

1. 06. 01 - Química / Química Orgânica

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DOS DERIVADOS DO ÁCIDO CINÂMICO FRENTE AO *Aedes aegypti*

Paulo Ricardo dos S. Correia^{1*}, Jorge de L. Neto², Saraliny B. França³, Dimas J. da P. Lima⁴.

1. Graduando em Química Licenciatura, pelo Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB -UFAL)

2. Mestrando pelo IQB - UFAL

3. Mestranda pelo IQB - UFAL

4. Professor do IQB - UFAL / Orientador

Resumo

O *Aedes aegypti* tem difundido vastamente as doenças Zika, Chikungunya e Dengue, em que está última acarretou 141 óbitos no último ano, destacando-se a região Centro-Oeste. Sabe-se que o vetor vem apresentando resistência aos inseticidas atualmente utilizados e estes vêm gerando toxicidade ao meio ambiente. Dessa forma, objetivou-se sintetizar e avaliar a atividade larvicida de ésteres cinâmicos. Na síntese utilizou-se reagentes e solventes comerciais, para os testes de atividade larvicida utilizou-se dimetilssulfóxido no preparo das soluções. Para a análise estatística aplicou-se o método PROBIT. Os resultados apontaram rendimentos aceitáveis na síntese dos ésteres, cuja ação larvicida foi confirmada, com bom grau de validação. O mecanismo de ação pode estar relacionado à cinética da reação de hidrólise enzimática no organismo vivo. Assim, a metodologia de síntese mostrou-se satisfatória e evidenciou-se a ação biológica dos ésteres cinâmicos sobre as larvas de *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: Arbovirose; Controle; Análise.

Introdução

O *Aedes aegypti* tem constituído um notável desafio, especialmente nos países em desenvolvimento, por representar um grande problema na saúde pública. Historicamente, este inseto tem promovido a disseminação de arboviroses patogênicos no Brasil e no Mundo, tais como a Dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV) e Febre Amarela⁴.

Nesse sentido, segundo dados epidemiológicos, entre dezembro de 2017 e 2018 foram confirmados 293 casos de DENV grave e 3.341 casos alarmantes e 141 óbitos, destacando-se a região Centro-Oeste. Estima-se ainda 65.480 casos confirmados de CHIKV, dos quais 60% decorrem da região Sudeste, com 36 óbitos. Até novembro de 2018, registrou-se 4 óbitos pelo ZIKV.³

Ademais, vale ressaltar certos fatores na dispersão dessas doenças nas Américas, como a influência climática nas regiões tropicais e subtropicais, que favorecem a disposição e abundância do vetor. A resistência dos ovos do mosquito à dessecação tem-se mostrado também ser um forte obstáculo no monitoramento do vetor.⁵

Dessa forma, são necessárias medidas que visem a redução populacional do vetor, sendo os inseticidas químicos os principais meios de controle, entre os quais se sobressaem o Temefós e o Pyriproxyfen. Porém, o mosquito vem apresentando resistência a esses pesticidas e efeitos tóxicos são reportados em peixes e crustáceos.⁶

Dito isto, tem-se realizados esforços em investigar a viabilidade ambiental de inseticidas naturais e seus derivados sintéticos no controle do mosquito, entre os quais se destacam derivados do ácido cinâmico.⁷ Estes

são amplamente distribuídos em espécies vegetais e possuem atividades farmacológicas, tais como antimicrobiana, antiviral, antitumoral e repelente de inseto.^{2 e 9} Além do mais, são efetivos no controle de pragas e larvas do *Aedes aegypti*.^{1 e 9}

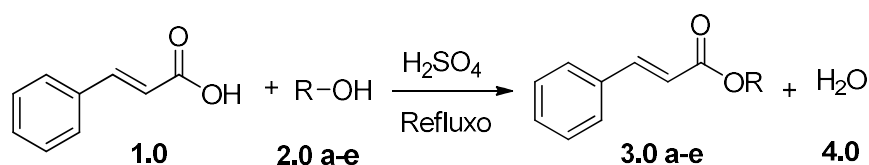
Com base nas inúmeras atividades biológicas dos derivados cinâmicos e considerando-se a necessidade de um efetivo manejo no controle do *Aedes aegypti*, este trabalho teve como objetivo sintetizar e avaliar a atividade larvicida de ésteres cinâmicos.

Metodologia

Síntese dos Ésteres Cinâmicos

Utilizou-se ácido cinâmico e álcoois comerciais na proporção 1:1, na presença de H₂SO₄ concentrado como catalisador em refluxo sob agitação magnética (esquema 1). O andamento das reações foi acompanhado por meio de Cromatografia em Camada Delgada. As reações foram neutralizadas com solução de Bicarbonato de Potássio a 10% e extraídas em funil de separação com Clorofórmio e água destilada (3 x 20mL), utilizou-se Sulfato de Sódio anidro como agente secante. Por fim, o produto foi purificado por Cromatografia em Coluna e caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C.

Esquema 1: Síntese dos ésteres cinâmicos



Avaliação da atividade larvicida

As análises foram realizadas no Laboratório em Pesquisa de Produtos Naturais e Síntese Orgânica, da Universidade Federal de Alagoas. Os vetores foram mantidos a temperatura de 27 ± 2 °C e $80 \pm 4\%$ de umidade, em água isenta de cloro, por um fotoperíodo de 12h. As larvas foram alimentadas com ração para gato durante todo o seu desenvolvimento.

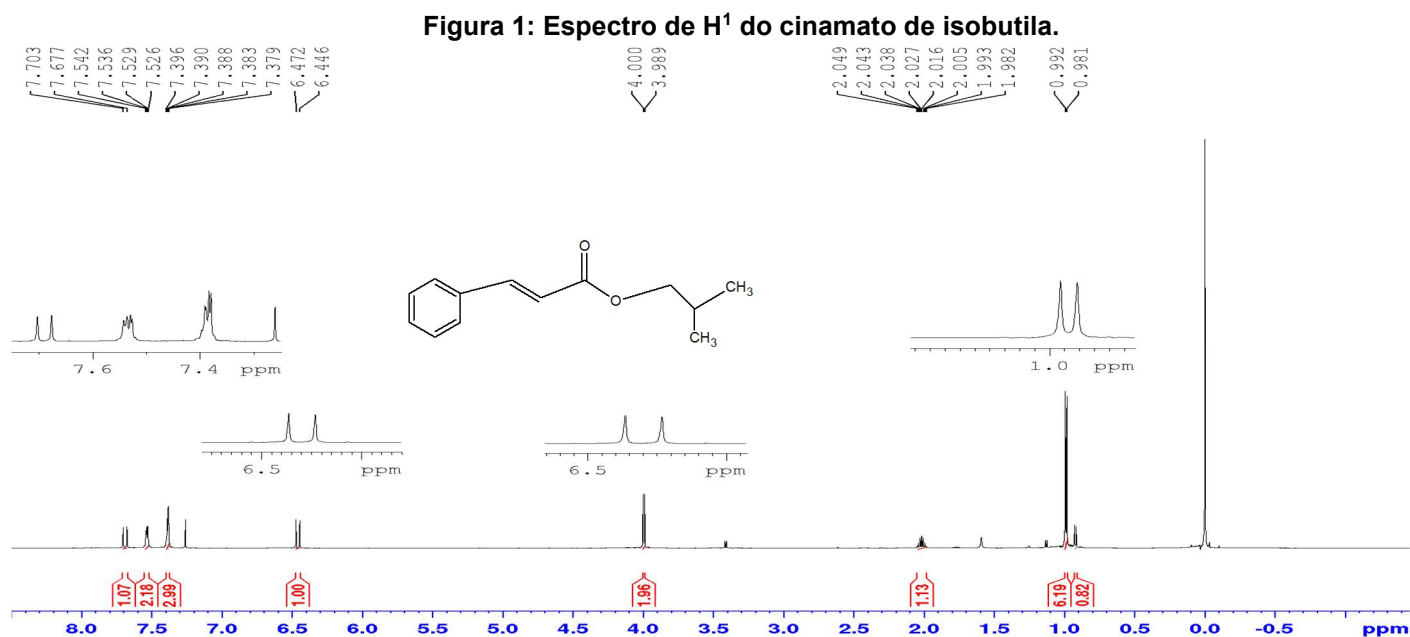
Inicialmente, realizou-se testes qualitativos, nas concentrações 100µg/mL, 50 µg/mL e 5 µg/mL, empregando-se larvas no quarto estágio. Para tanto, as soluções foram preparadas diluindo-se as amostras em 330µL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e 100mL de água destilada. Alíquotas de 20mL da solução teste foram transferidas para recipientes descartáveis de 50mL, adicionando-se, em seguida, 20 larvas.

Com base nos parâmetros da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2005), o grau de mortalidade foi computado em 24 e 48h, tendo como controle positivo e negativo, respectivamente, o temefós (3µg/mL) e DMSO (330µL). Assim, a percentagem de mortalidade seguiu os seguintes critérios: mortalidade superior a 75% considera-se o composto promissor; entre 50% e 75% parcialmente promissor; entre 25% e 50% fracamente promissor e inferior a 25% inativo.

Por fim, para os ensaios considerados promissores, uma análise quantitativa foi abordada, computando-se a mortalidade das larvas após 48h, com a finalidade de confirmar sua atividade larvicida, além de verificar o nível máximo e mínimo de mortalidade, seu grau de validação e o valor da DL₅₀, com base no método de análise PROBIT.⁸

Resultados e Discussão

A metodologia aplicada na síntese dos ésteres cinâmicos foi de moderada a satisfatória, tendo em vista os rendimentos dos cinco compostos sintetizados (Tabela 1). Estes foram caracterizados por RMN de H^1 e C^{13} (Figura 1).



A partir dos resultados obtidos na avaliação da atividade larvica dos compostos sintetizados, observou-se um desempenho promissor com os cinamatos de isobutila (**3b**) e isopropil (**3d**), conforme a tabela 1. Diante disto, estes foram submetidos a uma avaliação quantitativa (tabela 2).

Tabela 1: Resultado da síntese e do ensaio qualitativo da atividade larvica.

COMPOSTO 3 (a – e)	R	TEMPO REACIONAL	RENDIMENTO	MORTALIDADE (%)		GRAU DE ATIVIDADE
				24h	48h	
a		17h e 43min.	72,8%	65,0%	73,3%	Parcialmente promissor
b		15h 2 10 min.	73,7%	75,0%	78,0%	Promissor
c		30h 3 30min.	46,8%	58,3%	66,7%	Parcialmente promissor
d		19h.	89,2%	93,3%	93,3%	Promissor
e		12h e 30min.	63,3%	56,7%	70,0%	Parcialmente promissor

Tabela 2: DL_{50} = Dose Letal que elimina 50% da população; LCI = Limite de Concentração Inferior; LCS= Limite de Concentração Superior; X^2 - Grau de Validação.

Composto	DL_{50}	Intervalo de confiança a 95%		X^2
		(LCI-LCS)		
3b	79,35	76,89 – 82,46		3,58
3d	82,15	76,33 – 96,06		6,82

Ao se analisar a tabela 2, verifica-se que dois compostos apresentaram atividade larvicida. Contudo, o cinamato de isopropila (3b) apresentou maior ação, com melhor valor no grau de validação, o qual se refletiu num menor valor da DL₅₀, ou seja, este elimina 50% de uma população em menor concentração.

Vale ressaltar que a morfologia das larvas nos ensaios larvicidas após 48h de exposição apresentaram características similares, tais como: redução da massa corporal, alongamento ou encurtamento do intestino.

Por fim, o mecanismo de ação dos compostos com atividade larvicida pode estar relacionado à cinética da reação de hidrólise enzimática no organismo vivo.

Conclusões

A síntese dos ésteres cinâmicos, através da metodologia empregada, levou de moderado a bons rendimentos. Sendo assim, com os resultados alcançados nesse estudo, evidencia-se a ação biológica dos ésteres cinâmicos sobre as larvas de *Aedes aegypti*, destacando-se os cinamatos de isobutila (3b) e isopropila (3d), mostrando-se potentes larvicidas.

Referências bibliográficas

1. AUTINO, *et al.* Biological Activity Of Three Alkyl Cinnamates On Young Larvae Of Tuta Absoluta. **Communications Agricultural and Applied Biological Sciences**. Ghent, Bélgica. v. 78, nº 2, p. 299 – 304, dez. 2013.
2. BATIST, G. *et al.* 1995. Synthesis and cytotoxic evolution of some styryl ketones and related compounds. **European Journal Chemistry**. Volume 30, nº 3, p. 209-217, dez. 1995.
3. BRASIL, Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/02/2018-067.pdf>>. Acessado em 27 de jan. de 2019.
4. CARDOSO, T. *et al.* Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Médecine et Maladies Infectieuses**. Vol. 44, nº 7, p. 302-307, junl. 2014.
5. CONSOLI, *et al.* **Principais Mosquitos de Importância Sanitária No Brasil**. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/2708>>. Acessado em 26 de fev. 2019.
6. DINIZ, M. M. C. S. L. *et al.* Resistencia de *Aedes aegypti* ao temefós e desvantagens adaptativas. **Revista Saúde Pública**, nº 5, p. 775-782, 2014.
7. FUJIWARA, *et al.* 2017. Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Volume 139, p. 238-244. , Maio 2017.
8. FINNEY, D.J. Probit Analysis. **Cambridge University Press. Cambridge**. V. 14 p. 70-75, 1972.
9. SHARMA, P. Cinnamic acid derivatives: a new chapter of various pharmacological activities. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**. V.3, nº2, p. 403-423, ano 2011.