

UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

ADRIELLE FIRMINO DA SILVA

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE CINAMAMIDAS COMO NOVOS
LARVICIDAS FRENTE AO VETOR *Aedes aegypti***

**Maceió/AL
2023**

ADRIELLE FIRMINO DA SILVA

PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE CINAMAMIDAS COMO NOVOS
LARVICIDAS FRENTE AO VETOR *Aedes aegypti*

Defesa de dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Cenira Monteiro de Carvalho

Maceió/AL
2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586p Silva, Adrielle Firmino da.
Planejamento e síntese de cinamamidas como novos larvicidas frente ao vetor *Aedes aegypti* / Adrielle Firmino da Silva. – 2023.
121 f. : il color.

Orientador: Dimas José da Paz Lima.

Co-orientadora: Cenira Monteiro de Carvalho.

Dissertação (Mestrado em ciências) – Universidade Federal de Alagoas.
Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em
Química e Biotecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 85-98.

Anexos: f. 99-121.

1. Cinamamidas - Síntese. 2. Larvicidas. 3. *Aedes aegypti*. I.
Título.

CDU: 606:632.95.21.2

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por todo discernimento, sabedoria e por nunca faltar forças para lutar pelos meus objetivos.

Sou imensamente grata a toda a minha família, em especial, os meus pais, Gilvanete e José Oliveira, e ao meu irmão, Lucas, por sempre apoiarem meus sonhos, incentivando-me e acreditando em mim até quando eu mesma duvidava do meu potencial. Eternizo aqui a minha profunda gratidão e meu amor por vocês.

Tenho imensa gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima, por todos os ensinamentos, orientação, paciência durante a realização desta pesquisa e por ter me acolhido tão bem em seu grupo de pesquisa. Deixo aqui, meu muito obrigada, pelo senhor sempre estar presente ajudando a solucionar todos os problemas no decorrer da pesquisa.

Agradeço a minha coorientadora, Dra. Cenira Monteiro de Carvalho, por todas as contribuições durante esse percurso.

Agradeço a toda equipe do laboratório que faço parte, Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Materiais e Compostos Bioativos – LCM, (Saraliny, Luís Paulo, Verônica, Ari, Jamilly, Crystian, Lucas e Natália), sou grata por ter aprendido muitas coisas e pelos momentos de descontração que vivemos durante esse tempo. Dentre eles, agradeço em especial a Saraliny por todo apoio, ensinamentos e conselhos, sou muito grata. Bem como ao Luís, vulgo Pato, que auxiliou muito durante o processo de síntese das cinamamidas, deu-me muitos conselhos e foi um ombro amigo nos momentos difíceis.

Agradeço a minha amiga, Jéssica, por me ouvir, apoiar e pelos diversos momentos juntas, entre surtos e risadas. Agradeço também às minhas amigas, Heloiza e Isis, as quais tive oportunidade de conhecer durante o mestrado, e mesmo pelo pouco tempo juntas, temos muitas memórias para serem lembradas. Meu muito obrigada, meninas, por todo apoio.

Aos membros da banca examinadora Profa. Dra. Jadriane de Almeida Xavier,

Dra. Verônica Diniz da Silva e Profa. Dra. Ana Maria Queijeiro López.

Ao Instituto de Química e Biotecnologia e seus demais professores e à
Universidade Federal de Alagoas.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

***“Seja menos curioso sobre as pessoas e
mais curioso sobre ideias.”***

Marie Curie

RESUMO

Aedes aegypti é um vetor que tem causado grande preocupação na sociedade nas últimas décadas, devido à disseminação de epidemias por arbovírus ocasionada por ele. Atualmente, seu controle populacional vem ocorrendo por meio da aplicação de inseticidas, os quais, entretanto, não vêm apresentando eficácia devido à resistência generalizada entre as populações desse vetor. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo o planejamento *in silico*, e síntese de cinamamidas. Para essa abordagem foi utilizado o método *target fishing*, seguido de uma triagem virtual. Posteriormente, os compostos foram sintetizados via reação de Steglich e devidamente caracterizados usando as técnicas de RMN ¹H, DEPT-Q e FTIR. Em relação ao estudo *in silico* os resultados foram validados e demonstraram que essa quimioteca pode ser uma boa candidata à larvicida, por apresentar uma estrutura que está dentro das normas previstas para um inseticida seletivo e ambientalmente seguro. Além disso, apresentaram afinidade pronunciada frente as enzimas quitinase (O17411), 3-hidroxiquinurenina transaminase (6MFB) e acetilcolinesterase (Q6A2E2) expressas pela larva do vetor. No que se refere à síntese, as moléculas sintetizadas apresentaram rendimentos entre 47-100%. No que tange à atividade larvicida preliminar, dois compostos da quimioteca mostraram-se ativos, sendo eles (**AF18**) e (**AF09**), e dois compostos parcialmente ativos (**AF08** e **AF17**), um composto fracamente ativo (**AF15**), e nove compostos inativos. Ainda, a concentração letal que elimina 50% da população (**CL**₅₀) foi determinada para os compostos ativos e parcialmente ativos (**AF18**, **AF09**, **AF08**, e **AF17**), os quais apresentaram os seguintes valores de **CL**₅₀ 41,6, 55,9, 105,2 e 105,8 µg/mL, respectivamente. Em estudo de relação estrutura-atividade, verificou-se que as propriedades físico-químicas em destaque, o número de ligações rotativas e o coeficiente de partição foram cruciais para a atividade larvicida. Morfologicamente as larvas expostas a um dos composto mas ativo, **AF09**, apresentaram redução de massa, deformidade no intestino médio, e também deformações na região do sifão e papilas anais. O que supõe que os alvos biológicos que possam estar envolvidos sejam enzimas digestivas. Contudo, estudos de inibição enzimática são imprescindíveis para elucidação do mecanismo de ação.

Palavras-chave: Síntese; cinamamidas; estudo larvicida; *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Aedes aegypti is a vector that has caused great concern in society in recent decades, due to the spread of arbovirus epidemics caused by it. Currently, its population control has been occurring through the application of insecticides, which, however, have not been effective due to generalized resistance among populations of this vector. Given this, the present study aimed at the *in silico* design and synthesis of cinnamamides. For this approach, the target fishing method was used, followed by virtual screening. Subsequently, the compounds were synthesized via the Steglich reaction and properly characterized using ¹H NMR, DEPT-Q, and FTIR techniques. Regarding the *in silico* study, the results were validated and demonstrated that this chemotherapeutic can be a good candidate for larvicide, as it presents a structure that is within the norms foreseen for a selective and environmentally safe insecticide. In addition, they showed a pronounced affinity for the enzymes chitinase (O17411), 3-hydroxykynurenine transaminase (6MFB), and acetylcholinesterase (Q6A2E2) expressed by the vector larvae. Regarding the synthesis, the synthesized molecules presented yields between 47-100%. Regarding the preliminary larvicidal activity, two compounds from the chemotheque were active, namely (**AF18**) and (**AF09**), and two partially active compounds (**AF08** and **AF17**), a weakly active compound (**AF15**), and nine inactive compounds. Also, the lethal concentration that eliminates 50% of the population (**LC**₅₀) was determined for the active and partially active compounds (**AF18**, **AF09**, **AF08**, and **AF17**), which presented the following values of **LC**₅₀ 41.6, 55.9, 105.2, and 105.8 µg/ml, respectively. In a structure-activity relationship study, it was found that the physical-chemical properties highlighted, the number of rotating bonds, and the partition coefficient were crucial for larvicidal activity. Morphologically, larvae exposed to one of the most active compounds, **AF09**, showed a mass reduction, midgut deformity, and deformations in the siphon region and anal papillae. Which assumes that the biological targets that may be involved are digestive enzymes. However, enzymatic inhibition studies are essential to elucidate the mechanism of action.

Keywords: Synthesis; cinnamamides; larvicidal study; *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica dos casos de dengue notificados em todo o mundo, outubro-dezembro de 2022.	20
Figura 2 - Número de casos notificados de Dengue, Chuikungunya e Zika vírus, em 2022, no Brasil e no mundo.....	22
Figura 3 - Número de casos notificados de Dengue, Chuikungunya e Zika vírus, em 2022, nas regiões e UF do Brasil	23
Figura 4 - Os quatro ciclos de transmissão para arbovírus - silvestre, entomológico, clínico e baseado em águas residuais	24
Figura 5 - O ciclo do vírus da Dengue urbana em humanos e mosquitos.	25
Figura 6 - O mosquito <i>Aedes aegypti</i>	26
Figura 7 – Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i>	27
Figura 8 – Morfologia da larva do <i>Ae. aegypti</i>	30
Figura 9 – Distribuição geográfica do <i>Ae. aegypti</i> no mundo até 2020.	31
Figura 10 – Interação da acetilcolina (I), carbaril (II) e clorpirifos-oxon (III) com o sítio ativo da acetilcolinesterase (AChE).	36
Figura 11 – Exemplos de inseticidas de quatro classe.....	37
Figura 12 - Estrutura química do pesticida natural Espinosade.....	38
Figura 13 - Algumas das atividades biológicas das cinamamidas descritas na literatura.	40
Figura 14 - Previsão dos possíveis alvos biológicos a partir da estrutura química das cinamamidas.	59
Figura 15 - Validação das homologias (PDB: 4QLA e 3W4R) a partir do gráfico de Ramachandraw.	62
Figura 16 – Resultado do cálculo de docking para as cinamamidas planejadas, nas funções de pontuação GoldScore, ChemScore e ChemPLP.	64
Figura 17 – Cluster do composto AF09 complexado na enzima Quitinase (3W4R).	65
Figura 18 - Interações dos compostos AF09 , AF07 , AF15 com os resíduos do sítio ativo da Quitinase.....	66
Figura 19 - Propriedades físico-químicas das moléculas em estudo.....	67
Figura 20 – Espectro de RMN de ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) do composto (E)-3-(4-	

clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03)	71
Figura 21 – Espectro de RMN de ¹³ C do composto (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF09)	72
Figura 22 – Espectro de Infravermelho do o composto 4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03)	73
Figura 23 – Análise morfológica da exposição larval ao composto AF09 (100 µg/mL) ao controle negativo (0 µg/mL)	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - As formulações de inseticidas atualmente usadas para IRS, recomendados pela OMS, em 2022.....	34
Tabela 2 - Função das proteínas selecionadas do inseto <i>Ae. aegypti</i>	59
Tabela 3 – Identificação, identidade sequencial, código PDB e organismo dos alvos biológicos empregados neste estudo.	61
Tabela 4 - Resultados do cálculo do Redocking e RMSD para todas as enzimas, nas funções de pontuação GoldScore, ChemScore e ChemPLP.	63
Tabela 5 – Rendimento dos compostos sintetizados.....	68
Tabela 6 – Dados do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03).....	70
Tabela 7 – Atribuição dos sinais de RMN de ¹³ C com a técnica DEPTQ da molécula (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03).....	72
Tabela 8 - Bandas de absorção do espectro de Infravermelho do 4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03).	74
Tabela 9 – <i>Screening</i> da atividade larvicida das amidas cinâmicas frente ao <i>Ae. aegypti</i>	76
Tabela 10 - Avaliação quantitativa da atividade larvicida das cinamamidas frente às larvas do <i>Ae. aegypti</i> no 4 ^o estágio, após 48 h.	79

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Síntese de amidas cinâmicas mediante formação de cloreto ácido ...	41
Esquema 2 - Formação de cinamamida utilizando carbodiimidas como reagentes de acoplamento.....	41
Esquema 3 - Metodologia para a formação das cinamamidas.	68
Esquema 4 - Mecanismo proposto para a síntese das cinamamidas.....	69
Esquema 5 - Esquema reacional para a síntese de etilcinamamida.	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE – Acetilcolinesterase
ADME - Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
ALH - Aceitadores de Ligação de Hidrogênio
CECD – Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças
CHIKV – Vírus Chikungunya
CL₅₀ – Concentração Letal para 50% da população
ClogP – Logaritmo do Coeficiente de Partição
DACs - derivados do ácido cinâmico
DCC - *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida
DCM – Diclorometano
DDT – Dicloro-difenil-tricloroetano
DENV – Vírus Dengue
DLH – Doadores de Ligação de Hidrogênio
DMAP - *N*-(dimetilamino)piridina
DMF - Dimetilformamida
DMSO – Dimetilsulfóxido
EDC - 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
FTIR– Infravermelho com Transformada de Fourier
GOLD – *Genetic Optimization for Ligand Docking*
Hz – Hertz
IV – Infravermelho
J – Constante de acoplamento
LAr – Ligações Aromáticas
LRo – Ligações Rotativas
MM – Massa Molecular
MP - Membrana Peritrófica
MTI - Mosquiteiros Tratados com Inseticida
OMS – Organização Mundial da Saúde
PDB - Protein Data Bank
PNUMA - Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
PRI - Pulverização Residual Interna
REA - Relação Estrutura-Atividade

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMN ^{13}C – Ressonância Magnética de Carbono 13

RMN ^1H – Ressonância Magnética de Hidrogênio

RMSD - *Root Mean Square Deviation*

SOCl_2 – Cloreto de tionila

TMS – Tetrametilsilano

ν_s – banda de estiramento simétrico

ν_{as} – banda de estiramento assimétrico

χ^2 – Grau de Validação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 Considerações gerais acerca das arboviroses	18
2.2 As arboviroses de maior importância no mundo	19
2.2.1 Dengue	19
2.2.1 Zika	20
2.2.3 Chikungunya	21
2.3 Ciclo de transmissão de arbovírus	23
2.4 <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae)	25
2.4.1 Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i>	26
2.4.2 Distribuição geográfica de <i>Ae. aegypti</i>	30
2.5 . Medidas adotadas no controle do vetor	31
2.5.1 Manejo de Habitat	31
2.5.2 Controle Biológico	32
2.5.3 Controle químico	33
2.7 Cinamamidas	39
2.8 Métodos computacionais no planejamento de novos agentes larvicida	42
2.8.1 <i>Docking</i> molecular	42
2.8.2 <i>Target fishing</i>	42
2.8.3 Predição in silico de propriedades físico-químicas	43
3 OBJETIVOS	44
3.1 Objetivo Geral	44
3.2 Objetivos específicos	44
4 MATERIAIS E MÉTODOS	45
4. 1 Reagentes, solventes e condições	45
4.2 Métodos Cromatográficos.....	45
4.3 Métodos Espectroscópicos.....	45
4.4 Procedimentos de síntese.....	46
4.4.1 Síntese do ácido <i>p</i> -clorocinâmico.....	46
4.4.2 Síntese das amidas cinâmicas	46
4.1 Caracterização dos compostos sintetizados	47

4.6 Avaliação da atividade larvicida	55
4.7 Estudos <i>in silico</i>	56
4.7.1 Predição de alvos moleculares.....	56
4.7.2 Homologia de proteína	56
4.7.3 <i>Docking</i> molecular	56
4.7.4 Predição das propriedades físico-químicas.....	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 Planejamento racional de cinamamidas.....	58
5.2 Síntese de amidas derivadas do ácido cinâmico	67
5.2 Caracterização	70
5.3 Atividade Larvicida das cinamamidas frente às larvas do quarto instar <i>Aedes aegypti</i>.....	74
5.4.1 Análise morfológica	79
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
7 PERSPECTIVAS.....	84
8 REFERÊNCIAS.....	85
ANEXOS	99

1 INTRODUÇÃO

O inseto *Aedes aegypti* da família Culicidae é o vetor responsável pela transmissão de arboviroses, tais como Zika, Chikungunya, Dengue e Febre Amarela, afetando mais de cerca de meio bilhão de pessoas mundialmente a cada ano (NATAL, 2002; BALWAN; SINGH; KOUR, 2022). Essas doenças têm causado grande impacto na saúde pública, principalmente no que tange aos riscos de epidemias, considerando que as medidas terapêuticas incluindo vacinas para os arbovírus circulantes transmitido pelo *Ae. aegypti* ainda são incipientes. Dessa forma, as tentativas de reduzir sua disseminação têm se concentrado no controle do vetor, com destaque ao meio químico, que faz uso de inseticidas como o temefós® (ZARA *et al.*, 2016; JUAREZ *et al.*, 2021). Contudo, seu uso tem sido descontinuado devido à sua toxicidade e carcinogenicidade, além das larvas apresentarem resistência (MOREIRA, 2012; MÉLO, 2009). Diante desse cenário, faz-se necessário a busca por moléculas mais ativas e seletivas frente a esse vetor (DUQUE, 2023). Nesse aspecto, destacam-se os derivados do ácido cinâmico (DACs), os quais possuem uma série de atividades farmacológicas, dentre elas: atividade antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, inseticida, larvicida, entre outras. (PEPERIDOU *et al.*, 2017; SHARMA, 2011).

Diante disso, estudos já desenvolvidos por este grupo de pesquisa (Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Materiais e Compostos Bioativos – LCM), reportam os DAC's como agentes larvicidas promissores, com destaque ao *p*-clorocinamato de etila que apresentou CL₅₀ de 8,3 µg/mL (FRANÇA *et al.*, 2021). Nessa investigação, foi observado mediante estudos *in silico* e de relação-estrutura atividade, que o átomo de cloro na posição *para* do anel aromático do grupo cinamoíl, exerce uma efetiva ação larvicida. Por outro lado, as cinamamidas fazem parte de uma promissora classe de compostos, descritas na literatura por possuírem uma vasta gama de atividades biológicas, incluindo: antifúngica (DAI *et al.*, 2015); herbicida (PENG *et al.*, 2021); antioxidantes, antibactericidas, anti-inflamatórias (KUCHANA; RENUKA, 2018), entre outras. Nesse contexto, o planejamento *in silico* de derivados cinâmicos funcionalizados com o grupo amida pode indicar informações cruciais para o desenvolvimento de novos compostos mais eficientes para aplicação larvicida.

Pesquisas acerca de novos agentes larvicida fazem uso dessa estratégia para

acelerar a identificação e otimização de novos compostos (SILVA *et al.*, 2019; KIOSHIMA *et al.*, 2019). Alguns dos benefícios dos métodos *in silico* estão relacionados à identificação computacional de potenciais alvos biológicos, à avaliação de propriedades farmacocinéticas, à otimização do tempo e custos em comparação às abordagens experimentais convencionais (SEGALL; BARBER, 2014; BROGI *et al.*, 2020).

Nesse sentido, o presente trabalho consistiu no planejamento de amidas cinâmicas mediante estratégias *in silico* para *design* dos compostos e seleção de múltiplos alvos biológicos do vetor. Seguida da síntese, avaliação da atividade larvicida frente às larvas do quarto estágio do *Ae. aegypti* e análise morfológica das larvas expostas ao composto mais ativo.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações gerais acerca das arboviroses

Arboviroses são doenças causadas pelos chamados arbovírus, os quais são um grupo diversificado de vírus transmitidos por vetores, comumente artrópodes infectados, ou seja, insetos e aracnídeos (YOUNG, 2018; WHO, 2017). Esses patógenos transmitidos por artrópodes representam mais de 17% das doenças infecciosas, que afetam milhões de pessoas em todo o mundo a cada ano, e compreendem uma proporção significativa de patógenos humanos emergentes (WHO, 2017). As arboviroses disseminadas pelos mosquitos vêm expandindo sua distribuição global nos últimos anos, e novos vírus, como Chikungunya e Zika, surgiram e se espalharam globalmente (BRADY; HAY, 2020).

Acerca dos fatores relacionados a essa expansão, acredita-se que há uma combinação entre aumento da urbanização, viagens globais e mudanças ambientais associadas ao aumento das temperaturas (YOUNG, 2018). Destacando a temperatura, as mudanças climáticas causam impacto na disseminação de doenças transmitidas por vetores, afetando o tamanho da população de vetores, a sobrevivência, a picada, as taxas de incubação de patógenos e a competência do vetor (MORDECAI *et al.*, 2017; TESLA *et al.*, 2018). O aumento das arboviroses tem forte impacto econômico e social.

Existem mais de 500 arbovírus conhecidos, dos quais mais de uma centena foi identificado como causadores de doenças em humanos, dando origem a uma tremenda carga de doenças e cepas socioeconômicas em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (LABEAUD *et al.*, 2011). Dentre as arboviroses a Dengue, Zika e Chikungunya, que ocorrem em co-circulação, são as de maior importância médica no mundo e que exigem vigilância epidemiológica ativa (PAIXÃO; TEIXEIRA; RODRIGUES, 2018; YOUNG, 2018; GOULD *et al.*, 2017). Essas são transmitidas aos humanos predominantemente por meio dos mosquitos altamente competentes *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (KRAEMER *et al.*, 2015).

No que tange ao tratamento para essas doenças, apesar de sua importância, a falta de vacinas e medidas terapêuticas eficazes atualmente disponíveis para

infecções arbovirais exigem o uso de outras estratégias visando diminuir a disseminação dessas arboviroses (GIRARD *et al.*, 2020 ; OMS, 2009). Mesmo que existam vacinas licenciadas o seu uso ainda é limitado. Por exemplo, a vacina atenuada contra a febre amarela e a CYD-TDV, que é uma vacina atenuada tetravalente contra a Dengue. Essa última é licenciada em um esquema de três doses em 20 países da Ásia, Austrália e países da América Latina.

Na América Latina, o primeiro programa público de vacinação contra Dengue foi lançado em 2016, em áreas endêmicas de Dengue no estado do Paraná, no Brasil, implantando cerca de 500.000 doses de vacina, normalmente para uso em pessoas de 9 a 45 anos (WILDER-SMITH *et al.*, 2019; WHO, 2018). Portanto, medidas eficazes, escalonáveis e sustentáveis de controle de vetores, como também intervenções de saúde pública oportunas e precisas são essenciais para o manejo de doenças arbovirais que, por sua vez, dependem da vigilância da doença (WHO, 2018).

2.2 As arboviroses de maior importância no mundo

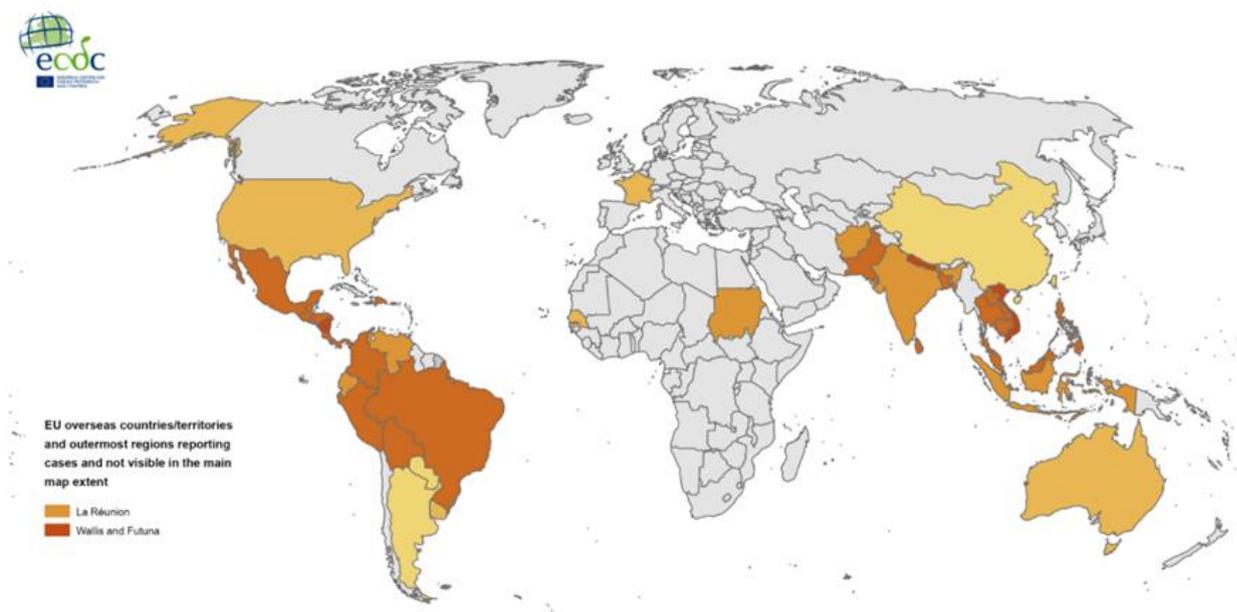
2.2.1 Dengue

A Dengue, arbovirose transmitida comumente por mosquitos *Aedes*, é causada pelos quatro sorotipos do vírus da Dengue (DENV 1-4). Essa arbovirose evoluiu de uma doença esporádica para um grande problema de saúde pública com substancial efeito social e econômico devido ao aumento da extensão geográfica, número de casos e gravidade da doença (GUZMAN; HARRIS, 2015). Podendo se apresentar com sintomas comuns, incluindo febre, dores musculares e articulares, dor de cabeça e erupção cutânea (CASTRO *et al.*, 2017; GUZMAN; HARRIS, 2015). Como esses sintomas não são específicos, podem se assemelhar a outras infecções, incluindo COVID-19, Chikungunya, Zika e até mesmo febre maculosa. Assim, o diagnóstico clínico preciso da dengue é desafiador, o que pode resultar em diagnósticos errôneos e subnotificações da doença (MULLER *et al.*, 2017).

De acordo com dados obtidos no Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (CECD) sobre a distribuição geográfica dos casos de dengue (**Figura 1**) até 19 de dezembro de 2022, foram notificados 3.766.153 casos e 3.582 mortes. A maioria dos casos foi relatada pelo Brasil (2.182.229), Vietnã (325.604), Filipinas (201.509),

Índia (110.473) e Indonésia (94.355). Sendo a maioria das mortes relatadas no Brasil (929), Vietnã (112), Filipinas (656), Índia (86) e Indonésia (853). Desde a atualização anterior publicada na semana 48 de 2022, foram relatados 122.384 novos casos e 200 novas mortes (CECD, 2022).

Figura 1 - Distribuição geográfica dos casos de dengue notificados em todo o mundo, outubro-dezembro de 2022.



Fonte: CECD (2022)

2.2.1 Zika

O Zika vírus, da família Flaviviridae é outra arbovirose que merece destaque (MUSSO; GUBLER, 2016). Os mosquitos do gênero *Aedes* foram os responsáveis por disseminarem o primeiro grande surto epidêmico de Zika na Oceania entre 2013/14. A partir daí, o vírus se expandiu pela América entre 2014/15, comprometendo também grande parte do continente asiático e africano, apresentando grande relevância epidemiológica (MUSSO; GUBLER, 2016; HU *et al.*, 2019; OMS, 2019). Tem sido amplamente divulgado que aproximadamente 80% das pessoas com infecção pelo vírus Zika são assintomáticas. Essa afirmação é baseada em uma pesquisa domiciliar realizada em 2007 no estado de Yap, o qual faz parte do estados federados da Micronésia, que foi citado em muitas publicações sobre o vírus Zika (DUFF *et al.*, 2009).

Na maioria dos casos apresenta-se como uma doença febril autolimitada.

Porém, dados crescentes estabeleceram uma associação entre infecção por Zika, gravidez e desfechos fetais adversos. Destacando a microcefalia como a mais proeminente, ocorrendo também outras síndromes neurológicas, especialmente a síndrome de Guillain-Barré (RASMUSSEN *et al.*, 2016; CAO-LORMEAU *et al.*, 2016).

Em 2022, o CECD informou que um total de 31.453 pacientes com Zika foram confirmados em 13 dos 52 países e territórios. E o relatório semanal da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) divulgado em 15 de dezembro de 2022, 31.451 casos de Zika que foram relatados este ano nas Américas (CECD, 2022).

2.2.3 Chikungunya

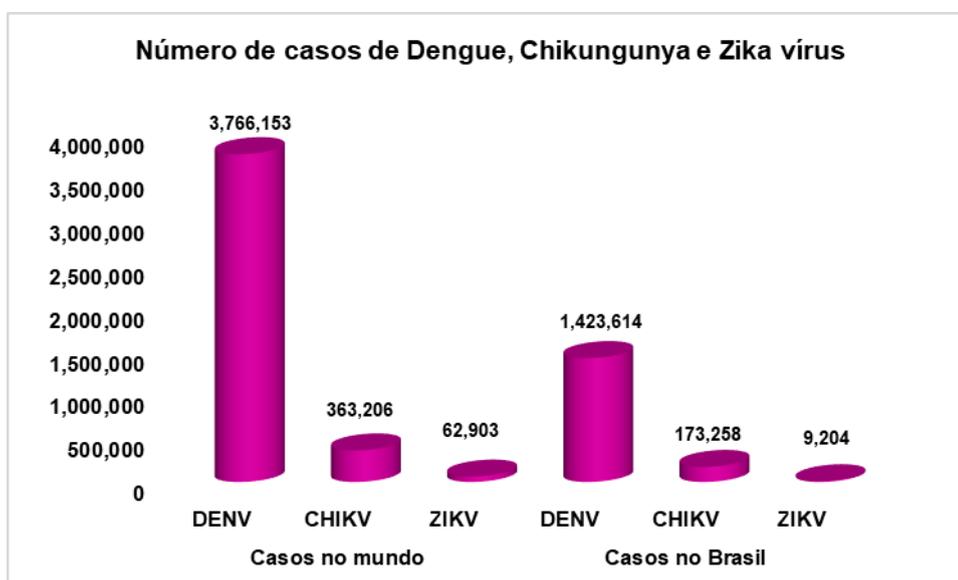
Por último, a Chikungunya que tem causado grande impacto social e econômico no mundo. Trata-se de uma arbovirose causada por um vírus pertencente à família *Togaviridae*. A doença é transmitida ao ser humano pelas fêmeas infectadas do gênero *Aedes*. O tempo de início da infecção pode variar, ocorrendo de 4 a 8 dias após o paciente ter sido picado por um mosquito infectado (HORWOOD; BUCHY, 2015). Em geral, a fase aguda da doença começa 1 a 10 dias após a incubação, com início abrupto de febre, cefaleia, fadiga, sintomas gastrointestinais com náuseas e vômitos, erupção cutânea, mialgia e artralgia intensa (STAPLES; BREIMAN; POWERS, 2009). Complicações oftalmológicas podem se desenvolver em qualquer fase da doença; entretanto, fotofobia e dor retro-orbitária são mais comumente observadas durante a fase aguda (MAHENDRADAS; AVADHANI; SHETTY, 2013). Além disso, os segmentos anterior e posterior do olho podem estar envolvidos. Na córnea, as células epiteliais e endoteliais são os alvos preferenciais do CHIKV, enquanto no tecido conjuntivo da esclera os fibroblastos são afetados, podendo levar à episclerite e à esclerite (COUDERC *et al.*, 2008).

Os sintomas da chikungunya começam abruptamente com febre (temperatura, geralmente $>38,9^{\circ}\text{C}$). As febres geralmente duram de vários dias até 2 semanas e podem ser de natureza bifásica (DELLER *et al.*, 1968; HALSTEAD *et al.*, 1969). Logo após o início da febre, a maioria das pessoas infectada desenvolve poliartalgias graves, muitas vezes debilitantes. As dores articulares são geralmente simétricas e ocorrem mais comumente nos pulsos, cotovelos, dedos, joelhos e tornozelos, mas também podem afetar as articulações mais proximais. Artrite com inchaço das

articulações também pode ocorrer. Além de artralguas dos membros inferiores que podem ser severamente incapacitantes, resultando em uma marcha lenta, ampla e hesitante, que pode persistir por meses (STAPLES; BREIMAN; POWERS, 2009).

Em relação à quantidade de casos em 2022, até 19 de dezembro, foram notificados 363.206 (**Figura 2**) casos e 76 mortes. A maioria dos casos foi relatada no Brasil (247.537), Índia (108.957), Guatemala (1.800), Tailândia (1.109) e Paraguai (936). Mortes foram relatadas no Brasil (75) e no Quênia (1). Desde a atualização anterior publicada na semana 48 de 2022, foram notificados 1.185 novos casos, sem novas mortes. Na **Figura 2** são observados os casos notificados a nível mundial e nacional (CECD, 2023). No Brasil, as três arboviroses mencionadas anteriormente são recorrentes destacando principalmente os casos de Dengue a qual se tornou um dos principais problemas de saúde pública, com várias epidemias relatadas anualmente em todo o país (STOLERMAN; MAIA; KUTZ, 2019).

Figura 2 - Número de casos notificados de Dengue, Chikungunya e Zika vírus, em 2022, no Brasil e no mundo.

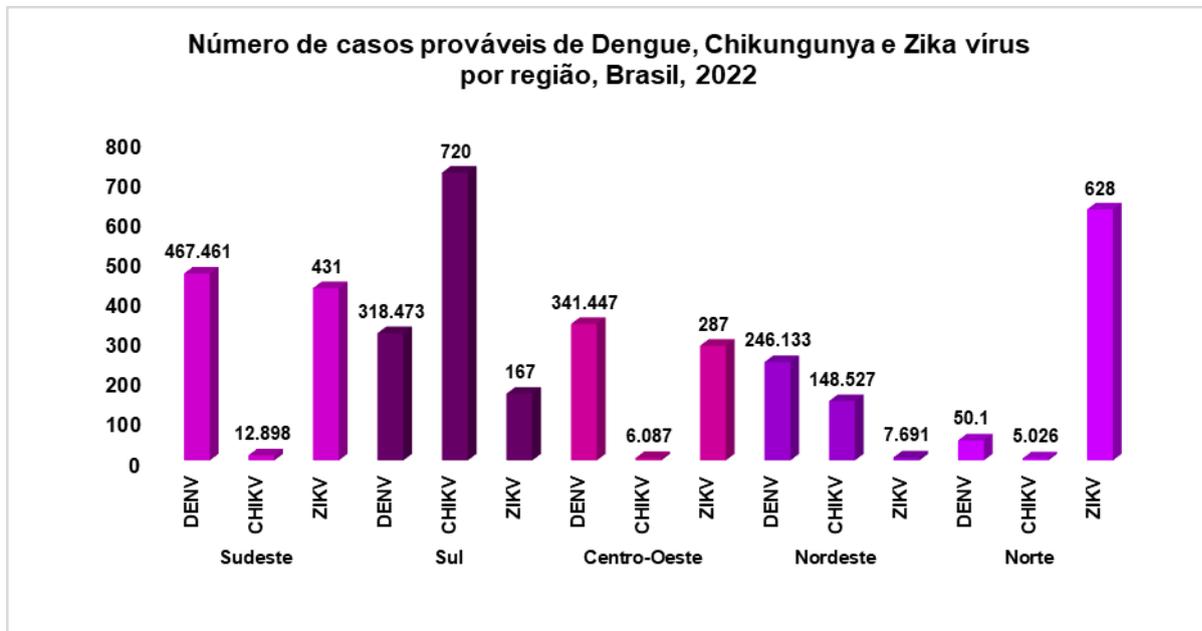


Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde, (2022); CEDC, (2023). Adaptado pela autora, 2023.

Analisando a quantidade de casos dessas arboviroses por região do Brasil (**Figura 3**), as regiões sul e sudeste são as mais acometidas por essas doenças. Estudos reportam que há uma relação entre as condições climáticas e a incidência de caso dessas doenças. As quais se manifestam majoritariamente nas porções mais

quentes dessas regiões (MENDONÇA, 2003; DE PAULA, 2005; OLIVEIRA, 2006).

Figura 3 - Número de casos notificados de Dengue, Chuikungunya e Zika vírus, em 2022, nas regiões e UF do Brasil

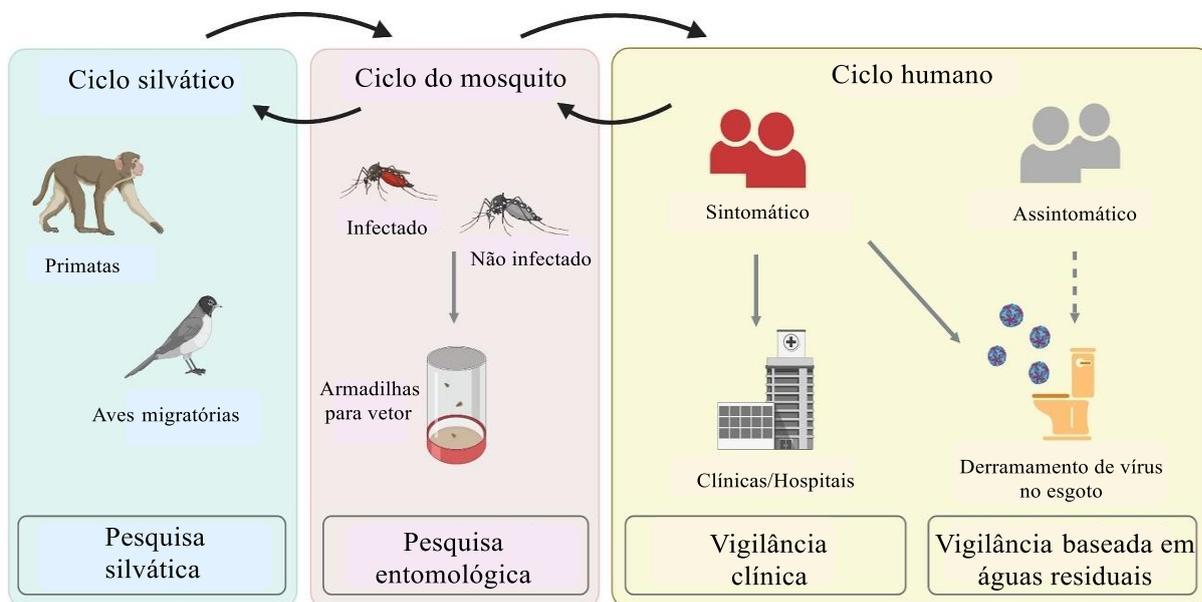


Fonte: Adaptado de Secretaria de Vigilância em Saúde, (2022).

2.3 Ciclo de transmissão de arbovírus

Arbovírus infectantes para humanos têm ciclos de transmissão complexos (**Figura 4**) envolvendo a circulação entre animais selvagens, como pássaros, morcegos e certos mamíferos (ciclo de vida silvestre), circulação entre a população humana (ciclo humano) e transmissão dentro e entre o ciclo humano ou silvestre por vetores artrópodes infectados, como mosquitos (ciclo entomológico). Esses arbovírus foram rastreados em reservatórios de vida selvagem e insetos, no entanto, tais pesquisas enfrentam vários desafios na coleta e interpretação de dados (RAMÍREZ *et al.*, 2018).

Figura 4 - Os quatro ciclos de transmissão para arbovírus - silvestre, entomológico, clínico e baseado em águas residuais .



Fonte: Adaptado de Lee *et al.* (2022).

Em relação ao ciclo entomológico, a transmissão de arbovírus por vetores é realizada em quatro etapas (**Figura 5**):

(1) Infecção do vetor (fêmea do mosquito) após o ciclo gonotrófico, ou seja, após a alimentação sanguínea de um hospedeiro durante a fase febril ou virêmica da doença (GUZMAN *et al.*, 2016);

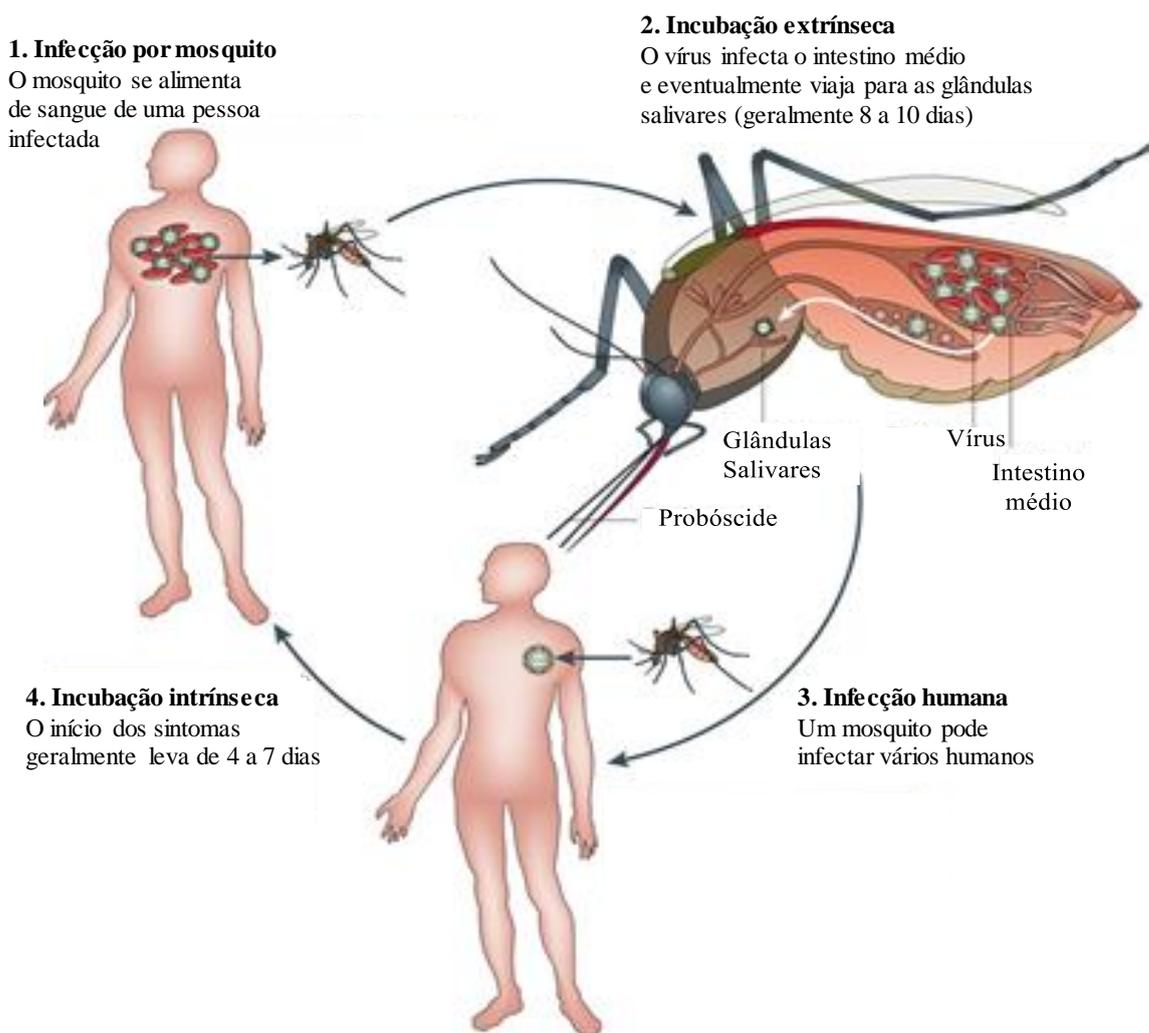
(2) período de incubação extrínseca, o vírus infecta as células do intestino médio e em seguida ocorre a disseminação para replicação nos tecidos do mosquito, até que a infecção chega às glândulas salivares entre 5 a 12 dias depois, esse é um processo que é influenciado pela temperatura ambiente, o vírus estirpe e a competência do mosquito (GUBLER, 1998; SILER; HALL; HITCHINS, 1926);

(3) transmissão do vírus do mosquito infeccioso para um ser humano durante uma nova alimentação sanguínea (GOULD *et al.*, 2017) e;

(4) período intrínseco de incubação e aparecimento dos sintomas da doença. Os sintomas se desenvolvem dentro de um período de incubação de 4 a 10 dias após a picada de um mosquito infectado e geralmente duram de 2 a 7 dias. A pessoa assintomática ou sintomática pode transmitir o vírus a um novo mosquito e

manter o ciclo epidêmico ativo (GUZMAN *et al.*, 2016; CONWAY; COLPITTS; FIKRIG, 2014). Eventualmente, os seres humanos contaminados são assintomáticos mas podem ser picados e dar continuidade ao ciclo. Como o foco desta pesquisa é o desenvolvimento de um larvicida frente às larvas do *Ae. aegypti*, a próxima seção terá como foco apenas esse vetor.

Figura 5 - O ciclo do vírus da Dengue urbana em humanos e mosquitos.



Fonte: Adaptado de Guzman, 2016.

2.4 *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

O *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) (**Figura 6**) é um mosquito originário da África, onde existem populações selvagens e domésticas (CHRISTOPHERS *et al.*, 1960). Fisicamente mede menos de 1 centímetro e possui uma aparência inofensiva, possui uma cor preta com listras brancas no corpo e nas pernas. Esse vetor pertence à família

Culicidae, subfamília Culicinae e subgênero *Stegomyia*, é considerado um mosquito cosmopolita de regiões tropicais e subtropicais (KRAEMER *et al.*, 2015).

No que diz respeito a sua trajetória evolutiva, esse se desenvolveu com um comportamento estritamente sinantrópico e antropofílico, sendo reconhecido entre os culicídeos como a espécie mais associada ao homem (NATAL, 2002). É na fase adulta que os mosquitos transmitem doenças, convém ressaltar algumas particularidades dos imaturos, que ajudam a explicar o grau de adaptabilidade que essa espécie conquistou, no que tange suas relações com a espécie humana. O *Ae. aegypti* enquadra-se entre as espécies do referido grupo que se adaptaram a depositar os ovos nas paredes de pequenos artefatos que acumulam água (NATAL, 2002).

Figura 6 - O mosquito *Ae. aegypti*



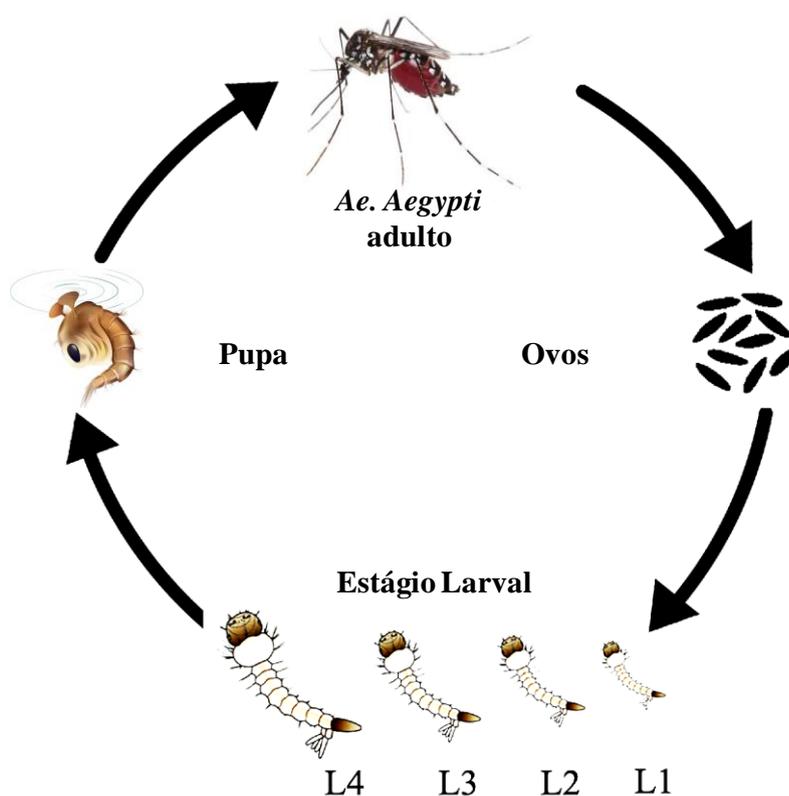
Fonte: Rogers, 2022.

2.4.1 Ciclo de vida do *Ae. aegypti*

Para descrever a dinâmica da população desse mosquito é considerado todo o ciclo de vida: fase aquática (ovo, larva e pupa) e fase alada (mosquitos adultos) (CANTANE, 2015). O ciclo de vida do *Ae. aegypti* apresenta quatro etapas de desenvolvimento, sendo elas: ovo, larva (admitindo quatro estágios, os quais são

diferenciados pelo seu tamanho, sendo as do quarto ínstar (L4) as mais resistentes), pupa e adulto (**Figura 7**). Esse ciclo dura aproximadamente 10 dias, e o inseto adulto pode resistir por um período de 30 a 35 dias. O ciclo de desenvolvimento depende diretamente da presença de água e da temperatura ambiente. Em dias quentes com temperaturas médias de 25°C, o desenvolvimento dos ovos em adultos se completa em pouco mais de 1 semana. No caso de dias frios, o desenvolvimento pode ocorrer ao longo de meses (FOSTER; WALKER, 2002).

Figura 7 – Ciclo de vida do *Ae. aegypti*.



Fonte: Adaptado de Hossain, 2022.

2.4.1.1 Mosquito adulto

A fase adulta pode durar entre duas semanas e um mês o que varia de acordo com as condições ambientais. Após a pupa emergir para mosquito adulto ocorre a reprodução, posterior ao acasalamento uma única inseminação é suficiente para fecundar todos os ovos que a fêmea venha a produzir durante a sua vida (NELSON, 1986). As fêmeas, são hematófagas, ou seja, necessitam de um repasto sanguíneo para a maturação dos ovos. Depois de uma refeição completa, as fêmeas produzem

uma média de 100 ovos por postura. Aproximadamente 3 dias após a refeição sanguínea inicia-se a oviposição durante a qual se dá a fecundação e o desenvolvimento embrionário. O mosquito macho alimenta-se de sucos vegetais, podendo o mesmo acontecer com as fêmeas (NELSON, 1986; MACHADO, 1998). Uma fêmea, em condições ideais, pode chegar a pôr até cerca de 270 ovos (BESERRA *et al*, 2006).

2.4.1.2 Fase do ovo e desenvolvimento embrionário

O desenvolvimento embrionário, em climas tropicais, processa-se 48 h após a postura, em condições de humidade e temperatura favoráveis (FOSTER; WALKER, 2002). Concluído o embrionamento, os ovos podem sobreviver à dessecação por vários meses e mesmo anos, eclodindo quando submergidos em água, dando origem a uma larva do primeiro estágio. A eclosão é influenciada pela temperatura, fotoperíodo e teor de oxigênio da água (GILLETT; ROMAN; PHILLIPS, 1977; JEFFERY *et al.*, 2012).

2.4.1.3 Estágio larval e pupal

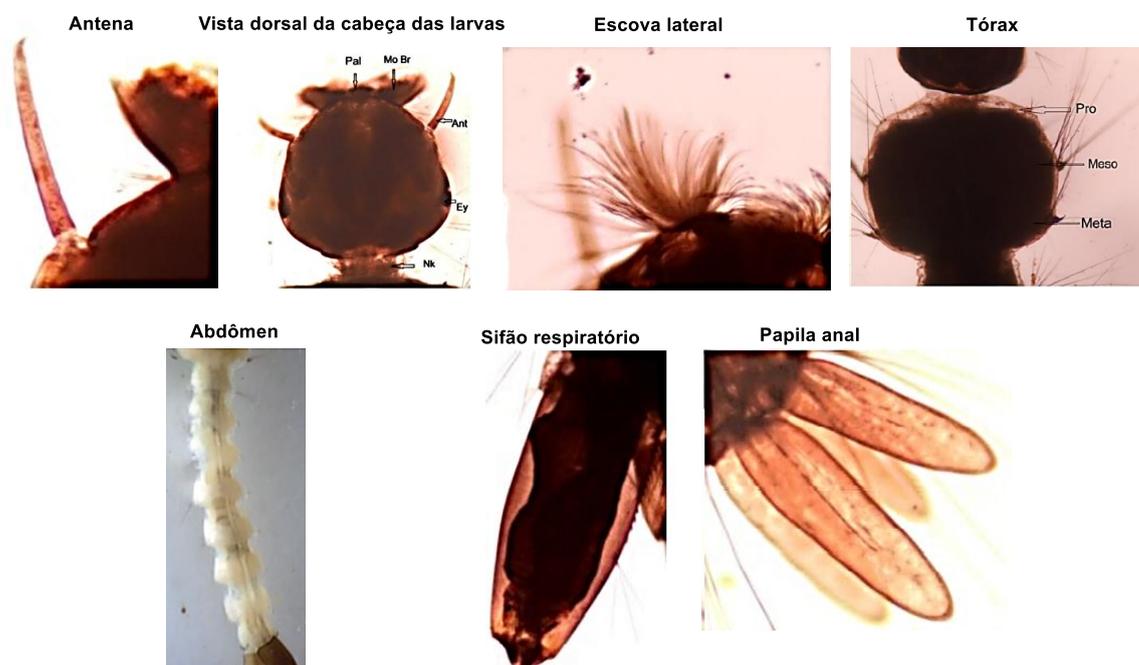
A fase larval inicia com o primeiro de quatro ínstar, durante essa fase as larvas são diferenciadas pelo seu tamanho. A transição dos estágios é realizada pela muda da pele quitinosa que se desprende, possibilitando o crescimento e desenvolvimento do próximo ínstar. O desenvolvimento larval completo geralmente dura de cinco a sete dias e é finalizado quando a larva do quarto ínstar atinge a forma de pupa (ICAZA, 2003). As larvas do *Ae. aegypti* são onívoras e se alimentam com a ajuda de sedas orais dispostas em um leque que é usado para filtrar partículas de matéria orgânica suspensa e microrganismos na água. As larvas se alimentam na água de protozoários, bactérias, leveduras e algas, tanto no fundo do habitat quanto na coluna d'água (PONCE, 1999). A pupa é o último estágio de desenvolvimento aquático, geralmente durando entre 2 e 4 dias em condições ideais (FOCKS *et al.*, 1981; NELSON, 1986; MANRIQUE-SAIDE *et al.*, 1998). Esse estágio é móvel (embora não se alimente) e nada ativamente dentro do recipiente em resposta a estímulos externos, como vibrações e mudanças na intensidade da luz.

2.4.1.3.1 Morfologia das larvas do *Ae. aegypti*

As larvas desse mosquito caracterizam-se por apresentar um aspecto alongado e cor escura, e possuem cabeça, pescoço, tórax e abdômen, como também escova bucal, palato, espinhos pré-clípeos, mento, olho composto, antena, espinhos de pente, tubo de sifão, dentes pecten e papila anal (**Figura 8**), os quais já foram descritos por vários pesquisadores (BARRAUD *et al.*, 1934; SNODGRASS, 1959; CLEMENTS, 2013). A cabeça da larva contém vários órgãos complexos, como olhos, placa mental, botões de antenas, um par de músculos retratores internos da escova, um par de músculos retratores externos da escova e cérebro. A região do tórax larval, por sua vez, é conhecida como intestino anterior das larvas, e possui cecos gástricos, células epiteliais, membrana basal, membrana peritrófica e microvilosidades embutidas junto com as fibras musculares (JENO; NAKKEERAN, 2022).

Na cauda da larva ficam localizados os tubos de sifão e válvulas espiraculares. Nos tubos de sifão ocorrem abertura anal ao longo do canal alimentar para o bom funcionamento do sistema digestivo (JENO; NAKKEERAN, 2022). Já a região do abdômen contém o sistema digestivo juntamente com o canal alimentar localizado na região do tórax e é crucial para o seu desenvolvimento (CLEMENTS, 2013).

Figura 8 – Morfologia da larva do *Ae. aegypti*.



Fonte: Adaptado de Bar e Andrew, 2013.

2.4.2 Distribuição geográfica de *Ae. aegypti*

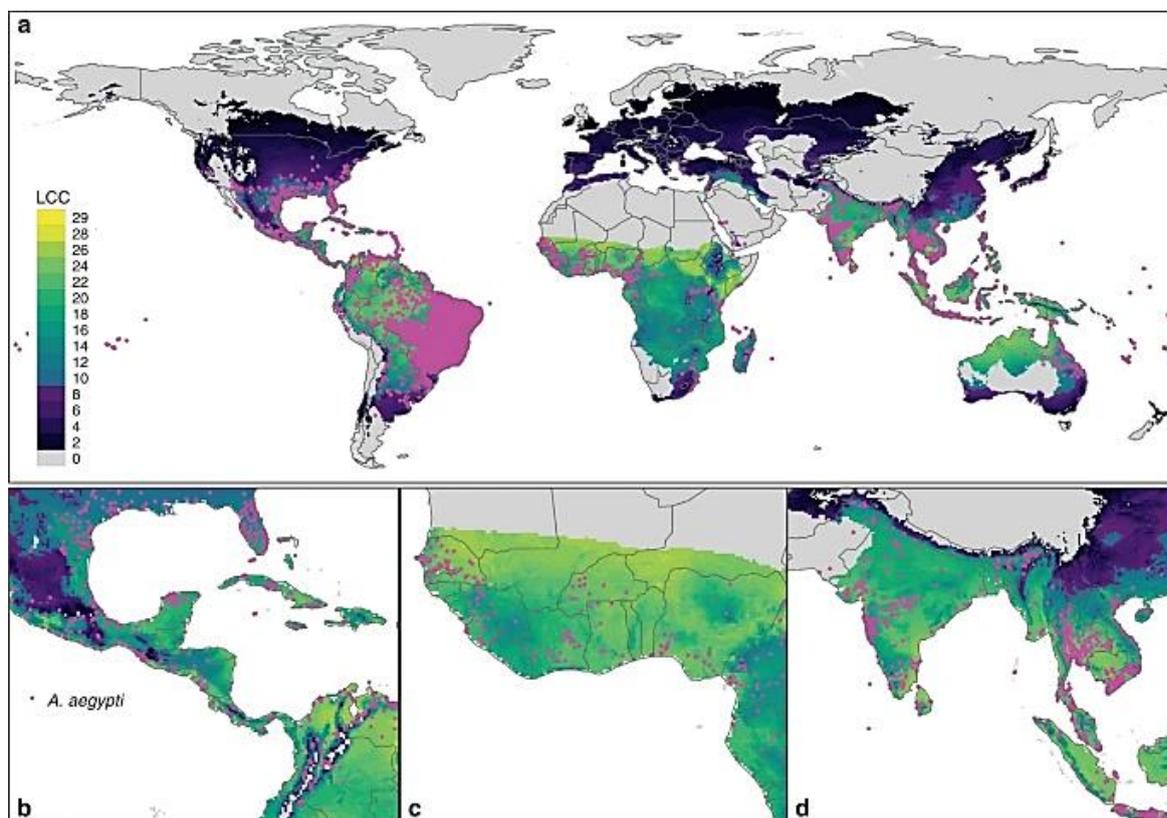
Por muitos anos, esse inseto estava geograficamente restrito ao continente africano e ao sudeste da Ásia (MOUSSON *et al.* 2005, SCHOLTE E SCHAFFNER 2007). Entretanto, dados reportados apontam que essa espécie já colonizou o restante dos trópicos. Por meio do intenso comércio marítimo durante os séculos XVII a XX, e, atualmente, já estão distribuídos em quase todos os continentes (HLAING *et al.* 2009; BROWN *et al.* 2011; POWELL; TABACHNICK, 2013).

No que se refere aos principais impulsionadores da expansão geográfica das espécies de mosquitos invasores são a globalização e as mudanças no ambiente (incluindo as mudanças climáticas) (LWANDE *et al.*, 2020). De acordo com os resultados apresentados por Iwamura, Guzman-Holst, Murray (2020) sugerem que o mundo se tornou ~1,5% mais adequado por década para o desenvolvimento de *Ae. aegypti*, a previsão é que essa tendência acelere para 3,2–4,4% por década até 2050 (IWAMURA; GUZMAN-HOLST; MURRAY, 2020).

A **Figura 9** indica o número total de conclusões do ciclo de vida (CCV) do *Ae. aegypti*, por ano, na escala global (**a**), América Central (**b**), África Ocidental (**c**) e

Sudeste Asiático (d). Nas áreas de cor cinza, são as consideradas impróprias para desenvolvimento do *Ae. aegypti*. Por fim, pontos magenta representam registros de presença de *Ae. aegypti* (IWAMURA; GUZMAN-HOLST; MURRAY, 2020).

Figura 9 – Distribuição geográfica do *Ae. aegypti* no mundo até 2020.



Fonte: Iwamura, Guzman-Holst, Murray, 2020.

2.5 . Medidas adotadas no controle do vetor

Diante do cenário atual de disseminação de arboviroses ocasionadas pelo *Ae. aegypti*, essas infecções virais podem ser evitadas aumentando a imunidade do hospedeiro mediante o uso de vacinas ou combatendo o vetor. No que tange às medidas de controle de vetor, diferentes formas têm sido implementadas com um sucesso variável: controle químico; manejo de habitat e controle biológico (WEERATUNGA *et al.*, 2017).

2.5.1 Manejo de Habitat

O manejo do habitat tem como objetivo a redução dos potenciais criadouros do mosquito, removendo-os do ambiente (GUBLER, 1996). Esses criadouros são

essencialmente artificiais: urbanos (lotes vagos, lixões, aterros sanitários) ou domésticos (pneus, garrafas, latas abertas ou recipientes de qualquer tipo, água potável, tanques, entre outros) (OPS, 2011). Muitos países que enfrentam epidemias regulares tentam impor essas medidas por meio da educação pública ou por métodos punitivos por meio dos sistemas legais (por exemplo, multas ou prisões) (MENDES; DE MORAIS, 2014).

2.5.2 Controle Biológico

Outra estratégia é o controle biológico, que introduz predadores ou parasitas para competir ou reduzir as populações das espécies-alvo. Essas estratégias incluem aprisionamento em massa de larvas, uso de peixes larvívoros, métodos de controle populacional como o uso de bactérias *Wolbachia spp.*, bem como técnicas de manipulação genética. Esses são alguns métodos não químicos emergentes no controle de vetores (HURST *et al.*, 2012; SENG *et al.*, 2008; ALPHEY *et al.*, 2013; KEAN *et al.*, 2015).

Em relação aos peixes larvívoros, diferentes tipos de peixes são excelentes predadores de larvas de mosquitos, por exemplo, *Poecilia reticulata*, *Betta splendens* e o *Trichogaster trichopteros*, essas são espécies que foram introduzidas em muitas partes do mundo para essa finalidade (CHANDRA *et al.*, 2008; PYKE, 2005; HOWARD; ZHOU; OMLIN, 2007). No que tange ao uso de bactérias para o controle populacional, as *Wolbachia pipientis* são bactérias endossimbiótica de transmissão materna, que infectam cronicamente 40% de todas as espécies conhecidas de artrópodes (ZUG; HAMMERSTEIN, 2012). As medidas de controle biológico com o uso dessas bactérias incluem feminização de machos, partenogênese, morte de machos e incompatibilidade citoplasmática, além de efeitos fisiológicos que podem ser explorados para limitar a replicação de muitos patógenos (YEN; BARR, 1973; MOREIRA *et al.*, 2009; KAMBRIS *et al.*, 2009; HURK *et al.*, 2012).

Por fim, ainda dentro das estratégias de controle biológico existe a técnica de manipulação genética, a qual envolve a técnica do inseto estéril, em que os machos estéreis são criados e liberados no ambiente, com o objetivo de reduzir o potencial reprodutivo da população de mosquitos, para assim diminuir o tamanho da população (ALPHEY *et al.*, 2013). Entretanto, os métodos químicos que envolvem o uso de

inseticidas de origem orgânica ou inorgânica, ainda é a metodologia mais adotada como parte do manejo sustentável e integrado para o controle de vetores.

2.5.3 Controle químico

O controle químico é mais utilizado para combater as populações de mosquitos *Aedes*, devido à sua eficácia na regulação das populações de larvas e adultos (LAZCANO *et al.*, 2009). É importante ressaltar que os larvicidas devem ser considerados como um método complementar ao manejo ambiental e visam impactar na densidade e longevidade do mosquito, bem como em outros parâmetros de transmissão (MANJARRES-SUAREZ; OLIVERO-VERBEL, 2013).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as intervenções de controle do vetor recomendadas para implantação em grande escala são: **i)** mosquiteiros tratados com inseticida (MTI) pré-qualificadas pela OMS, que em muitos locais continuam a ser redes inseticidas de longa duração (RILD); e **ii)** pulverização residual interna (PRI) com um produto pré-qualificado pela OMS. Uma vez alcançada a cobertura ideal, intervenções suplementares podem ser consideradas para implantação, dependendo das especificidades da população, situação ou cenário. Isso inclui medidas de proteção pessoal que têm um padrão de uso primário para proteger usuários individuais, embora possam ter alguns ainda (OMS, 2022).

Atualmente, existem quatro classes de inseticidas recomendados pela OMS para pulverização residual domiciliar, que são: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides; e larvicidas que incluem pesticidas bacterianos, benzoiluréias, imitadores de hormônios juvenis, organofosforados e espinosinas, enquanto apenas uma classe, ou seja, piretróides sintéticos são recomendados para mosquiteiros tratados com inseticida (MTI) (RAGHAVENDRA, KAMARAJU; VELAMURI, 2018).

As formulações de inseticidas atualmente usadas para IRS se enquadram em cinco classes principais de inseticidas com três modos de ação (**Tabela 1**), com base em seu principal local de destino no vetor. Os produtos pré-qualificados pela OMS foram avaliados quanto à segurança, à qualidade e à eficácia entomológica, o que inclui a avaliação de seu efeito de mortalidade em mosquitos quando aplicados a uma

variedade de superfícies internas de residências encontradas em áreas endêmicas de malária (OMS, 2022).

Tabela 1 - As formulações de inseticidas atualmente usadas para IRS, recomendados pela OMS, em 2022.

As formulações de inseticidas atualmente usadas para IRS, recomendados pela OMS.

Mecanismo de ação	Classes	Inseticidas
Moduladores de canal de sódio	Piretroides	alfacipermetrina, deltametrina, lambda-cialotrina, etofenprox, bifentrina
	Organoclorados	Nenhum produto pré-qualificado disponível
Inibidores da acetilcolinesterase	Organofosforados: malation, fenitroton, pirimifos-metil	malation, fenitroton, pirimifos-metil
	Carbamatos	bendiocarb, propoxur
Moduladores competitivos dos receptores nicotínicos de acetilcolina	Neonicotinóides	Clotianidina

Fonte: OMS, 2022.

2.5.3.1 Organofosforados

O termo geral organofosforados, inclui todos os inseticidas que contêm fósforo, são substâncias neurotóxicas que têm como alvo primário a enzima acetilcolinesterase (AChE), ocorrendo uma reação de fosforilação (**Figura 10**) (CRINNION, 2000). A AChE tem como função bioquímica a hidrólise da acetilcolina, um importante neurotransmissor, que promove a propagação do impulso nervoso, uma vez que provoca a abertura de canais de sódio na célula pós-sináptica (HEMINGWAY; RANSON, 2000). Por atuarem inibindo essa enzima são extremamente tóxicos para mamíferos. Esses inseticidas foram descobertos posteriormente aos organoclorados (CRINNION, 2000; LOTTI, 2010; VIDYASAGAR *et al.*, 2004; SHARMA *et al.*, 2005).

Dentro dessa categoria, o temefós® (**Figura 11**) é o inseticida mais conhecido e que foi amplamente utilizado mundialmente para o controle do *Ae. aegypti* nos estágios larvais (VIANA-MEDEIROS *et al.*, 2018). Contudo, o uso frequente de tais produtos ocasionou o aparecimento de populações resistentes a esse pesticida (POCQUET *et al.*, 2014). No mais, o temefós® é tóxico para mamíferos e pode afetar adversamente a fertilização e desenvolvimento embrionário (KIM *et al.*, 2020).

2.5.3.2 Organoclorados

Os organoclorados, por sua vez, são inseticidas que contêm carbono, hidrogênio e cloro, são estáveis e muito persistentes no ambiente, os quais são cumulativos no tecido adiposo (WALISZEWSKI *et al.*, 2002; WALISZEWSKI *et al.*, 2003). Para mamíferos, eles atuam principalmente no sistema nervoso central, causando alterações nas membranas que revestem os nervos e nas propriedades eletrofisiológicas, o que leva a mudanças na cinética do fluxo de K^+ e Na^+ por meio da membrana da célula nervosa (NARAHASHI *et al.*, 1992).

Essa classe inclui o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (**Figura 11**), substância química que teve grande notoriedade no século passado e foi utilizada no controle dos vetores da malária, febre amarela e outras doenças. Em relação ao mecanismo de ação, atua no canal de sódio, provavelmente mantendo-o aberto e perturbando o equilíbrio de íons sódio e potássio dos axônios, impedindo a transmissão normal de impulsos nervosos em insetos e mamíferos (WARE, 2000).

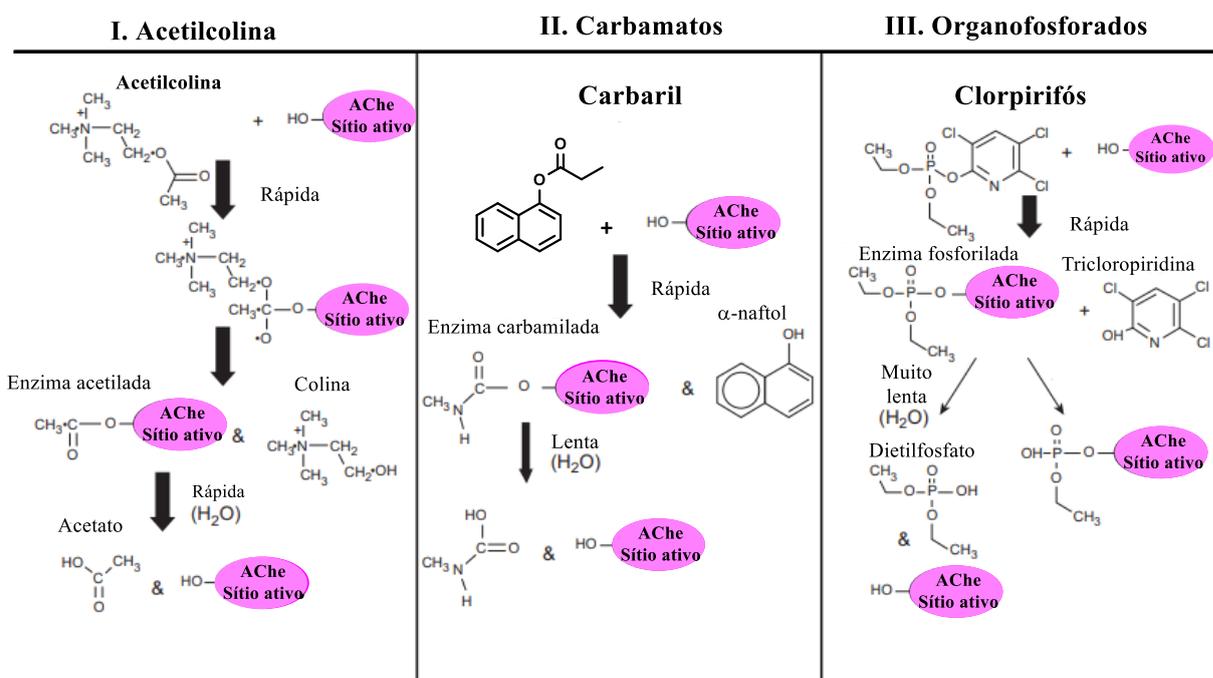
Entretanto, o uso descontrolado desses pesticidas persistentes e bioacumulativos afeta negativamente a saúde humana, ambiental e contribui para o surgimento de populações de mosquitos *Aedes* resistentes (MUHSEEN *et al.*, 2021). De acordo com as recomendações da OMS, que apoia ativamente a promoção da segurança química e, em conjunto com o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA), tem como compromisso em comum com a meta global eliminar o uso de DDT, ao mesmo tempo em que minimiza a carga de doenças transmitidas por vetores (OMS, 2022).

2.5.3.3 Carbamatos

Os carbamatos são derivados do ácido carbâmico, similar aos organofosforados, apresentam uma ação letal e rápida frente aos insetos, esses têm como mecanismo de ação a inibição da AChE (**Figura 10**), nesse caso a reação envolvida é a carbamilação (WARE, 2000; DENT, 2000). Alguns carbamatos são potentes inibidores da Aliesterase (uma Esterase alifática) e apresentam seletividade pronunciada contra as AChE de certas espécies. Dentre os mais utilizados dessa categoria, está o carbaril. O carbaril (**Figura 11**) é um inseticida de amplo espectro

com baixíssima estabilidade química que se deve à rápida hidrólise para 1-naftol em meio alcalino (WARE, 2000; DITBERT, 1963).

Figura 10 – Interação da acetilcolina (I), carbaril (II) e clorpirifos-oxon (III) com o sítio ativo da acetilcolinesterase (AChE).



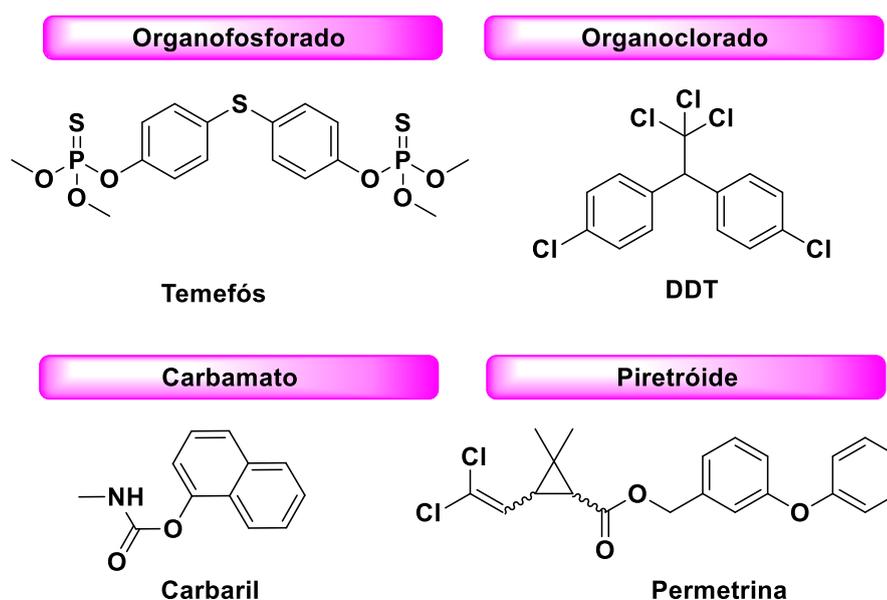
Fonte: Adaptado de Gupta *et al.*, 2017.

2.5.3.4 Piretróides

Os piretróides (**Figura 11**) são inseticidas sintéticos, que quimicamente são baseados em piretrinas naturais, essas são encontradas nas flores de *Chrysanthemum cineraraefolium* (SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015). A estrutura básica dessas substâncias consiste em um ácido e um álcool, com uma ligação éster. Alguns dos mais comumente usados são permetrina, deltametrina, cipermetrina e ciflutrina para tratamentos de pulverização residual e espacial, geralmente em antecipação ou durante uma epidemia (AKINER, 2009; SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015). Os alvos moleculares das piretrinas e piretróides são semelhantes em mamíferos e insetos e incluem canais de sódio, cloreto e cálcio dependentes de voltagem, canais de cloreto controlados por GABA, receptores nicotínicos, despolarização da membrana e junções comunicantes intercelulares (ENSLEY, 2018). Para mais, exibem uma certa estabilidade e são biodegradáveis,

não cumulativos e não é muito comum provocarem intoxicações agudas em aves e mamíferos, porém podem causar hipersensibilização e irritação das mucosas desses animais. Além disso, são extremamente tóxicos para seres aquáticos (BRAGA; VALLE, 2007; PALCHICK, 1996).

Figura 11 – Exemplos de inseticidas de quatro classe.



Elaborado pela autora, 2023.

2.6 Inseticidas utilizados para o controle do *Ae. aegypti* no Brasil

De acordo com informações colhidas no boletim epidemiológico nº 48, que contém dados referentes ao monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 51 de 2022. As substâncias para o controle do *Ae. aegypti* que estão sendo usadas no Brasil são: pastilhas de larvicida (**Espinosade** 7,48%) para o tratamento de recipientes de água; inseticida **Clotianidina** 50% + **Deltametrina** 6,5%, para o tratamento residual em pontos estratégicos (borracharias, ferros-velhos etc); e para aplicação espacial (UBV), **Imidacloprido** 3% + **Praletrina** 0,75% (Secretaria de vigilância em saúde, 2022)

No que se refere ao larvicida Espinosade (**Figura 12**), esse é um pesticida natural de origem bacteriana. Esse composto é uma mistura de dois componentes inseticidas ativos, Espinosina A, o componente principal e Espinosina D, o

biodegradáveis. Nesse aspecto, destacam-se os derivados do ácido cinâmico (DACs), os quais possuem uma série de atividades farmacológicas, dentre elas: atividade antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, inseticida, larvicida entre outras (PEPERIDOU *et al.*, 2017; SHARMA, 2011). Destacando as cinamamidas que são amidas derivadas do ácido cinâmico e, possuem ampla gama de atividades em vários campos, tais como: produtos farmacêuticos, agrícolas e biológicos. No campo agroquímico, inseticida, repelente aviário e atividades herbicidas (JIN; SUN; WU, 2011; XIAO *et al.*, 2009). Contudo, ainda não há investigações na literatura a respeito da atividade larvicida dessas moléculas frente ao vetor *Ae. aegypti*.

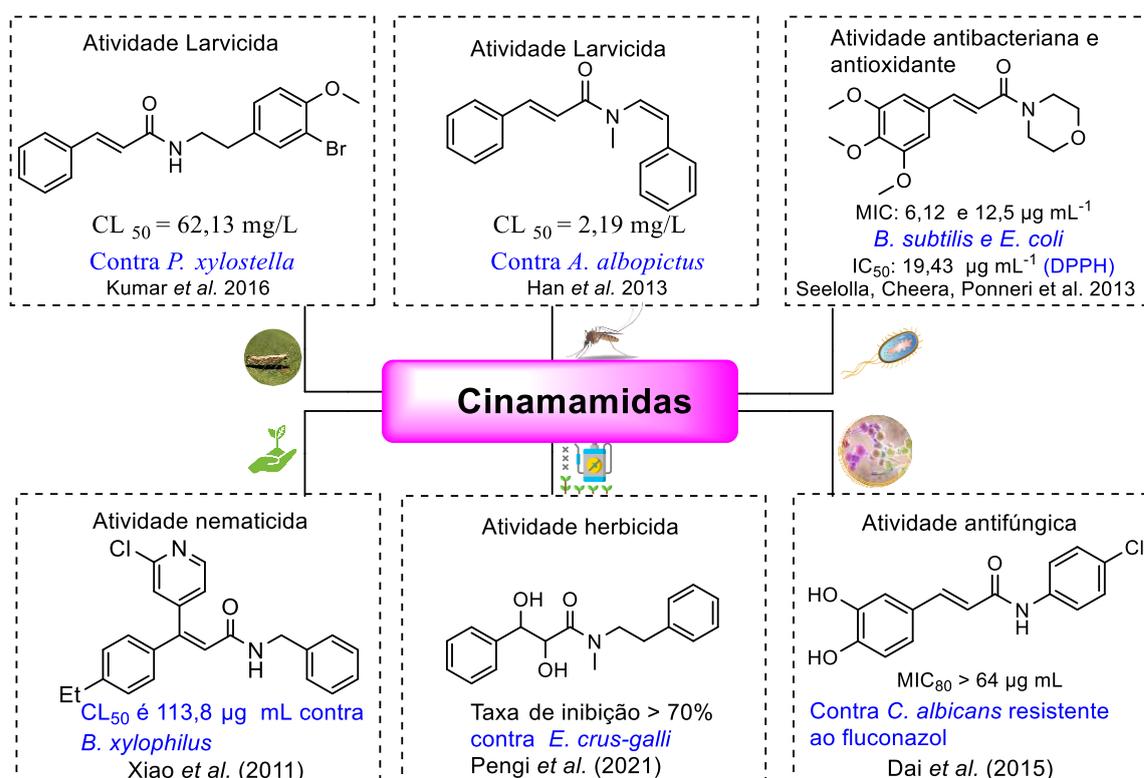
2.7 Cinamamidas

A ligação amida é uma das ligações químicas mais fundamentais e difundidas na natureza, sendo importante em várias áreas da química, como síntese orgânica, descoberta de drogas, polímeros e bioquímica, a qual é existente amplamente em muitas moléculas orgânicas e biomoléculas (LI; MA; SZOSTAK, 2020; GREENBERG; BRENEMAN; LIEBMAN, 2000). A natureza usou ligações amida para fazer essas biomoléculas importantes devido à alta estabilidade das ligações amida em várias condições de reação (condições ácidas e básicas), alta temperatura e presença de outros produtos químicos (SIMON *et al.*, 2000). A alta estabilidade das ligações amida é atribuída à sua tendência de formar uma estrutura ressonante, que fornece um caráter de ligação dupla à ligação amida (KEMNITZ; LOEWEN, 2007; MUJIKI; MERCERO; LOPEZ, 2005; WANG; CAO, 2011).

A cinamamida está presente em diversos produtos naturais. Trata-se de amidas que atuam como uma estrutura de interesse para projetar e chegar a novas moléculas biologicamente ativas (GAIKWAD; NANDURI; MADHAVI, 2019). Algumas das atividades biológicas das cinamamidas já descritas na literatura são: atividade antifúngica (DAI *et al.*, 2015); herbicida (PENGLI *et al.*, 2021); atividades antioxidantes, antibacterianas e anti-inflamatórias (KUCHANA; RENUKA, 2018), entre outras (**Figura 13**). Uma das características que conferem relevância ao uso das cinamamidas está relacionada à sua baixa toxicidade, de modo que estas podem ser úteis também na proteção de culturas, produtos armazenados e estruturas agrícolas em que os pesticidas seriam perigosos (CROCKER, D. R.; SCANLON, C. B.; PERRY,

1993). Ademais, as propriedades favoráveis das amidas, como alta polaridade, estabilidade e diversidade conformacional, fazem dela um dos grupos funcionais mais populares e confiáveis em todos os ramos da química orgânica. Métodos aprimorados para a síntese da funcionalidade amida, sejam catalíticos e livres de resíduos ou quimiosseletivos e adequados para acoplamento de fragmentos, estão em grande demanda (PATTABIRAMAN; BODE, 2011).

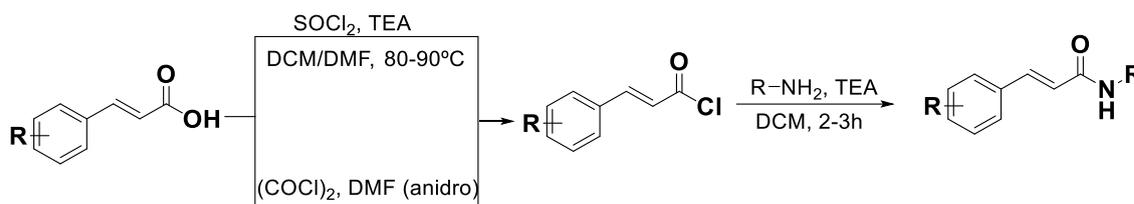
Figura 13 - Algumas das atividades biológicas das cinamamidas descritas na literatura.



Elaborado pela autora, 2023.

Normalmente, as ligações amida são formadas pela reação de um ácido carboxílico ativado com uma amina de escolha, os ácidos carboxílicos podem ser ativados separadamente, antes da formação da amida, ou podem ser ativados *in situ* usando reagentes de acoplamento e por diferentes rotas sintéticas. Um dos métodos sintéticos mais popular é mediante a formação de cloreto de acila seguida de tratamento com as aminas (**Esquema 1**) (PATTABIRAMAN; BODE, 2011; ZHANG et al., 2013; KAMAL et al., 2016).

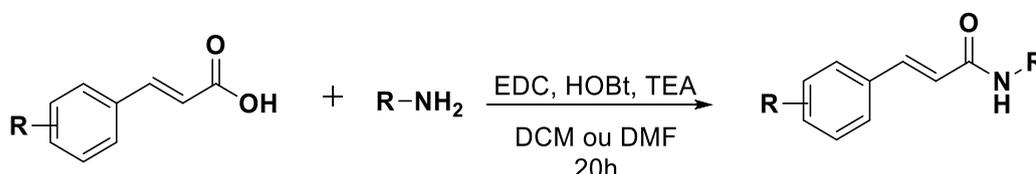
Esquema 1 - Síntese de amidas cinâmicas mediante formação de cloreto ácido



Elaborado pela autora, 2023.

Outro método que vem sendo muito aplicado é o tratamento de ácido e amina em DMF ou DCM na presença de reagentes de acoplamento como *N,N'*-diclohexilcarbodiimida (DCC) ou 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) junto com uma base como *N*-(dimetilamino)piridina (DMAP) ou trimetilamina (**Esquema 2**) (YOU *et al.*, 2011). No decorrer dos anos, uma variedade de reagentes e protocolos foram desenvolvidos para ativação de ácidos carboxílicos e acoplamento de aminas. Em particular, reagentes de acoplamento como DCC/DMAP, EDC/HOBt, HATU/DIPEA, CDI/ Et_3N e BOPCI/ Et_3N são usados para muitas reações de acoplamento de rotina (GHOSH; SHAHABI, 2021).

Esquema 2 - Formação de cinamamida utilizando carbodiimidas como reagentes de acoplamento.



Elaborado pela autora, 2023.

Como é o caso da reação denominada acoplamento de Steglich a qual utiliza uma carbodiimida junto com DMAP para ativar um ácido e permitir a formação de ésteres e amidas (NEISES; STEGLICH, 1978). Nessa reação o ácido é ativado pela carbodiimida, DCC, e o DMAP atua como catalisador nucleofílico para minimizar a formação do subproduto improdutivo da migração acil (LUTJEN *et al.*, 2018).

Devido às condições brandas em relação à metodologia que utiliza carbodiimidas como reagente de acoplamento, nesta pesquisa optou-se pelo emprego desse método. Sendo inicialmente realizado um planejamento racional das moléculas a serem sintetizadas com uma abordagem computacional, ou seja, o uso de métodos *in silico* descritos a seguir.

2.8 Métodos computacionais no planejamento de novos agentes larvicida

A síntese orgânica e os ensaios biológicos fazem parte do processo fundamental para o desenvolvimento de moléculas biologicamente ativas. No entanto, a química computacional, uma área de pesquisa aparentemente distante das outras, pode contribuir significativamente para a descoberta de novos compostos (JIANG; GENG, 2019; LAVECCHIA, 2019).

Métodos computacionais, por exemplo técnicas de *docking* molecular, dinâmica molecular, *target fishing*, predição *in silico* de propriedades físico-químicas, são alguns das diferentes estratégias para o planejamento racional de fármacos e composto biologicamente ativos.

2.8.1 *Docking* molecular

O *docking* molecular é um dos métodos utilizados com frequência no planejamento racional de compostos, devido à sua capacidade de predição, substancial de precisão, a conformação de ligantes de moléculas pequenas dentro do sítio ativo dos alvos macromoleculares (MENG *et al.*, 2011).

Após a descoberta dos primeiros algoritmos na década de 1980, o *docking* molecular tornou-se uma ferramenta essencial na química medicinal (LÓPEZ-VALLEJO *et al.*, 2011). Os algoritmos de *docking* molecular executam previsões quantitativas da energia de ligação (*FitScore*), fornecendo classificações de compostos ancorados com base na afinidade de ligação dos complexos ligante-receptor (LÓPEZ-VALLEJO *et al.*, 2011; HUANG; ZOU, 2010). A técnica de *docking* consiste em duas etapas básicas: predição da conformação do ligante, como também a posição e orientação dentro desses locais e avaliação do *FitScore* (MENG *et al.*, 2011).

2.8.2 *Target fishing*

Em paralelo, o estudo dos possíveis alvos biológicos são importantes na descoberta de novas moléculas e fundamentais para o cálculo de *docking* molecular. Diante disso, o método *target fishing* é usado para identificar os alvos biológicos mais prováveis de uma molécula (CERETO-MASSAGUÉ *et al.*, 2015).

Diferentes métodos dentro da química computacional foram desenvolvidos para prever os alvos moleculares de um composto (KOUTSOUKAS *et al.*, 2011; BENDER *et al.*, 2007). Os quais foram, inicialmente, classificados em quatro grupos: busca de similaridade química, mineração de dados/aprendizado de máquina, docking de painel e análise de espectros de bioatividade (BENDER *et al.*, 2007; JENKINS; BENDER; DAVIES, 2006).

2.8.3 Predição *in silico* de propriedades físico-químicas

Além disso, as propriedades físico-químicas são muito úteis no processo de planejamento, é imprescindível conhecer quais características físico-químicas são cruciais para a atividade em questão, neste caso a atividade larvicida. Essas propriedades estão relacionadas à absorção, à distribuição, ao metabolismo e à excreção (ADME) de compostos nos estágios iniciais de descoberta/desenvolvimento (BOOBIS *et al.*, 2002).

Quando se compara as propriedades físico-químicas na descoberta de medicamentos, os pesticidas apesar da semelhança apresentam características únicas devido à biodiversidade de pragas e às condições de uso. Um exemplo é a importância da fotoestabilidade, pois são substâncias cuja aplicação normalmente é ao ar livre (HAO; DONG; YANG, 2011).

Acerca dessas diferenças Hao *et al.* (2011) investigaram o perfil das propriedades físico-químicas de agroquímicos realizando um estudo comparativo sobre as propriedades constitutivas de 788 pesticidas comercializados, incluindo 341 herbicidas, 182 fungicidas e 265 inseticidas. Foram selecionadas seis propriedades para serem avaliadas, incluindo Massa Molecular (MM), coeficiente de partição octanol-água (ClogP), Aceitadores de Ligação de Hidrogênio (ALH), Doadores de Ligação de Hidrogênio (DLH), Ligações Rotativas (LRO) e Ligações Aromáticas (LAR), dentre esses quatro foram descritores básicos usados na regra de *Lipinsk* para medicamentos. Por fim, foi proposto um guia simples para definir a semelhança com pesticidas da seguinte forma: $MM \leq 435$ Da, $C \text{ Log } P \leq 6$, $ALH \leq 6$, $DLH \leq 2$, $LRO \leq 9$ e $LAR \leq 17$ (HAO; DONG; YANG, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Planejar e sintetizar cinamamidas para avaliação da atividade larvicida frente à larva do quarto ínstar do vetor *Ae. aegypti*.

3.2 Objetivos específicos

- I. Planejar cinamamidas mediante estratégias *in silico*;
- II. Sintetizar as cinamamidas por meio da reação de Steglich;
- III. Avaliar a atividade larvicida frente às larvas do vetor *Ae. aegypti*;
- IV. Realizar análise morfológica das larvas frente aos compostos ativos;
- V. Discutir a Relação Estrutura-Atividade (REA) dos compostos testados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As atividades experimentais desta pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Materiais e Composto Bioativo (LMC), localizado no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

4.1 Reagentes, solventes e condições

Foram utilizados reagentes e solventes adquiridos da Aldrich[®], Vetec[®], Dinâmica[®] e Synth[®] (grau P.A.). Os solventes utilizados nas reações foram destilados sob pentóxido de fósforo (P₂O₅) como agente dessecante. Os procedimentos de síntese foram conduzidos em atmosfera de argônio e submetidos a aquecimento e refluxo, todas as etapas são descritas em detalhes a seguir.

4.2 Métodos Cromatográficos

As cromatografias por adsorção foram realizadas utilizando sílica-gel 60 (0,063-0,200mm) adquiridas comercialmente pela Merck[®]. Os eluentes empregados estão descritos nas respectivas preparações. As cromatografias em camada delgada foram realizadas em cromatoplasmas de vidro com dimensões de 10x5 cm preparadas no laboratório utilizando sílica gel com sílica-gel 60 PF254 adquirida comercialmente pela Merck[®].

4.3 Métodos Espectroscópicos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H) e Carbono (RMN ¹³C) utilizando a técnica DEPT-Q, foram obtidos pelo Núcleo de Análises e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) em um equipamento Bruker com frequência de 600, 400, 150 e 100 MHz. Os solventes delterados necessários para a preparação das amostras foram obtidos comercialmente pela Cambridge Isotope Laboratories, contendo Tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Utilizou-se o *software* TopSpin 3.5pl 7 (2018-2019) (BRUKER[®]) para análise dos espectros de ¹H e ¹³C. No que se refere às multiplicidades dos sinais de absorção de energia dos núcleos de hidrogênio nos

espectros de RMN ^1H estão indicadas de acordo com a seguinte convenção: *s* (simpleto), *d* (dupleto), *t* (tripleto) e *m* (multipleto). Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (escala δ) e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz). Por fim, os espectros de Infravermelho (IV) foram obtidos em um aparelho Shimadzu IR PRESTINGE.

4.4 Procedimentos de síntese

4.4.1 Síntese do ácido *p*-clorocinâmico

Síntese do intermediário ácido *p*-cloro-cinâmico: em um tubo de Schlenk de 25 mL foram adicionados 0,250g (2,4 mmol) de ácido malônico, 0,281g (2,0 mmol) de *p*-cloro-benzaldeído, solubilizados em 0,328 mL (4,08 mmol) de Piridina. O sistema foi mantido sob agitação a uma temperatura de 60° C, por 20 min em refluxo; depois adicionou-se 0,023 mL (0,24 mmol) de piperidina. Ao completar o tempo de 24h, foi adicionado 1,1 mL de água destilada gelada no meio reacional, ainda em agitação. Posteriormente foi adicionado 1 mL de HCl 37%, em banho de gelo e mantendo agitação por 15 min, a posterior foi verificado o pH o qual deve estar em uma escala de pH= 1. Por fim, foi realizada uma filtração a vácuo com água destilada gelada para, sem necessidade de purificação adicional.

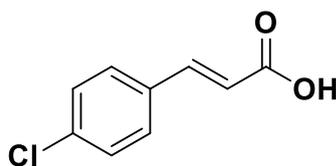
4.4.2 Síntese das amidas cinâmicas

Método A: em um balão de 25 mL dissolveu-se 0,75 mmol do ácido, 0,058 mL (0,43 mmol) da amina de escolha e 0,75 mmol de dimetilaminapiridina (DMAP) em 5 mL de CH_3CN (anidro). O sistema foi mantido sob agitação com temperatura de 0° C. Em seguida, transferiu-se, gota a gota, uma solução de 0,79 mmol de Diciclohexilcarbodiimida (DCC) dissolvido em 5 mL de CH_3CN . A mistura reacional foi mantida em atmosfera de argônio a 60 °C sob agitação por 24h. Ao completar a reação, a mistura foi transferida para um funil de separação, diluída com 10 mL de CH_3CN e submetida a três processos de lavagens: 3 x 15 mL com HCl 5% (m/v), 3 x 15 mL com KHCO_3 e 3 x 15 mL com H_2O . A fase orgânica separada foi seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e rotaevaporada a pressão reduzida. Posteriormente, o material sólido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel hexano/acetato (8:2).

Método B: a primeira etapa reacional consiste no emprego de SOCl_2 para formação do cloreto ácido. Dessa forma, em um balão de 25 mL foi adicionado 1 mmol do ácido, solubilizados em 3 mL de DCM (anidro), juntamente com 0,1 mmol de DMF (anidro). O sistema foi mantido sob agitação em refluxo e atmosfera inerte, para posterior adição de 5 mmol de SOCl_2 a 0°C . Seguidamente, o sistema foi aquecido a uma temperatura de 60°C e ficou em agitação por 2 h. O cloreto ácido formado foi rotaevaporada a pressão reduzida e solubilizado em DCM para posterior etapa de formação da amida. Na segunda etapa reacional foram adicionados em um balão de 25 mL: 1mmol da amina de escolha e 1,4 mmol de Et_3N , os quais foram solubilizadas em DCM (anidro). Posteriormente, a solução contendo o cloreto ácido foi adicionada a uma temperatura de 0°C . A mistura permaneceu sob agitação por 2 h a 60°C . O produto formado foi transferido para um funil de separação, diluído com 10 mL de acetado de etila e submetida a três processos de lavagens: 3 x 15 mL com HCl 5% (m/v), 3 x 15 mL com KHCO_3 e 3 x 15 mL com H_2O .

4.1 Caracterização dos compostos sintetizados

Síntese do intermediário ácido *p*-cloro-cinâmico

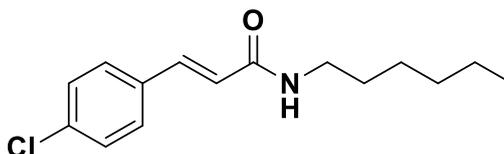


Sólido branco cristalino, 100% de rendimento (0,333 g), destacando que não houve necessidade de uma purificação. **RMN ^1H (400MHz, DMSO_{d6} , δ (ppm)):** 7,7 (d, $J= 7,9$ Hz, 2H); 7,5 (d, $J= 16,0$ Hz, 1H); 7,4 (d, $J= 8,3$ Hz, 2H); 6,5 (d, $J= 16,-$ Hz, 1H); 12,5 (s, 1H).

RMN ^{13}C (100MHz, DMSO , δ (ppm)): 167,9 (C=O); 135,3 (C-Cl); 133,8 (C); 143,1 (CH); 130,5 (CH); 129,3 (CH); 120,5 (CH).

FT-IR (cm^{-1}): 1666 ($\nu\delta$ -C=C-CO-O- do grupo carboxílico); 1620, 1486 (ν C=C de aromático); 1301-1276 (ν -OH); 813 (Anel *p*-dissubstituído).

(E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03)

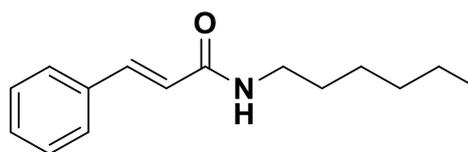


Sólido branco, rendimento de 54% (0,060 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,5 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H); 7,3 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H); 6,3 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 3,4 (q, *J*= 6,8 Hz, 2H); 1,6 (q, *J*= 7,2 Hz, 2H); 1,3 (m, 6H); 0,8 (t, *J*= 6,6 Hz, 3H); 5,7 (s, 1H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,7 (C=O); 135,6 (C-Cl); 133,6 (C); 139,4 (CH); 129,3 (CH); 121,3 (CH); 39,9 (CH₂); 31,4 (CH₂); 29,6 (CH₂); 26,6 (CH₂); 22,5 (CH₂); 13,6 (CH₃).

FT-IR (cm⁻¹): 3296 (*v_s* N-H); 2927 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2854 (*v_s* CH₂/CH₃ e *v_{as}* CH₂/CH₃); 1537-1614 (*v* C=C de anel aromático); 1320-1279 (*v_s* C-O); 1708 (C=O); 1651 (Dupla trans); 727 (Banda de cadeia longa); 821 (Anel *p*-dissubstituído).

N-hexilcinamamida (AF09)



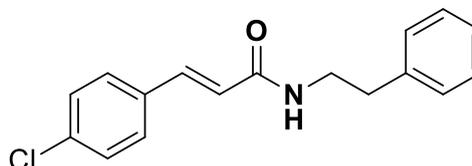
Óleo incolor, 72% de rendimento (0,060 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, *J*= 6,8 Hz, 2H); 6,4 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,3 (d, *J*= 6,4 Hz, 3H); 5,8 (s, 1H); 3,3 (q, *J*= 6,7 Hz, 2H); 1,6 (q, *J*= 7,6 Hz, 2H); 1,3 (m, 6H); 0,8 (t, *J*= 6,4 Hz, 3H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,9 (C=O); 134,9 (C); 140,1 (CH); 129,60 (CH); 128,80 (CH); 127,79 (CH); 120,83 (CH); 39,8 (CH₂); 31,5 (CH₂); 29,6 (CH₂); 22,49 (CH₂); 14,0 (CH₃).

FT-IR (cm⁻¹): 3290 (*v_s* N-H); 2994 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2850 (*v_s* CH₂/CH₃ e *V_{as}* CH₂/CH₃); 1450-1615 (C=C de anel aromático); 1332-1219 (*v_s* C-O); 1651 (C=O); 974

(Dupla trans); 720 (Banda de cadeia longa); 690 (Anel monossobstituído).

(E)-3-(4-clorofenil)-N-fenetilacrilamida (**AF07**)

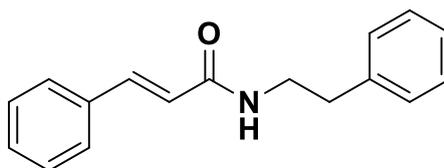


Sólido branco, 47% de rendimento (0,048 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm))**: 7,5 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H); 7,3 (t, *J*= 7,1 Hz, 4H); 7,2 (q, *J*= 6,9 Hz, 3H); 6,3 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,6 (s, 1H); 3,7 (q, *J*= 6,6 Hz, 2H); 2,9 (t, *J*= 6,8 Hz, 2H)

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,5 (C=O); 138,8 (C-Cl); 135,5 (C); 133,4 (C); 139,7 (CH); 129,0 (CH); 128,9 (CH); 128,8 (CH); 128,7 (CH); 126,6 (CH); 120,2 (CH); 40,8 (CH₂); 35,6 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3308 (*v_s* N-H); 2930 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2848 (*v_s* CH₂/CH₃ e *v_{as}* CH₂/CH₃); 1486-1615 (C=C de anel aromático); 1326-1214 (*v_s* C-O); 1651 (C=O); 972 (Dupla trans); 820 (Anel *p*-substituído).

N-fenetilcinamamida (**AF08**)



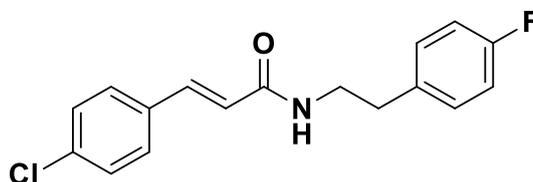
Sólido branco, 64% de rendimento (0,058 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm))**: 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,5 (d, *J*= 5,4 Hz, 2H); 7,4 (q, *J*= 6,4 Hz, 5H); 7,3 (q, *J*= 7,1 Hz, 1H); 6,4 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,7 (s, 1H); 3,7 (q, *J*= 6,6 Hz, 2H); 2,9 (t, *J*= 6,9 Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,8 (C=O); 138,9 (C); 134,9 (C); 141,0 (CH); 129,6 (CH); 128,8 (CH); 128,7 (CH); 127,8 (CH); 126,6 (CH); 120,7 (CH); 120,2 (CH); 40,8 (CH₂); 35,7 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3296 (*v_s* N-H); 2924 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2854 (*v_s* CH₂-/CH₃ e *v_{as}* CH₂/CH₃); 1444-1610 (C=C de anel aromático); 1214-1196 (*v_s* C-O); 1651 (C=O); 967

(Dupla trans); 690 (Anel monossustituído).

(E)-3-(4-clorofenil)-N-(4-fluorofenil)acrilamida (**AF13**)

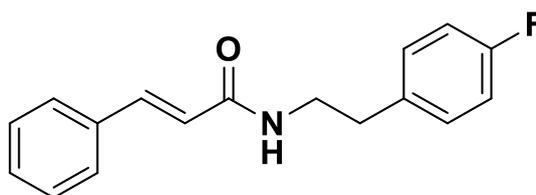


Sólido branco, 55% de rendimento (0,078 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm))**: 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, *J*= 8,7 Hz, 2H); 7,3 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H); 7,2 (q, *J*= 5,6 Hz, 2H); 7,0 (t, *J*= 8,6 Hz, 2H); 6,3 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,7 (s, 1H); 3,6 (q, *J*= 6,7 Hz, 2H); 2,8 (t, *J*= 6,9 Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,6 (C=O); 162,5 (C-F); 135,6 (C-Cl); 134,4 (C); 133,3 (C); 139,8 (CH); 130,1 (CH); 129,0 (CH); 128,9 (CH); 121,1 (CH); 115,6 (CH); 115,4 (CH); 40,9 (CH₂); 34,9 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3287 (*v_s* N-H); 2927 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2854 (*v_{as}* CH₂ e *V_{as}* CH₂); 1654 (C=O); 1614-1500 (C=C de anel aromático); 1320 (*v_s* C-O); 820 (Anel *p*-dissustituído).

N-(4-fluorofenil)cinamamida (**AF12**)

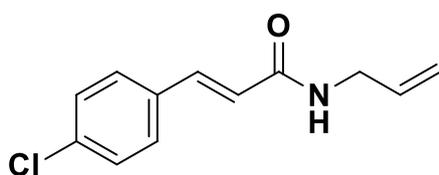


Sólido branco, 55% de rendimento (0,076 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm))**: 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,5 (d, *J*= 7,5 Hz, 2H); 7,4 (d, *J*= 5,9 Hz, 3H); 7,2 (q, *J*= 5,6 Hz, 2H); 7,0 (t, *J*= 8,6 Hz, 2H); 6,3 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,6 (s, 1H); 3,6 (q, *J*= 6,6 Hz, 2H); 2,8 (t, *J*= 6,9 Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,9 (C=O); 162,5 (C-F); 134,8 (C); 134,5 (C); 141,2 (CH); 130,2 (CH); 129,7 (CH); 128,8 (CH); 127,8 (CH); 120,5 (CH); 115,5 (CH); 115,4 (CH); 40,9 (CH₂); 34,9 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3326 (ν_s N-H); 2924 (ν_s C-H e ν_{as} C-H); 2854 (ν_s CH₂ e ν_{as} CH₂); 1657 (C=O); 1615-1503 (C=C de anel aromático); 1220 (ν_s C-O); 967 (dupla trans); 825 (Anel *p*-dissubstituído).

(E)-N-alil-3-(4-clorofenil)acrilamida (**AF18**)

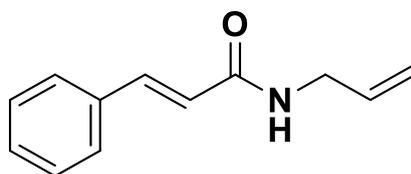


Sólido branco, 51% de rendimento (0,041 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, $J= 16,0$ Hz, 1H); 7,4 (d, $J= 8,4$ Hz, 2H); 7,3 (d, $J= 8,5$ Hz, 2H); 6,4 (d, $J= 16,0$ Hz, 1H); 5,9 (m, 1H); 5,7 (s, 1H); 5,2 (dd, $J= 1,2$ e $1,1$ Hz, 1H); 5,1 (dd, $J= 0,9$ e $0,9$ Hz, 1H); 4,0 (t, $J= 5,7$ Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,5 (C=O); 135,6 (C-Cl); 133,3 (C); 116,7 (CH₂); 139,9 (CH); 134,0 (CH); 129,1 (CH); 128,9 (CH); 121,0 (CH); 42,2 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3257 (ν_s N-H); 2924 (ν_s C-H e ν_{as} C-H); 2842 (ν_s CH₂ e ν_{as} CH₂); 1657 (C=O); 1615-1491 (C=C de anel aromático); 1084 (ν_s C-O); 972 (dupla trans); 813 (Anel *p*-dissubstituído).

N-alilcinamamida (**AF15**)

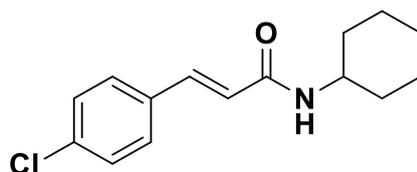


Sólido branco, 51% de rendimento (0,049 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, $J= 16,0$ Hz, 1H); 7,5 (d, $J= 6,2$ Hz, 2H); 7,3 (d, $J= 6,5$ Hz, 3H); 6,4 (d, $J= 16,0$ Hz, 1H); 5,9 (m, 1H); 5,7 (s, 1H); 5,2 (d, $J= 17,1$ Hz, 1H); 5,1 (d, $J= 10,2$ Hz, 1H); 4,0 (t, $J= 5,4$ Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,6 (C=O); 135,6 (C-Cl); 133,3 (C); 116,7 (CH₂); 139,9 (CH); 134,0 (CH); 129,1 (CH); 128,9 (CH); 121,0 (CH); 42,2 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3279 (ν_s N-H); 3060 (ν_s C-H e ν_{as} C-H); 2913 (ν_s CH₂ e ν_{as} CH₂); 1651 (C=O); 1444-1621 (C=C de anel aromático); 1214 (ν_s C-O); 972 (dupla trans); 690 (Anel monossustituído).

(E)-3-(4-clorofenil)-N-ciclohexilacrilamida (**AF19**)

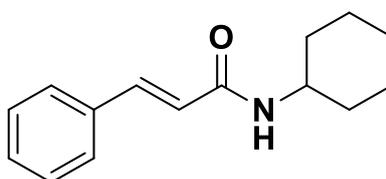


Sólido branco, 53% de rendimento (0,050g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, J = 16,0 Hz, 1H); 7,5 (d, J = 6,2 Hz, 2H); 7,3 (d, J = 6,5 Hz, 3H); 6,4 (d, J = 16,0 Hz, 1H); 5,9 (m, 1H); 5,7 (s, 1H); 5,2 (d, J = 17,1 Hz, 1H); 5,1 (d, J = 10,2 Hz, 1H); 4,0 (t, J = 5,4 Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,6 (C=O); 135,6 (C-Cl); 133,3 (C); 116,7 (CH₂); 139,9 (CH); 134,0 (CH); 129,1 (CH); 128,9 (CH); 121,0 (CH); 42,2 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3279 (ν_s N-H); 3060 (ν_s C-H e ν_{as} C-H); 2913 (ν_s CH₂ e ν_{as} CH₂); 1651 (C=O); 1444-1621 (C=C de anel aromático); 1214 (ν_s C-O); 972 (dupla trans); 690 (Anel monossustituído).

N-ciclohexilcinamamida (**AF16**)



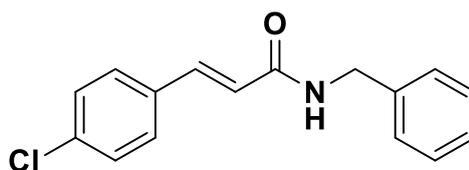
Sólido branco, 51% de rendimento (0,060 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, J = 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, J = 6,5 Hz, 2H); 7,3 (m, 2H); 6,3 (d, J = 16,0 Hz, 1H); 5,5 (s, 1H); 3,9 (m, 1H); 1,9 (d, J = 9,8 Hz, 2H); 1,7 (m, 2H); 1,6 (d, J = 13,1, 1H); 1,6 (d, J = 13,1, 1H); 1,4 (m, 2H); 1,2 (t, J = 5,6, 3H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 164,9 (C=O); 135,0 (C); 140,7 (CH); 129,5 (CH); 128,8 (CH); 127,7 (CH); 121,2 (CH); 127,9 (CH); 127,6 (CH); 48,2 (CH); 33,2 (CH₂);

25,6 (CH₂); 24,9 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3266 (*v_s* N-H); 2913 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2848 (*v_s* CH₂ e *v_{as}* CH₂); 1651 (C=O); 1545-1615 (C=C de anel aromático); 1220 (*v_s* C-O); 978 (dupla trans); 677 (Anel monossustituído).

(E)-N-benzil-3-(4-clorofenil)acrilamida (**AF20**)

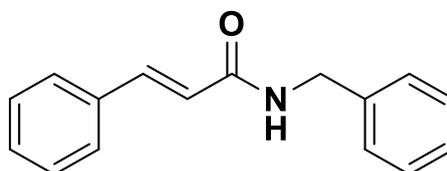


Sólido branco, 51% de rendimento (0,050 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H); 7,3 (m, 7H); 6,4 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,9 (s, 1H); 4,6 (d, *J*= 5,6 Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,4 (C=O); 138,1 (C-Cl); 135,6 (C); 133,1 (C); 140,1 (CH); 129,0 (CH); 128,9 (CH); 128,8 (CH); 127,9 (CH); 127,6 (CH); 43,9 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3290 (*v_s* N-H); 2919 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2842 (*v_s* CH₂ e *v_{as}* CH₂); 1657 (C=O); 1486-1615 (C=C de anel aromático); 1220 (*v_s* C-O); 967 (dupla trans); 695 (Anel monossustituído); 813 (anel *p*-substituído).

N-benzilcinamamida (**AF17**)



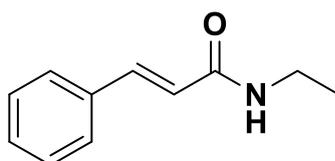
Sólido branco, 55% de rendimento (0,067 g). **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,7 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,5 (m, 2H); 7,4 (m, 8H); 6,4 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,9 (s, 1H); 4,6 (d, *J*= 5,6 Hz, 2H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,6 (C=O); 138,3 (C); 134,8 (C); 141,4 (CH); 129,7 (CH); 128,8 (CH); 128,8 (CH); 127,9 (CH); 127,8 (CH); 127,6 (CH); 120,4 (CH);

43,9 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3326 (*v_s* N-H); 2924 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2854 (*v_s* CH₂ e *v_{as}* CH₂); 1657 (C=O); 1550-1615 (C=C de anel aromático); 1220 (*v_s* C-O); 972 (dupla trans); 666 (Anel monossustituído); 825 (anel *p*-substituído).

Etilcinamamida (**AF10**)

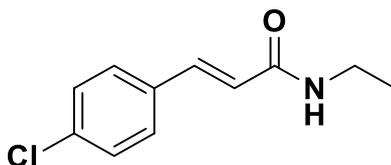


Sólido branco, 100% de rendimento (0,176 g). **RMN ¹H (400MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz); 7,5 (m, 2H); 7,4 (m, 3H); 6,3 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,7 (s, 1H); 3,4 (m, 2H); 1,2 (t, *J*= 7,1 Hz, 3H).

RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,8 (C=O); 134,9 (C); 140,8 (CH); 129,6 (CH); 120,7 (CH); 128,8 (CH); 127,7 (CH); 14,9 (CH₃); 34,6 (CH₂).

FT-IR (cm⁻¹): 3271 (*v_s* N-H); 2978 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2908 (*v_s* CH₂ e *v_{as}* CH₂); 2854 (C=O); 1220 (*v_s* C-O); 972 (dupla trans); 716 (Anel monossustituído).

(E)-3-(4-clorofenil)-N-etilacrilamida (**AF11**)



Sólido branco, 70% de rendimento. **RMN ¹H (600MHz, CDCl₃, δ (ppm)):** 7,6 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 7,4 (d, *J*=8,46 Hz, 2H); 7,3 (d, *J*= 8,4, 2H); 6,4 (d, *J*= 16,0 Hz, 1H); 5,7 (s, 1H); 3,4 (m, 2H); 1,2 (t, *J*= 7,2, 3H).

RMN ¹³C (150MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 165,4 (C=O); 135,4 (C-Cl); 133,4 (C); 129,1 (CH); 128,9 (CH); 121,3 (CH); 34,7 (CH₂); 14,9 (CH₃).

FT-IR (cm⁻¹): 3225 (*v_s* N-H); 3060 (*v_s* C-H e *v_{as}* C-H); 2871 (*v_s* CH₂ e *V_{as}* CH₂); 1645 (C=O); 1556 (dupla trans); 813 (anel *p*-substituído).

4.6 Avaliação da atividade larvicida

O teste biológico foi realizado no insetário do Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Materiais e Compostos Bioativos (LMC), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Os vetores foram mantidos à 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 Friskies® durante todo o seu desenvolvimento.

Os bioensaios foram realizados sob uma abordagem qualitativa em triplicata. As concentrações foram de 100 µg/mL, 50 µg/mL e 5 µg/mL, empregando-se larvas do quarto estágio (L4). Para tanto, as soluções estoque foram preparadas diluindo-se as amostras em 75 µL de Tween 80, seguida da adição de água destilada até completar um volume de 100 mL. Em paralelo, para compostos com baixa solubilidade, foram diluídos em 100 µL de Tween 80 e 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Posteriormente, alíquotas de 20 mL da solução teste foram transferidas para recipientes descartáveis de 50 mL, por último 20 larvas foram adicionadas.

Seguindo os parâmetros da OMS (2005), o grau de mortalidade foi computado em 24 e 48h, tendo como controle positivo e negativo, respectivamente, temefós® (5 µg/mL) e DMSO/Tween 80 (200µL; 100 µL), os quais foram mantidos nas condições do teste. Dessa forma, a atividade foi classificada da seguinte forma: mortalidade superior a 75% considerou-se o **composto ativo**; entre 50% e 75% **parcialmente ativo**; entre 25% e 50% **fracamente ativo** e inferior a 25% **inativo** (WHO, 2005; JUNIOR, 2015). Assim, o percentual de mortalidade foi calculado de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ de mortalidade larval} = \frac{\text{Número de larvas mortas}}{20} \times 100$$

Posteriormente, um ensaio considerando diferentes concentrações, foi conduzido para determinar a Concentração Letal que elimina 50% de uma população (CL₅₀). Onde foram realizados testes em diferentes concentrações (125, 100, 75, 50, 25 mg/L), computando-se a mortalidade das larvas após 48 horas.

4.7 Estudos *in silico*

4.7.1 Predição de alvos moleculares

Inicialmente, foi realizada uma análise denominada *Target Fishing*, a qual é designada para a identificação de alvos moleculares potenciais baseados na estrutura das moléculas por meio do servidor da web “*Similarity ensemble approach (SEA)*” (<https://sea.bkslab.org/>), o qual se baseia no princípio de similaridade química (KEISER *et al.*, 2007; SALVATORE *et al.*, 2021).

4.7.2 Homologia de proteína

Posteriormente, foi realizada a homologia molecular, validação dos alvos e posterior análise de *docking* molecular visando analisar e discutir os potenciais alvos biológicos. Em seguida, realizou-se a pesquisa das sequências de aminoácidos das enzimas hidrolase epóxida (Q8MMJ6), acetilcolinesterase (Q6A2E2), glutathione S-transferase (5FT3), arilalquilamina N-Acetiltransferase 7 (4FD7) 3-hidroxiquinurenina transaminase (6MFB) e quitinase (O17411) por meio do banco de dados Uniprot (<https://www.uniprot.org/>). Para a homologia molecular, essa foi realizada com a utilização de modelos adequados presentes no Protein Data Bank (PDB). As sequências FASTA (sequência de aminoácidos) foram submetidas ao modelo de construção do SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>). A validação das estruturas tridimensionais das homologias foi realizada a partir da ferramenta PDBsum por meio do gráfico de Ramachandran (FRANÇA *et al.*, 2021).

4.7.3 *Docking* molecular

Em seguida, foi realizado o *docking* molecular, em que, inicialmente as moléculas projetadas foram desenhadas no *Software* Chem3D, otimizadas utilizando o programa Spartan® e salvas no formato .mol2. Os estudos de *docking* molecular foram realizados no programa GOLD 3.0® em computador PC Windows 11. As proteínas foram previamente tratadas com a adição dos hidrogênios polares e a remoção de todas as moléculas de água (MATEEV *et al.*, 2022). Em seguida, foi realizada a seleção da região catalítica num raio de busca de 6 Å. E o processo de validação (Resolução e redocking molecular) para as proteínas co-cristalizadas foi

executado. Logo após, três funções de pontuação (ChemPLP, GOLDScore e ChemScore) foram efetuadas e sua seleção foi feita a partir do processo de redocking e do cálculo do *Root Mean Square Deviation* (RMSD), respectivamente (BELL; ZHANG *et al.*, 2019). A análise do sítio de ligação e das ligações químicas formadas entre proteínas e ligantes foi realizada usando o *software* Biovia Discovery Studio 2019 e o pymol versão 2.3.1 foi utilizado para criar as ilustrações.

4.7.4 Predição das propriedades físico-químicas

Por fim, as propriedades físico-químicas das moléculas planejadas foram determinadas no *website* SWISS ADME (<http://www.swissadme.ch/>). Onde as propriedades investigadas foram: massa molecular (MW); coeficiente de partição (CLogP); número de aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) e doadores (DLH); número de ligações rotativas (LRo); número de ligações aromáticas (LAr). Tais propriedades estão intimamente relacionadas à hidrofiliabilidade, à lipofiliabilidade, à solubilidade, à permeabilidade e à flexibilidade, bem como à fotoestabilidade (JIA *et al.*, 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

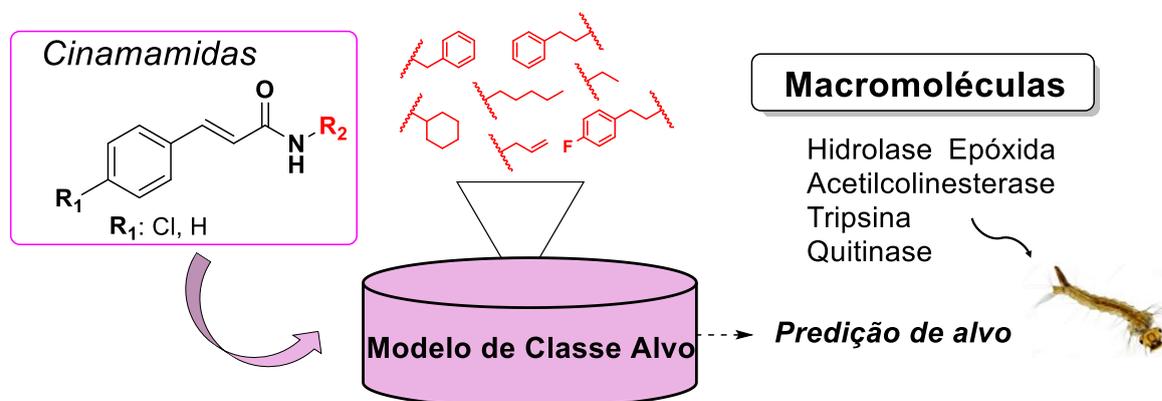
5.1 Planejamento racional de cinamamidas

Estudos larvicidas têm demonstrado que a presença de grupos eletroretiradores, com destaque aos átomos de halogênios, têm potencializado essa atividade biológica devido ao aumento da polaridade e da lipofilicidade molecular (HERNANDES *et al.*, 2010). As larvas dos vetores com destaque ao *Ae. aegypti* possuem barreiras estruturais hidrofóbicas, com isso as propriedades intensificadas pelos substituintes eletroretiradores exercem efeitos de suma relevância para aumentar a atividade inseticida (FUJIWARA *et al.*, 2017). No que se refere ao grupo funcional amida, estudos anteriores destacam a influência positiva de substituintes alifáticos na cadeia lateral resultando no aumento da atividade larvicida, o que possivelmente pode estar relacionado à flexibilidade proporcionada pela presença das ligações rotativas (OLIVEIRA *et al.* 2014; CANTRELL *et al.*, 2010). Diante disso, os derivados cinamamidas monossustituídos e dissustituídos avaliados neste trabalho (**Figura 14**) foram prospectados com a presença e ausência de grupos eletroretiradores na posição *para* do grupo cinamoila e com substituintes aromáticos e alifáticos na cadeia lateral da função amida a fim de avaliar os efeitos desses na atividade em questão.

A partir dos resultados *in silico Target Fishing*, o *pool* dos possíveis alvos moleculares da quimioteca de cinamamidas demonstrou a existência de 4 supostos alvos enzimáticos (Hidrolase éoxida - Q8MMJ6; Quitinase - O17411; Acetilcolinesterase (Q6A2E2) e Tripsina (P29787). Ademais, na literatura é amplamente discutido outros potenciais alvos biológicos do vetor *Ae. aegypti* no desenvolvimento racional de inseticidas, os quais também foram considerados neste trabalho, sendo eles: Glutathione S-transferase (5FT3), arilalquilamina N-Acetiltransferase (4FD7), 3-hidroxiquinurenina transaminase (6MFB) e proteína transportadora de esteróis (1PZ4) (ARAÚJO *et al.*, 2021) (**Tabela 2**). Sendo assim, essas 7 proteínas foram alvos desse estudo das quais a 4FD7, 5FT3, 1PZ4 e 6MFB possuem suas estruturas cristalográficas descritas no PDB, sendo essas utilizadas na avaliação *in silico* (**Tabela 3**). A Q8MMJ6, a O17411 e a Q6A2E2, por sua vez, não se encontram descritas nos bancos de dados, sendo utilizada as suas respectivas

homologias (Tabela 3).

Figura 14 - Previsão dos possíveis alvos biológicos a partir da estrutura química das cinamamidas.



Elaborado pela autora, 2023.

Tabela 2 - Função das proteínas selecionadas do inseto *Ae. aegypti*.

Macromolécula	Função	Expressa
Acetilcolinesterase	É uma serina protease, que cumpre a função fisiológica de hidrólise de neurotransmissores nas sinapses (LAVIALLE-DEFAIX <i>et al.</i> , 2011; ZHU <i>et al.</i> , 2013)	Fase larval e mosquito adulto (LAVIALLE-DEFAIX <i>et al.</i> , 2011; ZHU <i>et al.</i> , 2013).
Hidrolase Epóxida	Convertem uma variedade de epóxidos em seus dióis correspondentes (MORISSEAU; HAMMOCK, 2005); e estão envolvidas no metabolismo de hormônios juvenis (SEINO <i>et al.</i> , 2010).	São expressas de forma ubíqua no intestino, na região da cabeça e do tórax e no ovário de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> (BOROVSKY <i>et al.</i> , 2023).
Glutathione S-transferase	As GSTs são enzimas importantes encontradas em quase todos os organismos que estão envolvidos com o processo de desintoxicação metabólica de fase II (HELVECIO <i>et al.</i> , 2020). Essas enzimas catalisam a conjugação do grupo hidrofílico SH da glutathione reduzida (GSH) ao centro eletrofílico de	Fase larval e mosquito adulto (HEMINGWAY; RANSON, 2000).

	compostos lipofílicos (HEMINGWAY; RANSON, 2000).	
Arilalquilamina N-acetiltransferases	Arilalquilamina N-acetiltransferases (aaNATs) catalisam a transacetilação de acetil-CoA a arilalquilaminas (MEHERE <i>et al.</i> , 2011)	As aaNATs são abundantes na fase larval, pupal e mosquito adulto (MEHERE <i>et al.</i> , 2011).
3-hidroxiquinurenina transaminase	Atua, principalmente, na conversão do metabólito 3-hidroxi-quinurenina em ácido xanturênico, uma substância quimicamente estável e não tóxica (HAN; BEERNTSEN, 2007).	Fase larval, pupal e mosquito adulto (HAN; LI, 2002; RASGON; SCOTT, 2004).
Quitinase	Atua em conjunto com uma quitina sintase para modular a espessura e a permeabilidade da membrana peritrófica (MP) em mosquitos adultos (SHEN; JACOBS-LORENA, 1997); e para realizar a digestão intermuda da MP em larvas (BOLOGNESI <i>et al.</i> , 2005).	Fase larval, pupal e mosquito adulto (BOLOGNESI <i>et al.</i> , 2005).
Proteína de ligação a lípidios	A proteína transportadora de esteróis do mosquito da febre amarela é conhecida por se ligar ao colesterol (DYER <i>et al.</i> , 2003).	Fase larval, pupal e mosquito adulto (LAN; WESSELY, 2004).

Elaborado pela autora, 2023.

Posteriormente, as biomoléculas Q8MMJ6, a O17411 e a Q6A2E2 do vetor *Ae. aegypti* foram geradas por meio da homologia molecular, sendo construídas por comparação da similaridade de sequências de aminoácidos com as de proteínas homólogas de estruturas empiricamente determinadas (Q8MMJ6, a O17411 e a Q6A2E2). A identidade sequencial das enzimas moldes para a realização da homologia da Q8MMJ6 e O17411 foi acima de 40% (**Tabela 2**), sendo condizente com os critérios estabelecidos na literatura (>25%) (BRAY *et al.*, 2018). Para tanto a Q6A2E2 teve um maior percentual de identidade sequencial (>90%, **Tabela 2**), tendo sua validação já descrita por Franca *et al.* (2021).

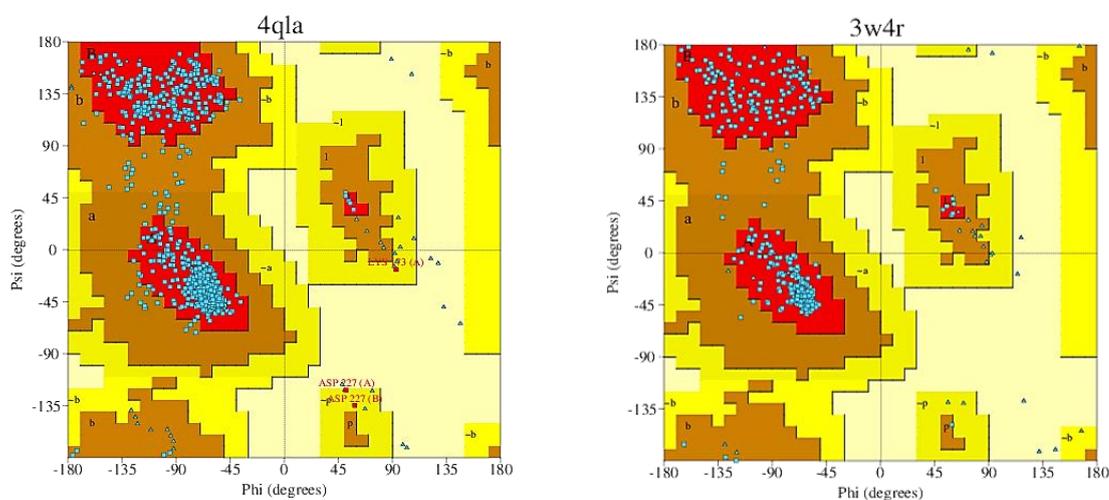
Tabela 3 – Identificação, identidade sequencial, código PDB e organismo dos alvos biológicos empregados neste estudo.

Enzima	Uniprot	Porcentagem de similaridade	PDB	Resolução (Å)	Organismo
Époxido hidrolase	Q8MMJ6	48,72%	4QLA	2,30	<i>Bombyx mori</i>
Acetilcolinesterase	Q6A2E2	92,41%	6ARY	2,26	<i>Anopheles gambiae</i>
Glutathiona S-transferase	Q5PY77	100,00%	5FT3	1,43	<i>Aedes aegypti</i>
arilalquilamina N-Acetiltransferase 7	Q16KU7	100,00%	4FD7	1,80	<i>Aedes aegypti</i>
3-hidroxiquinurenina transaminase	Q0IG34	99,74%	6MFB	2,50	<i>Aedes aegypti</i>
Quitinase	O17411	62,45%	3W4R	1,70	<i>Ostrinia furnacalis</i>
Proteína de ligação a lípidios	Q6ELZ8	100%	1PZ4	1,35	<i>Aedes aegypti</i>

Elaborado pela autora, 2023.

Em seguida, foi realizado o processo de validação da homologia para a Q8MMJ6 e a O17411 pelo gráfico Ramachandraw, para assim verificar os ângulos torcionais da cadeia principal (ϕ e Ψ), ângulos torcionais das cadeias laterais (*Chi*) e impedimentos estéricos (**Figura 15**). Desse modo, foi possível inferir que ambas as estruturas apresentaram mais de 90% dos resíduos em regiões permitidas, o que configura a acurácia dos modelos gerados para posterior etapa de realização de *docking* molecular.

Figura 15 - Validação das homologias (PDB: 4QLA e 3W4R) a partir do gráfico de Ramachandraw.



Fonte: PDBsum, 2023.

Para as proteínas co-cristalizadas os métodos de validações foram a resolução da macromolécula (**Tabela 2**), condizente aos resultados de biomoléculas com conformações adequadas para o estudo *in silico* ($< 3,0 \text{ \AA}$) (CHEUNG *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2014), e o processo de *Redocking* molecular (**Tabela 4**), a fim de verificar a acurácia do programa GOLD em reproduzir a conformação bioativa do ligante cristalográfico (ligante co-cristalizado). Assim, pôde-se notar que o *input* gerado pelo *software* conseguiu obter conformações semelhantes aos ligantes co-cristalizados, obtendo RMSDs abaixo de 1, estando dentro da margem preconizada pela literatura para essa validação ($\text{RMSD} < 2$) (BELL; ZHANG, 2019).

Tabela 4 - Resultados do cálculo do Redocking e RMSD para todas as enzimas, nas funções de pontuação GoldScore, ChemScore e ChemPLP.

Alvos	Pontuação	FitScore	RMSD
4QLA	Goldscore	41,84	1,377
	Chemscore	16,53	1,964
	Chemplp	51,2	1,803
4FD7	Goldscore	19,22	0,516
	Chemscore	11,11	0,145
	Chemplp	20,14	0,362
5FT3	Goldscore	65,84	1,424
	Chemscore	25,34	0,872
	Chemplp	74,18	1,030
AChE	Goldscore	42,72	1,624
	Chemscore	21,74	2,127
	Chemplp	57,38	1,501
6MFB	Goldscore	94,84	1,294
	Chemscore	37,01	0,891
	Chemplp	72,03	0,852
3W4R	Goldscore	39,06	0,313
	Chemscore	21,27	0,141
	Chemplp	46,15	0,325
1PZ4	Goldscore	39,29	0,766
	Chemscore	65,44	0,795
	Chemplp	89,29	1,069

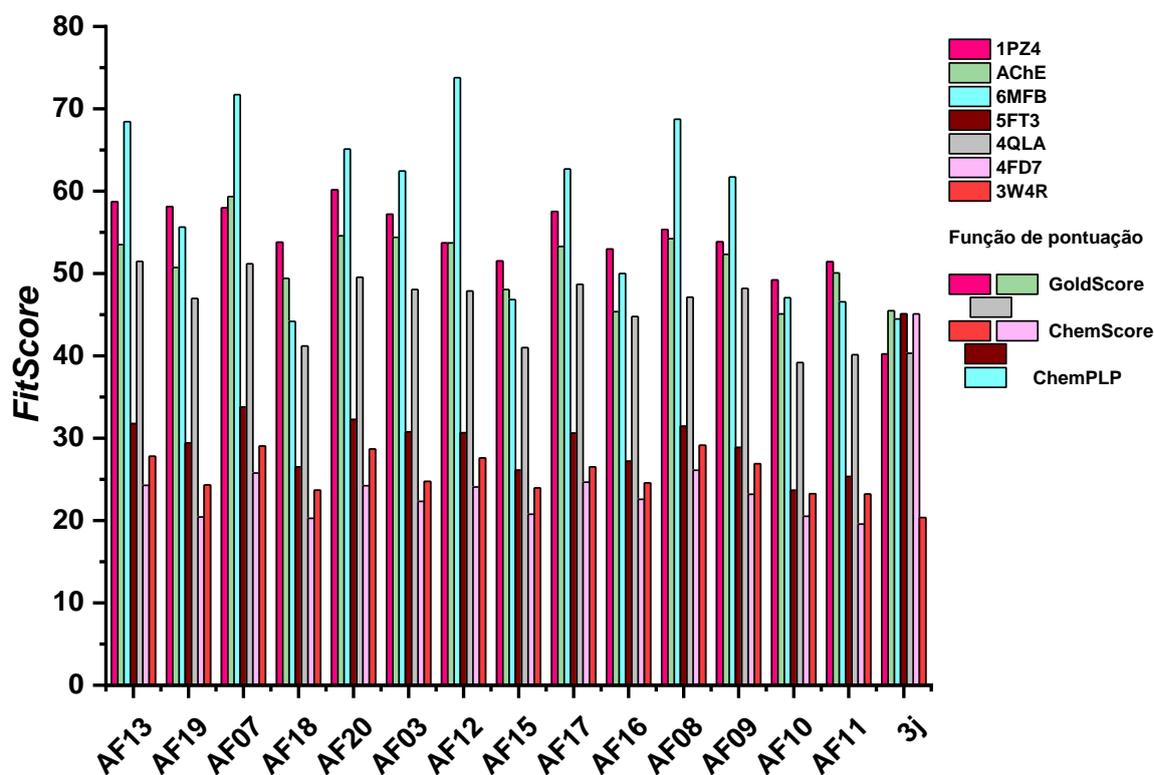
Elaborado pela autora, 2023.

A seleção da melhor função de pontuação para as macromoléculas 4FD7 (RMSD = 0,36 e Função de pontuação: Chemplp), 5FT3 (RMSD = 0,87, Função de pontuação: Chemscore), 6MFB (RMSD = 0,85, Função de pontuação: Chemplp) e 1PZ4 (RMSD = 0,76, Função de pontuação: GoldScore) (**Tabela 4**), ocorreu a partir do menor valor de RMSD para cada função de pontuação analisada. Ao passo que para as homologias a escolha das funções de pontuações ocorreu pelo maior *FitScore* (Energia de correlação) do complexo ligante/receptor (**Figura 16**). Em seguida, a triagem virtual das cinamamidas foi realizada para as sete macromoléculas, conforme a **Tabela 3**.

Os resultados de *FitScore* das cinamamidas complexadas às macromoléculas demonstraram uma maior eficiência ou semelhança ao *p*-clorocinamato de etila (**3j**) (Composto de referência, **Figura 16**; *FitScore* (O17411) = 20,36; *FitScore* (Q8MMJ6)

= 40,32; *FitScore* (Q6A2E2) = 45,82 e *FitScore* (6MFB) = 44,47) em interagir com as macromoléculas. A análise dos complexos cinamamidas-macromoléculas mostrou uma faixa de energia de correlação maior para as proteínas O17411 (*FitScore* = 24,14 – 27,45), Q8MMJ6 (*FitScore* = 41,82 – 50,75), Q6A2E2 (*FitScore* = 48,13 – 59,65); 4FD7 (*FitScore* = 17,77), 6MFB (*FitScore* = 52,70 – 65,22) e 1PZ4 (*FitScore* = 53,84 – 56,80) respectivamente. Em paralelo, para a macromolécula 5FT3 (*FitScore* = 27,04 – 32,89) essa classe de moléculas não teve um efeito tão pronunciado como o *p*-clorocinamato de etila (**3j**) (*FitScore* = 45,08). Com isso, pode-se inferir que essa série cinâmica pode vir a se tornar uma boa candidata como larvicida frente ao vetor *Ae. aegypti*.

Figura 16 – Resultado do cálculo de docking para as cinamamidas planejadas, nas funções de pontuação GoldScore, ChemScore e ChemPLP.



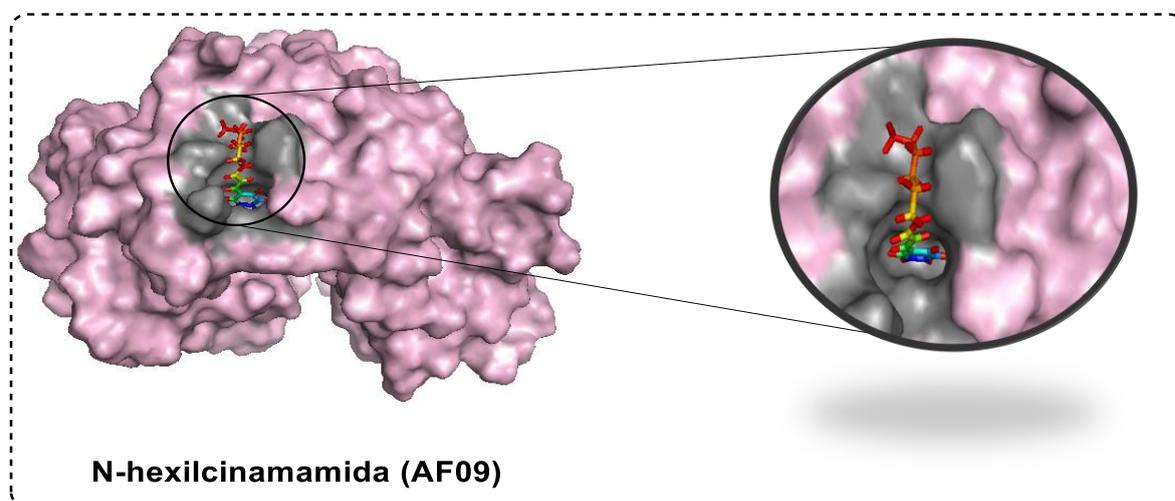
Elaborada pela autora, 2023.

Além disso, foi possível observar que os ligantes **AF07** (*FitScore*= 29,06), **AF09** (*FitScore*= 26,90) e **AF18** (*FitScore*= 23,45) apresentaram os maiores valores de energia de ligação, respectivamente frente ao alvo O17411 (Quitinase). Para as demais cinamamidas a média do *FitScore* ficou 25 ± 2 nesse alvo. Ao passo que apontam a Quitinase como um alvo promissor para as cinamamidas aqui prospectadas.

Ademais, verificou-se que o ligante N-alil-3-(4-clorofenil)acrilamida (**AF18**) e N-hexilcinamamida (**AF09**) destacaram-se frente a dois alvos biológicos, a 6MFB e a AChE, com *FitScores* de energias 71,73, 59,34, 52,32 e 61,73, respectivamente (**Figura 16**), demonstrando-se superior a substância padrão, o que pode estar associado à presença da função amida e do substituinte fenila na cadeia lateral do esqueleto cinâmico. No que se refere às interações entre as cinamamidas projetadas com resíduos de aminoácidos dos alvos biológicos avaliados, pôde-se notar uma prevalência de interações do tipo: Van der Waals, ligações de halogênio, interações π - π Stack, ligações de hidrogênio, entre outras (**Figura 18**).

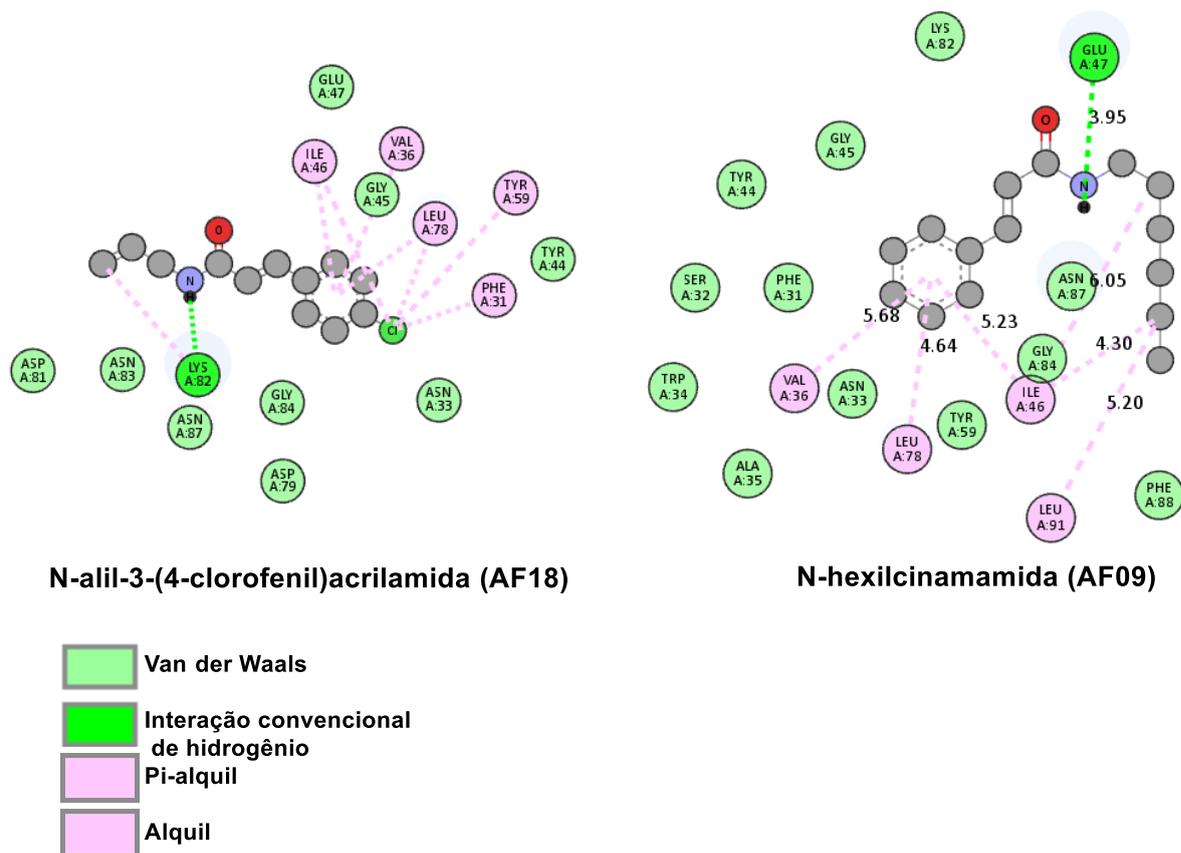
No que se refere às interações entre as cinamamidas e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da Quitinase, as interações mais prevalentes foram do tipo: Van der Waals, interações π - π Stack, ligações de hidrogênio e amida π -Stack (**Figura 18**). Adicionalmente, como demonstrado no *cluster* da **Figura 17** para a molécula **AF09**, todos os compostos tenderam a interagir principalmente com os resíduos de aminoácidos da cavidade do sítio catalítico de cada proteína.

Figura 17 – Cluster do composto **AF09** complexado na enzima Quitinase (3W4R).



Elaborado pela autora, 2023.

Figura 18 - Interações dos compostos **AF09** e **AF18** com os resíduos do sítio ativo da Quitinase.



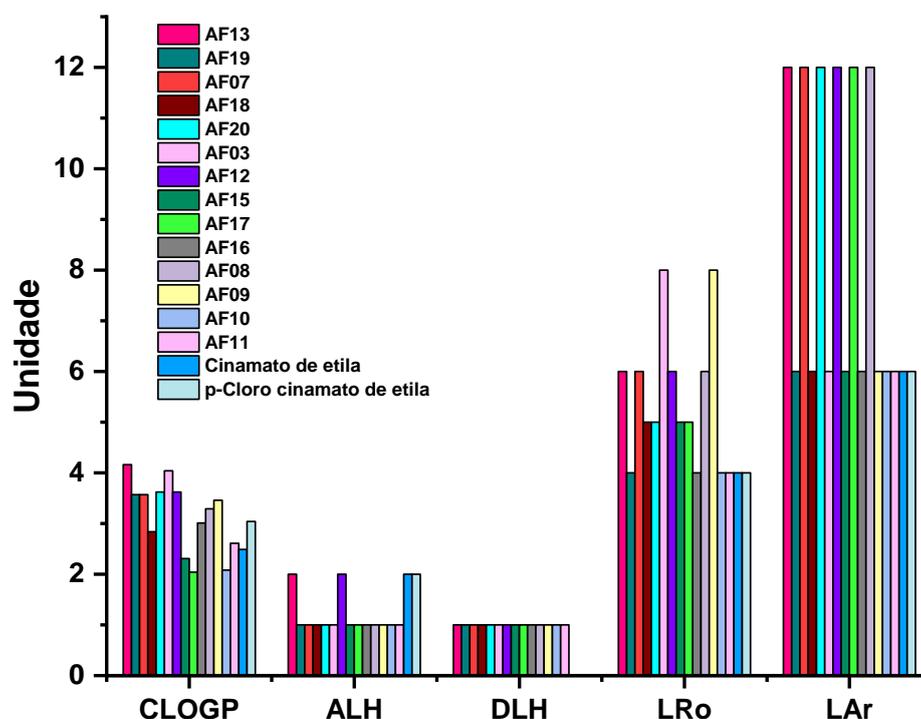
Elaborado pela autora, 2023.

Em consonância aos resultados de docking molecular, as propriedades físico-químicas dos compostos avaliados (**Figura 19**) estão dentro das normas que preveem o desenvolvimento bio-racional de um inseticida seletivo e ambientalmente seguro (HAO *et al.*, 2011), em que para todos os compostos foi possível obter MM < 435 Da, ClogP < 6, ALH < 6, DLH ≤ 2, LRo < 9 e LAr < 17. Dentre esses parâmetros, destacam-se principalmente a LRo e CLogP, as quais relacionam à flexibilidade e à permeabilidade na cutícula lipofílica do inseto, respectivamente, nas quais, as cinamamidas em questão apresentaram semelhantes aos derivados do ácido cinâmico contendo o grupo hidrazida (NARESH *et al.*, 2022).

Com isso, os resultados obtidos por meio dos métodos computacionais sugerem bons candidatos à inseticida, assim as moléculas aqui planejadas foram sintetizadas e analisadas experimentalmente para explorar a atividade larvicida dessa

quimioteca, uma vez que é inédito.

Figura 19 - Propriedades físico-químicas das moléculas em estudo.

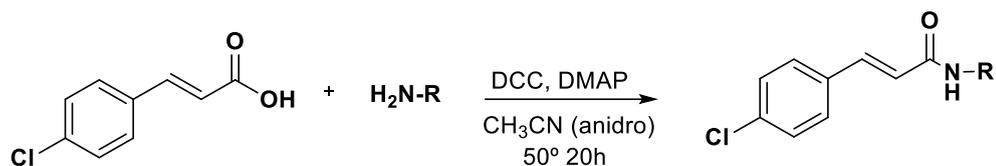


Elaborado pela autora, 2023.

5.2 Síntese de amidas derivadas do ácido cinâmico

A estratégia sintética utilizada para a obtenção das 12 cinamamidas, **Esquema 3**, foi obtido um rendimento entre 47-70% (**Tabela 5**). Estes resultados estão em conformidade com os resultados descritos na literatura (GHOSH; SHAHABI, 2021). A metodologia consiste na adição de DMAP que acelera o processo de amidação de ácidos carboxílicos, ativados por DCC, reduzindo assim ocorrência de reações secundárias (GHOSH; SHAHABI, 2021).

Esquema 3 - Metodologia para a formação das cinamamidas.



Elaborado pela autora, 2023.

Tabela 5 – Rendimento dos compostos sintetizados

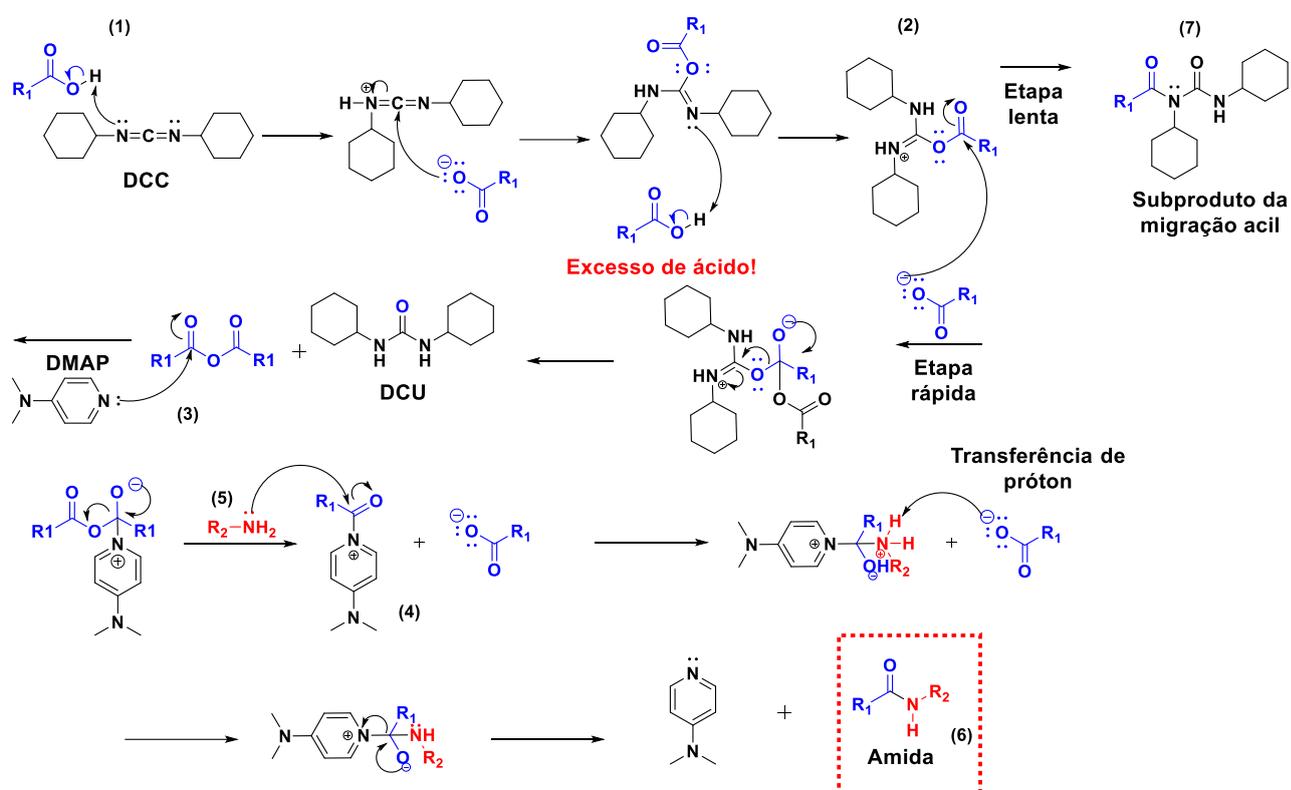
			Rendimento (%)
	R ₁	R	
AF09	H		72%
AF03	Cl		54%
AF08	H		64%
AF07	Cl		47%
AF12	H		55%
AF13	Cl		55%
AF15	H		51%
AF18	Cl		54%
AF16	H		54%
AF19	Cl		53%
AF17	H		55%
AF20	Cl		51%
AF10	H		95%
AF11	Cl		70%

Elaborado pela autora, 2023.

No que se refere ao mecanismo de síntese para a formação de cinamamidas via acoplamento de Steglich, na primeira etapa da reação o DCC atua na condensação do ácido carboxílico (**1**) para formar o *O*-Aciluréia (**2**), esse reage com o excesso de ácido levando à formação do anidrido (**3**) e do (DCU), esse por sua vez não é solúvel em acetonitrila podendo ser facilmente separado por filtração. Posteriormente, ocorre

o ataque nucleofílico da DMAP no anidrido formando o sal acilpiridina **(4)** o qual reage com a amina **(5)** levando à formação da amida **(6)** liberando DMAP e o ácido, os quais são regenerados para formar mais anidrido **(Esquema 4)**. Vale ressaltar a importância de se utilizar uma quantidade em excesso de ácido carboxílico, juntamente com uma quantidade de equivalência da DMAP. Cujo objetivo é evitar o rearranjo intramolecular do *O*-aciluréia à *N*-aciluréia **(7)** não reativa, comprometendo o rendimento do produto (MONTALBETTI; FALQUE, 2005).

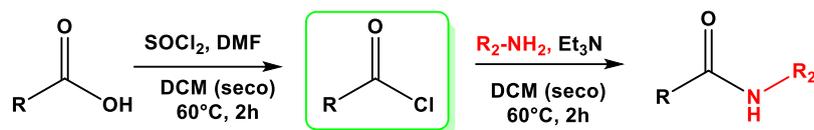
Esquema 4 - Mecanismo proposto para a síntese das cinamamidas.



Elaborado pela autora, 2023.

Ainda, outras duas cinamamidas foram sintetizadas usando como amina de partida a etilamina. Por se tratar de uma amina muito volátil, com um ponto de ebulição de $\sim 16^\circ\text{C}$, optou-se por realizar a formação da amida mediante conversão do ácido carboxílico em um intermediário mais reativo (cloreto ácido). Dessa forma, foi utilizado o SOCl_2 para formação do cloreto ácido e DMF como catalisador, na primeira etapa **(Esquema 5)**. Por fim, o cloreto de ácido reage imediatamente com a etilamina formando a amida correspondente.

Esquema 5 - Esquema reacional para a síntese de etilcinamamida.



Fonte: Adaptado de Leggio *et al.* (2018)

5.2 Caracterização

Todas as amidas sintetizadas foram devidamente caracterizadas por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Carbono (RMN ^{13}C) por meio da técnica DEPT-Q e por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Tendo em vista a similaridade química relativa entre as cinamamidas será levado em consideração a caracterização do composto (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**). Os dados referentes ao composto **AF03** estão expressos na **Tabela 6** e o espectro de de RMN ^1H na **Figura 20**.

Tabela 6 – Dados do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**)

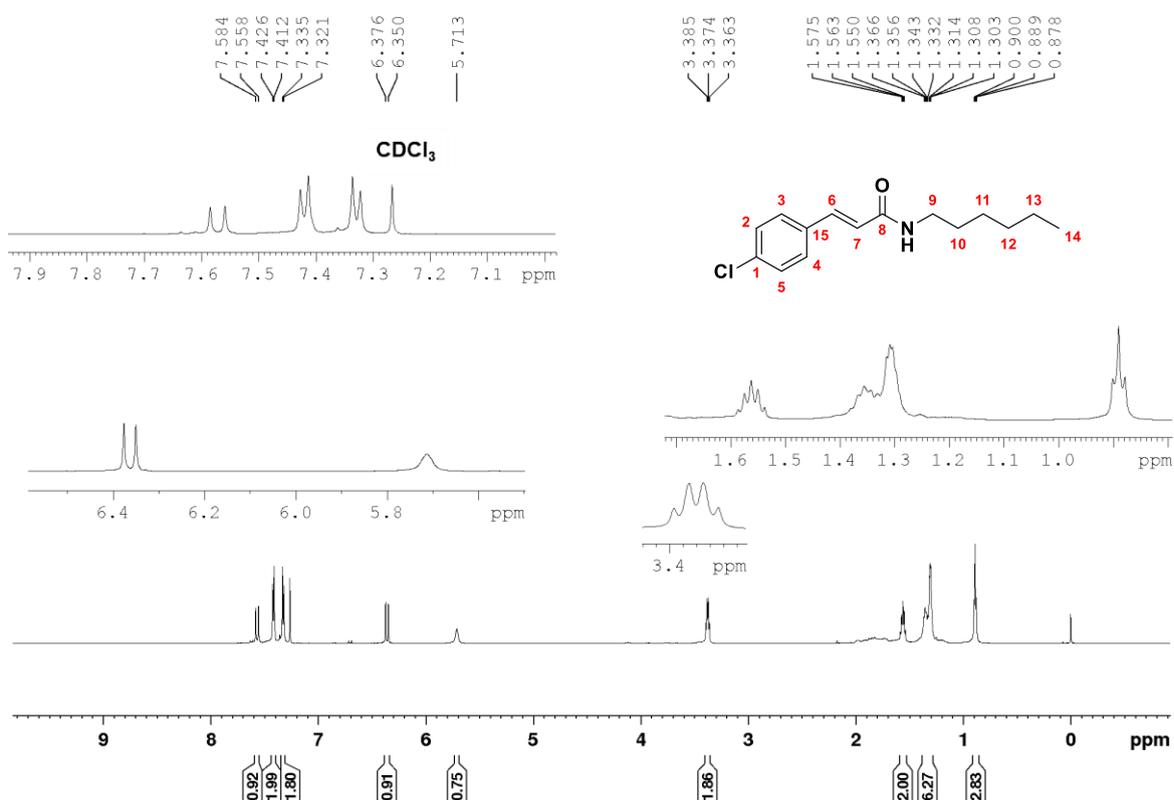
Atribuição do sinal	δ (ppm)	Constante de acoplamento J (Hz)	Multiplicidade	Integração do sinal
6	7,5	16	Dubleto	1H
7	6,3	16	Dubleto	1H
2,5	7,4	8,4	Dubleto	2H
4,3	7,3	8,4	Dubleto	2H
9	3,3	12,82	Quarteto	2H
10	1,6	14,53	Quinteto	2H
11,12,13	1,3	37,38	Multiplete	6H
14	0,8	13,36	Triplete	3H
15	5,7	-	Simpleto	1H

Elaborado pela autora, 2023.

Conforme o espectro da **figura 20**, observa-se a presença de dois dupletos em 7,4 e 7,5 ppm (H_2 , H_3 , H_4 e H_5) que correspondem ao anel aromático *para*-substituído; o quarteto em 3,3 ppm (H_9), o quinteto em 1,6 ppm (H_{10}), o multiplete em 1,3 ppm (H_{11} , H_{12} e H_{13}) e o tripleto em 0,8 ppm (H_{14}) são referentes aos hidrogênios da cadeia lateral da cinamamida. Ademais, o sinal atribuído ao hidrogênio da função amida está

com um deslocamento químico em 5,8 ppm onde é observado um simpleto, o qual não é comum na maioria dos casos observados devido ao momento quadrupolo do átomo de nitrogênio ou o desacoplamento da interação que ocorre devido à troca química. Por fim, observa-se que os dupletos em 7,5 ppm e 6,3 ppm (H₂ e H₃), com constante de acoplamento de $J = 16$ Hz, característicos de ligações duplas *trans* (PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 20 – Espectro de RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) do composto (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**)



Elaborado pela autora, 2023.

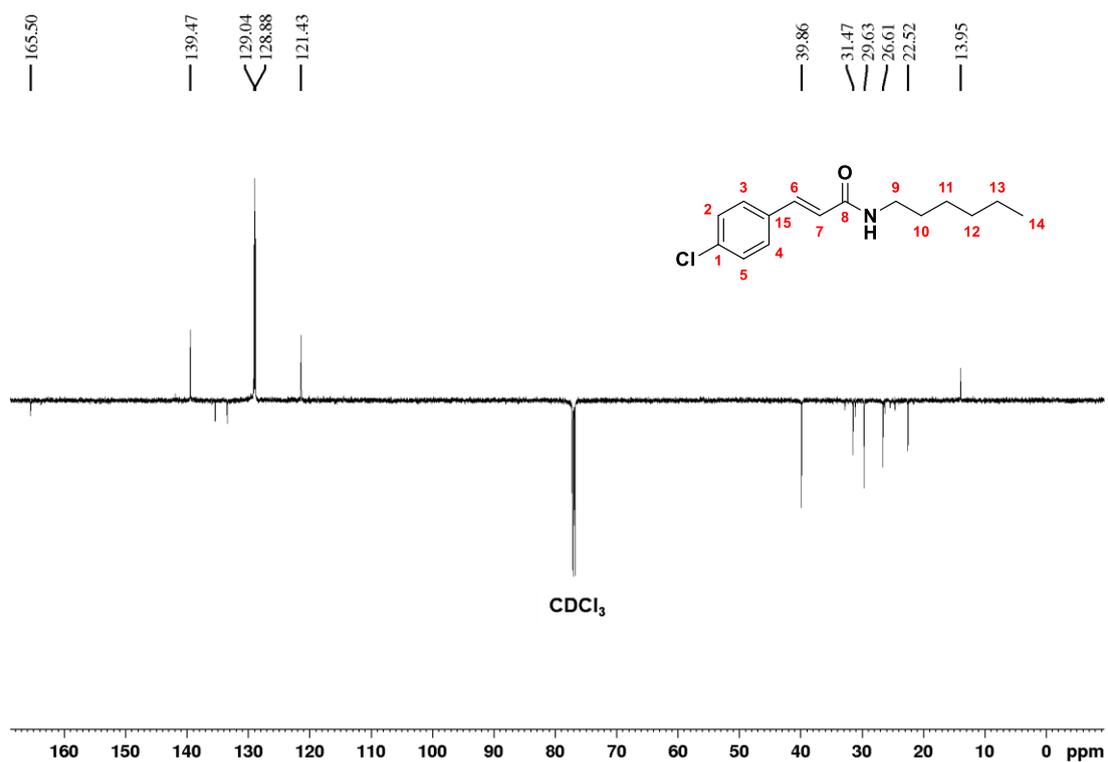
Na caracterização dos átomos de carbono pela técnica DEPT-Q (**Figura 21**) os carbonos em fase positiva, ou seja, voltados para cima correspondem aos carbonos CH e CH₃. Os deslocamentos químicos de 139,4 ppm e 121,3 ppm correspondem aos carbonos olefínicos, os de 129,3 ppm, 128,8 ppm aos carbonos CH do anel aromático, e o sinal em 13,6 ppm ao grupo CH₃ da cadeia lateral da amida (**Tabela 7**). Já os sinais de fase negativa (voltado para baixo) são atribuídos aos carbonos CH₂, com deslocamentos químicos de 39,9, 31,4, 29,6 e 22,6 ppm, e os carbonos não hidrogenados (C), com deslocamento de 133,6, 135,6 e 165,7 ppm.

Tabela 7 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C com a técnica DEPTQ da molécula (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**)

	Atribuição do sinal	δ (ppm)
C8	C=O	165,7
C1	C-Cl	135,6
C15	C	133,6
C5	CH	139,4
C2	CH	129,3
C3	CH	128,8
C4	CH	121,3
C9	CH ₂	39,9
C10	CH ₂	31,4
C11	CH ₂	29,6
C12	CH ₂	26,6
C13	CH ₂	22,5
C14	CH ₃	13,6

Elaborado pela autora, 2023.

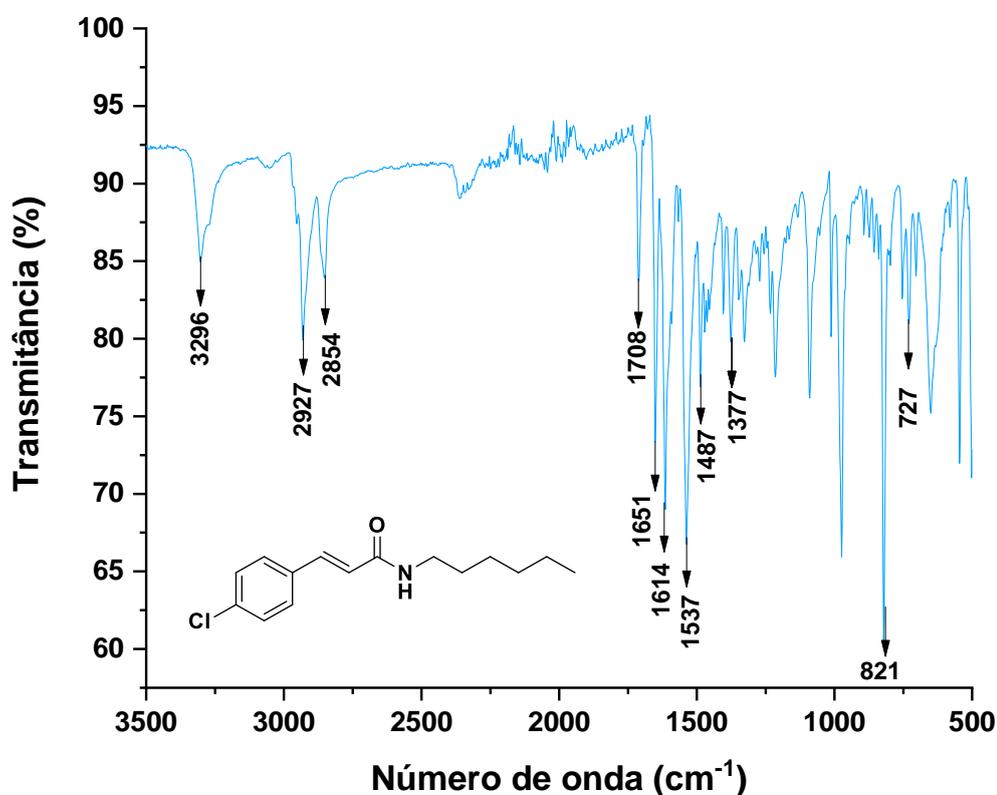
Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto (E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**)



Elaborado pela autora, 2023.

Por fim, empregando a caracterização por espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidas as bandas de absorção características para o composto 4-(clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**), conforme exposto na **Figura 22**.

Figura 22 – Espectro de Infravermelho do o composto 4-(clorofenil)-N hexilacrilamida (AF03)



Elaborado pela autora, 2023.

Analisando o espectro da **Figura 22** é observado uma banda de absorção de pouca intensidade em 1708 cm⁻¹ correspondente à carbonila de amida α,β -insaturada, uma banda em 3296 cm⁻¹ característica de amida secundária, entre 1537 a 1614 cm⁻¹ estão localizados as bandas de estiramento de C sp² de anel aromático, as bandas em 1651 e 727 cm⁻¹ correspondem a dupla *trans* e banda de cadeia longa referente aos carbonos sp³ da cadeia lateral da amida, respectivamente. E por último uma única banda de absorção em 821 cm⁻¹ de anel aromático *para*-substituído (**Tabela 8**).

Tabela 8 - Bandas de absorção do espectro de Infravermelho do 4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (**AF03**).

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuição
3296	ν_s N-H
2927	ν_s C-H e ν_{as} C-H
2854	ν_s CH ₂ /CH ₃ e ν_{as} CH ₂ /CH ₃
1537-1614	C=C de aromático
1320-1279	ν_s C-O
1708	ν_s N-H
1651	Dupla trans
1487	CH ₂
1377	CH ₃
727	Banda de cadeia longa
821	Anel <i>p</i> -dissubstituído

Elaborado pela autora, 2023.

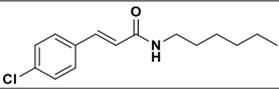
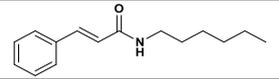
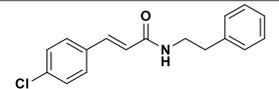
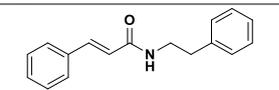
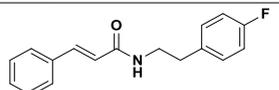
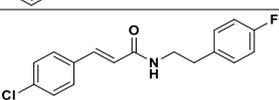
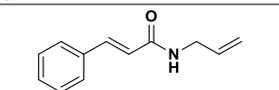
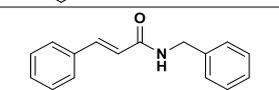
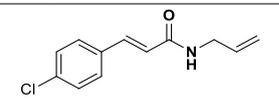
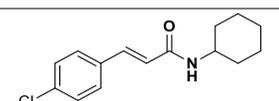
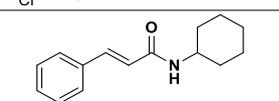
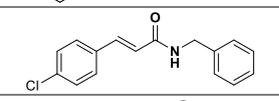
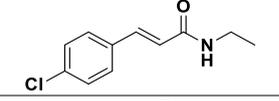
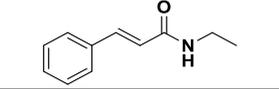
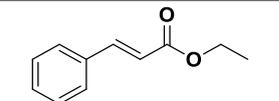
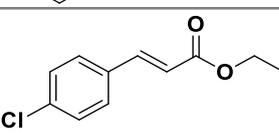
5.3 Atividade das cinamamidas frente às larvas do quarto instar do *Aedes aegypti*

Nos últimos anos, as substâncias contendo a porção cinamoíla atraíram muita atenção devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas e baixa toxicidade. Além disso, os derivados do ácido cinâmico, tanto isolados de fontes naturais quanto sintetizados, são bem conhecidos por suas propriedades antioxidantes (CHUNG; SHIN, 2007), antitumorais (BEZERRA *et al.*, 2006), antimicrobianas (NAZ *et al.*, 2006), atividade larvicida frente às larvas do *Ae. aegypti* (FRANÇA *et al.*, 2021; CORREIA *et al.*, 2022), entre outras. Contudo, ainda não há descrito na literatura a atividade larvicida das amidas cinâmicas frente ao vetor *Ae. aegypti*, investigação essa que é o foco desta pesquisa.

De acordo com os resultados referentes ao ensaio larvicida preliminar (**Tabela 9**), dentre os compostos avaliados, dois apresentaram ação larvicida promissora (**AF18** e **AF09**), conforme a classificação da OMS, sendo a cinamamida **AF18** (átomo de cloro na posição *para* da porção cinamoíla) a mais ativa da série testada. A qual não apresentou diferença estatística significativa em relação ao controle positivo (temefós®) em um intervalo de confiança de 95%. Ainda, o composto **AF09** (monossustituído), que possui uma porção alifática na cadeia lateral ao grupo amida, mostrou-se promissor no *screening* larvicida preliminar. Estruturalmente esses dois compostos têm em comum uma cadeia alquílica e, até então, sugere-se que o aumento dessa cadeia entre 3 a 6 átomos de carbonos na parte lateral das moléculas

cause um efeito positivo na atividade larvívica. Segundo Oliveira *et al.* (2014), o qual investigou a atividade larvívica de derivados de triptamina amida frente ao mesmo vetor aqui em estudo, seus resultados demonstraram que o aumento do número de carbonos alifáticos na cadeia lateral à amida resulta em aumento da potência larvívica, e que tal fato pode estar relacionado à hidrofobicidade (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Ademais, verificou-se outras duas cinamamidas que se destacaram como parcialmente ativos: **AF17** e **AF08**, ambos compostos monossustituídos.

Tabela 9 – Screening da atividade larvicida das amidas cinâmicas frente ao *Ae. aegypti*

Estrutura	Código	Mortalidade (% ± SD)						Classificação preliminar
		24h			48h			
		5 ppm	50 ppm	100 ppm	5 ppm	50 ppm	100 ppm	
	AF03	0,00 ± 0,00	10,0 0 ± 0,00	25,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	Inativo
	AF09	0,00 ± 0,00	45,0 0 ± 0,00	75,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	50,00 ± 0,00	75,00 ± 0,00	Ativo
	AF07	0,00 ± 0,00	15,0 0 ± 0,58	20,0 0 ± 1,15	0,00 ± 0,00	15,00 ± 0,58	25,00 ± 0,94	Inativo
	AF08	0,00 ± 0,00	11,0 0 ± 1,00	34,0 0 ± 1,53	0,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	50,00 ± 0,47	Parcialmente ativo
	AF12	0,00 ± 0,00	5,00 ± 5	15,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	Inativo
	AF13	0,00 ± 0,00	5,00 ± 0,88	10,0 0 ± 0,58	0,00 ± 0,00	10,00 ± 0,47	15,00 ± 0,47	Inativo
	AF15	0,00 ± 0,00	10,0 0 ± 0,58	15,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	35,00 ± 0,00	Fracamente ativo
	AF17	0,00 ± 0,00	15,0 0 ± 0,00	35,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	20,00 ± 0,47	50,00 ± 2,36	Parcialmente ativo
	AF18	0,00 0,00 ± 0,00	35,0 0 ± 0,00	90,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	50,00 ± 0,47	100,00* ± 0,00	Ativo
	AF19	0,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	10,0 0 ± 1,41	0,00 ± 0,00	15,00 ± 0,00	25,00 ± 0,94	Inativo
	AF16	0,00 ± 0,00	10,0 0 ± 0,00	20,0 0 ± 0,41	0,00 ± 0,00	15,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	Inativo
	AF20	0,00 ± 0,00	10,0 0 ± 0,00	15,0 0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	15,00 ± 0,47	20,00 ± 0,00	Inativo
	AF11	0,00 ± 0,00	10,0 0 ± 0,00	15,0 0 ± 0,58	0,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	15,00 ± 0,58	Inativo
	AF10	0,00 ± 0,00	5,00 ± 0,58	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	10,00 ± 2,36	20,00 ± 0,00	Inativo
	3a	95,0 0 ± 0,00				95,00 ± 0,00		Ativo** França et al. (2021)
	3j	100 ± 0,00				100 ± 0,00		Ativa** França et al. (2021)

*Não apresentam diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% (ANOVA ONE-WAY) em relação ao controle positivo temefós (TMF) ®

**Resultados obtidos na concentração de 45 ppm

Elaborado pela autora, 2023.

Ao comparar esses resultados experimentais (**Tabela 9**) com as propriedades físico-químicas, foi observada uma correlação entre a atividade larvicida e o número de ligações rotativas (L_{Ro}) (entre 5 e 8) e CLogP (entre 2,30 e 3,80), as quais estão relacionadas à flexibilidade da molécula à permeabilidade na cutícula lipofílica do inseto. Em paralelo, as ligações aromáticas (L_{Ar}), apesar de contribuírem para a fotoestabilidade dos compostos inseticidas, verificou-se que para o caso específico das cinamamidas em estudo o aumento dessa propriedade possivelmente provoca uma diminuição no efeito biológico.

Adicionalmente, ao realizar uma comparação entre os pares de cinamamidas, ou seja, aquelas que possuem a mesma cadeia lateral e o que as diferenciam é a presença do átomo de cloro na posição *para*. Por exemplo, o composto **AF09** (75,00%, 100µg/mL) e **AF03** (25,00%, 100 µg/mL), verifica-se uma redução de mais de 50% na ação larvicida, esse último possui um átomo eletroretirador que já é descrito na literatura pelo seu efeito de aumentar a lipofilicidade, isto é, o LogP, a única propriedade que está divergindo entre elas. E essa, por sua vez, apesar de estar dentro dos padrões preconizados na literatura, não teve um efeito benéfico para as cinamamidas aqui avaliadas.

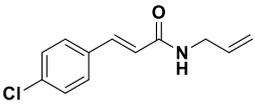
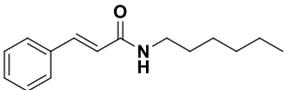
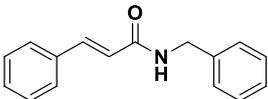
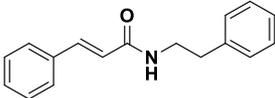
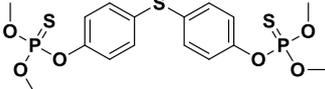
O mesmo ocorre entre os demais pares, **AF17** (50,00%) e **AF20** (20,0%); **AF12** (15,00%) e **AF13** (10,00%); **AF08** (50,00%) e **AF07** (25,00%); **AF18** (100,00%) e **AF15** (35,00%), esse último caso, em especial, o composto com o cloro em *para* resultou no aumento da atividade larvicida, o que causou uma maior lipofilicidade, nesse caso (**AF15** e **AF18**), supõe-se que a presença de um átomo halogênio provocou um aumento na lipofilicidade que corroborou no aumento da ação larvicida do composto **AF18**. Por outro lado, ao comparar o percentual de mortalidade das cinamamidas **AF07** (70,00%) e **AF13** (11,66%), compostos similares diferenciados apenas pelo átomo de flúor substituído em *para* na cadeia lateral da molécula **AF13**, observa-se um aumento significativo na lipofilicidade (**AF13** LogP= 4,16; **AF07** LogP= 3,80) e levou a uma diminuição da porcentagem de mortalidade larval.

Além disso, com intuito de verificar a ação larvicida entre duas classes (ésteres cinâmicos e cinamamidas), realizou-se uma comparação entre as amidas etilcilcinamamida (**AF10**) e *p*-cloro etilcinamamida (**AF11**), e os ésteres cinamato de etila (**3a**) e *p*-cloro cinamato de etila (**3j**) (**tabela 9**). Esses compostos apresentam similaridade estrutural, sendo denominados de bioisómeros e, conseqüentemente, possuem semelhanças em termos de propriedades físico-químicas. Apesar disso, os compostos **AF10** e **AF11** não mostraram-se promissores quanto à atividade larvicida, diferentemente de seus ésteres precursores (**3a** e **3j**). Uma das hipóteses a esse respeito é em relação às interações no alvo biológico, de modo que os ésteres são substâncias mais reativas e, portanto, favoráveis a hidrólise, diferente das amidas que são espécies muito mais estáveis e menos suscetíveis à hidrólise (MONTALBETTI; FALQUE, 2005).

No mais, por se tratar de grupos funcionais distintos há possibilidade do mecanismo de ação ser diferente, uma vez que se trata de grupos farmacofóricos distintos. Assim, para solucionar as indagações acerca do mecanismo de ação, faz-se necessário uma análise enzimática para determinar o modo de ação desses compostos.

Posteriormente, para as moléculas classificadas como ativas e parcialmente ativas realizaram-se testes quantitativos para a obtenção da Concentração Letal para 50% e 90% de uma população (**CL₅₀** e **CL₉₀**), conforme apresentado na **tabela 10**. Ainda, para fins comparativos calculou-se a **CL₅₀** do inseticida temefós®. Mediante análise quantitativa observou-se um aumento no valor de **CL₅₀** para o temefós® quando comparado com o valor reportado na literatura (**CL₅₀** de 3,0 µg/mL), tal fato pode estar relacionado à metabolização acelerada deste larvicida pelas larvas *Aedes* (GALEN *et. al.*, 2019). No que se refere às cinamamidas, o temefós® apresenta um maior efeito larvicida quando comparado com os compostos promissores neste estudo, entre os quais **AF18** (com *p*-cloro) sendo o mais ativo dos compostos avaliados, apresentando o menor valor de **CL₅₀** (**tabela 10**). Seguida da cinamamida **AF09**, monossustituída, **AF17** e **AF08**, que possuem substituintes aromáticos.

Tabela 10 - Avaliação quantitativa da atividade larvicida das cinamamidas frente às larvas do *Ae. aegypti* no 4º estágio, após 48 h.

Composto	Concentração (µg/mL) (95% IC)			
	CL ₁₀	CL ₅₀	CL ₉₀	χ ²
 AF18	19,7 (14,3-24,3)	41,6 (35,8-46,9)	88,0 (76,7-106,1)	15,5
 AF09	17,3 (9,9-24,0)	55,9 (46,7-65,2)	179,9 (138,4-280,0)	9,3
 AF17	26,9 (14,7-36,6)	105,2 (87,0-141,3)	410,7 (254,3-598,7)	0,97
 AF08	42,3 (30,4-51,2)	105,8 (92,5-127,9)	264,9 (196,3-457,2)	3,4
 Temefós	1,8 (1,3-2,3)	4,4 (3,8-4,9)	10,4 (8,3 - 13,6)	27,1

IC - 95% Intervalo de Confiança; CL – Concentração Letal; χ² (Chi) – Grau de validação; * Controle positivo

Elaborado pela autora, 2023.

De acordo com os resultados experimentais, verificou-se que as amidas cinâmicas não foram tão ativas quanto o temefós, fato comprovado experimentalmente e validado estatisticamente. Entretanto, sugere-se que tais compostos possam apresentar uma baixa toxicidade para o meio aquático. A esse respeito, de acordo com as informações obtidas por Galvis e Kouznetsov (2018), os quais avaliaram a toxicidade de algumas cinamamidas frente a embriões do peixe zebrafish. Dentre os compostos destaca-se a cinamamida **AF08**, que apresentou uma CL₅₀= 43,6 mg/L.

5.4.1 Análise morfológica

Conforme análise dos resultados do percentual de mortalidade, mediante ensaio preliminar, observou-se que algumas das cinamamidas foram ativas, ou seja, têm eficácia de matar larvas do quarto ínstar do *Ae. aegypti*. Dessa maneira, por meio da análise morfológica foi observado que a exposição larval na concentração de 100

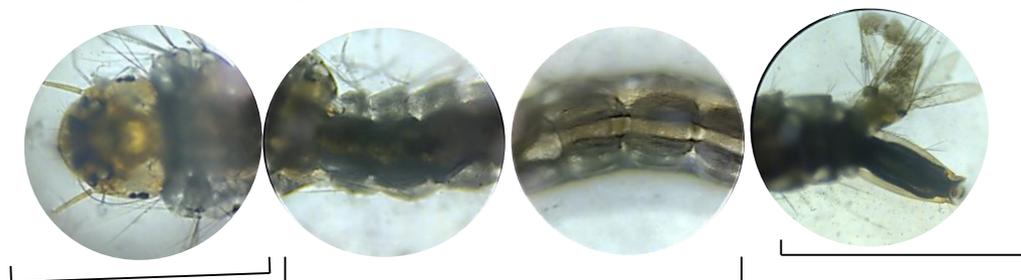
$\mu\text{g/mL}$ do composto **AF09**, resultou em uma redução da massa corporal, deformidade e presença de pigmentação escurecida no intestino médio da larva. Deformações também foram notadas na região do sifão junto com o leve encolhimento nas papilas anais (**Figura 23**), esse órgão está envolvido na regulação dos níveis de eletrólitos (CHAITHONG *et al.*, 2006), e capacidade de absorver íons de sódio, potássio, cloreto e fosfato do meio, essa função foi reduzida ou perdida em larvas sem brânquias. O que indica que a falta ou disfunção das brânquias anais provavelmente levou a uma interrupção da regulação osmótica e iônica (CHAITHONG *et al.*, 2006; WARIKOO; KUMAR, 2013; YU *et al.*, 2015).

Figura 23 – Análise morfológica das larvas do *Ae. aegypti* expostas ao composto **AF09** (100 $\mu\text{g/mL}$) ao controle negativo (0 $\mu\text{g/mL}$)

Larva exposta ao composto AF09



Larva do controle negativo



Cabeça e parte do torác

Intestino médio

Sifão e papilas anais

Elaborado pela autora, 2023.

Como observado na **Figura 23**, os danos causados pelo composto ocorreram principalmente no intestino médio. Nessa região, ocorrem várias funções essenciais, tais como: digestão, absorção de nutrição, transporte de íons, regulação iônica e osmótica, armazenamento de lipídios e carboidratos, controle do pH do lúmen do intestino médio e secreção de enzimas digestivas (SINA; SHUKRI, 2016).

O intestino médio é composto principalmente por células epiteliais sustentadas por membrana basal que revestem a parede do corpo. Semelhante a outros insetos, o estômago das larvas funciona não apenas na digestão, mas também na defesa

química e mecânica contra patógenos (TERRA, 2001). Essas alterações prejudiciais no intestino médio do organismo indicam que essas mudanças são uma resposta conjunta à intoxicação celular. Portanto, as respostas degenerativas do intestino médio das larvas levam à sua disfunção que pode causar a sua morte (CHALOM, *et al.*, 2019).

É na região do intestino médio, mais especificamente no epitélio que as enzimas digestivas são secretadas, e atravessam a membrana peritrófica (MP) para digerir o alimento no espaço endoperitrófico (DETRA; ROMOSER, 1979). Bem como os produtos da digestão devem atravessar a MP na direção oposta antes de serem absorvidos pelas células epiteliais do intestino médio. Assim, o tráfego macromolecular através da MP larval desempenha um papel central na digestão (EDWARDS; JACOBS-LORENA, 2000). A MP, por sua vez, é constituída por quitina e proteínas. Essa membrana é responsável pela proteção do epitélio contra microorganismos, além de promover a compartimentalização de enzimas (BOLOGNESI, 2002).

Nas larvas do *Ae. aegypti*, a MP é um filme fino, transparente e tubular composto por proteínas, glicosaminoglicanos e quitina. A MP reveste todo o trato digestivo e é continuamente sintetizada por um anel de células que estão contidas na cárdia. A cárdia está localizada na junção do intestino anterior e do intestino médio (EDWARDS; JACOBS-LORENA, 2000).

Uma das possibilidades que explicaria os danos causados ao intestino médio das larvas do *Ae. aegypti* observada neste estudo é a possível inibição da Quitinase (3W4R). A Quitinase pertence à família Glicosídeo hidrolase 18 (GH18) sua função é catalisar a hidrólise aleatória das ligações *N*-acetil- β -D-glucosaminida (1 \rightarrow 4)- β na quitina e nas quitodextrinas, que desempenham papéis importantes em vários processos vitais (SUZUKI *et al.*, 1999).

Os papéis propostos às quitinases são: atuar em conjunto com uma quitina sintase para modular a espessura e a permeabilidade da MP em mosquitos adultos (SHEN E JACOBS-LORENA, 1997) e para realizar a digestão intermuda da MP em larvas (BOLOGNESI *et al.*, 2005). Nesse contexto, inibidores contra quitinases têm aplicações potenciais como pesticidas. A hipótese em questão poderia ser

comprovado por meio de uma análise histológica na qual seria possível identificar se houveram danos na MP das larvas, como também testes de inibição enzimática.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, neste estudo envolvendo o planejamento, síntese e avaliação larvívica de 14 cinamamidas, foram selecionados 7 alvos biológicos presentes no *Ae. aegypti* mediante uso do método *Target fishing* e da literatura. Para realizar os estudos de *docking* molecular foram utilizadas as 5FT3, 4FD7, 6MFB e 1PZ4 co-cristalizadas presentes no PDB. As macromoléculas Q6A2E2, Q8MMJ6 e O17411 foram construídas via homologia estrutural de alvos biológicos macromoleculares com similaridade entre 48,72% - 92,41% com o *Ae aegypti*. Dos compostos avaliados, destacam-se os compostos **AF18**, **AF09**, **AF17** e **AF08** que apresentaram uma eficiência superior ao *p*-cloro-cinamato de etila frente a 3 dos 7 alvos biológicos avaliados (O17411; Q6A2E2 e 6MFB). Em relação às propriedades físico-químicas, os compostos apresentaram propriedades constitutivas dentro das normas que preveem a boa eficiência de um possível inseticida.

Por fim, o resultado experimental preliminar mostrou dois compostos ativos (**AF09** e **AF18**), três compostos parcialmente ativos (**AF08** e **AF17**), um composto fracamente ativo (**AF15**), e nove compostos inativos, de acordo com os parâmetros adotados pela OMS. Para fins quantitativos foi determinado a CL₅₀ dos compostos ativos e parcialmente ativos do resultado preliminar (**AF18**, **AF09**, **AF08** e **AF17**), os quais apresentaram os seguintes valores de CL₅₀ 41,6, 55,9, 105,2 e 105,8 µg/mL, respectivamente. Ainda, observou-se que as cinamamidas com substituintes alifáticos apresentaram uma ação larvívica superior quando comparado às que possuem substituintes aromáticos. Ao comparar os resultados de percentual de mortalidade com as propriedades físico-químicas, verificou-se que o número de ligações rotativas e o coeficiente de partição foram cruciais para desencadear a atividade larvívica.

No que se refere às alterações morfológicas, as larvas expostas ao composto **AF09**, essas apresentaram redução de massa corporal, deformidade no intestino médio, deformações na região do sifão e papilas anais. O que supõe que os alvos biológicos envolvidos possam ser proteínas receptoras, transportadoras ou enzimáticas do sistema digestivo. Ademais, ensaios inibidores de proteínas são necessários para elucidar o mecanismo de ação desses compostos, bem como testes de ecotoxicidade para avaliar o grau de toxicidade dessas moléculas.

7 PERSPECTIVAS

- I. Analisar o grau de toxicidade das cinamamidas mais ativas frente às espécies vegetais;
- II. Sintetizar outras cinamamidas com diferentes átomos eletroretiradores na porção cinamoíla;

8 REFERÊNCIAS

ALPHEY, L. *et al.* Genetic control of *Aedes* mosquitoes. **Pathogens and global health**, v. 107, n. 4, p. 170-179, 2013.

BAR, A.; ANDREW, J. Morphology, and morphometry of *Aedes aegypti* larvae. **Annual Research & Review in Biology**, p. 1-21, 2013.

BARRAUD, P. J. *et al.* The Fauna of British India, including Ceylon and Burma. Diptera. Family Culicidae. **Tribes Megarhinini and Culicini**, v.5, 1934.

BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* - Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, v.1, n.2, p.62-73, nov. 2005.

BELL, E. W.; ZHANG, Y. DockRMSD: An open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2019.

BENDER, A. *et al.* Chemogenomic data analysis: Prediction of small-molecule targets and the advent of biological fingerprints. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, v. 10, n. 8, p. 719-731, 2007.

BESERRA EB. *et al.* Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, 35(3): 853-860; 2006.

BEZERRA, D. P. *et al.* *In vivo* growth-inhibition of Sarcoma 180 by piplartine and piperine, two alkaloid amides from Piper. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 39, p. 801-807, 2006.

BOLOGNESI, R. *et al.* Sequences of cDNAs and expression of genes encoding chitin synthase and chitinase in the midgut of *Spodoptera frugiperda*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, n. 11, p. 1249-1259, 2005.

BOLOGNESI, R. **Síntese, degradação e funções da membrana peritrófica dos insetos**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BOOBIS, A. *et al.* In silico prediction of ADME and pharmacokinetics: Report of an expert meeting organised by COST B15. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 4-5, p. 183-193, 2002.

BOROVSKY, D. *et al.* Cloning and characterization of *Aedes aegypti* juvenile hormone epoxide hydrolases (JHEHs). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 112, n. 1, p. e21977, 2023.

BRADY, O. J.; HAY, S. I. The global expansion of dengue: how *Aedes aegypti* mosquitoes enabled the first pandemic arbovirus. **Annual review of entomology**, v. 65, p. 191-208, 2020.

BRAGA, I A., VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília,16(4):279-293, out-dez, 2007.

BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging infectious diseases**, v. 4, n. 4, p. 605, 1998.

BROWN, J. E. *et al.* Worldwide patterns of genetic differentiation imply multiple 'domestications' of *Aedes aegypti*, a major vector of human diseases. Proceedings of the Royal Society B: **Biological Sciences**, v. 278, n. 1717, p. 2446-2454, 2011.

BYRNE, F. P., JIN, S. *et al.* Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. **Sustainable Chemical Processes**, v. 4, n. 1, p. 1-24, 2016.

CAO-LORMEAU, V. M. *et al.* Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1531-1539, 2016.

CASTRO, M. C.; WILSON, M. E.; BLOOM, D. E. Disease, and economic burdens of dengue. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. e70-e78, 2017.

CECD. Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças. **Visão geral da dengue no mundo**: distribuição geográfica dos casos de dengue notificados em todo o mundo, outubro-dezembro de 2022. Distribuição geográfica dos casos de dengue notificados em todo o mundo, outubro-dezembro de 2022. Disponível em: [https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-monthly#:~:text=In%202022%2C%20and%20as%20of,and%20Indonesia%20\(94%20355\)..](https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-monthly#:~:text=In%202022%2C%20and%20as%20of,and%20Indonesia%20(94%20355)..) Acesso em: 04 jan. 2023.

CERETO-MASSAGUÉ, A. *et al.* Tools for in silico target fishing. **Methods**, v. 71, p. 98-103, 2015.

CHAITHONG, U. *et al.* Larvicidal effect of pepper plants on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 31, n. 1, p. 138-144, 2006.

CHALOM, S. *et al.* Utilization of electrocoagulation for the isolation of alkaloids from the aerial parts of *Stemona aphylla* and their mosquitocidal activities against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109448, 2019.

CHANDRA, G. *et al.* Mosquito control by larvivorous fish. **Indian Journal of Medical Research**, v. 127, n. 1, p. 13, 2008.

CHRISTOPHERS, S. SR *et al.* *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito; its life history, bionomics and structure. 1960.

CHUNG, H. S.; SHIN, J. C. Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo). **Food chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1670-1677, 2007.

CLEMENTS, A. N. The Physiology of Mosquitoes: International Series of Monographs on Pure and Applied Biology: Zoology, Vol. 17. **Elsevier**, 2013.

CONWAY, M. J.; COLPITTS, T. M.; FIKRIG, E. Role of the vector in arbovirus transmission. **Annual Review of Virology**, v. 1, n. 1, p. 71, 2014.

CORREIA, P. R. D. S. *et al.* Synthesis of esters containing cinnamoyl motif with potential larvicide action: A computational, ecotoxicity and in vitro cytotoxicity assessments. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 11, p. e202200256, 2022.

COUDERC, T. *et al.* A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. **PLoS pathogens**, v. 4, n. 2, p. e29, 2008.

CRINNION, W. J. Environmental medicine, part 4: pesticides--biologically persistent and ubiquitous toxins. **Alternative Medicine Review**, v. 5, n. 5, p. 432-432, 2000.

CROCKER, D. R.; SCANLON, C. B.; PERRY, S. M. Repellency, and choice: feeding responses of wild rats (*Rattus norvegicus*) to cinnamic acid derivatives. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 38, n. 1, p. 61-66, 1993.

DAI, Li *et al.* Design, synthesis, and evaluation of caffeic acid amides as synergists to sensitize fluconazole-resistant *Candida albicans* to fluconazole. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 1, p. 34-37, 2015.

DATASUS. Casos Prováveis por Faixa Etária segundo Ano 1º Sintoma(s) Período: 2007–2013. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/denguebr.def>, 2019. Acesso em 28 de Janeiro de 2023.

DE PAULA, E. V.. Dengue: uma análise climato-geográfica de sua manifestação no estado do Paraná (1993-2003). **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Paraná, 2005.

DELLER JR, J. J. *et al.* Chikungunya disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 17, n. 1, p. 107-11, 1968.

DENT, D. Insect pest management. 2nd ed. London. **CAB International**, 2000. p. 85.

DETRA, RANDALL L.; ROMOSER, WILLIAM S. Permeability of *Aedes aegypti* larval peritrophic membrane to proteolytic enzyme. **Mosquito News**, 1979.

DITTERT, L. W.; HIGUCHI, T. Rates of hydrolysis of carbamate and carbonate esters in alkaline solution. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 52, n. 9, p. 852-857, 1963.

DUQUE, J. E. *et al.* Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, 2023.

DYER, D. H. *et al.* The structural determination of an insect sterol carrier protein-2 with a ligand-bound C16 fatty acid at 1.35-Å resolution. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 40, p. 39085-39091, 2003.

EDWARDS, M. J.; JACOBS-LORENA, M. Permeability and disruption of the peritrophic matrix and caecal membrane from *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquito larvae. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, n. 9, p. 1313-1320, 2000.

ENSLEY, Steve M. Pyrethrins and pyrethroids. In: **Veterinary toxicology**. Academic Press, 2018. p. 515-520.

ESPINAL, M. A. *et al.* Emerging and reemerging *Aedes*-transmitted arbovirus infections in the region of the Americas: implications for health policy. **American journal of public health**, v. 109, n. 3, p. 387-392, 2019.

FOCKS, D. A. *et al.* Observations on container-breeding mosquitoes in New Orleans, Louisiana, with an estimate of the population density of *Aedes aegypti* (L.). **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 30, n. 6, p. 1329-1335, 1981.

FOSTER, W. A.; WALKER, E. D. Mosquitoes (Culicidae). In: **Medical and veterinary entomology**. Academic press. p. 261-325, 2019

GALEN, J. *et al.* Overcoming insecticide resistance through computational inhibitor design. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2019, v. 116, n. 42, p. 21012-21021.

GALVIS, C. E. P.; KOUZNETSOV, V. V. Synthesis of zanthoxylamide protoalkaloids and their *in silico* ADME-Tox screening and *in vivo* toxicity assessment in zebrafish embryos. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 127, p. 291-299, 2019.

GHOSH, A. K.; SHAHABI, D. Synthesis of amide derivatives for electron deficient amines and functionalized carboxylic acids using EDC and DMAP and a catalytic amount of HOBt as the coupling reagents. **Tetrahedron letters**, v. 63, p. 152719, 2021.

GILLETT, J. D.; ROMAN, E. A.; PHILLIPS, V. Erratic hatching in *Aedes* eggs: a new interpretation. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences**, v. 196, n. 1123, p. 223-232, 1977.

GIRARD, M. *et al.* Arboviruses: A global public health threat. **Vaccine**, v. 38, n. 24, p. 3989-3994, 2020.

GOULD, E. *et al.* Emerging arboviruses: why today?. **One health**, v. 4, p. 1-13, 2017.

GREENBERG, A.; BRENEMAN, C. M.; LIEBMAN, J. F. (Ed.). **The amide linkage: Structural significance in chemistry, biochemistry, and materials science**. John Wiley & Sons, 2000.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 3, p. 480-496, 1998.

GUBLER, D. J.; CLARK, G. G. Community involvement in the control of *Aedes*

aegypti. **Acta tropica**, v. 61, n. 2, p. 169-179, 1996.

GUPTA, R. C. *et al.* Organophosphates and carbamates. In: **Reproductive and developmental toxicology**. Academic Press, 2017. p. 609-631.

GUZMAN, M. G. *et al.* Dengue infection. **Nature reviews Disease primers**, v. 2, n. 1, p. 1-25, 2016.

GUZMAN, M. G.; HARRIS, E. Dengue. **The Lancet**, v. 385, n. 9966, p. 453-465, 2015.

HALSTEAD, S. B. *et al.* Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962–1964. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 18, n. 6, p. 984-996, 1969.

HAN, Q.; BEERNTSEN, B. T.; LI, J. The tryptophan oxidation pathway in mosquitoes with emphasis on xanthurenic acid biosynthesis. **Journal of insect physiology**, v. 53, n. 3, p. 254-263, 2007.

HAN, Q.; LI, J.. Comparative characterization of Aedes 3-hydroxykynurenine transaminase/alanine glyoxylate transaminase and Drosophila serine pyruvate aminotransferase. **FEBS letters**, v. 527, n. 1-3, p. 199-204, 2002.

HAN, Y. *et al.* Larvicidal activity of lansiumamide B from the seeds of Clausena lansium against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology research**, v. 112, n. 2, p. 511-516, 2013.

HAO, G.; DONG, Q.; YANG, G. A comparative study on the constitutive properties of marketed pesticides. **Molecular informatics**, v. 30, n. 6-7, p. 614-622, 2011.

HELVECIO, E. *et al.* Polymorphisms in GSTE2 is associated with temephos resistance in *Aedes aegypti*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 165, p. 104464, 2020.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual review of entomology**, v. 45, n. 1, p. 371-391, 2000.

HERTLEIN, M. B. *et al.* A review of spinosad as a natural product for larval mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 26, n. 1, p. 67-87, 2010.

HLAING, T. *et al.* Mitochondrial pseudogenes in the nuclear genome of *Aedes aegypti* mosquitoes: implications for past and future population genetic studies. **Bmc Genetics**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2009.

HORWOOD, P. F.; BUCHY, P. Chikungunya. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 34, n. 2, p. 479-489, 2015.

HOSSAIN, Md S. *et al.* Aedes Larva Detection Using Ensemble Learning to Prevent Dengue Endemic. **BioMedInformatics**, v. 2, n. 3, p. 405-423, 2022.

HOWARD, A. F.V.; ZHOU, G.; OMLIN, F. X. Malaria mosquito control using edible fish in western Kenya: preliminary findings of a controlled study. **BMC public health**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2007.

HU, T. *et al.* The Asian lineage of Zika virus: transmission and evolution in Asia and the Americas. **Virologica Sinica**, v. 34, n. 1, p. 1-8, 2019.

HURK, A. F. V. D. *et al.* Impact of Wolbachia on infection with chikungunya and yellow fever viruses in the mosquito vector *Aedes aegypti*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 11, p. e1892, 2012.

HURST, T. P. *et al.* Impacts of Wolbachia infection on predator prey relationships: evaluating survival and horizontal transfer between w MelPop infected *Aedes aegypti* and its predators. **Journal of medical entomology**, v. 49, n. 3, p. 624-630, 2012.

ICAZA, J. T. El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. **México: Bayer de México**, p. 152, 2003.

IWAMURA, T.; GUZMAN-HOLST, A.; MURRAY, K. A. Accelerating invasion potential of disease vector *Aedes aegypti* under climate change. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2020.

JEFFERY, J. AL *et al.* Water level flux in household containers in Vietnam-A key determinant of *Aedes aegypti* population dynamics. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e39067, 2012.

JENKINS, J. L.; BENDER, A.; DAVIES, J. W. *In silico* target fishing: Predicting biological targets from chemical structure. *Drug Discovery Today: Technologies*, v. 3, n. 4, p. 413-421, 2006.

JENO, J. G. A.; NAKKEERAN, E. Histological Changes in the Dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae Treated with Neem Oil Loaded Niosomes. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, p. 101943, 2022.

JIANG, F.; GENG, H. Computational methods for studying conformational behaviors of cyclic Peptides. **Cyclic Peptide Design**, p. 61-71, 2019.

KAMAL, A. *et al.* Synthesis and biological evaluation of arylcinnamide linked combretastatin-A4 hybrids as tubulin polymerization inhibitors and apoptosis inducing agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 12, p. 2957-2964, 2016.

KAMBRIS, Z. *et al.* Immune activation by life-shortening Wolbachia and reduced filarial competence in mosquitoes. **Science**, v. 326, n. 5949, p. 134-136, 2009.

KEAN, J. *et al.* Fighting arbovirus transmission: natural and engineered control of vector competence in *Aedes* mosquitoes. **Insects**, v. 6, n. 1, p. 236-278, 2015.

KEMNITZ, C. R.; LOEWEN, M. J. "Amide resonance" correlates with a breadth of C-N rotation barriers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 9, p.

2521-2528, 2007.

KIM, S. H. *et al.* Detrimental effects of temephos on male fertility: An in vitro study on a mouse model. **Reproductive Toxicology**, v. 96, p. 150-155, 2020.

KIRST, H. A. *et al.* Discovery, isolation, and structure elucidation of a family of structurally unique, fermentation-derived tetracyclic macrolides. **ACS Symposium Series**, V. 504, p. 214-225, 1992.

KOUTSOUKAS, A. *et al.* From in silico target prediction to multi-target drug design: current databases, methods and applications. *Journal of proteomics*, v. 74, n. 12, p. 2554-2574, 2011.

KRAEMER, M. UG *et al.* The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **Elife**, v. 4, p. e08347, 2015.

KUMAR, V. *et al.* Larvicidal activity and structure activity relationship of cinnamoyl amides from *Zanthoxylum armatum* and their synthetic analogues against diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Excli journal**, v. 15, p. 229, 2016.

LABEAUD, A.; BASHIR, F.; KING, C. H. Measuring the burden of arboviral diseases: the spectrum of morbidity and mortality from four prevalent infections. **Population health metrics**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2011.

LAN, Q.; WESSELY, V. Expression of a sterol carrier protein-x gene in the Yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Insect molecular biology**, v. 13, n. 5, p. 519-529, 2004.

LAVECCHIA, A. Deep learning in drug discovery: opportunities, challenges and future prospects. *Drug discovery today*, v. 24, n. 10, p. 2017-2032, 2019.

LAVIALLE-DEFAIX, C. *et al.* *Anopheles gambiae* mosquito isolated neurons: A new biological model for optimizing insecticide/repellent efficacy. **Journal of neuroscience methods**, v. 200, n. 1, p. 68-73, 2011.

LAZCANO, J. A. B. *et al.* Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 26, n. 3, p. 229-234, 2009.

LEE, W. L. *et al.* Monitoring human arboviral diseases through wastewater surveillance: Challenges, progress, and future opportunities. **Water Research**, p. 118904, 2022.

LEGGIO, A. *et al.* One-pot synthesis of amides from carboxylic acids activated using thionyl chloride. **Rsc Advances**, v. 6, n. 41, p. 34468-34475, 2016.

LI, G.; MA, S.; SZOSTAK, M. Amide bond activation: the power of resonance. **Trends in Chemistry**, v. 2, n. 10, p. 914-928, 2020.

LÓPEZ-VALLEJO, F. *et al.* Integrating virtual screening and combinatorial chemistry

for accelerated drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, v. 14, n. 6, p. 475-487, 2011.

LOTTI, M. Toxicologia clínica de agentes anticolinesterásicos em humanos. In: **Manual de toxicologia de pesticidas de Hayes**. Imprensa Acadêmica, 2010. p. 1543-1589.

LUTJEN, A. B. *et al.* Synthesis of (E)-cinnamyl ester derivatives via a greener Steglich esterification. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 26, n. 19, p. 5291-5298, 2018.

LWANDE, O. W. *et al.* Globe-trotting *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: risk factors for arbovirus pandemics. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 20, n. 2, p. 71-81, 2020.

MACHADO, M. D. J. Dengue: ameaça ontem, desafio hoje. **Ciência Hoje**, v. 24, n. 139, p. 29-35, 1998.

MAHENDRADAS, P.; AVADHANI, K.; SHETTY, R. Chikungunya and the eye: a review. **Journal of ophthalmic inflammation and infection**, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2013.

MANJARRES-SUAREZ, A.; OLIVERO-VERBEL, J. Chemical control of *Aedes aegypti*: a historical perspective. **Revista costarricense de salud pública**, v. 22, n. 1, p. 68-75, 2013.

MANRIQUE-SAIDE, P. *et al.* Mesocyclops longisetus effects on survivorship of *Aedes aegypti* immature stages in car tyres. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, n. 4, p. 386-390, 1998.

MEHERE, P. *et al.* Identification and characterization of two arylalkylamine N-acetyltransferases in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 41, n. 9, p. 707-714, 2011.

MENDES, M. S.; DE MORAES, J. Legal aspects of public health: Difficulties in controlling vector-borne and zoonotic diseases in Brazil. **Acta tropica**, v. 139, p. 84-87, 2014.

MENDONÇA, F. Aquecimento global e saúde: uma perspectiva geográfica—notas introdutórias. *Terra Livre*, n. 20, p. 205-221, 2003.

MENG, X. Y. *et al.* Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011.

MERTZ, F. P.; YAO, R. C. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 34-39, 1990.

MM, A. Insecticide resistance of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Turkey. **Journal of pesticide science**, p. 0908080092-0908080092, 2009.

MONTALBETTI, C. A.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. **Tetrahedron**, v. 61, n. 46, p. 10827-10852, 2005.

MORDECAI, E. A. *et al.* Detecting the impact of temperature on transmission of Zika, dengue, and chikungunya using mechanistic models. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 4, p. e0005568, 2017.

MORDECAI, E. A. *et al.* Optimal temperature for malaria transmission is dramatically lower than previously predicted. **Ecology letters**, v. 16, n. 1, p. 22-30, 2013.

MOREIRA, L. A. *et al.* A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. **Cell**, v. 139, n. 7, p. 1268-1278, 2009.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F. Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, cap. 15, p. 1-23, 2012.

MORISSEAU, C.; HAMMOCK, B. D. Epoxide hydrolases: mechanisms, inhibitor designs, and biological roles. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 45, p. 311-333, 2005.

MOUSSON, L. *et al.* Phylogeography of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) and *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. **Genetics Research**, v. 86, n. 1, p. 1-11, 2005.

MUHSEEN, Z. T.; AHMAD, S.; LI, G. Structural basis of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase and identification of promising terpenes to control *Aedes aegypti*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 204, p. 111820, 2021.

MUJIKA, J. I.; MERCERO, J. M.; LOPEZ, X. Water-promoted hydrolysis of a highly twisted amide: Rate acceleration caused by the twist of the amide bond. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 12, p. 4445-4453, 2005.

MULLER, D. A.; DEPELSENAIRE, A. Cl; YOUNG, P. R. Clinical and laboratory diagnosis of dengue virus infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 215, n. suppl_2, p. S89-S95, 2017.

MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika vírus. **Revisões de microbiologia clínica**, v. 29, n. 3, pág. 487-524, 2016.

NARAHASHI, T. *et al.* Sodium and GABA-activated channels as the targets of pyrethroids and cyclodienes. **Toxicology letters**, v. 64, p. 429-436, 1992.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.

NAZ, S. *et al.* Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. **Microbiological research**, v. 161, n. 1, p. 43-48, 2006.

NEISES, B.; STEGLICH, W. Simple method for the esterification of carboxylic acids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 17, n. 7, p. 522-524,

1978.

NELSON, J.M., 1986. *Aedes aegypti*: Biología y Ecología. **Organización Panamericana de la Salud**. Washington, DC.

NELSON, M. J. *Aedes aegypti*: biología y ecología. 1986.

OLIVEIRA, M. M. F. Condicionantes sócio-ambientais urbanos da incidência da dengue na cidade de Londrina-PR. 2006.

OLIVEIRA, R. R.B. *et al.* Synthesis, activity, and QSAR studies of tryptamine derivatives on third-instar larvae of *Aedes aegypti* Linn. **Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 6, p. 580-587, 2014.

OPS, OMS. Sistematización de lecciones aprendidas en proyectos de comunicación para impactar en conductas (COMBI) en dengue en la Región de las Américas. Costa Rica: **OPS, OMS**; 2011.

PAIXÃO, E. S.; TEIXEIRA, M. G.; RODRIGUES, L. C. Zika, chikungunya and dengue: the causes and threats of new and re-emerging arboviral diseases. **BMJ global health**, v. 3, n. Suppl 1, p. e000530, 2018.

PALCHICK, S. Chemical control of vectors. **The Biology of Disease Vectors. Colorado: University Press of Colorado**, 1996.

PATTABIRAMAN, V. R.; BODE, J. W. Rethinking amide bond synthesis. **Nature**, v. 480, n. 7378, p. 471-479, 2011.

PAVIA, D. L. *et al.* Introdução à espectroscopia: Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PENG, W. *et al.* Chemical components from the stems and leaves of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels and their potential herbicidal effects. **Pest Management Science**, v. 77, n. 3, p. 1355-1360, 2021.

PEPERIDOU, A. *et al.* Multifunctional Cinnamic Acid Derivatives. **Molecules**, v. 22, n° 1247, p. 1-17, 2017.

POCQUET, N. *et al.* Insecticide resistance in disease vectors from Mayotte: an opportunity for integrated vector management. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2014.

PONCE, G. G. **Efecto de concentraciones subletales de *Bacillus thuringiensis israelensis* H-14 Vectobac (R) AS en parámetros biológicos de *Aedes aegypti*. L.** Tese de Doutorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. 1999.

POWELL, J. R.; W. J. TABACHNICK. "History of domestication and spread of *Aedes aegypti*-a review." **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 108 (2013): 11-17.

PYKE, G. H. A review of the biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. **Reviews**

in **Fish Biology and Fisheries**, v. 15, n. 4, p. 339-365, 2005.

RAGHAVENDRA, K.; VELAMURI, P. S. Spinosad: A biorational mosquito larvicide for vector control. **The Indian journal of medical research**, v. 147, n. 1, p. 4, 2018.

RAMÍREZ, A. L. *et al.* Searching for the proverbial needle in a haystack: advances in mosquito-borne arbovirus surveillance. **Parasites & vectors**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2018.

RASGON, J. L.; SCOTT, T. W. C. *Crimson*: a novel sex-linked eye color mutant of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, v. 41, n. 3, p. 385-391, 2004.

RASMUSSEN, S. A. *et al.* Zika virus and birth defects—reviewing the evidence for causality. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 20, p. 1981-1987, 2016.

ROGERS, K. "Aedes". **Enciclopédia Britânica**, 19 de julho de 2019, <https://www.britannica.com/animal/Aedes>. Acesso em 16 de outubro de 2022.

SALGADO, V. L. The modes of action of spinosad and other insect control products. **Down to earth**, v. 52, n. 1, p. 35-43, 1997.

SCHOLTE, E-J.; SCHAFFNER, F. Waiting for the tiger: establishment and spread of the *Aedes albopictus* mosquito in Europe. **Emerging pests and vector-borne diseases in Europe**, v. 1, p. 241, 2007.

SEELOLLA, G.; CHEERA, P.; PONNERI, V. Synthesis, antimicrobial and antioxidant activities of novel series of cinnamamide derivatives having morpholine moiety. **Med. Chem**, v. 4, p. 778-783, 2014.

SEINO, A. *et al.* Characterization of juvenile hormone epoxide hydrolase and related genes in the larval development of the silkworm *Bombyx mori*. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 74, n. 7, p. 1421-1429, 2010.

SENG, C. M. *et al.* Community-based use of the larvivorous fish *Poecilia reticulata* to control the dengue vector *Aedes aegypti* in domestic water storage containers in rural Cambodia. **Journal of Vector Ecology**, v. 33, n. 1, p. 139-144, 2008.

SHARMA, P. Cinnamic acid derivatives: a new chapter of various pharmacological activities. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.3, n°2, p. 403-423, 2011.

SHARMA, Y. *et al.* Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. **Toxicology**, v. 206, n. 1, p. 49-57, 2005.

SHEN, Z.; JACOBS-LORENA, M. Characterization of a novel gut-specific chitinase gene from the human malaria vector *Anopheles gambiae*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 46, p. 28895-28900, 1997.

SHONO, T.; SCOTT, J. G. Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is

due to a recessive factor on autosome 1. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 75, n. 1-2, p. 1-7, 2003.

SILER, J. F.; HALL, M. W.; HITCHINS, A. P. Dengue: its History, **Epidemiology**. 1926.

SIMON, M. I. *et al.* **Applications of chimeric genes and hybrid proteins, Part A: Gene Expression and Protein Purification**. Elsevier, 2000.

SINA, I. Z.; SHUKRI, M. S. M. Larvicidal activities of extract flower *Averrhoa bilimbi* L. towards important species mosquito, *Anopheles barbirostris* (Diptera: Culicidae). **International Journal of Zoological Research**, v. 12, n. 1, p. 25-31, 2016.

SNODGRASS, R. E. The anatomical life of the mosquito. **Smithsonian Miscellaneous Collections**, 1959.

SOUZA-NETO, J. A.; POWELL, J. R.; BONIZZONI, M. *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. **Infection, genetics and evolution**, v. 67, p. 191-209, 2019.

STAPLES, J. E.; BREIMAN, R. F.; POWERS, A. M. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. **Clinical infectious diseases**, v. 49, n. 6, p. 942-948, 2009.

STOLERMAN, L. M.; MAIA, P. D.; KUTZ, J. N. Forecasting dengue fever in Brazil: An assessment of climate conditions. *PloS one*, B v. 14, n. 8, p. e0220106, 2019.

SUZUKI, K., M. *et al.* "The third chitinase gene (chiC) of *Serratia marcescens* 2170 and the relationship of its product to other bacterial chitinases." **Biochemical Journal** 343, no. 3 (1999): 587-596.

TELLAM, R. L.; WIJFFELS, G.; WILLADSEN, P. Peritrophic matrix proteins. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 29, n. 2, p. 87-101, 1999.

TERRA, W. R. The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 47, n. 2, p. 47-61, 2001.

TESLA, B. *et al.* Temperature drives Zika virus transmission: evidence from empirical and mathematical models. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 285, n. 1884, p. 20180795, 2018.

THOMPSON, G. D. Spinosyns: an overview of new natural insect management systems. In: **Proc. Beltwide Cotton Production Conference, San Antonio, TX, 1995**. 1995. p. 1039-1043.

VIANA-MEDEIROS, P. F.; BELLINATO, D. F.; VALLE, D. Laboratory selection of *Aedes aegypti* field populations with the organophosphate malathion: negative

impacts on resistance to deltamethrin and to the organophosphate temephos. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 8, p. e0006734, 2018.

VIDYASAGAR, J. *et al.* Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning. **Indian journal of pharmacology**, v. 36, n. 2, p. 76, 2004.

WALISZEWSKI, S. M. *et al.* Comparison of organochlorine pesticide levels between abdominal and breast adipose tissue. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 71, n. 1, p. 0156-0162, 2003.

WALISZEWSKI, S. M.; BERMÚDEZ, M. T.; INFANZÓN, R. M. Niveles de DDT en tejido adiposo materno, suero sanguíneo y leche de madres residentes en Veracruz, México. Estudio 1997-1999. **Revista internacional de contaminación ambiental**, v. 18, n. 1, p. 17-25, 2002.

WANG, B.; CAO, Z. Acid-Catalyzed Reactions of Twisted Amides in Water Solution: Competition between Hydration and Hydrolysis. **Chemistry—A European Journal**, v. 17, n. 42, p. 11919-11929, 2011.

WARE, G. W. An introduction to insecticides [monografía na Internet]. **University of Minnesota**, 2000.

WARIKOO, R.; KUMAR, S. Impact of Argemone mexicana extracts on the cidal, morphological, and behavioral response of dengue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 112, n. 10, p. 3477-3484, 2013.

WATSON, Gerald B. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 71, n. 1, p. 20-28, 2001.

WEERATUNGA, Praveen *et al.* Control methods for *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2017, n. 8, 2017.

WHO (World Health Organization). **Fifth meeting of the Emergency Committee under the International Health Regulations (2005) regarding microcephaly, other neurological disorders and Zika virus**. 2016.

WHO (World Health Organization). **Vector-borne diseases**. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>. Acesso em: 09 dez. 2022

WHO (World Health Organization). **Zika Epidemiological Updates July**, Accessible at: (2022) <https://www.who.int/emergencies/diseases/zika/zika-epidemiology-update-july-2019.pdf>

WHO (World Health Organization). **Dengue and severe dengue**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acesso em: 10 jan. 2022.

WHO (World Health Organization). **Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicide, World Health Organization, Communicable Disease Control, Prevention And Eradication Who Pesticide Evaluation Scheme**, 2005, July 2020, <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69101>.

WILDER-SMITH, A. *et al.* Deliberations of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization on the use of CYD-TDV dengue vaccine. **The Lancet infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. e31-e38, 2019.

XIAO, Y. *et al.* Design, synthesis, and antifungal/insecticidal evaluation of novel cinnamide derivatives. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 8945-8957, 2011.

YEN, J. H.; BARR, A. R. The etiological agent of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 22, n. 2, p. 242-250, 1973.

YOU, H. *et al.* Design, synthesis, and X-ray crystallographic study of NAMPRase inhibitors as anti-cancer agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 4, p. 1153-1164, 2011.

YOUNG, P. R. Arboviruses: a family on the move. **Dengue and Zika: Control and Antiviral Treatment Strategies**, p. 1-10, 2018.

YU, K. X. *et al.* Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 8, n. 12, p. 1006-1012, 2015.

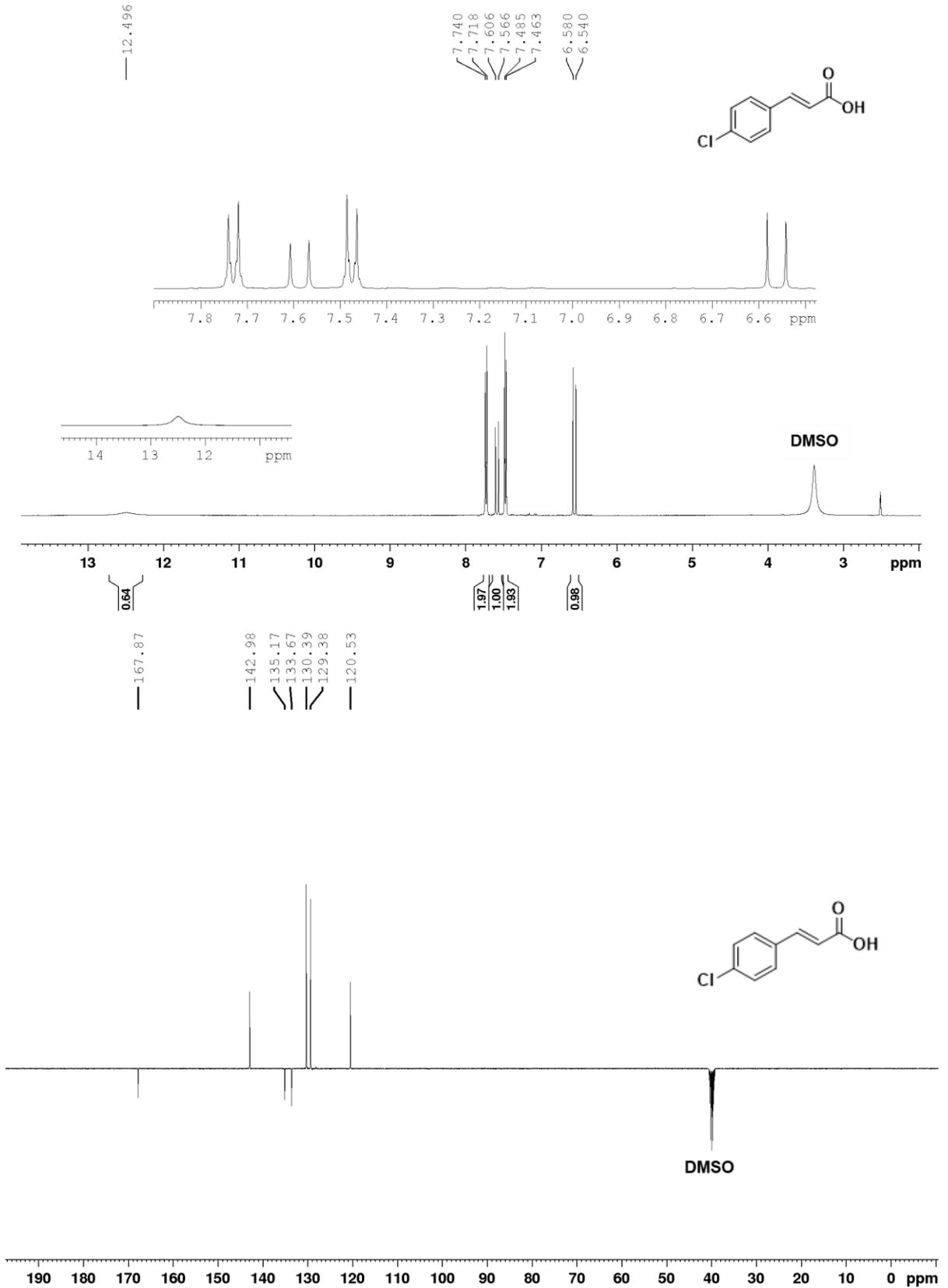
ZHANG, M. *et al.* Synthesis, structure, and biological assay of cinnamic amides as potential EGFR kinase inhibitors. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 2, p. 986-994, 2013.

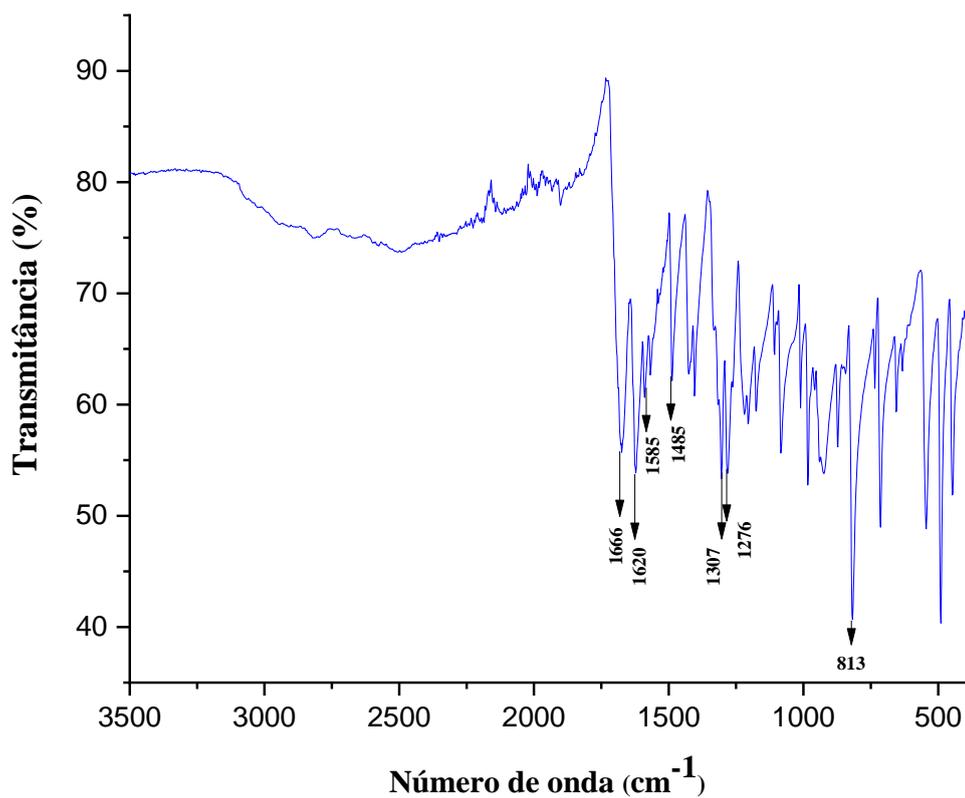
ZHU, X. L. *et al.* Structural basis of femtomolar inhibitors for acetylcholinesterase subtype selectivity: Insights from computational simulations. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 41, p. 55-60, 2013.

ZUG, R.; HAMMERSTEIN, P. Still a host of hosts for Wolbachia: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e38544, 2012.

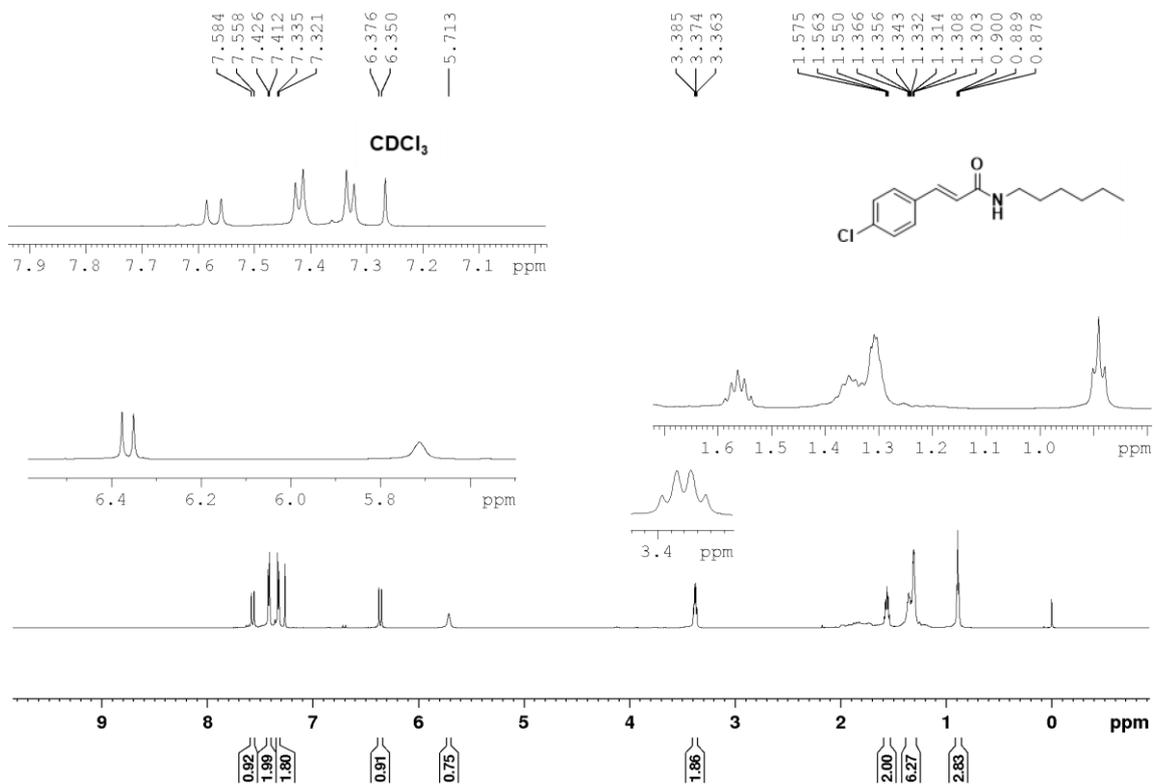
ANEXOS

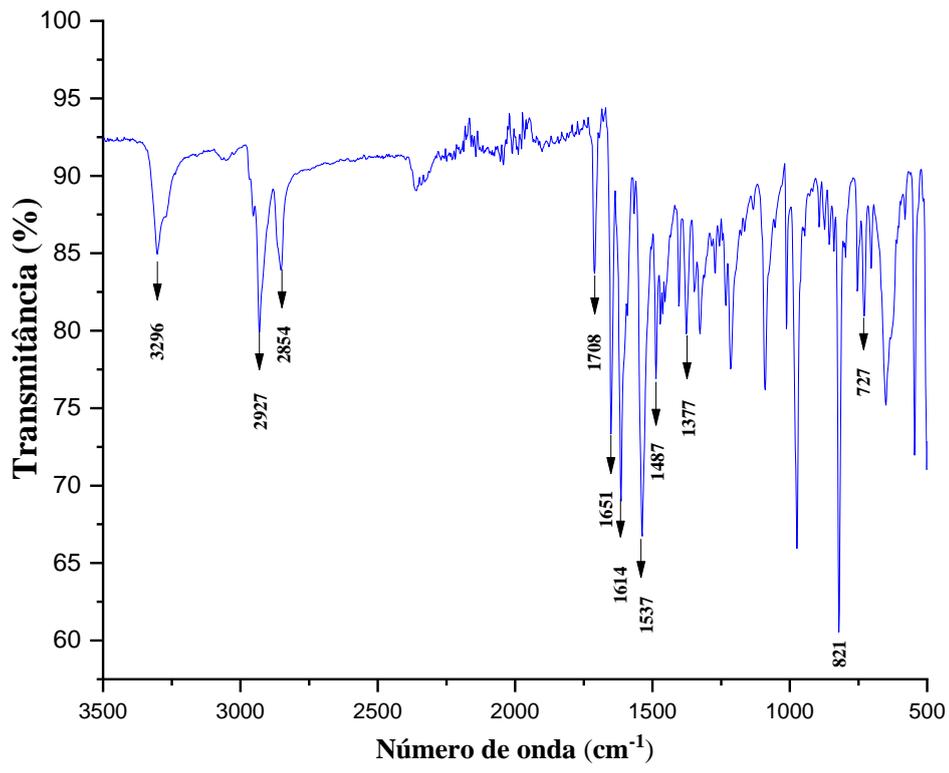
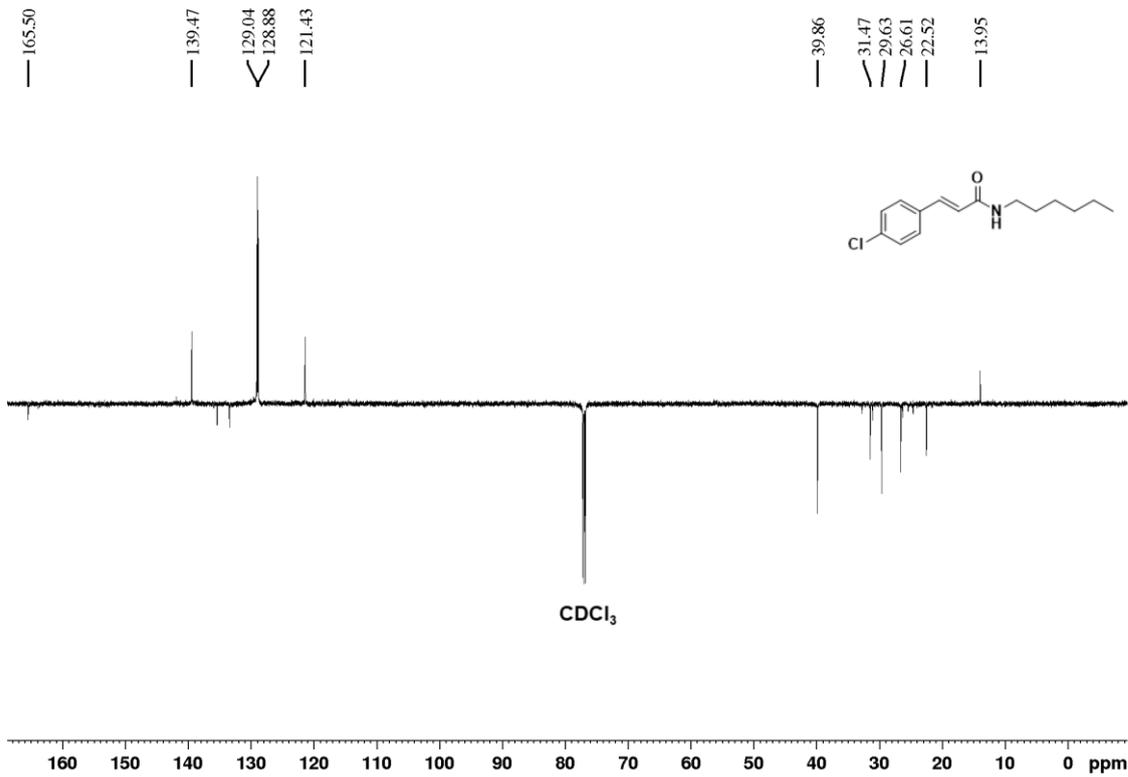
Ácido *p*-clorocinâmico



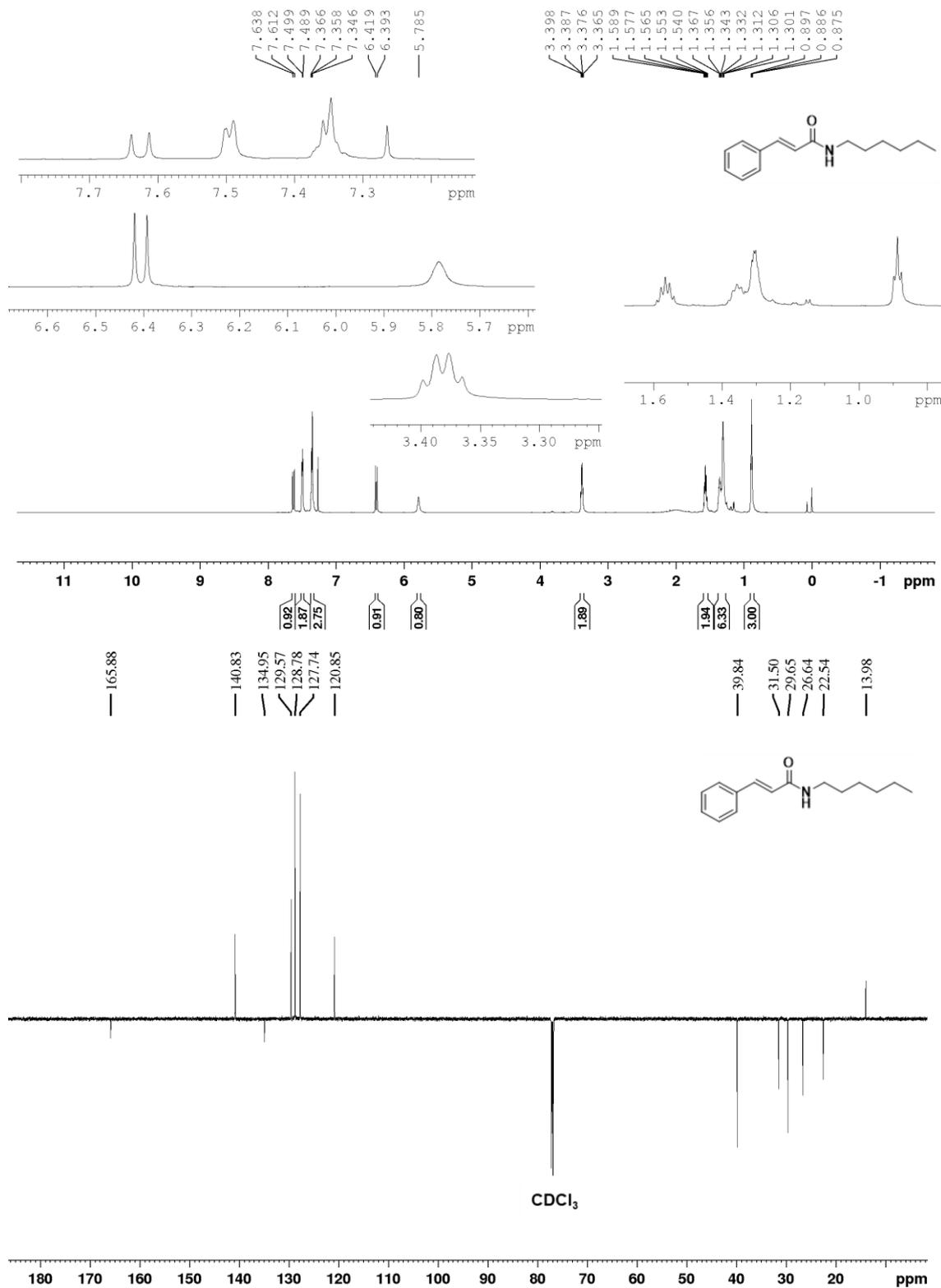


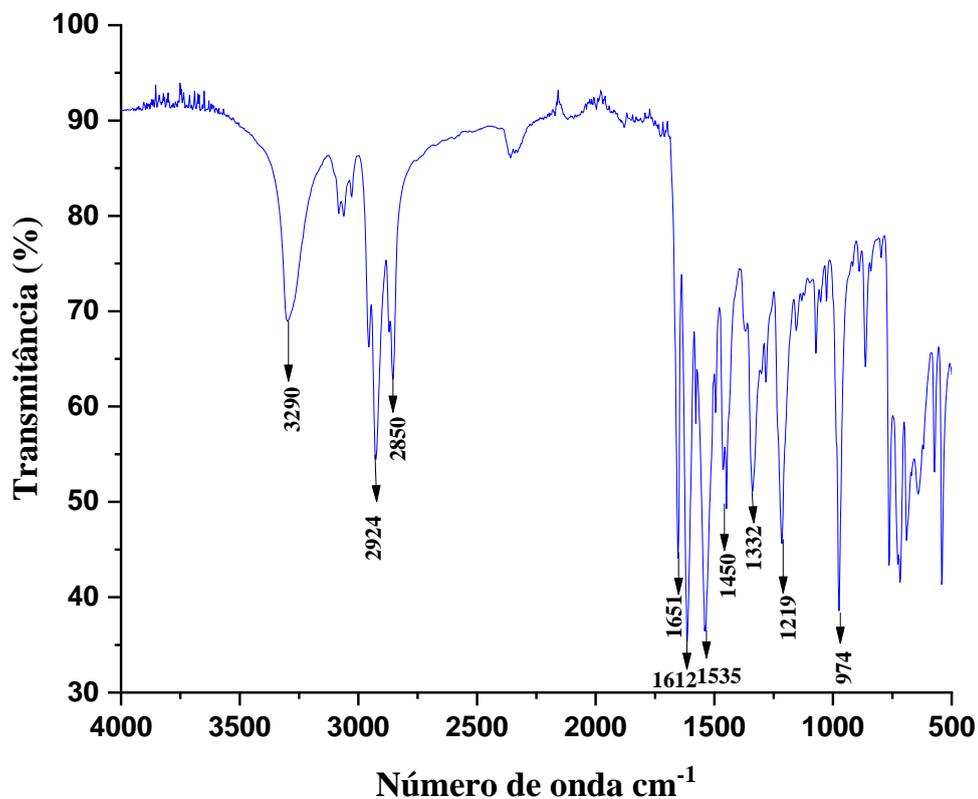
(E)-3-(4-clorofenil)-N-hexilacrilamida (AF03)



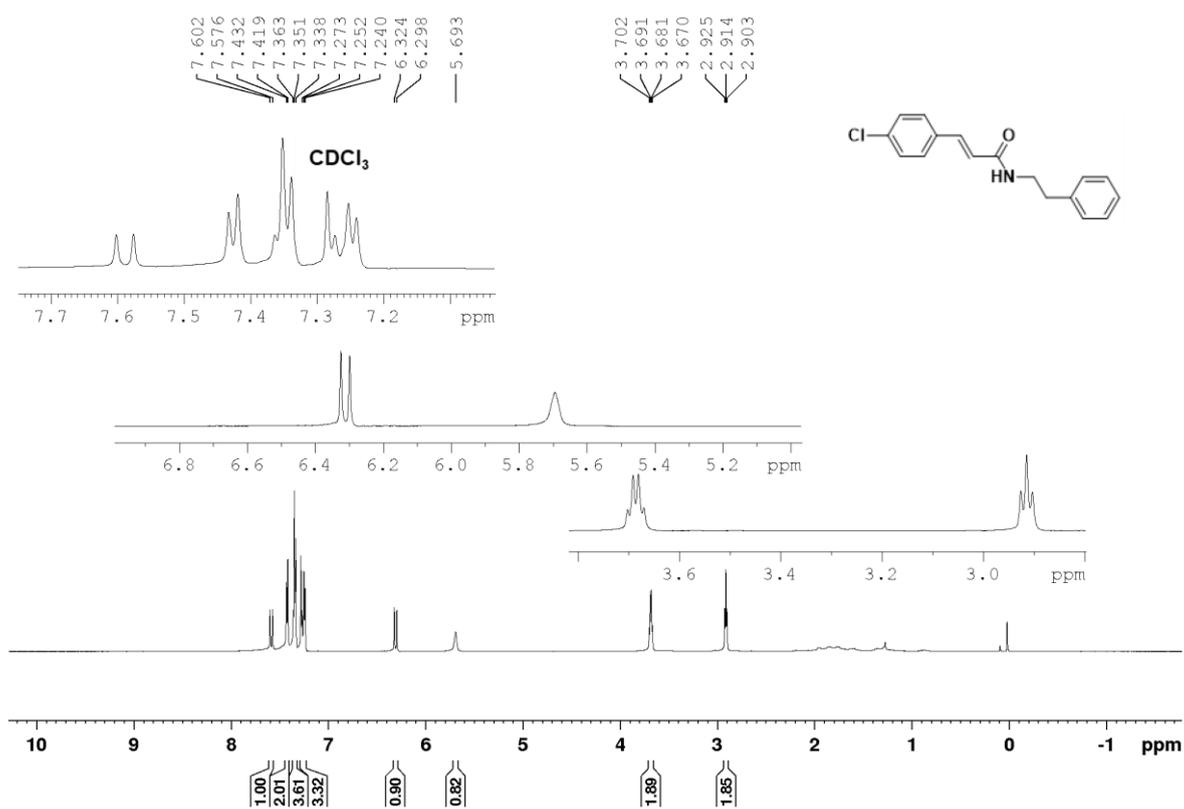


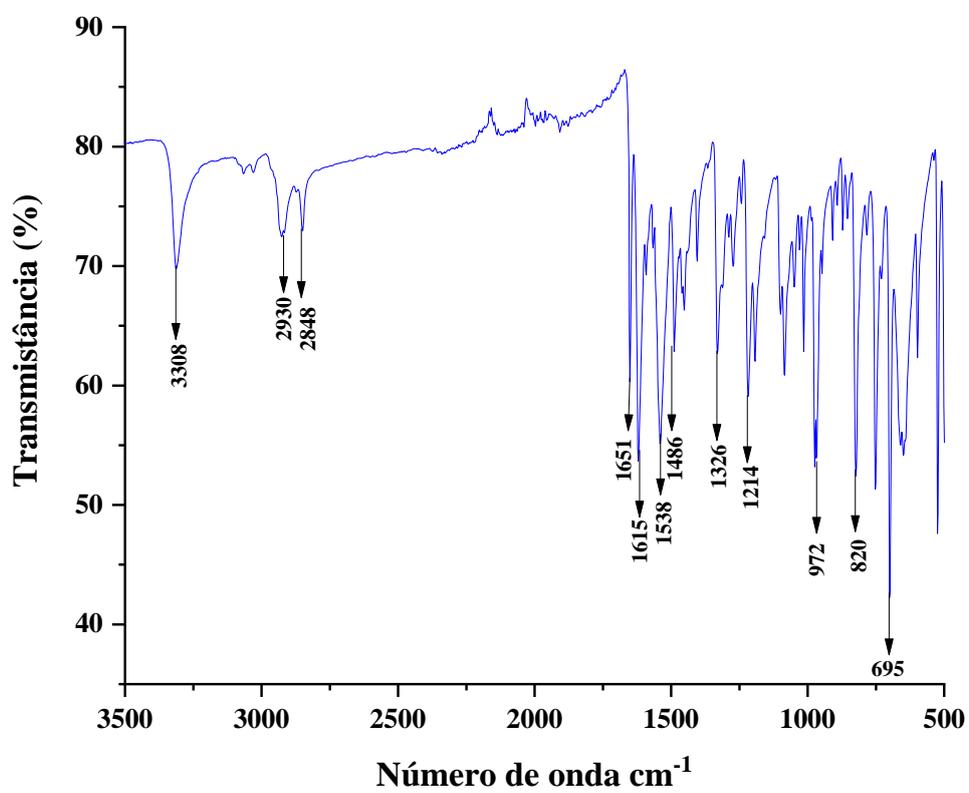
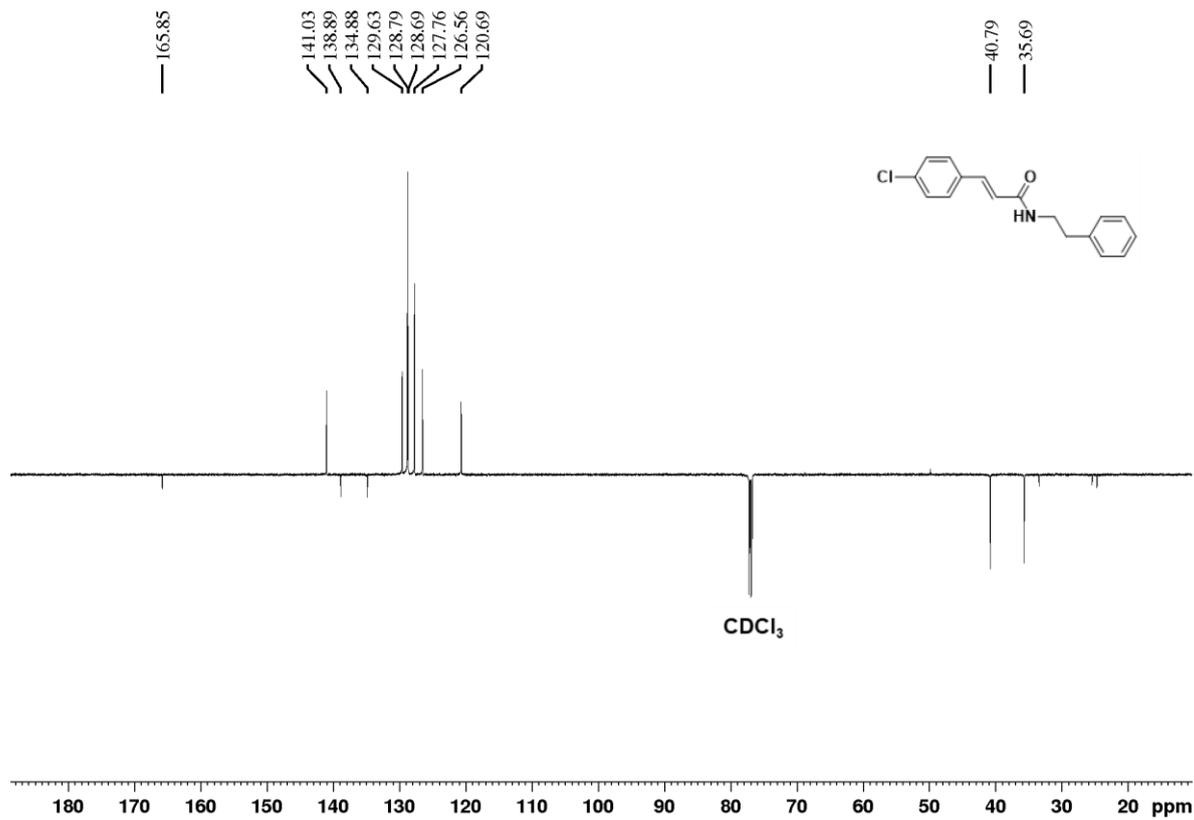
N-hexilcinamamida (AF09)



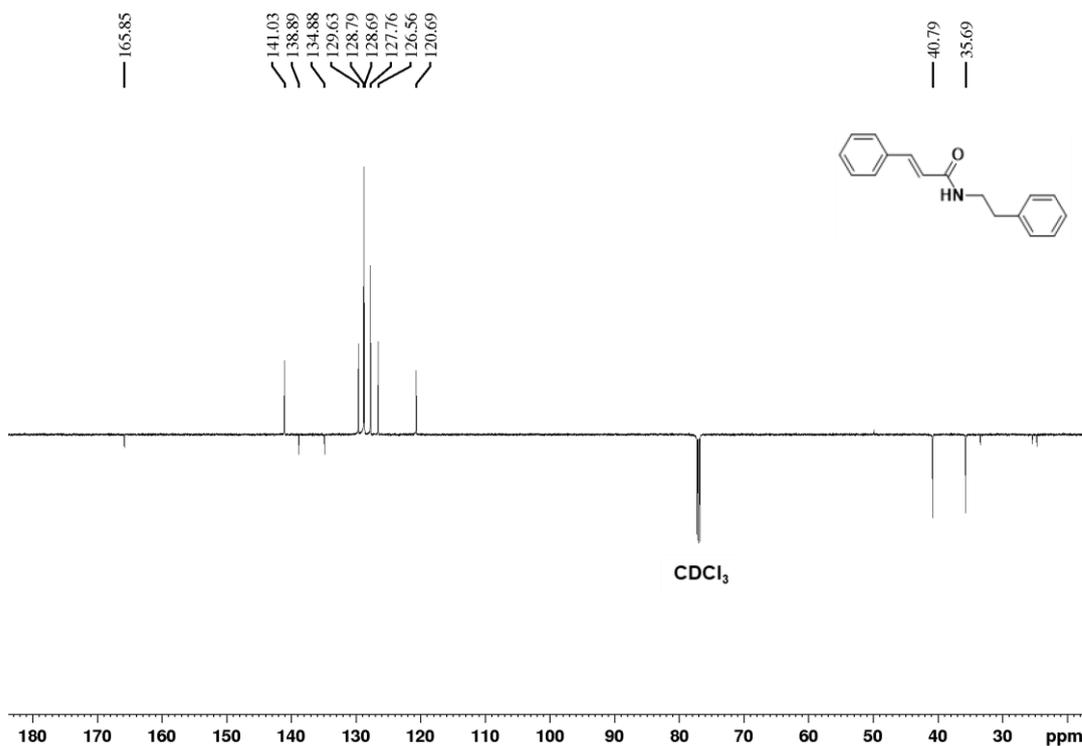
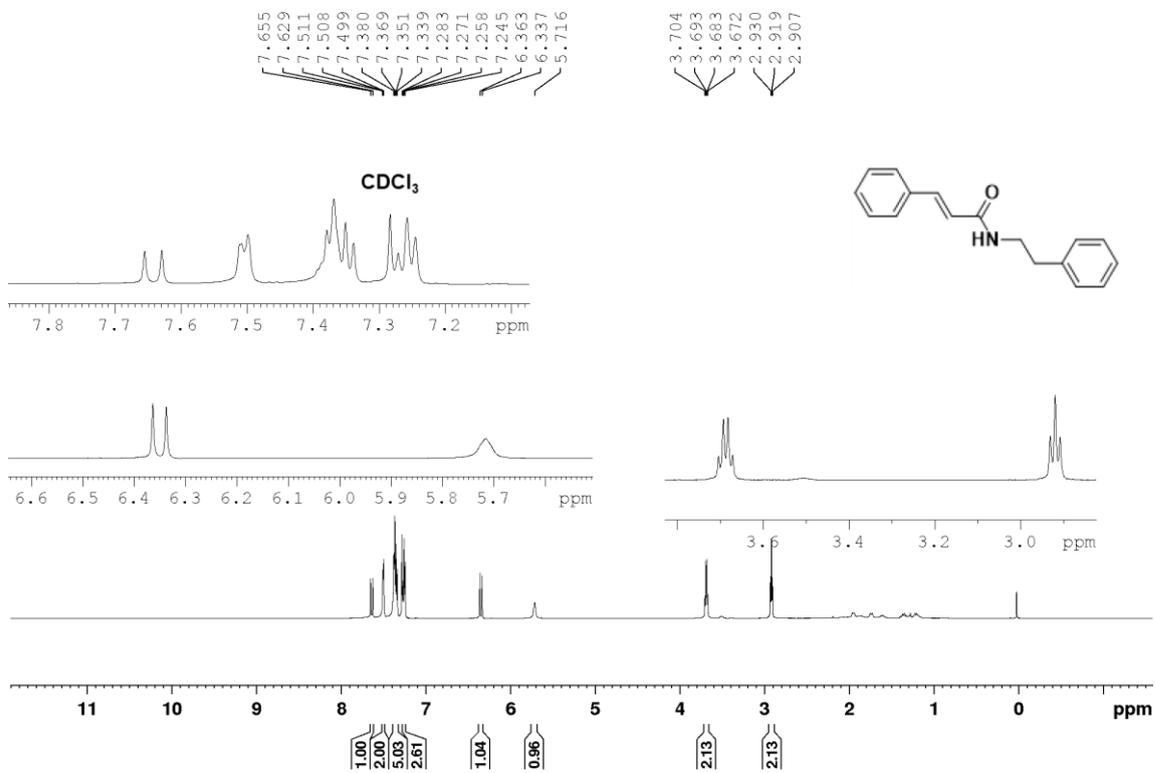


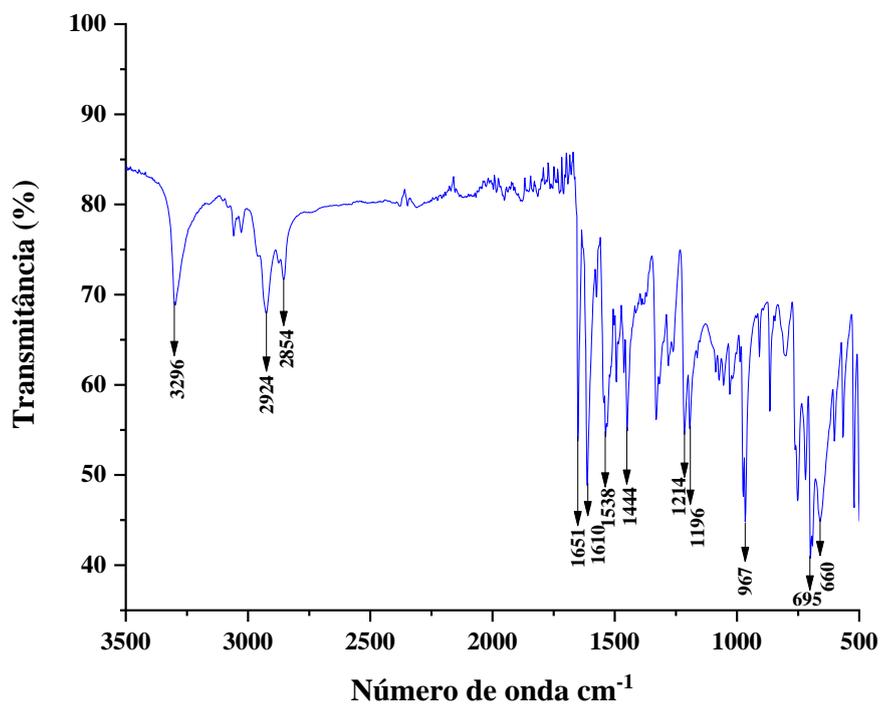
(E)-3-(4-clorofenil)-N-fenetilacrilamida (AF07)



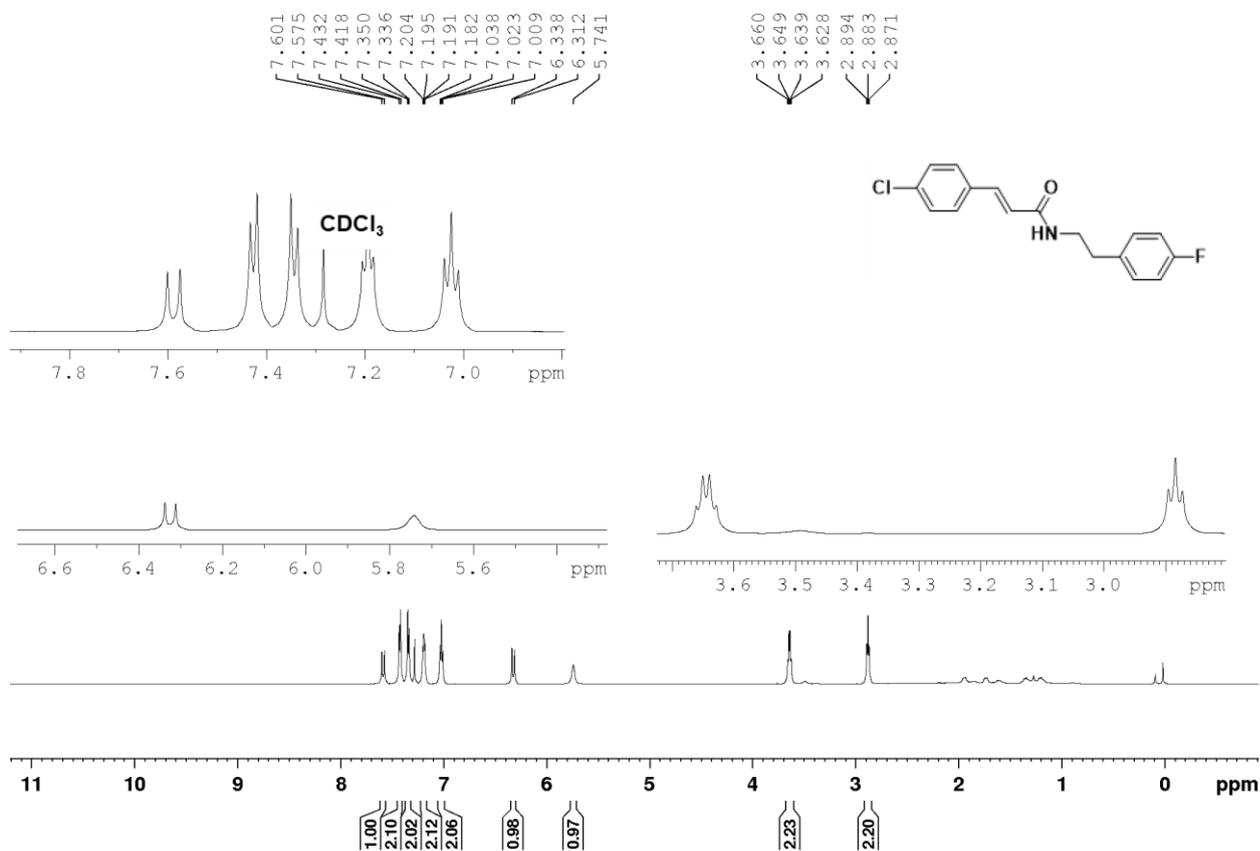


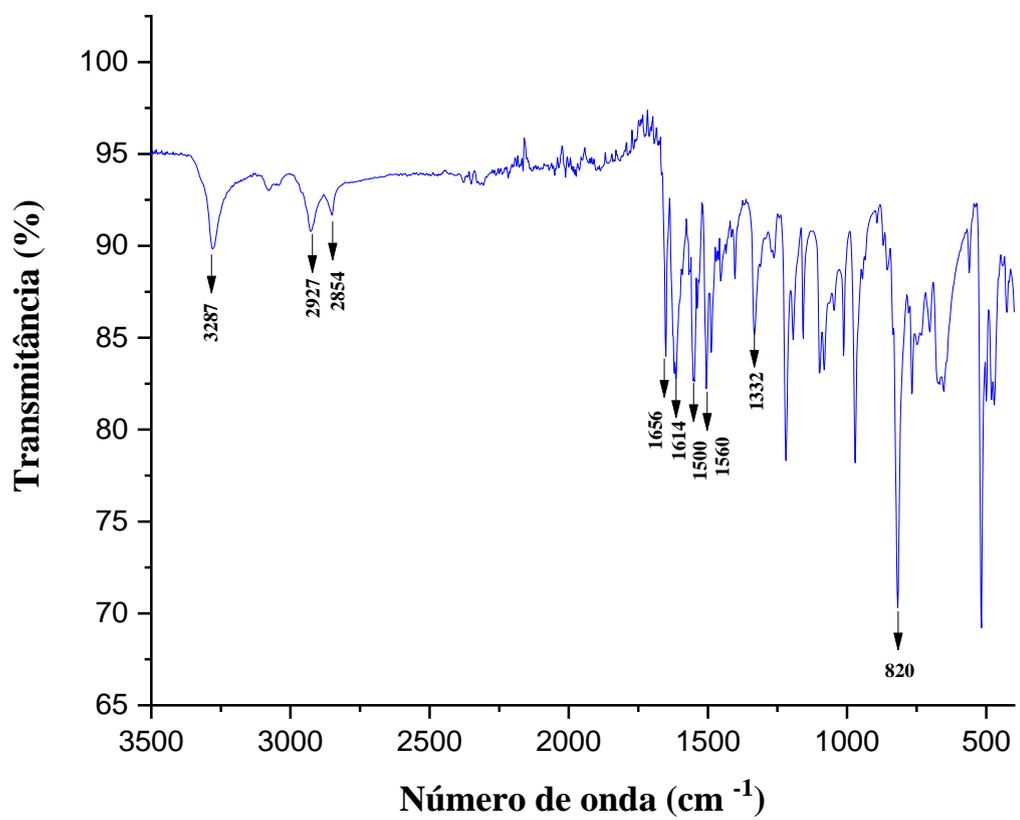
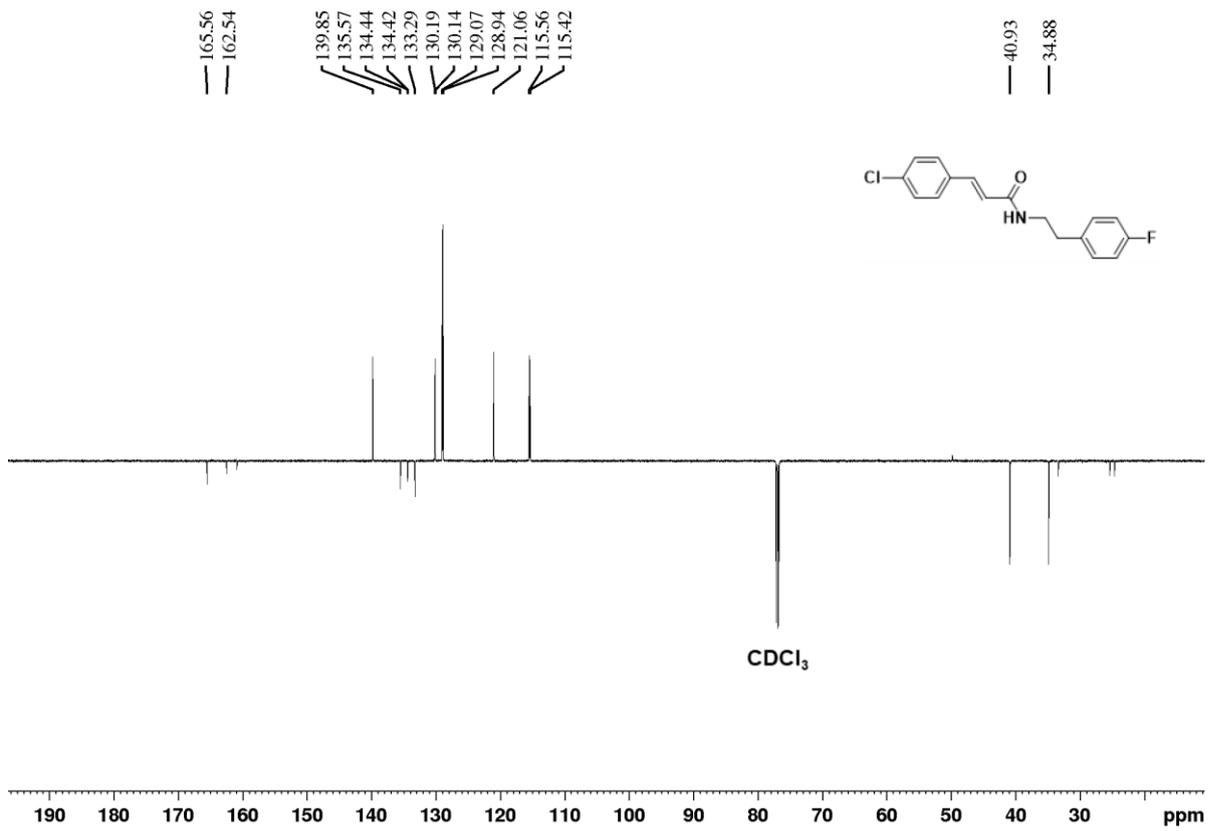
N-fenetilcinamamida (AF08)



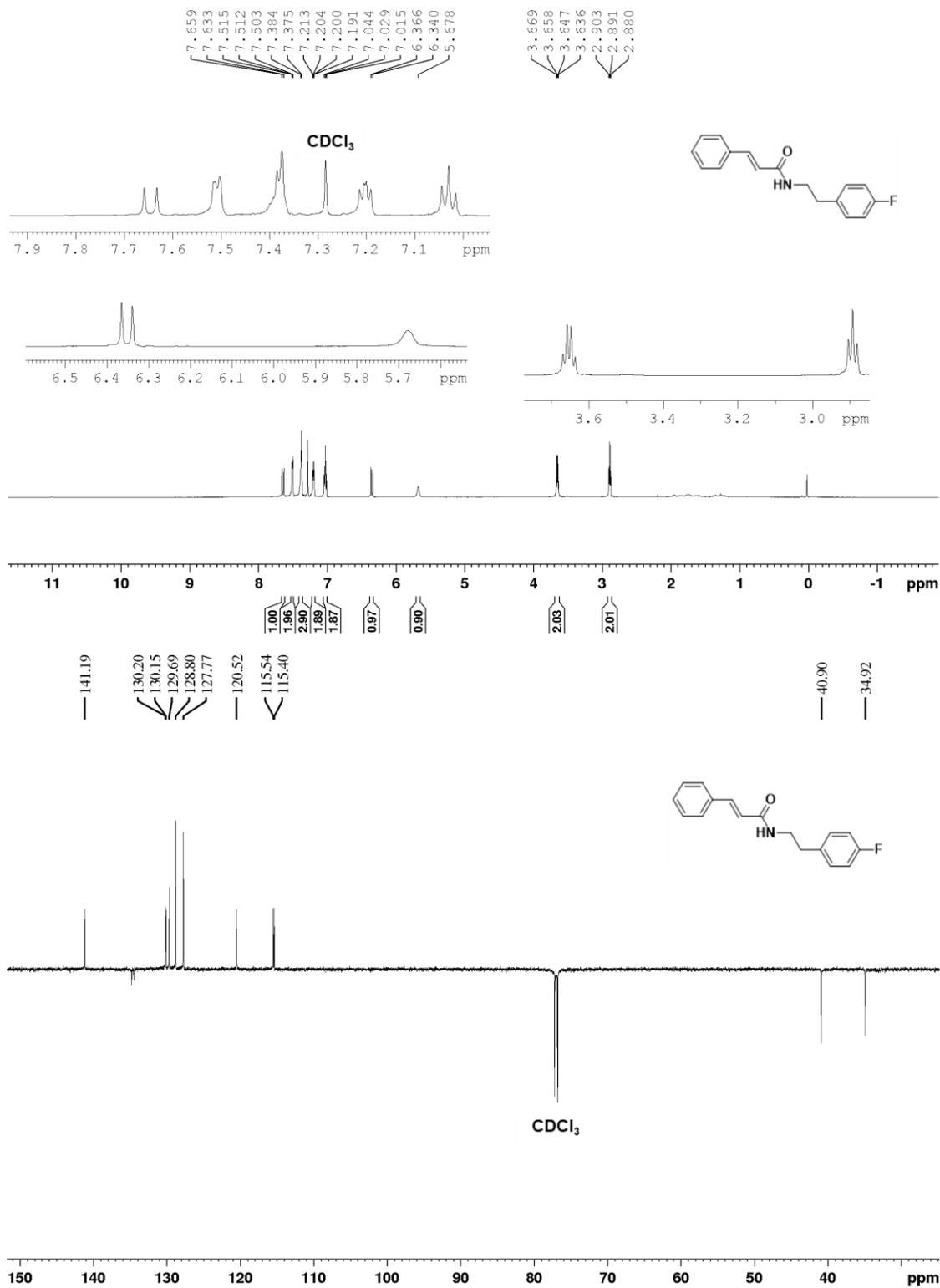


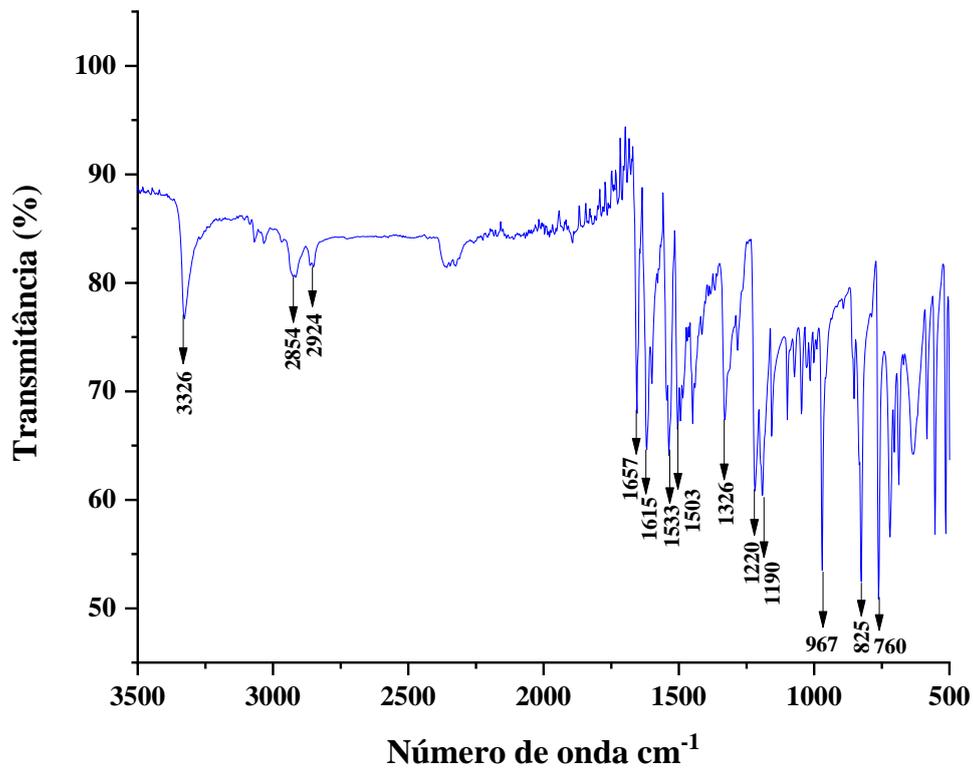
(E)-3-(4-clorofenil)-N-(4-fluorofenil)acrilamida (AF13)



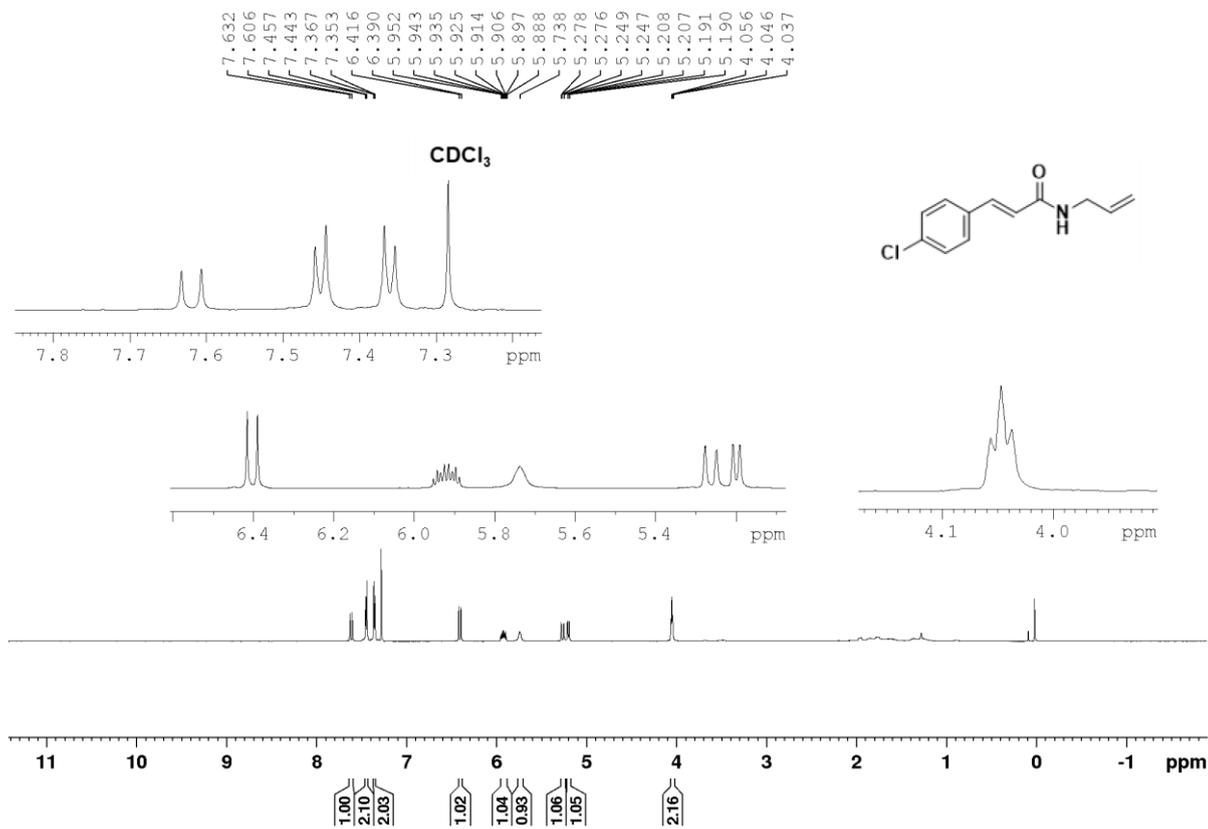


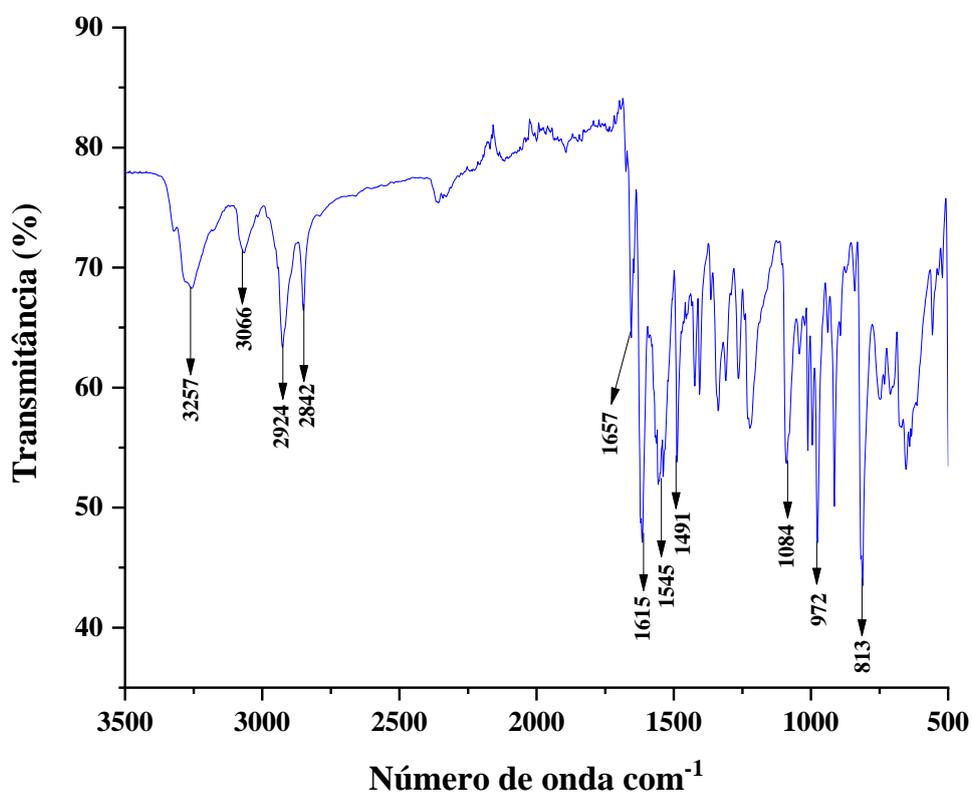
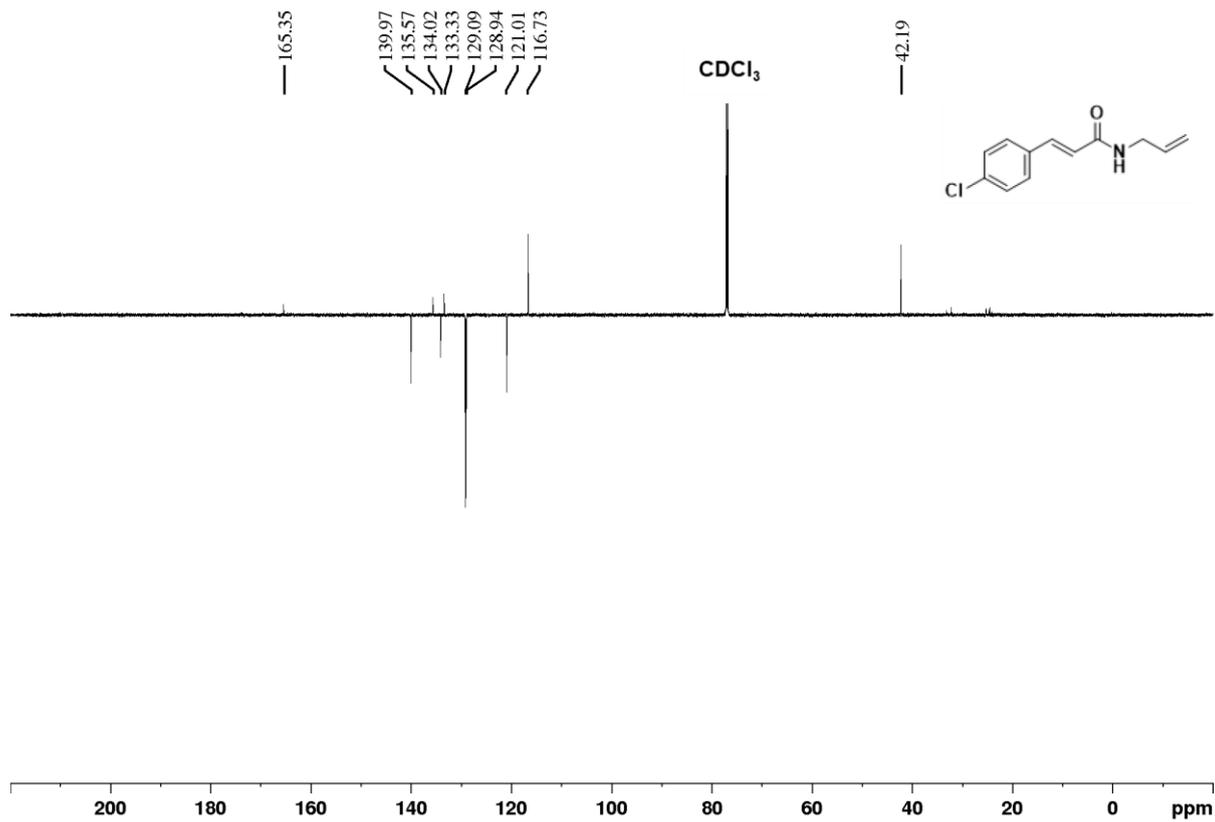
N-(4-fluorofenil)cinamamida (AF12)



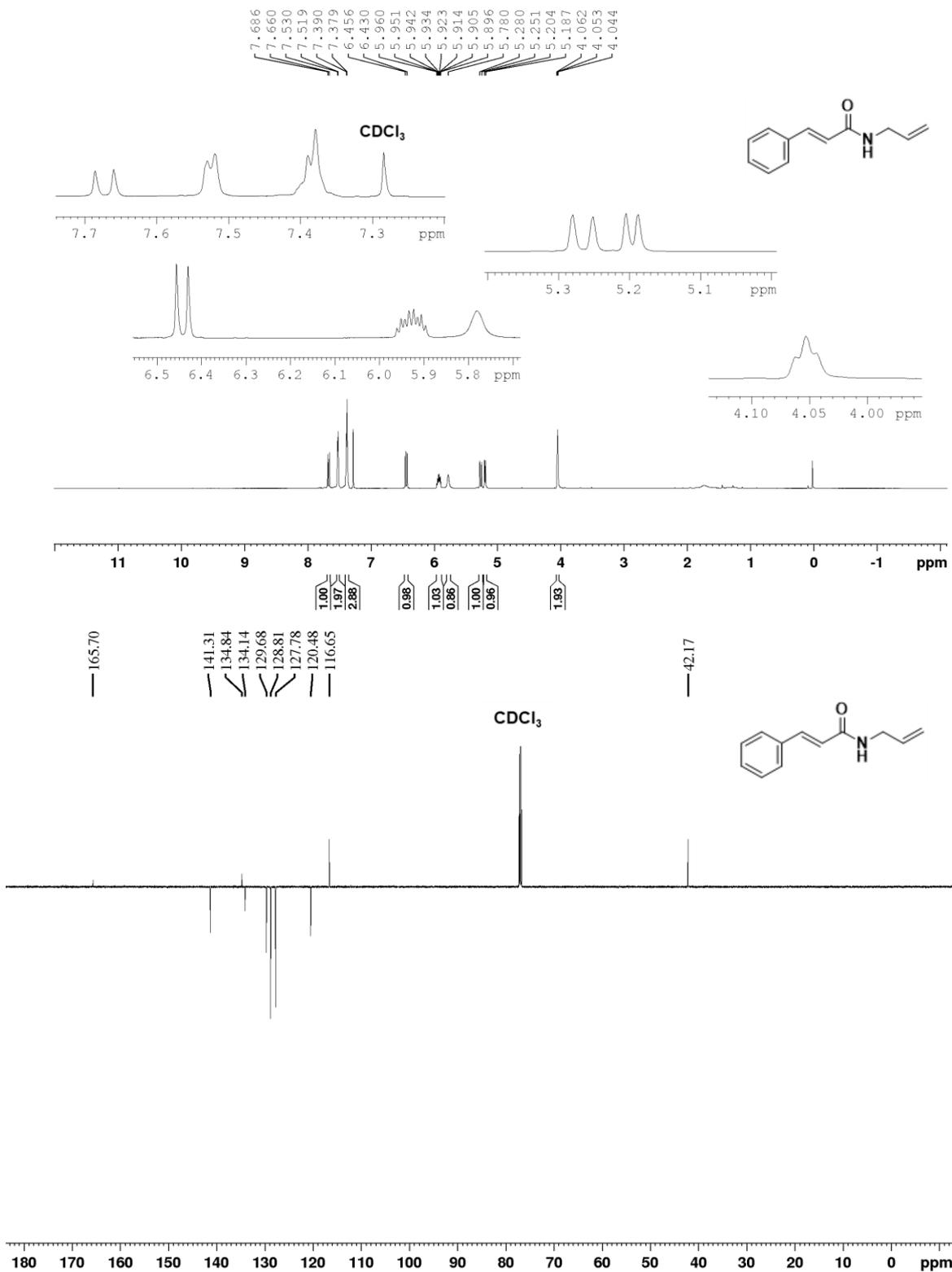


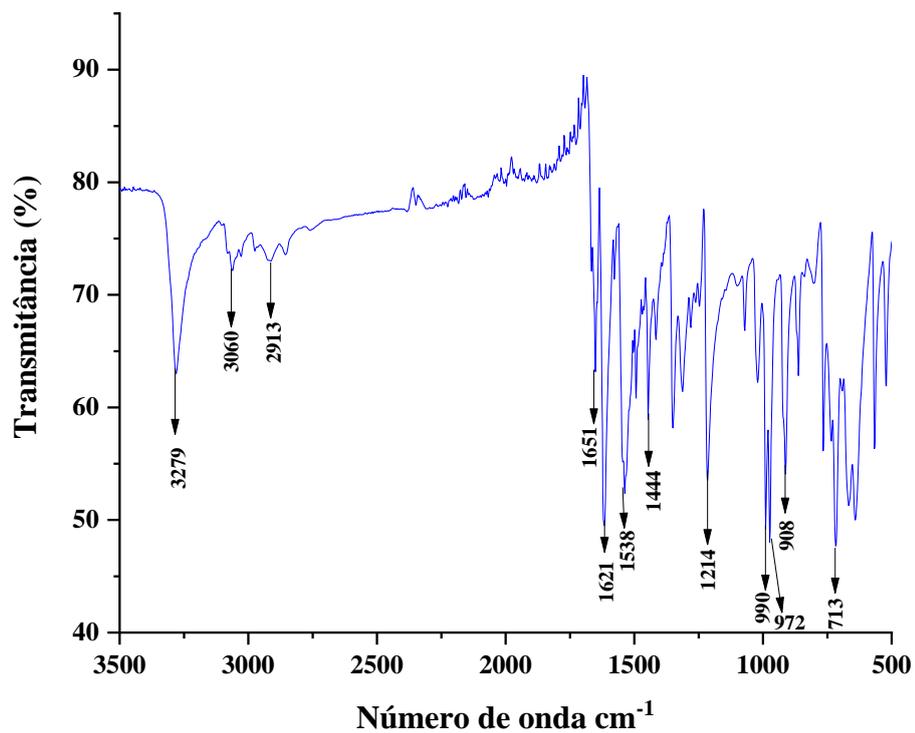
(E)-N-aliil-3-(4-clorofenil)acrilamida (AF15)



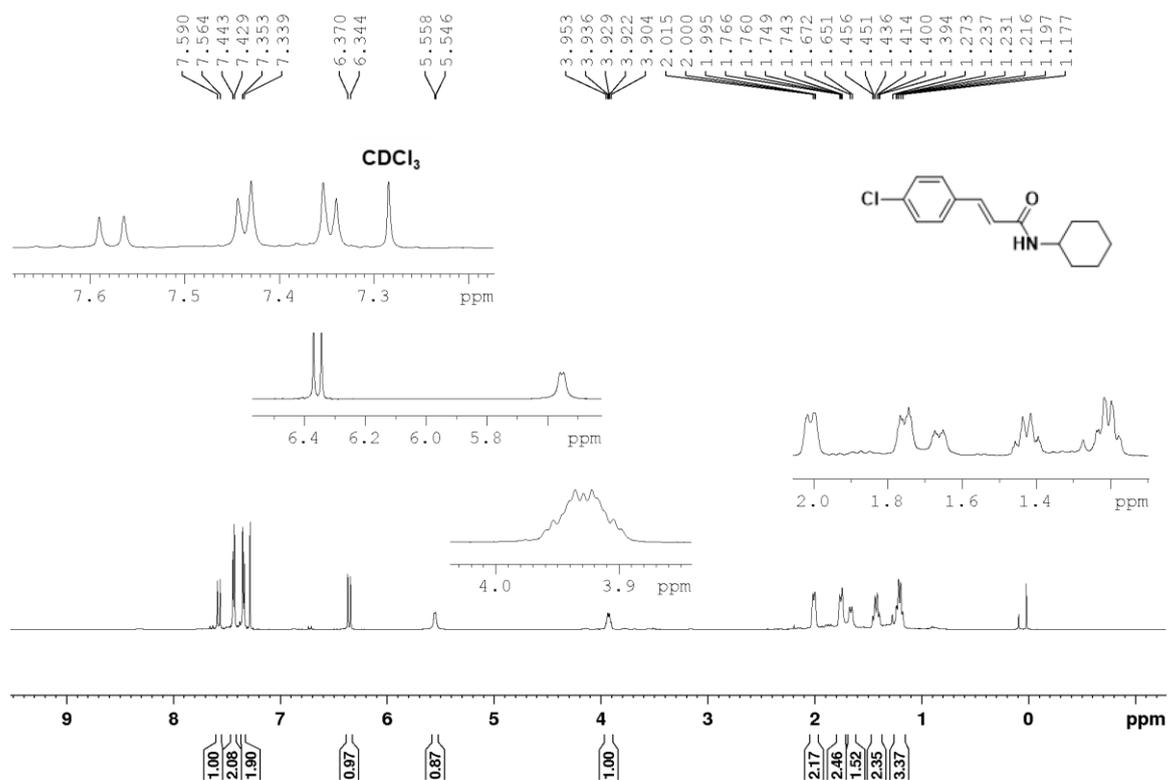


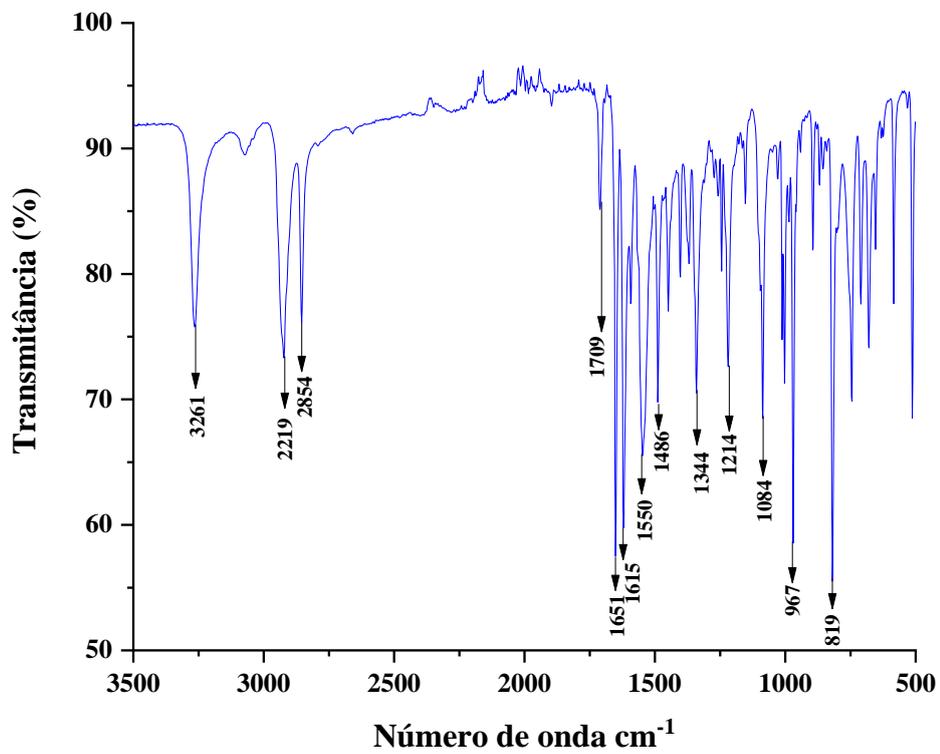
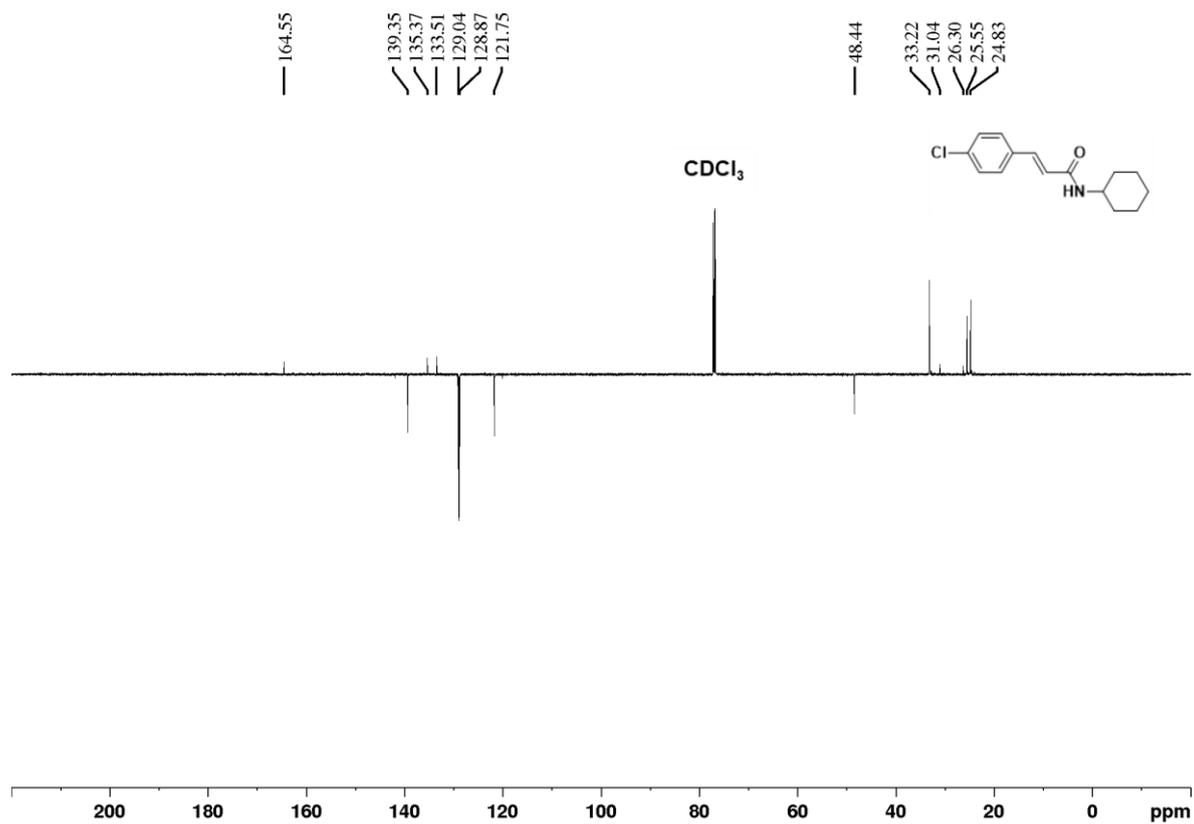
N-allylcinnamida (AF18)



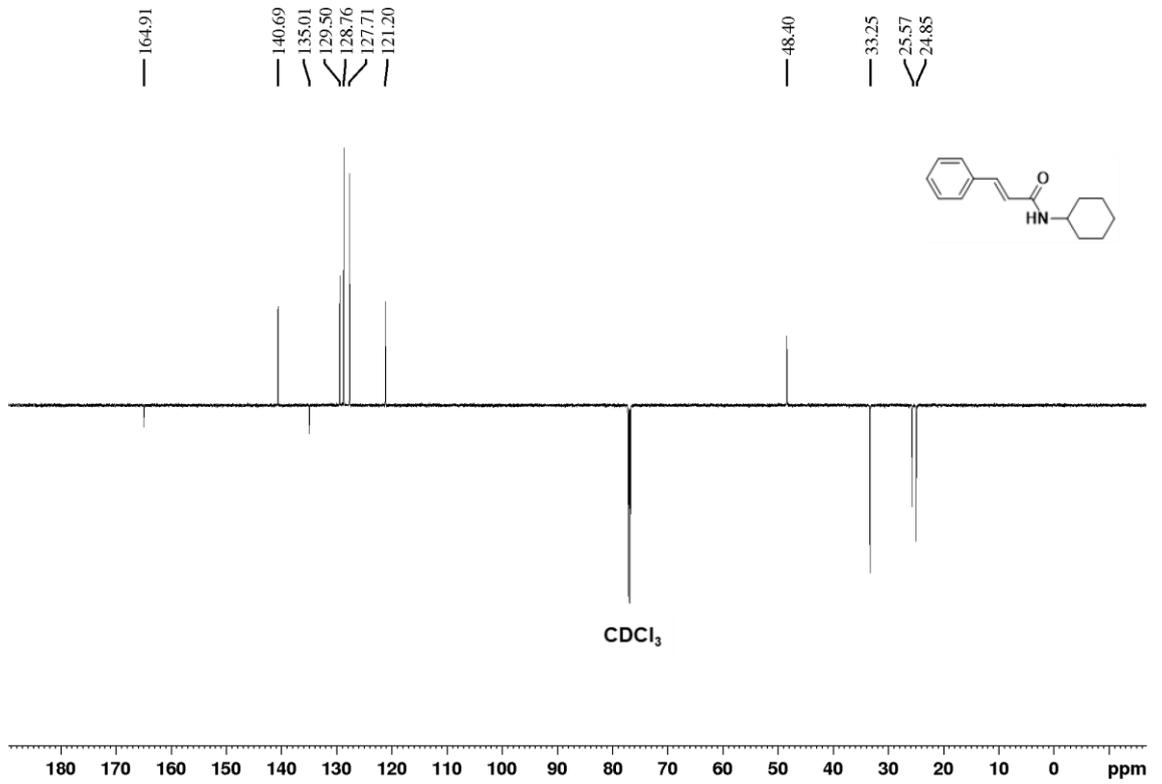
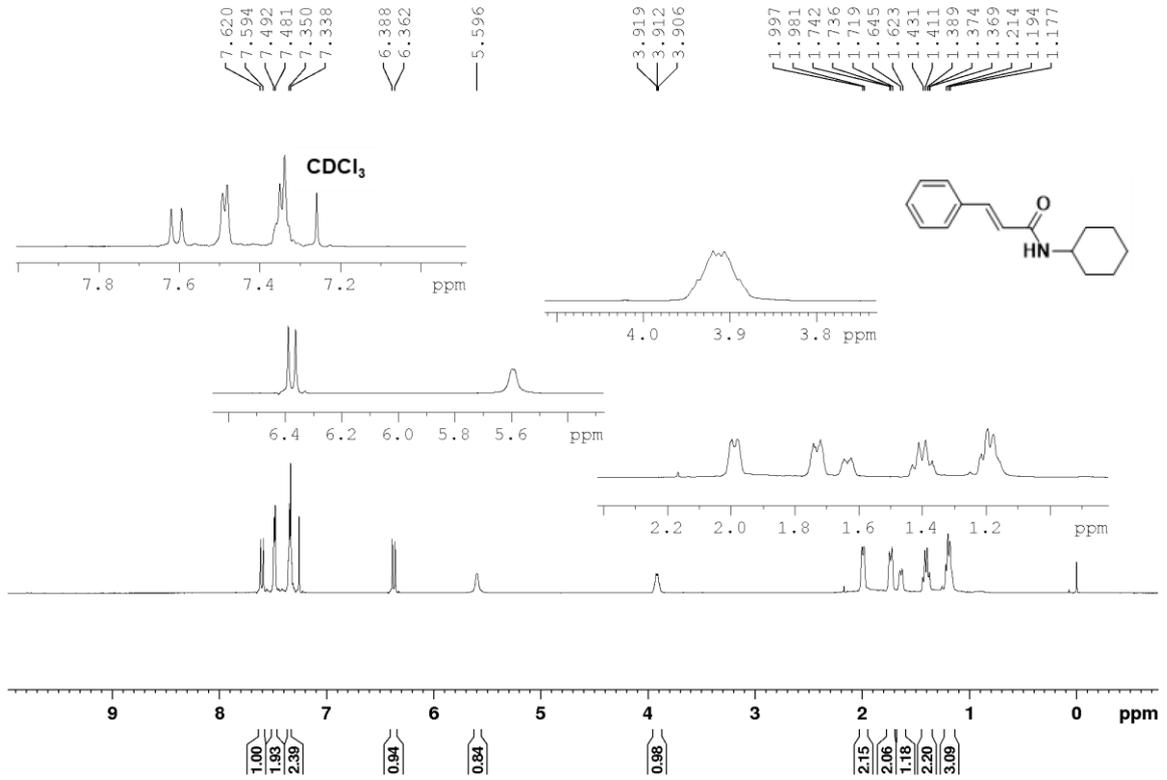


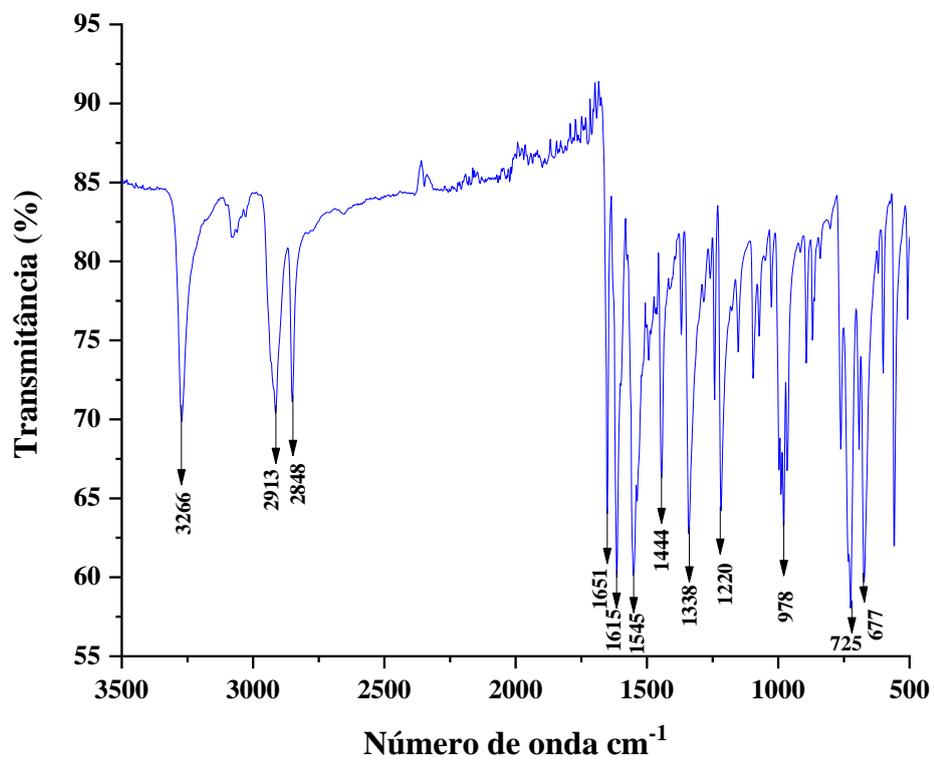
(E)-3-(4-clorofenil)-N-ciclohexilacrilamida (AF19)



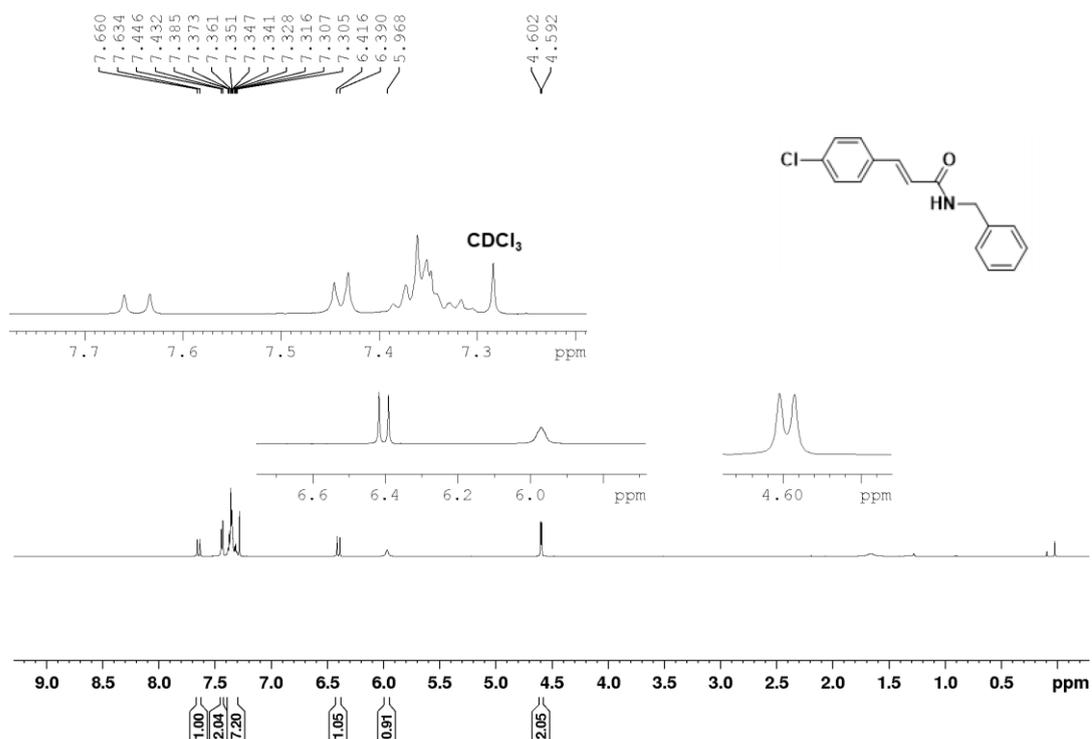


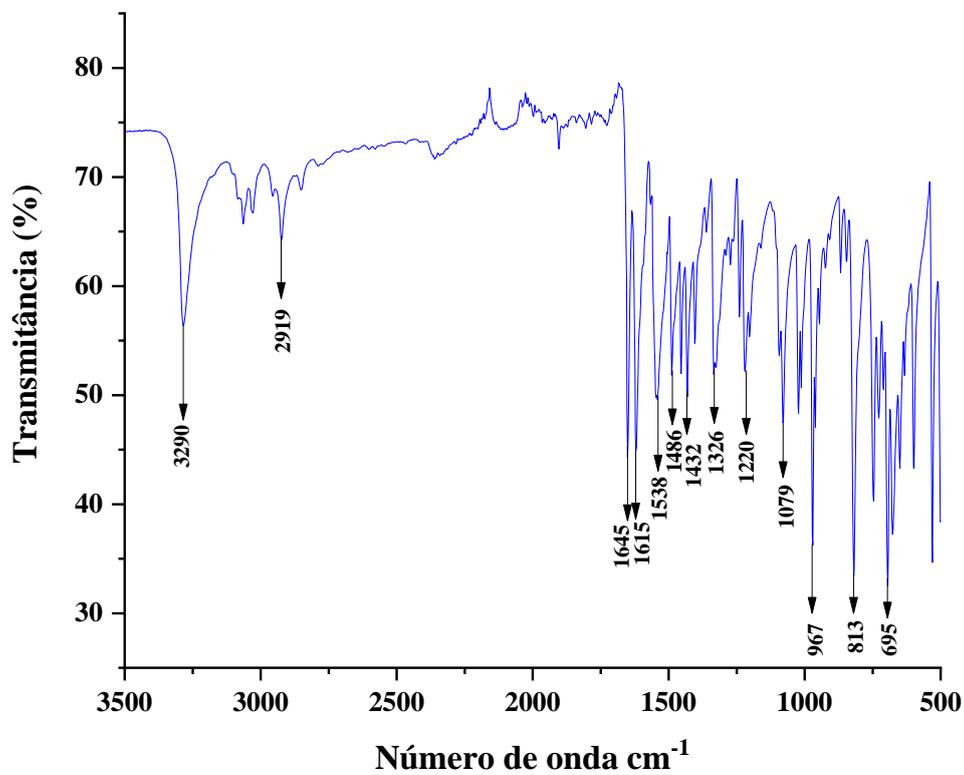
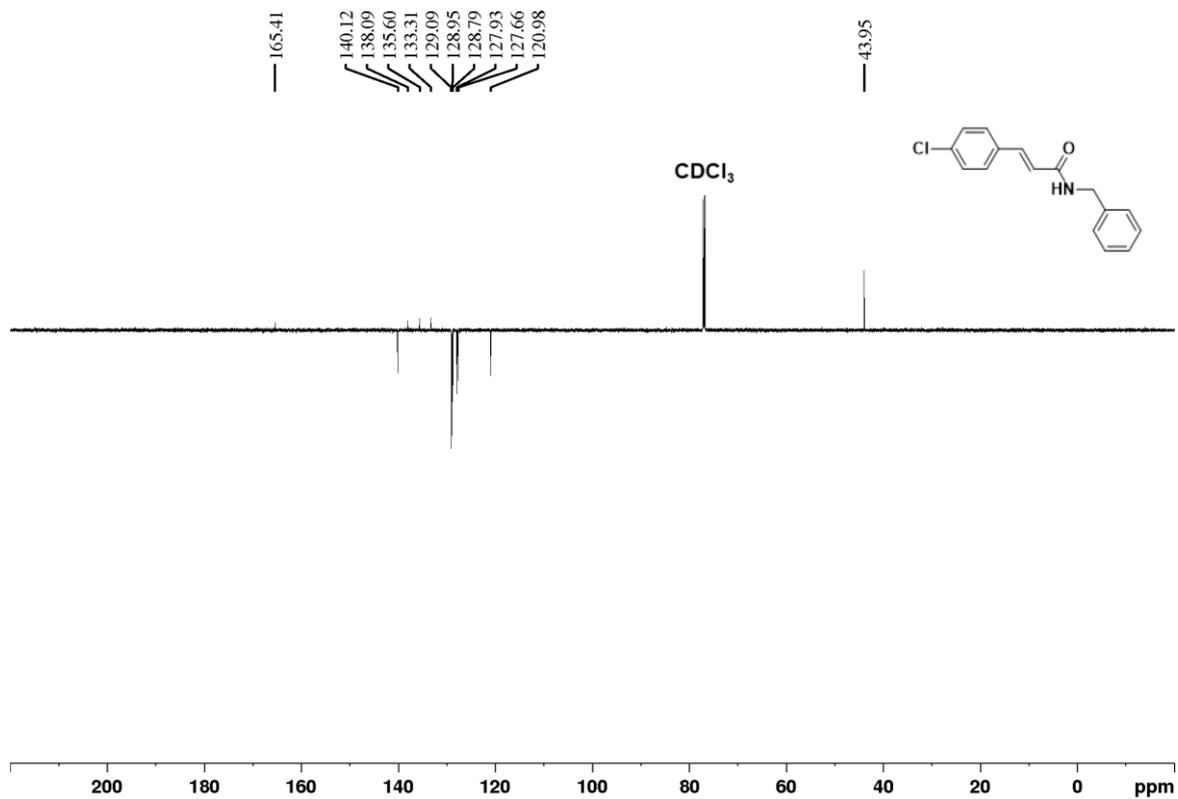
N-ciclohexilcinamamida (AF16)



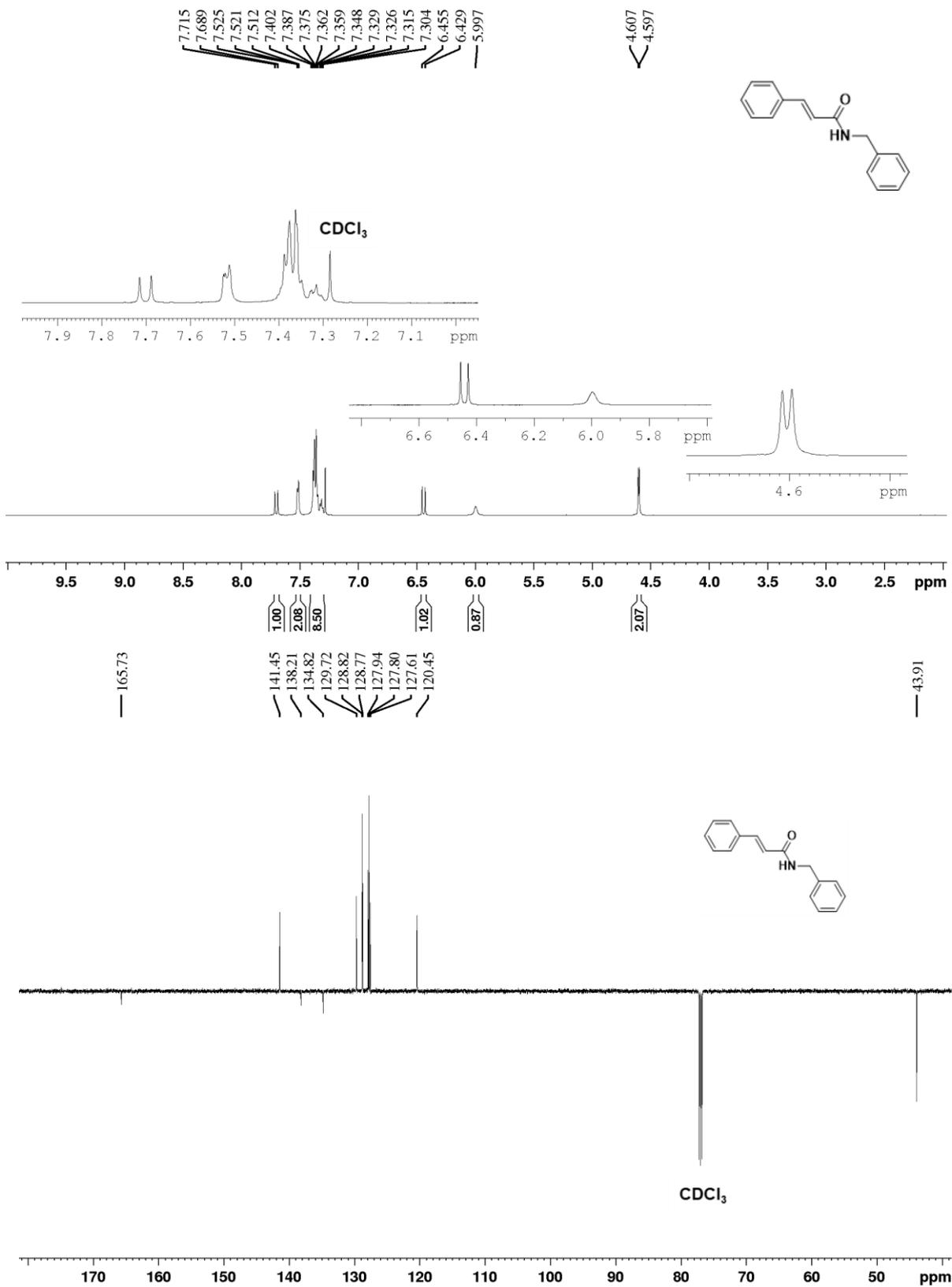


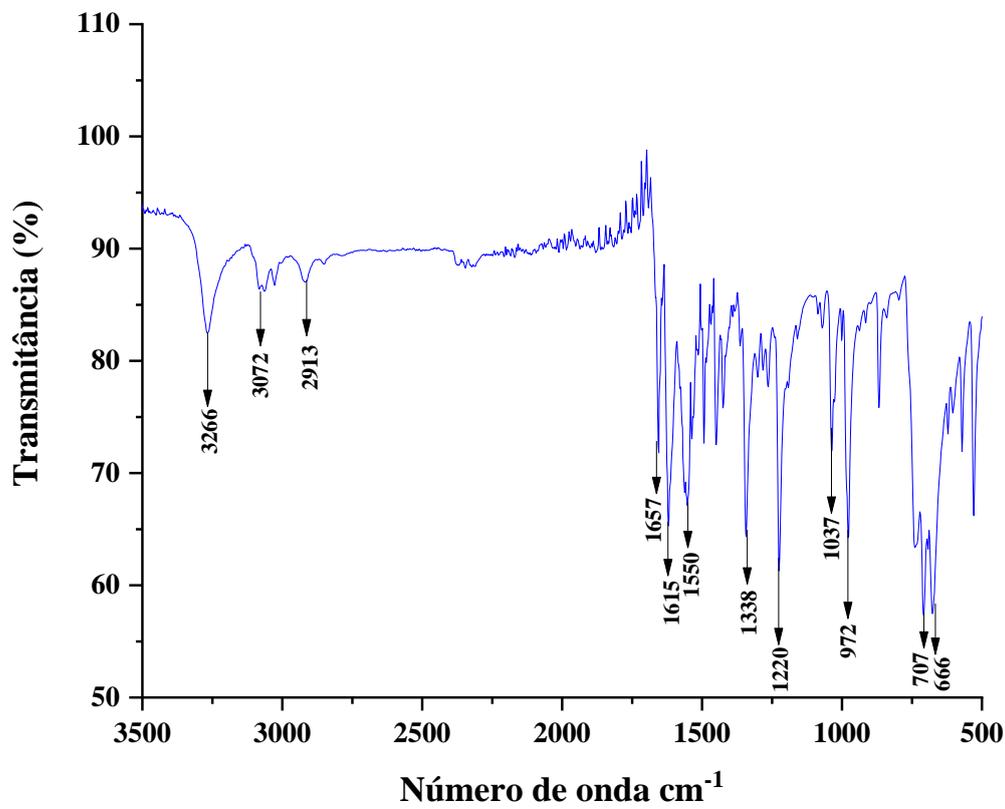
(E)-N-benzil-3-(4-clorofenil)acrilamida (AF20)



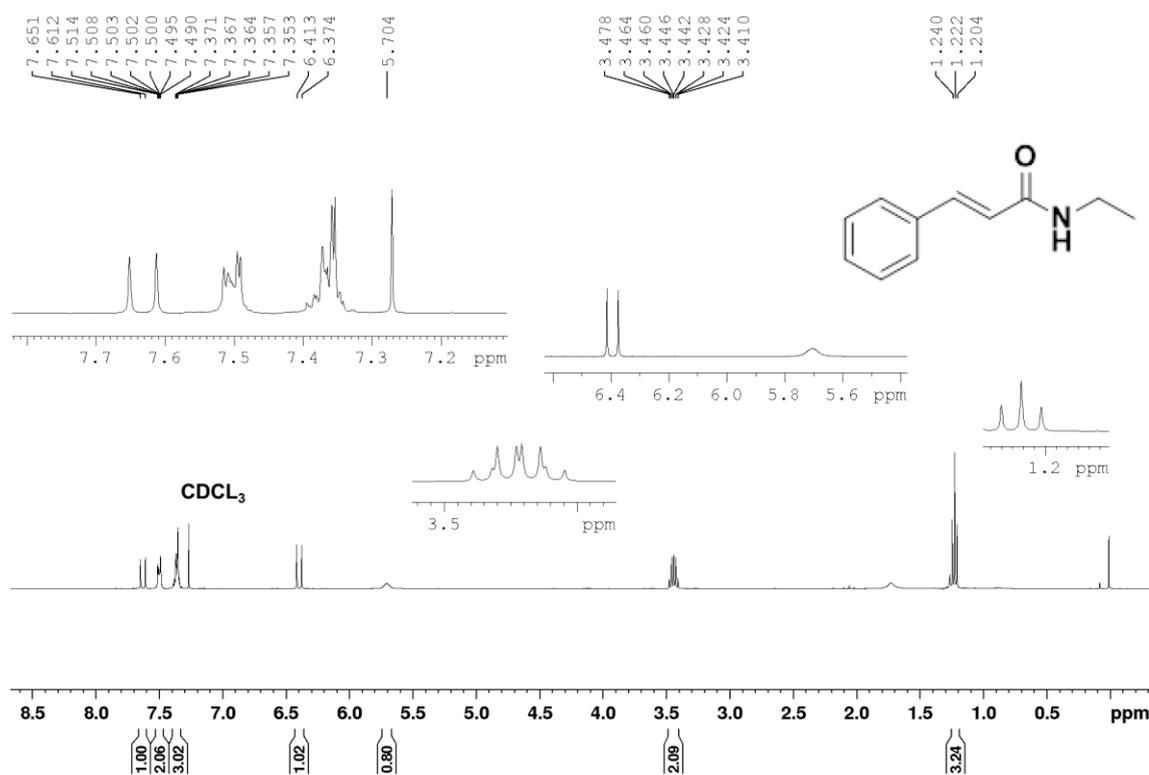


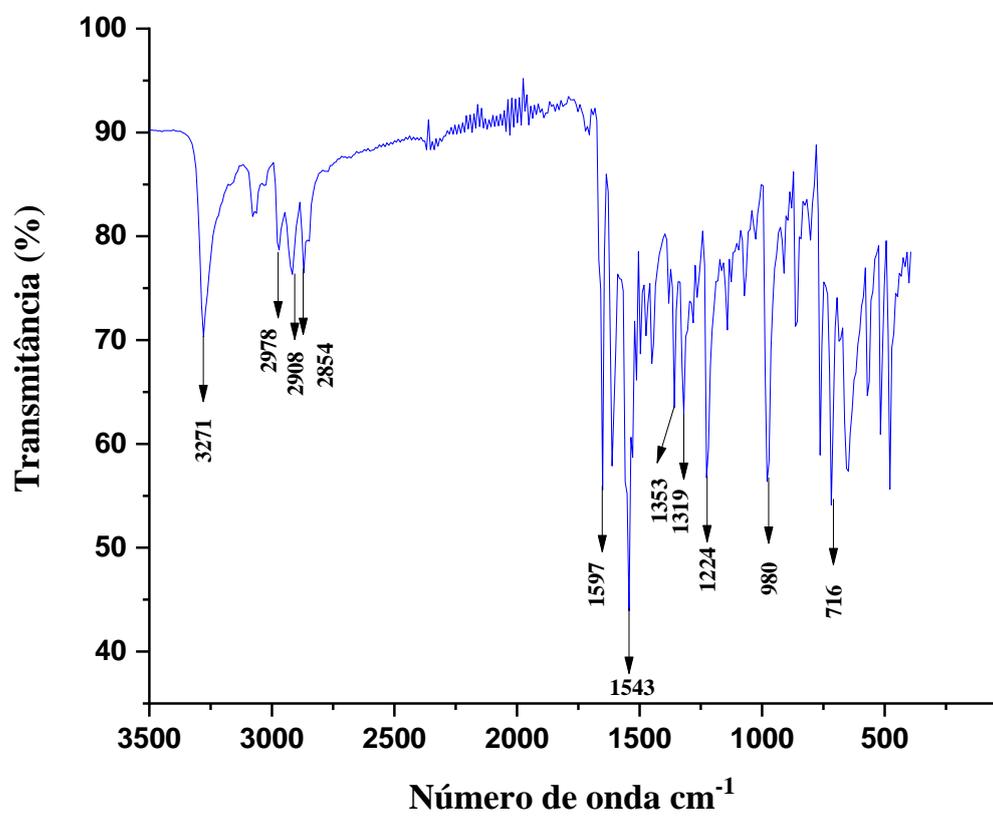
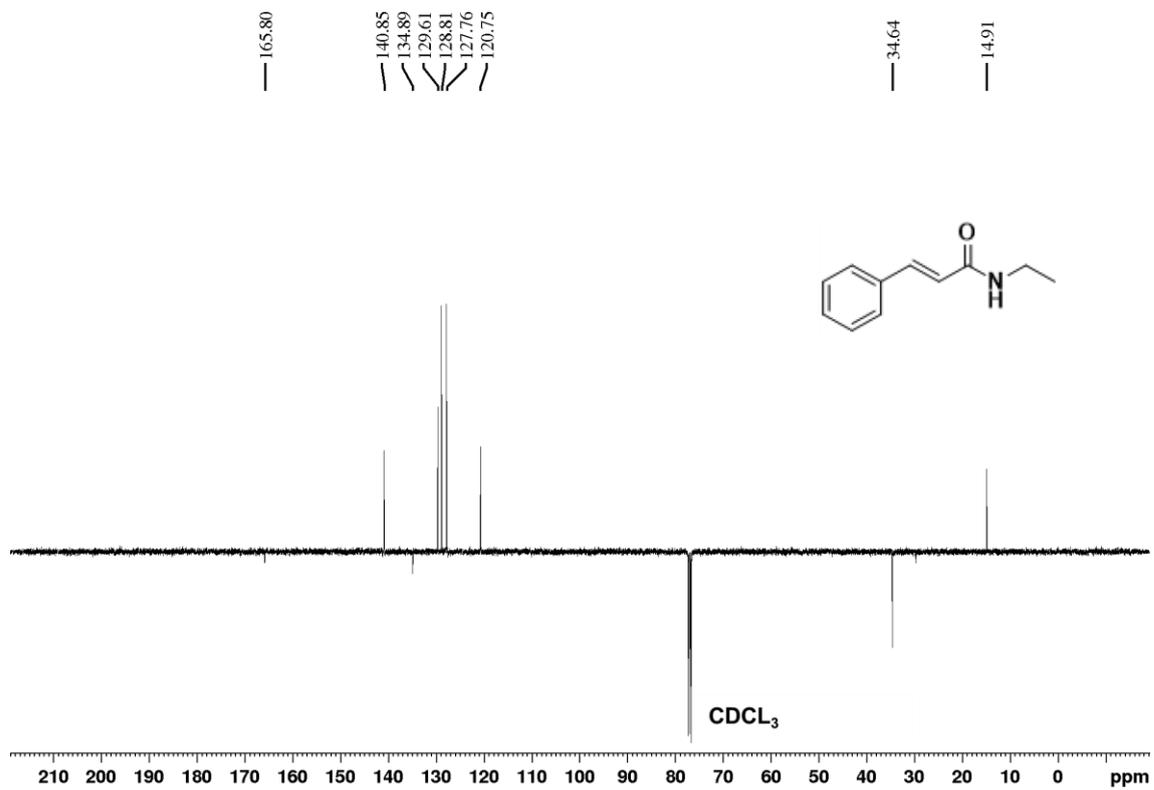
N-benzilcinamida (AF17)





Etilcinamamida (AF10)





***p*-cloro etilcinamamida (AF11)**

