

Jose Tércio B. Ferreira

Departamento de Química - Laboratório de Síntese de Produtos Naturais - Universidade Federal de São Carlos - Cx. Postal 676 - 13560 - 340 - São Carlos - SP

Recebido em 29/8/92; cópia revisada em 11/3/93

The important role of Organic Synthesis among the modern chemical sciences can not be denied. In this paper, we describe a few examples of structure determination of insect pheromones where the Organic Synthesis was crucial. We also tried to highlight the contribution of some Brazilian group in the fascinating field of insect communication.

Keywords: insect pheromones; organic synthesis; structure determination.

INTRODUÇÃO

A Síntese Orgânica é o pilar científico da Química Fina, onde moléculas mais complexas e/ou valiosas são obtidas a partir de matérias primas mais baratas e abundantes. Ela é o ponto de partida no desenvolvimento de processos para a obtenção de substâncias mais nobres, com alto valor agregado, destinado a várias aplicações. Através da Química Orgânica Sintética pode-se, por exemplo, obter pela primeira vez, embora em pequenas quantidades, moléculas novas para aplicação na medicina, farmacologia, agricultura e materiais avançados etc.

Nesse artigo procuraremos mostrar a importância desse ramo da química no estudo de feromônios, substâncias naturais envolvidas na comunicação entre insetos. Procuraremos também ilustrar a contribuição dos vários grupos de pesquisadores brasileiros nessa fascinante área das ciências naturais.

PRODUTOS NATURAIS MEDIADORES DA COMUNICAÇÃO QUÍMICA ENTRE INSETOS

As substâncias envolvidas na comunicação química entre insetos são isoladas em pequenas quantidades, o que torna extremamente laboriosa a determinação de suas estruturas. Já ocorreram vários casos onde a determinação da estrutura da substância ativa foi inicialmente efetuada de maneira incorreta. Daí a importância da síntese orgânica, permitindo a obtenção dessas substâncias em quantidades suficientes para efetuar testes biológicos, de laboratório e campo, confirmando sua ação biológica, permitindo assim determinar inequivocamente a estrutura química da substância isolada e principalmente possibilitando estabelecer a configuração absoluta da molécula, o que é extremamente dificultado quando se trabalha com quantidades muito pequenas.

Mostraremos alguns exemplos de casos onde a síntese orgânica se constituiu numa ferramenta indispensável para a confirmação da estrutura do feromônio natural. Exemplos adicionais podem ser encontrados em publicação recente¹.

Feromônio da Barata (*Periplaneta americana*)

O isolamento e a identificação do feromônio sexual da barata americana têm instigado a perspicácia de vários grupos de pesquisa desde a década de 60. A primeira tentativa de elucidar a estrutura desse feromônio foi publicada por Jacobson e colaboradores². Esse grupo isolou 12,2 mg de uma substância com propriedades de estimulante sexual altamente ativa. Após um estudo espectroscópico extensivo, com os recursos existentes na época, e utilizando-se também transfor-

mações degradativas, foi atribuída a essa substância uma estrutura derivada do ciclopropano (I) mostrada abaixo.

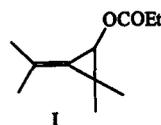


Figura 1

Um ano mais tarde, Day e Whiting³ sintetizaram essa substância de acordo com o esquema abaixo:



Figura 2

Ao submeter a substância (I) a testes biológicos esses autores verificaram que o produto sintético não apresentava nenhuma atividade biológica. Uma vez que a metodologia sintética era inambígua e que as propriedades espectroscópicas e biológicas dessa substância eram inequivocamente diferentes do produto isolado, a estrutura (I) anteriormente proposta para o feromônio teve que ser abandonada. Ainda utilizando evidências obtidas pelo grupo de Jacobson e em seus próprios estudos, propuseram uma nova estrutura para esse feromônio como sendo um derivado do tipo biciclobutânico (II).

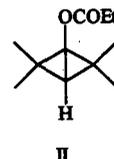


Figura 3

Essa estrutura foi também descartada posteriormente. Mais tarde, Persoons e colaboradores⁴ conseguiram isolar 200 mg de um produto puro, a partir de fezes de milhares de fêmeas virgens e utilizando uma técnica nova para aquela época, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Através de estudos espectroscópicos utilizando Espectrometria de Massas, Ressonância Nuclear Magnética e Infravermelho propuseram uma séria de 6 estruturas, como sendo as mais prováveis para representar o produto natural.

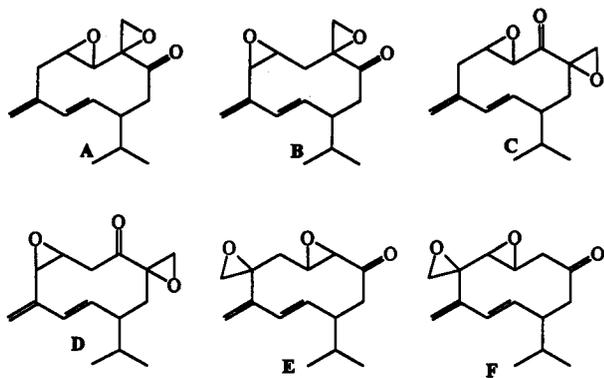


Figura 4

Os próprios autores indicavam a estrutura A, baseados nos dados espectroscópicos e também em critérios biossintéticos, como sendo a mais provável, e mencionaram na conclusão de seu trabalho o seguinte: "Concluindo, aparentemente entre as seis estruturas propostas a fórmula A parece ser a mais plausível para o feromônio sexual Periplanona-B. A prova conclusiva deverá ser obtida através de síntese."

Três anos mais tarde, Still⁵ sintetizou o estereoisômero (III), utilizando o esquema mostrado na Fig. 5.

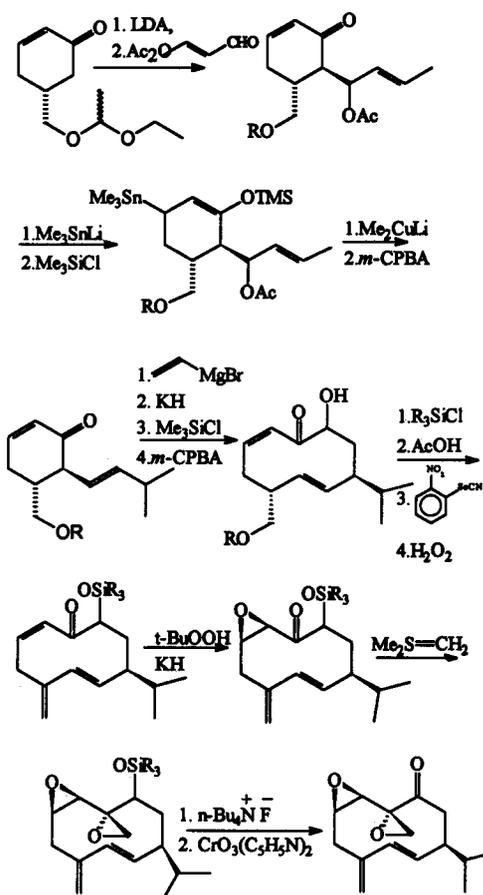


Figura 5

Quando submetida a testes biológicos, a substância sintética apresentou atividade, comprovando inequivocamente que a estrutura proposta por Persoons estava correta. Várias sínteses estereó e enantiosseletivas desses feromônios já foram publicadas na literatura¹.

O esquema da Fig. 6 mostra uma das sínteses enantiosseletiva da (-)-Periplanona B efetuada por Kitahara, Mori e Mori⁶ a partir do (+)-Limoneno.

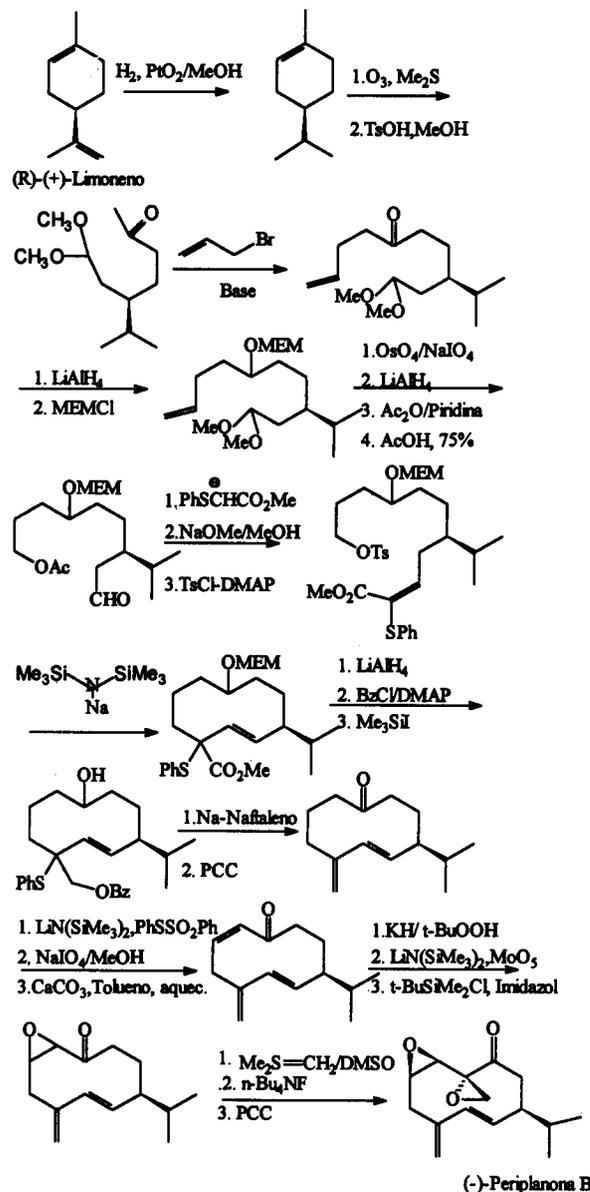


Figura 6

Feromônio do Besouro Ips (*Ips spp*)

Devido a sua importância econômica, os insetos da espécie Ips sempre despertaram o interesse de entomologistas, agrônomos e químicos ligados à área de proteção de florestas.

A existência de um sistema de comunicação efetivo entre os "besouros da casca" (bark beetle) da família *Scolytidae* já havia sido descoberto há algum tempo por Wood⁷.

Na identificação das substâncias responsáveis por essa comunicação foram utilizados 3 Kg de fezes obtidos de aproximadamente 21.000 insetos machos criados em troncos de pinheiro Ponderosa (*Pinus ponderosa* Laws) em condições de laboratório. Após extração, destilação e separação por cromatografia em coluna foi obtido, por Silverstein e colaboradores⁸, uma fração altamente ativa.

Essa fração de material foi posteriormente purificada por Cromatografia em Fase Gasosa (CG) Preparativa, sendo obtidas duas substâncias puras (1 e 2) nas quantidades de 260 e 26 mg respectivamente, às quais foram atribuídas as estruturas mostradas na Fig. 7.

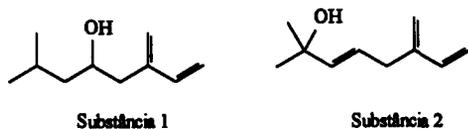


Figura 7

A Substância 1 foi chamada de Ipsenol e sua estrutura confirmada através de síntese, porém, na sua forma racêmica.

Uma vez que a comunicação química nos Coleoptera é altamente influenciada pela configuração absoluta dos centros quirais da molécula e a quantidade de feromônio isolado foi muito pequena, a sua esterequímica absoluta foi esclarecida através da síntese de ambos os enantiômeros dessa molécula por Mori⁹. (Figura 8)

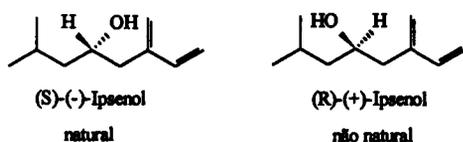


Figura 8

Assim, foram sintetizados 1,0 g do feromônio natural (S)-(-)-Ipsenol e 0,9 g da substância não natural (R)-(+)-Ipsenol, quantidades suficientes para efetuar testes biológicos para comprovar a relação entre configuração absoluta e atividade feromonal. Vité¹⁰ demonstrou que apenas o isômero (S)-(-) exerce o efeito de agregação no inseto *Ips grandicollis*, enquanto seu enantiômero é inativo.

Síntese do (S)-(-)-Ipsenol natural

A matéria prima escolhida foi a (S)-(+)-Leucina, que foi hidroxilada na posição alfa, com retenção da configuração absoluta via ácido nitroso. O alfa-hidroxiácido resultante foi recristalizado 3 vezes para assegurar a pureza ótica necessária e transformado, em várias etapas, no epóxido oticamente ativo. Esse intermediário chave foi posteriormente transformado no feromônio natural de acordo com o esquema da Fig. 9.

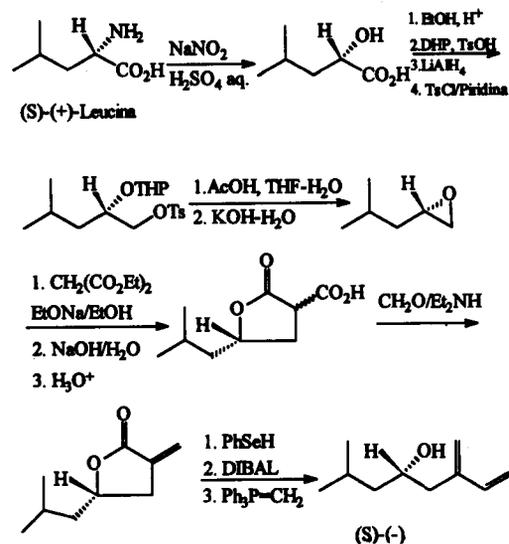


Figura 9

O seu enantiômero foi preparado usando a mesma rota sintética, porém partindo-se da (R)-(-)-Leucina.

Posteriormente Mori e colaboradores¹¹ publicaram uma síntese mais curta desse feromônio de acordo com o esquema da Fig. 10.

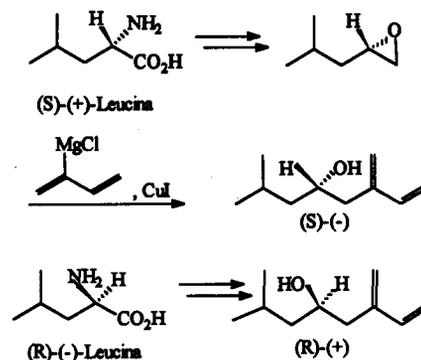


Figura 10

Feromônio de Insetos do gênero Diabrotica

Esse é um exemplo importante demonstrando que químicos e entomologistas, trabalhando com feromônios, podem aprender conjuntamente quando, em vez de se restringirem ao inseto em estudo, procuram englobar espécies intimamente relacionadas¹².

Guss e colaboradores¹³ isolaram e identificaram o feromônio sexual da *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, com sendo o propionato do 8-metil-2-decanoíla. (Fig. 11)

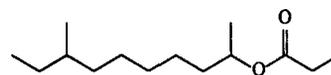


Figura 11

Essa substância se constituiu no primeiro exemplo de feromônio isolado da família *Chrysomelidae*. Pode-se verificar a existência de dois centros quirais na estrutura dessa molécula e, portanto, poderão existir até 4 estereoisômeros dessa substância (Figura 12).

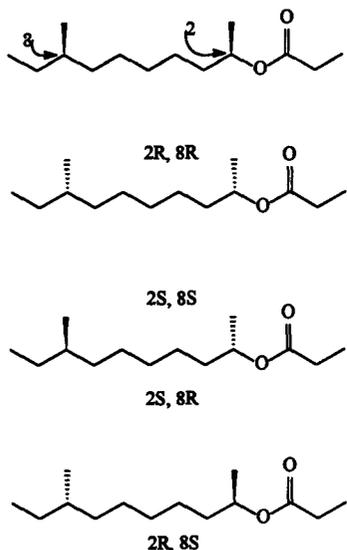


Figura 12

Uma vez que apenas 350 ng do feromônio natural foram isolados, não foi possível determinar sua configuração absoluta.

Mori e Watanabe¹⁴ desenvolveram uma metodologia sintética onde os quatro estereoisômeros desse feromônio foram obtidos acoplando-se duas unidades, cada uma contendo um centro quiral com a configuração já conhecida.

Estudos posteriores utilizando-se os estereoisômeros puros, obtidos sinteticamente, permitiram estender os estudos da relação estrutura/atividade a outros insetos intimamente relacionados¹⁵, que podem ser resumidos no quadro 1.

Recentemente Ferreira e Simonelli¹⁶ desenvolveram uma nova metodologia sintética para a obtenção enantiosseletiva dos isômeros (2S,8R) e (2S,8S) utilizando a rota sintética mostrada na Fig. 13.

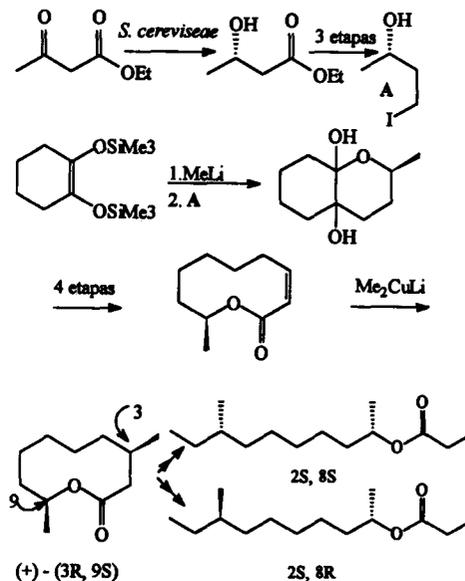


Figura 13

Feromônio do Bicudo do Algodoeiro (*Anthonomus grandis*)

Esse inseto é uma das mais sérias pragas do algodoeiro e com uma distribuição muito ampla. O macho é quem emite o feromônio para atrair as fêmeas. Tumlinson e colaboradores¹⁷ demonstraram que a mistura feromonal desse inseto é constituída por 4 substâncias, as quais são mostradas abaixo (Fig. 14).

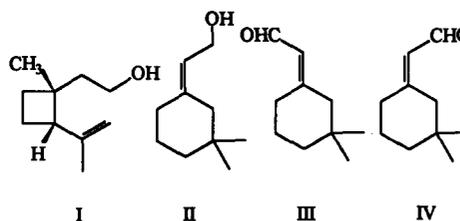


Figura 14

Quadro 1. Relação entre estrutura e atividade em Diabrotica

| | | | | |
|-------------------------------|-------------|-------------|--|------------|
| <i>D. virgifera virgifera</i> | 2R, 8R (++) | 2S, 8R (+) | | |
| <i>D. virgifera zea</i> | 2R, 8R (++) | 2S, 8R (+) | | |
| <i>D. barberi</i> | 2R, 8R (++) | 2S, 8R (--) | | 2S, 8S (-) |
| <i>D. longicornis</i> | 2S, 8R (++) | 2R, 8R (--) | | |
| <i>D. lemniscata</i> | 2S, 8R (++) | 2R, 8R (+) | | |
| <i>D. porracea</i> | 2S, 8R (++) | | | |

(++) = forte atração (+) = atração fraca (--) = forte inibição (-) = inibição fraca

A síntese do Grandisol (I) foi efetuada por aqueles autores utilizando uma rota sintética que não proporcionou nenhum controle regio ou estereoquímico, levando à obtenção de uma mistura de produtos. (Fig. 15).

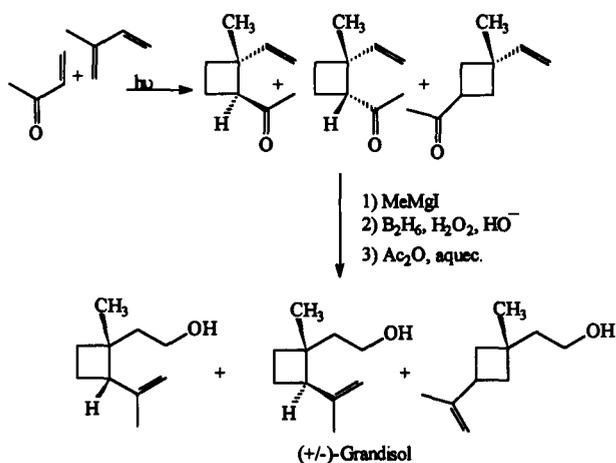


Figura 15

Após a separação, o Grandisol racêmico mostrou-se idêntico ao produto natural. O seu estereoisômero *trans* apresentou uma atividade de atração 200 vezes menor quando submetido a testes de laboratório.

Observe-se que o Grandisol possui dois centros quirais e portanto pode apresentar até 4 estereoisômeros. Como foi mencionado anteriormente, apenas o isômero *cis* possui atividade considerável. Porém não foi possível determinar a configuração absoluta do produto natural. (Figura 16)

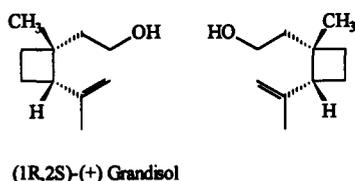


Figura 16

Mais uma vez a síntese orgânica foi a ferramenta chave da elucidação da real estrutura do Grandisol natural. Hobbs e Magnus¹⁸ fizeram a primeira síntese enantiosseletiva dessa substância utilizando o (-)- β -pineno como material de partida. (Fig. 17)

Um pouco mais tarde Mori¹⁹ sintetizou os dois enantiômeros do Grandisol e verificou que ambos os enantiômeros são ativos, significando que o inseto não discrimina os dois centros quirais. Esse fato é de extrema importância na utilização prática de feromônio no controle dessa praga, pois pode-se utilizar a mistura racêmica, o que reduz consideravelmente o custo de síntese do mesmo.

Muitos outros métodos sintéticos foram desenvolvidos para a obtenção dos outros 3 componentes da mistura feromonal do *A. grandis*, sendo que uma delas foi desenvolvida por Souza²⁰. (Fig. 18)

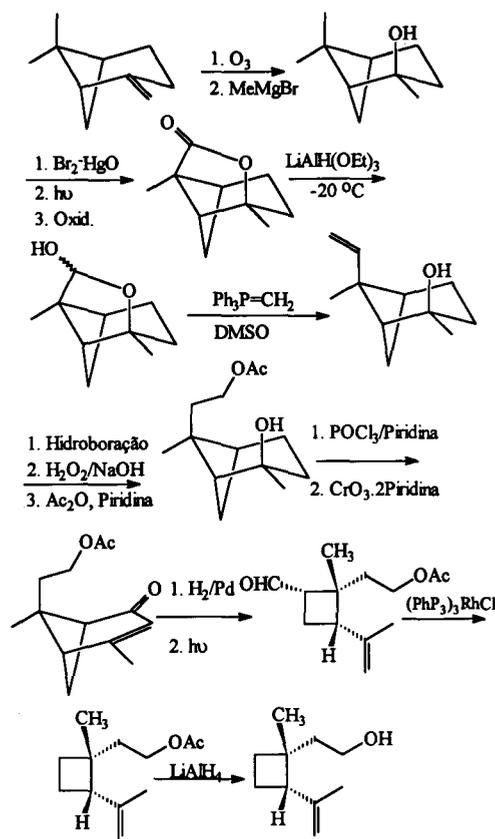


Figura 17

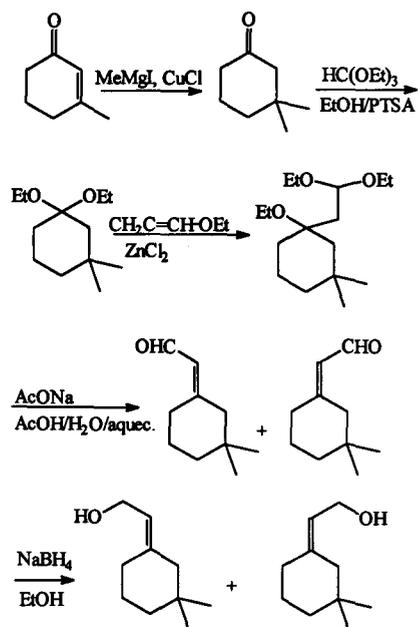


Figura 18

Feromônio do Bicho do Fumo (*Lasioderma serricorne* F.)

O Bicho do Fumo é uma praga que causa sérios danos econômicos em fumo armazenado, sendo também descrito o ataque desse inseto em cereais e sementes ensilados. Atualmente o uso de feromônio se constitui no melhor método de monitoração de infestação dessa praga, inclusive no Brasil²¹.

Os primeiros estudos da atração de machos utilizando-se extratos brutos de fêmeas do bicho do fumo foram efetuados por Cofelt e Burkholder²². Entretanto, o isolamento e a identificação da estrutura do feromônio só foi efetuada mais tarde por Chuman e colaboradores²³.

O isolamento do feromônio foi efetuado pela extração com solventes (hexano) de 65.000 insetos inteiros. O extrato bruto foi purificado em coluna cromatográfica aberta utilizando-se ácido silfícico como adsorvente. A fração correspondente ao feromônio foi acetilada e o feromônio acetilado foi finalmente purificado por cromatografia gasosa preparativa sendo obtido 1,5 mg do acetato puro. Após estudos espectroscópicos de Ressonância Nuclear Magnética e Espectrometria de Massas foi proposta a seguinte estrutura para a substância purificada (R=Ac), sendo que o feromônio natural possui a hidroxila livre (R=H). (Fig. 19)

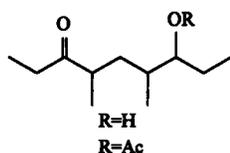


Figura 19

É impressionante a alta atividade apresentada pelo feromônio natural, sendo necessário apenas 10 pg (10^{-12} g) dessa substância para provocar comportamento copulatório entre insetos machos de *D. serricorne*.

A confirmação final da estrutura molecular foi efetuada pelos mesmos autores²⁴ através de uma síntese não estereoseletiva dessa molécula de acordo com o esquema abaixo. (Fig. 20)

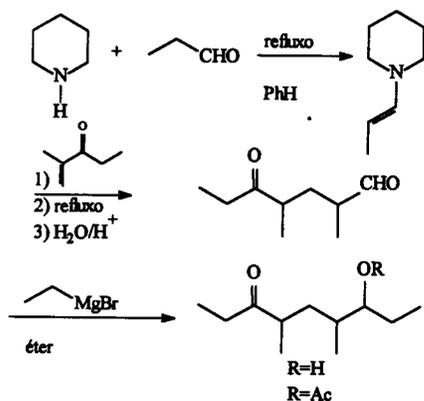


Figura 20

Apesar de apenas 1 ng (10^{-9} g) do material sintético apresentar atividade biológica, comprovando inequivocamente a estrutura química anteriormente proposta, a confirmação absoluta dos centros quirais e portanto a verdadeira estrutura do feromônio natural não havia, até então, sido revelada. Durante o trabalho de isolamento e tentativas de determinação estrutural, havia sido possível determinar que o feromônio natural acetilado era levorrotatório.

A comprovação definitiva da estereoquímica foi possível graças a síntese dos dois enantiômeros do feromônio acetilado, por Mori e colaboradores²⁵ mostrando que o produto natural

era a (4S,6S,7S)-4,6-dimetil-7-hidroxi-3-nonona. O enantiômero (4R,6R,7R) quando submetido a testes biológicos de comportamento e eletroantenograma se mostrou inativo. O esquema sintético utilizado está mostrado na Figura 21.

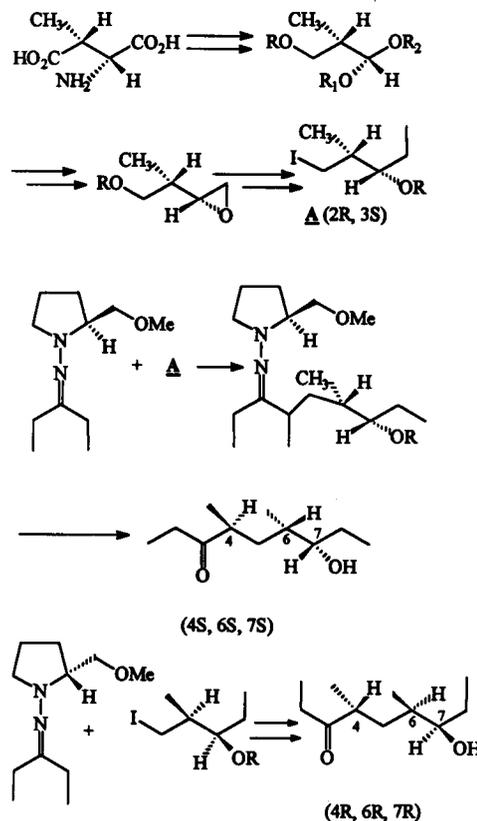


Figura 21

Todos os 8 possíveis estereoisômeros dessa molécula foram sintetizados, possibilitando a execução de testes biológicos e proporcionando um melhor entendimento da relação estrutura/atividade. Aliás, esses testes permitiram estabelecer que um dos fatores mais importantes para a atividade biológica é a relação *syn* entre a metila na posição 6 e hidroxila na posição 7, sendo a configuração do carbono 4 de menor importância.

Várias sínteses estereosseletivas desse feromônio foram descritas até o momento, incluindo a de Pilli e Murta²⁶, mostrada abaixo. (Fig. 22)

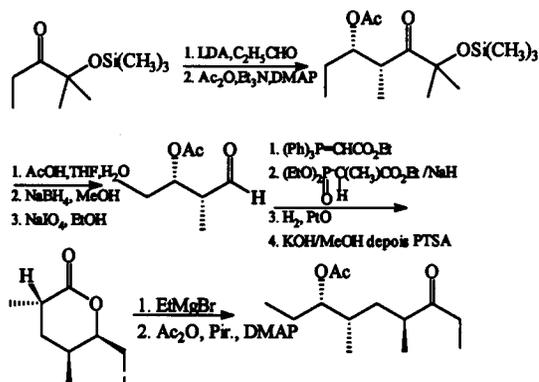


Figura 22

CONCLUSÃO

Quiralidade não é um fator condicionante para a existência de atividade biológica, porém, as moléculas bioativas que contêm um ou mais centros estereogênicos frequentemente apresentam atividade biológica desejada preferencialmente (em alguns casos exclusivamente), associada a uma determinada configuração absoluta²⁷.

Os exemplos aqui mostrados evidenciam muito bem a afirmação anterior, pois na maioria dos casos apenas um dos estereoisômeros é ativo.

Graças à Síntese Orgânica foi possível confirmar as estruturas dos produtos naturais de insetos, corrigir atribuições estruturais de outros e ainda fornecer os estereoisômeros não naturais para estudos da relação estrutura-atividade.

A Química Orgânica Sintética não é, portanto, uma atividade científica satélite a pesquisas em Produtos Naturais, ao contrário, é uma aliada valiosa e indispensável na determinação final da estrutura, principalmente na área de Isolamento de Produtos Naturais Bioativos em Insetos, que se caracteriza por ser essencialmente multidisciplinar.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq/RHAE, pela bolsa de Pós-Doutoramento, ao nosso Departamento por permitir o afastamento e ao Prof. J. P. Marino, do Departamento de Química da Universidade de Michigan, Ann Arbor E.U.A., por nos acolher em seu grupo de pesquisas e proporcionar o ambiente científico adequado para que esse trabalho fosse escrito. Agradecemos também às agências FAPESP, FINEP, CNPq/PADCT e International Foundation for Science, pelo apoio financeiro ao nosso laboratório, e a todos os nossos alunos e colaboradores pela frutificante convivência.

REFERÊNCIAS

1. Mori, K.; *Chemica Scripta*, (1989), **29**, 395.
2. Jacobson, M.; Beroza, M.; Yamamoto, R. T.; *Science*, (1963), **139**, 48.
3. Day, A. C.; Whiting, M. C.; *Proc. Chem. Soc.*, (1964), 369.
4. Persoons, C. J.; Verwiél, P. E. J.; Ritter, F. J.; Talman, E.; Nooijen P. J. F.; Nooijen, W. J.; *Tetrahedron Lett.*,

- (1976), 2055.
5. Still, W.C.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1979), **101**, 2493.
6. Takeshi, K.; Mori, M.; Mori, K.; *Tetrahedron*, (1987), **43**, 2689.
7. Wood, D. L.; Bushing, R. W.; *Canad. Entomol.*, (1963), **95**, 1066.
8. Silverstein, R. M.; Rodin, J. O.; Wood, D. L.; Browne, L. E.; *Tetrahedron*, (1966), **22**, 1929.
9. Mori, K.; *Tetrahedron*, (1976), **32**, 1101.
10. Vité, J. P.; Hedden, R.; Mori, K.; *Naturwiss.*, (1976), **63**, 43.
11. Mori, K.; Tagigawa, T.; Matsuo, T.; *Tetrahedron*, (1979), **35**, 933.
12. Sonnet, P. E.; Guss, P. L.; Tumlinson, J. H.; McGoven, T. P.; Cunningham, R. T.; *Asymmetric Synthesis of Selected Insect Pheromones in "Synthesis and Chemistry of Agrochemicals"*, A. C. S. Symposium series 355; Washington, (1987).
13. Guss, P. L.; Tumlinson, J. H.; Sonnet, P. E.; Proveaux, A. T.; *J. Chem. Ecol.*, (1982), **8**, 545.
14. Mori, K.; Watanabe, H.; *Tetrahedron*, (1984), **40**, 299.
15. Tumlinson, J. H.; *Comments Agric. & Food Chemistry* (1988), **1**, 115.
16. Ferreira, J. T. B.; Simonelli, F.; *Tetrahedron*, (1990), **46**, 6311.
17. Tumlinson, J. H.; Hardee, D. D.; Gueldner, R. C.; Thompson, A. C.; Hedin, P. A.; Minyard, J. P.; *Science*, (1969), **166**, 1010.
18. Hobbs, P. D.; Magnus, P. D.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1976), **98**, 4594.
19. Mori, K.; *Tetrahedron*, (1978), **34**, 915 .
20. Souza, J. P.; Gonsalves, A. M. R.; *J. Org. Chem.* (1978), **43**, 2068.
21. Vilela, E. F.; Ferreira, J. T. B.; Gasparotto, J. V.; Moura, J. I. L.; *Ciência Hoje* (1990), **10**, 32 .
22. Coffelt, J. A.; Burkholder, W. E.; *Ann. Entomol. Soc. Am.*, (1972), **65**, 447 .
23. Chuman, T.; Kohno, M.; Kato, K.; Noguchi, M.; *Tetrahedron Lett.*, (1979), **25**, 2361 .
24. Chuman, T.; Kato, K.; Noguchi, M.; *Agric. Biol. Chem.*, (1979), **43**, 2005 .
25. Mori, K.; Nomi, H.; Chuman, T.; Kohno, M.; Kato, K.; Noguchi, M.; *Tetrahedron*, (1982), **38**, 3705 .
26. Pilli, R. A.; Murta, M.; *Synth. Commun.*, (1988), **18**, 981.
27. Tombo, G. M. R.; Bellus, D.; *Angew. Chem. Int. Ed. English.*, (1991), **30**, 1193.

Publicação financiada pela FAPESP