

SÍNTESE DE DERIVADOS DO INDOL POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA LARVAS DO *Aedes aegypti*

Nathália Araújo Macêdo^{*1}, Rafaela Karolina Viana Nunes², Rafael dos Reis Barreto de Oliveira³, Roseli La Corte Dos Santos⁴, Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti⁵, Thaysnara Batista Brito³

1. Estudante da Universidade Federal de Sergipe (UFS)
2. Mestranda da Universidade Federal de Sergipe – Laboratório de Química Farmacêutica
3. Doutorado(a) da Universidade Federal de Sergipe – Laboratório de Química Farmacêutica
4. Professora da Universidade Federal de Sergipe – Departamento de Morfologia
5. Professor da Universidade Federal de Sergipe – Departamento de Farmácia/Orientador

Resumo

A fim de propor agentes larvicidas seletivos ao *Aedes aegypti*, o presente trabalho sintetizou seis derivados do indol através da introdução de grupos na região central do anel indólico. Produtos promissores foram obtidos, com destaque a compostos com índice de seletividade >6000 quando esta atividade larvicida é comparada com a toxicidade frente a *Artemia salina*, um organismo não alvo sensível a pesticidas.

Palavras-chave: Larvicida; Indólico; SAR.

Apoio financeiro: CNPq.

Trabalho selecionado para a JNIC: UFS

Introdução

O *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) é o principal vetor de arboviroses com significativa ameaça à saúde mundial, como Dengue, Chikungunya e Zika. A ampla distribuição desse vetor tem como uma das causas as falhas nos mecanismos de controle, em razão de fatores como resistência do artrópode aos larvicidas convencionais e toxidade ambiental desses (LIMA-CAMARA, 2016).

Até então, foram usados os larvicidas/inseticidas da classe carbamatos, organoclorado, organofosforados e piretroides, que atuam sobre a via colinérgica de transmissão de sinal. Como vias alternativas têm-se o uso de bactérias Bti e de reguladores de crescimento de inseto, como: piriproxifeno, navaluron e metopreno (VONTAS et al., 2012).

O comprometimento da efetividade desses agentes em razão da resistência desenvolvida pela população de mosquito torna-se mais agravante quando manifestada de forma cruzada à diferentes classes de inseticidas/larvicidas (BRAGA et al., 2007). O impacto ambiental é refletido na intoxicação para vertebrados e contaminação de meios aquáticos que não fica restrita ao local próximo da aplicação, mas contamina o ecossistema como um todo, em virtude do fluxo do curso da água (PIRSAHEB et al., 2017). Diflubenzuron mostrou-se letal para náuplios de *Artemia salina* por inibir seu desenvolvimento em concentrações entre 0,13 e 1 ppb (GARTENSTEIN et al., 2006). Juntamente com temefós, são considerados extremamente tóxicos para *Daphnia magna*, representando alto risco ambiental (ABE et al., 2014). Frente a esse cenário, são necessárias diferentes vias como possíveis novos alvos larvicida ou inseticida.

As alterações na fisiologia do artrópode podem ser por modulação de crescimento, metabolismo energético, ou ação nervosa e muscular (OLIFERENKO et al., 2013). A classe de determinados derivados do indol possui semelhança estrutural com moléculas endógenas do artrópode em razão do anel indólico como centro estrutural. Dessa forma, interferências em vias metabólicas essenciais ao mesmo, em decorrência da similaridade química dos agentes aos moduladores endógenos, podem levar a desequilíbrio na fisiologia e desenvolvimento de efeitos letais ao organismo alvo (OLIVEIRA, 2013). Logo, o presente trabalho visou obter seis derivados do indol a fim de formar larvicidas potentes e seletivos frente ao *Aedes aegypti*.

Metodologia

O trabalho consistiu em quatro etapas. Primeiramente foram obtidos os seis derivados do indol através de um processo sintético em fases sequenciais, no qual parâmetros físico-químicos do anel indólico foram modificados. Após o processo sintético, os produtos foram purificados por coluna cromatográfica, que tinha como fase estacionária sílica em gel 60 e como fase móvel uma mistura de sistema de solventes hexano e acetato, com polaridade adequada a cada produto.

A próxima fase foi a caracterização dos compostos obtidos pelas técnicas de ponto de fusão (P.F), ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massas (EM), e espectro de absorção na faixa de infra-vermelho (IV).

Em seguida, os seis derivados e seus precursores foram submetidos a teste biológicos em organismo alvo e organismo não alvo. Para tal, realizou-se um curva de concentração versus resposta com os seis derivados do indol em larvas de *Aedes aegypti* (organismo alvo) e em náuplios de *Artemia sp.* (organismo não alvo). Após a determinação do intervalo de concentração ativa dos compostos testados, foram realizados ensaios larvicidas e toxicológicos, nos respectivos organismos, em triplicata. Foram utilizados como controle positivo uma solução

com temefós e como controle negativo apenas o sistema de dispersão dos compostos ativos, insentos do princípio ativo. Após 24 horas de exposição das larvas de *Aedes aegypti* ao sistema teste, a quantidade de larvas mortas foi contabilizada. De forma semelhante, foram contabilizados os náuplios mortos de *Artemia sp* após 48 horas de exposição ao sistema teste. Os dados quantitativos de mortalidade foram submetidos ao teste *Probit* a fim de determinar a concentração letal que mata 50% do organismo submetido ao teste (CL_{50}), o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e o índice de seletividade (IS), que corresponde a razão entre a CL_{50} do organismo alvo sobre a CL_{50} do organismo não alvo. Foram consideradas diferentes as atividades que não estavam compreendidas no mesmo intervalo de confiança.

Por fim, foi realizado um estudo de relação estrutura atividade (SAR), a fim de comparar o impacto de cada modificação estrutural sobre a atividade larvicida desempenhada pela molécula.

Resultados e Discussão

Todos os seis derivados propostos foram obtidos, caracterizados pelas técnicas definidas e submetidos aos ensaios larvicida em larvas de *Aedes aegypti* e toxicológicos em náuplios de *Artemia sp*. Quanto a etapa sintética e de caracterização, os produtos finais foram obtidos com rendimento entre 30,82% a 58,36%. Os rendimentos obtidos podem ser considerados satisfatórios em razão do processo sintético sequencial em etapas, o que envolve perdas inerentes ao processo. Todavia, a rota sintética pode ser otimizada para condições de escalonamento, reduzindo as etapas necessárias por meio da utilização direta dos intermediários sintéticos como reagentes de partida, através da aquisição dos mesmos, ao invés da obtenção inicial desses. Dessa forma, os rendimentos seriam limitados apenas pelas características intrínsecas de cada reação.

Quanto aos dados de caracterização, os mesmos não podem ser divulgados até o momento. Entretanto, é possível afirmar que os dados obtidos são condizentes com os já relatados para os mesmos compostos.

Quanto à atividade biológica, os reagentes de partida mostraram-se mais potentes que os produtos finais, as CL_{50} situaram-se entre 3,85 ppm – 15,86 ppm, considerando o IC 95%. No entanto, é conhecida sua toxicidade para mamíferos, limitando seu uso como potenciais larvicidas.

Os produtos finais tiveram uma atividade larvicida moderada. Considerando o intervalo de confiança de 95%, as melhores CL_{50} estiveram contidas nos intervalos de 10,85 ppm e 13,91 ppm. Outros derivados, semelhantes aos desenvolvidos nesse projeto e anteriormente obtidos dentro do mesmo estudo, demonstraram altíssimas atividades larvicidas, com CL_{50} menor que 1 ppm. O destaque para esses resultados são intensificados ao considerar a seletividade dos compostos ativos entre o organismo alvo e organismo não alvo. Os índices de seletividade obtidos são maiores que 6000, o que demonstra maior seletividade para o organismo alvo.

Após os resultados obtidos, a correlação qualitativa entre a estrutura e atividade pôde ser realizada. Foi possível confirmar um padrão de atividade dos indóis substituídos quanto a ação larvicida. Dessa forma, é possível direcionar pesquisas futuras com o objetivo de obtenção de derivados do indol ativos contra larvas de *Ae. Aegypti*.

Conclusão

Derivados do indol apresentaram-se como uma promissora tecnologia para o desenvolvimento de agentes larvicida com menor risco de toxicidade para organismos não alvo. Somado à resultados prévios, verificou-se um padrão de mudanças físico-químicas na estrutura do anel que favorecem à atividade larvicida, ao passo que em outras regiões, mudanças mínimas nesses parâmetros não são favoráveis.

Referências bibliográficas

ABE, Flavia Renata et al. Ecotoxicity and environmental risk assessment of larvicides used in the control of *Aedes aegypti* to *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, v. 77, n. 1-3, p. 37-45, 2014.

BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 16, n. 4, p. 279–293, 2007b.

GARTENSTEIN, Simon; QUINNELL, Rosanne G.; LARKUM, Anthony WD. Toxicity Effects Of Diflubenzuron, Cypermethrin And Diazinon On The Development Of *Artemia Salina* And *Ia Salina Heliocidaris Tuberculata*. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, v. 12, p. 83-90, 2006.

LIMA-CAMARA, Tamara Nunes. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. *Revista de saude publica*, v. 50, p. 36, 2016.

OLIFERENKO, Polina V. et al. Promising *Aedes aegypti* repellent chemotypes identified through integrated QSAR, virtual screening, synthesis, and bioassay. *PLoS one*, v. 8, n. 9, p. e64547, 2013.

OLIVEIRA, Vanessa S. et al. The enzyme 3-hydroxykynurenine transaminase as potential target for 1, 2, 4-oxadiazoles with larvicide activity against the dengue vector *Aedes aegypti*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, v. 21, n. 22, p. 6996-7003, 2013.

PIRSAHEB, Meghdad et al. A systematic review on organochlorine and organophosphorus pesticides content in water resources. *Toxin Reviews*, v. 36, n. 3, p. 210-221, 2017.

VONTAS, J. et al. Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 104, n. 2, p. 126-131, 2012.