



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

CAIO DE AZEVEDO LIMA
16/0115043

BENZILIDENOMALONONITRILA E AMIDA: SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES EM AEDES
AEGYPTI

Brasília - DF

2021

CAIO DE AZEVEDO LIMA

**BENZILIDENOMALONONITRILA E AMIDA: SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES EM AEADES AEGYPTI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito à conclusão da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) e obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião José de Melo.

Coorientador: Prof. Dra. Lorena Carneiro Albernaz.

Brasília - DF

2021

FOLHA DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito à conclusão da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) e obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

SÍNTESE DE ARILIDENOS E AMIDAS POR MEIO CONVENCIONAL E POR IRRADIAÇÃO DE ULTRASSOM E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES EM *AEDES AEGYPTI*

CAIO DE AZEVEDO LIMA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APROVADO em: __/__/__ por:

Prof. Dr. Sebastião José de Melo (presidente)

Prof (a) Dra. Mariana Mesquita (membro avaliador)

Brasília – DF

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus e ao Senhor Jesus por me conceder além do privilégio da vida, inúmeras oportunidades de educação e aprendizado e por estar ao meu lado como amigo fiel em todos os momentos. Agradeço aos meus familiares por todo amor, apoio, carinho, compreensão e incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho, durante toda minha vida, na minha criação e por conseguinte na realização da minha graduação. Em especial e amorosamente, a minha parceira e, por enquanto, única participante do meu novo núcleo familiar, minha esposa, Priscila Campos Marques Crespo Lima. Que entre me incentivar, zelar, amar e compartilhar dos fardos da vida, segurou ativamente minha mão, como amiga inseparável e indômita diversas vezes no desenvolver e atenção ao detalhe desse trabalho e nunca desistiu de mim, nem mesmo quando eu o fazia, te amo. Agradeço especialmente a minha mãe Adriane Alves de Azevedo Lima por todos esses anos me criar com esmero e com infinito amor e dedicação, devoção sempre acreditar no meu potencial e desejar o melhor pra mim sempre. Agradeço ao meu pai Cláudio Romildo Magalhães Lima por todo suporte, amor, sustento e investimento na minha formação. Minha irmã, Camila de Azevedo Lima, por sempre acreditar na minha capacidade e investir ativamente na busca do meu sonho de formação. Ao meu irmão, Cláudio de Azevedo Lima por ser meu amigo e inspirar a sempre me posicionar pelo que quero e acredito. A minha tia Artemiza Alves de Azevedo, por ser como uma segunda mãe e me auxiliar em tudo quanto pôde desde minha infância com carinho. A meu primo Gabriel Lima Miranda Leite, pela amizade, suporte e incontáveis vezes me conceder um ombro e ouvido amigo, quando eu não podia recorrer a mais nenhum. Agradeço aos meus amigos e colegas do curso de Farmácia da UnB pela amizade, companheirismo, pela paciência e pelas horas de conversa intermináveis e inesquecíveis que tantas vezes me sustentaram e me puxaram para cima, em momentos difíceis. Agradeço aos colegas de laboratório que me ensinaram muito e me ajudaram em todas as etapas do trabalho. Agradeço à professora Dra. Laila Salmen Espindola, por ter acreditado no meu potencial, me acolher e ter me proporcionado tantas oportunidades de trabalho, aprendizado e desenvolvimento com tanto carinho. Agradeço à professora Dra. Lorena Carneiro Albernaz pelos

ensinamentos, introdução na farmacobotânica, auxílio e orientação desde meu primeiro estágio no laboratório. Agradeço intensamente ao Prof. Dr Sebastião José de Melo, por ter aceitado me orientar nesse trabalho e ajudado imensamente no desenvolvimento do mesmo, além mansidão, amizade e inspirador amor pela ciência. Agradeço à professora Dra.Mariana Mesquita, pelos ensinamentos, e aprofundamento em farmacognosia, dos quais me lembro com carinho e me inspiraram a trabalhar no laboratório. Agradeço aos colegas do Laboratório de Farmacognosia, por toda a disposição em ensinar e ajudar nos trabalhos desenvolvidos. Agradeço aos membros da banca Mariana Mesquita e Sebastião José de Melo, pela disposição e gentileza de avaliar meu trabalho. Agradeço a Universidade de Brasília por toda a formação e oportunidades de desenvolvimento profissional e a todos professores que contribuíram para que eu chegasse até aqui. Por fim, agradeço a Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica e oportunidade de realização deste trabalho.

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor de doenças de importância pública conhecidas como arboviroses (Dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela). Dessa forma, o controle entomológico é uma eficaz estratégia no combate a essas doenças. Porém, os mosquitos dessa espécie desenvolvem resistência a diversos inseticidas químicos. Desenvolver novos produtos capazes de controlar a proliferação do vetor é uma estratégia possível e necessária. Dentro desse contexto, os compostos nitrogenados como derivados arilidenos de nitrila e amidas apresentam-se como um bom foco de pesquisa na busca de novas moléculas destinadas ao combate das arboviroses, tendo em vista as várias atividades biológicas descritas. Neste trabalho, foi realizada a síntese, purificação, elucidação e testes de atividade inseticida em todas as fases do ciclo de vida do *Aedes Aegypti*, limitando os testes em mosquitos adultos a substância Arbo29A046 por déficit na população de mosquitos adultos disponíveis. As substâncias Arbo29A046, Arbo29A047, Arbo29A048A e Arbo29A048B foram sintetizadas e purificadas por cromatografia em coluna quando necessário. S1, uma substância pura testada, não fez parte das sínteses, mas faz parte dos estudos por ter como precursor a condensação de Knoevenagel usada nos arilidenomalononitrilas sintetizados. A substância Arbo29A048B demonstrou atividade satisfatória em larvas L3 de 87,5% em 72 horas na concentração de 100 µg/mL. A substância sintetizada Arbo29A047 demonstrou atividade, mas devido a limitações impostas em sua elucidação molecular não foi o foco desta pesquisa. S1 demonstrou resultado promissor no teste de atividade pupicida que em poucas horas na concentração de 100 µg/mL obteve 100% de mortalidade. Vale ressaltar, que dentre as fases do ciclo de vida do mosquito demonstra-se, geralmente a mais desafiadora. A partir das análises por meio de Ressonância magnética nuclear e Espectrometria de massas, foi possível constatar que os produtos obtidos são os esperados das reações realizadas, que traduz sucesso nas realizações das sínteses.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, Derivados arilidenos de nitrila, Amidas, Larvicida, Pupicida, Adulticida, RMN, Espectrometria de Massas.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the vector of diseases of public importance known as arboviruses (Dengue, Zika, Chikungunya and yellow fever). Thus, entomological control is an effective strategy to combat these diseases. However, mosquitoes of this species develop resistance to various chemical insecticides. Developing new products capable of controlling vector proliferation is a possible and necessary strategy. Within this context, nitrogen compounds such as arylidene derivatives of nitrile and amides are a good focus of research in the search for new molecules aimed at combating arboviruses, in view of the various biological activities described. In this work, the synthesis, purification, elucidation and tests of insecticidal activity were carried out in all phases of the life cycle of *Aedes Aegypti*, limiting the tests in adult mosquitoes to the substance Arbo29A046 due to a deficit in the population of available adult mosquitoes. The substances Arbo29A046, Arbo29A047, Arbo29A048A and Arbo29A048B were synthesized and purified by column chromatography when necessary. S1, a pure substance tested, was not part of the syntheses, but is part of the studies for having as a precursor the condensation of Knoevenagel used in the synthesized arylidenomalononitriles. The substance Arbo29A048B demonstrated satisfactory activity in L3 larvae of 87.5% in 72 hours at a concentration of 100 µg/mL. The synthesized substance Arbo29A047 showed activity, but due to limitations imposed on its molecular elucidation it was not the focus of this research. S1 showed a promising result in the pupicidal activity test that in a few hours at a concentration of 100 µg/mL achieved 100% mortality. It is noteworthy that, among the phases of the mosquito life cycle, it is generally the most challenging. From the analyzes using nuclear magnetic resonance and mass spectrometry, it was possible to verify that the products obtained are those expected from the reactions carried out, which translates success in the accomplishment of the syntheses.

Key words: *Aedes aegypti*, Nitrile Arylidene Derivatives, Amides, Larvicide, Pupicide, Adulticide, NMR, Mass Spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura química de um arilidenomalononitrilas.....	13
FIGURA 2 – Derivados benzilidenomalononitrilas.....	15
FIGURA 3 – Compostos obtidos a partir de benzilidenomalononitrilas.....	16
FIGURA 4 – Estrutura química do grupo amida.....	17
FIGURA 5 – Nona-(2Z)-en-6,8-diynoic acid 2-phenylethylam e deca-(2Z)-en-6,8-diynoic acid 2-phenylethylamide.....	18
FIGURA 6 – Estrutura química da piperonalina.....	19
FIGURA 7 – Estrutura química da piperlonguminina.....	19
FIGURA 8 – Estrutura química da pipsaedina.....	19
FIGURA 9 – Estrutura química da pipbinina.....	20
FIGURA 10 – Estrutura química do terc-butil dodecadienamina.....	20
FIGURA 11 – Estrutura química do terc-butilhexadecadienamida.....	20
FIGURA 12 – Estrutura química dos derivados do ácido químico com melhor atividade.....	21
FIGURA 13 – Amidas análogas de pellitorina e dihidropipercida com potentes atividades contra <i>C.</i> <i>Chinensis</i>	22
FIGURA 14 – Estrutura química da amida inseticida derivada da piperina.....	22
FIGURA 15 – Esquema geral de síntese dos benzilidenomalononitrilas.....	25
FIGURA 16 – Esquema de condensação entre o aldeído e a malononitrila, em meio básico.....	26
FIGURA 17 – Esquema de formação da arilidenomalonitrila.....	27
FIGURA 18 – Esquema de síntese da amida.....	29
FIGURA 19 – Mecanismo para a formação da amida.....	29
FIGURA 20 – Mecanismo para a formação do éster.....	30
FIGURA 21 – Estrutura dos produtos e coproduto obtidos na realização das sínteses.	30

FIGURA 22 –Benzaldeído para 3a e 2-furanoaldeído para 3b.....	31
FIGURA 23 – Estrutura química da amida sintetizada: Arbo29A048B.....	33
FIGURA 24 – Esquema reacional do procedimento experimental utilizado neste trabalho.....	33
FIGURA 25 – Estrutura do éster (A).....	34
FIGURA 26 – Fases do ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	35
FIGURA 27 – Estrutura química dos produtos e coproduto obtidos na realização das sínteses.....	38
FIGURA 28 – Análise espectroscópica do 2-(2'-metil-4'-metoxibenzilideno)malononitrila.....	39
FIGURA 29 – N-(2,4-dimetoxibenzil)cinamamida	40
FIGURA 30 – Espectrometria de massas de alta resolução correspondente ao íon molecular do Arbo29A048B.....	41
FIGURA 31 – Espectrometria de massas de alta resolução correspondente ao íon molecular de Arbo29A046	38
FIGURA 32 – CCD de Arbo29A046 sistema eluente Hexano: acetato da esquerda para a direita (0,2;9,8), (1:9) e (9,8;0,2)	48
FIGURA 33 – CCD sistemas Hexano : Acetato da esquerda para direita: (9,6;0,4)(9,4;0,6) (9:1)e (9,9;0,1)	48
FIGURA 34 – CCD sistemas Hexano : Acetato : (9,9;0,1).....	48
FIGURA 35 – CCD sistemas : Acetato : (7 : 3), CCD de término de reação de Arbo029A47.....	49
FIGURA 36 - CCD de 2,4-Dimetoxibenzilamina, Ácido cinâmico (Arbo 155), DCC e meio reacional (esquerda para direita). eluente: Hexano : Acetato de etila : (7 : 3) (A), (8 : 9) (B), (9 : 1) (C) (6 : 4) (D)	50

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Rendimento das sínteses realizadas confirmadas por espectrometria.....	39
---	----

QUADRO 2 – Resultados de testes larvicidas dos produtos de todas as sínteses.....	43
QUADRO 3 – Resultados de testes adulticidas do produto Arbo29A046.....	43
QUADRO 4 – Resultados de testes pupicidas dos produtos de todas as sínteses.....	43
QUADRO 5 – Resultados de testes relativas a estrutura molecular.....	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia de camada delgada
DENV	Vírus da Dengue
DMSO	Dimetilsulfóxido
RF	Índice de Retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UNB	Universidade de Brasília
ZKV	Vírus Zika

Sumário

1 Introdução	07
2 Fundamentação Teórico- Metodológica	09
2.1 Derivados arilidenos	12
2.2 Amidas	16
<i>2.2.1 Definição química e propriedades biológicas de amidas</i>	17
<i>2.2.1.1 Atividades de amidas naturais relacionadas à dengue</i>	18
<i>2.2.1.2 Atividades de amidas sintéticas relacionadas à Dengue</i>	20
2.3 Análise por ultrassom e utilização de RMN de Hidrogênio	23
3 Método	24
3.1. Síntese do aduto de knoevenagel	30
3.2. Síntese da amida	32
<i>3.2.2. Estrutura do éster intermediário (proposto neste trabalho)</i>	33
3.3 Acompanhamento por Cromatografia de Camada Delgada	34
3.4 Preparação para RMN	34
3.5 Criação de mosquitos	34
3.6 Testes em Aedes Aegypti	36
4 Resultados e Discussão	37
4.1. Elucidação por RMN	39
4.2 RMN de ¹³C 75MHz e Espectrometria de massas	41

4.3 Resultados dos testes em Aedes Aegypti	43
4.4 Cromatografia de camada delgada	47
4.4.1 CCD Arbo29A046	47
4.4.2 CCD Arbo29A07	49
4.4.3 CDD de Arbo29A048A e Arbo29048B	50
5 Conclusões	50
Referências	52
Anexo	56
Materiais usados	56
Imagens de RMN	57

1 Introdução

O Brasil e o mundo estão buscando novas formas eficazes de controle dos mosquitos responsáveis pela transmissão dos arbovírus, responsáveis por doenças infecciosas tropicais, que impactam significativamente na saúde pública. Conforme abordado por Donalísio, Freitas e Zuben (2017) essas doenças têm se alastrado pelo mundo e causado epidemias em decorrência de mudanças climáticas, crescimento urbano desordenado, ampliação do intercâmbio internacional e crescente globalização. Estes fatores favoreceram a adaptação urbana destes mosquitos e o consequente aumento da transmissão de arbovírus a seres humanos.

Os tratamentos disponíveis para estas doenças ainda são bastante limitados, restringindo-se ao controle dos sintomas apresentados pelos doentes. A prevenção para tais, assim como o tratamento, ainda é limitada. Lindsay (2017) relata em sua pesquisa que, atualmente disponibilizam-se vacinas contra febre amarela, contudo estas não estão disponíveis para Zika (ZKV) e Chikungunya. A vacina disponibilizada pelos serviços de saúde contra a dengue ainda não é eficaz, o que reitera fortemente a necessidade de combate ao vetor dessas doenças. A vacina contra a dengue aprovada no Brasil, a Dengvaxia, da Sanofi-Pasteur, só está disponível na rede particular, e para quem já teve a doença. Ou seja, é preciso fazer um teste sorológico para verificar a presença de anticorpos, já que nem sempre a infecção provoca sintomas, ou ter recebido a confirmação no passado. Isso porque, em indivíduos sem contato prévio com o vírus, o imunizante pode provocar um quadro chamado de antibody-dependent-enhancement (ADE), “amplificação da doença causada por anticorpos”, em tradução livre. Nessa situação, há o risco de desenvolver quadros mais graves de dengue ao ser infectado depois de receber a dose. Por conta dessa restrição, o imunizante da Sanofi-Pasteur acabou não deslançando e ficou restrita a um número pequeno de pessoas. (VEJASAÚDE,2021).

Contudo, recentemente a farmacêutica Takeda solicitou à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) o registro de uma nova vacina contra a dengue. A “TAK-003” é feita com uma versão modificada do vírus vivo atenuado e protege contra os quatro sorotipos da doença. O estudo se encontra na fase 3, e demonstrou eficácia geral de 80,2% na prevenção de casos confirmados de dengue. A proteção foi ainda

maior contra hospitalizações (90%) e dengue hemorrágica, a versão mais grave da doença (85%). O trabalho segue em andamento, acompanhando cerca de 20 mil crianças e adolescentes recrutados entre 2016 e 2017. (VEJASAÚDE,2021)

Para tanto, meios para o controle vetorial dos patógenos são vastamente eficientes, especialmente quando se retém conhecimento do ciclo de vida e reprodução, tal como fatores de estrutura física e molecular dos vetores e suas vulnerabilidades fisiológicas. Uma das alternativas na busca desse controle é a síntese e semi-síntese de novas substâncias derivadas de fontes naturais Um dos mecanismos de ação possíveis é o acúmulo de espécies moleculares reativas de oxigênio e nitrogênio nos organismos de insetos, conhecidos por constituir poderosas vias de controle do *Aedes aegypti*. (SANTOS, 2014).

Seguindo esse raciocínio, tem-se como foco neste trabalho os compostos arilidênicos nitrogenados e amidas que são abundantes na natureza, e formam uma grande variedade de compostos com atividades biológicas. Tais variedades se dão, entre outros fatores, pela vantagem de muitos compostos secundários se estruturarem em forma de arilidenos com presença de grupos funcionais com heteroátomos nitrogenados e oxigenados, mais especificamente, os derivados dos compostos nitrogenados incluem os alcalóides, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos não proteicos cuja compatibilidade estrutural e eletrônica com receptores naturais em seres vivos é bem observada (PAGARE et al., 2015).

Duas classes de compostos foram o foco deste trabalho a obtenção de arilidenos portando grupo funcional nitrila, e de amidas. Fortes atividades antibióticas já foram observadas em nitrilas, sendo a atividade biológica, de diversas moléculas observadas dependente da presença do grupo nitro ligado à molécula de acordo com os aportes da literatura (PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009); (BOSQUESI et al., 2008). Isso se dá por conta de mudanças na estabilidade do da molécula, intermediada por interações entre o nitrocomposto e o seu alvo. A maioria dos compostos nitrogenados com ação farmacológica apresentam o mecanismo de biorredução enzimática, o que resulta na formação de radicais livres, como provável mecanismo de ação (PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009); (BOSQUESI et al., 2008).

As amidas são uma das classes mais importantes de compostos. Essa classe tem sido encontrada em abundância na natureza como produtos naturais, proteínas e em polímeros biológicos e sintéticos. Os compostos de grupo funcional amida, não tem sua origem limitada aos sistemas biológicos, mas também em uma imensa variedade de moléculas sintéticas, a citar, diversos medicamentos comercializados, como Valsartana, Diltiazem, Benzilpenicilina e Lisinopril (MONTES, 2016).

Os derivados de aliridenos contendo uma função nitrila e de amidas possuem diversas propriedades farmacológicas, - inclusive entre elas são descritas na literatura as atividades larvicidas. Juntando-se a isso o risco epidemiológico gerado pelo vetor das arboviroses da ZKV, Dengue e Chicungunha e todas as suas repercussões na saúde pública (GRAÇA et al, 2004), foi realizado neste trabalho um estudo químico destas classes químicas e avaliação de suas atividades em *Aedes Aegypti*, abordando a síntese, a proposta de seus mecanismos reacionais, a elucidação das suas estruturas químicas e determinação de suas respectivas atividades em *Aedes aegypti*.

Seguindo como objetivo primário realizar a síntese de derivados de arilidenomalononitrilas e de amidas e suas atividades em *Aedes aegypti*, foi necessário estratificar as etapas do projeto para alcance do objetivo proposto sendo elas: sintetizar derivados de arilidenomalononitrilas, purificá-los, elucidar suas estruturas químicas por meio do método físico Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN 1H e 13C por técnicas uni e bidimensionais), assim como: sintetizar amidas por irradiação de ultrassom, elucidar as estruturas químicas das amidas por meio do RMN de Hidrogênio e por conseguinte determinar as atividades das moléculas sintetizadas em larvas L3, pupas e mosquitos adultos de *Aedes Aegypti*.

2 Referencial Teórico – Metodológico

O mosquito *Aedes Aegypti* apresenta grande importância para a saúde pública no Brasil e no mundo, em função de sua relação na transmissão de arboviroses como ZKV, Chicungunha e é claro o vírus da Dengue (DENV), sendo o Zika o mais recente no Brasil, datando sua detecção em maio de 2015. (POMBO, 2016 apud SAMPAIO et al.2016;CARDOSO et al.2015). Pessoas et al. (2016) destacam que a problemática do

mosquito, envolve um cenário epidemiológico em que os três agentes etiológicos circulam simultaneamente levando ao risco de dispersão desses agentes, além da possibilidade da coinfeção dessas patologias.

Em julho de 2015 foram identificados no Brasil, casos de síndrome de Guillain Barré (GBS) associados ao ZKV em adultos e em outubro do mesmo ano já havia relato de microcefalia em recém nascidos associada a esta arbovirose. Até dezembro de 2015, foram registrados 2.782 casos de microcefalia associados ao ZKV em 618 municípios de 20 estados do território nacional. (OPAS,2015).

A ocorrência de microcefalia associados ao ZKV foi um fator determinante para declarar a situação de sua epidemia como emergência nacional. Diante deste contexto, foi implementado o “Plano Nacional de Enfrentamento da microcefalia no Brasil” (POMBO, 2016 apud SAMPAIO et al.2016).

Mesmo usufruindo de esforços para evitar a entrada de agentes infecciosos em eventos de massa como os citados, a Chikungunya teve seu primeiro caso no Brasil registrado em setembro de 2014. Possivelmente, a introdução do vírus seja decorrente da epidemia que ocorreu no Caribe em 2013 (POMBO,2016 apud WEAVER; LECUIT,2015). Pombo (2016) apud Faria (2016) reforça essa linha de raciocínio, uma vez que a linhagem genética do vírus identificado no Amapá foi compatível com o genótipo asiático responsável pela epidemia na ilha de Sant Martin, no Caribe (POMBO,2016 apud FARIA et al., 2016b).

O DNV, assim como os outros agentes citados, é o causador de uma doença infecciosa tropical, que impacta significativamente a saúde pública no Brasil e em numerosos países tropicais. Tem uma estimativa anual de 500.000 pessoas acometidas em todo mundo, predominantemente crianças. Cerca de apenas nove países sofriam casos graves de Dengue até 1970, atualmente existem casos em mais de 100 países na África, Américas, mediterrâneo Oriental, Pacífico Ocidental e Ásia, sendo as Américas, Ásia e Pacífico Ocidental os mais afetados. Em 2008, nos países das regiões mencionadas, houve registros de 1,2 milhões de casos e em 2015 já eram 3.2 milhões acometidos pela doença (OPAS,2016).

Desta forma, vê-se necessário ações de vigilância com atribuições entomológicas na busca da identificação de focos de proliferação do mosquito, onde se encontram as

fases jovens e inatas do *Aedes aegypti* que é um inseto holometábolo, ou seja, seu ciclo de vida apresenta metamorfose completa: ovo, larva (quatro estágios), pupa e mosquito adulto, fases estas que recebem foco na busca da eliminação do vetor (FORATTINI, 2002). Diante deste contexto, torna-se não somente oportuno, mas necessário, buscar maiores conhecimentos sobre as características e fragilidades inerentes ao inseto nas diferentes fases do seu ciclo biológico.

Diante disso, um dos princípios da busca no conhecer científico é que o mesmo não se baseia em noções aleatórias, mas sim na observação, teoria, experimentação e por fim conclusão. É uma síntese de múltiplos esforços intelectuais que se contrapõem e se complementam: de abstração teórico-conceitual e de conexão com a realidade empírica.

Assim, ao observar que metabólitos secundários estão associados com a defesa das plantas, defendendo-as de predadores, como insetos, fungos, bactérias e também de ataque de outras plantas, e como atrativo para polinizadores e dispersores de semente (CRUZ, 2020), pôde-se estudar e concluir que um número substancial de agentes moleculares e seus grupos funcionais podem ser armas na luta contra vetores de doenças como o aqui discutido.

Neste sentido, na química orgânica, certas classes moleculares são conhecidas por ter atividades biológicas que são relacionadas à sua estrutura química e grupos funcionais. Este trabalho em estudos anteriores relacionados, principalmente as atividades biológicas dos grupos funcionais de aliridenos de nitrilas e amidas e de suas sínteses. Conforme afirma Montes (2016):

[...] a síntese química se torna um caminho viável e prático, oferecendo uma rápida resposta e de baixo custo, quando comparado ao desenvolvimento de drogas por biologia molecular e abordagens de farmacogenética. Quando é feito um trabalho de otimização da estrutura química em cima do princípio ativo para a doença em estudo, os compostos molecularmente modificados com atividade, seletividade superiores ao fármaco original poderão se tornar alternativas medicamentosas mais eficazes (apud LLOYD-WILLIAMS et al., 1997).

Neste contexto, as duas seguintes classes de compostos arilídenos e amidas serão estudadas. Primeiramente, descrevemos os estudos de síntese e avaliação das suas atividades biológicas e em particular, suas atividades em *Aedes aegypti*. O segundo item é dedicado à síntese das amidas e suas atividades biológicas no mesmo vetor.

2.1 – Derivados arilídenos

Os derivados arilídenos podem ser obtidos por meio da reação de condensação, na qual o aldeído reage com a malononitrila em meio básico. Esta condensação conhecida como reação de condensação de Knoevenagel é uma reação ligeiramente modificada da reação de condensação aldólica. Trata-se de uma adição nucleofílica de um carbânion formado, que se estabiliza por ressonância. Em sequência, pela abstração de um próton da malononitrila pela base (trietilamina), um desses hidrogênios pode ser retirado pela base, através de uma reação de desidratação na qual uma molécula de água é eliminada, uma vez que o carbânion formado se estabiliza por ressonância. A formação da ligação carbono-carbono via condensação Knoevenagel é uma das mais importantes rotas repetidas na química orgânica sintética e permite a produção de diversas moléculas farmacêuticas ativas. (BADIGER, KAMANNA, 2021).

Os derivados de arilídenomalononitrila permitiram a obtenção de diversos produtos farmacologicamente potentes, tais como 2-(4-nitrobenzilídeno) malononitrila e 2-(3,4,5-trimetoxibenzilídeno)-malononitrila, ambos potenciais inibidores de tirosina quinase (abreviadamente, PTKs, do inglês protein tyrosine kinases), que são proteínas responsáveis pela fosforilação de substratos protéicos, como por exemplo, inúmeras enzimas ativas nos ciclos metabólicos dos seres vivos. O produto 2-(3,4-dihidroxibenzilídeno) derivado de malononitrila surgiu como um agente antimelanogênico eficiente. (BADIGER, KAMANNA, 2021),

Em consonância com Paiva e Ramos (2015) um grande número de compostos derivados de arilídenos, obtidos, através da reação de condensação Knoevenagel são exemplos da diversidade funcional desta importante classe de moléculas, com distintas propriedades farmacológicas das quais pode-se citar: antibacteriana, anti-inflamatória,

antifúngica, antiviral, anticancerígena, antioxidante e anti-hipertensiva. Em estudos relacionados a suas atividades antiinflamatórias, como inibidores seletivos da sinalização de Toll-like receptors (TLR4), foram observadas mudanças notáveis na sua atividade em relação a sua estrutura, especialmente no que se diz a localização dos radicais dirigentes dos anéis aromáticos (ZHANG et al, 2012). Isso nos leva a estimar a magnitude do potencial evolutivo e otimização na manipulação laboratorial desta classe de moléculas quanto às suas ações biológicas.

São descritos na literatura que os compostos de arilidenomalononitrila (Figura 1) exibem atividades farmacológicas, tais como antimicrobiana (MALLOUK e colaborador, 2010) e antiproliferativa (Pang e Colaboradored, 1997). Muitas moléculas derivadas da condensação de Knoevenagel são bem documentadas e com potencial de atividade larvicida. Carvalho e colaboradores, (2018) descrevem que benzilidenomalononitrilas são possuidoras de atividade larvicida, como as demosntradas na figura 2, especialmente a estrutura 4d, que apresentou mortalidade procurada em 24 horas.

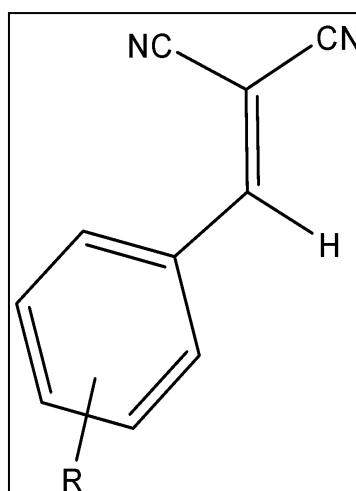


Figura 1 - Estrutura química de um arilidenomalononitrilas
Fonte: MALLOUK e colaborador, 2010.

Derivados benzilidenomalononitrilas são versáteis para atuarem como intermediários na formação de moléculas farmacologicamente importantes na química medicinal. Assim, derivados pirimidínicos que são conhecidos na química terapêutica pela riqueza de seu potencial farmacológico, entre elas atividade em *Aedes aegypti*,

podem ser preparados via intermediários benzilidenomalononitrilas. (MELO e Colaborador, 2002), (DO MONTE e Colaboradores, 2020).

Carvalho e colaboradores (2018) descrevem que benzilidenomalononitrilas são possuidoras de atividade larvicida. Nesse trabalho, os autores sintetizaram uma série de benzilidenomalononitrilas, reagindo o aldeído apropriadamente substituído com a malononitrila, utilizando uma mistura dos solventes água: glicerol, à temperatura ambiente, durante 24 horas. Os autores não relatam a utilização de base. Em seguida, os autores determinaram a atividade larvicida dos benzilidenomalononitrilas. Dentre os compostos obtidos, o composto 2-(4-chlorobenzylidene)malononitrile **4d** apresentou a melhor atividade larvicida (LC50 e LC90 de 9,42 e 15,02, respectivamente, em 24 h).

Considerando o potencial larvicida dos derivados benzilidenomalononitrila descritos na literatura por Carvalho e colaboradores (2018) e em pesquisas que se encontram em curso no Grupo de Pesquisa, do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília (UNB), além das benzilidenomalononitrilas conduzirem à formação de compostos com atividade em larvicida (DO MONTE, 2018) e Bharathi (2014), suscitou a ideia de sintetizar derivados benzilidenomalononitrilas para verificar a sua atividade em *Aedes aegypti*.

Numa etapa posterior, planeja-se a continuidade da pesquisa a fim de desenvolver possivelmente numa Dissertação de Mestrado ou Tese de Doutorado, a utilização desses benzilidenomalononitrilas como reagente para conduzir as moléculas heterocíclicas, tais como pirimidinas, pirimidinonas, em suas atividades no *Aedes Aegypti* (MELO, 1989); (MELO e Colaboradores 2017). Desta forma, neste trabalho, foram sintetizados dois derivados benzilidenomalononitrilas sendo um deles inédito, e foi avaliado as suas atividades em *Aedes Aegypti*. Tal relevância se dá, pela pouca ou nenhuma referência no campo teórico relatando a utilização de tais moléculas no combate às etiologias transmitidas pelo vetor citado.

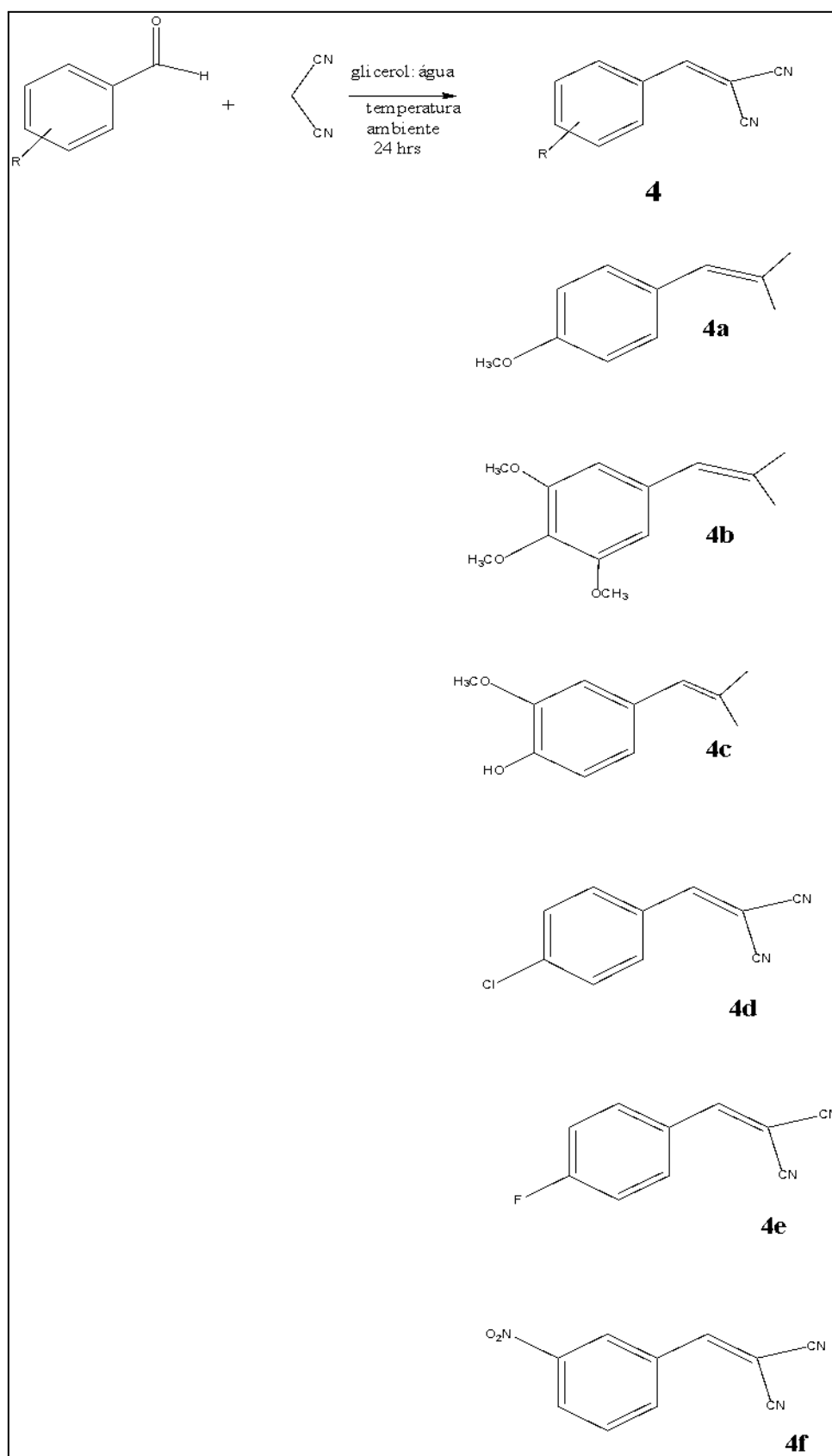


Figura 2 - Derivados benzilidenomalononitrilas
Fonte: CARVALHO e Colaboradores, 2020

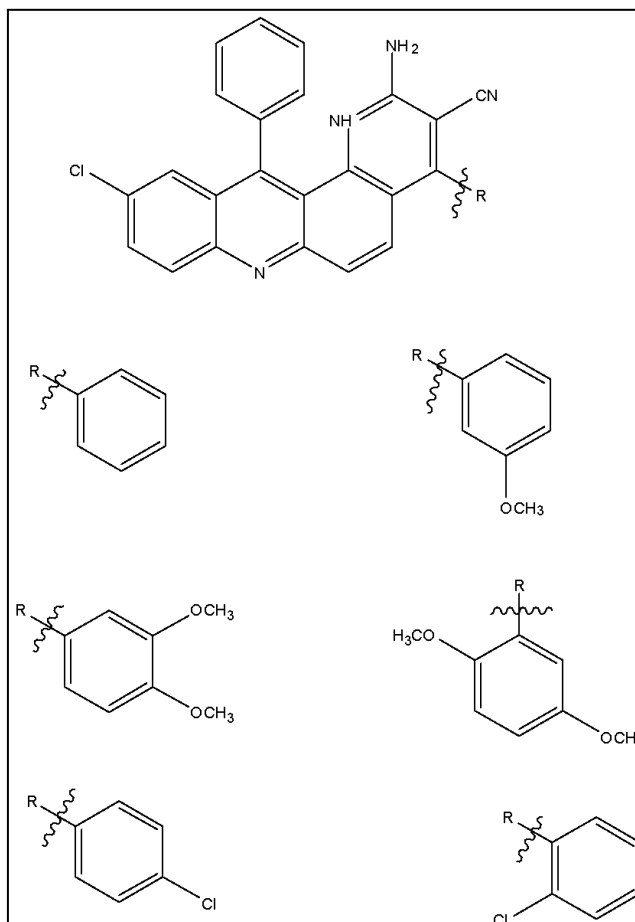


Figura 3 - Compostos obtidos a partir de benzilidenomalonitrilas.

Fonte: CARVALHO e Colaboradores, 2020

2.2 Amidas

A escolha desta classe de compostos, como um segundo tema deste trabalho, se deve ao fato que esta classe tem sido encontrada em abundância na natureza como produtos naturais, proteínas e em polímeros biológicos e sintéticos. Os compostos de grupo funcional amida não têm sua origem limitada aos sistemas biológicos, mas também são encontrados em uma imensa variedade de moléculas sintéticas, a citar, diversos medicamentos comercializados. Este fator é corroborado por Montes (2016) ao relatar a versatilidade de se utilizar amidas para as mais diversas sínteses:

As amidas são comumente encontradas na natureza e se destacam pela baixa reatividade em comparação com os outros derivados carboxílicos, pois

formam ligações de hidrogênio altamente estáveis. Uma consequência disso são seus altos pontos de fusão e ebulição, uma vez que suas interações moleculares se tornam mais fortes devido a essas ligações [...] As amidas são uma das classes mais importantes de compostos. Consequentemente, muitos métodos para a síntese das amidas tem sido descritos, como as reações de aminas com os cloreto de acila, ou com anidridos, ou com ésteres, rearranjo de aldoximas e hidratação de nitrilas. (MONTES, 2016 apud WU et al., 2014).

Portanto, é de extrema importância a pesquisa e o desenvolvimento de novos agentes com atividade antiveterial contra o vetor de DENV.

2.2.1 Definição química e propriedades biológicas de amidas

Os compostos de grupo funcional amida não devem sua origem exclusivamente aos sistemas biológicos, mas também em uma imensa variedade de moléculas sintéticas, como os já citados medicamentos comercializados atualmente. De acordo com os relatórios estatísticos das principais empresas farmacêuticas, quase 25% das drogas contêm uma unidade de ligação amida.

A amida é uma função orgânica nitrogenada na qual o nitrogênio está ligado a um grupo carbonil. Tal descrição está exemplificada através da figura 4 (FLETCHER, J., et al. 1974). Conforme Clayden (2012) descreve a amida, é um grupo bastante importante na natureza, uma vez que, é a parte principal que liga os aminoácidos entre si para formar peptídeos, os quais compõem as proteínas do corpo humano. Além disso, também é comumente encontrada em produtos de origem natural (penicilina, uréia, proteínas, ácidos nucléicos), sintética (náilon 66, kevlar), farmacêutica e pesticidas. (ZHANG, F. et al., 2019).

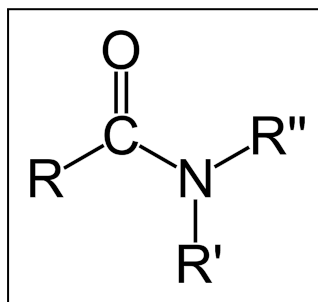


Figura 4 - Estrutura química do grupo amida.
Fonte: FLETCHER, J., et al. 1974

São diversos os trabalhos que relatam a função orgânica da amida como possuidores de atividades biológicas tais como: antibióticas, inseticidas, antiproliferativa, citotóxica, larvicida, entre outras. (Zhang, T. et al., 2018; de Jong, L. P. A. et al., 1982; Kumar, V. et al., 2016; Hanaki, Y. et al., 2015). Dessa forma algumas amidas descritas a seguir foram agrupadas de acordo com sua origem (natural ou sintética) e com atividade relacionada particularmente ao DENV.

2.2.1.1 Atividades de amidas naturais relacionadas à dengue

Os metabólitos secundários decorrentes de plantas vêm se mostrando cada vez mais promissores no combate à dengue. Uma revisão de literatura realizada por Wuillda e colaboradores (2019) exibiu a importância de duas amidas naturais, o Nona-(2Z)-en-6,8-diynoic acid 2-phenylethylamide (**1**) ; e deca-(2Z)-en-6,8-diynoic acid 2-phenylethylamide (**2**). Ambas demonstraram $CL_{50} = 7,6 \mu\text{g/mL}$ em 24 horas (SIMAS *et al*, 2011).

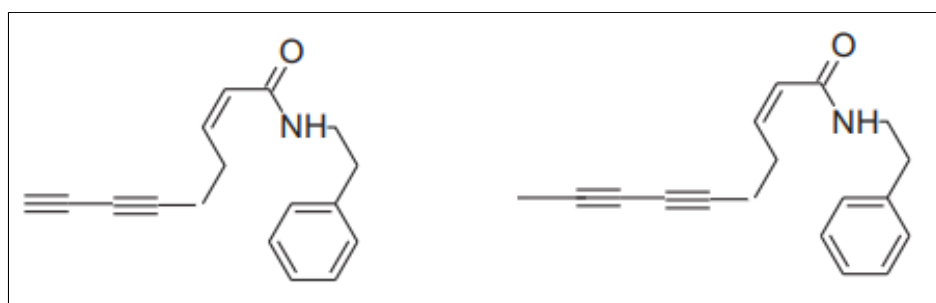


Figura 5 - Estrutura química de Nona-(2Z)-en-6,8-diynoic acid 2-phenylethylamide e deca-(2Z)-en-6,8-diynoic acid 2-phenylethylamide, respectivamente.

Fonte: WUILLDA e colaboradores 2019.

Autores como Dias e Colaboradores (2002) relatam a atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti*, com atividade inseticida comprovada, da substância pelitorine, isolada da *Piper nigrum*. Esta substância contém uma porção amida.

Publicações relatam o efeito larvicida de extratos brutos de *Piper longum* sobre *Aedes aegypti* com 100% de mortalidade. O componente ativo é uma amida, que tem ligada à carbonila, a piperidina, sendo o composto denominado de pipsaedina. (Figura 8) com valor de CL_{50} de 0,25 mg/L e toxicidade semelhante à do pirimifos-metil como larvicida de mosquito. (YANG e colaboradores, 2002).

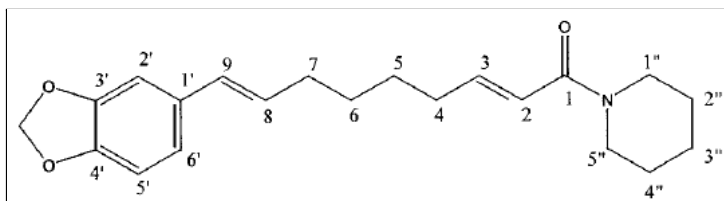


Figura 6 - Estrutura química da piperonalina.
Fonte: Yang e Colaboradores (2002).

Maleck et al (2014) apresentaram também um estudo no qual a piperlonguminina - representada na Figura 7 descrita abaixo - causou alta mortalidade entre as larvas de *Aedes aegypti*.

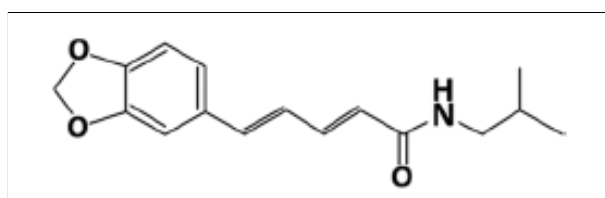


Figura 7 - Estrutura química da piperlonguminina.
Fonte: MALECK et al (2014).

Diversas amidas de origem natural são descritas na literatura como possuidoras de atividade inseticida (Miyakado et al. 1979, Banerji et al. 1985, Park et al. 2002, Yang et al. 2002). Portanto, para exemplificação, apresentam-se abaixo algumas amidas com atividade larvicida em *Aedes aegypti*.

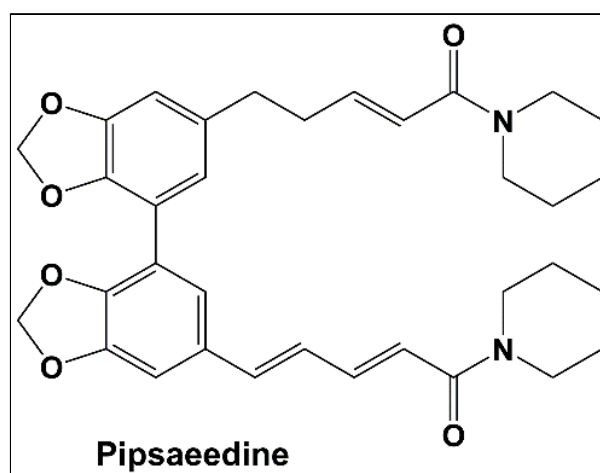


Figura 8 - Estrutura química da pipsaedina.
Fonte: MIYAKADO et al., 1979.

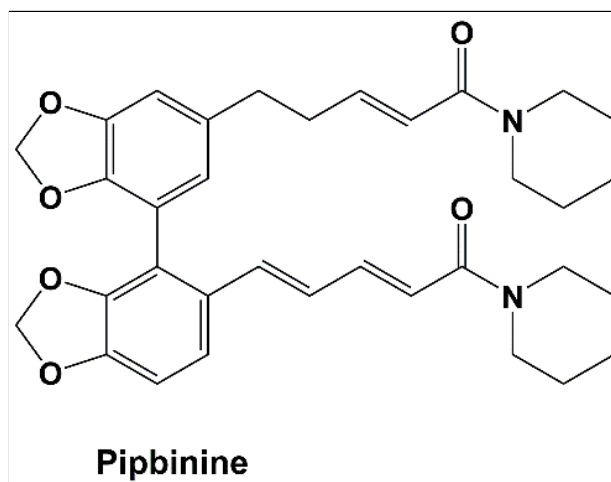


Figura 9 - Estrutura química da pipbinina.

Fonte: MIYAKADO et al. 1979, BANERJI et al. 1985, PARK et al. 2002

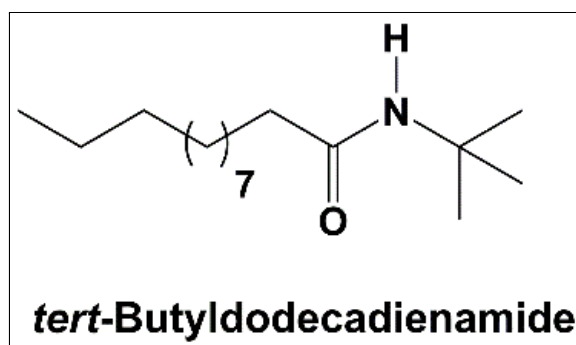


Figura 10 - Estrutura química do terc-butil dodecadienamida.

Fonte: YANG et al., 2002

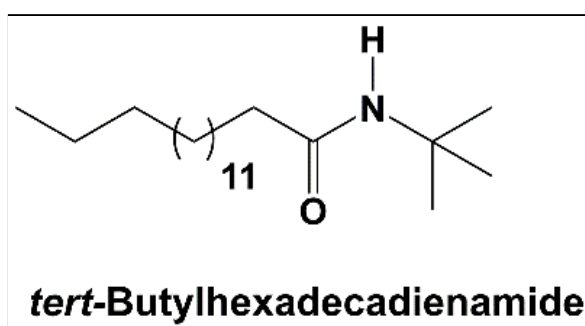


Figura 11 - Estrutura química do terc-butilhexadecadienamida.

Fonte: YANG et al., 2002

2.2.1.2 Atividades de amidas sintéticas relacionadas à Dengue

As amidas de origem natural são amplamente estudadas quanto às suas aplicações contra a dengue. Contudo, devido, muitas vezes, a obtenção desses princípios ativos ocorrer em baixas quantidades, as amidas de origem semissintética ou sintética com atividades antivirais, se revelam como necessárias e são extensivamente relatadas (SANGI, 2016). A síntese química é um caminho viável e prático, que oferece uma rápida resposta e de baixo custo, quando comparado ao desenvolvimento de drogas e substâncias por biologia molecular e farmacogenética. (MONTES, 2016).

De acordo com o descrito por Basavaiah e Naganaboina (2018), amidas podem ser obtidas a partir da reação clássica de um ácido carboxílico e uma amina, em temperaturas altas e meio ácido. Diversos compostos bioativos contendo uma função amida como integrante de suas estruturas químicas são descritos nas pesquisas de Maciel (2016) e Glomb e Pfahler (2001) como também no relato de Torre (2017).

Na aplicação de tal síntese contra o DENV, Zanello et al. (2015) sintetizaram amidas de derivados do ácido quinínico que apresentaram segurança e eficácia contra os quatro sorotipos do vírus. Os compostos foram testados em células de hepatoma humano (Huh7.5) infectadas com o DENV, onde observaram-se que os compostos cujas estruturas se encontram na figura 12, demonstraram melhor atividade.

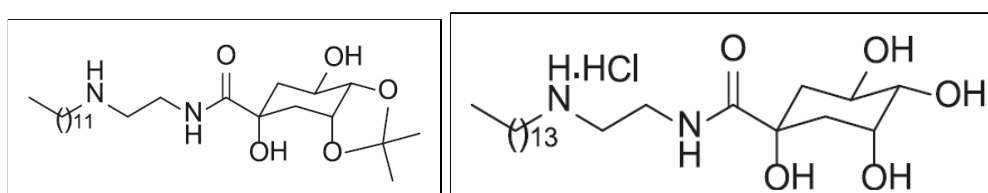


Figura 12 - Estrutura química dos derivados do ácido quinínico com melhor atividade.
Fonte: ZANELLO et al., 2015.

Aportes da literatura descrevem que numerosas amidas, obtidas sinteticamente ou de forma semissintética, apresentam elevada atividade inseticida, conforme relato de Miyakado et al (1989) que obtiveram amidas, análogas de pilitorina e dihidropiperida, com importante atividade inseticida contra *Calyptraea Chinensis* (Figura 13). A pilitorina é relatada como possuidora de elevada atividade inseticida, possuindo contudo elevada instabilidade. Por outro lado, os mesmos autores citados anteriormente, relatam que algumas amidas de Piperaceae (dihidropiperida), possuem boa

estabilidade e potente atividade contra insetos resistentes. Estes dados suscitaram a aplicação da química combinatória como ferramenta para obtenção de compostos com maior atividade inseticida e estáveis.

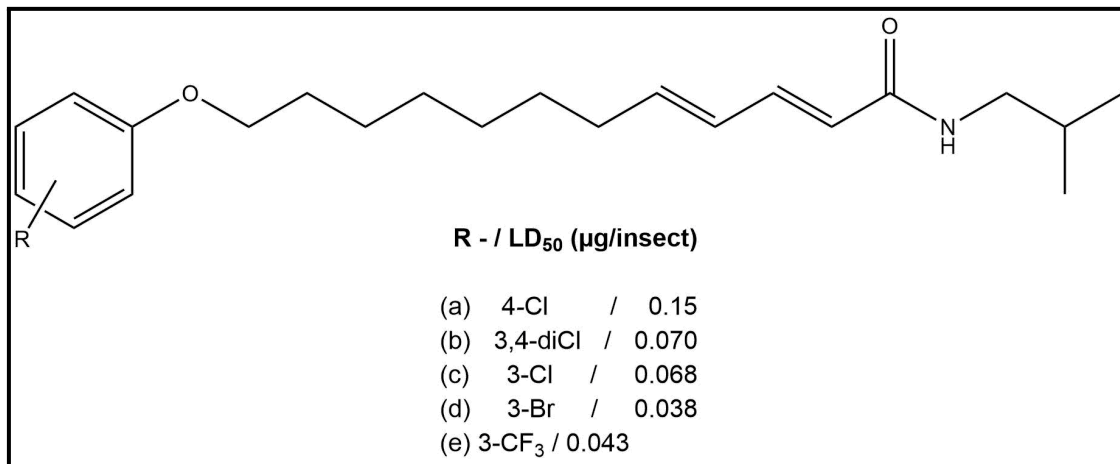


Figura 13 - Estrutura química de amidas análogas de piperina e dihidropiperidina com potentes atividades contra *C. Chinensis*. Fonte: MIYAKADO et al., 1989.

Amidas derivadas de piperina com alto índice de mortalidade para *Ascia monuste orseis*, *Acanthoscelides obtectus* Say, *Brevicoryne brassicae* L, *Protopolybia exigua* e *Cornitermes cumulans*, foram sintetizadas por Paula e colaboradores (2000). A preparação das amidas ocorreu a partir da hidrólise de piperina em ácido pipérico seguida da introdução de aminas, em rendimentos que variaram de 28-89%. A avaliação da atividade inseticida foi realizada em concentrações entre 1.19 e 40 µg.mg⁻¹(larvas e insetos) e o maior percentual de mortalidade foi do composto da Figura 14 (97,5%) contra *A. monuste orseis*.

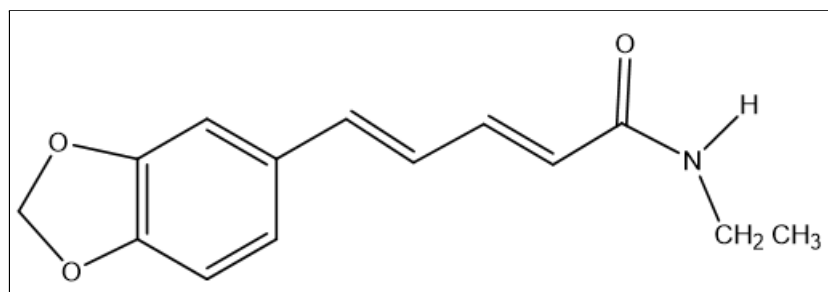


Figura 14 Estrutura química da amida inseticida derivada da piperina. Fonte: PAULA e colaboradores, 2000.

Tendo em vista esse vasto campo de estudo, este trabalho seguiu por realizar sínteses de arilidenomalononitrilas e de amidas.

2.3 Análise por ultrassom e utilização de RMN de Hidrogênio

Considerando as propriedades farmacológicas de amidas, entre elas as atividades larvicidas, um estudo químico de uma amida foi realizado neste trabalho. - Esse abordou a síntese por meio convencional e por ultrassom, mecanismo reacional, elucidação da sua estrutura química e determinação de sua atividade em *Aedes aegypti* - sendo, portanto, estratégico e relevante. Neste sentido, propôs-se a síntese de uma amida, elucidando sua estrutura química, tendo como base a espectroscopia de RMN de hidrogênio e a espectrometria de massas, enquanto que a atividade em *Aedes aegypti* foi determinada em testes biológicos.

O estudo e análise da elucidação das estruturas químicas sintetizadas realizada por RMN de hidrogênio e carbono 13 utilizou técnicas uni e bidimensionais. Com base nos fundamentos e dados da RMN, as estruturas das moléculas esperadas foram propostas. De acordo com Silva (2018), a RMN foi descrita pela primeira vez em uma publicação de dois grupos independentes: o dos físicos Purcell, Torrey e Pound, da Universidade de Harvard, e o de Bloch, Hansen e Packard, da Universidade de Stanford em 1946.

Já no início da década de 1950 a RMN já era usada para a solucionar problemas químicos. Em menos de dez anos após a sua descoberta, o primeiro espectrômetro de RMN de alta resolução para ^1H em onda contínua já estava no mercado¹⁻⁴. A RMN foi um grande salto para a determinação estrutural de moléculas orgânicas, reduzindo o tempo de elucidação da estrutura de moléculas orgânicas em várias ordens de grandeza. (SILVA,2018).

Já em relação ao uso do método de ultrassom, Martines, Davolo e Júnior (1999) descrevem que este recurso tem sido uma ferramenta desde o descobrimento dos efeitos sonoquímicos por Alfredo Loomis em 1927 e desde então sofreu e auxiliou em grande avanço na físico-química. Como exemplo de aplicação da reação de ultrassom cita que em reações de alquilação do indol, o ultrassom favoreceu a migração do nucleófilo para a fase orgânica, facilitando o ataque, além de aumentar o rendimento esperado de 19%

para 90%, diminuindo o tempo de reação de 3 horas para 1,3 horas e aumentando a pureza do produto obtido.

3. Método

Os arilidenos foram obtidos a partir da reação do correspondente aldeído com a malononitrila, em meio básico. Enquanto que as amidas foram obtidas pela condensação entre um ácido carboxílico e uma amina, em meio básico e utilizando a dicitlohexilcarbodiimida como agente condensante.

A primeira parte do trabalho foi consagrada à síntese de arilidenomalononitrilas, incluindo mecanismo reacional e o estudo da elucidação da estrutura química por RMN de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais. Estes compostos foram sintetizados por meio de condensação Knoevenagel entre o aldeído correspondente e malononitrila, em meio básico. Os arilidenos foram obtidos a partir da reação do correspondente aldeído com a malononitrila, em meio básico. Tais derivados tiveram as avaliações de suas atividades em *Aedes aegypti* realizadas. A síntese dos derivados de benzilidenomalononitrilas foi realizada seguindo metodologia utilizada por MELO, 1989, MELO e Colaboradores (2002). Desta forma, dois derivados benzilidenomalononitrilas seguem o mecanismo reacional esquematizado abaixo.

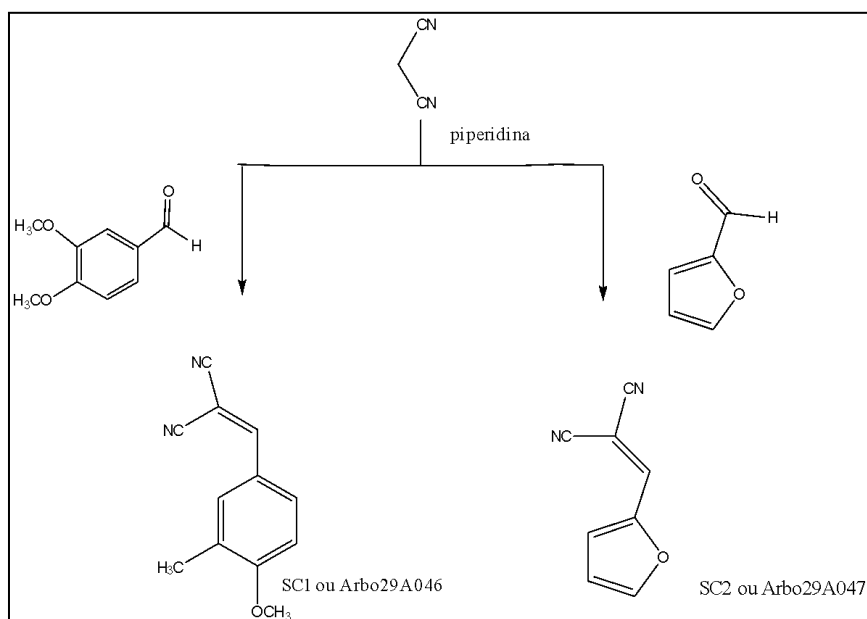


Figura 15 - Esquema geral de síntese dos benzilidenomalononitrilas.
Fonte: do autor.

Para o mecanismo da reação de condensação de Knoevenagel, descrito na literatura por Costa (2003), que descrevemos abaixo, inicialmente, a base abstrai um próton da malononitrila, uma vez que este composto tem duas funções nitrilas que estabilizam o ânion carboniônico por ressonância, estabilizando, portanto, o carbânion, descritos nas figuras 16 e 17.

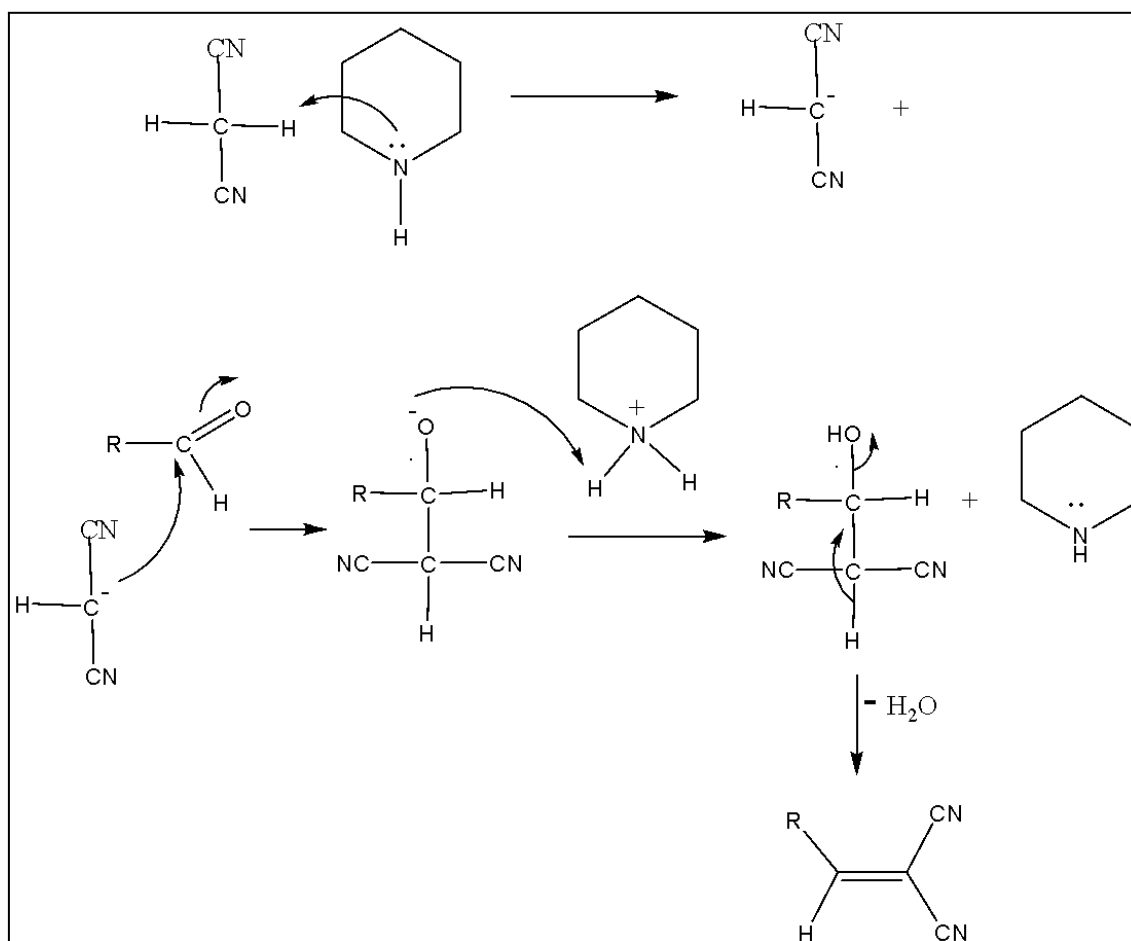


Figura 16 – Esquema de condensação entre o aldeído e a malononitrila, em meio básico.
 Fonte: do autor.

da química verde. As amidas foram sintetizadas por meio de uma reação de condensação entre um ácido carboxílico e uma amida, à temperatura ambiente, utilizando trimetilamina como base e dicitclohexilcarbodiimida como agente condensante. Para a execução desse processo foi seguida adaptação feita no Laboratório de Farmacognosia (UNB) de metodologia utilizada por Montes (2016). A primeira modificação foi a utilização de dicitclohexilcarbodiimida, como agente condensante, não tendo sido usado benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP) Outra modificação fundamental foi a utilização da ultrassom, que fizemos no laboratório, baseados em relatos da literatura sobre a aplicação de ultrassom para outros tipos de compostos. Com isso, obteve-se o produto desejado com apenas 01 hora e trinta minutos, enquanto pelo tempo funcional são necessários 03 dias de tempo reacional, indo assim ao encontro da química verde, reduzindo-se drasticamente o tempo necessário para a formação da amida e utilizando-se menor quantidade de solvente.

Destacamos também que por esse método que foi adaptado no laboratório, observou-se a formação de um co-produto, possivelmente um éster, e sua associação ao *Aedes aegypti*, foi também determinada, não apresentando atividade. A segunda parte do trabalho incluiu também mecanismo reacional e o estudo da elucidação das estruturas químicas por RMN de ¹H e ¹³carbono, uni e bidimensionais e por espectrometria de massas. A formação da amida está exemplificada pelo mecanismo dos esquemas 4 e 5 (descritos nas figuras 18 e 19), assim como, para a formação do éster, está descrita através do mecanismo no esquema 6 (figura 20), ambos propostos abaixo:

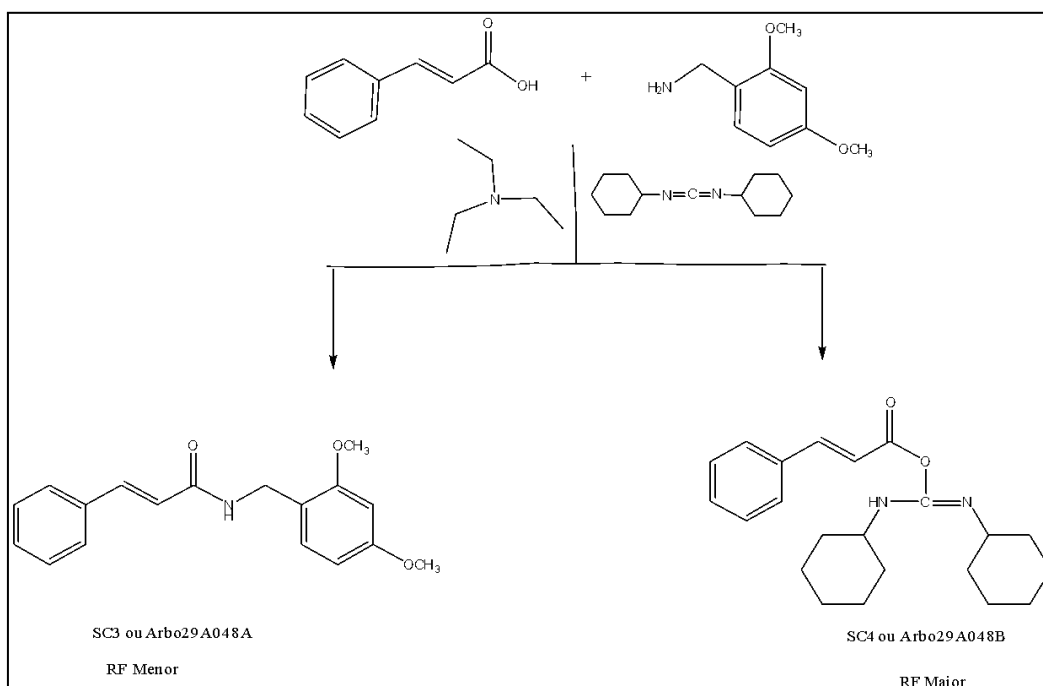


Figura 18 - Esquema de síntese da amida.
Fonte: do autor.

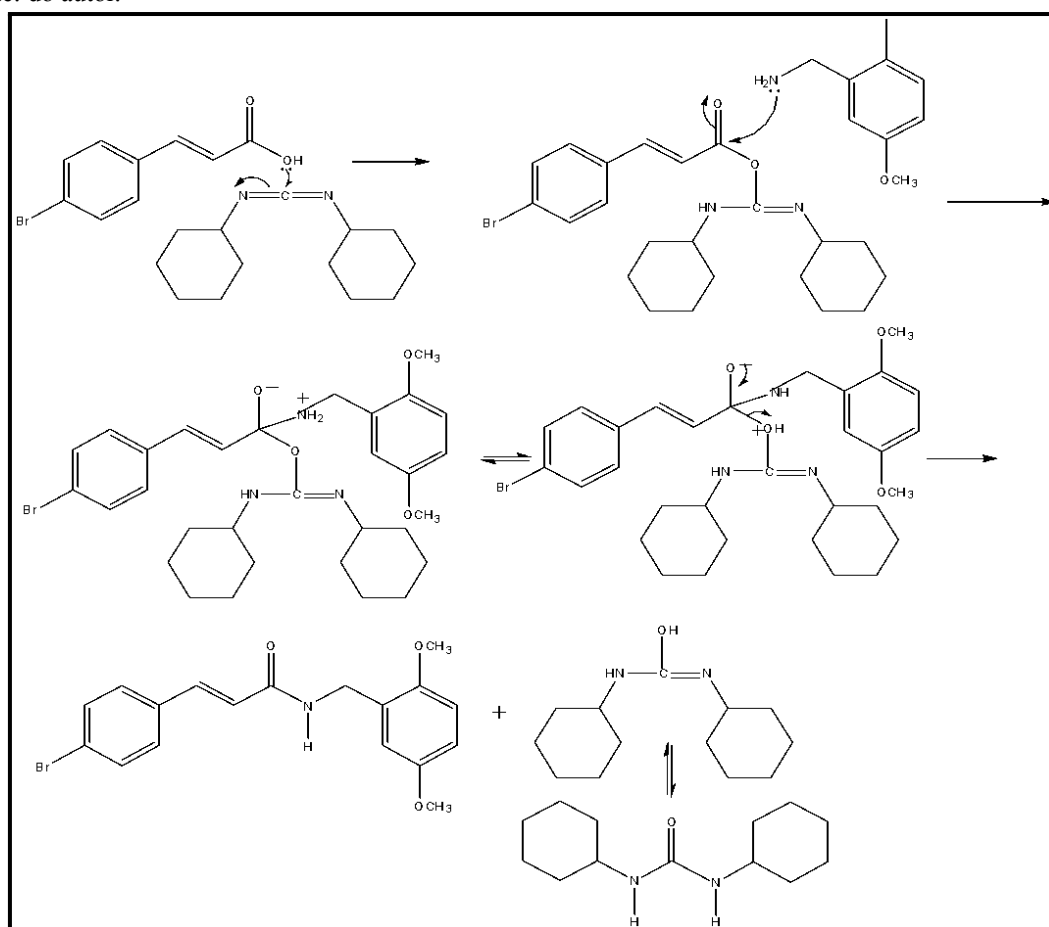


Figura 19 - Esquema 5: Mecanismo para a formação da amida.
Fonte: do autor.

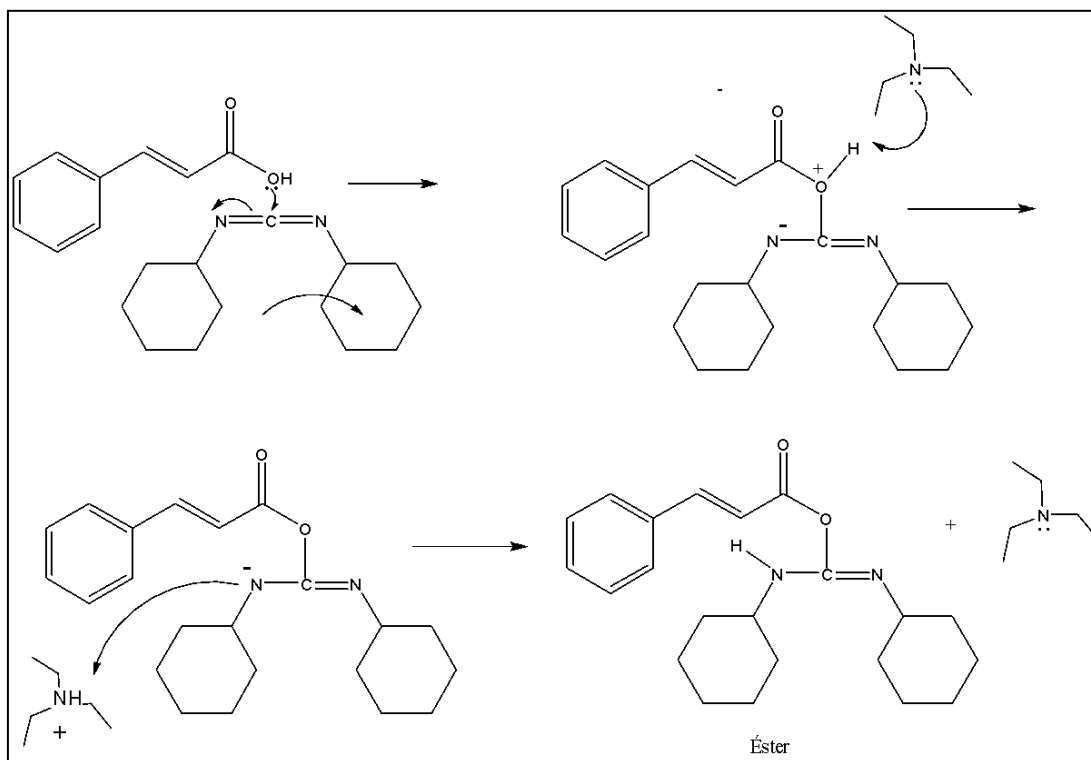


Figura 20 - Esquema 6: Mecanismo para a formação do éster.

Fonte: do autor.

3.1. Síntese do aduto de Knoevenagel

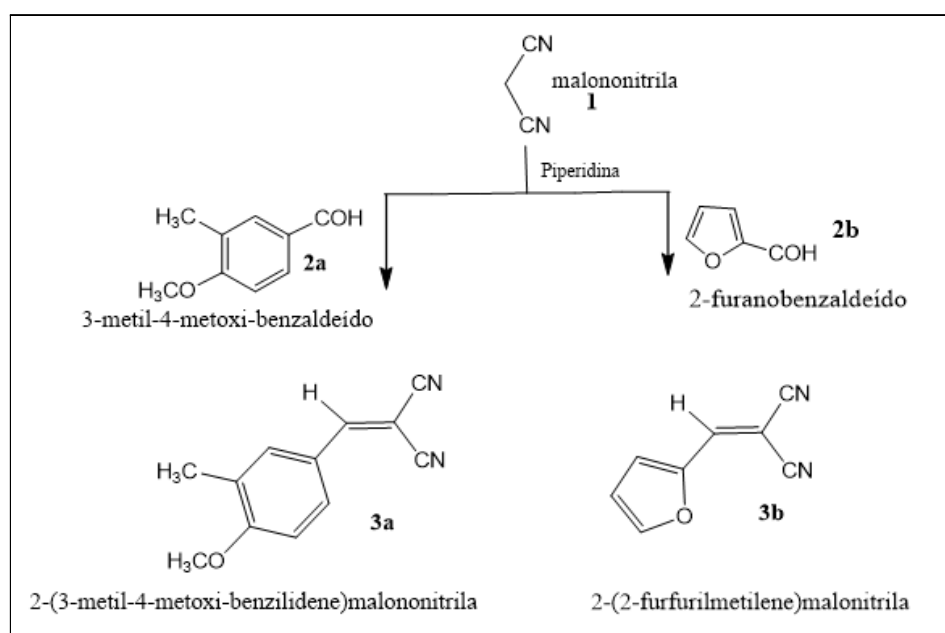


Figura 21 - Esquema de reação do aduto de Knoevenagel 3a-b.

Fonte: do autor.

Em um balão de 125 mL, contendo um agitador magnético, foram colocados 0,0135 mol do aldeído (benzaldeído para **3a** e 2-furanoaldeído para **3b**), 0,0135 mol de malononitrila e 25 mL de metanol, sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por um período de cerca de 20 a 30 minutos, a reação sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada.

O sistema de solventes utilizado foi *n*-hexano:acetato de etila (8:2). No caso do derivado **3a**, formaram-se cristais pouco tempo depois, que foram filtrados e cristalizados, utilizando-se *n*-hexano como solvente. No caso do composto **3b**, pouco tempo depois a solução ficou com a coloração preta. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada, tendo como sistema de solventes *n*-hexano:acetato de etila (7:3).

Após 30 minutos, adicionou-se pequena quantidade de gelo à solução e se formou um sólido preto, que necessitou posteriormente ser purificado por coluna de cromatografia, utilizando sílica em pó como adsorvente e como sistema de solventes *n*-hexano:acetato de etila (7:3). Os rendimentos encontram-se localizados no Quadro 1.

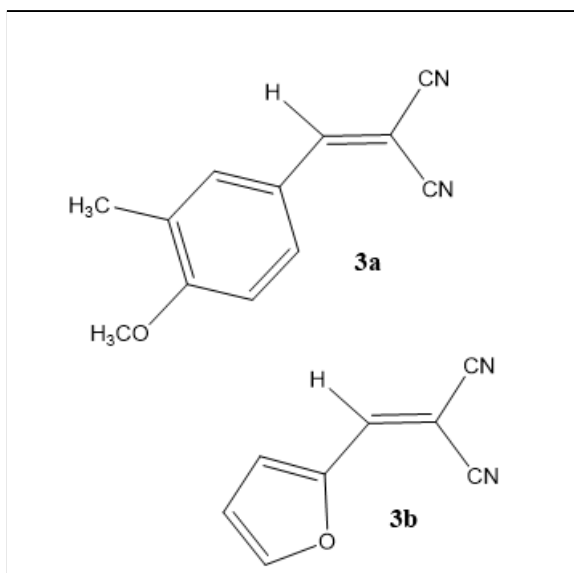


Figura 22 – Estrutura química do Benzaldeído para 3a e 2-furanoaldeído para 3b.
Fonte: do autor.

A primeira síntese usou como reagentes o 3-metil-4-metoxi-Benzaldeído como aldeído e a Malononitrila utilizando como base a piperidina. A reação ocorre utilizando-se quantidades equivalentes dos reagentes, para tanto, a molaridade buscada foi a mesma para ambos os reagentes.

3.2. Síntese da amida

A amida pôde ser preparada a partir da reação clássica de um ácido carboxílico e uma amina, em temperaturas altas e meio ácido (BASAVIAH E NAGANABOINA, 2018). Temperatura alta é necessária, neste método, em virtude da carbonila de ácido ser entre os compostos carbonilados, das menos reativas, em função da ressonância do grupo carboxila, provocando diminuição da deficiência de elétrons da carbonila do ácido. Desta forma a nucleofilicidade da amina não é suficiente para atacar nucleofilicamente a carbonila e por consequência provocando uma certa dificuldade para a formação da ligação $-(CONH)-$. Para contornar esta dificuldade, utilizou-se a diciclohexilcarbodiimida (DCC) que atua para formar um intermediário, que apresenta a carbonila mais reativa apresentado no mecanismo da reação apresentada no esquema 5 (figura 19). Entretanto, nesse trabalho, foi realizada uma adaptação deste método descrito, utilizando-se ultrassom após o período de ativação por DCC, que é descrita a seguir. (FRANCO, 2013).

Em um balão de 125 mL sustentado sobre banho de gelo, contendo um agitador magnético, foram colocados 0,002024 mol do ácido (Ácido cinâmico), 0,002024 mol de DCC e 20 ml de Diclorometano. Por um período de 30 minutos, foi mantida sob agitação constante.

Após esse período, foi adicionado ao balão, 0,002024 ml de 2,4-Dimetoxibenzilamina. O balão foi realocado e exposto à ação do ultrassom, dando continuidade a reação à temperatura ambiente. A reação obteve término em uma hora e trinta minutos, confirmada por cromatografia em camada delgada. O sistema de solventes utilizado foi *n*-hexano:acetato de etila (7:3).

Em um funil de separação vedado, foram realizadas as partições do produto com HCl 1 Mol, solução de NaHCO₃ saturada e solução de NaCl saturada respectivamente. Após separação da fase orgânica das aquosas, foi realizada a filtração do produto, com

utilização de mais 10 ml de diclorometano e em seguida o produto foi seco em câmara de vácuo.

O produto necessitou posteriormente ser purificado por coluna de cromatografia, utilizando sílica em pó como adsorvente e como sistema de solventes *n*-hexano:acetato de etila (7:3). Os rendimentos encontram-se localizados no quadro 1.

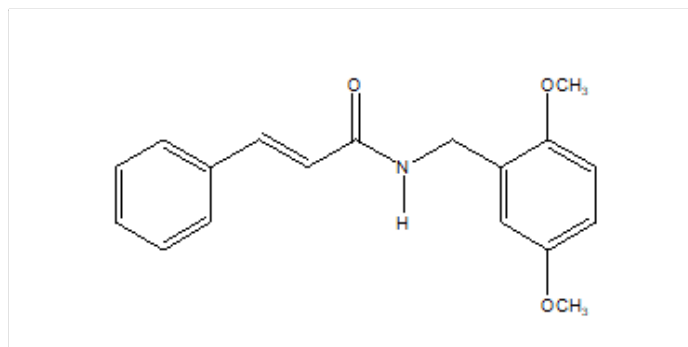


Figura 23 - Estrutura química da amida sintetizada ; Arbo29A048B.

Fonte: do autor.

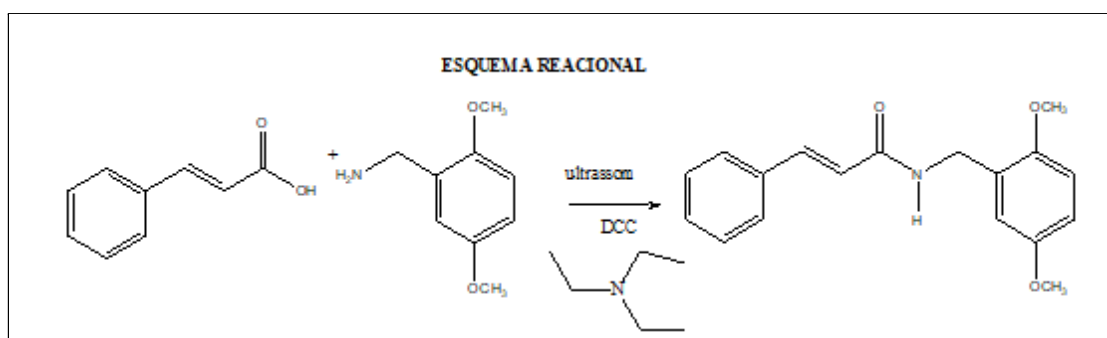


Figura 24 - Esquema reacional do procedimento experimental utilizado neste trabalho.

Fonte: do autor.

3.2.2. Estrutura do éster intermediário (proposto neste trabalho)

Na formação da amida, foi necessário inicialmente se ativar a carbonila do ácido, mediante ação da dicitlohexilcarbodiimida (conforme mecanismo supramencionado). Em conformidade com os dados RMN H, a ação do agente condensante (dicitlohexilcarbodiimida) deve resultar também na formação do intermediário éster, como sub-produto, proposto neste trabalho como sendo a estrutura abaixo.

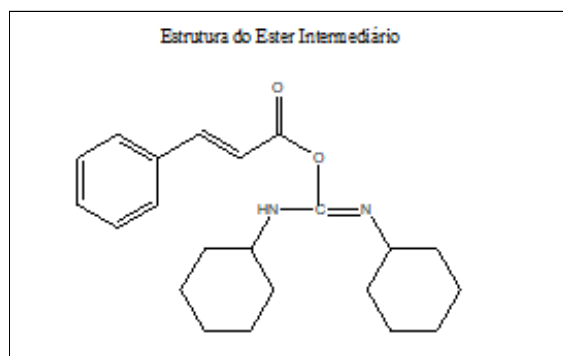


Figura 25 - Estrutura química do éster (A).

Fonte: do autor.

3.3 Acompanhamento por Cromatografia de Camada Delgada

A cromatografia de camada delgada (CCD) é um método rápido, eficiente, de baixo custo e largamente empregado em controle de qualidade de plantas medicinais, tanto em matéria-prima vegetal quanto em fitoterápicos derivados. Parte do princípio da adsorção de substâncias aplicadas em sílica, que apoiadas em um sistema de solventes orgânicos permite a análise do nível de polaridade da substância permitindo a construção de sua identidade. Para a correta estratificação das substâncias analisadas utilizou-se o fator de retenção (R_f) de um composto, que é calculada pela distância percorrida pela amostra sobre a distância percorrida pelo eluente.

3.4 Preparação para RMN

A preparação da amostra para análise de RMN foi feita, pesando-se de 5-10 mg, sendo o mínimo para a obtenção dos espectros de hidrogênio e carbono 13 respectivamente, e diluindo-a em dimetilsulfóxido (DMSO) ou metanol deuterado. A solução é acondicionada em um tubo de RMN, propriamente identificado, e adicionado em.

3.5 Criação dos mosquitos *Aedes aegypti*

A pesagem dos ovos foi realizada pelas proporções de 0,05 g de ovos para montagem de uma gaiola de 33x33x33. Após a pesagem os ovos foram adicionados em um tubo Falcon de 50 ml e adicionados mais 40 ml de água, gerando um total de 90 ml

que foram agitados manualmente por 4 min. Para cada pote de 500 ml foram adicionados no mínimo 200 ml de água a cada 0,05 g de ovos. Em seguida, cada pote de 500 ml sem tampa foi inserido em uma câmara de vácuo até atingir 0,7 bar ou -550 mmHg, para estimulação de eclosão, por 5 min.

Após a exposição à baixas pressões pelo tempo descrito, a câmara foi desativada e os ovos nos potes foram deixados em repouso por pelo menos uma hora e após, os ovos foram cuidadosamente recolhidos. Após recolhimento, 0,5 ml da solução, previamente agitada e homogenizada, de ovos eclodidos com larvas foram colocados em um papel filtro e registrado o número de ovos eclodidos e não eclodidos, usando um esteromicroscópio em pelo menos três campos de visão diferentes.

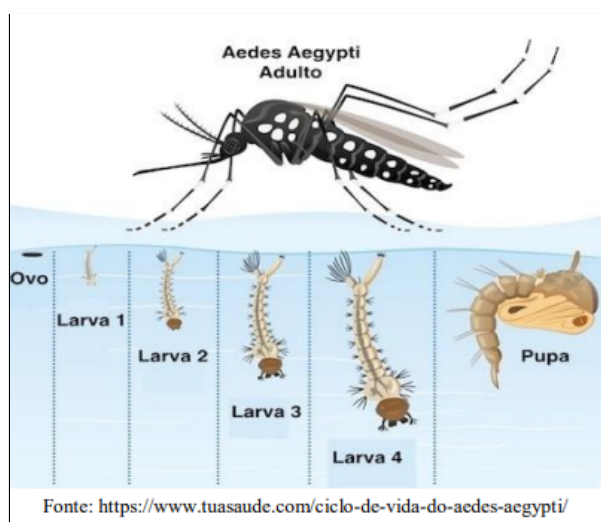


Figura 26 - Fases do ciclo de vida do *Aedes Aegypti*.
Fonte: [//www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/](https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/)

As larvas foram alimentadas com ração de gato/peixe moída em regime controlado. Nos dias 8, 9,10,11 de criação, as pupas oriundas de larvas que não foram utilizadas em testes, são separadas em grupos de machos e fêmeas e registrados os números de ambos. Para a montagem de cada gaiola, foram usados 1350 pupas fêmeas e 450 machos e no completar de sua metamorfose, os mosquitos adultos são alimentados a cada semana com solução de 10% (v/v) de açúcar. A alimentação com sangue foi feita duas vezes por semana com dois a três dias de alimentação com aproximadamente 5-7 ml de sangue de equino em cima da gaiola com parafilme em contato com a rede da mesma, aquecidos por condução térmica usando pote acima do alimentador, contendo água aquecida a cada hora até o final do dia.

3.6 Testes em *Aedes Aegypti*

Os testes em *Aedes Aegypti* foram realizados em três etapas: larvas, pupas e mosquitos adultos. A criação dos mosquitos segue os protocolos estabelecidos no POP P0009 do laboratório de Fármaco Gnosia (FS/UnB). Os testes na fases aquáticas do ciclo de vida do mosquito, seguem os protocolos estabelecidos no POP FR00064 e Fr0010 e em sua fase adulta os protocolos do POP FR0021 do laboratório de Fármaco Gnosia (FS/UnB), a descrição da criação e testes serão tratados a seguir.

As fases aquáticas: larvas L3 e pupas, foram separadas em cada poço da placa de testes, com o uso de pipetas Pasteur de plástico. Para larvas e pupas, foram preparados soluções com os cristais dos produtos sintetizados. Em ambos os testes as soluções nas concentrações iniciais de 6,0 mg/ml e ao serem adicionadas 50 µL às placas em seus respectivos poços contendo 3 ml de água levando a uma concentração final de 100 µg/ml por poço. A leitura dos testes larvicidas foi feita uma vez a cada 24 horas por três dias, levando o teste a um total de 72 horas. Em seguida, cada poço é seco da água do criadouro, com o uso da mesma pipeta, e após isso são adicionados 3 ml de água limpa em cada poço. Cada placa possui 12 (doze) poços, o que viabiliza teste em quadruplicata para duas substâncias cada e um controle. Cada sequência de poços foi devidamente identificada e observada por 72 horas em cada teste.

A diluição das substâncias puras foi realizada com 1 ml de DMSO em eppendorfs de 1,5 ml. Para cada substância foram pesados nos mesmos eppendorfs massas próximas de 5 mg, resultando em concentrações m/v de 5 mg/ml. Com o uso de micropipetas de 250 µL, foram inseridos em cada poço de 3 ml, 50 µL da solução diluída. Pelo cálculo das concentrações resultantes, cada poço de teste, salvo o controle, termina com a concentração de 100 µg/ml. Caso qualquer substância demonstrasse atividade maior ou igual a 80% de letalidade nos espécimes a mesma seria aceita como eficaz. Larvas L3 e pupas que não nadam perante estímulo sequencial e /ou apresentem mudanças letais de estrutura física, foram consideradas mortas.

Os testes adulticidas foram realizados com uma concentração 1:1 produto/acetona. Aproximadamente 1 mg de produtos foram pesados e dissolvidos em 1 ml de acetona e logo em seguida adicionados 200 µL em garrafas limpas e

autoclavadas. Para otimizar a ambientação das garrafas com os produtos, 800 μL de acetona eram adicionadas às mesmas logo para auxiliar a impregnação das garrafas e tampas de alumínio, estas que no momento do teste são seladas, mas permitem passagem de ar para os mosquitos (em média 12 - 15 por garrafa). Cada um dos testes foi realizado em quadruplicata (Exceto pelo adulticida que é feito em triplicata) na presença de um controle.

4 Resultados e Discussão

As sínteses programadas ocorreram da maneira esperada sem grandes complicações, assim como os testes biológicos no vetor estudado. Foram realizados a síntese de derivados benzilidenomalonotrilas e de uma amida, dos quais dois são inéditos, com abordagem biológica também inédita ao conhecimento adquirido até o momento da estruturação e pesquisa. Houve limitações técnicas em testes de elucidação por RMN e espectrometria de massas devido a não disponibilidade do maquinário necessário em toda a fase da pesquisa. Porém, tal contraponto, não prejudicou a veracidade dos resultados obtidos. De igual modo, tal situação ocorreu com os testes biológicos com mosquitos adultos.

Nas descrições abaixo encontram-se as imagens representativas dos dois compostos sintetizados (destes, um é inédito na literatura), bem como do co-produto (Arbo29A048A) da reação da amida, um éster cuja estrutura não foi definida, mas se apresenta uma estrutura provável. Baseada no mecanismo reacional. Fez-se também a síntese de uma segunda arilidenomalonitrila (Arbo29A047), que não pôde ser purificada e assim não se pôde elucidar sua estrutura química propriamente. Mas, baseado no mecanismo, apresenta-se a estrutura química esperada.

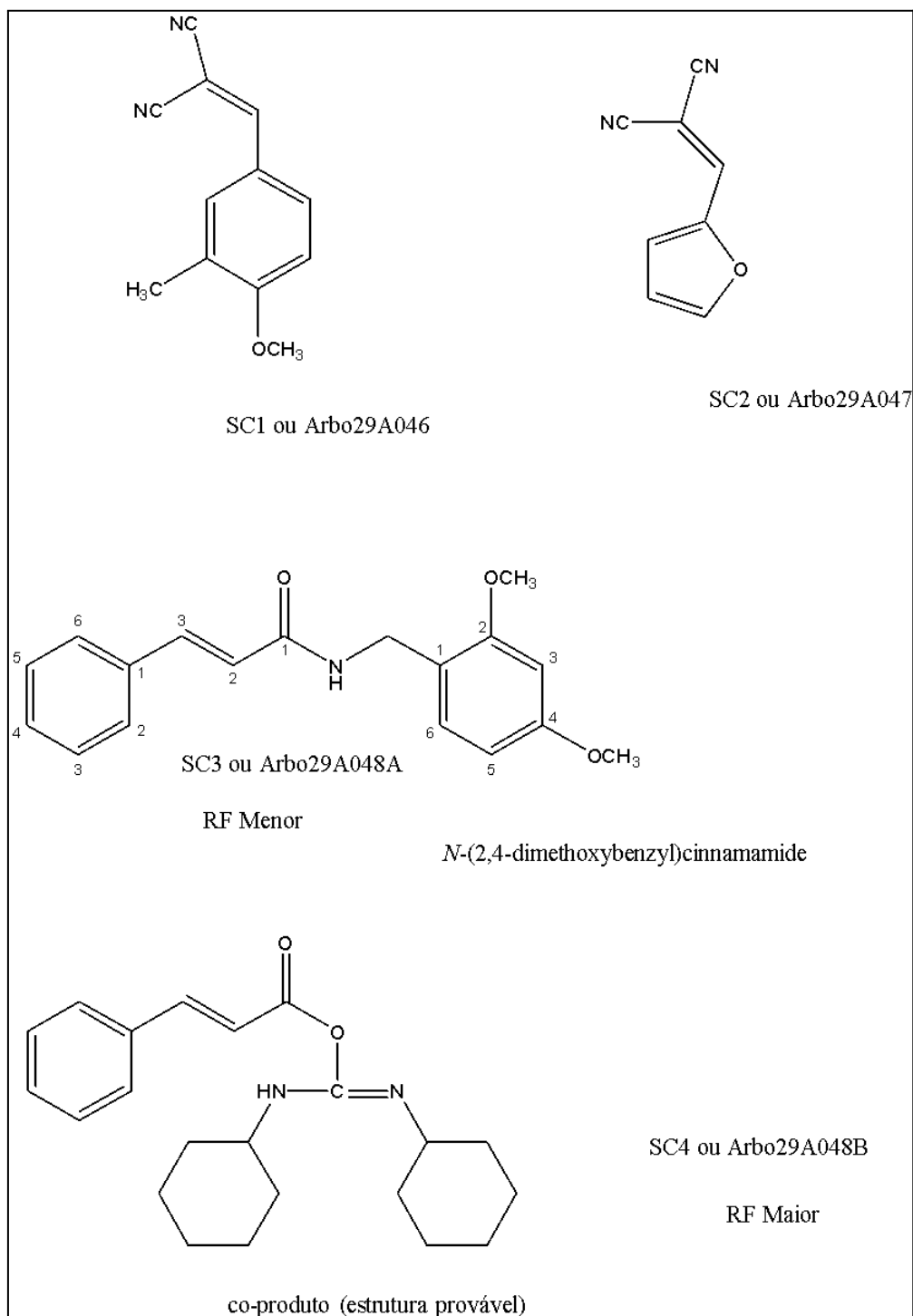


Figura 27 - Estrutura química dos produtos e coproduto obtidos na realização das sínteses.
Fonte: do autor.

Abaixo apresenta-se o cálculo do rendimento das substâncias que puderam ser confirmadas através da espectrometria.

Código da substância	Rendimento %
Arbo29A046	35,92
Arbo29A048B	14,57

Quadro 1 - Rendimento das sínteses realizadas confirmadas por espectrometria.

Fonte: do autor.

4.1. Elucidação por RMN

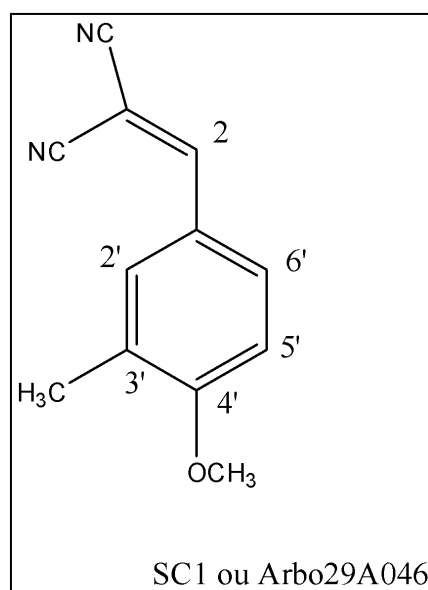


Figura 28 - Análise espectroscópica do 2-(2'-metil-4'-metoxibenzilideno)malononitrila.

Fonte: do autor.

RMN ^1H (CD₃OD/600MHz): Rf 0,49 (*n*-hexano/acetato de etila (7:3); sólido amarelo; rendimento 35,92% δ 8,13 ppm (s, 1H, H(2)), δ 7,89 ppm (d, J (dd, J H-6'-H-5'=8,7Hz e J H-6'-H-2'' = 2,4Hz),), 1H, H (6')'), δ 7,22 ppm (d J H-5'-H-6'=6Hz', 1H, H(5')), δ 3,92 ppm (s, 3H, H do metila da metoxila)); δ 2,18 ppm (s, 3H, H do metila)); RMN ^{13}C 150MHz(CD₃OD).

Os assinalamentos dos átomos seguintes de carbono foram propostos a partir do espectro HMBC, para as situações que o HMBC permitiu. Esclarece-se que 1H-13C-HMBC-nJCH (n = 2 e 3, HMBC = Heteronuclear Multiple Bond Correlation, 1H detectado, método inverso), utilizando-se valores médios (nJCH = 7 – 10 Hz) para detectar as interações heteronucleares spin-spin através de duas (2JCH) e três ligações

(3JCH) entre os átomos de carbono-13 e hidrogênio. Assim, proposição dos assinalamentos: $\delta 162,5$ ppm (1C, C-4'), $\delta 132,5$ ppm (1C, C-2'), $\delta 131,7$ ppm (1C, C-6'), $\delta 126,7$ ppm (1C, C-3'), $\delta 123,5$ ppm (1C, C-1'), $\delta 111,1$ ppm (1C, C-5'), $\delta 114,5$ ppm (2C, da nitrila), $\delta 55,7$ ppm (1C, da metoxila), $\delta 15,7$ ppm (1C, da metila).

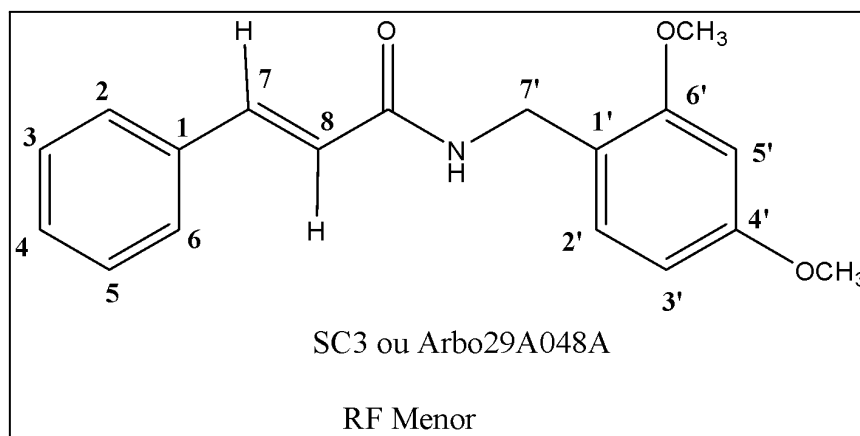


Figura 29 - N-(2,4-dimetoxibenzil)cinamamida.
Fonte: do autor.

Fazendo análise comparativa com o composto N(4-clorobenzil)cinamamida descrito por Montes (2016), foram constatadas muitas similaridades e foi sugerido o assinalamento para os hidrogênicos da substância N-(2,4-dimetoxibenzil)cinamamida, mostrados abaixo. Destaque-se que a similaridade é sobretudo na parte que contém os C-1 a C-8, com seus hidrogênios - 7,53 (m, 2H, H-2, H-6); 7,39 (m, 3H, H-3,4,5); 6,7 (d, $J = 15$ Hz, 1H, H-8), H-7, (não sendo possível identificar, possivelmente entre os multipletos dos prótons da região aromática), 8,3 (1H, CONH); 4,28 (d, $J = 3$ Hz, 2H, H-7'), 6,7 (s, 1H, H-5'); 6,5 (m, 2H, H-2' e H-3').

Os deslocamentos químicos observados no composto também apresentaram alguma similaridade com N(4-clorobenzil)cinamamida. Os 16 átomos de carbono puderam ser observados, considerando que dos 18 átomos de carbono da estrutura, tem-se que os C-2 e C-6, são equivalentes, assim como o são os átomos de C-3 e C-4. Pode-se observar o pico a 164,8 que corresponde ao átomo de carbono da carbonila, a 55,42ppm e 55,21ppm são os picos que correspondem aos carbonos das duas metoxilas. 38,96 ppm devido ao carbono metilênico (C-7'). Enquanto que os outros a respeito dos picos não se pode assinalar precisamente, mas se apresentam em deslocamentos químicos compatíveis com o previsto.

4.2 RMN de ^{13}C 75MHz e Espectrometria de massas

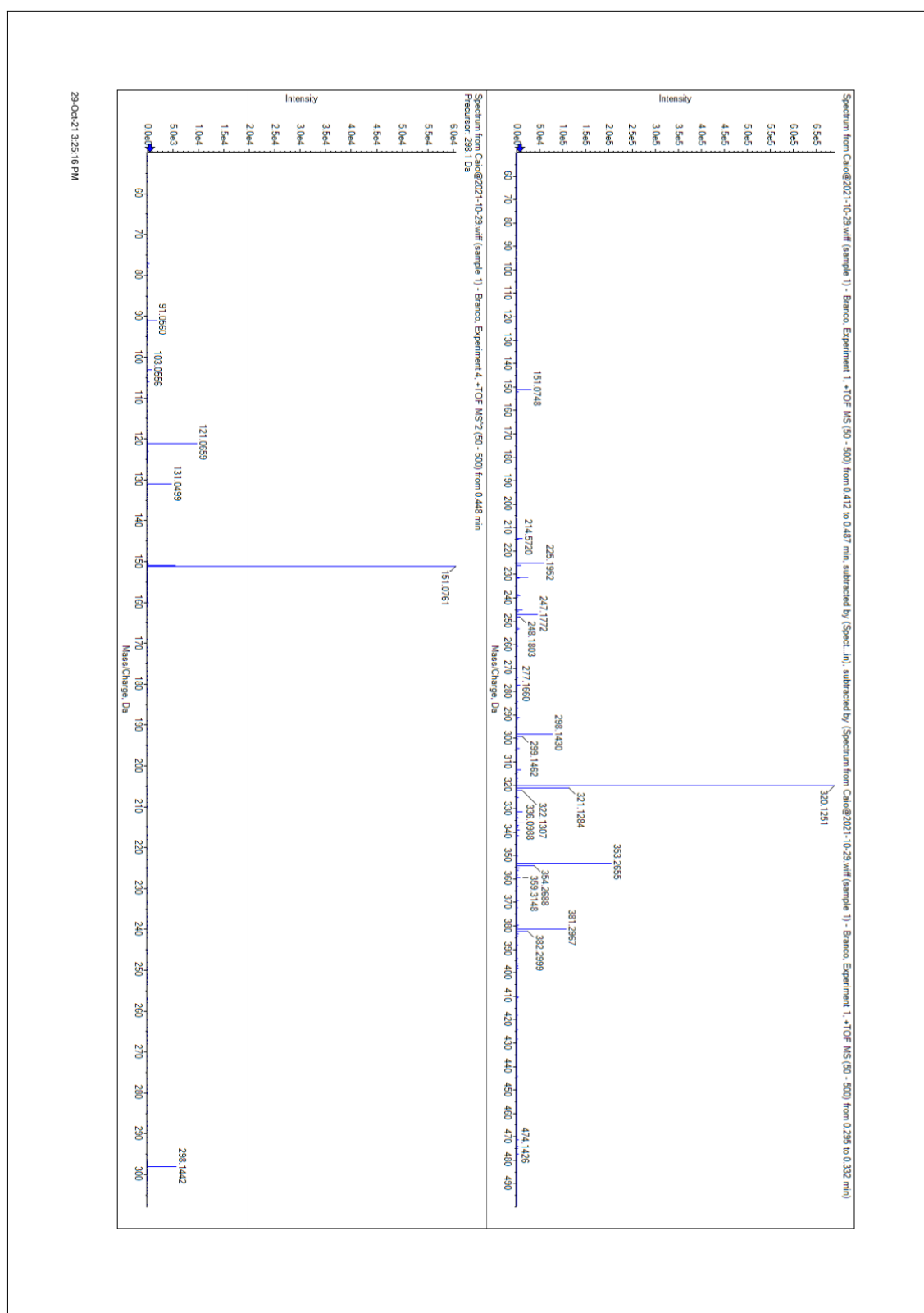


Figura 30 - Espectros de massas de alta resolução correspondente ao íon molecular de Arbo29A048B.
Fonte: do aut

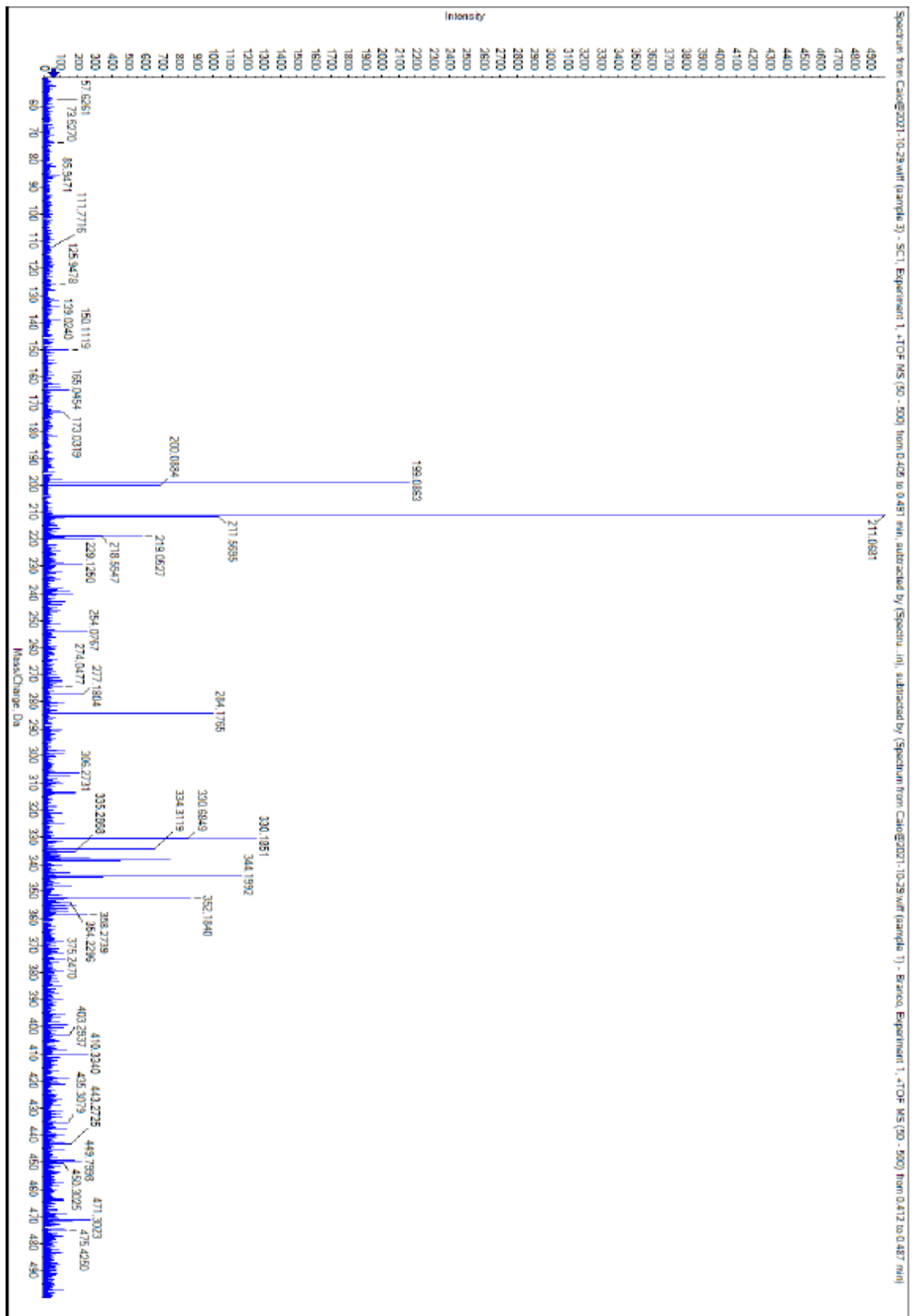


Figura 31 - Espectros de massas de alta resolução correspondente ao íon molecular de Arbo29A046.
Fonte: do aut

A estrutura foi confirmada pela espectrometria de massas de alta resolução (Figura 34 e 35) que detectou o pico de m/z de 320,1251, que corresponde exatamente ao íon molecular de Arbo29A046 e o pico de m/z de 211,0681, do íon molecular que por sua vez corresponde a Arbo29A048B. Em ambos os casos além de se obter a massa molecular esperada, ser o pico principal.

4.3 Resultados dos testes em *Aedes Aegypti*.

A respeito dos testes em *Aedes Aegypti*, cinco substâncias foram testadas, destas, três demonstraram atividade biológica procurada; “Arbo29A047”, “Arbo29A048B” e “S1”. Tanto Arbo29A047 e Arbo29A048B tiveram suas estruturas elucidadas nesse trabalho, porém S1 ainda não pôde passar por essas etapas de elucidação. Estudos futuros serão realizados a respeito desta substância, assim como a realização de sínteses de substâncias similares e seus testes em *Aedes Aegypti*.

Em testes larvicidas, a substância de código Arbo29A046 apesar de não demonstrar atividade em larvas L3, na leitura dos testes pupicidas, observou-se potencial adulticida, comparando a quantidade de mosquitos recém metamorfoseados mortos nos fossos em relação aos fossos de S1 e controle. É sabido, porém, que este ocorrido pode se dever ao fato de que comumente, devido ao pequeno espaço disponível nos fossos de testes das placas, as asas do inseto se encharcam, o que o leva ao afogamento.

Entretanto, comparativamente o número de mosquitos adultos mortos no testes pupicidas, foi um artefato que poderia indicar potencial em mosquitos adultos se não como inseticida como repelente, podendo ter causado inquietação nos mosquitos em seus fossos e estimulado tentativas de voo excessivas e assim causado suas mortes precoces.

código	N° larvas mortas 24 h						N° larvas mortas 48 h						N° larvas mortas 72 h					
	Re p 1	Re p 2	Re p 3	Re p 4	méd ia	%	Rep 1	Re p 2	Re p 3	Re p 4	méd ia	%	Re p 1	Re p 2	Re p 3	Re p 4	méd ia	%

Arbo29A0 46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arbo29A0 47	5	6	9	6	6,5	6	7	10	10	8	8,7	87,	10	10	10	10	10	10
Arbo29A0 48A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arbo29A0 48B	0	0	0	0	0	0	4	6	5	6	5,2	52,	8	9	8	10	8,7	87,

Quadro 2 - Resultados de testes larvicidas dos produtos de todas as sínteses.

Fonte: do autor.

O teste adulticida foi limitado apenas a amostra de código Arbo29A046, primeiramente pois a mesma parecia demonstrar potencial nas observações de mosquitos mortos, em seguida pela limitação imposta ao experimento devido a necessidades operacionais na montagem populacional e manutenção de mosquitos fêmeas do laboratório.

Tempo	Frasco 1		Frasco 2		Frasco 3		Frasco 4	
	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto
0	11	0	12	0	10	0	10	0
15	11	0	12	0	10	0	10	0
30	11	0	12	0	10	0	10	0
45	11	0	12	0	10	0	10	0

60	11	0	12	0	10	0	10	0
75	11	0	12	0	10	0	10	0
90	11	0	12	0	10	0	10	0
105	11	0	12	0	10	0	10	0
120	11	0	12	0	10	0	10	0

Quadro 3 - Resultados de testes aduicidas do produto Arbo29A046;
Fonte: do autor.

Assim, os testes aduicidas foram organizados na semana seguinte e apesar das observações, não demonstrou mortalidade em mosquitos adultos. Potencializava-se a ideia de realizar testes de repelência com essa substância, porém, foi imposta uma limitação aos experimentos devido ao exposto no parágrafo anterior. Por esta mesma razão, os testes aduicidas tiveram de ser adiados e não foram realizados nas substâncias seguintes.

Os produtos de arilidenos de nitrila e amida Arbo29A047 e Arbo29A048B respectivamente obtiveram resultados esperados pelo estudado e apresentado neste trabalho, pela literatura em relação a atividade dessas classes de substâncias, apresentando resultados de mortalidade de mosquitos de 100% e 87,5% em 72 horas respectivamente. A atividade larvicida de ambas as substâncias foi primeiramente observada em 24 horas, na primeira leitura dos testes, mas estima-se que possam ter iniciado essa atividade horas antes. Foi surpreendente e curioso, entretanto, a substância de código Arbo29A048A não apresentar atividade nos testes em questão, considerando que substância similar em estudos anteriores apresentou 100% de eficácia. Pretende-se realizar a repetição deste teste utilizando esta substância para certificar os resultados.

	N° pupas mortas						N° mosquitos vivos						N° mosquitos mortos					
	Re p	Re p	Re p	Re p	méd	%	Re p	Re p	Re p	Re p	méd	%	Re p	Re p	Re p	Re p	méd	%

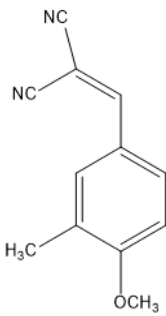
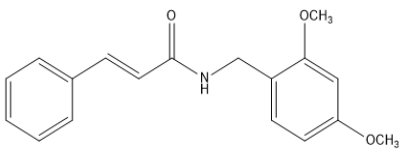
	1	2	3	4	dia		p1	2	3	4	ia		1	2	3	4	ia	
N	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0
Arbo29A 046	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0
Arbo29A 047	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0
Arbo29A 048A	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0
Arbo29A 048B	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0
S1	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Quadro 4 - Resultados de testes pupicidas dos produtos de todas as sínteses.

Fonte: do autor.

Em testes em fase pupal, nenhuma das substâncias sintetizadas para este trabalho obteve resultados positivos de atividade. Pupas são os alvos de teste mais desafiadores nesse ramo de estudo, o fato delas não se alimentarem e serem aeróbias, são fatores que dificultam algumas substâncias de ingressarem na fisiologia do inseto. Todavia, a amostra de S1, demonstrou eficácia de 100% em menos de 24 horas, inclusive, diferenças no comportamento entre as pupas da mesma placa foram observadas relativamente aos fossos que continham S1, momentos após a aplicação. É um desafio desenvolver substâncias químicas que contenham o equilíbrio lipossolúvel (para melhor

aderência e penetração no sistema do inseto) e polar (para se permitir-se dissolver em água), porém S1 demonstrou potencial para desenvolvimento futuro. (BRASIL, 2001).

Estrutura molecular e atividade percentual em Aedes Aegypti				
Nome	Molécula:	Larvicida (%)	Pupicida (%)	Adulticida (%)
Arbo29A046		0,00	0,00	0,00
Arbo29A048 B		87,5	0,00	X
S1	???	0,00	100	X

Quadro 5 - Resultados de testes relativos a estrutura molecular.

Fonte: do autor.

4.4 Cromatografia de camada delgada

4.4.1 Arbo29A046

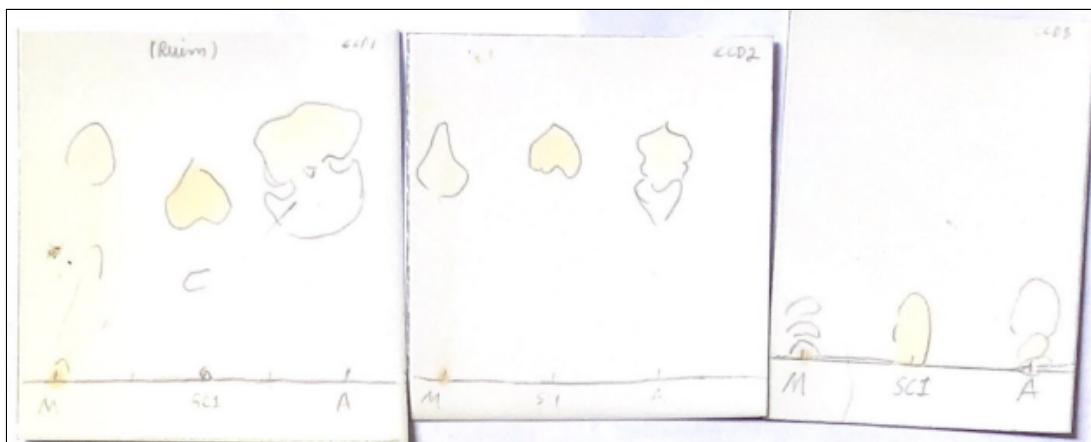


Figura 32 - CCD de **Arbo29A046** sistema eluente Hexano : Acetato da esquerda para direita: (0,2:9,8)(1:9) e (9,8:0,2) respectivamente.

Fonte: do autor.

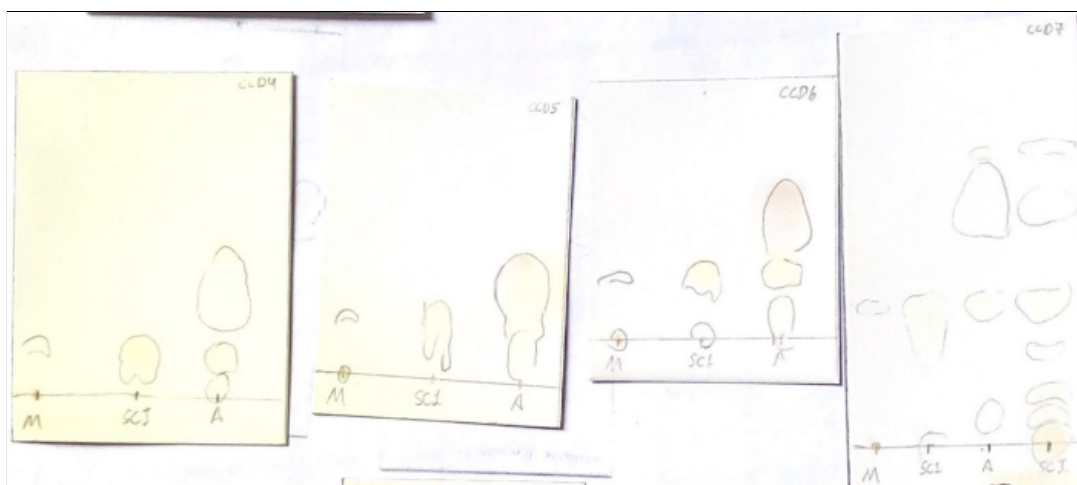


Figura 33 - CCD sistemas Hexano : Acetato da esquerda para direita: (9,6:0,4)(9,4:0,6) (9:1) e (9,9:0,1) respectivamente.

Fonte: do autor.



Figura 34 - CCD sistemas Hexano : Acetato : (9,9:0,1). CCD de término da reação.

Fonte: do autor.

Na última CCD apresentada, foi realizada a comparação entre o produto sintetizado nesta reação (ponto SC1) com o produto sintetizado em outro ensaio idêntico, antes testada no mesmo laboratório (ponto SCA1). Ambos localizados no meio da placa. Observa-se o mesmo Rf em ambos os pontos e ambos sendo diferentes dos Rfs de seus reagentes antecessores, comprovando a eficácia do método.

4.4.2 Cromatografia de camada delgada de Arbo29A07



Figura 35 - CCD de término de reação de Arbo029A47 Sistema eluente: Hexano : Acetato : (7 : 3), .
Fonte: do autor.

A CCD mostra o progresso da reação, evidenciando que já não se encontravam os reagentes: malononitrila (M) e furfuraldeído (FA), no meio reacional (ponto MR2). Acredita-se que o produto majoritário, de Rf maior, era o produto esperado e que os restantes eram impurezas que apresentavam menor concentração. Uma coluna foi realizada para purificação.

4.4.3 Cromatografia de camada delgada de Arbo29A048A e Arbo29A048B

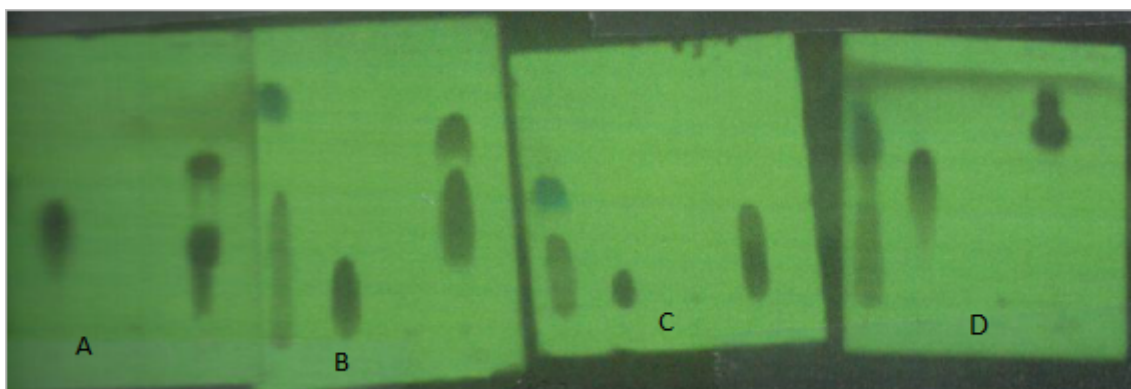


Figura 36 - CCD de 2,4-Dimetoxibenzilamina, Ácido cinâmico (Arbo 155), DCC e meio reacional Sistema eluente: Hexano : Acetato : (7 : 3) (A), (8 : 9) (B), (9 : 1) (C) e (6 : 4) (D). Arbo29A048A no quarto ponto possui RF mais alto e Arbo29A048B o mais baixo.

Fonte: do autor.

5 Conclusão

O estudo progrediu bem e os objetivos propostos foram cumpridos e seus resultados são congruentes ao esperado. Apesar de que a elucidação das moléculas se demonstrou desafiadora devido a algumas limitações técnicas, foi possível adaptar-se as novas situações que surgiram e obter resultados satisfatórios. A prática na adaptação de métodos motivou a nossa equipe a inovar técnicas conhecidas e otimizá-las, levando a síntese de quatro substâncias, duas delas contendo estrutura química bem definida e atividades em *Aedes Aegypti*; Arbo29A47 e Arbo29A048B que obtiveram atividade larvicida de 100 e 87,5 % em 72 horas, respectivamente nas concentrações de 100

$\mu\text{g/mL}$. A amida Arbo29A048B teve rendimentos de 14,57 % e não tem registro na literatura, sendo uma molécula inédita e com atividade biológica de possível utilidade pública possível confirmada neste trabalho.

Em estudo posterior esses compostos serão submetidos a avaliação de outras atividades farmacológicas, uma vez que neste trabalho o foco quanto à abordagem biológica, foi a atividade em *Aedes aegypti*. Arbo29A046 pode ser um candidato para testes repelentes devido ao número de mosquitos afogados apresentados em seus testes pupicidas, dos quais comparativamente aos outros fossos do mesmo teste, inclusive o controle eram notável observação. S1, apesar de não ter sido o foco deste trabalho é digno de nota por demonstrar-se promissora em testes de atividade pupicida que, em poucas horas na mesma concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, obteve resultado de 100% de mortalidade, que dentre as fases do ciclo de vida do mosquito demonstra-se, geralmente a mais desafiadora, obtendo resultados positivos, em média, em 10% dos de todos os testes realizados.

Os resultados experimentais demonstraram corresponder aos referenciais teóricos no desenvolvimento das sínteses químicas, meios de elucidação, além do potencial esperado de substâncias nitrogenadas aqui abordadas: derivados de arilidenomalononitrila e amidas estudadas na literatura que continham atividade larvicida e que inspiraram este estudo. A partir do conhecimento adquirido, pode-se confirmar que é possível a abordagem de síntese no controle antológico das arboviroses que desafiam a saúde pública não somente do Brasil, como em inúmeros países nas Américas, África e Ásia. O potencial para estudos relacionados deve seguir a ser explorado, especialmente levando-se em consideração que os vetores de arboviroses demonstram capacidade de adquirir resistência aos inseticidas mais comuns e esta é uma ameaça que está longe de ser neutralizada

6 Referencial teórico

BADIGER, Krishnappa, B; KAMANNA, Kanthraju. **Knoevenagel condensation reaction catalysed by agro-waste extract as a greener solvente catalyst.** Organic Communications. Vol. 14, n. 1, p. 81-91, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue – instruções para pessoal de combate ao vetor**; manual de normas técnicas. 3ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

BHARATHI, A. et. a.. **In Vitro Larvicidal and antioxidant activity of dihydrophenanthroline-3-carbonitriles.** Biomedical Research International, Vol. 2, 2014.

BOSQUESI, P. L et al. **Toxicidade de fármacos nitrofurânicos.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. Vol. 29, n. 3, p. 231-238,2008.

CARVALHO, H. et. al. **Simple and Efficient Protocol for the Knoevenagel Reaction of Benzylidenemalononitriles and the Evaluation of the Larvicidal Activity on Aedes Aegypti.** Rev. Virtual Quim. Vol.10, n. 2, 2018.

CLAYDEN, J. et al. **Organic Chemistry.** 2ª ed. Oxford University Press, 2012.

CRUZ, Ynaiara K. S. Produção técnica educacional. **Metabólitos secundários e defesa vegetal:** uma sequência didática para o ensino de botânica no ensino superior. Produção técnica (Mestrado em Ensino) – Programa de pós-graduação em ensino, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Paraná, 2020.

DONALISIO, Maria Rita; FREITAS, André Ricardo Ribas; ZUBEN, Andrea Paula Bruno Von. **Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública.** Revista de Saúde Pública, v. 51, p. 30, 2017.

FORATTINI, O. Paulo. **Culicidologia médica.** São Paulo: Edusp, Vol. 2, 2002.

FRANCO, Márcia S. Freire. **Síntese limpa promovida por ultrassom de 5-alquilideno-2-perrolidinonas derivados de ácido leulínico.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados - MS,2013.

GRAÇA, Y. Rodrigues; NUNOMURA, S. Massayoshi; TADEI, W. Pedro. **Atividade larvicida de *piper tuberculatum*.** XIII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC / CNPq / FAFEAM / INPA. Manaus, 2004.

- LINDSAY, Steve W. et al. **Improving the built environment in urban areas to control Aedes aegypti-borne diseases.** Bulletin of the World Health Organization, v. 95, n. 8, p. 607, 2017.
- MALLOUK S. et. al. **Microwave-assisted and efficient solvent-free knoevenagel condensation.** A sustainable protocol using porous calcium hydroxyapatite as catalyst. Molecules. Vol. 15, s.n, p. 813-23, 2010.
- MARTINES, Marco A. U; DAVOLOS, Marian R; JUNIOR, Miguel J. **O efeito do ultra-som em reações químicas.** Química Nova. Vol. 23, n. 2, p. 251-256, 1999.
- MELO, Sebastião et. al. **Pyrimidine Derivatives: QSAR Studies of Larvicidal Activity against Aedes aegypti.** Journal of the brazilian chemical society **JCR**, v. 00, p. 1-10, 2020.
- MELO, Sebastião José. et. al. **Synthesis, antitrypanosomal activity and molecular docking studies of pyrimidine derivatives.** Medicinal Chemistry Research v. 27, p. 2512-2522, 2018.
- MELO, S. J. **Synthèse, reactivité et propriétés pharmacologiques des fluoro-5(3H)pyrimidinones-4,** These de Doctorat, U iversité Joseph Fourier, Grenoble, França, 1989.
- MELO, S. J. et. al. **Synthesis of new 4-amino-2,6-diarylpyrimidine-5-carbonitriles.** Journal of Chemical Research. Synopses, Inglaterra, v. 2002, n.0, p. 216-217, 2002.
- MONTES, Ricardo Carneiro. **Amidas Halogenadas: reações de acoplamento e investigação *in silico* da atividade antimicrobiana.** Tese (Doutorado em produtos naturais e sintéticos bioativos com área de concentração em Farmacoquímica) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.
- PAGARE, Saurabh et al. **Secondary Metabolites of Plants and Their Role: overview.** Current trends in Biotechnology and Pharmacy. Vol. 9, n. 3, p. 293-304, 2015.
- PAIVA, Raíssa K. C; RAMOS, Luciana M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de derivados de arilidenos tiazolidínicos.** In: V Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Estadual do Goiás. 5., 2016, Anápolis. CAPES -FAPEG, CNPq, UEG, BolsaBIP e Pró-projeto pesquisa edital 026/2016.
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Epidemiological update: neurological syndrome, congenital anom- alies, and Zika vírus infection.** January 17, 2016. Disponível

em:<www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=32879&lang=em>. Acesso em: 10 abr., 2016.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Epidemiological update: increase of microcephaly in the northeast of Brazil**. November 17, 2015. Disponível

em:<www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=32285&lang=en>. Acesso em 20 abr, 2016.

PANG SH, GUO ZR, LIANG XT. **Synthesis and biological activity of tyrosine protein kinase inhibitors**. Yao Xue Xue Bao. Vol. 32, s.n, 1997.

PAULA, Fávero R; SERRANO, Silvia H. Pires; TAVRES, Leoberto Costa. **Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos**. Química Nova. Vol. 32, n. 4, p. 1013-1020,2009.

PESSOA, R et al. **Investigation Into an Outbreak of Dengue-like Illness in Pernambuco, Brazil, Revealed a Cocirculation of Zika, Chikungunya, and Dengue Virus Type 1**. Medicine. Vol. 95, n. 12, p. e3201, mar. 2016. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=0000572-201603220-00059>>. Acesso em: 19 set. 2016

POMBO, Ana P. M. Mundim. **Aedes Aegypti**: morfologia, morfometria do ovo, desenvolvimento embrionário e aspectos relacionados à vigilância entomológica no Município de São Paulo. 2016. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

SANTOS, S. R. L. **Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao Aedes Aegypti**. 2014. Dissertação (Núcleo de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Pró-reitoria de dissertação e pesquisa, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2014.

VEJA SAÚDE. Medicina. **A nova vacina contra a dengue que pode ser aprovada no Brasil**. Por Chlóa Pinheiro. Atualizado em 14 Maio 2021. Publicado em 07 Maio 2021. Acesso em: 11 Nov 2021. Disponível

em:<<https://saude.abril.com.br/medicina/a-nova-vacina-contr-a-dengue-que-pode-ser-a-provada-no-brasil/>>.

ZHANG, Shuting et al. **Selection, synthesis, and anti-inflammatory evaluation of the arylidene malonate derivatives as TLR4 signaling inhibitors.** *Biorganic & Medical Chemistry*. Vol. 20, s. n, p. 6073-6079, 2012.

Anexos

Materiais usados

Balança analítica ;

Provetta 25 ml ;

Micropipeta ;

Barra magnética ;

Chapa aquecedora com agitação modelo: hs7-Ika ;

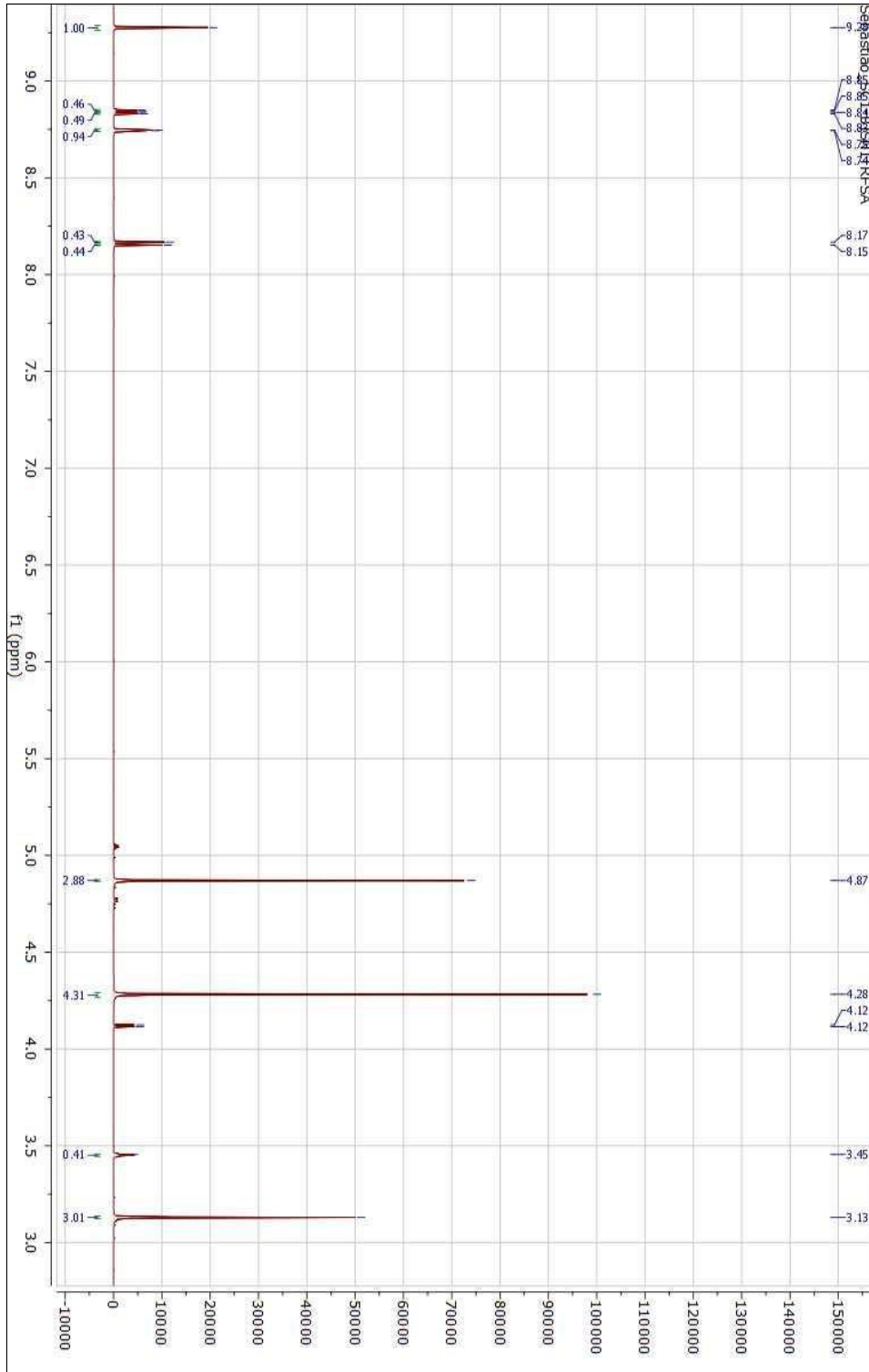
Balão de fundo redondo com junta 125 ml ;

Condensador ;

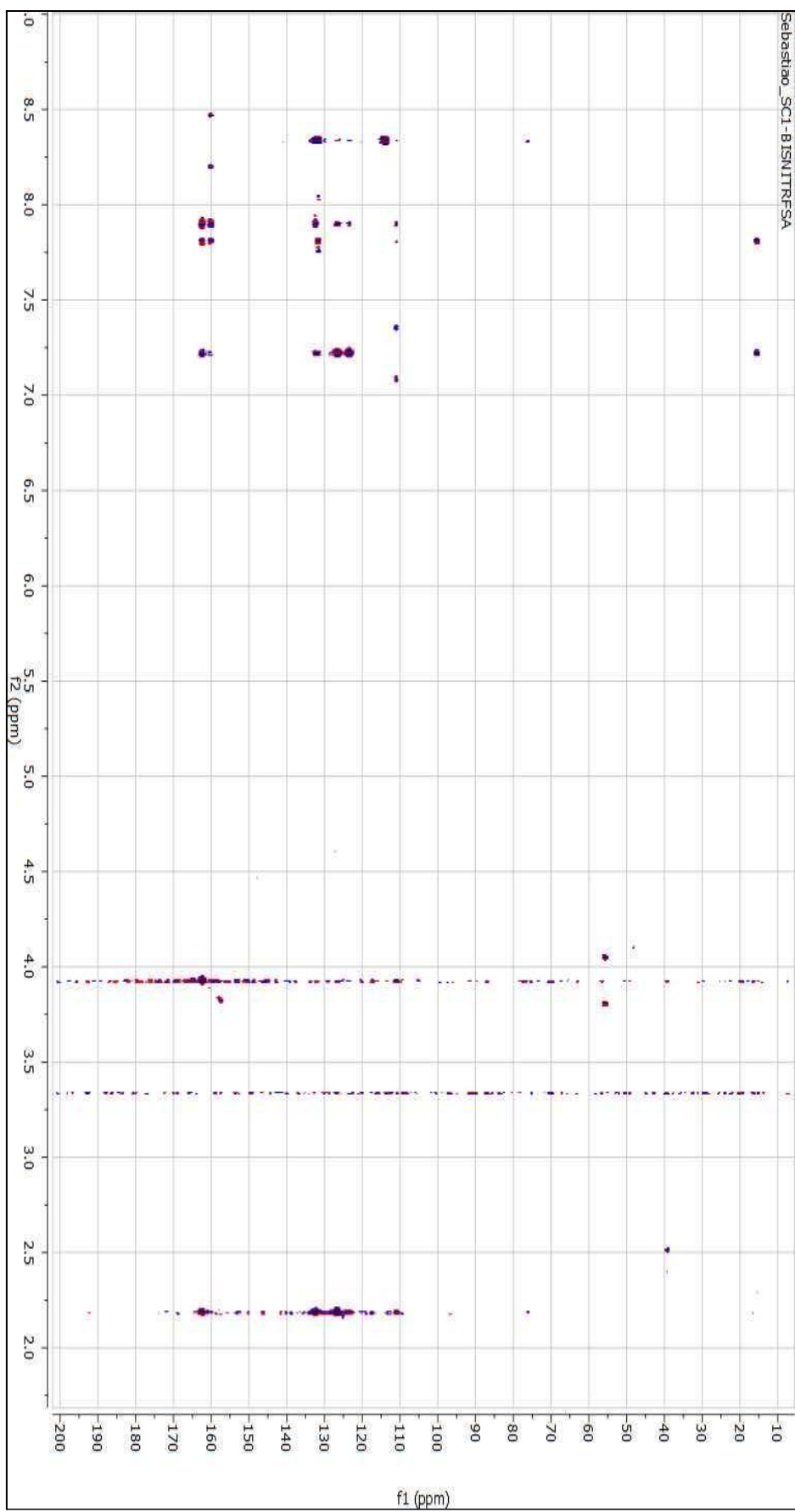
Bacia de alumínio (Adaptação de Banho Maria com óleo) ;

Imagens de RMN

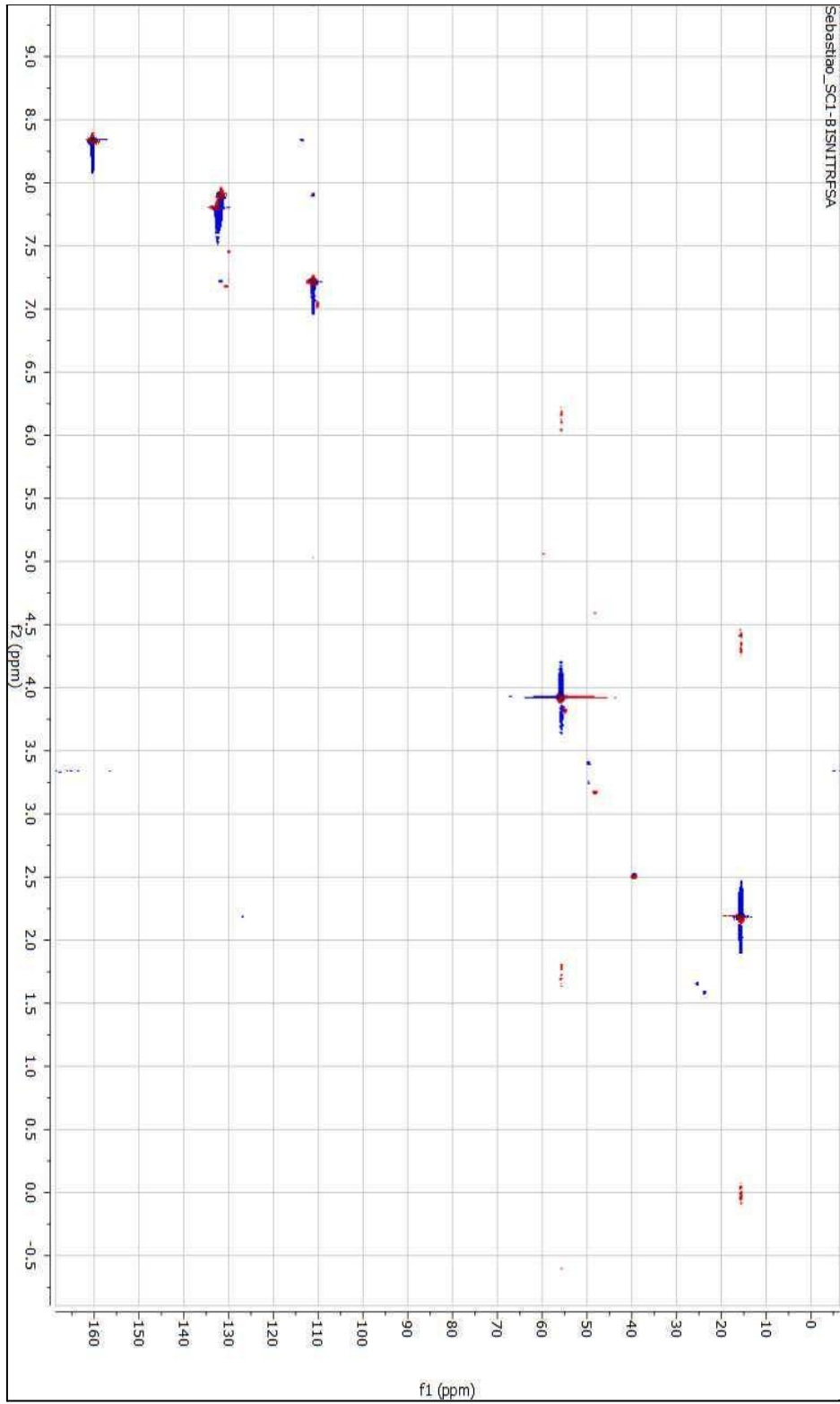
Espectro de RMN-H de Arbo29A046



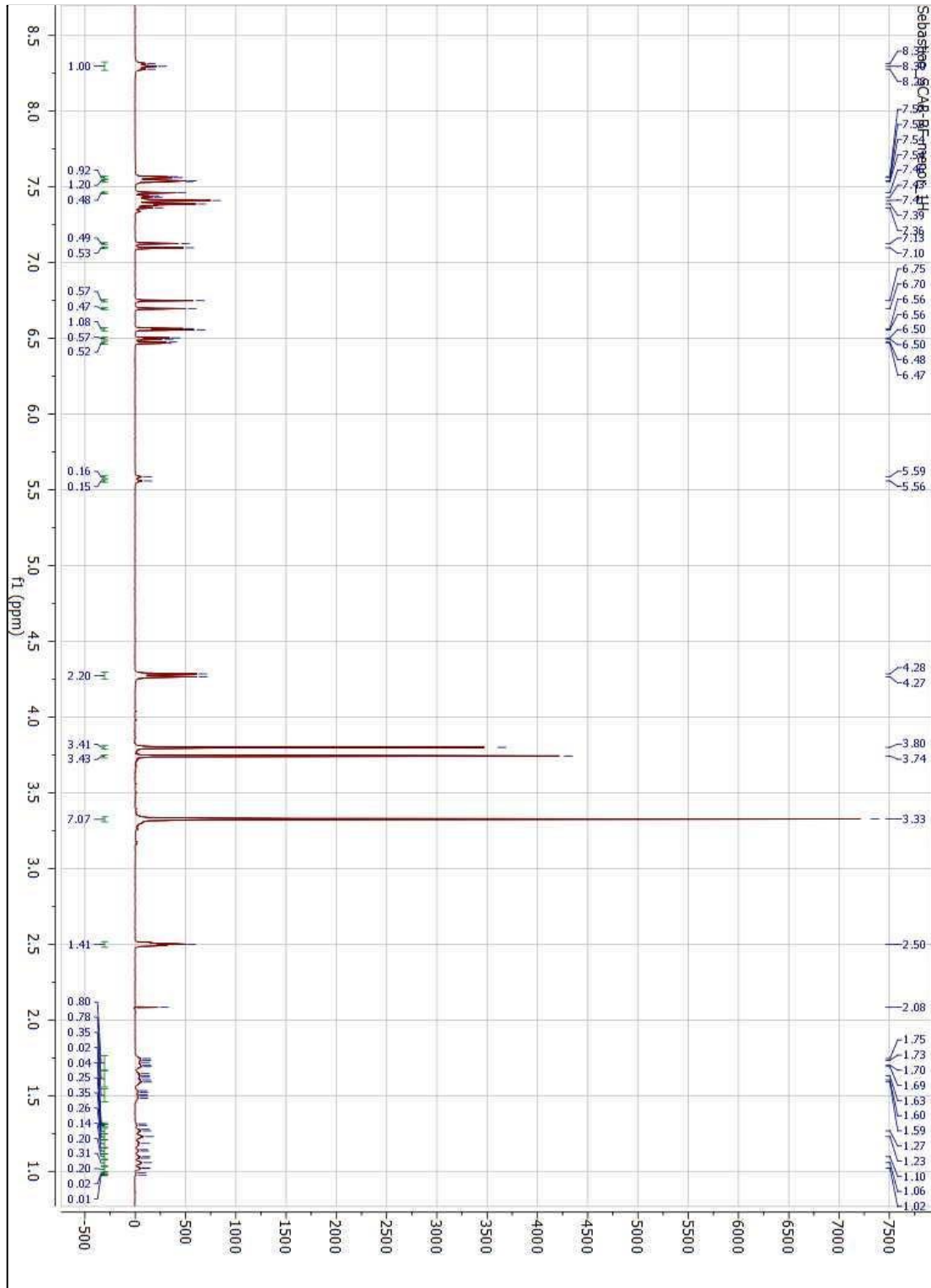
Espectro de HSQC de Arbo29A046 (1)



Espectro de HSQC de Arbo29A046 (2)



Espectro de RMN-H de Arbo29A048B



Espectro de RMN-13C de Arbo29A048B

