento THP apresentou no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 64) um sinal entre 4,56 – 4,60 ppm. Além disso, foi observado um multipletto entre 2,10 – 2,22 ppm relativo aos quatro hidrogênios ligados aos carbonos vizinhos a ligação tripla. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 64) apresentou um sinal em 98,9 ppm referente ao carbono cetálico e dois sinais dos carbonos quaternários da ligação tripla em 80,2 e 80,4 ppm.

A etapa de desproteção do composto **5** para a formação do 8-heptadecin-1-ol (**6**) foi realizada com 93 % de rendimento. Foi observado no espectro de massas (Página 65) do produto **6** o íon molecular de  $m/z$  252. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 66) apresentou um tripleto em 3,63 ppm com constante de 6,5 Hz, referente aos dois hidrogênios ligados ao carbono  $\alpha$ -hidroxila. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 66) foi possível observar um sinal do carbono carbinólico em 63,0 ppm. O espectro na região do infravermelho (Página 65) apresentou uma banda larga em  $3315\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento da ligação O-H.

O intermediário **6** foi reduzido estereosseletivamente por  $\text{H}_2$  sobre Pd/CaCO<sub>3</sub> (reagente de Lindlar) para formar o (*Z*)-8-heptacen-1-ol (**7**) em 77 % de rendimento. No espectro de massas (Página 67) foi observado um fragmento de  $m/z$  236 ( $\text{M}^+-18$ ), referente a perda de uma molécula de água, característico de álcoois. Os sinais dos dois hidrogênios olefínicos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 68) apareceram na forma de um multiplete em 5,27 – 5,42 ppm, onde não foi possível medir a constante de acoplamento. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 68) observou-se dois sinais em 129,8 e 130,0 ppm relativos aos carbonos olefínicos. Já no espectro na região do infravermelho foi possível verificar a formação da ligação dupla pelo aparecimento de uma banda em  $3004\text{ cm}^{-1}$ , característico de ligações duplas de configuração *Z*, conforme mostra a Figura 18.



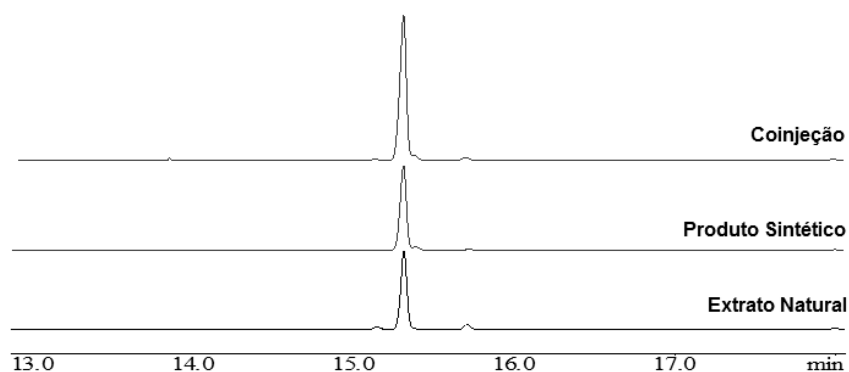
**Figura 18.** Espectro na região do infravermelho do composto **7**.

Para se ter uma ligação dupla terminal, foi necessária a bromação do (*Z*)-8-heptacen-1-ol (**7**) com  $\text{CBr}_4\text{-Ph}_3\text{P}$  para formação do 1-bromo-(8*Z*)-heptadeceno (**8**) em 83 % de rendimento. Na análise por CG-EM foi possível observar a presença do íon molecular de  $m/z$  316 / 318, e fragmentos com mesma intensidade, característico de átomos de bromo na estrutura (Página 69). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 70)

destaca-se o aparecimento de um tripleto com constante de 6,8 Hz, referente aos hidrogênios do carbono ligado ao brometo. O sinal do carbono ligado ao brometo no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 70) apareceu em 34,1 ppm. No espectro na região do infravermelho (Página 69) é possível verificar o desaparecimento da banda característica de alcoóis.

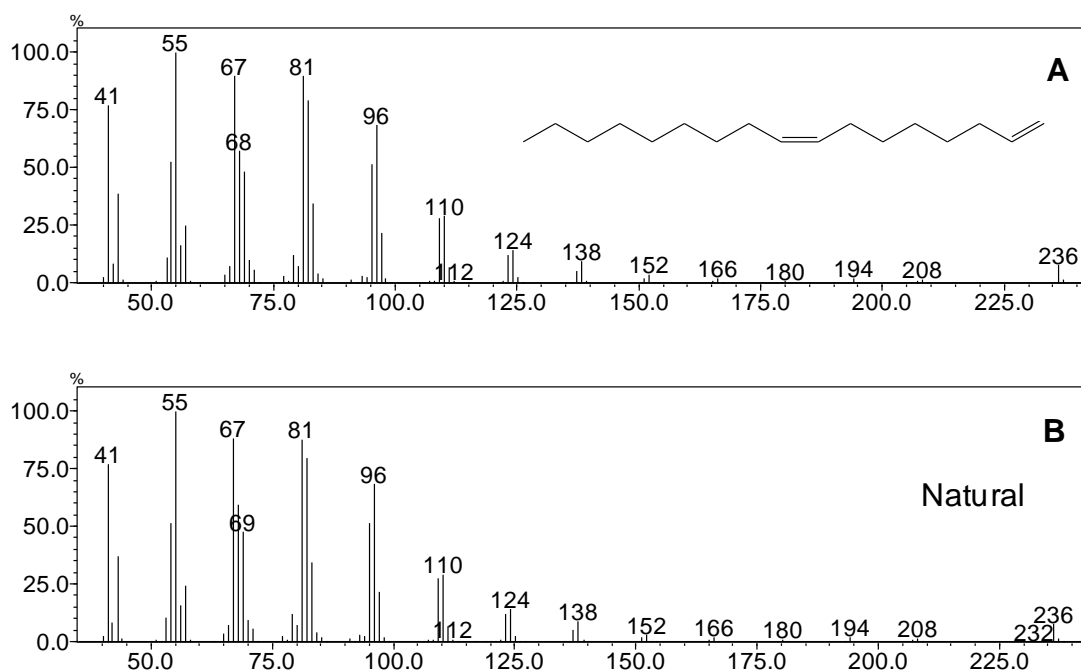
A eliminação do brometo **8** para formação da ligação dupla foi possível com auxílio de uma base forte e impedida, o terc-butóxido de potássio. Houve a formação do (*Z*)-1,8-heptadecadieno (**9**) em 76 % de rendimento. O composto foi caracterizado pelo seu espectro de massas (Página 71) com íon molecular de  $m/z$  264. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Página 72) apresentou um multipletto entre 4,87 – 5,06 ppm referente aos dois hidrogênios metilênicos da ligação dupla terminal e um sinal multipletto entre 5,71 – 5,92 ppm relativo ao outro hidrogênio da ligação dupla terminal, onde novamente não foi possível medir as constantes de acoplamento. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Página 72) foi possível observar a presença do carbono metilênico  $\text{sp}^2$  em 114,2 ppm e um sinal do carbono metínico  $\text{sp}$  em 139,2 ppm. Ao analisar o espectro na região do infravermelho (Página 71) foi possível verificar o aparecimento da banda em  $3079\text{ cm}^{-1}$ , relativo a ligação dupla terminal.

O rendimento global do plano sintético foi de 31 % e por meio da coinjeção do componente macho-específico de *O. discicolle* com o composto **9**, foi verificada a coeluição em três diferentes colunas cromatográficas (RTX-5, RTX-WAX e EC-1), conforme mostra a Figura 19.

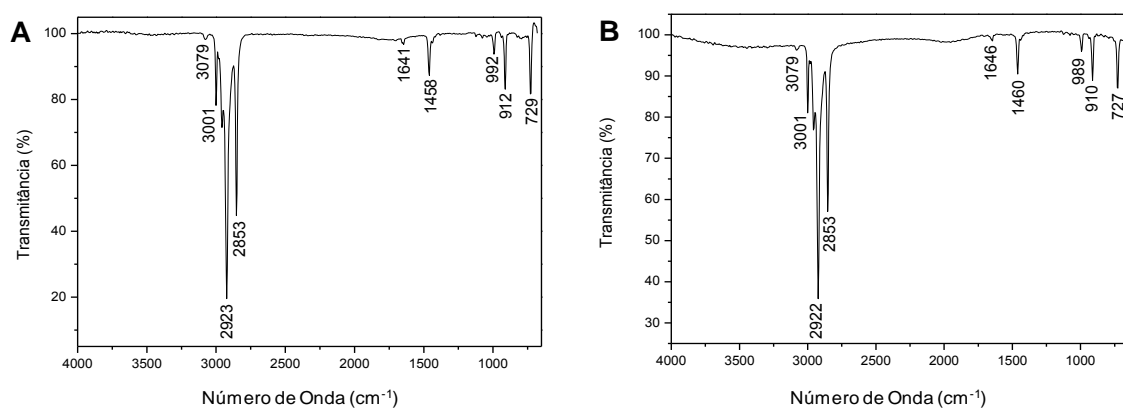


**Figura 19.** Cromatograma resultante da coinjeção em coluna EC-1 do composto produzido pelos machos *O. discicolle* e do (*Z*)-1,8-heptadecadieno.

Ao analisar o espectro de massas da estrutura proposta, verificou-se que o mesmo foi idêntico ao composto natural (Figura 20), assim como o espectro na região do infravermelho (Figura 21), confirmando a estrutura química do componente feromonal majoritário de *O. discicolle* como sendo o (*Z*)-1,8-heptadecadieno. Além disso, foi possível confirmar através da coinjeção do mesmo extrato natural com o padrão sintético comercial, que o componente feromonal minoritário de *O. discicolle* é o 1-heptadeceno.

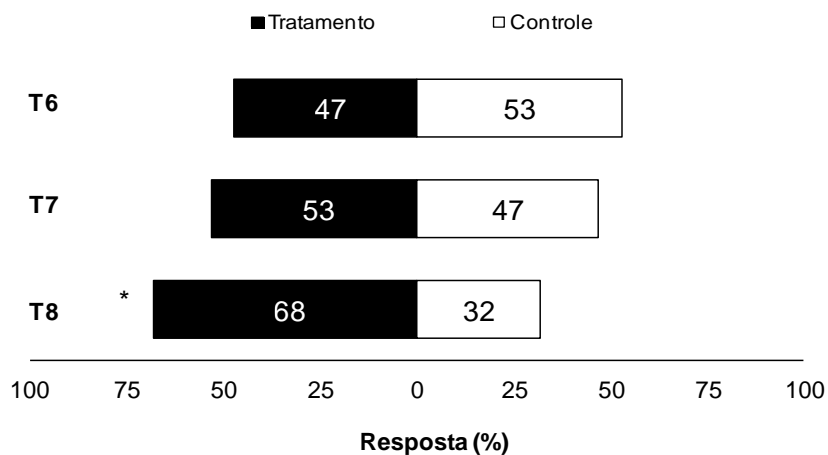


**Figura 20.** Espectros de massas do (*Z*)-1,8-heptadecadieno (A) e do composto macho específico de *O. discicolle* (B).



**Figura 21.** Espectros na região do infravermelho do (*Z*)-1,8-heptadecadieno (A) e do composto macho específico de *O. discicolle* (B).

Bioensaios em olfâmetro em Y foram realizados para verificar a atividade biológica dos compostos sexo-específicos sintéticos frente a fêmeas (Figura 22). No primeiro bioensaio, testou-se apenas o composto macho-específico majoritário ((*Z*)-1,8-heptadecadieno) + extrato da carcaça *versus* extrato da carcaça (controle) (**T6**) e verificou-se que não houve preferência de escolha ( $p = 0,716$ ). Ao testar apenas o composto macho-específico minoritário (1-heptadeceno) + extrato da carcaça *versus* extrato da carcaça (controle) (**T7**) observou-se novamente que as fêmeas não foram atraídas significativamente para nenhum dos braços do olfâmetro ( $p = 0,716$ ).



**T6**= (Z)-1,8-heptadecadieno + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle); **T7**= 1-heptadeceno + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle); **T8**= (Z)-1,8-heptadecadieno + 1-heptadeceno + extrato da carcaça x extrato da carcaça (controle).

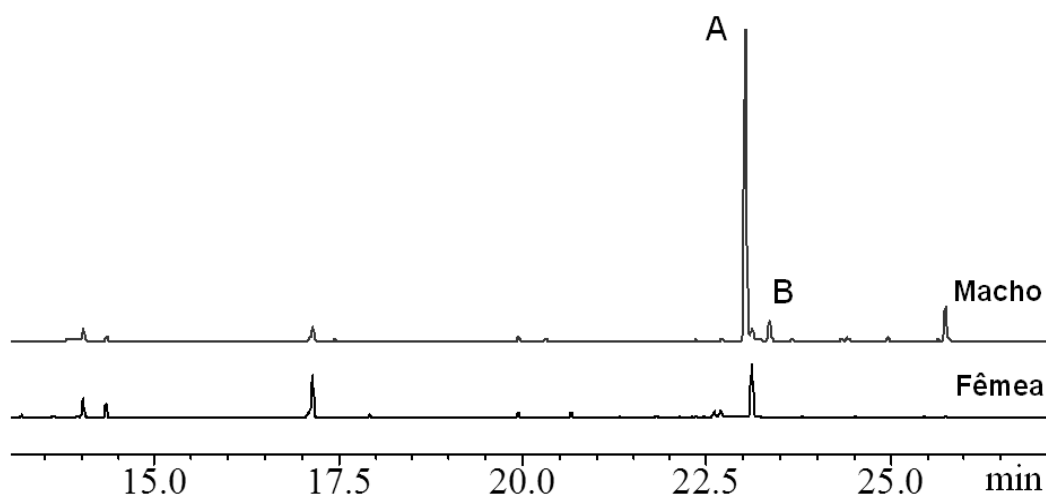
**Figura 22.** Respostas de fêmeas de *O. discicolle* aos compostos feromonais sintéticos e aos voláteis da carcaça de um rato (fase inchada). Os dados foram analisados com o teste Qui-quadrado (\*  $p < 0,05$ , ns –  $p > 0,05$ ).

No terceiro bioensaio, utilizou-se uma mistura dos dois compostos sintéticos (na mesma proporção que a encontrada nos extratos dos voláteis de machos) + extrato da carcaça *versus* extrato de carcaça (controle) (**T8**) e os resultados mostraram que as fêmeas foram significativamente atraídas para a mistura de compostos ( $p = 0,040$ ). Esse conjunto de dados confirmou que ambos os compostos macho-específicos atuam como feromônio sexual.

## 5.2 *Oxelytrum erythrurum*

### 5.2.1 Identificação estrutural

A análise dos voláteis de machos e fêmeas de *O. erythrurum* obtidos na aeração, mostraram também a presença de dois compostos macho-específicos. O composto majoritário (**A**) apresentou índice de Kovats de 1888, 1988 e 1896, enquanto que o componente minoritário (**B**) apresentou o valor de 1897, 1938 e 1932 em coluna RTX-5, RTX-WAX e EC-1, respectivamente (Figura 23).

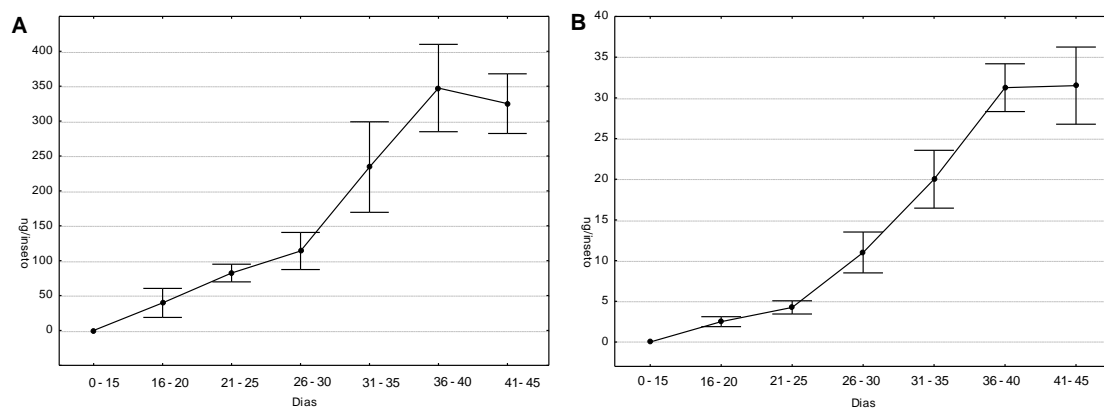


**Figura 23.** Comparação dos cromatogramas de machos e fêmeas de *O. erythrurum*, evidenciando os compostos macho-específicos majoritário e minoritário.

*O. erythrurum* é a segunda espécie mais coletada de Silphidae na América Latina, ocorrendo juntamente com *O. discicolle*. Assim, como ambas as espécies apresentam morfologias intimamente relacionadas, o mesmo tempo de chegada em carcaças e a mesma distribuição geográfica,<sup>18</sup> acredita-se que estes dois compostos encontrados em *O. erythrurum* tratam-se também de feromônio sexual.

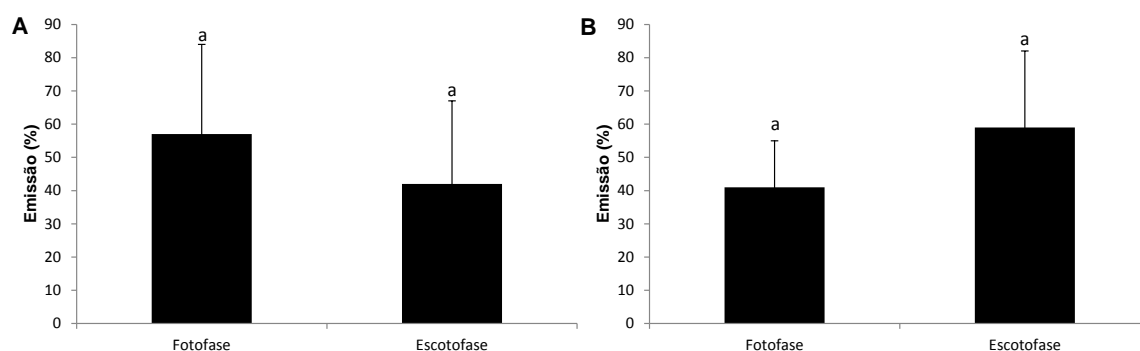
A emissão dos compostos sexo-específicos iniciou-se quando os adultos possuíam 15 dias de idade. Ambos os componentes tiveram suas quantidades aumentadas com o passar dos dias, chegando a um máximo de  $349 \pm 61$  ng/inseto para o composto majoritário (**A**) e  $32 \pm 8$  ng/inseto para o minoritário (**B**) (Figura 24).





**Figura 24.** Emissão dos componentes macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) por machos de *O. erythrurum*.

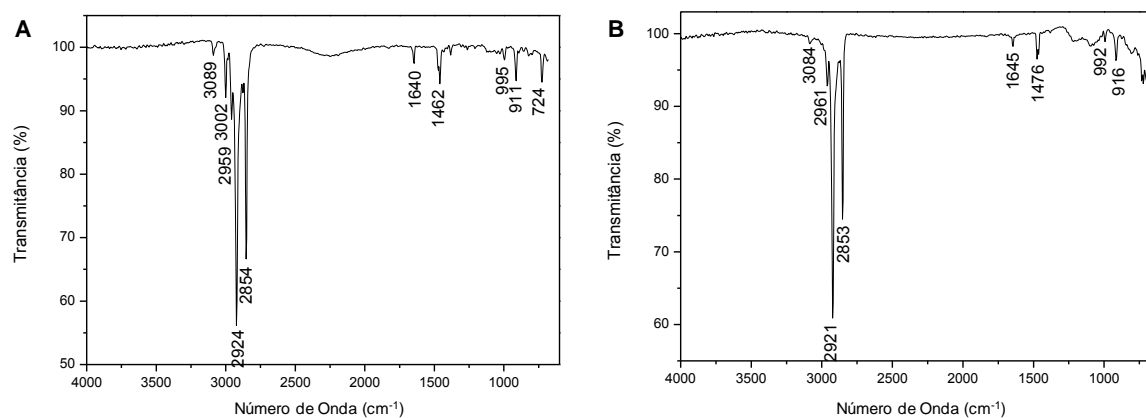
A liberação dos voláteis ocorreu durante a fotofase e escotofase (Figura 25), não havendo diferença significativa entre os períodos ( $p > 0,05$ ).



**Figura 25.** Emissão dos compostos sexo-específicos majoritário (A) e minoritário (B) por machos de *O. erythrurum* na fotofase e escotofase ( $n=6$ ). Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente (teste t,  $p > 0,05$ ).

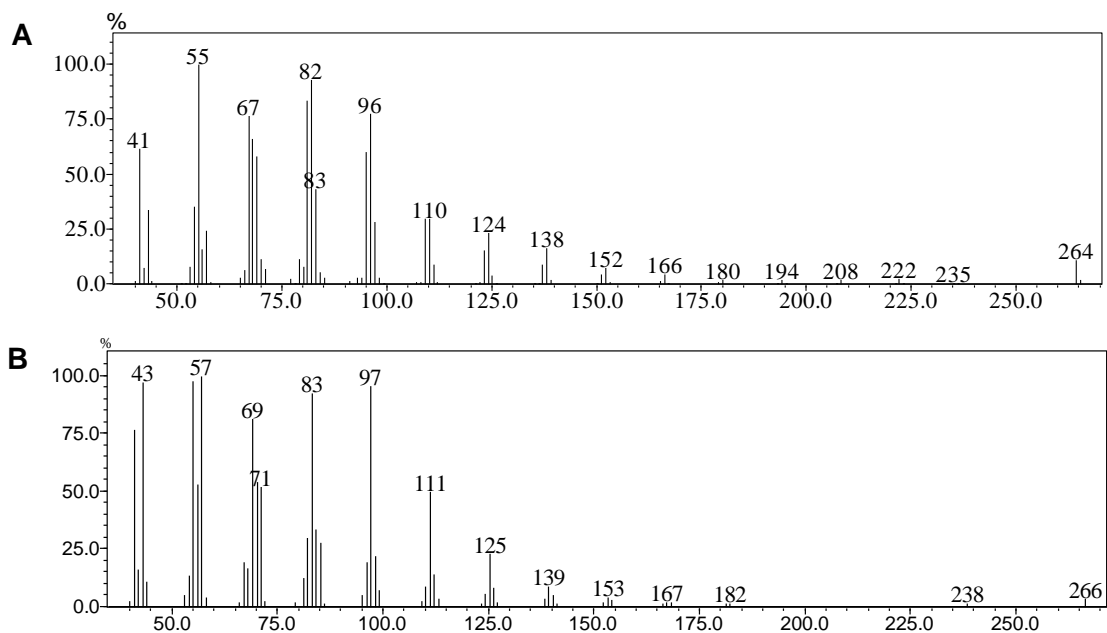
Para a elucidação estrutural dos compostos sexo-específicos foram realizadas análises em CG-EM e CG-IV. No espectro na região do infravermelho do composto majoritário (A) (Figura 26A) é possível verificar a presença de bandas características de hidrocarbonetos entre  $2800$  e  $3000\text{ cm}^{-1}$ . Assim como para a espécie *O. discicolle*, é possível verificar estiramentos característicos de ligação dupla terminal ( $3089$ ,  $1640$ ,  $995$ ,  $911\text{ cm}^{-1}$ ) e ligação dupla com configuração Z ( $3002$ ,  $1640$ ,  $995\text{ cm}^{-1}$ ).

Para o componente minoritário (B) o espectro na região do infravermelho (Figura 26B), mostra bandas em  $3084$ ,  $1645$ ,  $992$  e  $916\text{ cm}^{-1}$ , indicando a presença de uma ligação dupla terminal.



**Figura 26.** Espectro na região do infravermelho dos compostos macho-específicos majoritário (A) e minoritário (B) de *O. erythrurum*.

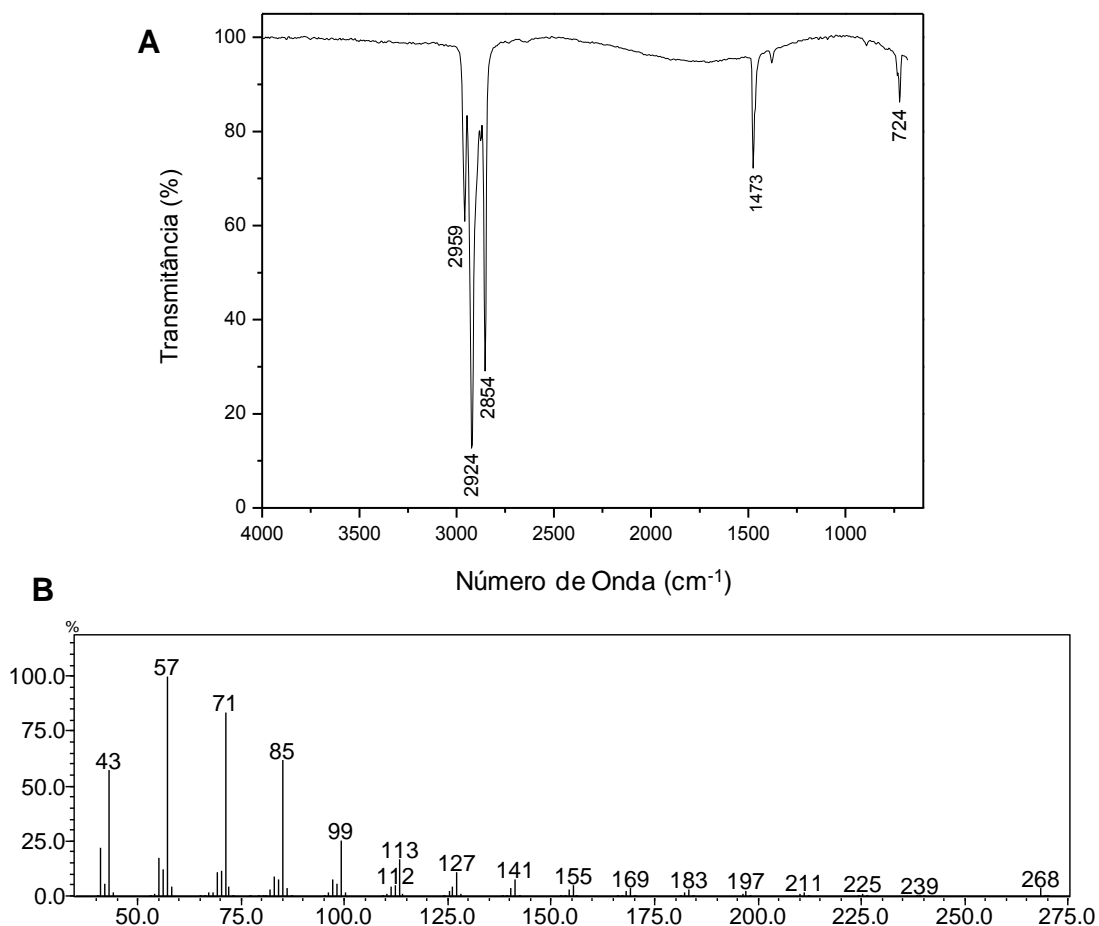
No espectro de massas do composto **A** (Figura 27A) verificou-se o íon molecular de  $m/z$  264 ( $M^+$ ), enquanto que no componente **B** (Figura 27B) observou-se o íon molecular de  $m/z$  266 ( $M^+$ ). Juntamente com as informações obtidas pelo espectro na região do infravermelho, foi proposta uma fórmula molecular de  $C_{19}H_{36}$  para **A** e  $C_{19}H_{38}$  para **B**.



**Figura 27.** Espectro de massas do composto macho-específico majoritário (A) e minoritário (B) de *O. erythrurum*.

Para a comprovação da presença das ligações duplas, foi realizada uma microrreação de hidrogenação catalítica com Pd/C. Verificou-se no espectro na região do

infravermelho referente ao produto hidrogenado (Figura 28A) o desaparecimento dos estiramentos característicos de ligações duplas. No espectro de massas (Figura 28B), observou-se o aumento de quatro unidades de massa em relação ao componente **A** (inserção de quatro hidrogênios) e duas unidades em relação ao **B** (inserção de dois hidrogênios).



**Figura 28.** Espectros na região do infravermelho (A) e massas (B) referente ao produto hidrogenado dos compostos macho-específicos de *O. erythrum*.

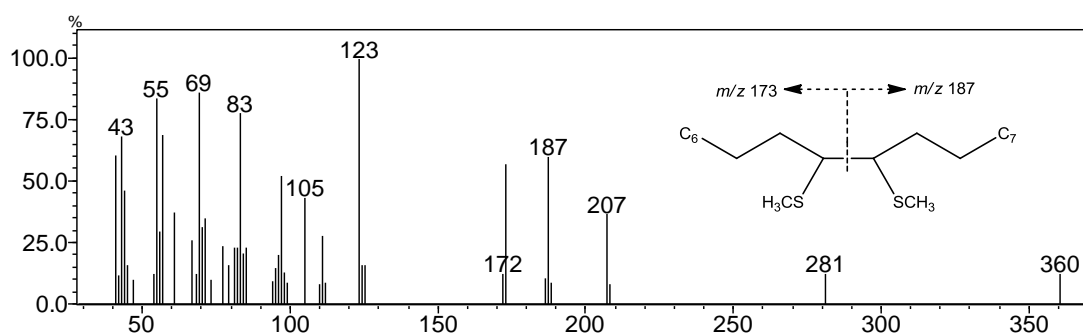
Para confirmar a linearidade do composto, foi realizado a co-injeção do produto hidrogenado com o padrão sintético nonadecano em duas diferentes colunas (RTX-5 e EC-WAX), sendo observado coeluição.

O extrato natural foi, então, submetido a uma microrreação de redução parcial com hidrazina, onde é possível verificar uma grande quantidade da insaturação não terminal no tempo de 20 e 40 minutos. Os dados obtidos na redução parcial estão ilustrados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Proporção relativa dos produtos obtidos da redução parcial com hidrazina dos compostos feromonais de *O. erythrurum*.

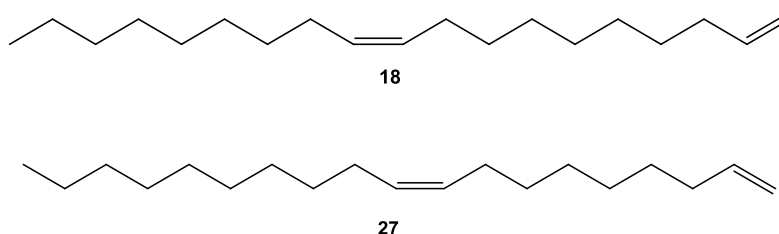
Tempo Reação	Produtos obtidos			
	Duas Insaturações	Insaturação Não Terminal	Insaturação Terminal	Saturado
5 minutos	61,2%	28,2%	5,2%	5,4%
20 minutos	12,2%	65,9%	3,5%	18,4%
40 minutos	4,3%	60,4%	4,7%	30,6%

Com o produto obtido na redução parcial, foi realizada a reação de metilação. Os fragmentos de  $m/z$  173 e  $m/z$  187 sugerem a possibilidade da ligação dupla estar localizada nos carbonos 9 ou 10 (Figura 29).



**Figura 29.** Espectro de massas dos produtos da reação de metilação, evidenciando a posição da ligações duplas nos carbonos 8 ou 9.

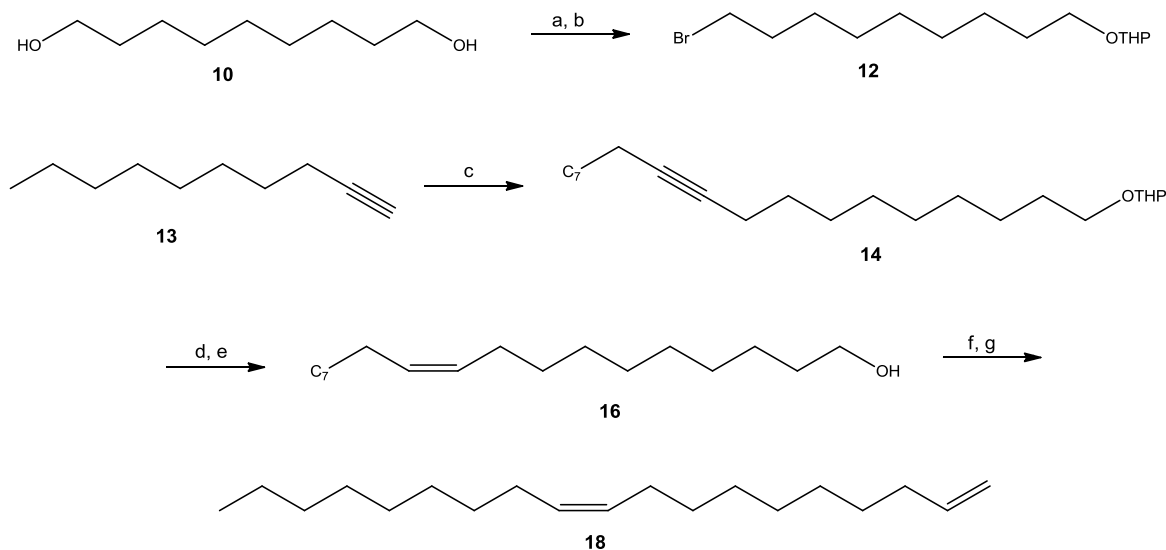
A formação de adutos com o extrato natural (composto diinsaturado) não foi possível, mesmo com alterações na quantidade dos reagentes, tempo e temperatura de reação. Portanto as propostas estruturais para o composto macho-específico majoritário de *O. erythrurum* são (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**) ou (*Z*)-1,9-nonadecadieno (**27**) (Figura 30).



**Figura 30.** Estruturas propostas para o composto macho-específico majoritário liberado por *O. erythrurum*.

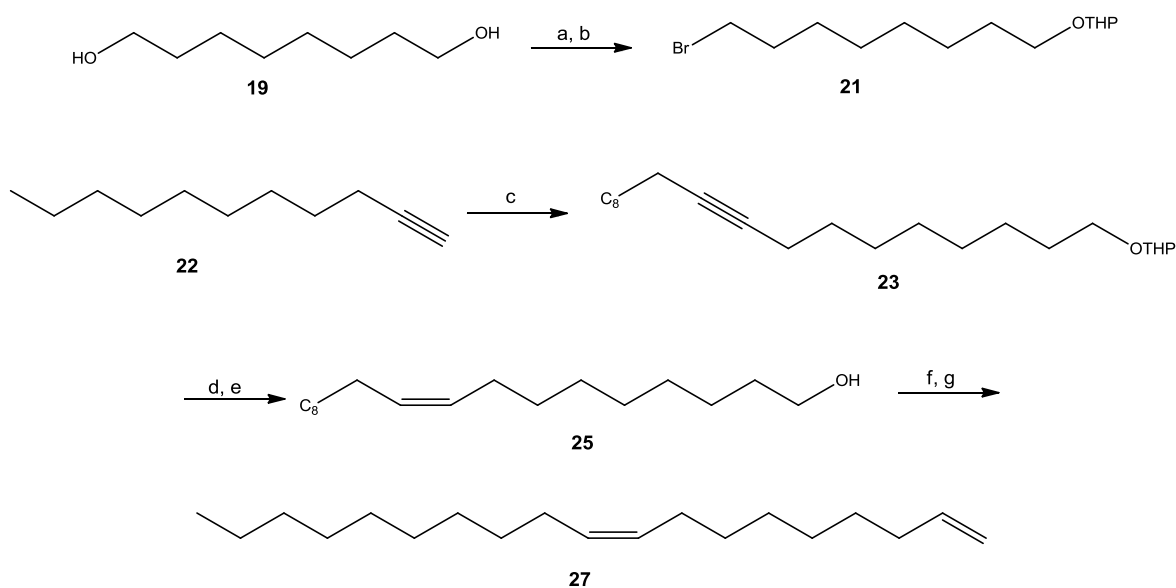
### 5.2.2 Síntese do composto macho-específico majoritário

Para a comprovação estrutural iniciou-se os estudos para a obtenção de ambos os compostos paralelamente. O plano de síntese do (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**) foi o mesmo utilizado para o (*Z*)-1,8-heptadecadieno (**9**), somente com a substituição do 1,7-heptanodiol (**1**) pelo 1,9-nonanodiol (**10**) (Esquema 5).



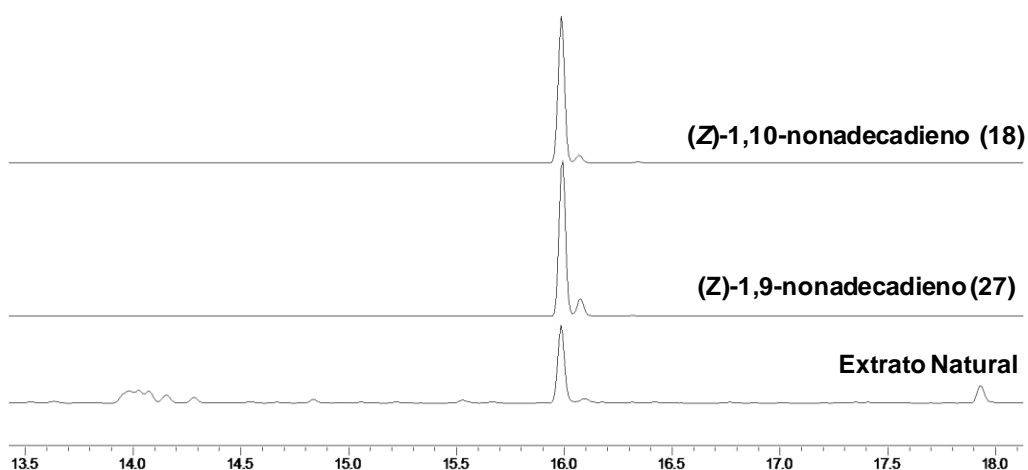
**Esquema 5.** Rota sintética para obtenção do (*Z*)-1,10-nonadecadieno. (a) HBr 48 %, tolueno, 83 %, (b) DHP, *p*TSA, metanol, 89 %, (c) *n*-BuLi, **3**, HMPA, THF, 90 %, (d) *p*TSA, metanol, 92 %, (e) H<sub>2</sub>, Pd/CaCO<sub>3</sub>, metanol, 83 %, (f) CBr<sub>4</sub>, Ph<sub>3</sub>P, DCM, 87 %, (g) *t*-BuOK, benzeno, 79 %.

A síntese da segunda substância proposta seguiu o mesmo plano sintético do utilizado para o (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**), com a substituição dos reagentes de partida por 1,8-octanodiol (**19**) e 1-undecino (**22**) (Esquema 6).



**Esquema 6.** Rota sintética para obtenção do (*Z*)-1,9-nonadecadieno. (a) HBr 48 %, tolueno, 83 %, (b) DHP, *p*TSA, metanol, 89 %, (c) *n*-BuLi, **3**, HMPA, THF, 89 %, (d) *p*TSA, metanol, 91 %, (e) H<sub>2</sub>, Pd/CaCO<sub>3</sub>, metanol, 65 %, (f) CBr<sub>4</sub>, Ph<sub>3</sub>P, DCM, 75 %, (g) *t*-BuOK, benzeno, 79 %.

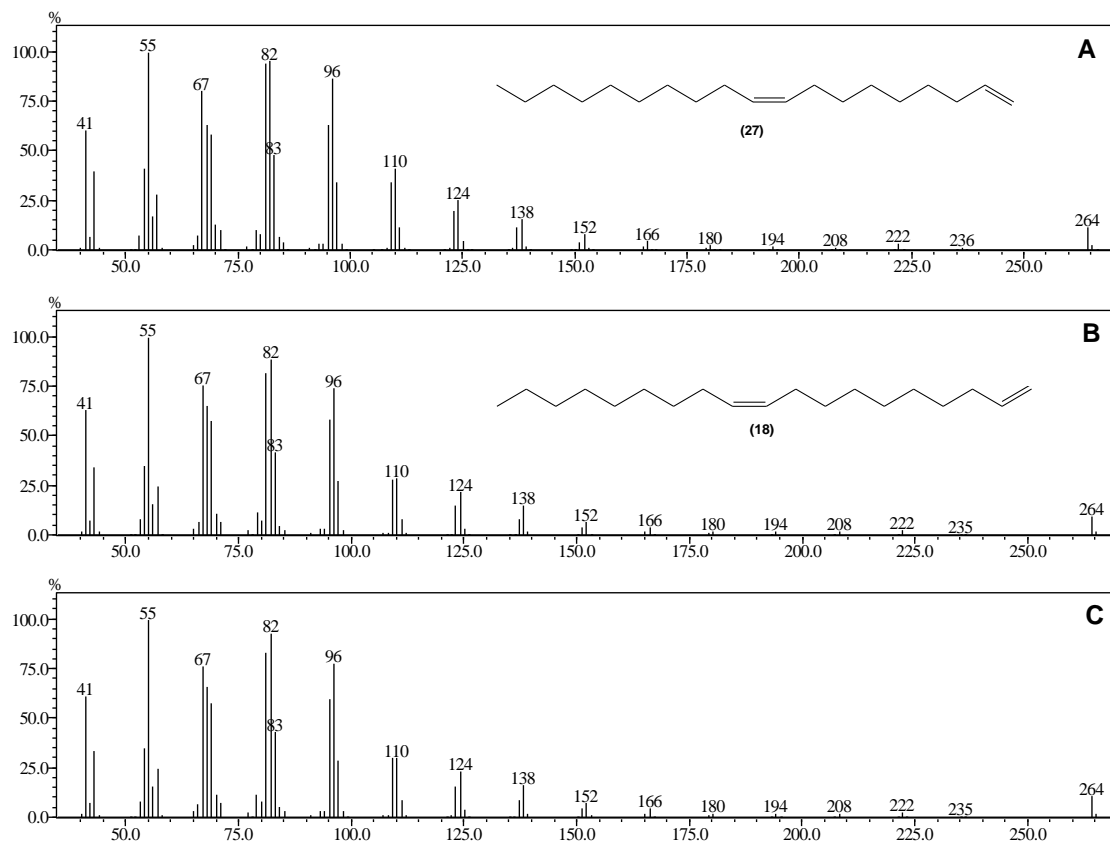
Com ambos os compostos sintéticos obtidos, foi possível verificar que possuem o mesmo tempo de retenção. Ao realizar a coinjeção com o extrato natural em três diferentes colunas (RTX-5, RTX-WAX e EC-1), foi verificado a coeluição tanto para o (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**) quanto para o (*Z*)-1,9-nonadecadieno (**19**) (Figura 31).



**Figura 31.** Cromatograma do composto majoritário produzido pelos machos *O. erythrurum* e dos produtos sintéticos (*Z*)-1,9-nonadecadieno (**27**) e (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**).

Na comparação dos espectros de massas é possível verificar que o composto sintético (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**) possui o mesmo espectro de massas quando

comparado com o constituinte majoritário do extrato natural. Enquanto que o (*Z*)-1,9-nonadecadieno (**27**) mostrou algumas diferenças quanto a intensidade de alguns fragmentos (*m/z* 81/82, *m/z* 109/110, *m/z* 235/236), conforme mostra a Figura 32.

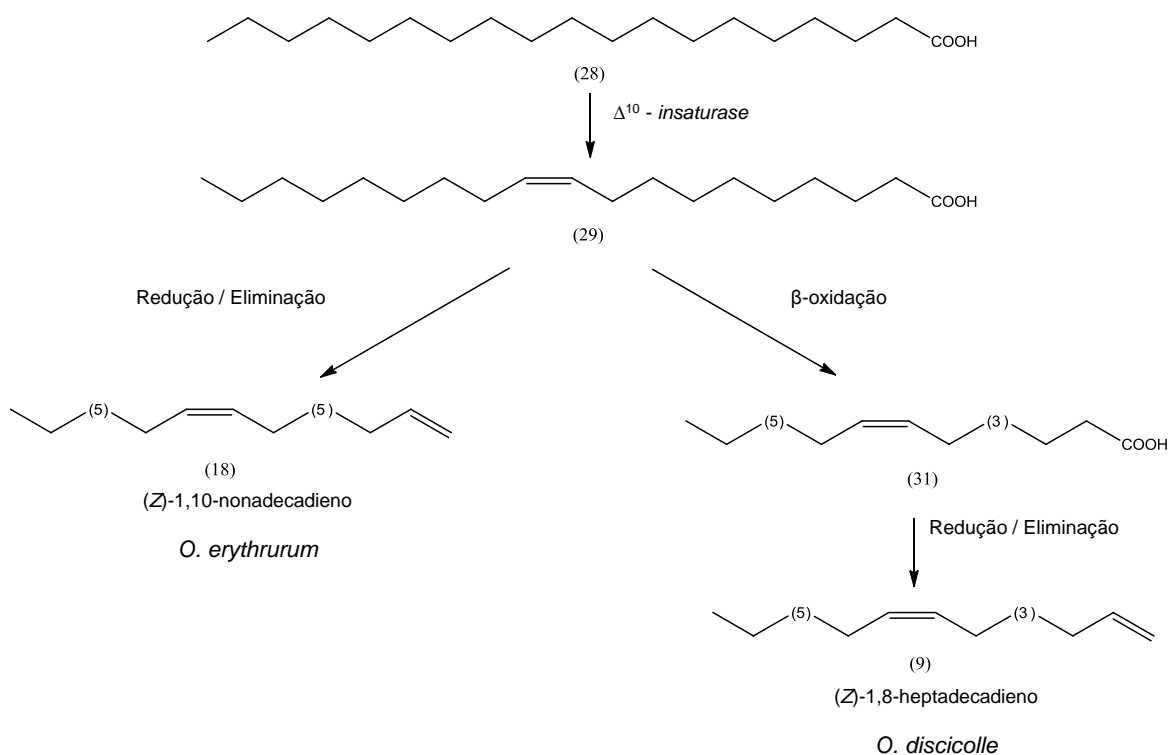


**Figura 32.** Espectros de massas do (*Z*)-1,9-nonadecadieno (**A**), (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**B**) e do composto macho específico de *O. erythrurum* (**C**).

Com esses dados foi possível confirmar que o (*Z*)-1,9-heptadecadieno (**27**) não é o composto natural e a estrutura química do componente majoritário de *O. erythrurum* foi caracterizada como sendo o (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**). Além disso, foi possível confirmar com a coinjeção do padrão sintético comercial, que o componente feromonal minoritário de *O. erythrurum* é o 1-nonadeceno.

De fato, a provável estrutura para o componente majoritário de *O. erythrurum* seria o (*Z*)-1,10-nonadecadieno, se levamos em consideração que este composto seja produzido pela mesma rota biossintética que para *O. discicolle* (Esquema 7). Supõe-se que ambos os compostos são sintetizados pela rota do acetato, partindo-se de um propionato seguido pela adição consecutiva de acetilCoA até o esqueleto de 19 átomos de carbono (**28**). A inserção de uma insaturação no C10 com auxílio da enzima  $\Delta^{10}$ -insaturase, produz o intermediário **29**. Uma reação de redução seguida por eliminação levaria o composto (*Z*)-1,10-nonadecadieno (**18**). Esse mesmo intermediário **29** pode

sofrer uma reação de  $\beta$ -oxidação (perda de dois átomos de carbono), seguida por redução e eliminação, levando ao (*Z*)-1,8-heptadecadieno (**9**).



**Esquema 7.** Proposta de rota biossintética para obtenção do (*Z*)-1,10-nonadecadieno e (*Z*)-1,8-heptadecadieno.

Conforme Perera et al.,<sup>87</sup> hidrocarbonetos normais de cadeia longa (alcanos, alcenos e dienos) são raros em sistemas biológicos e suas origens biossintéticas não são elucidadas. Em estudos com milho, os mesmos autores relatam diversas hipóteses para a biossíntese de alcenos e dienos, nos quais é previsível partir de ácidos graxos. Estas substâncias ocorrem em distintos grupos taxonômicos, por exemplo, em certas algas e micróbios<sup>88-90</sup> e em estruturas celulares (na cutícula das plantas e insetos).<sup>91-92</sup>



## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos voláteis de machos e fêmeas de *O. discicolle* e *O. erythrurum* mostrou a presença de dois compostos macho-específicos para ambas as espécies. Os componentes feromonais foram identificados por meio de coinjeção com padrão comercial e os que não apresentaram padrão disponível comercialmente foram confirmados através da síntese, sendo estes compostos inéditos na literatura.

Além disso, observou-se que os machos de *O. discicolle* são responsáveis por buscar a fonte alimentar e então liberar os componentes feromonais para atrair as fêmeas, que são atraídas apenas pela combinação da fonte alimentar (extrato da carcaça) e os voláteis de machos, caracterizando um sinergismo. Portanto, espera-se que machos de *O. discicolle* cheguem mais cedo do que as fêmeas em cadáveres. Sendo assim, estudos futuros poderão contabilizar a diferença de tempo entre a chegada de machos e fêmeas na estimativa do IPM. Também, o conhecimento de que os machos levam até 18 dias para começar a liberação do feromônio pode ser usado para diferenciar entre machos da primeira onda (aqueles que chegam por primeiro no cadáver), que colonizam o cadáver, daqueles que são descendentes da primeira onda, ou seja, que permaneceram no corpo até que se tornaram adultos. Com isso, é possível estimar a idade dos primeiros adultos machos criados sobre o cadáver, com o lapso de tempo entre a captura do besouro e início da liberação do feromônio. Assim, estes resultados contribuem tanto para a compreensão da ecologia química de *O. discicolle* e seu potencial para tornar as estimativas de IPM mais precisas.

Como as espécies são taxonomicamente semelhantes, o que até mesmo dificulta a identificação por caracteres morfológicos, o estudo do feromônio sexual serve de base para a quimiotaxonomia, ou seja, a identificação destas duas espécies. Cabe ressaltar que estudos ainda são necessários para comprovar a atividade biológica de *O. erythrurum*, assim como, testes em campo para ambas as espécies.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hanski, I. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. *Ecol. Entomol.*, **1987**, 12, 257-266.
2. Hanski, I. Dynamics of regional distribution: the core and satellite species hypothesis. *Oikos*, **1982**, 210-221.
3. Hanski, I.; Gilpin, M. Metapopulation dynamics: brief history and conceptual domain. *Biol. J. Linn. Soc.*, **1991**, 42, 3-16.
4. Putman, R. J. *Carrion and dung: the decomposition of animal wastes*. Edward Arnold, **1983**.
5. Goff, M. L. Estimation of postmortem interval using arthropods development and successional patterns. *Forensic Sci. Rev.*, **1993**, 5, 81-94.
6. Tantawi, T. I.; El-Kady, E. M.; Greenberg, B.; El-Ghaffar, H. A. Arthropod succession on exposed rabbit carrion in Alexandria, Egypt. *J. Med. Entomol.*, **1996**, 33, 566-580.
7. Benecke, M. A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci. Int.*, **2001**, 120, 2-14.
8. Greenberg, B.; Kunich, J. C. *Entomology and the law: flies as forensic indicators*. Cambridge University Press, **2002**.
9. Dekeirsschietter, J.; Verheggen, F. J.; Gohy, M.; Hubrecht, F.; Bourguignon, L.; Lognay, G.; Haubruge, E. Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domesticus* L.) in different biotopes. *Forensic Sci. Int.*, **2009**, 189, 46-53.
10. de Souza, A. S. B.; Kirst, F. D.; Kruger, R. F. Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in Southern Brazil. *Rev. Bras. Entom.*, **2008**, 52, 641-646.
11. Anderson, G. S.; Huitson, N. R. Myiasis in pet animals in British Columbia: The potential of forensic entomology for determining duration of possible neglect. *Can. Vet. J.*, **2004**, 45, 993.
12. Turchetto, M.; Vanin, S. Forensic entomology and climatic change. *Forensic Sci. Int.*, **2004**, 146, S207-S209.
13. Oliveira-Costa, J. *Entomologia Forense: Quando os insetos são vestígios*. Millennium, **2011**.
14. Payne, J. A. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology*, **1965**, 45, 592-602.
15. Battán Horenstein, M.; Linhares, A. X. Seasonal composition and temporal succession of necrophagous and predator beetles on pig carrion in central Argentina. *Med. Vet. Entomol.*, **2011**, 25, 395-401.

16. Anderson, G.; VanLaerhoven, S. Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. *J. Forensic Sci.*, **1996**, 41, 617-625.
17. Byrd, J. H.; Castner, J. L. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. CRC Press, **2009**.
18. Peck, S. B.; Anderson, R. S. Taxonomy, phylogeny and biogeography of the carrion beetles of Latin America (Coleoptera: Silphidae). *Quaest. Entomol.*, **1985**, 21, 247-317.
19. Smith, K. G. *A manual of forensic entomology*. **1986**.
20. Almeida, L. M.; Mise, K. M. Diagnosis and key of the main families and species of South American Coleoptera of forensic importance. *R. Bras. Entom.*, **2009**, 53, 227-244.
21. Haberer, W.; Schmitt, T.; Schreier, P.; Müller, J. K. Intended and unintended receivers of the male pheromones of the burying beetles *Nicrophorus humator* and *Nicrophorus vespilloides*. *Entomol. Exp. App.*, **2011**, 140, 122-126.
22. Eggert, A. K.; Müller, J. Pheromone-mediated attraction in burying beetles. *Ecol. Entomol.*, **1989**, 14, 235-237.
23. Nascimento, R. R.; Sant'Ana, A. E. G. *Feromônios de insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas*. Holos editor, Riberão Preto, **2001**.
24. Stiling, P. D. *Ecology: Theories and Applications*. Prentice Hall, **1996**.
25. Francke, W.; Dettner, K., Chemical signalling in beetles. In *The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals II*, Springer: **2005**; pp 85-166.
26. Haberer, W.; Schmitt, T.; Peschke, K.; Schreier, P.; Müller, J. K. Ethyl 4-methyl heptanoate: a male-produced pheromone of *Nicrophorus vespilloides*. *J. Chem. Ecol.*, **2008**, 34, 94-98.
27. Birch, M. C.; Haynes, K. F. *Insect pheromones*. Edward Arnold, London, **1982**.
28. Tasin, M.; Anfora, G.; Ioriatti, C.; Carlin, S.; De Cristofaro, A.; Schmidt, S.; Bengtsson, M.; Versini, G.; Witzgall, P. Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. *J. Chem. Ecol.*, **2005**, 31, 77-87.
29. Zarbin, P. H. G.; Rodrigues, M. A. C. M.; Lima, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. *Quím. Nova*, **2009**, 32, 722-731.
30. Todd, J. L.; Baker, T. C. The cutting edge of insect olfaction. *Am. Entomol.*, **1997**, 43, 174-182.
31. Vogt, R. G., Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. In Bloomquist, G.; Vogt, R., Eds. Elsevier: London, **2003**; p 391.

32. Blomquist, G. J., Biosynthesis of cuticular hydrocarbons. In *Insect pheromone Biochemistry and Molecular Biology: the biosynthesis and detection of insect pheromones and plant volatiles*, Breer, H.; Krieger, J., Eds. Elsevier: Oxford, **2003**; p 492.
33. Dicke, M.; Sabelis, M. W. Infochemical terminology: should it be based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Funct. Ecol.*, **1988**, 2, 131.
34. Karlson, P.; Lüscher, M. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, **1959**, 183, 55-56.
35. Anderson, G. The use of insects in death investigations: an analysis of cases in British Columbia over a five year period. *Can. Soc. Forensic Sci. J.*, **1995**, 28, 277-284.
36. Erzinçlioglu, Y. Z. *Maggots, Murder and Men: memories and reflections of a forensic entomologist*. Harley Press Books, Colchester, **2000**.
37. Keiper, J. B.; Casamatta, D. A. Benthic organisms as forensic indicators. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, **2001**, 20, 311-324.
38. Hobischak, N. R.; Anderson, G. S. Time of submergence using aquatic invertebrate succession and decompositional changes. *J. Forensic Sci.*, **2002**, 47, 142-151.
39. Oliveira-costa, J.; De Mello-Patiu, C. A. Application of forensic entomology to estimate of the post-mortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. *Internet J. Forensic Med. Toxicol.*, **2004**, 5, 40-44.
40. Catts, E. P.; Haskell, N. H. *Entomology & Death: A Procedural Guide*. Joyce's Print Shop, Inc., Clemson, South Carolina, **1990**.
41. Gennard, D. E. *Forensic entomology: an introduction*. West Sussex, **2007**.
42. Bornemissza, G. F. An analysis of arthropod succession in corion and the effect of its decomposition on the soil fauna. *Aust. J. Zool.*, **1957**, 5, 1-12.
43. Amendt, J.; Goff, M. L.; Campobasso, C. P.; Grassberger, M. *Current Concepts in Forensic Entomology*. Springer Dordrecht Heidelberg, London, New York, **2010**.
44. Arnaldos, M. I.; Sánchez, F.; Álvarez, P.; García, M. D. A forensic entomology case from the Southeastern Iberian Peninsula. *Internet J. Forensic Med. Toxicol.*, **2004**, 5, 22-25.
45. Leccese, A. Insects as forensic indicators: methodological aspects. *Internet J. Forensic Med. Toxicol.*, **2004**, 26-32.
46. Mise, K. M.; Almeida, L. M.; Moura, M. O. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. *Rev. Bras. Entom.*, **2007**, 51, 358-368.
47. Ferreira, P. S. F.; Pires, E. M.; Guedes, R. N. C.; Mendes, M.; Coelho, L. A. Seasonal abundance and sexual variation in morphometric traits of *Oxelytrum discicolle*

(Brulle, 1840) (Coleoptera: Silphidae) in a Brazilian Atlantic Forest. *Biota Neotropica*, **2006**, 6, 1-4.

48. Midgley, J. M.; Villet, M. H. Development of *Thanatophilus micans* (Fabricius 1794) (Coleoptera: Silphidae) at constant temperatures. *Int. J. Leg. Med.*, **2009**, 123, 285-292.

49. Braack, L. Arthropods associated with carcasses in the northern Kruger National Park. *S. A. J. Wildlife Res.*, **1986**, 16, 91-98.

50. Bourel, B.; Martin-Bouyer, L.; Hedouin, V.; Cailliez, J. C.; Derout, D.; Gosset, D. Necrophilous insect succession on rabbit carrion in sand dune habitats in northern France. *J. Med. Entomol.*, **1999**, 36, 420-425.

51. Shea, J. A survey of the Coleoptera associated with carrion at sites with varying disturbances in Cuyahoga County, Ohio. *Ohio J. Sci.*, **2005**, 105, 17-20.

52. Tabor, K. L.; Brewster, C. C.; Fell, R. D. Analysis of the successional patterns of insects on carrion in southwest Virginia. *J. Med. Entomol.*, **2004**, 41, 785-795.

53. Watson, E. J.; Carlton, C. E. Insect succession and decomposition of wildlife carcasses during fall and winter in Louisiana. *J. Med. Entomol.*, **2005**, 42, 193-203.

54. Liria Salazar, J. Insectos de importancia forense en cadáveres de ratas, Carabobo-Venezuela. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Publica*, **2006**, 23, 33-38.

55. Velásquez, Y.; Vilorio, A. L. Effects of temperature on the development of the Neotropical carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Brullé, 1840) (Coleoptera: Silphidae). *Forensic Sci. Int.*, **2009**, 185, 107-109.

56. Moura, M. O.; Carvalho, C. J.; Monteiro-Filho, E. L. A. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **1997**, 92, 269-274.

57. Carvalho, L. M. L.; Thyssen, P. J.; Linhares, A. X.; Palhares, F. A. B. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2000**, 95, 135-138.

58. Centeno, N.; Maldonado, M.; Oliva, A. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Sci. Int.*, **2002**, 126, 63-70.

59. Oliva, A. Insects of forensic significance in Argentina. *Forensic Sci. Int.*, **2001**, 120, 145-154.

60. Oliva, A. Description of the larva of *Oxelytrum erythrurum* (Blanchard, 1849) (Coleoptera: Silphidae). *Bull. Ann. Soc. R. Belge Ent.*, **2004**, 140, 141-144.

61. Zarbin, P. H. G.; Ferreira, J. T. B.; Leal, W. S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. *Quím. Nova*, **1999**, 22, 263-268.

62. Lubeck, A. J.; Sutton, D. L. Kovats retention indices of selected hydrocarbons through C10 on bonded phase fused silica capillaries. *J. High Resol. Chromatogr.*, **1983**, 6, 328-332.
63. Attygalle, A. B., Microderivatization. In *Methods in Chemical Ecology*, Millar, J. G.; Haynes, K. F., Eds. Chapman & Hall: New York, **1998**; p 207.
64. Jham, G. N.; Attygalle, A. B.; Meinwald, J. Location of double bonds in diene and triene acetates by partial reduction followed by methylthiolation. *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1077, 57-67.
65. Chong, J. M.; Heuft, M. A.; Rabbat, P. Solvent effects on the monobromination of  $\alpha$ ,  $\omega$ -diols: a convenient preparation of  $\omega$ -bromoalkanols. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 5837-5838.
66. Santangelo, E. M.; Coracini, M.; Witzgall, P.; Correa, A.; Unelius, C. R. Identification, syntheses, and characterization of the geometric isomers of 9, 11-hexadecadienal from female pheromone glands of the sugar cane borer *Diatraea saccharalis*. *J. Nat. Prod.*, **2002**, 65, 909-915.
67. Kang, S. K.; Park, S. K. A stereoselective synthesis of (*Z*, *Z*)-3,13-octadecadien-1-yl acetate, and its (*E*, *Z*)-isomer, the sex pheromone of the cherry tree borer, *Synanthedon Hector* Butler. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **1988**, 9, 149-152.
68. Zarbin, P. H. G.; Lorini, L. M.; Ambrogi, B. G.; Vidal, D. M.; Lima, E. R. Sex pheromone of *Lonomia obliqua*: daily rhythm of production, identification, and synthesis. *J. Chem. Ecol.*, **2007**, 33, 555-565.
69. Overman, L. E.; Brown, M. J.; Mccann, S. F. (*Z*)-4-(TRIMETHYLSILYL)-3-BUTEN-1-OL. *Org. Synth.*, **1993**, 8, 609-613.
70. Hu, T. S.; Yu, Q.; Wu, Y. L.; Wu, Y. Enantioselective syntheses of monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins tonkinecin and annonacin starting from carbohydrates. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 853-861.
71. Manabe, Y.; Minamikawa, M. J.; Otsubo, J.; Tamaki, Y. Improved synthesis of 14-methyl-1-octadecene, the sex pheromone of the peach leafminer moth. *Agric. Biol. Chem.*, **1985**, 49, 1205-1206.
72. Pukowski, E. Okologische Untersuchungen an *Necrophorus* F. *Z. Morph. Ökol. Tiere*, **1933**, 27, 518-586.
73. Beeler, A. E.; Rauter, C. M.; Moore, A. J. Pheromonally mediated mate attraction by males of the burying beetle *Necrophorus orbicollis*: alternative calling tactics conditional on both intrinsic and extrinsic factors. *Behav. Ecol.*, **1999**, 10, 578-583.
74. von Hoermann, C.; Ruther, J.; Ayasse, M. The attraction of virgin female hide beetles (*Dermestes maculatus*) to cadavers by a combination of decomposition odour and male sex pheromones. *Front. Zool.*, **2012**, 9, 18-33.

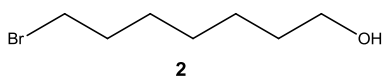
75. Smith, B. C. *Infrared spectral interpretation: a systematic approach*. CRC Press, New York, **1999**.
76. Pouchert, C. J. *The Aldrich Library of FT-IR Spectra: Vapor phase*. Aldrich Chemical Company, Inc., **1989**, Vol. 3.
77. Nyquist, R. A. *The Interpretation of Vapor-Phase Infrared Spectra: Group Frequency Data*. **1984**.
78. Attygalle, A. B.; Svatos, A.; Wilcox, C.; Voerman, S. Gas-phase infrared spectroscopy for determination of double-bond configuration of some polyunsaturated pheromones and related compounds. *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 1558-1567.
79. Attygalle, A. B.; Svatos, A.; Wilcox, C.; Voerman, S. Gas-phase infrared spectroscopy for determination of double bond configuration of monounsaturated compounds. *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 1696-1703.
80. Attygalle, A. B. Gas phase infrared spectroscopy in characterization of unsaturated natural products. *Pure Appl. Chem.*, **1994**, 66, 2323-2323.
81. Svatos, A.; Attygalle, A. B. Characterization of Vinyl-Substituted, Carbon-Carbon Double Bonds by CG/FT-IR Analysis. *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 1827-2834.
82. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley & Sons, Inc., New York, **2005**.
83. Corey, E. J.; Mock, W. L.; Pasto, D. J. Chemistry of diimide. Some new systems for the hydrogenation of multiple bonds. *Tetrahedron Lett.*, **1961**, 2, 347-352.
84. Attygalle, A. B.; Jham, G. N.; Svatoš, A.; Frighetto, R. T. S.; Ferrara, F. A.; Vilela, E. F.; Uchôa-Fernandes, M. A.; Meinwald, J. (3E, 8Z, 11Z)-3, 8, 11-Tetradecatrienyl acetate, major sex pheromone component of the tomato pest *Scrobipalpuloidea absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bioorg. Med. Chem.*, **1996**, 4, 305-314.
85. Nesbitt, B. F.; Beevor, P. S.; Cole, R. A.; Lester, R.; Poppi, R. G. Synthesis of both geometric isomers of the major sex pheromone of the red bollworm moth. *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 14, 4669-4670.
86. Francis, G. W.; Veland, K. Alkylthiolation for the determination of double-bond positions in linear alkenes. *J. Chromatogr.*, **1981**, 219, 379-386.
87. Perera, M. A. D. N.; Qin, W.; Yandeau-Nelson, M.; Fan, L.; Dixon, P.; Nikolau, B. J. Biological origins of normal-chain hydrocarbons: a pathway model based on cuticular wax analyses of maize silks. *Plant Journal*, **2010**, 64, 618-632.
88. Han, J.; Calvin, M. Hydrocarbon distribution of algae and bacteria, and microbiological activity in sediments. *Proc. Natl. Acad. Sci*, **1969**, 64, 436-443.
89. Han, J.; Chan, H. W.; Calvin, M. Biosynthesis of alkanes in *Nostoc muscorum*. *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 5156-5159.

90. Banerjee, A.; Sharma, R.; Chisti, Y.; Banerjee, U. C. Botryococcus braunii: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Crit. Rev. Biotechnol.*, **2002**, *22*, 245-279.
91. Kolattukudy, P. E.; Walton, T. J. The biochemistry of plant cuticular lipids. *Prog. Chem. Fats Other Lipids*, **1973**, *13*, 119-175.
92. Andersen, S. O. Biochemistry of insect cuticle. *Ann. Rev. Entomol.*, **1979**, *24*, 29-62.

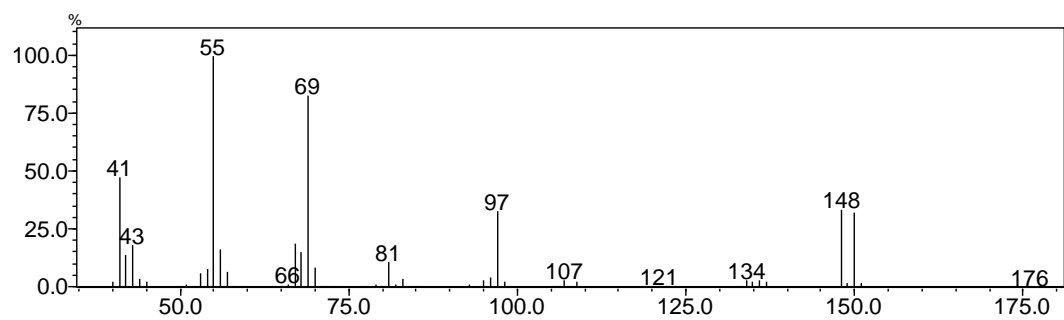


**ESPECTROS SELECCIONADOS PARA A SÍNTESE DO (Z)-1,8-HEPTADECADIENO**

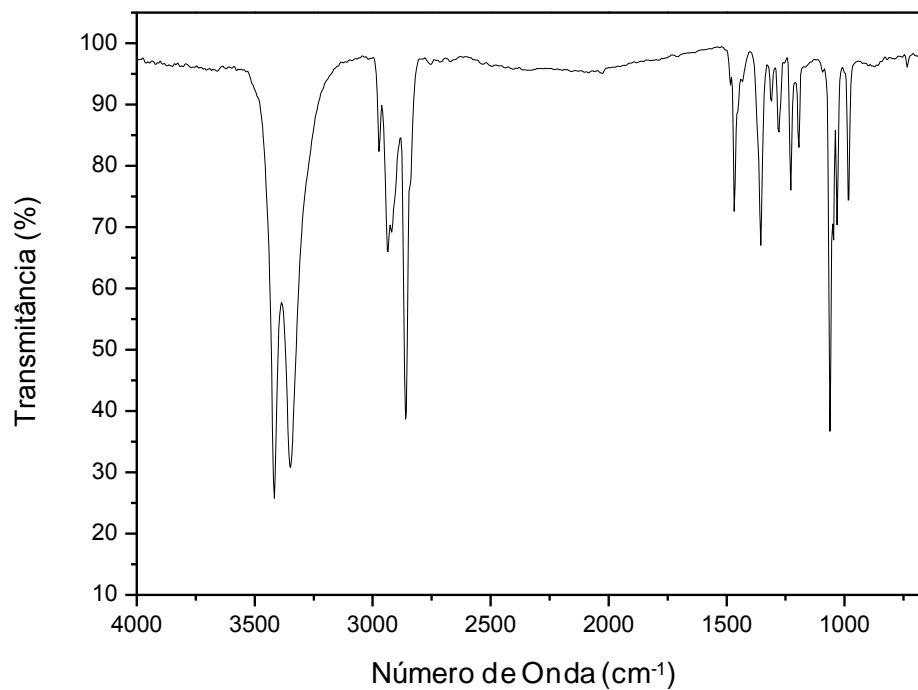
## 7-bromoheptan-1-ol (2)



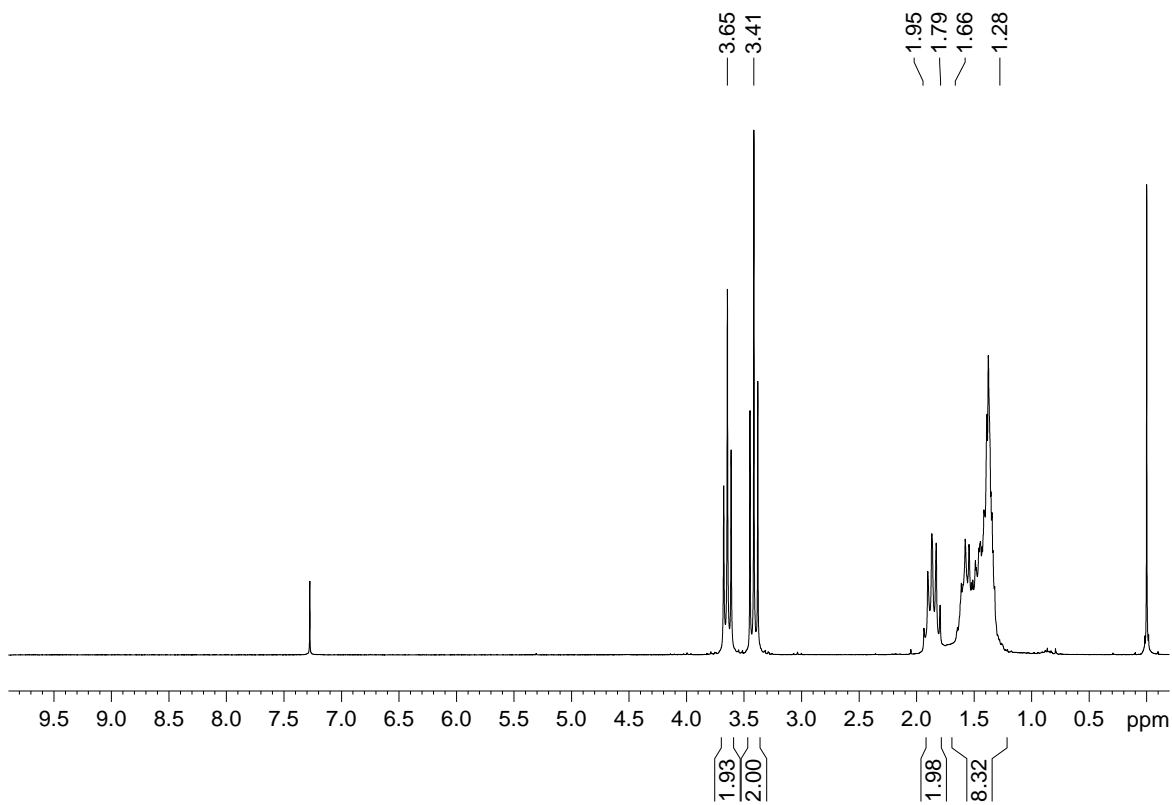
### Espectro de massas do composto 2



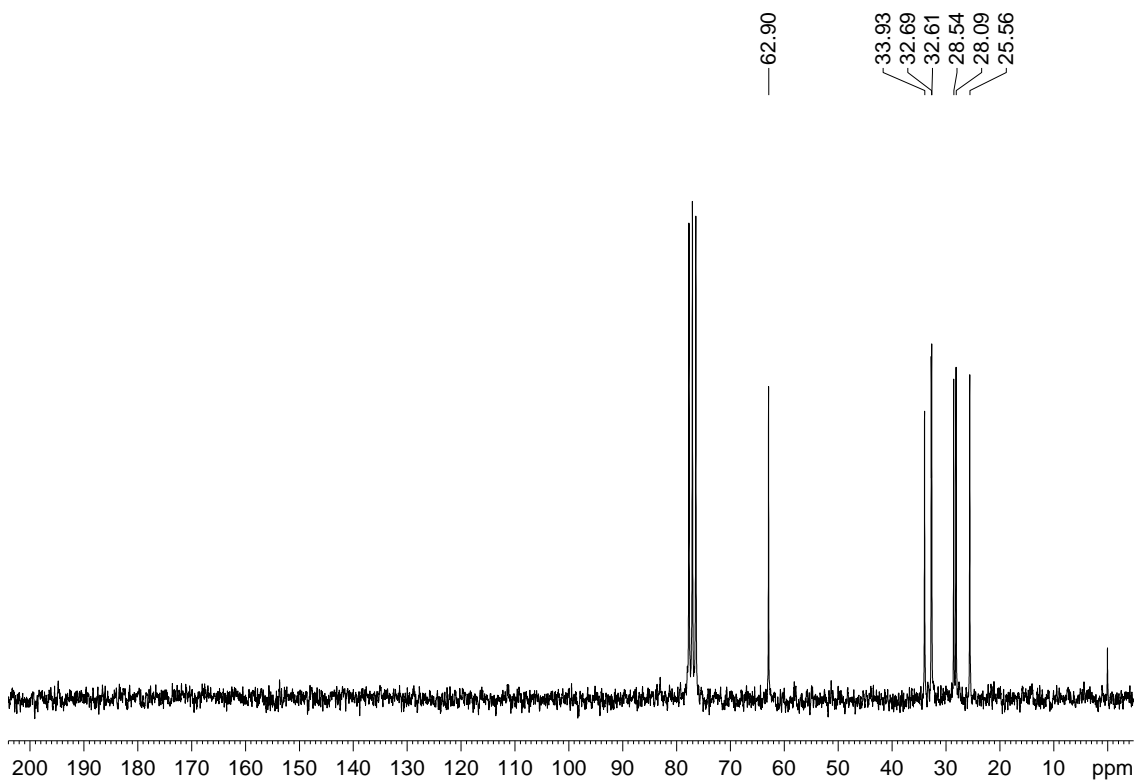
### Espectro na região do infravermelho do composto 2



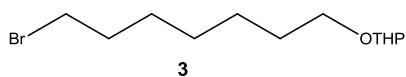
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 2



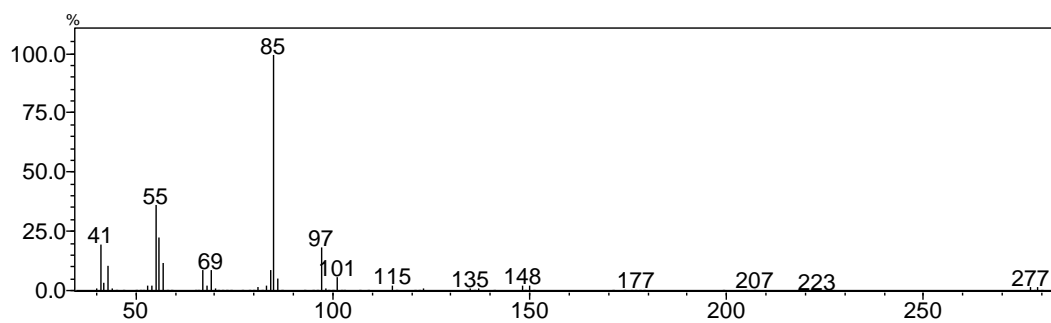
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 2



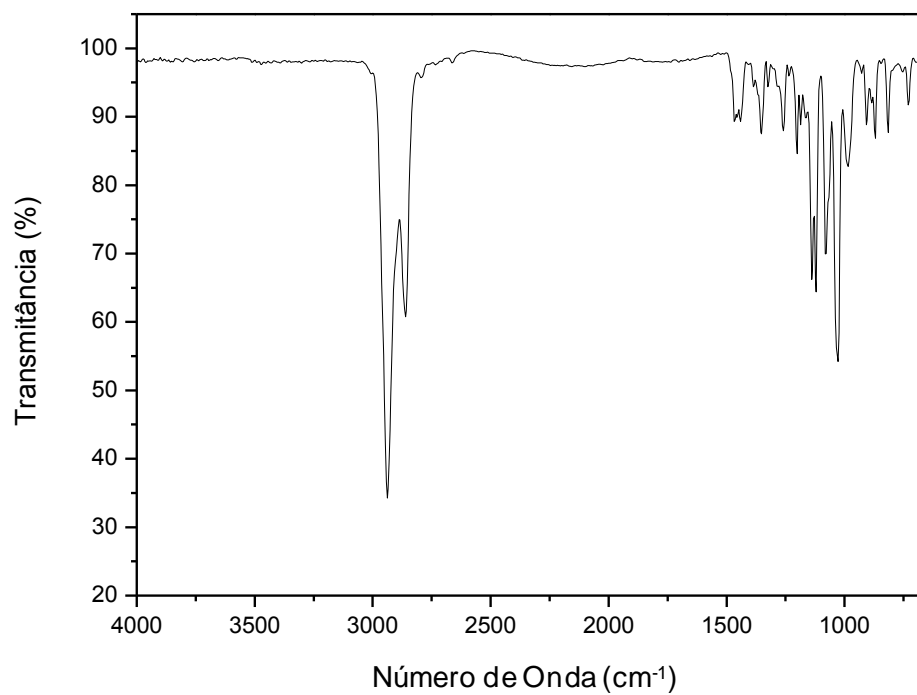
### 2-(7-bromoetiloxi)-tetraidro-2H-pirano (3)



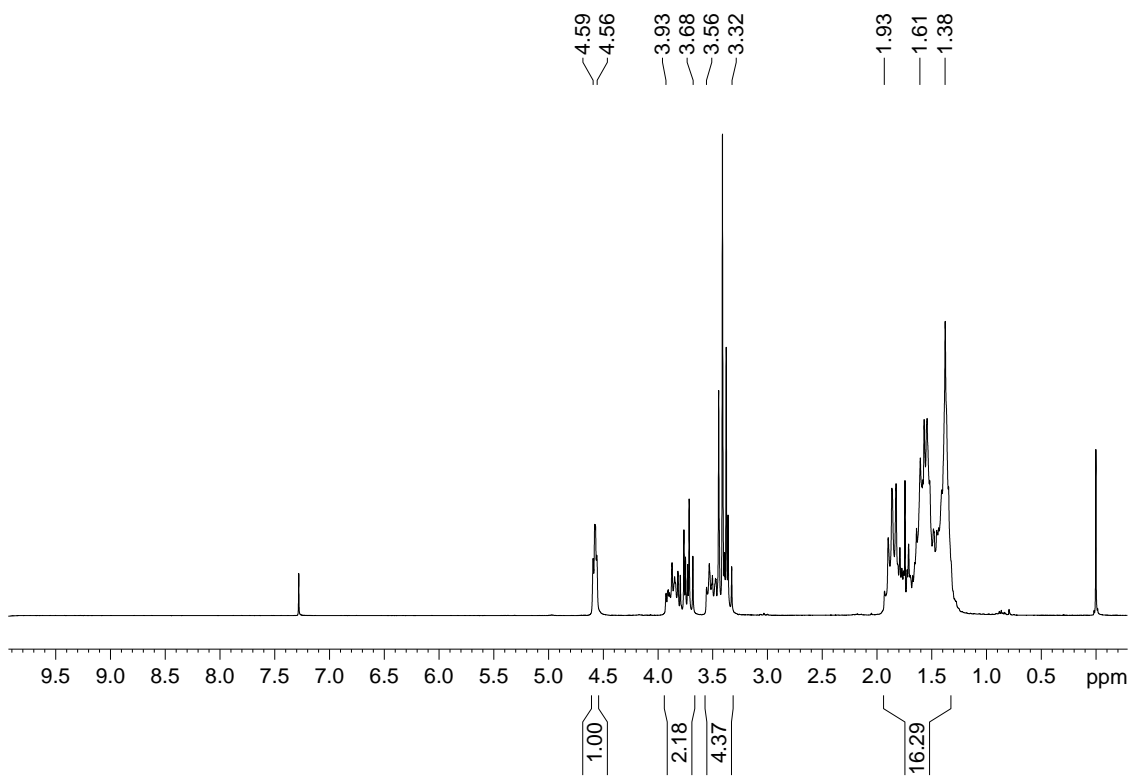
### Espectro de massas do composto 3



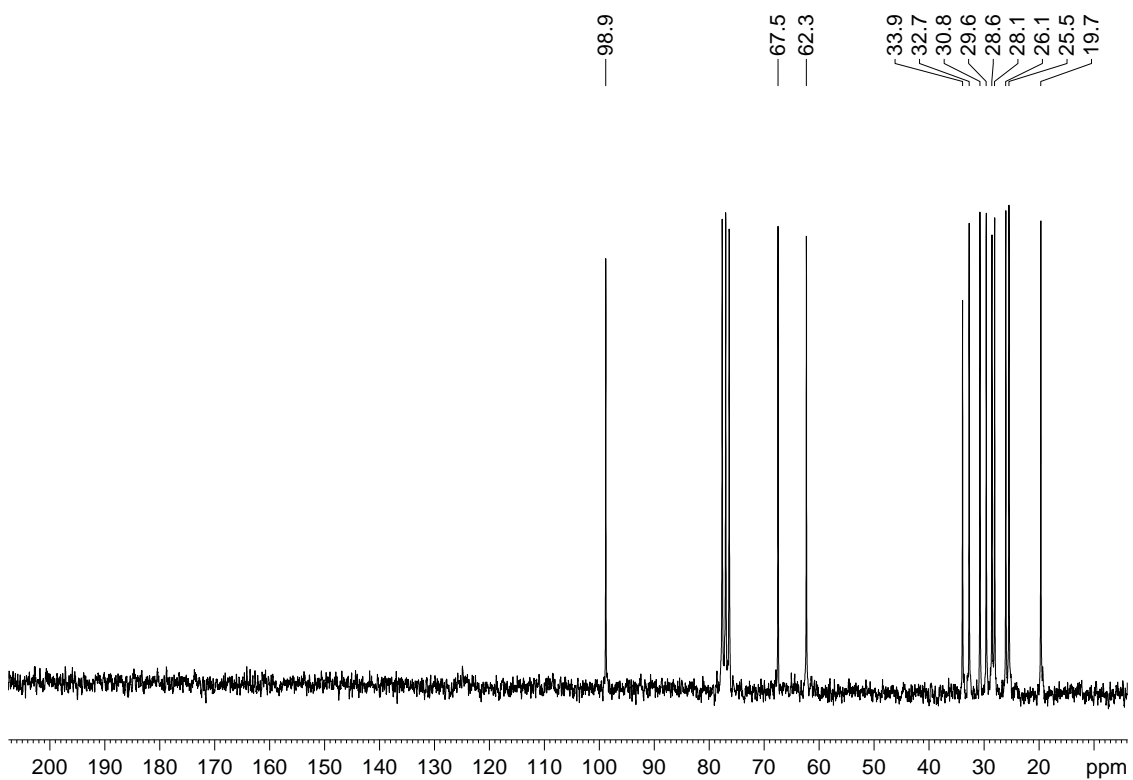
### Espectro na região do infravermelho do composto 3



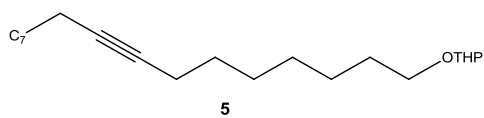
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 3



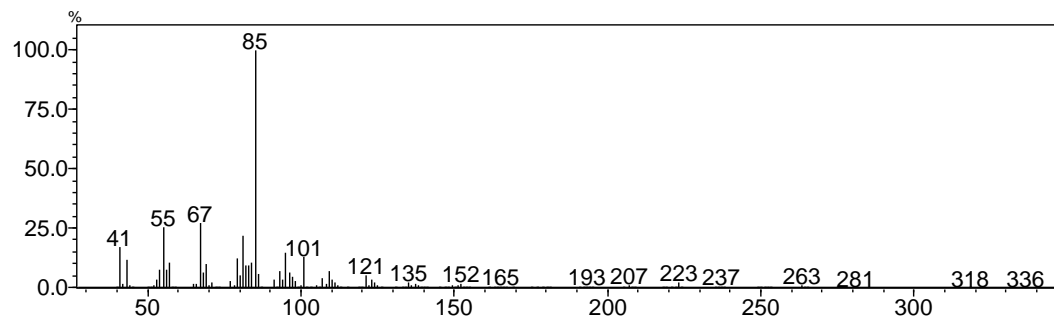
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 3



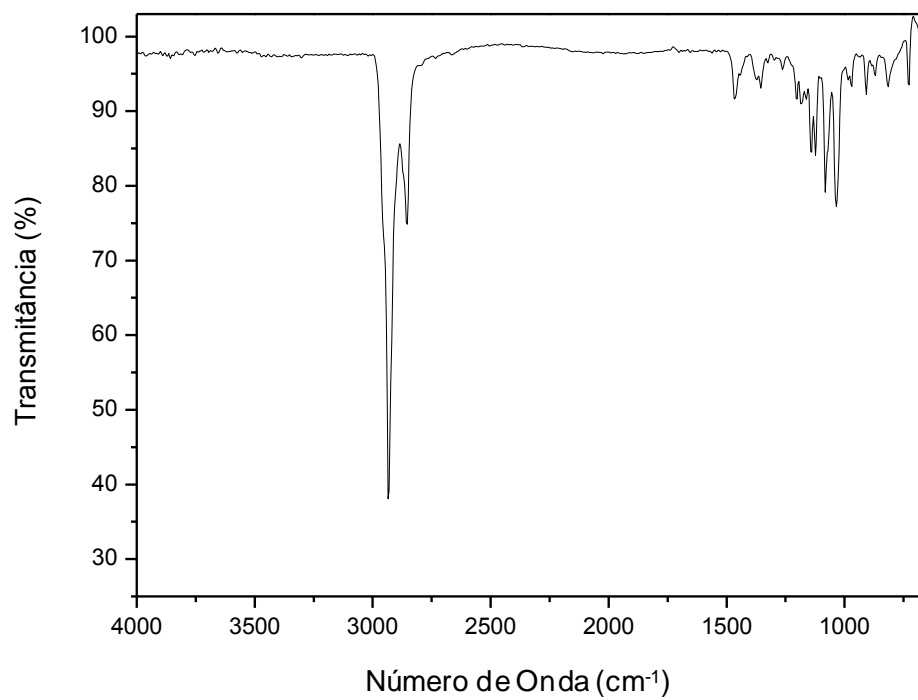
## 2-(heptadec-8-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (5)



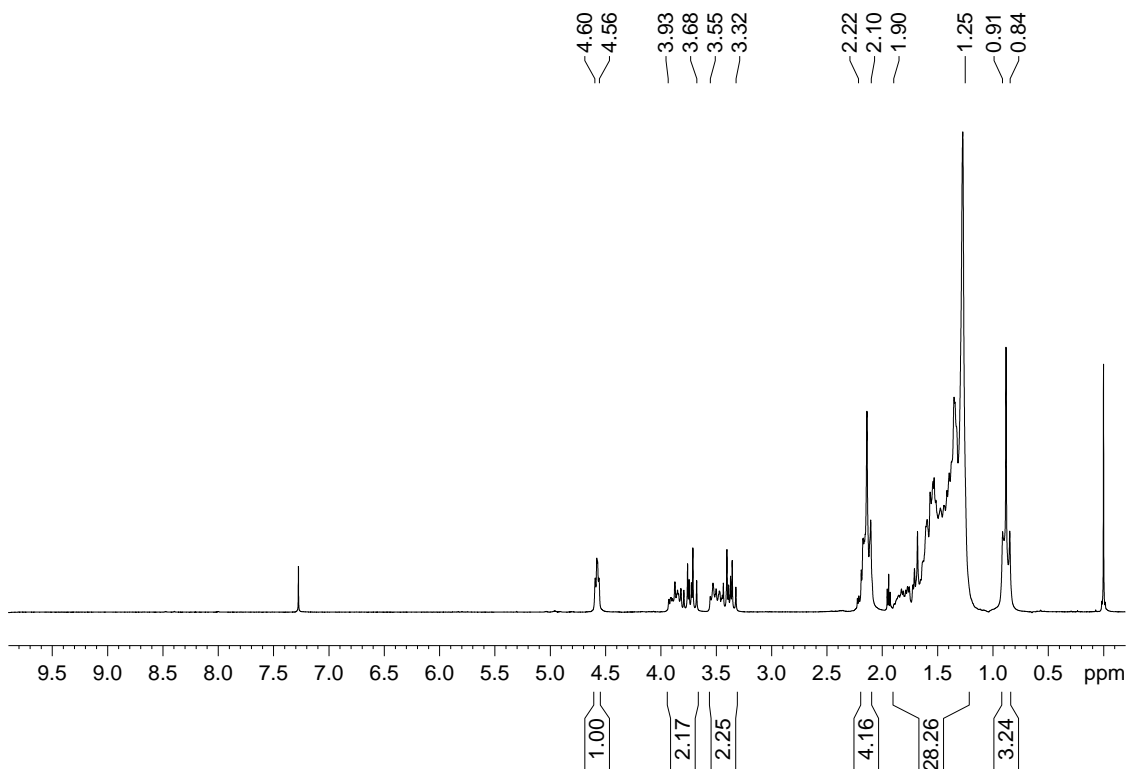
## Espectro de massas do composto 5



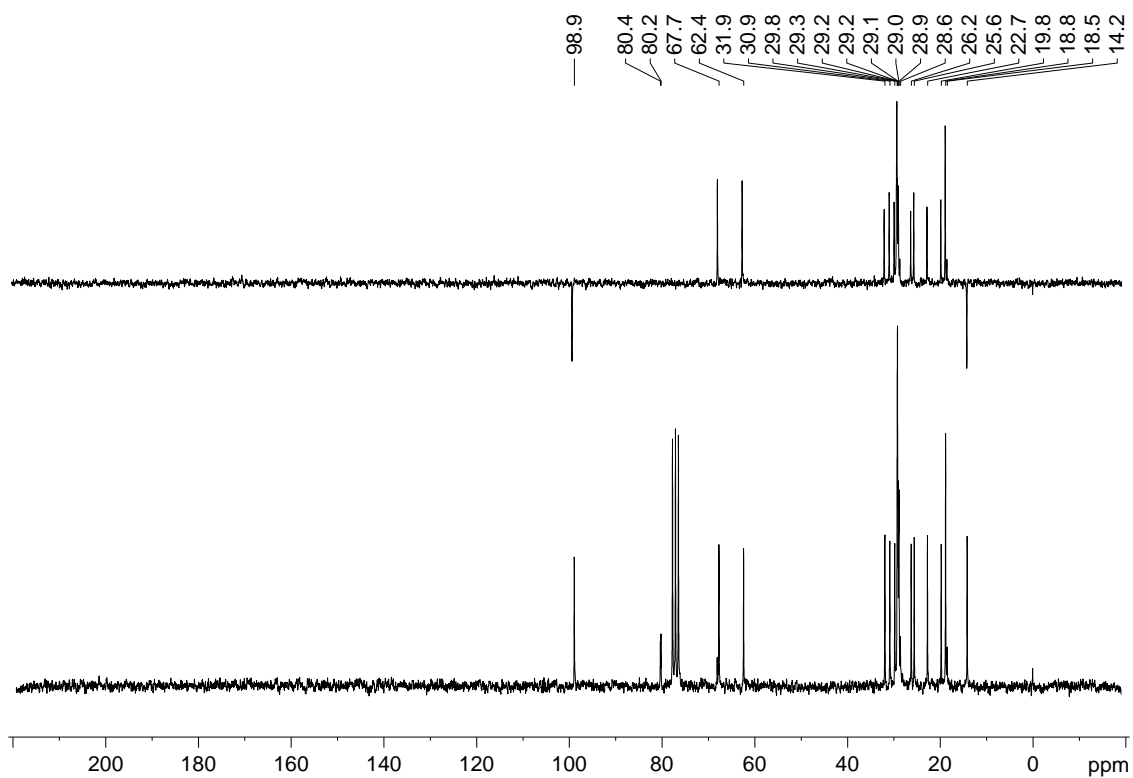
## Espectro na região do infravermelho do composto 5



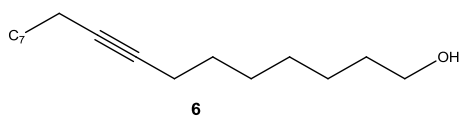
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 5



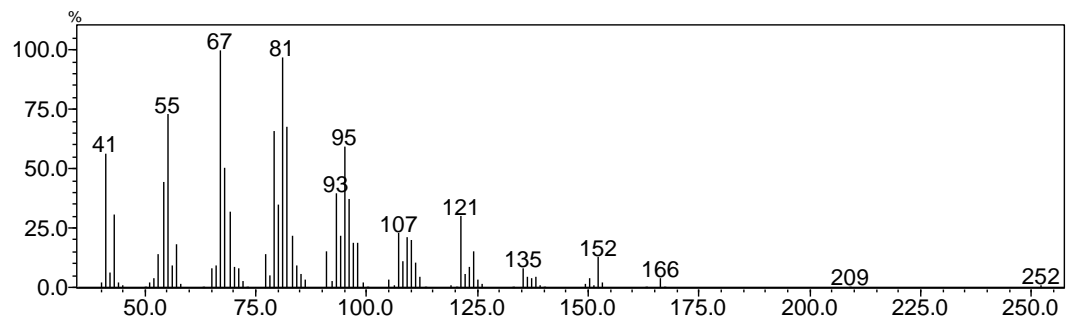
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 5



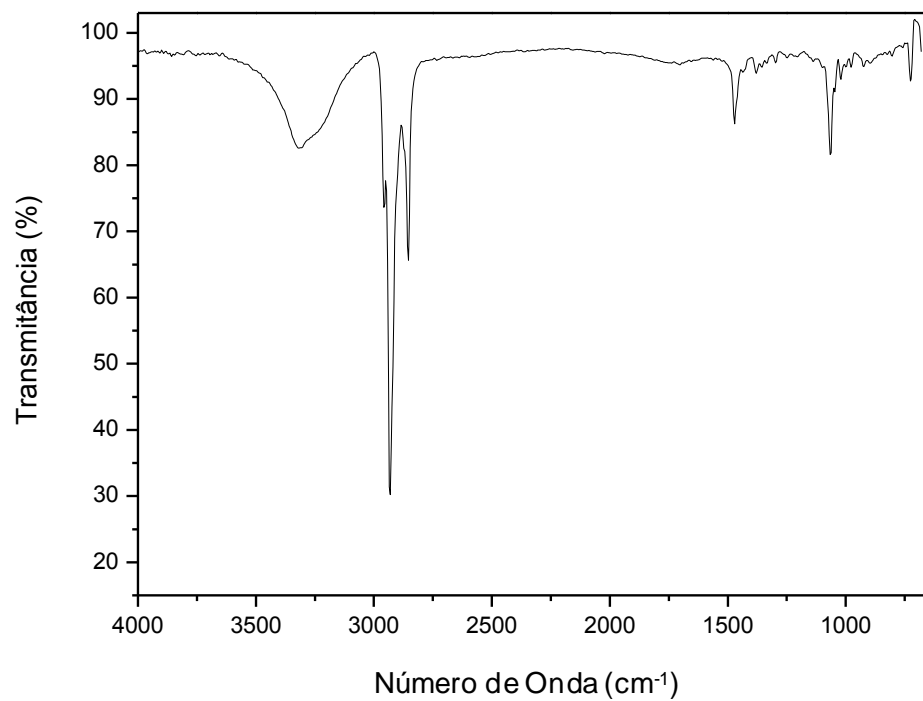
### 8-heptadecin-1-ol (6)



### Espectro de massas do composto 6

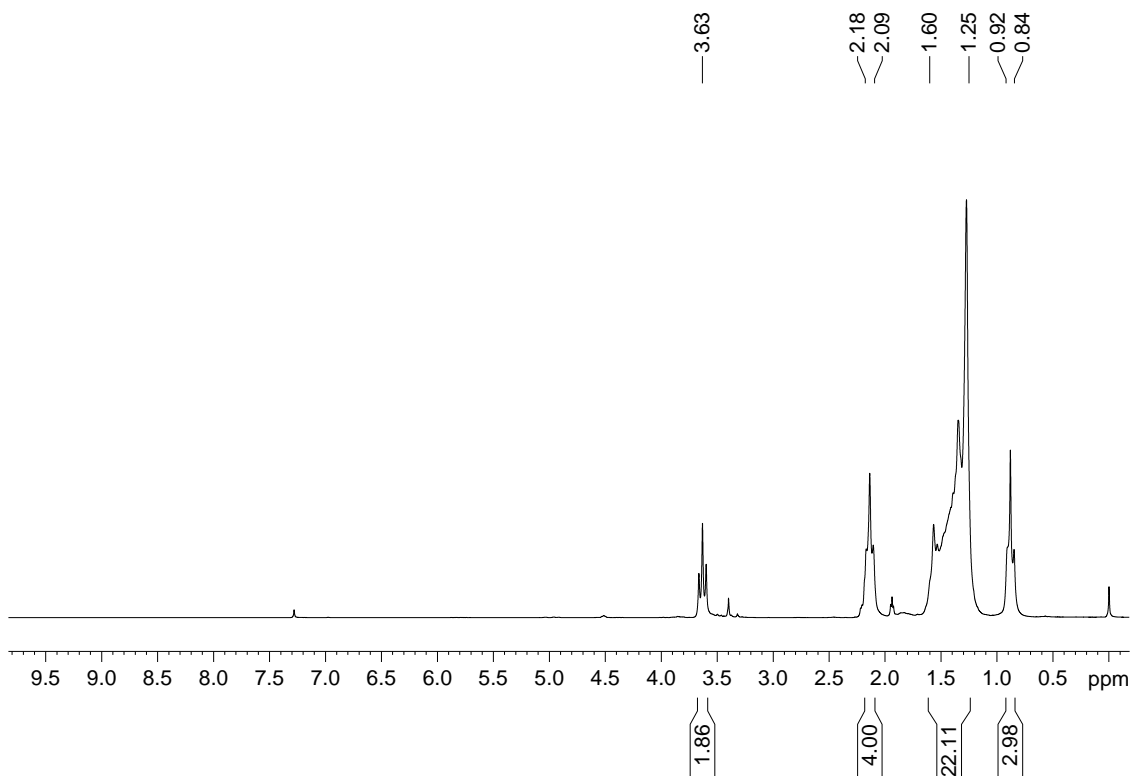


### Espectro na região do infravermelho do composto 6

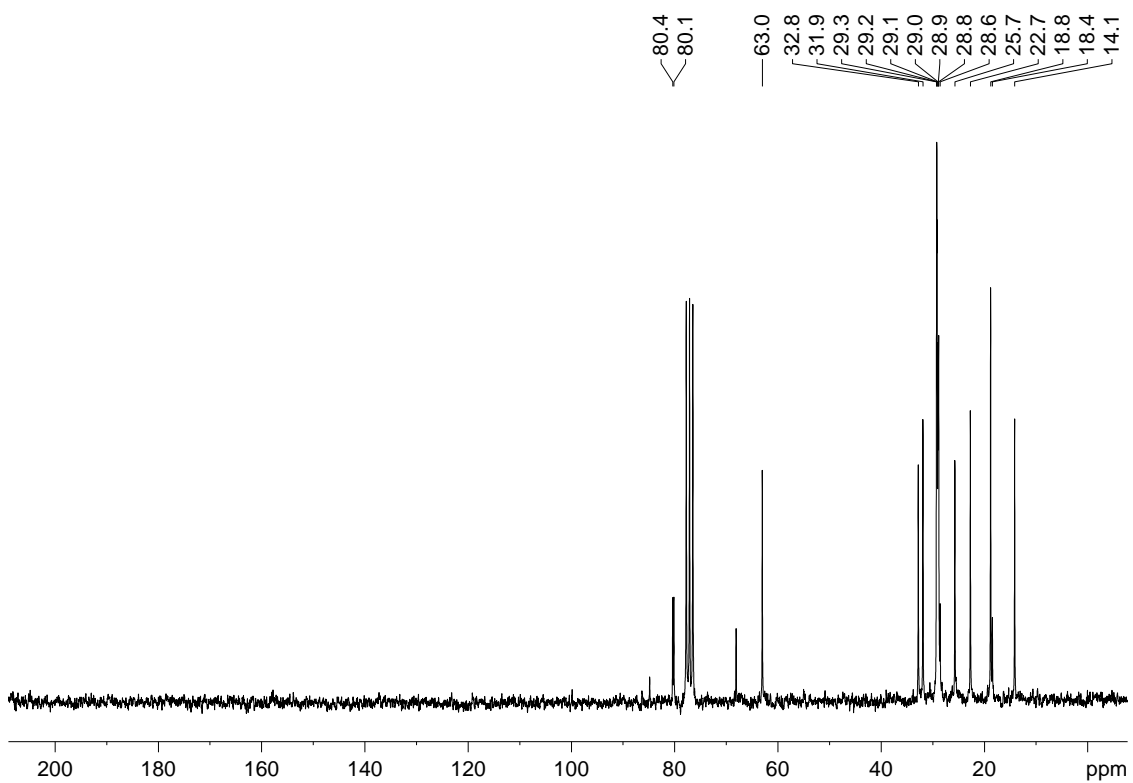




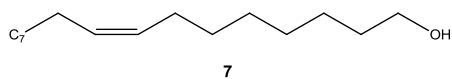
### Espectro de RMN de 1H do composto 6



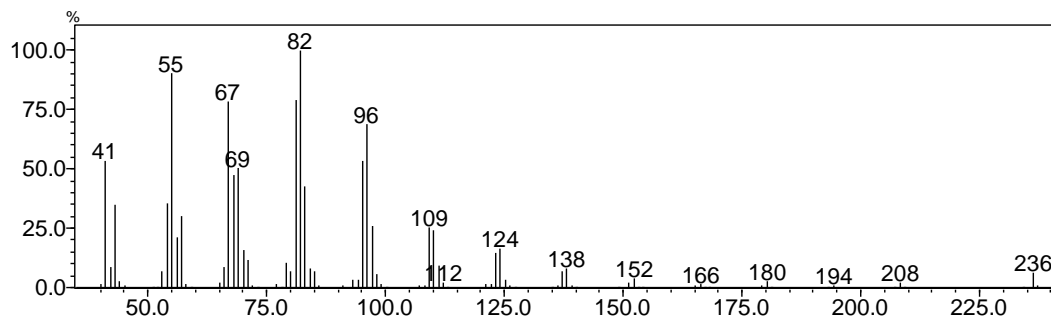
### Espectro de RMN de 13C do composto 6



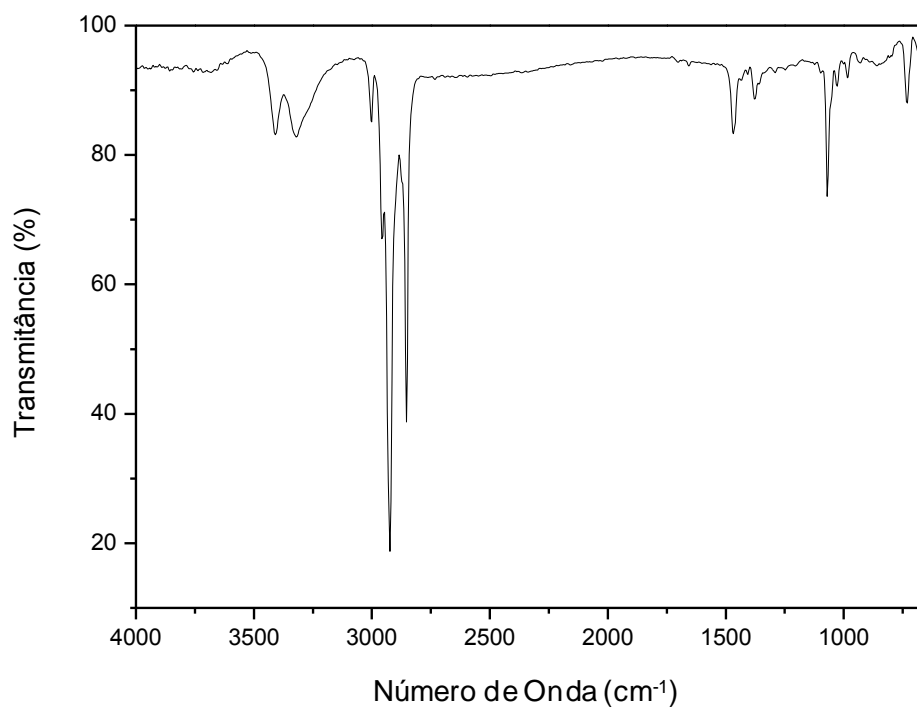
**(Z)-8-heptadecen-1-ol (7)**



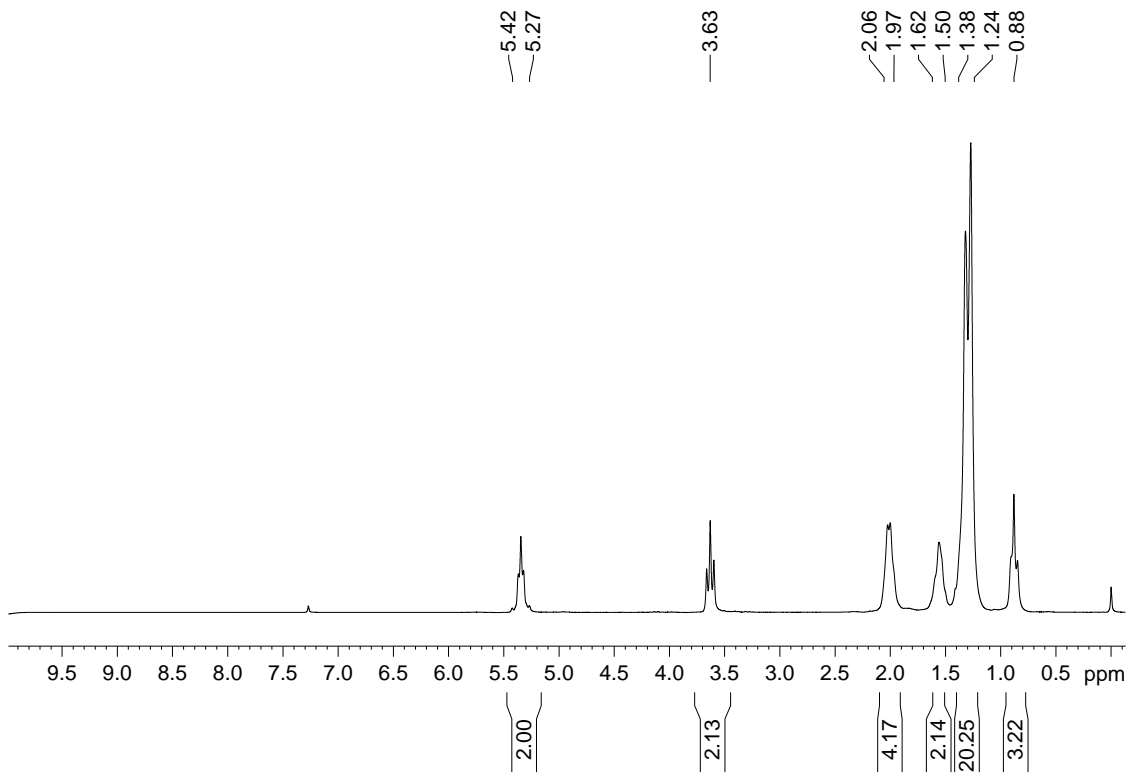
**Espectro de massas do composto 7**



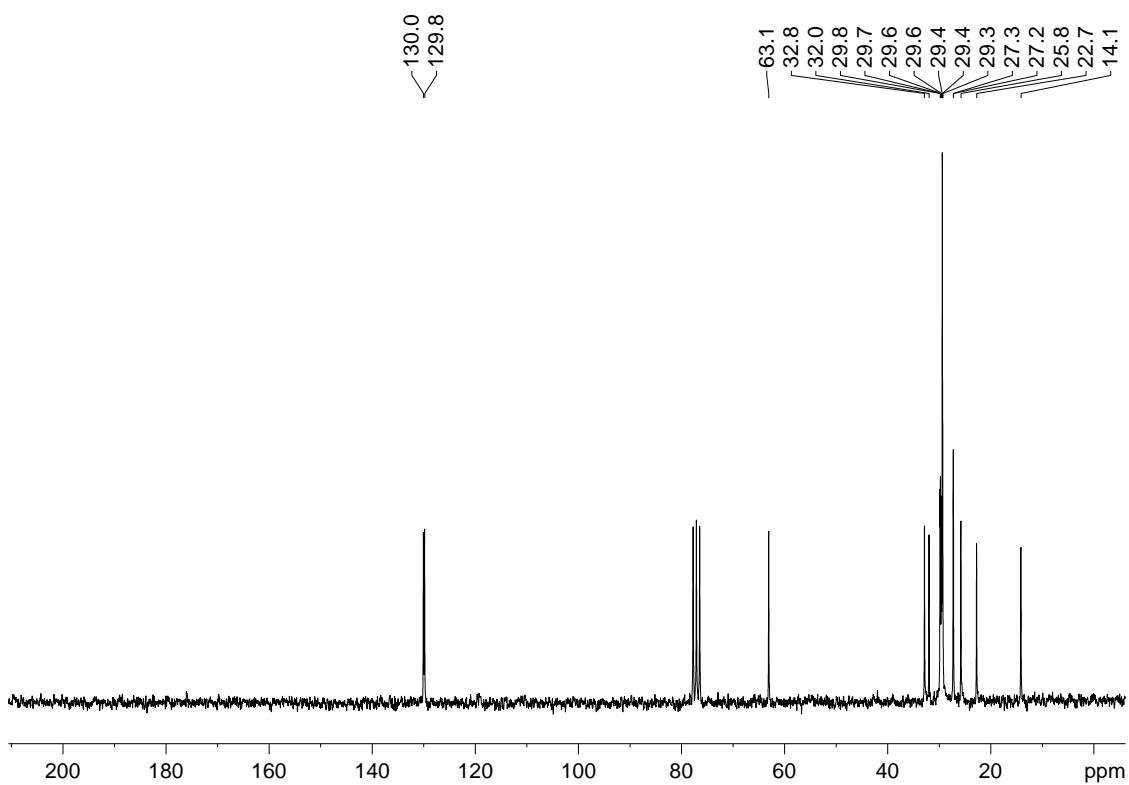
**Espectro na região do infravermelho do composto 7**



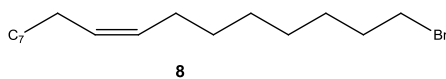
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 7



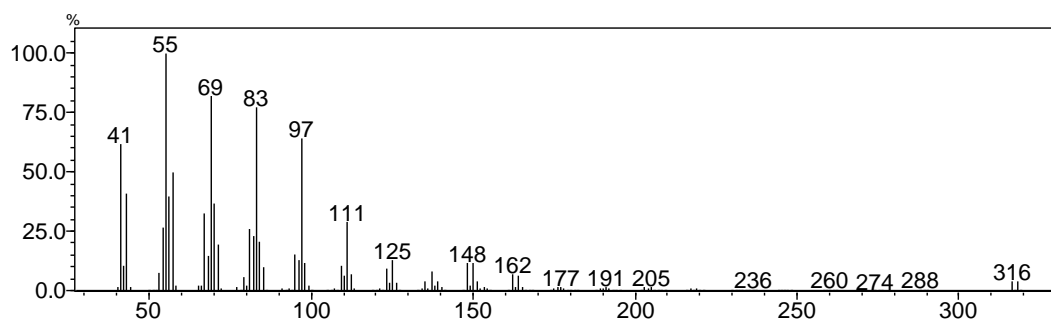
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 7



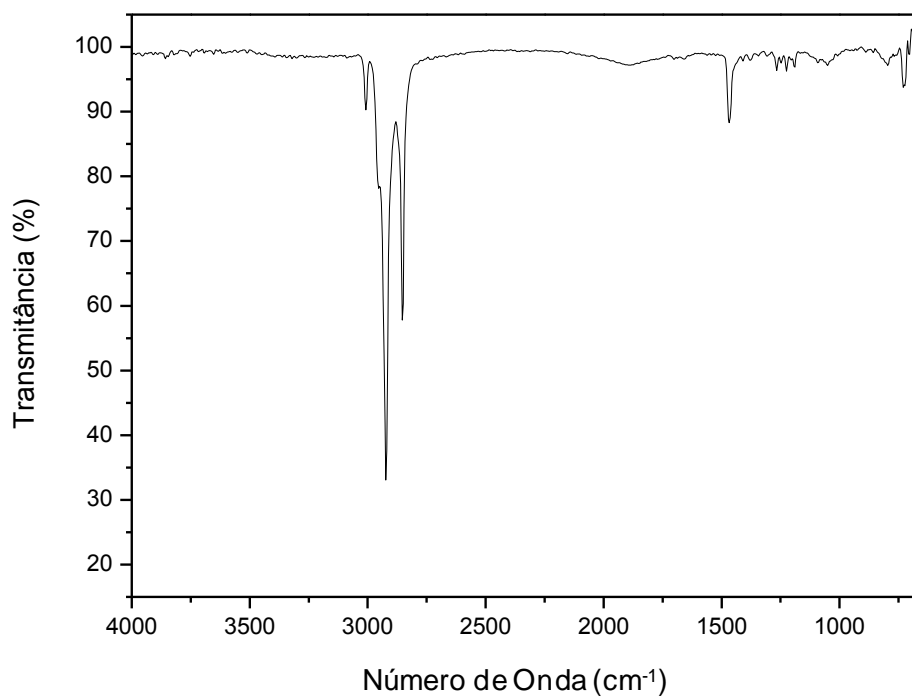
### 1-bromo-(8Z)-heptadeceno (8)



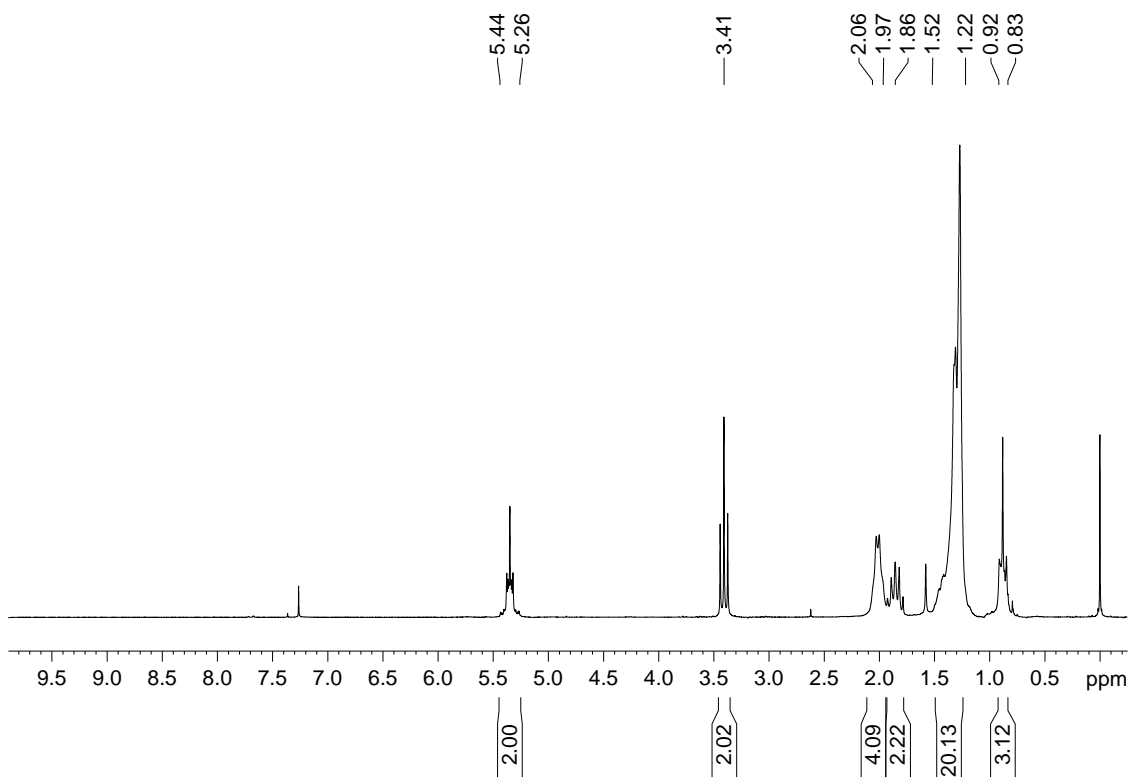
### Espectro de massas do composto 8



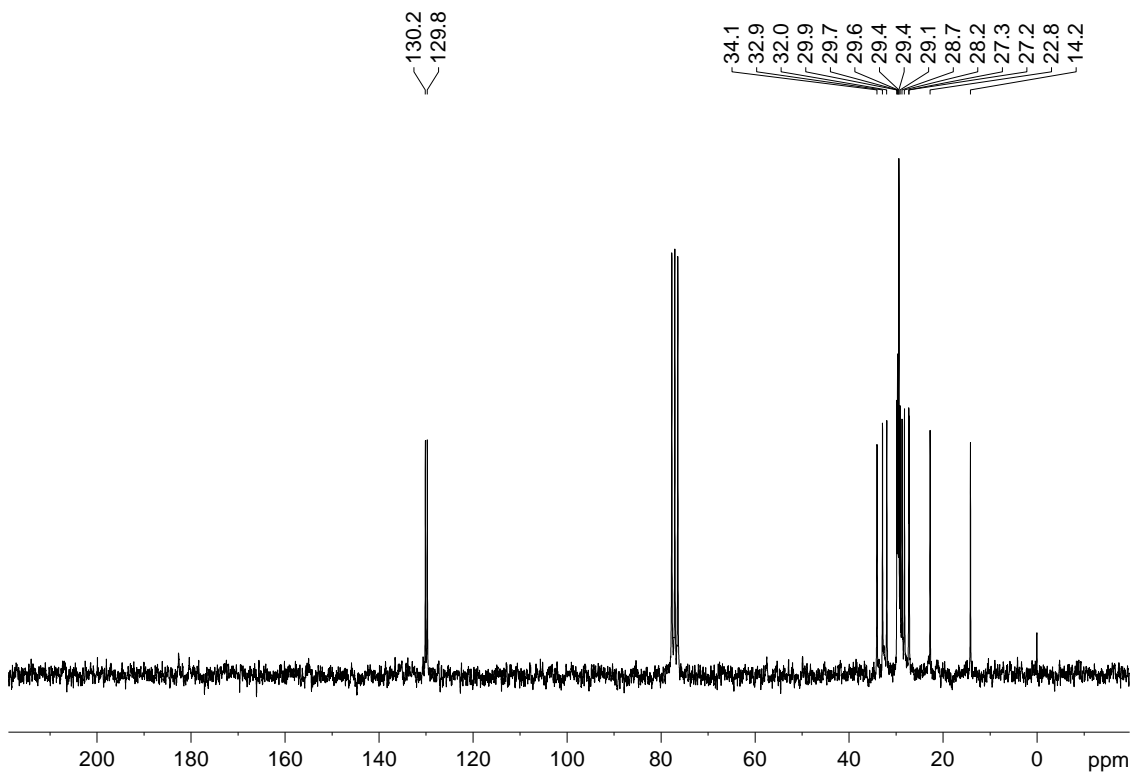
### Espectro na região do infravermelho do composto 8



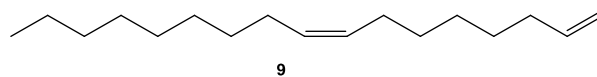
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 8



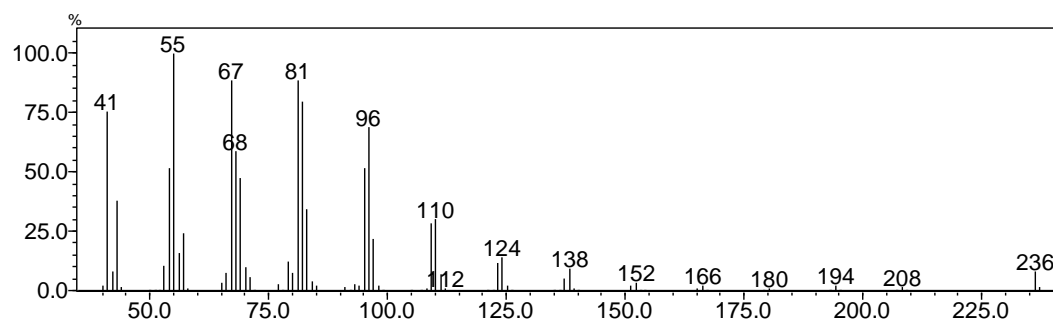
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 8



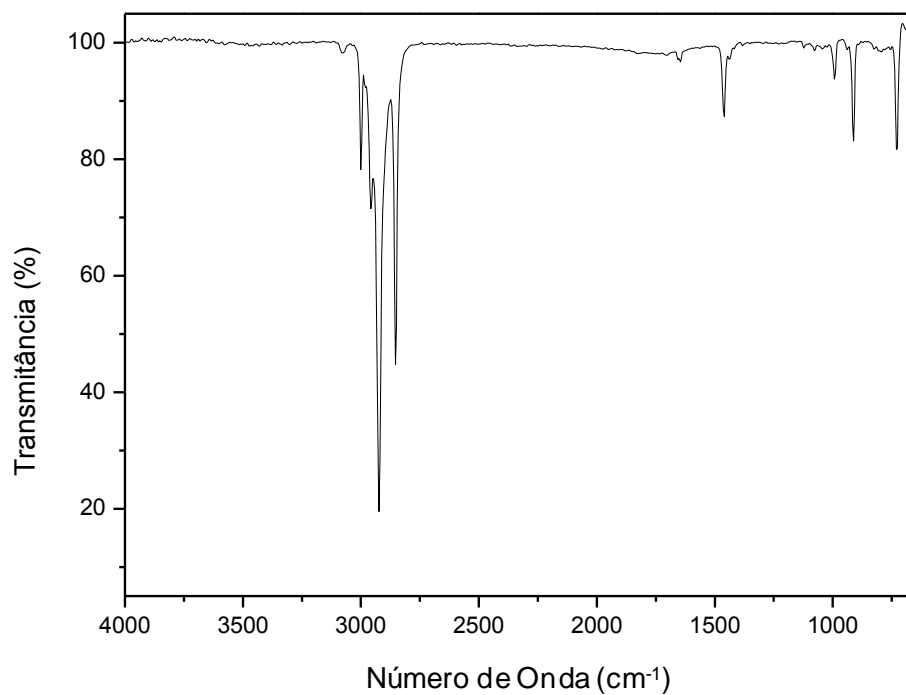
### (Z)-1,8-heptadecadieno (9)



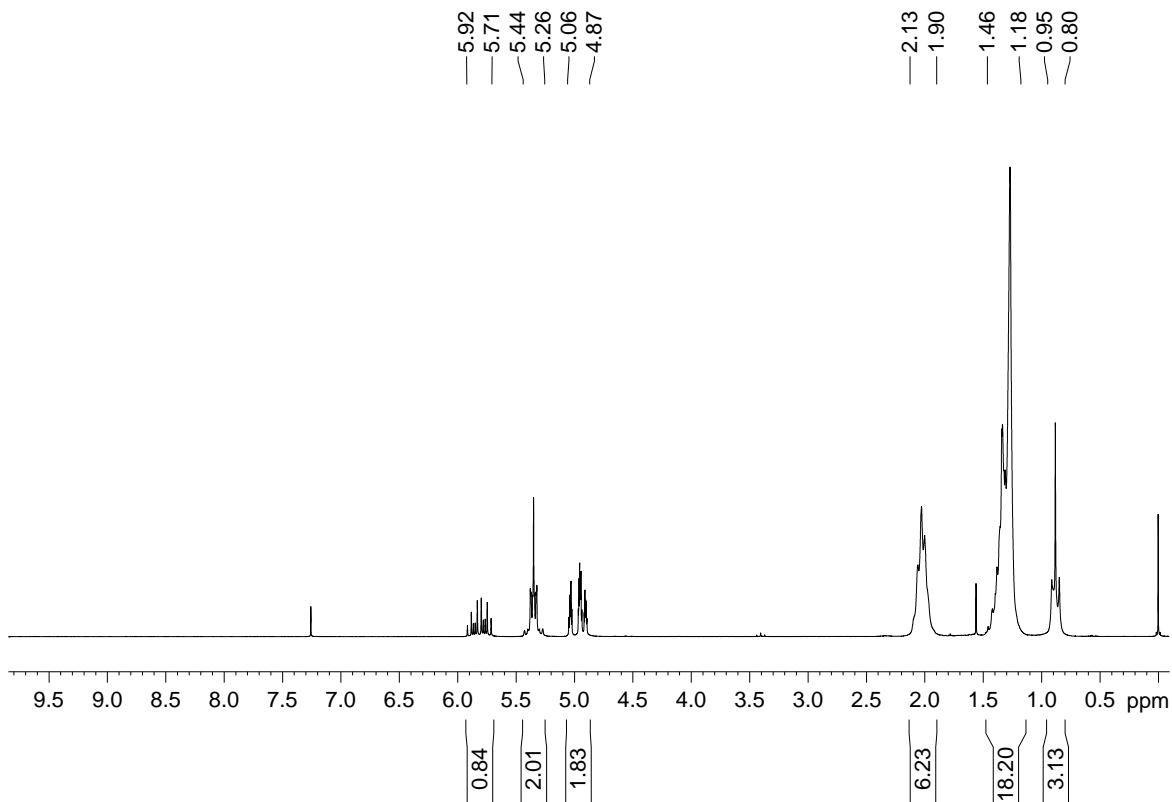
### Espectro de massas do composto 9



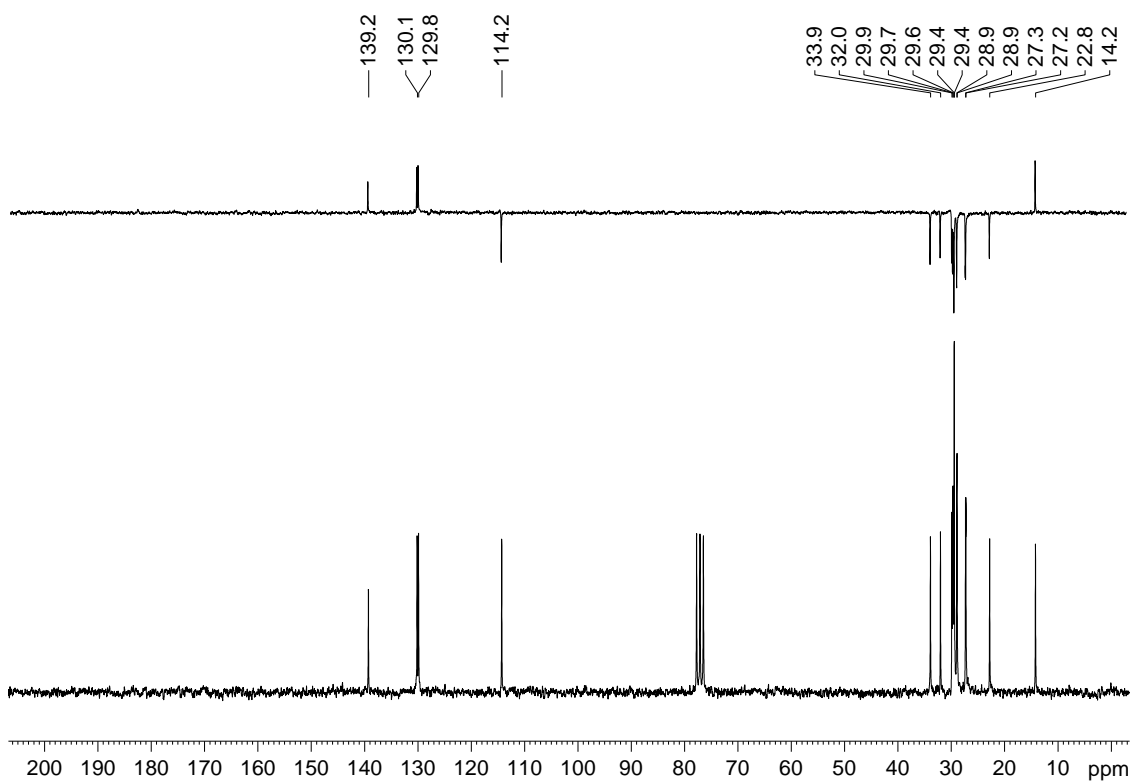
### Espectro na região do infravermelho do composto 9



### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 9



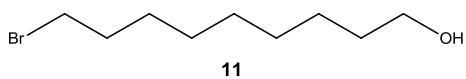
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 9



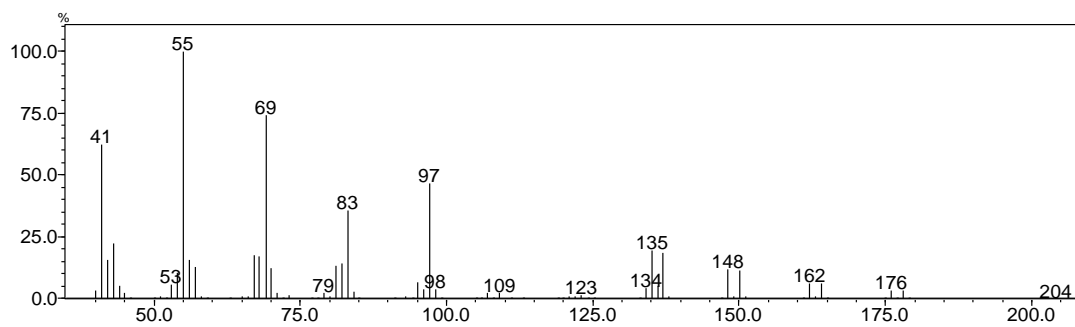
**ESPECTROS SELECCIONADOS PARA A SÍNTESE DO (Z)-1,10-NONADECADIENO**



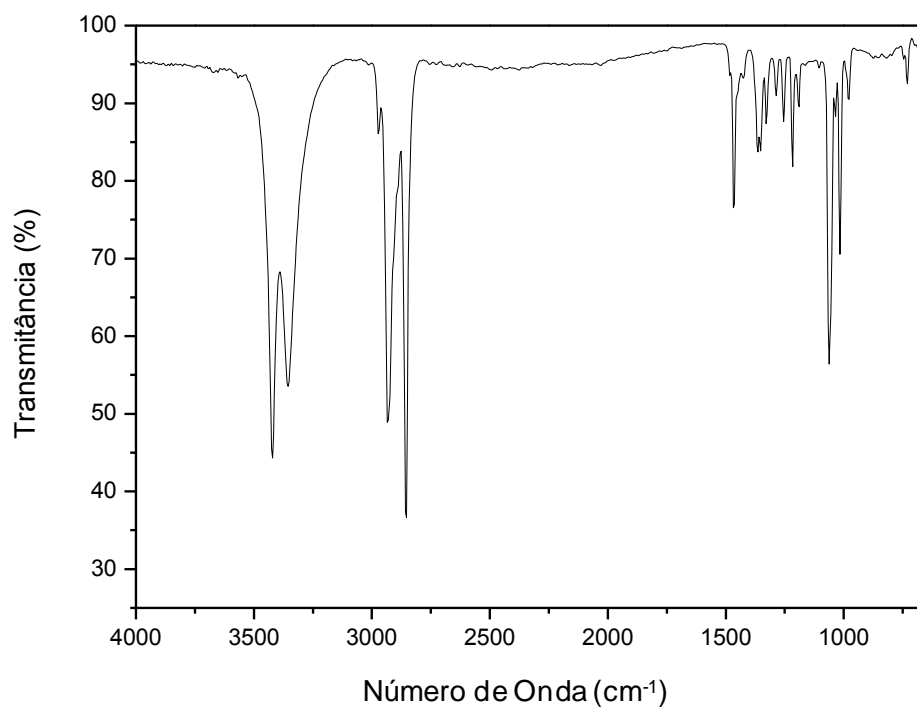
### 9-bromononan-1-ol (11)



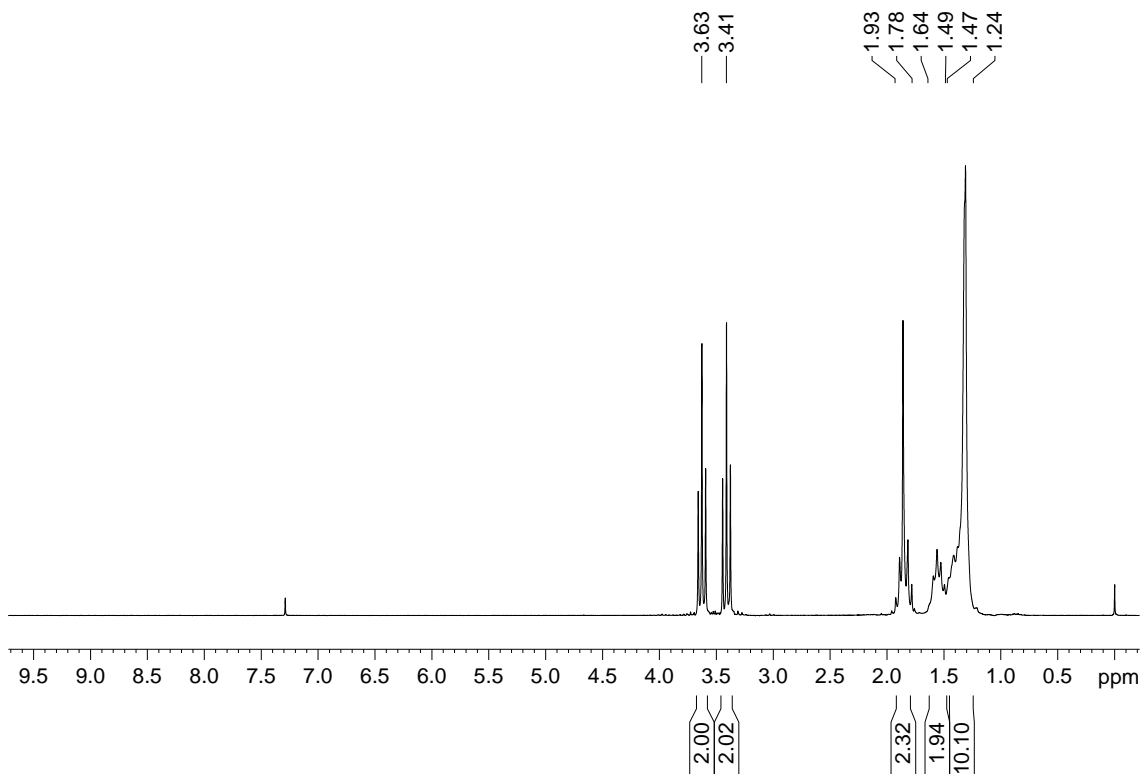
### Espectro de massas do composto 11



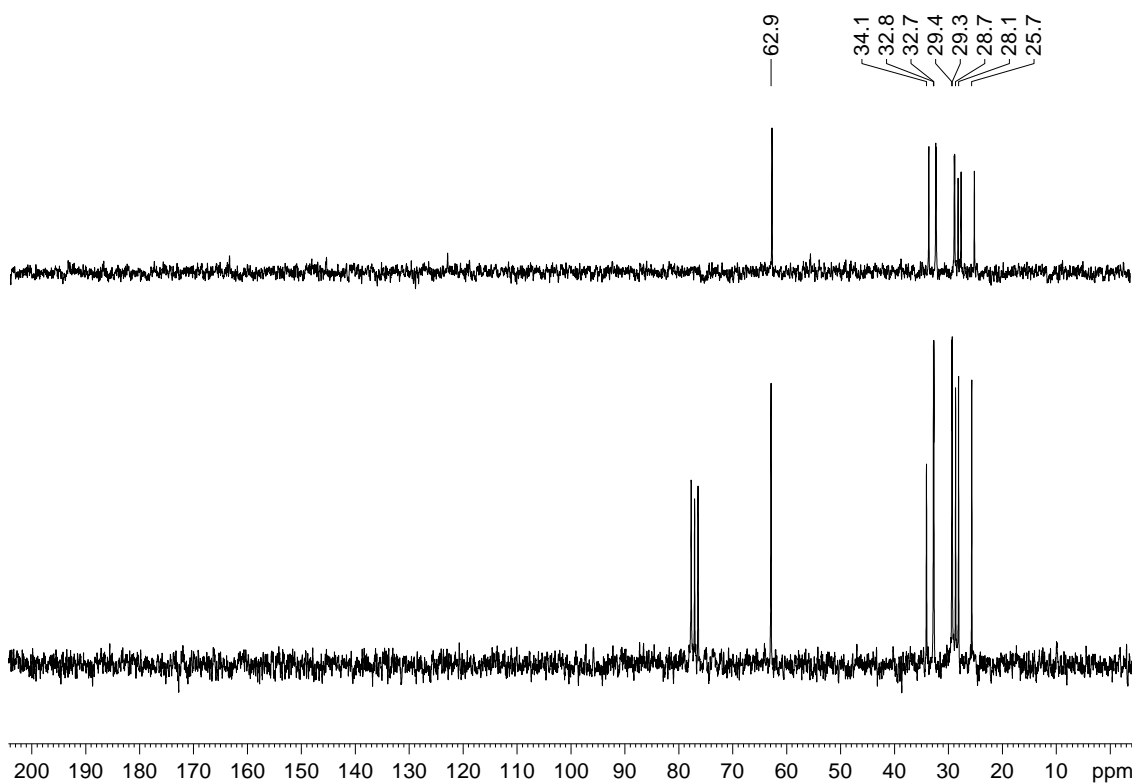
### Espectro na região do infravermelho do composto 11



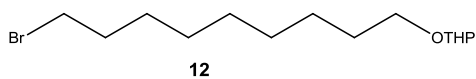
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 11



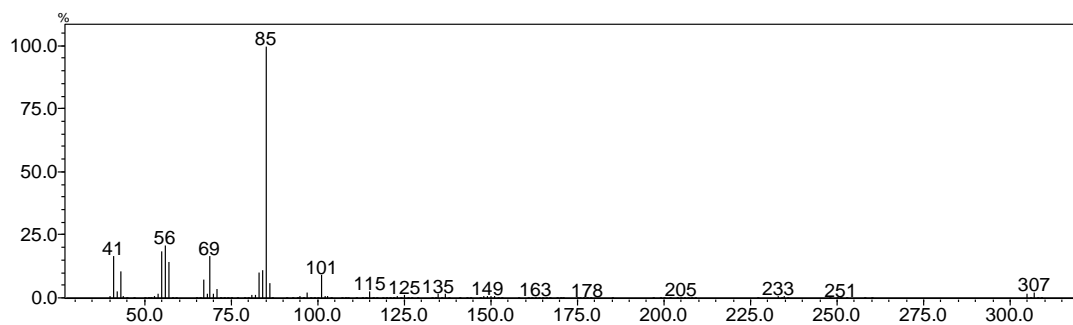
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 11



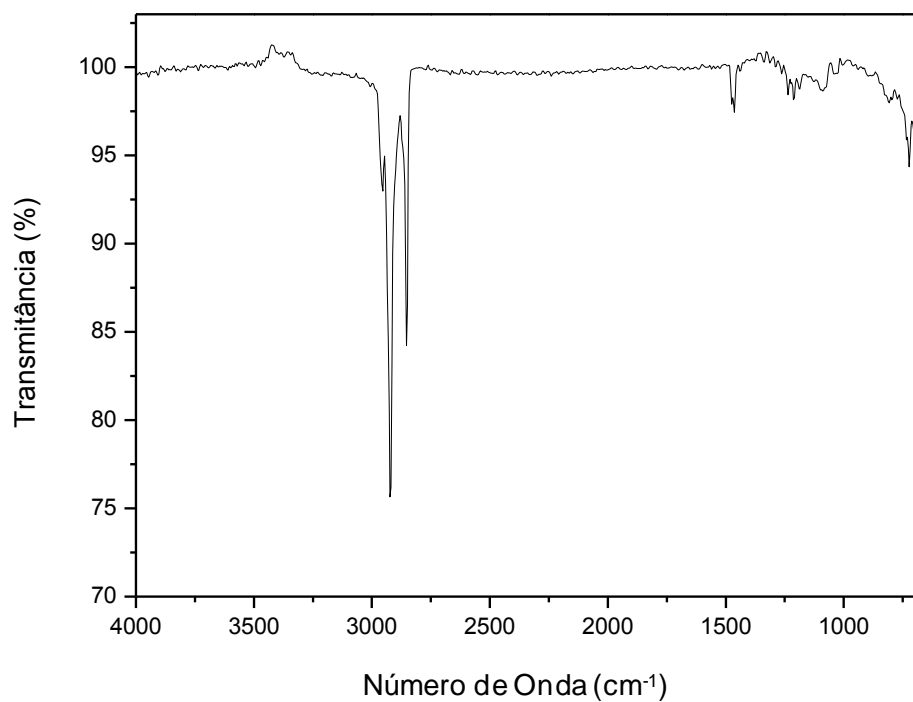
## 2-(9-bromononiloxi)-tetraidro-2H-pirano (12)



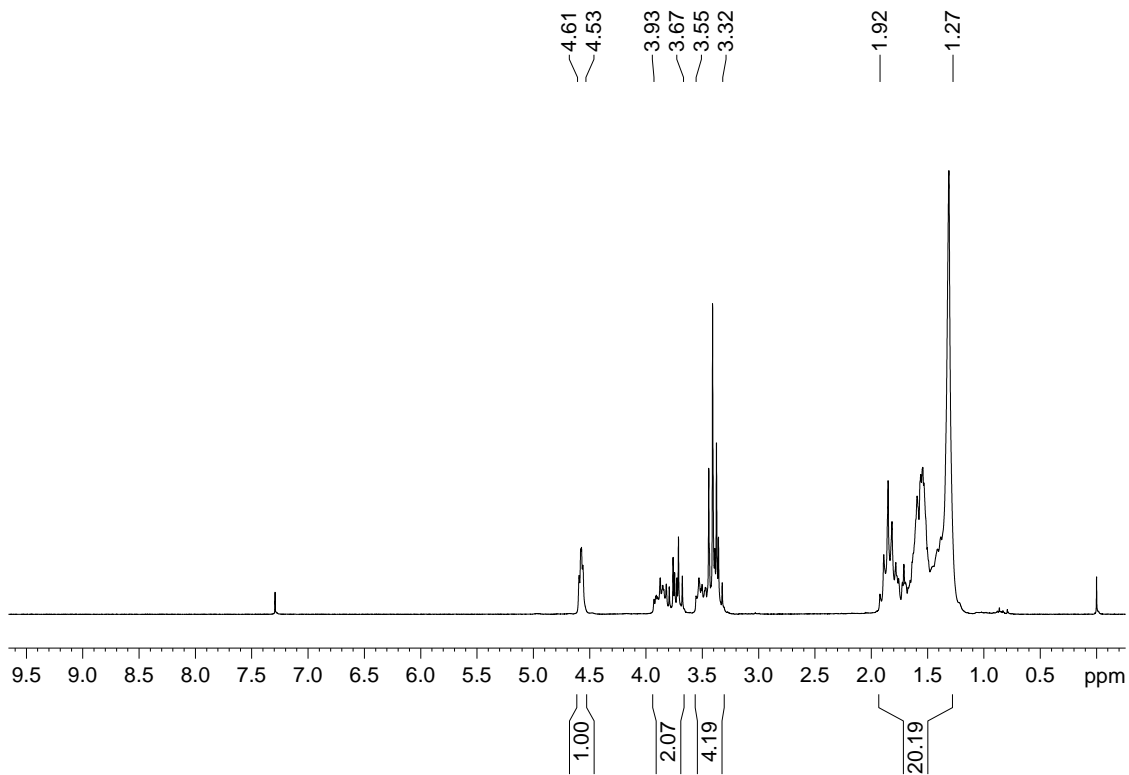
### Espectro de massas do composto 12



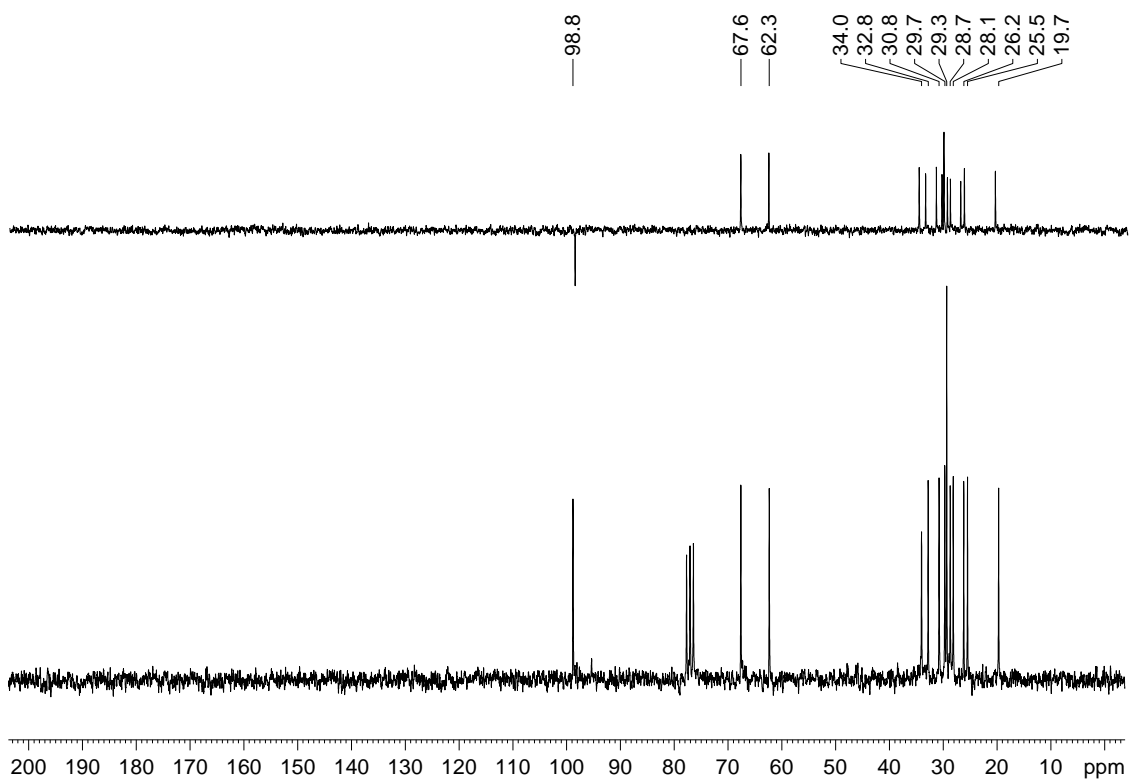
### Espectro na região do infravermelho do composto 12



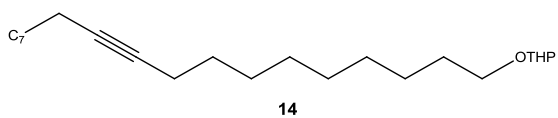
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 12



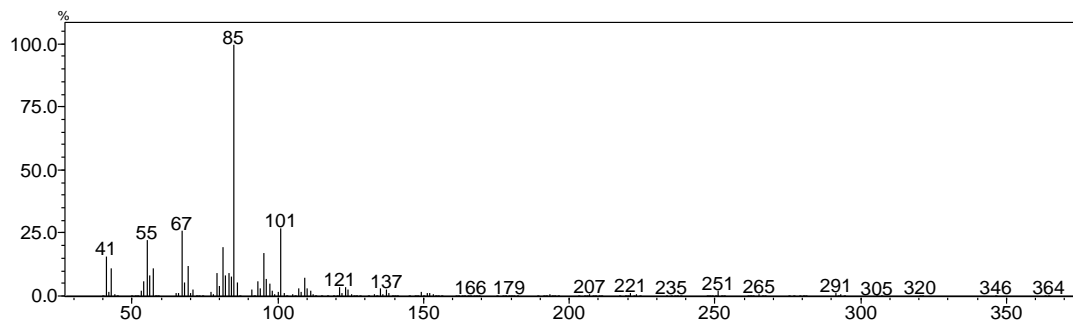
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 12



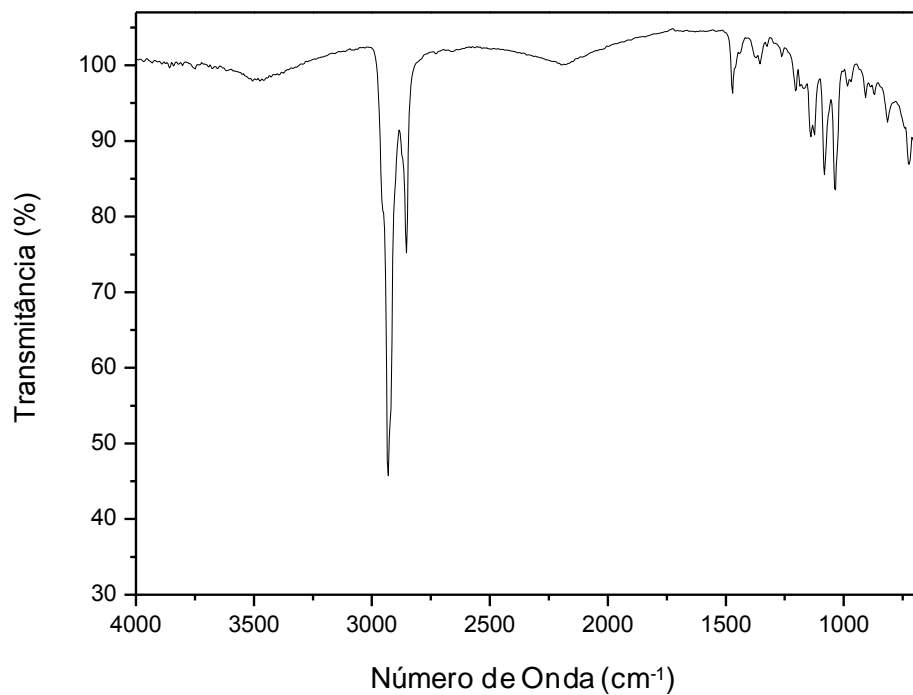
## 2-(nonadec-10-inoxi)-tetraidro-2H-pirano (14)



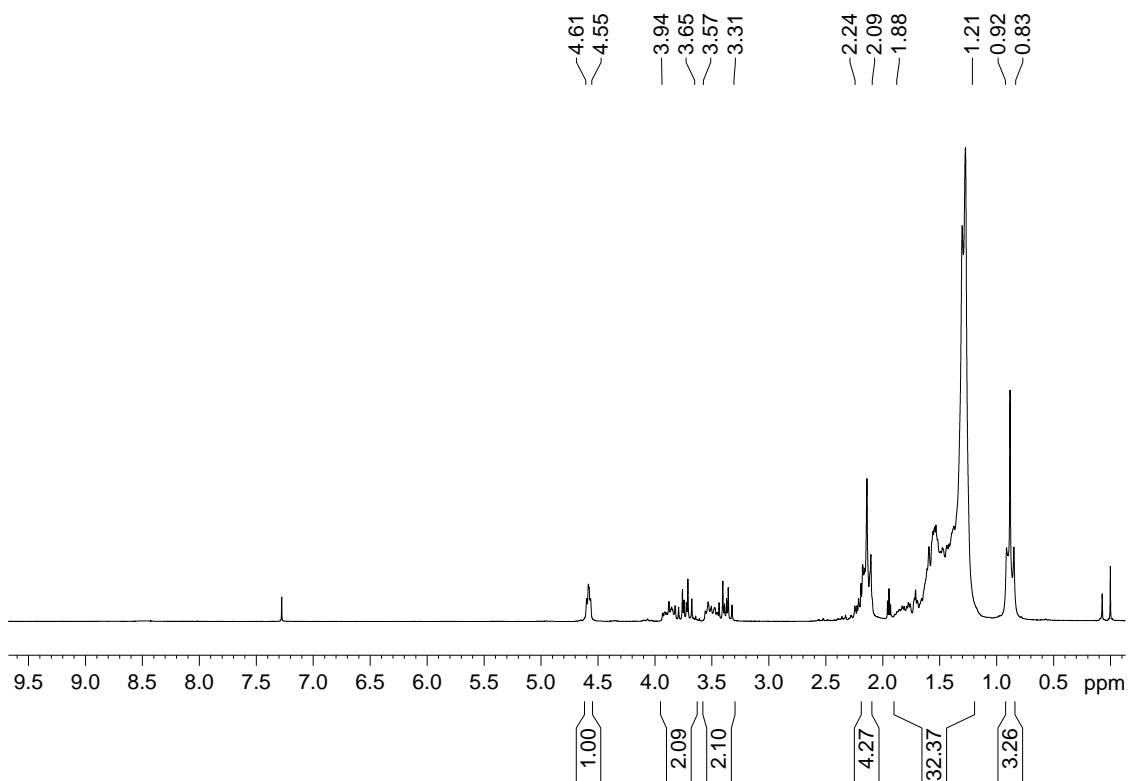
## Espectro de massas do composto 14



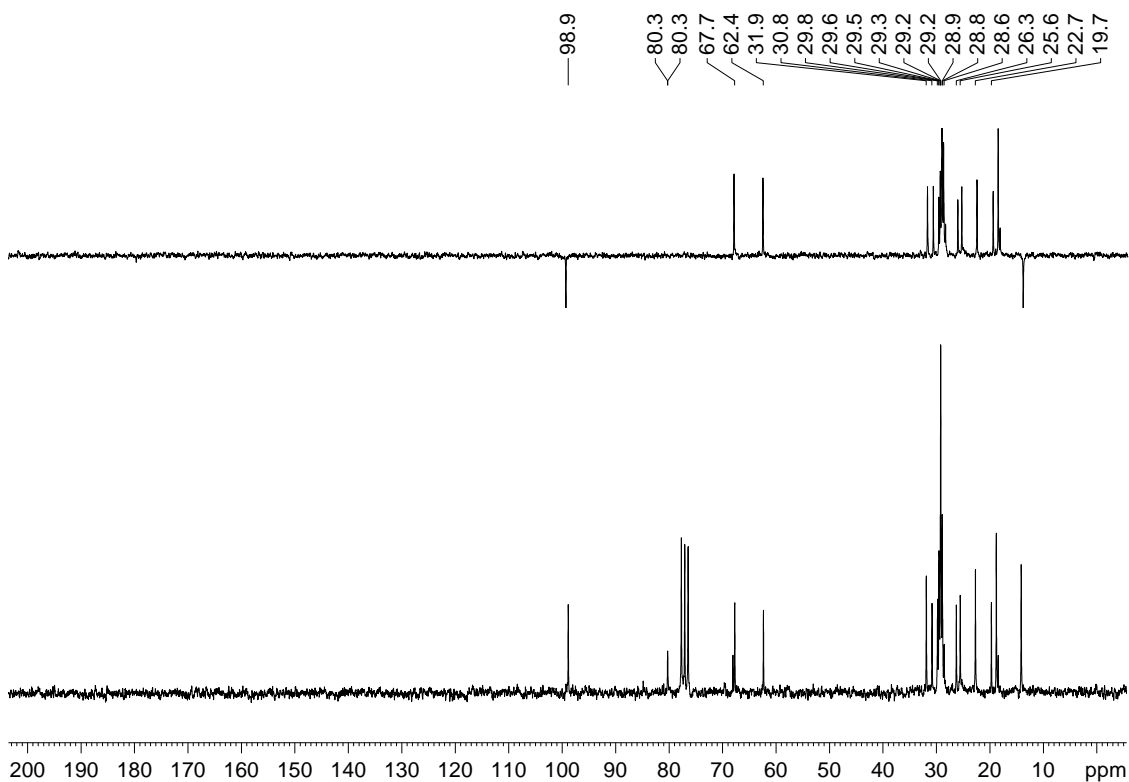
## Espectro na região do infravermelho do composto 14



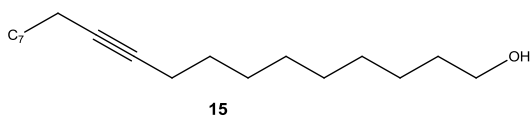
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 14



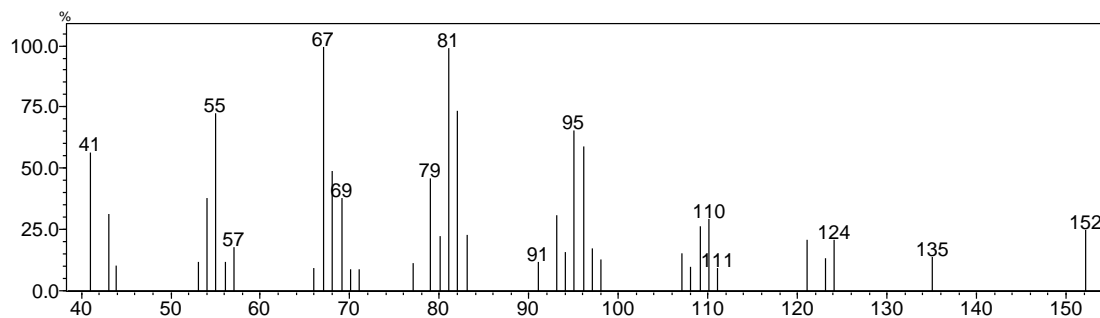
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 14



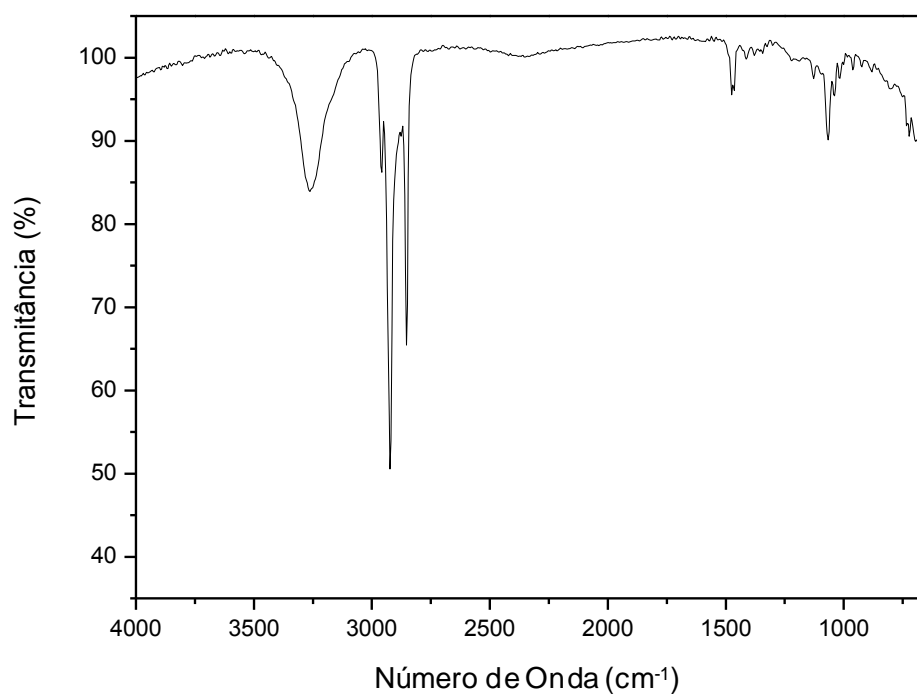
### 10-nonadecin-1-ol (15)



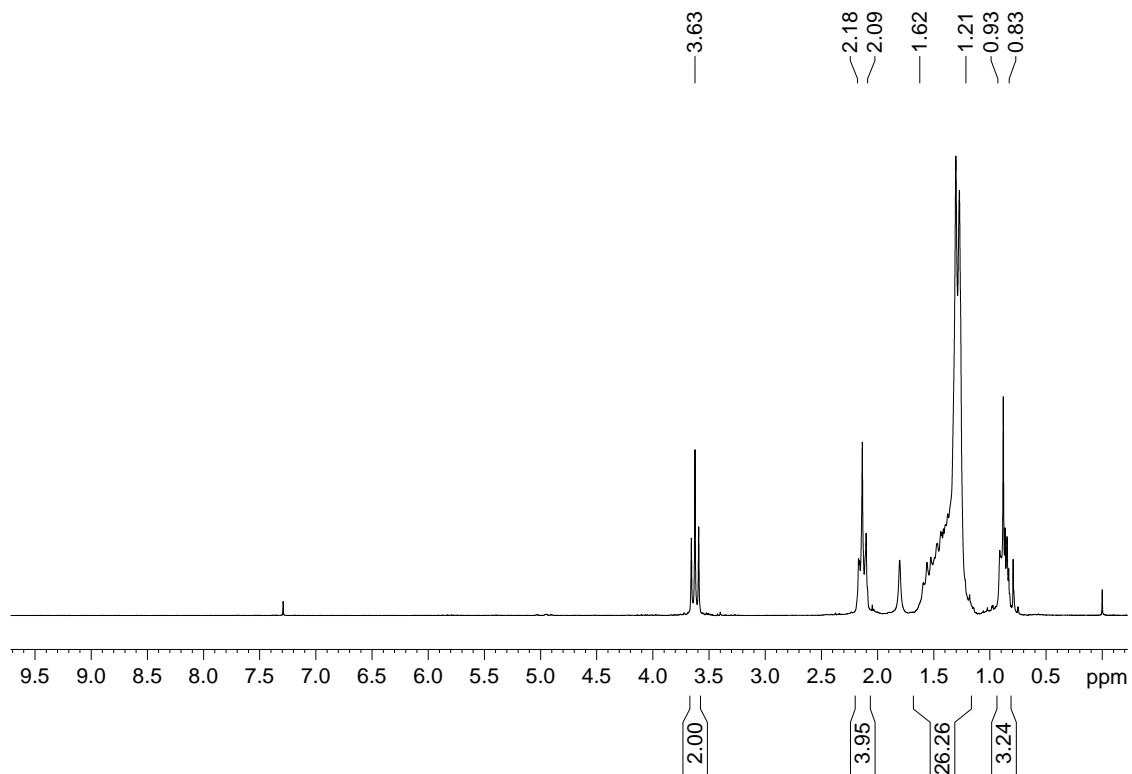
### Espectro de massas do composto 15



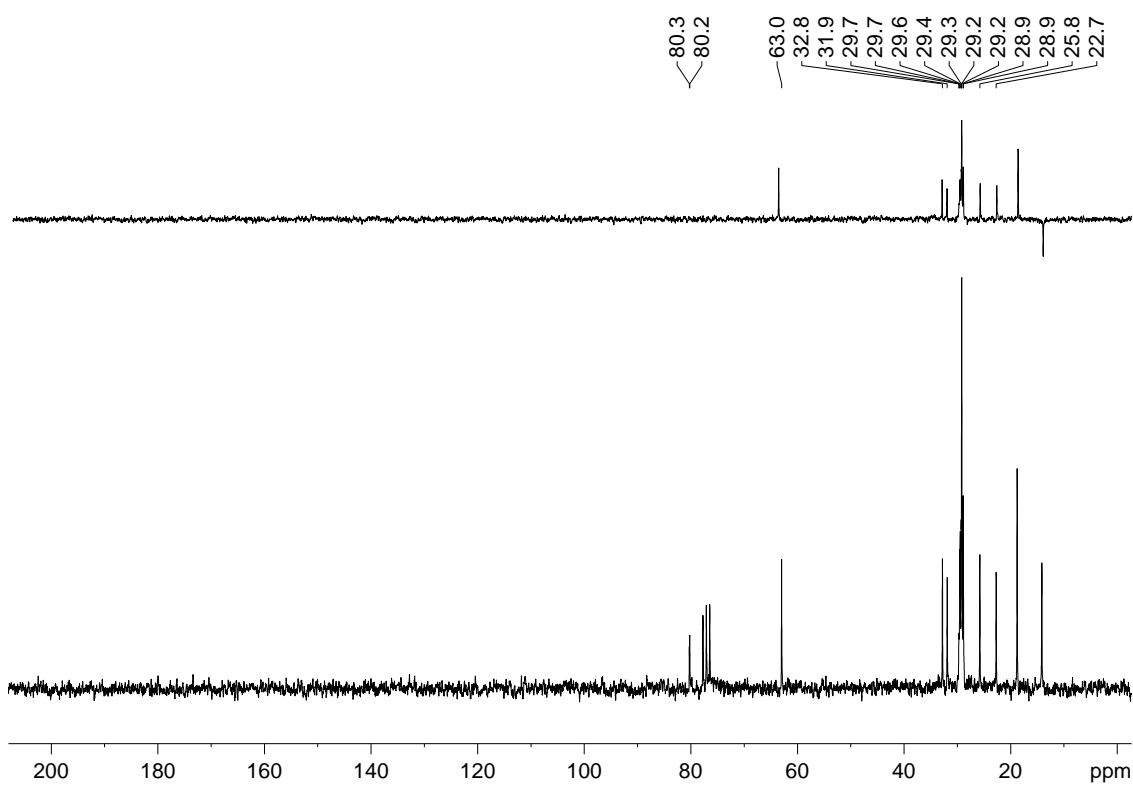
### Espectro na região do infravermelho do composto 15



### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 15

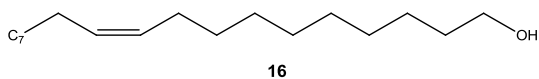


### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 15

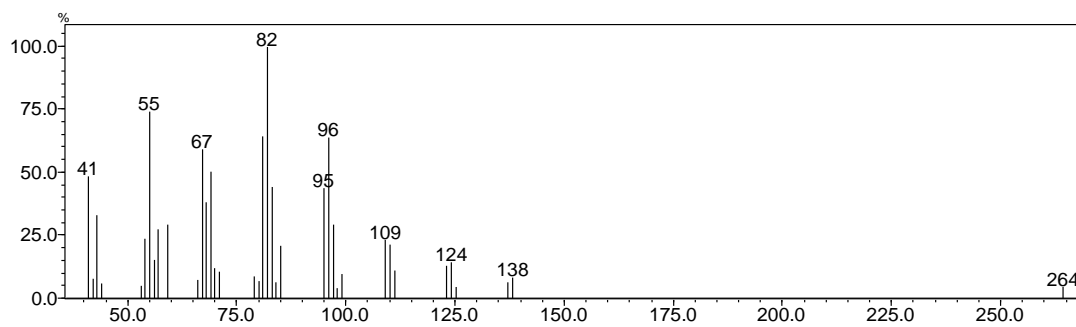




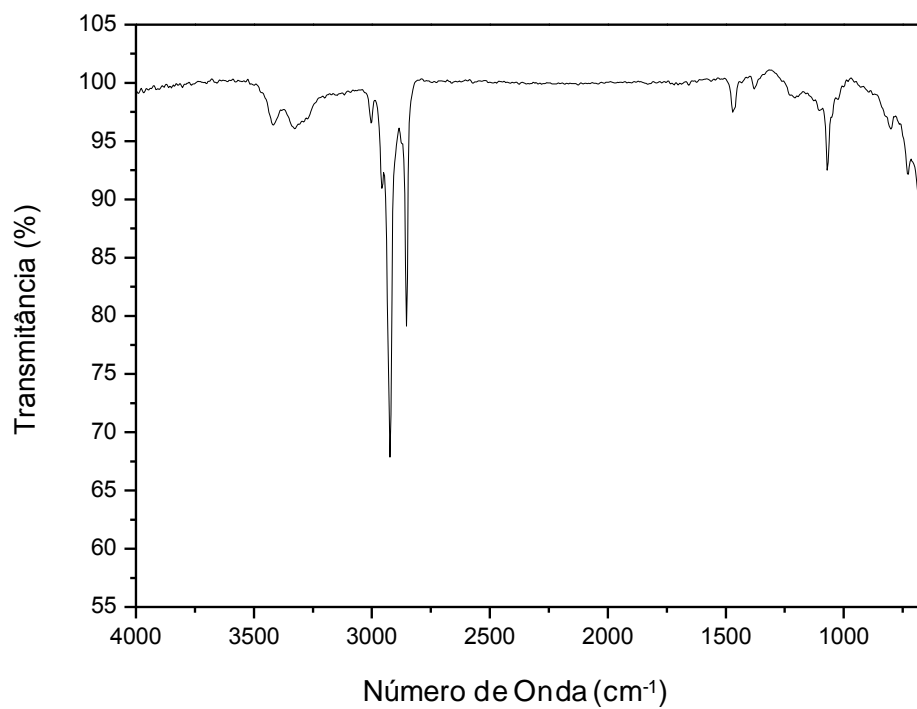
### (Z)-10-nonadecen-1-ol (16)



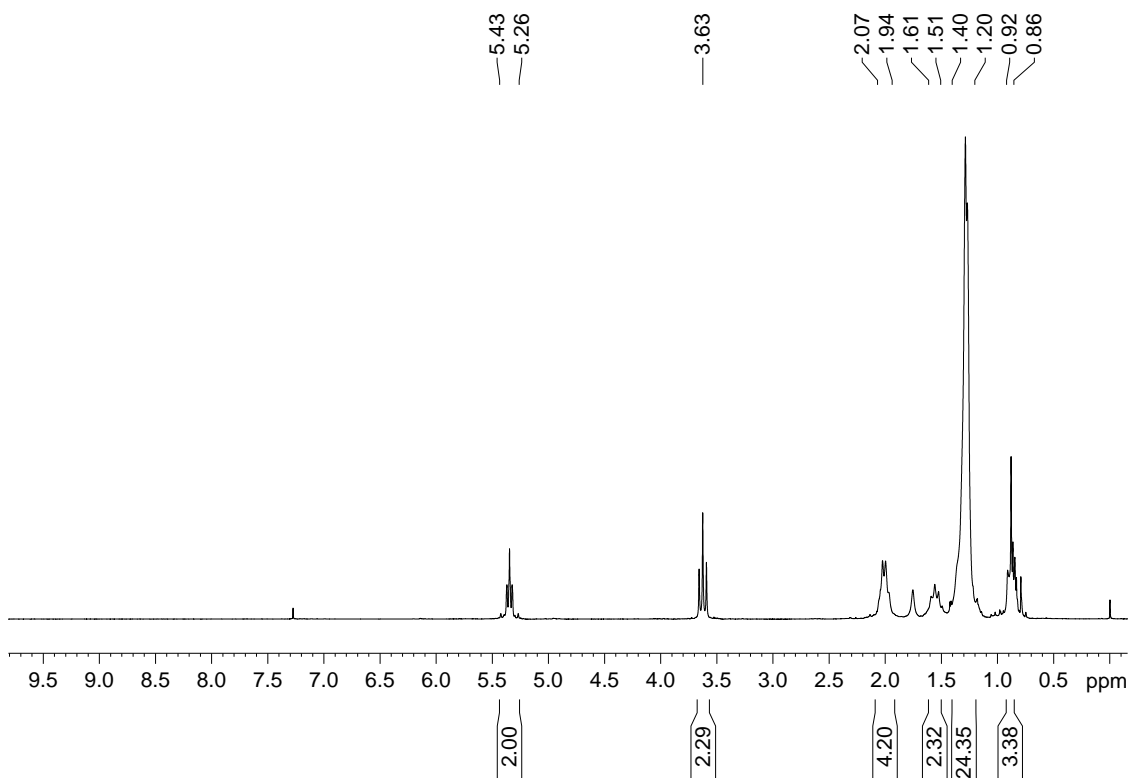
### Espectro de massas do composto 16



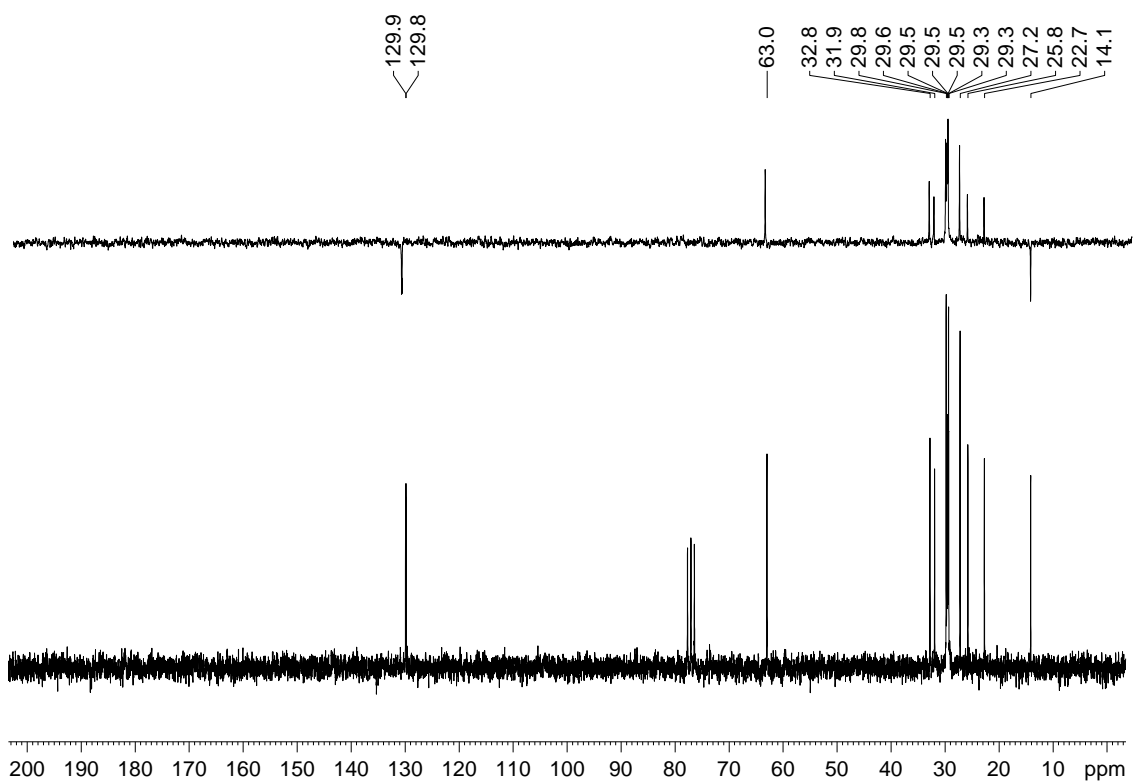
### Espectro na região do infravermelho do composto 16



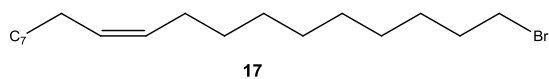
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 16



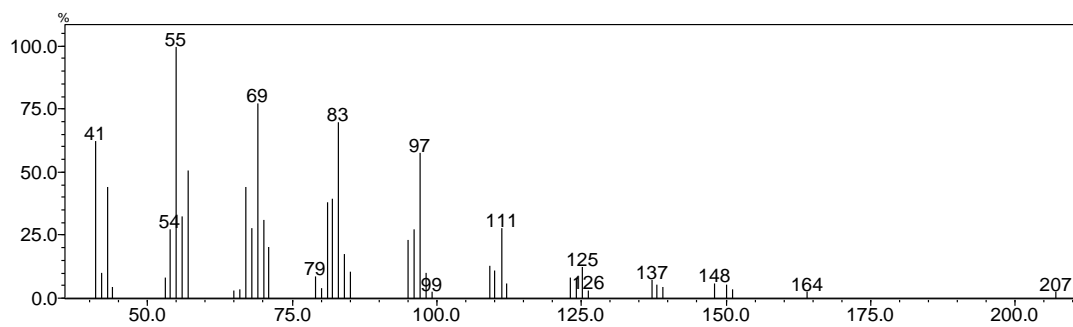
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 16



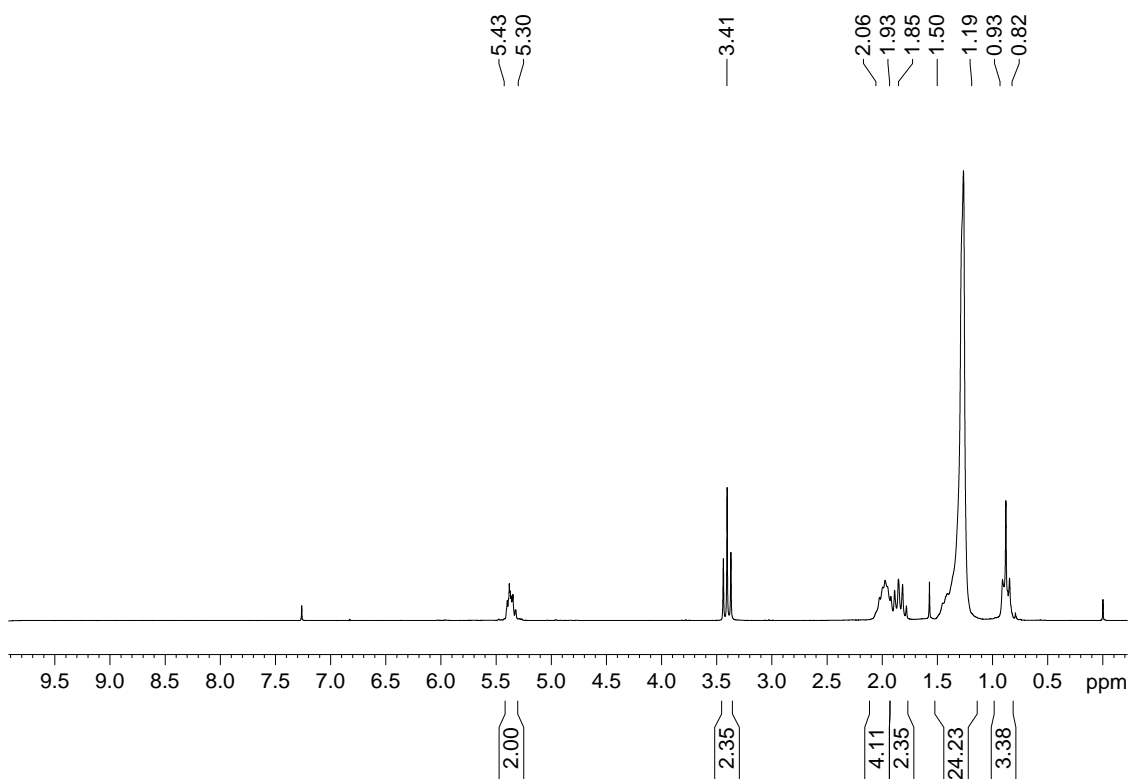
### 1-bromo-(10Z)-nonadeceno (17)



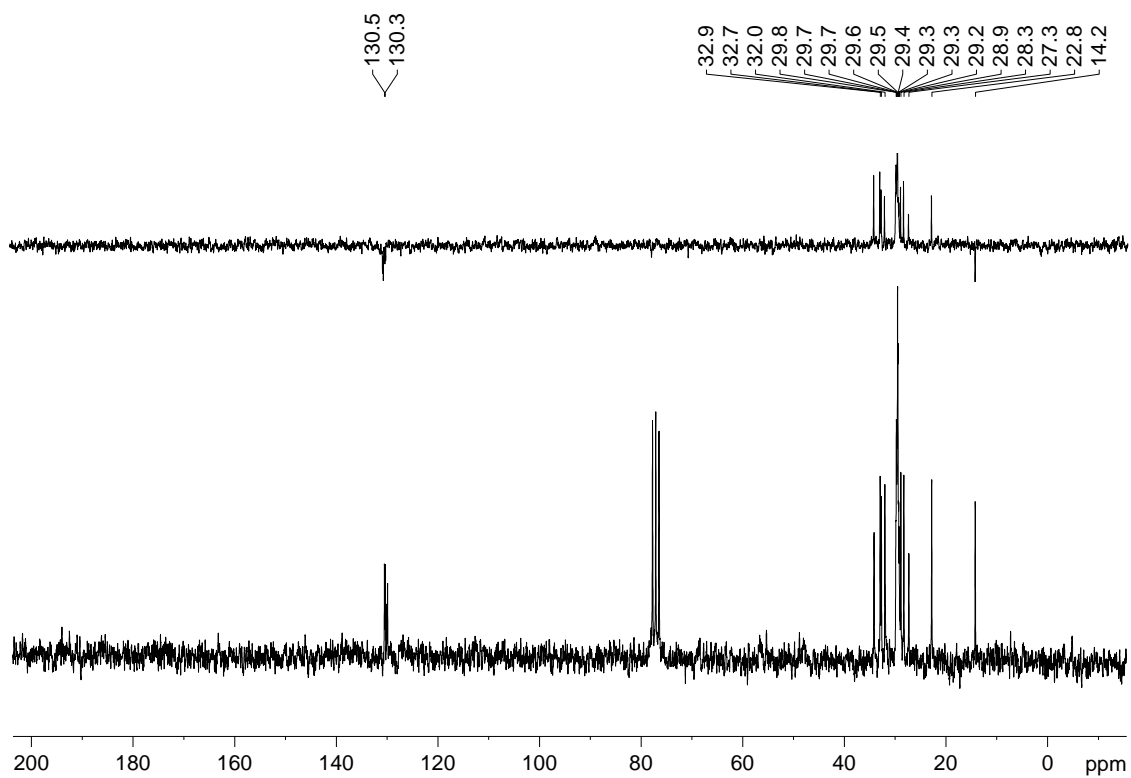
### Espectro de massas do composto 17



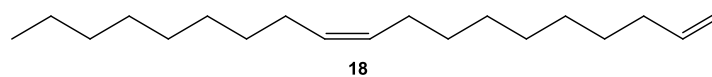
### Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 17



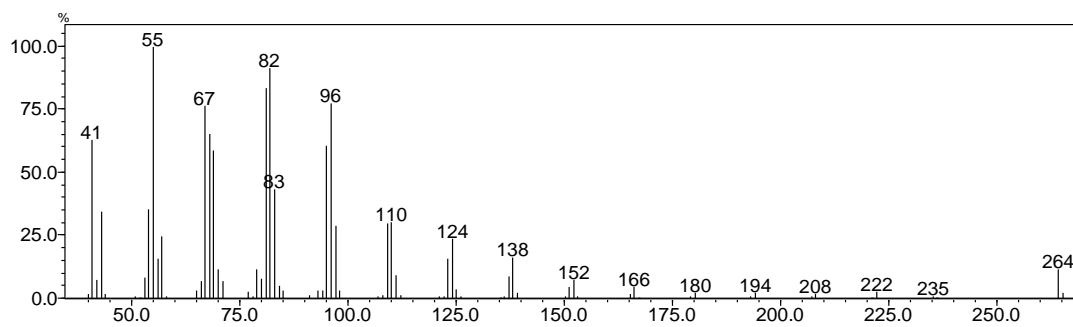
# Espectro de RMN de $^{13}\text{H}$ e DEPT 135 do composto 17



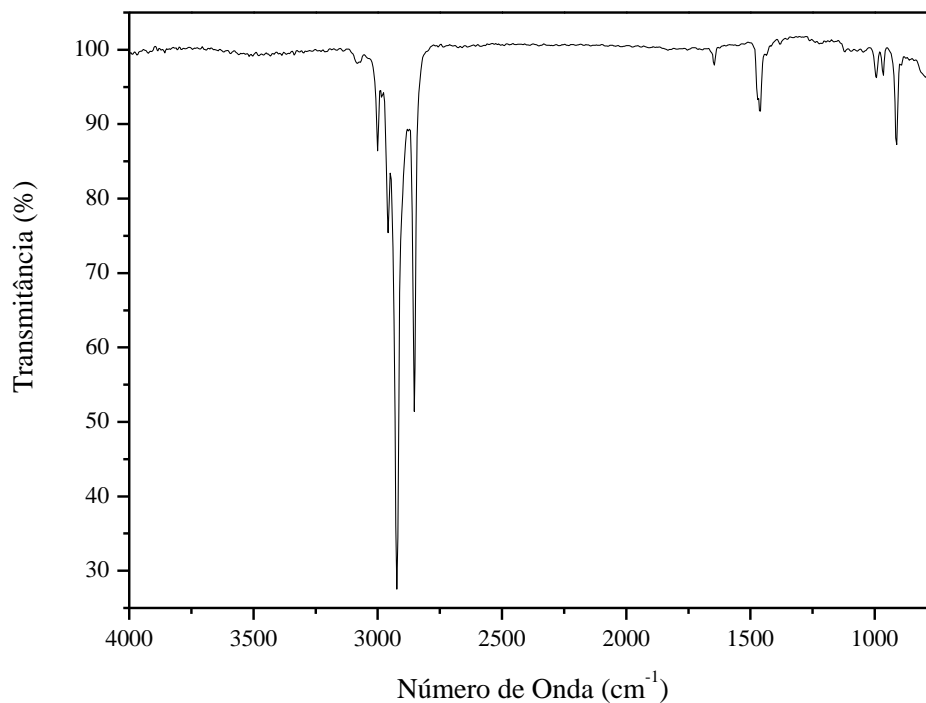
### (Z)-1,10-nonadecadieno (18)



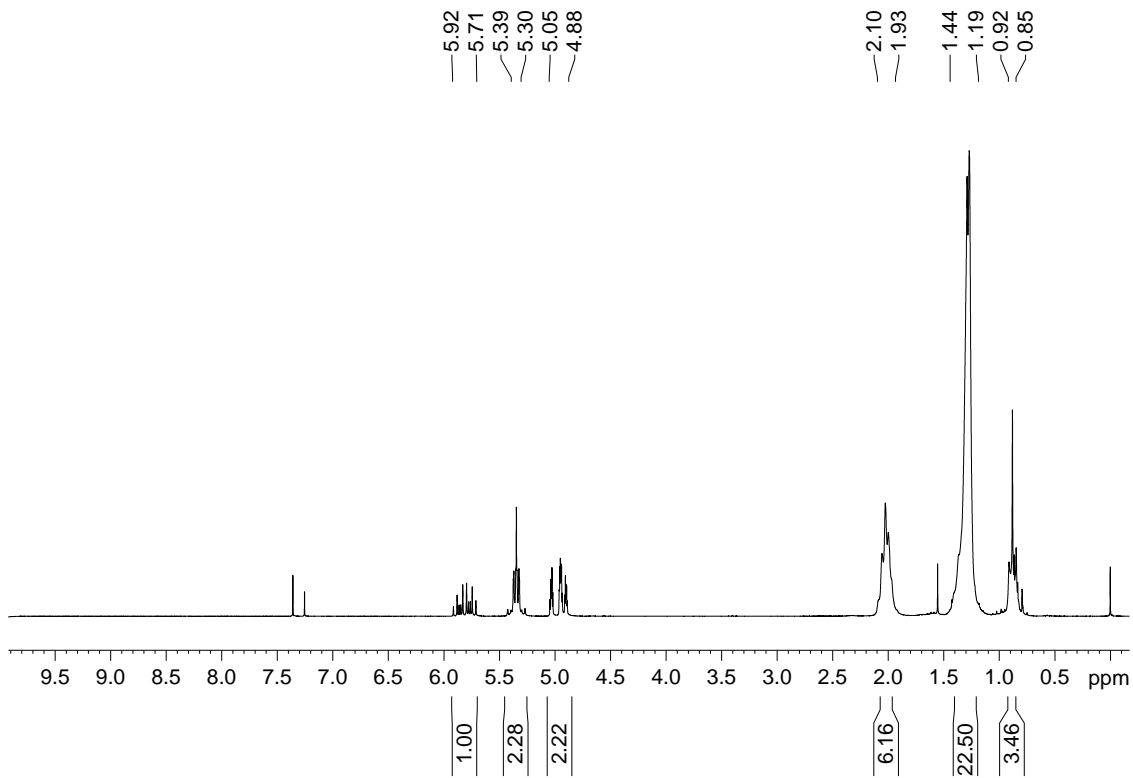
### Espectro de massas do composto 18



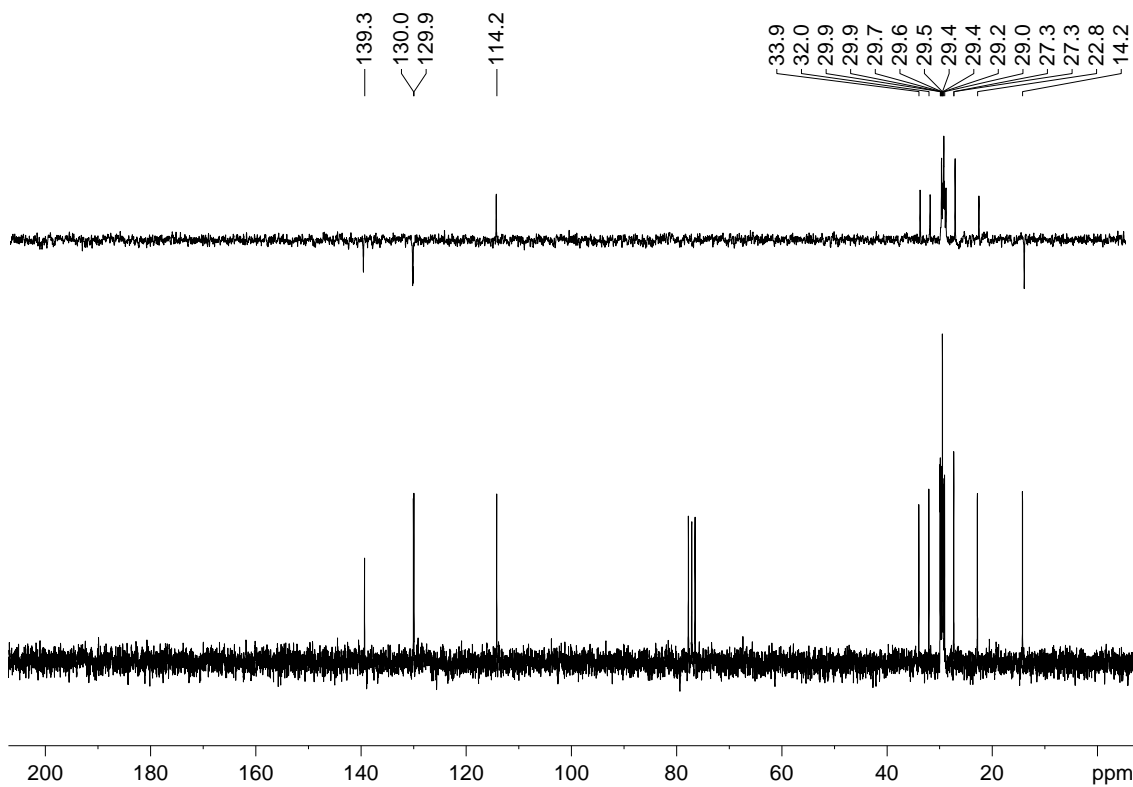
### Espectro na região do infravermelho do composto 18



### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 18

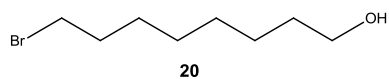


### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 18

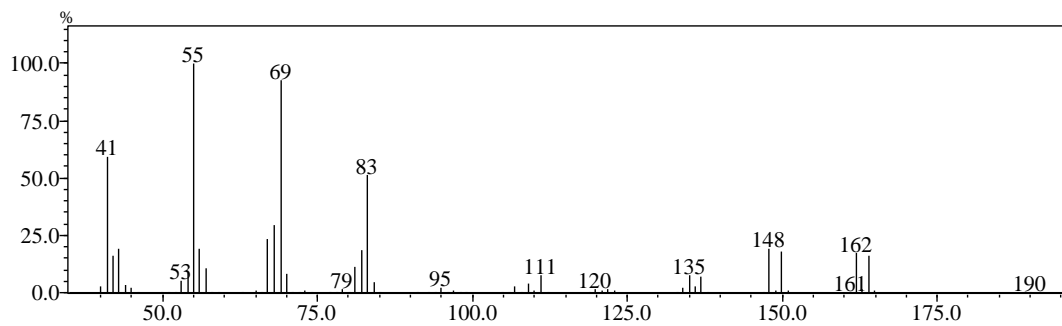


**ESPECTROS SELECCIONADOS PARA A SÍNTESE DO (Z)-1,9-NONADECADIENO**

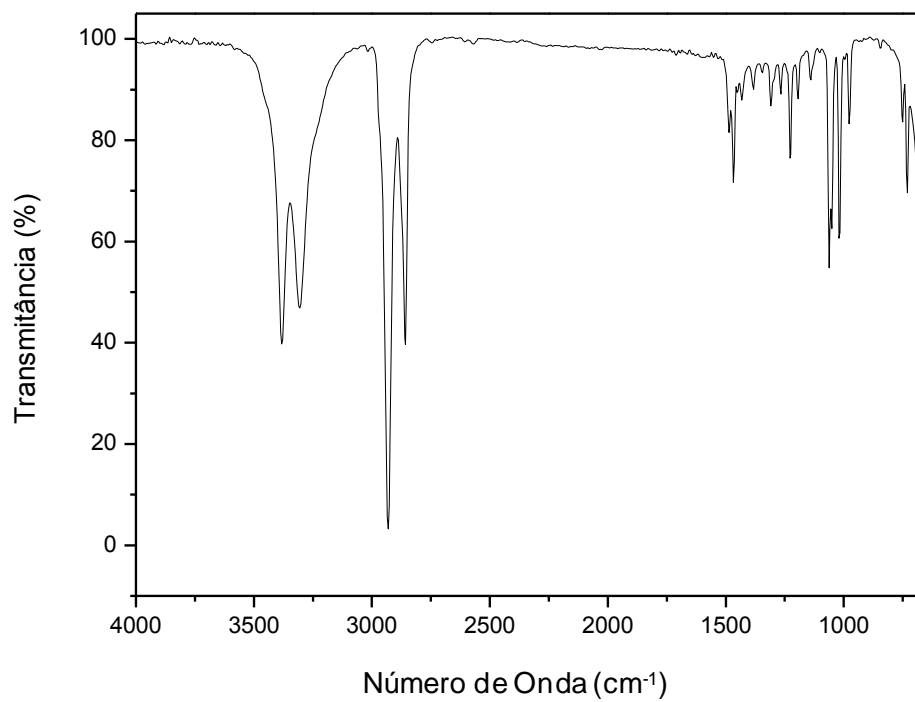
## 8-bromooctan-1-ol (20)



### Espectro de massas do composto 20

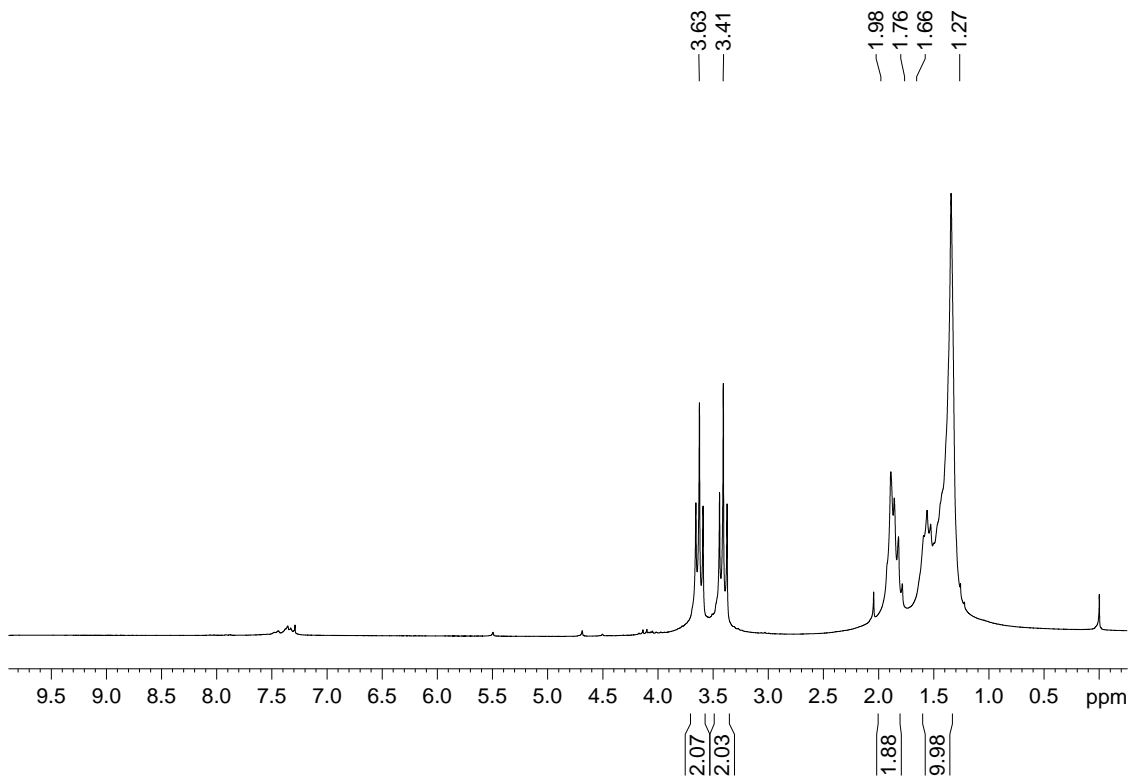


### Espectro na região do infravermelho do composto 20

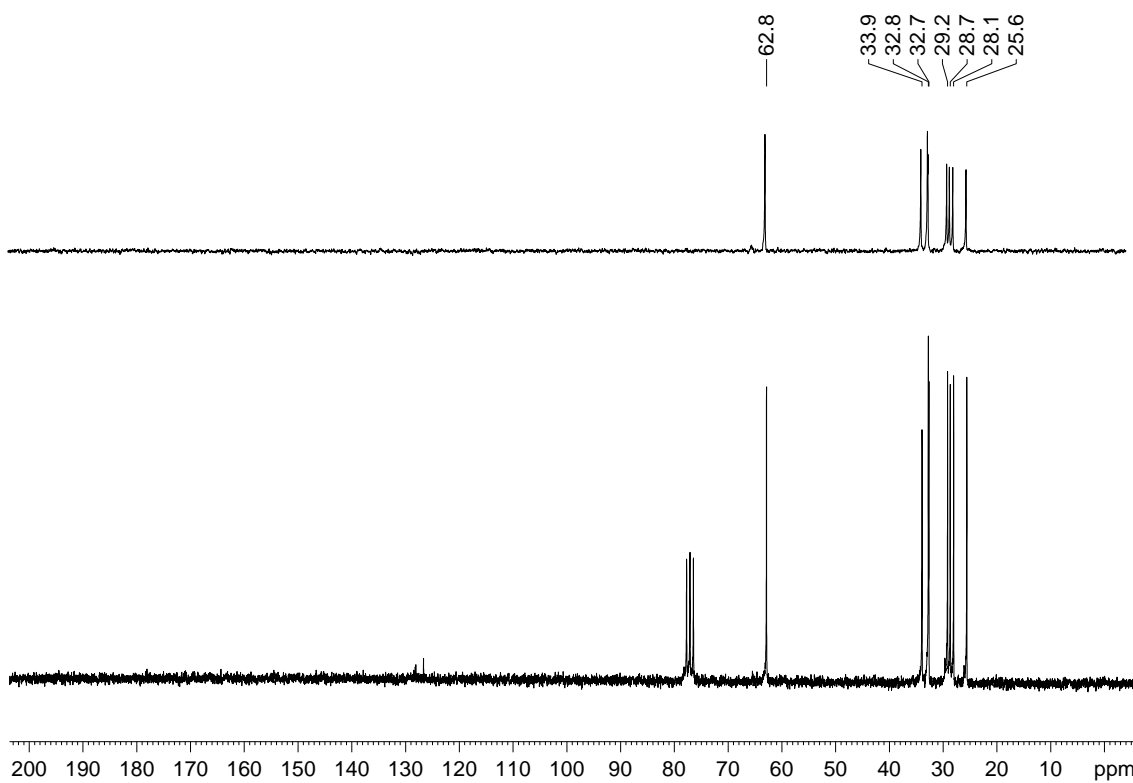




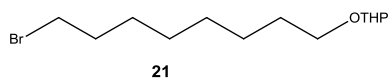
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 20



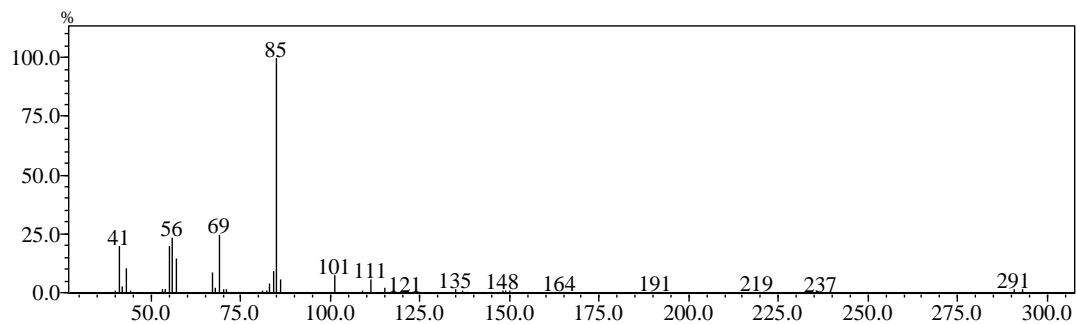
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 20



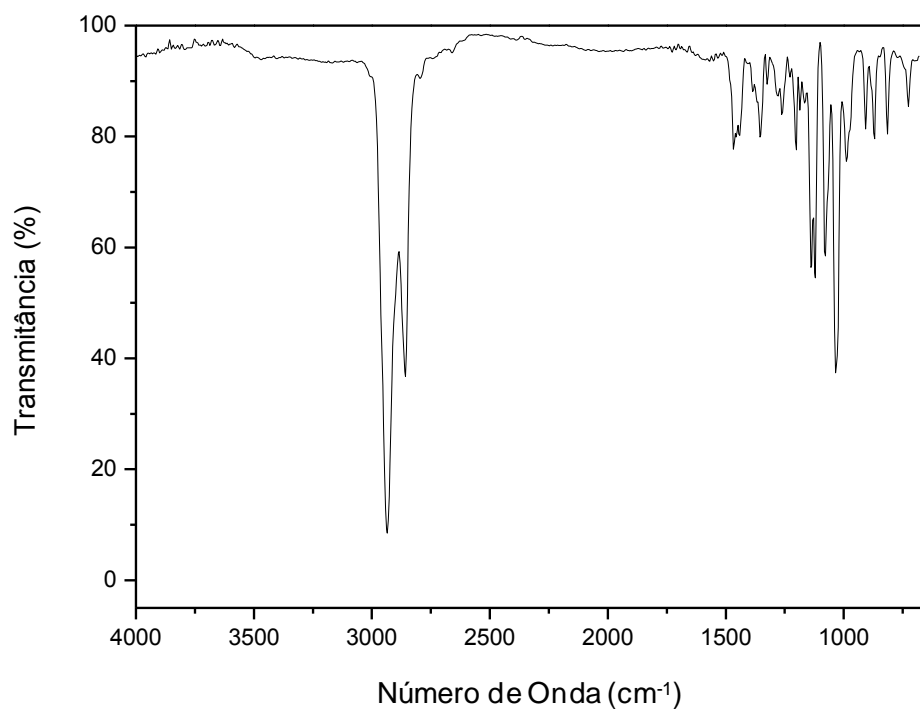
## 2-(8-bromooctiloxi)-tetraidro-2H-pirano 21



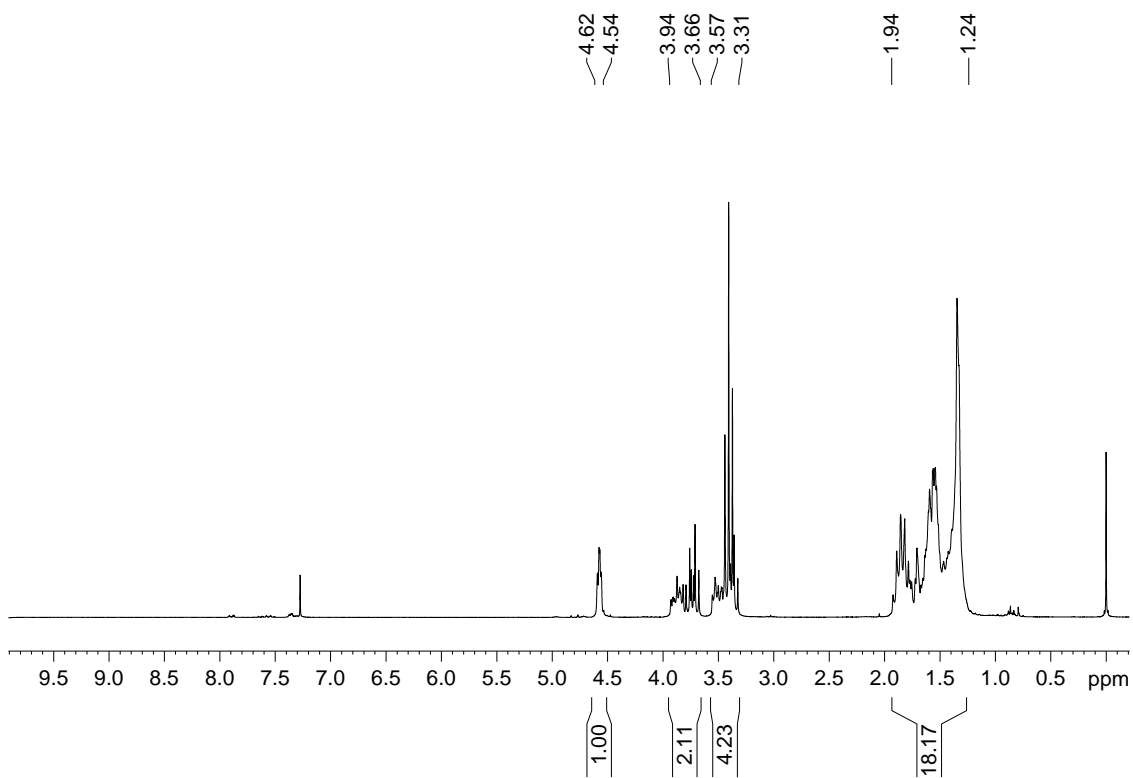
## Espectro de massas do composto 21



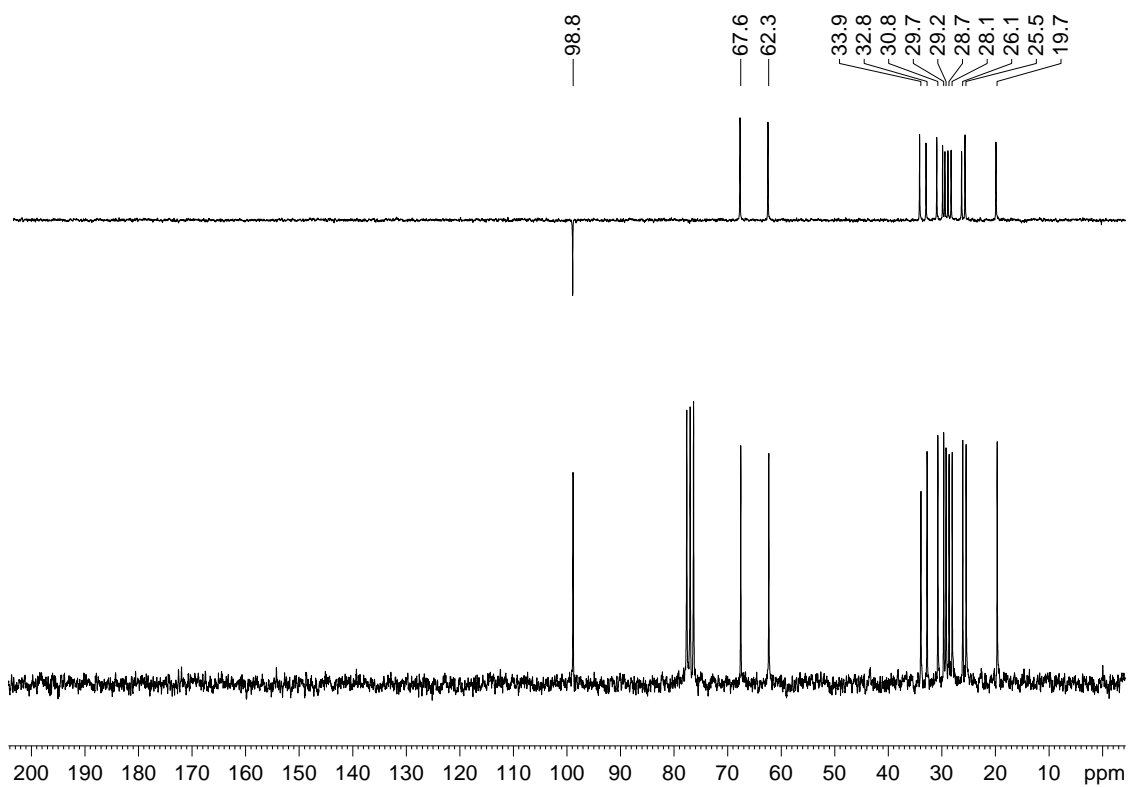
## Espectro na região do infravermelho do composto 21



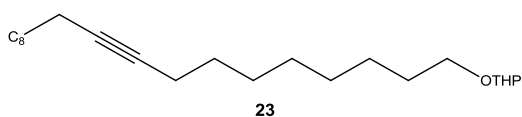
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 21



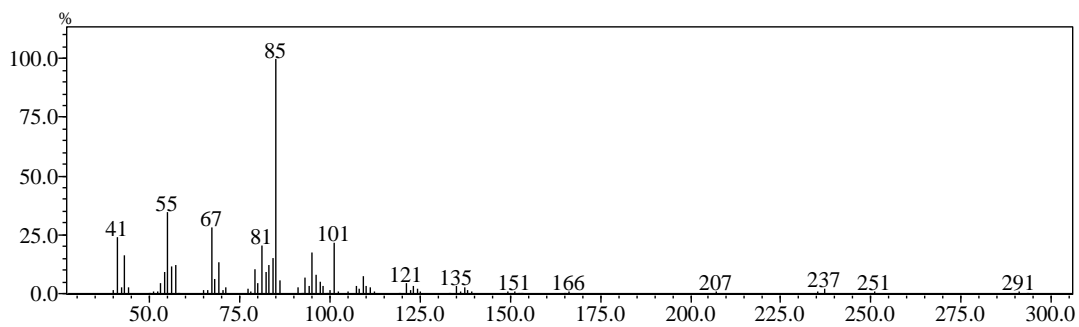
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 21



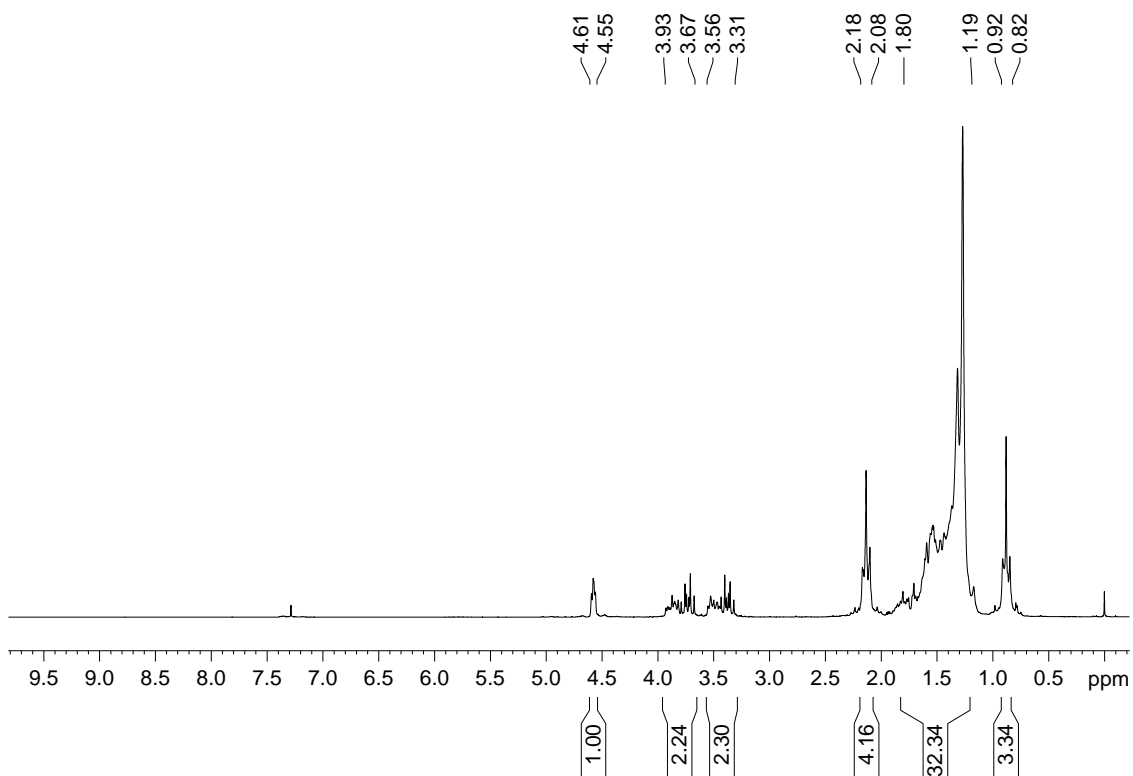
## 2-(nonadec-9-iniloxi)-tetraidro-2H-pirano (23)



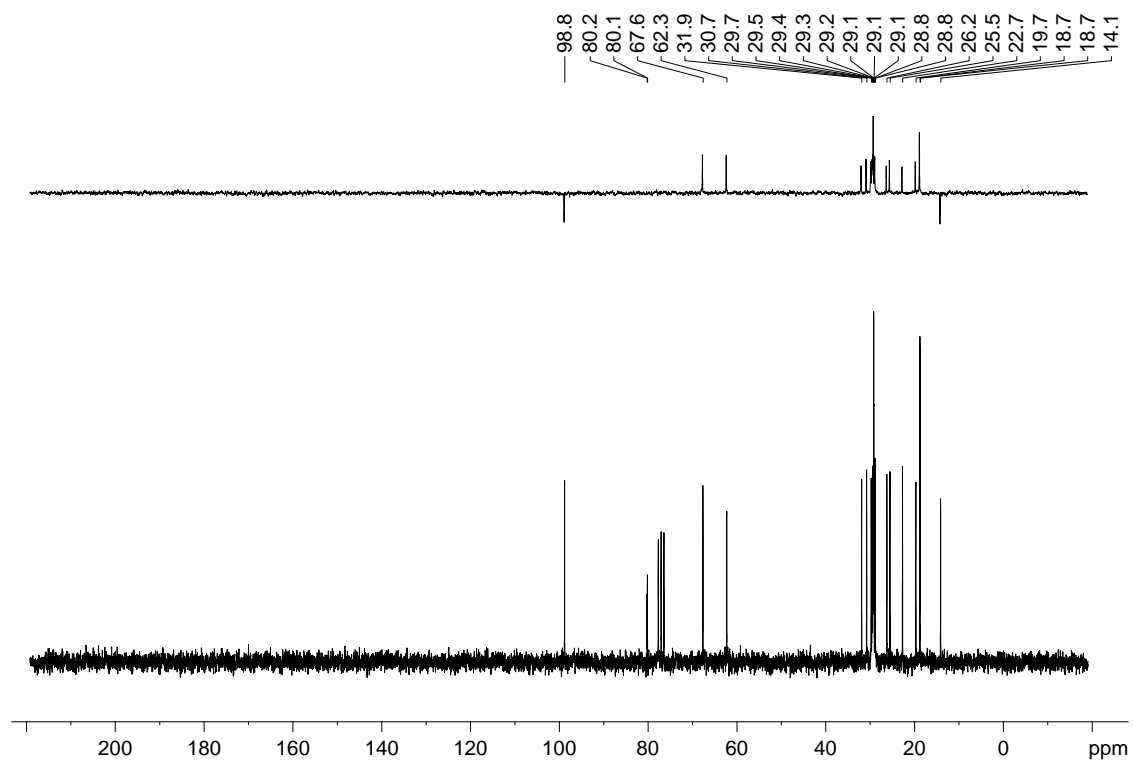
## Espectro de massas do composto 23



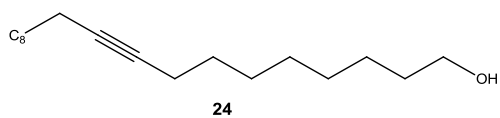
## Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 23



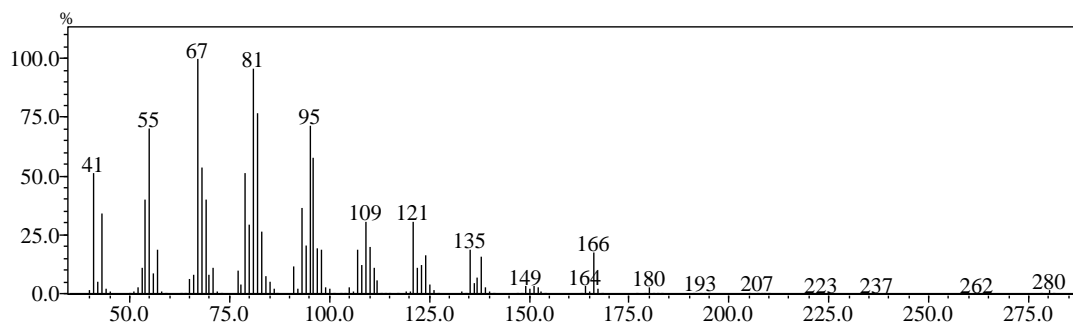
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 do composto 23



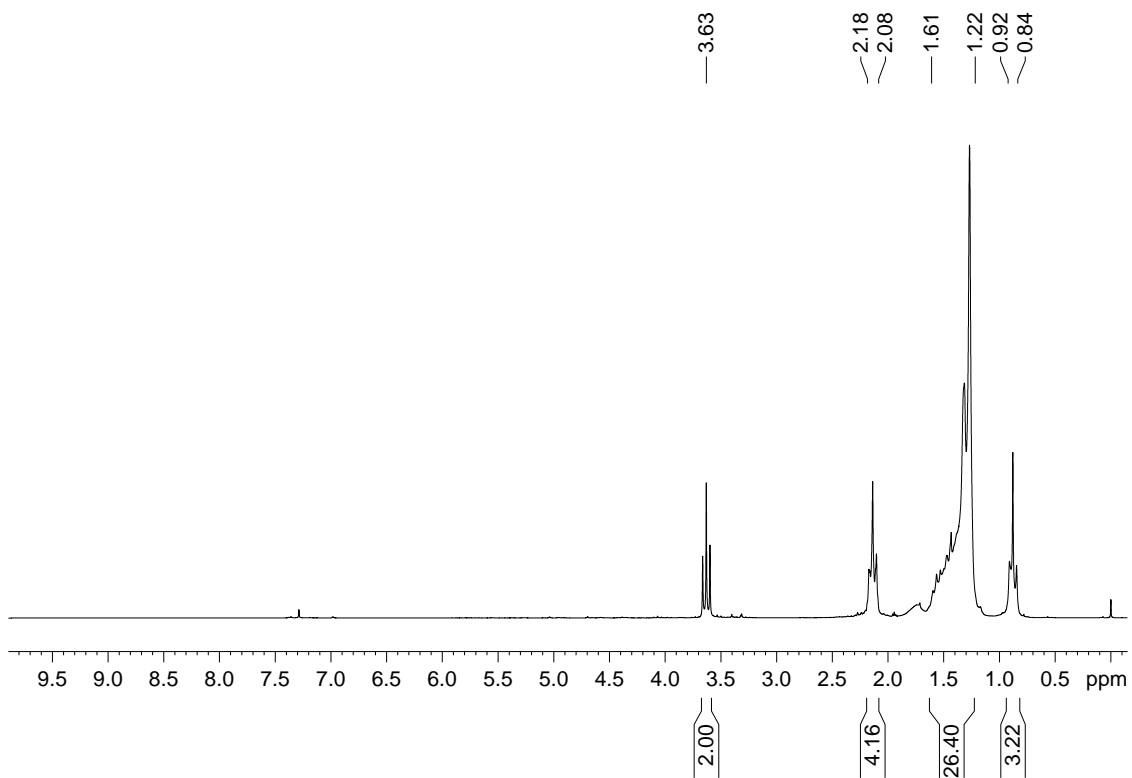
### 9-nonadecin-1-ol (24)



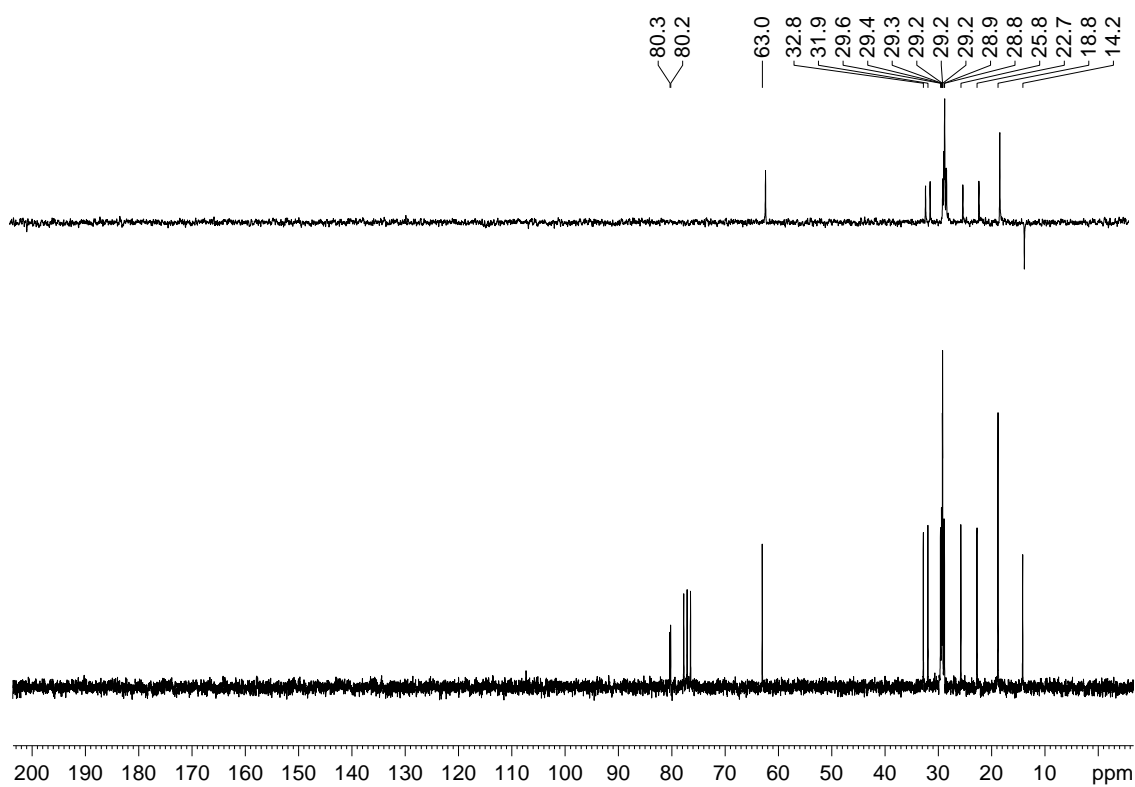
### Espectro de massas do composto 24



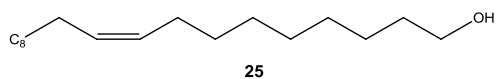
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 24



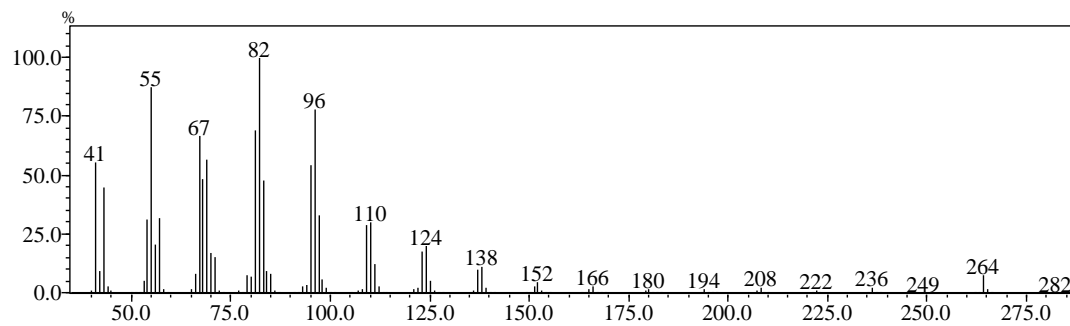
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 do composto 24



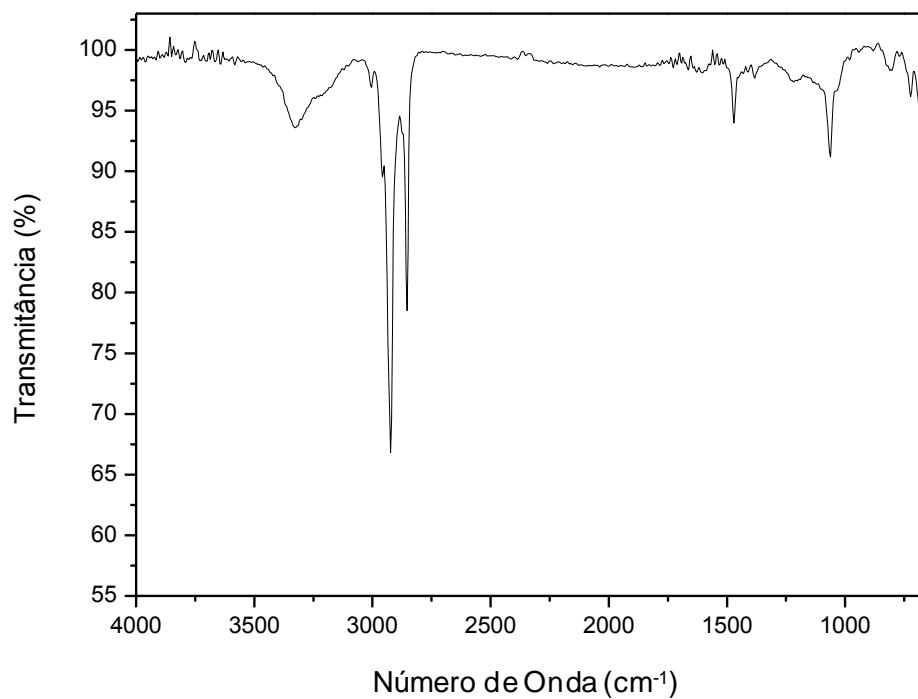
### (Z)-9-nonadecen-1-ol (25)



### Espectro de massas do composto 25

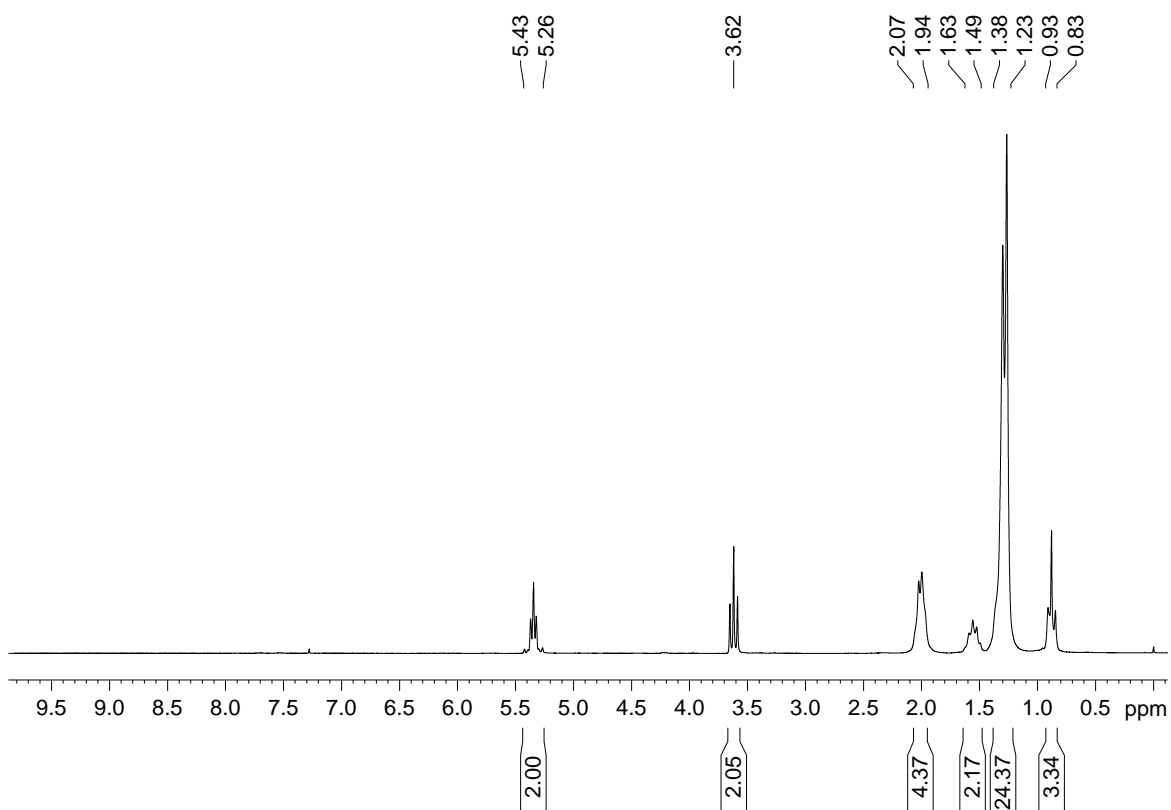


### Espectro na região do infravermelho do composto 25

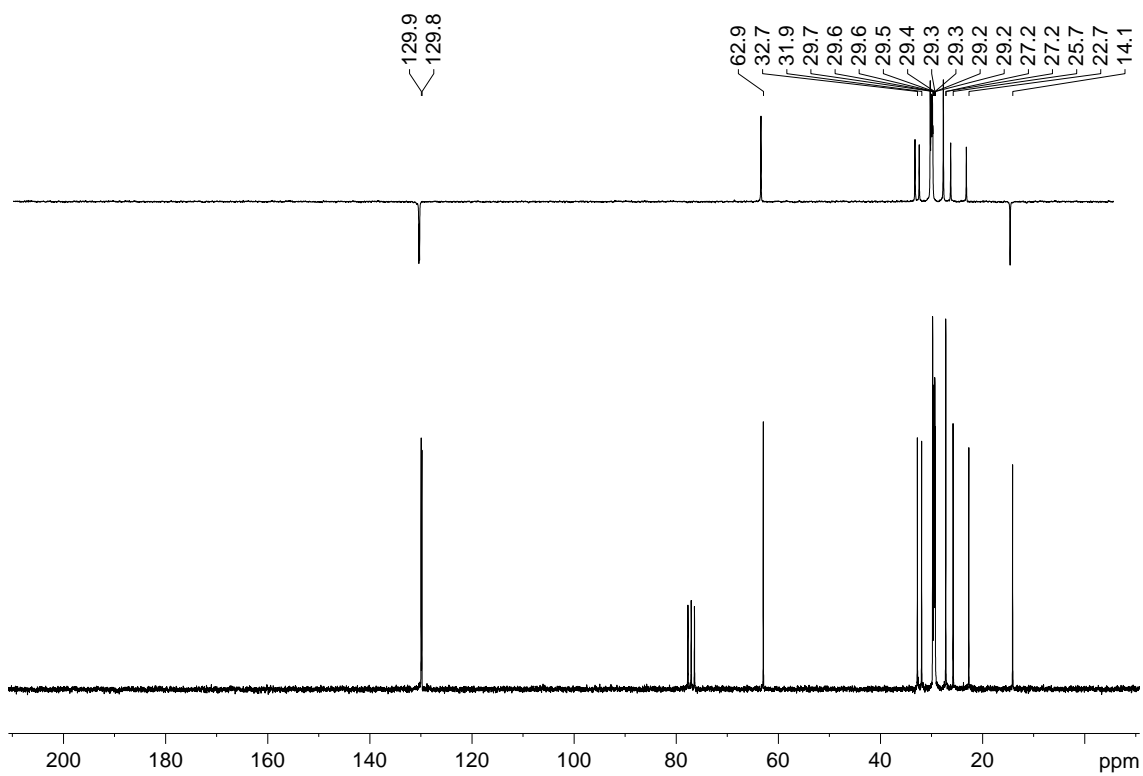




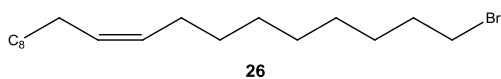
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 25



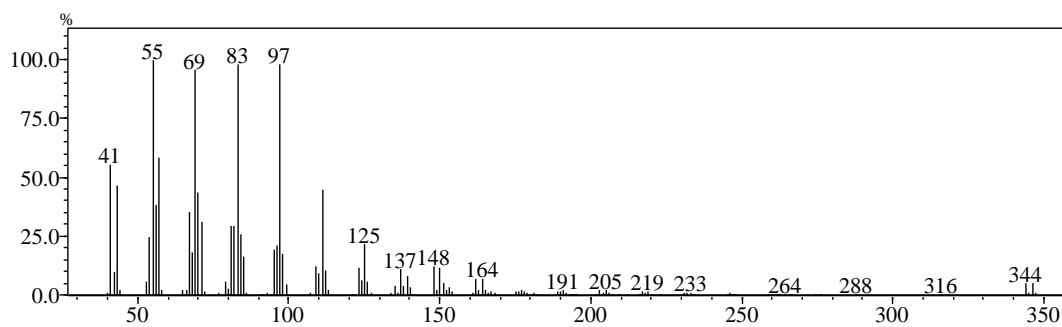
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 25



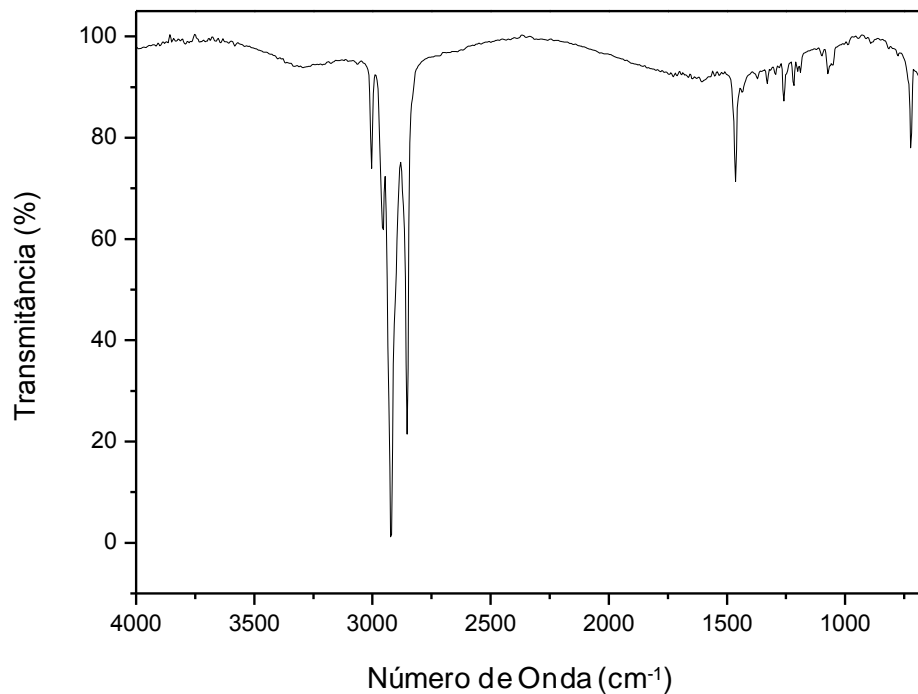
### 1-bromo-(9Z)-nonadeceno (26)



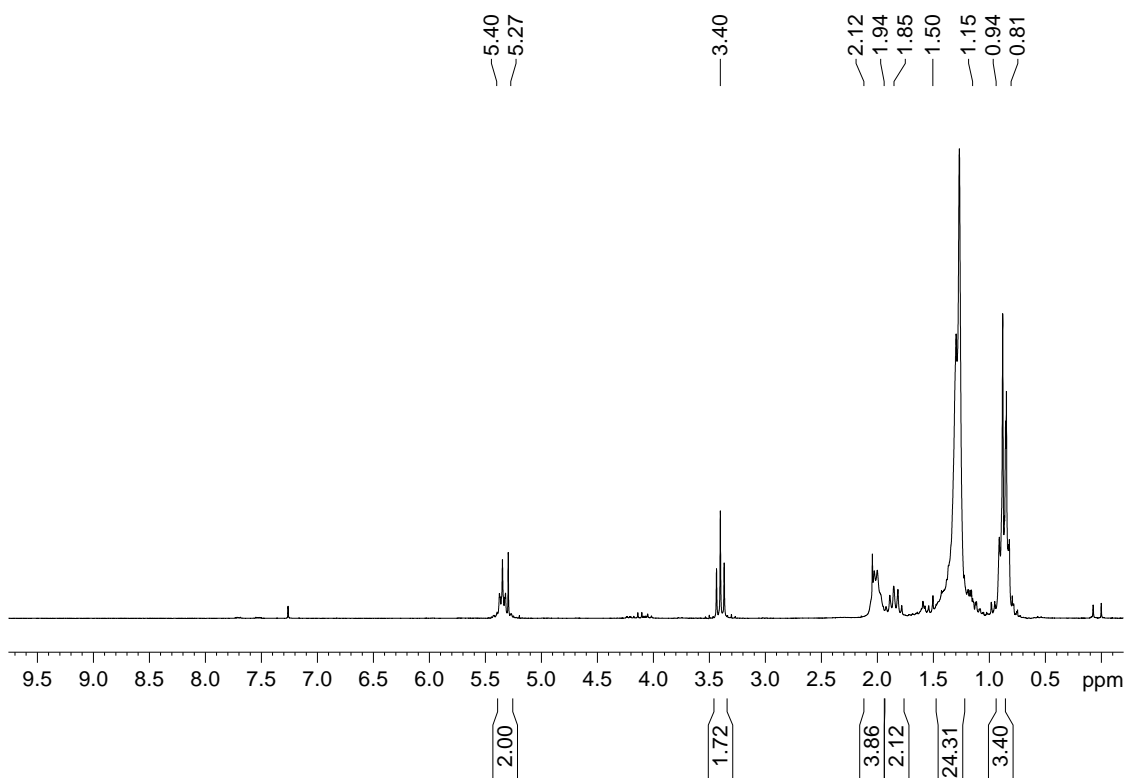
### Espectro de massas do composto 26



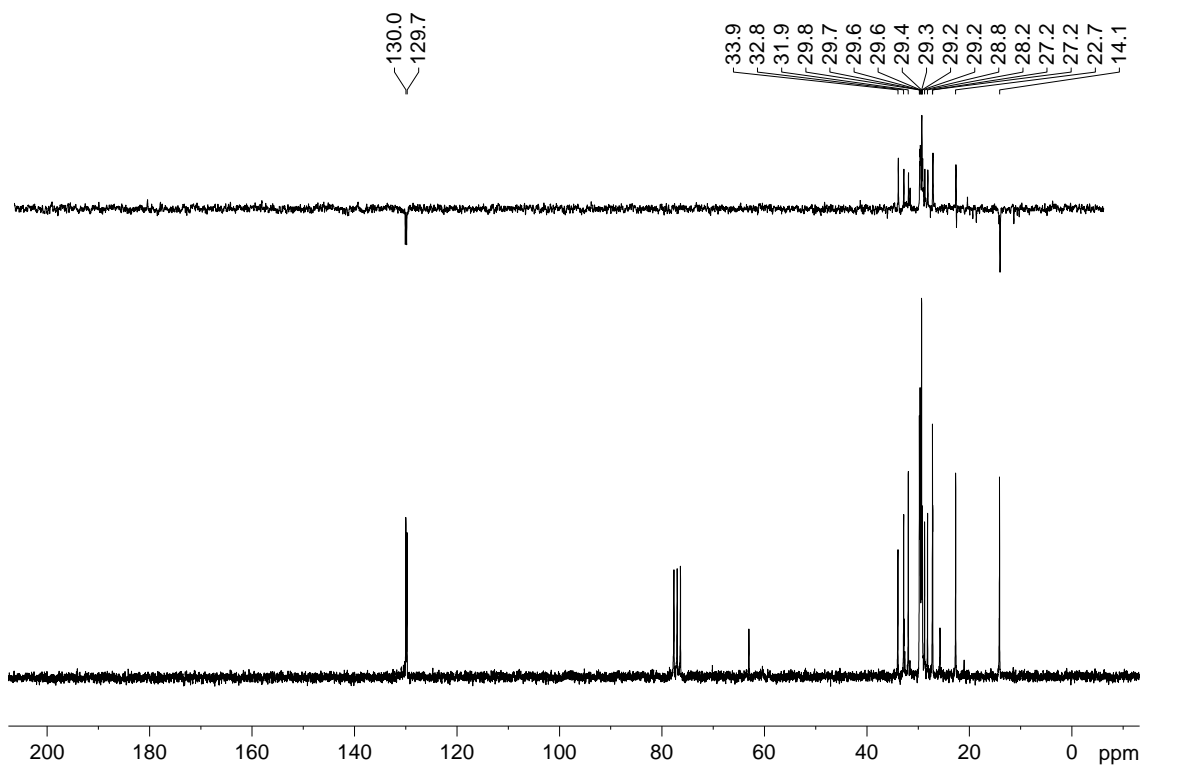
### Espectro na região do infravermelho do composto 26



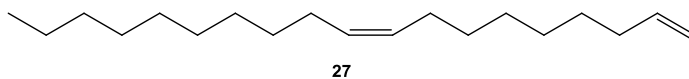
### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 26



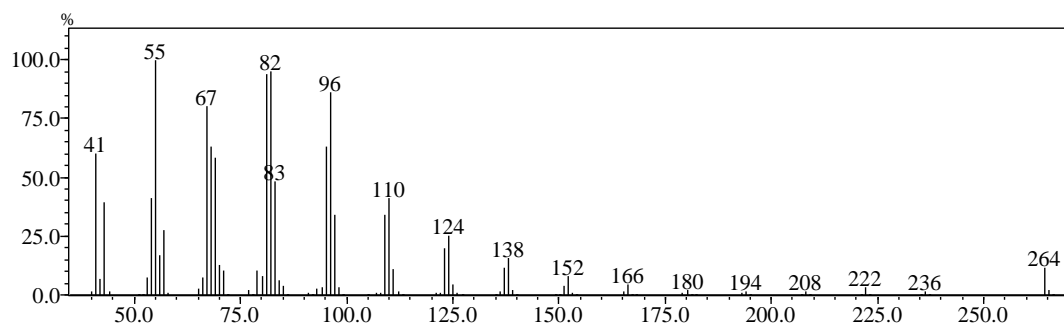
### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 26



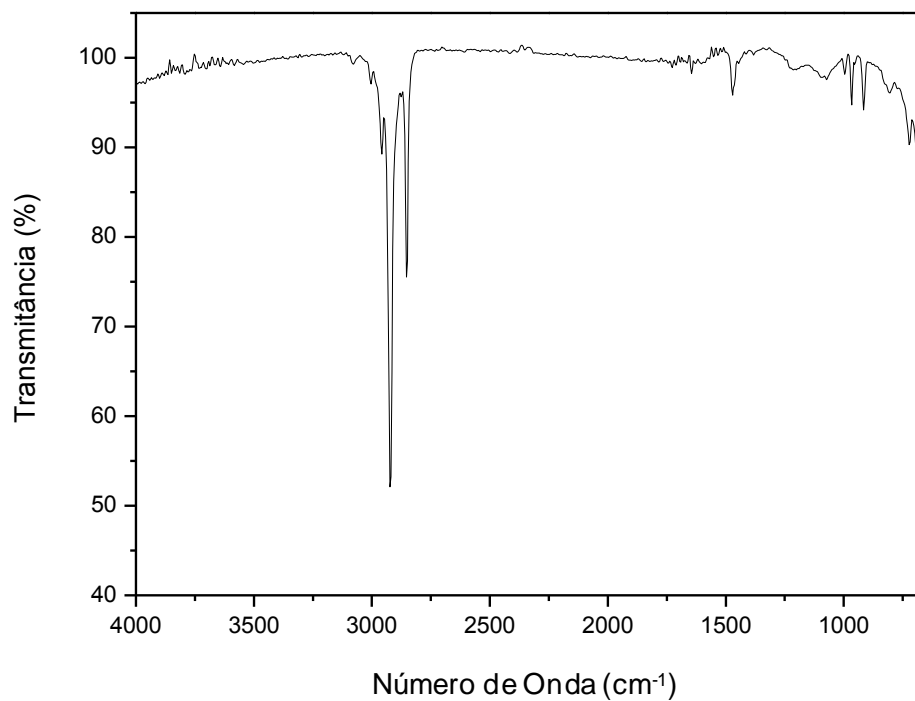
**(Z)-1,9-nonadecadieno (27)**



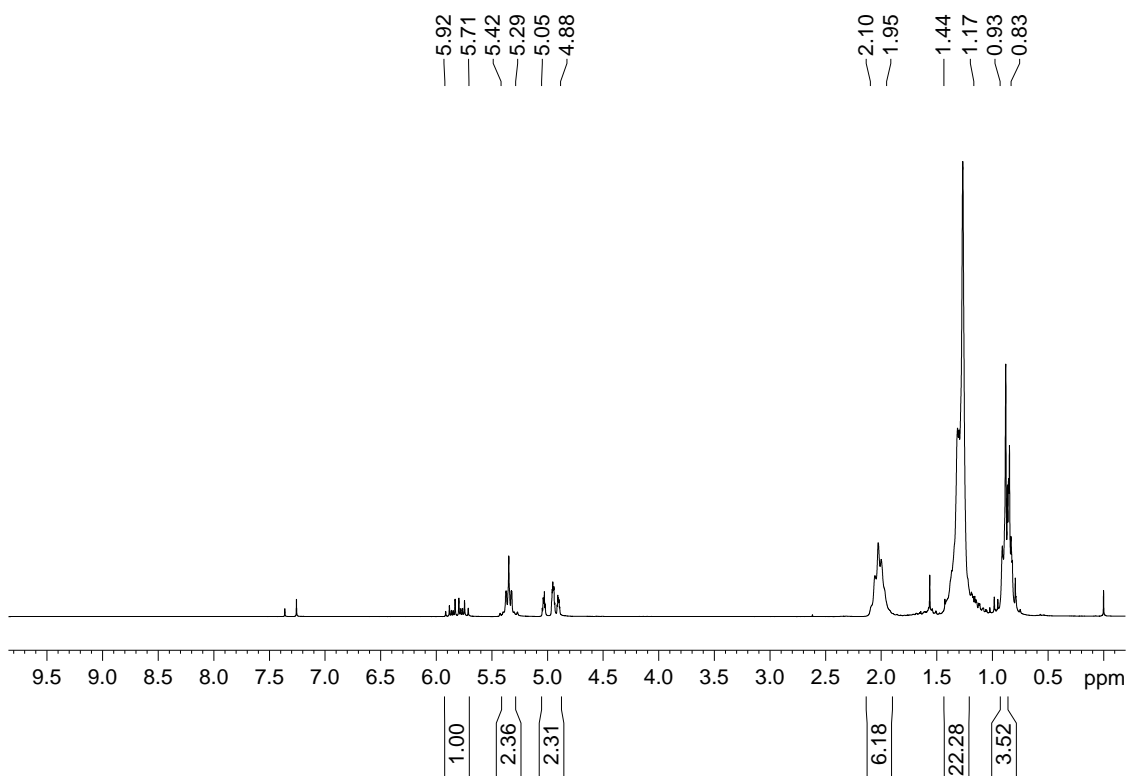
**Espectro de massas do composto 27**



**Espectro na região do infravermelho do composto 27**



### Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 27



### Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 do composto 27

