

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS AVANÇADO DE GOVERNADOR VALADARES
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

RAFAEL NOMAN DE CASTRO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE TIOSSEMICARBAZONAS
FRENTE AO *Aedes aegypti***

Governador Valadares - MG

2019

RAFAEL NOMAN DE CASTRO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE TIOSSEMICARBAZONAS
FRENTE AO *Aedes aegypti***

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso para graduação em Farmácia do Instituto de Ciências da Vida da Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares como requisito parcial à conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Gomes da Silva

Governador Valadares - MG

2019

Espaço reservado para ficha catalográfica.

RAFAEL NOMAN DE CASTRO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE TIOSSEMICARBAZONAS
FRENTE AO *Aedes aegypti***

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso para graduação em Farmácia do Instituto de Ciências da Vida da Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares como requisito parcial à conclusão do curso.

Aprovada em 12 de dezembro de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jeferson Gomes da Silva - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai
Universidade Federal de Juiz de Fora

MSc. Ana Maria dos Santos Moreira
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente, por ter me concedido o dom da vida, saúde, sabedoria e resiliência. Aos meus pais, Joaquim Elizomar e Maria da Conceição e meus avós maternos, Nadim Noman (*in memorian*) e Maria da Conceição Barreto (*in memorian*), por todo aprendizado, apoio, amor incondicional e por sempre me auxiliarem em meio a todas dificuldades. Aos meus irmãos Ítalo Noman, Luiz Filipe Noman e minha tia Ana Paula Noman e familiares pela convivência, ensinamentos e conselhos.

Agradeço à minha namorada Larissa Martins Duarte Andrade, disponibilidade, amor e companheirismo em todos os momentos. Aos meus amigos Alan Reis, Alexandro Fagundes, Eider Bruno, Dallas Lopes, Juliano Rocha, Paulo Roberto e Tiago Zoffóli pela amizade, convivência e contribuições ao longo destes anos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jeferson Gomes da Silva por sua dedicação, disponibilidade, acompanhamento, ensinamentos e paciência, fundamentais durante esta etapa. E a todos aqueles que contribuíram para minha formação e estiveram de alguma forma envolvidos durante a minha trajetória como: os docentes e TAEs da UFJF-GV do curso de farmácia, e todos aqueles que convivi durante os períodos de estágio e iniciação científica.

RESUMO

Tiossemicarbazonas são compostos obtidos da condensação de aldeídos ou cetonas e tiossemicarbazidas que apresentam um grande potencial farmacológico. Apesar de ser bem relatado o potencial antimicrobiano e citotóxico de compostos contendo este grupo pouco se sabe sobre o seu potencial larvicida. No presente trabalho foi avaliada a atividade larvicida de tiossemicarbazonas modificadas na porção do aldeído ou cetona frente os estágios de larva e pupa do *Aedes aegypti*. A escolha do uso de larvas deste vetor se deu em função dos impactos sociais e financeiros causados pelas doenças transmitidas pelo mesmo. As metodologias aplicadas neste estudo foram aquelas preconizadas pela Organização Mundial de Saúde no “Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides”. Durante a avaliação da atividade sobre larvas no estágio L4 foi possível observar que dos cinco composto avaliados três foram ativos em concentrações menores que 50 ppm. No experimento para avaliação da inibição de emergência, foi observado que o aumento do tempo de exposição as tiossemicarbazonas durante a metamorfose larva-pupa-inseto adulto levou a um aumento da mortalidade dos indivíduos. Esses dados corroboram o potencial larvicida de compostos da classe das tiossemicarbazonas.

Palavras-chave: tiossemicarbazonas, atividade larvicidas, *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Thiosemicarbazones are compounds obtained through the condensation of aldehydes or ketones and thiosemicarbazides that have great pharmacological potential. Despite being well reported the antimicrobial and cytotoxic potential of compounds containing this group, little attention has been addressed to their larvicidal potential. The present work evaluated the larvicidal activity of modified thiosemicarbazones in the aldehyde or ketone portion against larval and pupal stages from *Aedes aegypti*. The choice of larvae use of this vector was due to the social and financial impacts caused by the diseases transmitted by it. The methodologies applied in this study were those recommended by the World Health Organization in the "Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides". During the activity evaluation on larvae at L4 stadium, it was possible to observe that of the five evaluated compounds, three showed activity in concentrations below than 50 ppm. In the adult emergence inhibition experiment, it was observed that an increase in the exposure time to thiosemicarbazones during adult-pupa-larvae metamorphosis led to the increase in the mortality. These data corroborate the larvicidal potential of thiosemicarbazone class compounds.

Keywords: thiosemicabazones, larvicidal activity, *Aedes aegypti*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Exemplos de insetos representantes das ordens <i>culicidae</i> (a), <i>odonata</i> (b), <i>mantódea</i> (c) e <i>hemíptera</i> (d).	14
Figura 2. Comparação do número de casos de zika (a), dengue (b) e chikungunya (c) nas primeiras 33 semanas de 2018 e 2019.	15
Figura 3. Estágios do desenvolvimento do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	16
Figura 4. Fórmula estrutural do temefós.....	18
Figura 5. Fórmula estrutural de um composto da classe das benzoilfenilureias (a) e piriproxifeno (b).	19
Figura 6. Fórmula estrutural do esqueleto de tiossemicarbazonas e tiossemicarbazidas.	21
Figura 7. Representação esquemática das tiossemicarbazonas utilizadas neste trabalho. .	26
Figura 8. Fluxograma contendo as etapas realizadas neste trabalho.	27
Figura 9. Esquema do experimento para determinação da turbidez da solução/suspensão em função do tempo.	28
Figura 10. Representação esquemática do experimento para avaliação da atividade contra larvas no estágio L4 de <i>Aedes aegypti</i>	30
Figura 11. Representação esquemática do experimento para avaliação da inibição de emergência.....	31
Figura 12. Espectros na região do infravermelho de <i>N</i> (4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H2Ac4Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H2Bz4Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona (H2Am4Ph) e <i>N</i> (4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona (H2AcT4Ph) em pastilha de KBr.	32
Figura 13. Curvas de turbidez em função do tempo para <i>N</i> (4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph) e <i>N</i> (4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona (H2AcT4Ph) em solução aquosa com DMSO 1%.	33
Figura 14. Curva de porcentagem de mortalidade das larvas no estágio L4 de <i>Aedes aegypti</i> em função do logaritmo da concentração de <i>N</i> (4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph) e <i>N</i> (4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona (H2Am4Ph) após 24 h de exposição	34
Figura 15. Porcentagem de mortalidade dos estádios/estágios em função do tempo durante o experimento de inibição de emergência para <i>N</i> (4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H2Ac4Ph) e <i>N</i> (4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H2Bz4Ph) nas concentrações de 100 - 0,01 µM.	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Algumas atividades farmacológicas atribuídas às tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos.....	22
Tabela 2. Toxicidade de <i>N</i> (4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H ₂ Fo ₄ Ph), <i>N</i> (4)fenil-acetilpiridina tiossemicarbazona (H ₂ Ac ₄ Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H ₂ Bz ₄ Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona (H ₂ Am ₄ Ph) e <i>N</i> (4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona (H ₂ AcT ₄ Ph) frente a larvas no estágio L4 do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	35
Tabela 3. Concentrações de <i>N</i> (4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H ₂ Fo ₄ Ph), <i>N</i> (4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H ₂ Ac ₄ Ph) e <i>N</i> (4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H ₂ Bz ₄ Ph) necessárias para inibir a emergência de 50% dos mosquitos adultos (IE ₅₀).....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DL ₅₀	Dose letal a 50% das larvas no estágio L4
DMSO	Dimetilsulfóxido
IE ₅₀	Dose necessária para inibir a emergência de 50% dos mosquitos adultos
H2Ac4Ph	N(4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona
H2AcT4Ph	N(4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona
H2Am4Ph	N(4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona
H2Bz4Ph	N(4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona
H2Fo4Ph	N(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona
L1	Larvas no estágio 1 de desenvolvimento
L3	Larvas no estágio 3 de desenvolvimento
L4	Larvas no estágio 4 de desenvolvimento
NTU	Unidade nefelométrica de turbidez
log P	Logaritmo do coeficiente de partição
KBr	Brometo de potássio
OMS	Organização Mundial de Saúde
ppm	Partes por milhão (unidade equivalente a mg/L)
μM	Micromolar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 O PAPEL DOS INSETOS NA TRANSMISSÃO DE DOENÇAS	13
1.2 O MOSQUITO <i>Aedes aegypti</i>	16
1.3 CONTROLE DO VETOR	18
1.4 RESISTÊNCIA AOS LARVICIDAS.....	19
1.5 TIOSSEMICARBAZONAS	21
1.6 METODOLOGIAS APLICADAS NA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NOVOS COMPOSTOS	23
2. OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3. PARTE EXPERIMENTAL	26
3.1 MATERIAIS	26
3.2. MÉTODOS.....	26
3.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	27
3.2.2 Turbidimetria	28
3.2.3 Bioensaios	28
3.2.4 Cálculo do logaritmo do coeficiente de partição (log P) e solubilidade em água	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	32
4.2 TURBIDIMETRIA.....	33
4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FRENTE AO ESTÁDIO L4 DE LARVAS DO MOSQUITO <i>Aedes aegypti</i>	34
4.4 AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DE EMERGÊNCIA.....	36
5. CONCLUSÃO	39
6. REFERÊNCIAS	40
7. APÊNDICES	47

1. INTRODUÇÃO

Em países de clima tropical e/ou subtropical, doenças transmitidas por insetos tais como a dengue, zika, chikungunya, malária, leishmaniose, doença de Chagas, filariose, febre do Oeste do Nilo, febre amarela e mayaro, tem causado preocupação para o sistema de saúde (OMS, 2009; HENNESSEY, FISCHER, STAPLES, 2016). Essas doenças têm causado um grande impacto econômico tanto pelo custo do tratamento de indivíduos doentes, quanto em campanhas educativas para controle dos vetores, como relatado pelo ministério da saúde para o Brasil (BRASIL, 2006). O aumento na incidência de casos se deve à facilidade desses insetos se adaptarem aos ambientes urbanos associado, muitas vezes, a ausência e/ou precariedade de políticas de saneamento básico e promoção à saúde.

Um dos vetores que tem levado a disseminação de doenças virais febris agudas no Brasil é o *Aedes aegypti*. Esse mosquito apresenta uma coloração preta com manchas brancas pelo corpo, medindo menos de um centímetro de comprimento. Seu ciclo de desenvolvimento é composto por quatro estágios: ovo, larva, pupa e mosquito adultos. Diferente do mosquito macho que se alimenta exclusivamente de seiva das plantas, o mosquito fêmea necessita de nutrientes do sangue para a fecundação de seus ovos, tornando-o assim um vetor na transmissão de doenças (REY, 2018).

Um problema encontrado no combate desse vetor é a ineficiência dos agentes inseticidas que atuam na fase adulta em casos de surtos de doenças (ex.: fumacê), visto que ele apresenta hábitos preferencialmente diurnos, e se encontram dentro das residências e está bem adaptado aos ambientes urbanos.

A estratégia mais eficiente a ser aplicada ao combate do *Aedes aegypti* é o controle focal dos criadouros, utilizando inseticidas que atuam na fase larval. Os compostos mais utilizados para este fim são aqueles das classes dos piretróides, carbamatos, organoclorados, organofosforados e benzoilfenilureias. No entanto, vários são os relatos do aparecimento de resistência ao temefós e outros larvicidas em várias cidades do mundo (VIANA-MEDEIROS, 2011; FONSECA, 2019; BHARATI; SAHA, 2018; APONTE *et al.*, 2013).

Considerando o número limitado de inseticidas recomendado para uso e o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos larvicidas pelo vetores, tem ocorrido um aumento na busca de novos compostos que possa atuar como agentes larvicidas. Há relatos na literatura de vários compostos de origem natural e sintética

que apresentam atividade contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* (BUSATO, 2015; VIANA, 2018. CARBONARO, 2015). Dentre as várias classes de compostos de origem puramente sintética que apresentam grande potencial do ponto de vista químico e biológico, certamente podemos destacar as tiosemicabazonas (BERALDO, 2004).

Esses compostos são obtidos pela condensação quimiosseletiva de tiosemicarbazidas com aldeídos ou/e cetonas, sendo comum o estudo do papel da modificação química na atividade biológica. As propriedades farmacológicas dos mesmos têm sido extensivamente estudadas na Química Medicinal, em razão de suas múltiplas atividades como agentes antitumorais, antibacterianos, antituberculose, antivirais, antimaláricos, antifúngicos, antiparasitários e anticonvulsivantes, bem como por sua grande afinidade pelos cátions metálicos (BERALDO, 2004; TENÓRIO, 2005; SILVA, 2017). Mais recentemente, foram relatados trabalhos relacionando a atividade larvicida de tiosemicabazonas frente a larvas do *Aedes aegypti*, contudo pouco se sabe sobre as alterações químicas que podem melhorar ou diminuir sua toxicidade e o mecanismo de ação desses compostos (DA SILVA, 2015).

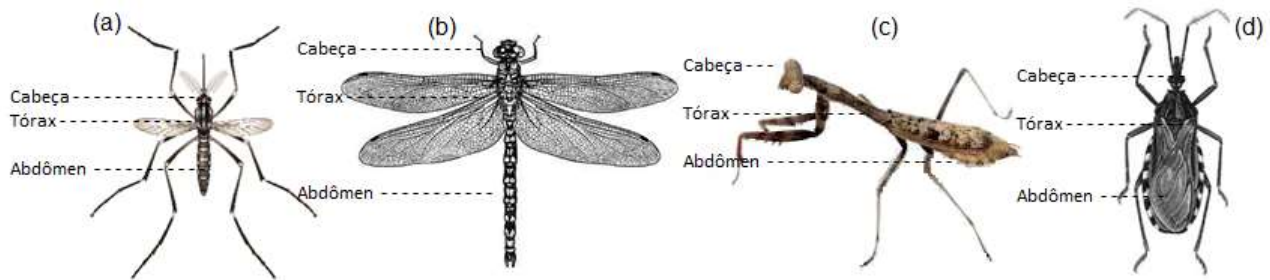
Deste modo, no presente trabalho interessou-nos avaliar o potencial larvicida de tiosemicarbazonas com modificações na porção do aldeído ou cetona frente aos estádios larvais L3 e L4 de *Aedes aegypti*.

REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 O PAPEL DOS INSETOS NA TRANSMISSÃO DE DOENÇAS

A Classe Insecta é a maior e mais diversificada de todas as classes animais. Com relação a sua morfologia, os insetos diferenciam-se dos outros artrópodes por possuírem três regiões distintas: cabeça, tórax e abdômen (Figura 1). Na cabeça apresentam um par de antenas e olhos, podendo ser simples ou/e compostos e peças bucais de tipo mastigador, lambedor ou picador-sugador. Em seu tórax, eles apresentam dois ou três pares de pernas, podendo estas estarem modificadas. Possuem sexo separados e uma única abertura sexual na extremidade do abdômen de desenvolvimento pós-ovular com várias mudanças de exoesqueleto (ecdises) (REY, 2018).

Figura 1. Exemplos de insetos representantes das ordens *culicidae* (a), *odonata* (b), *mantódea* (c) e *hemíptera* (d).



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Os insetos podem desempenhar papel de transportadores de agentes infecciosos entre a fonte infectada e animais e/ou plantas suscetíveis. Apesar de serem vetores na transmissão de doenças aos animais, poucos transmitem doenças ao homem, contudo os impactos que causam à saúde podem ser graves levando até mesmos ao óbito do indivíduo.

Dentre as várias famílias de insetos, a *Culicidae*, cujos representantes são comumente chamados de mosquitos, é aquela que contribui com a transmissão da maioria das doenças, sendo de fundamental importância o estudo epidemiológico de indivíduos desse grupo no desenvolvimento de metodologias para a prevenção de endemias (REY, 2018).

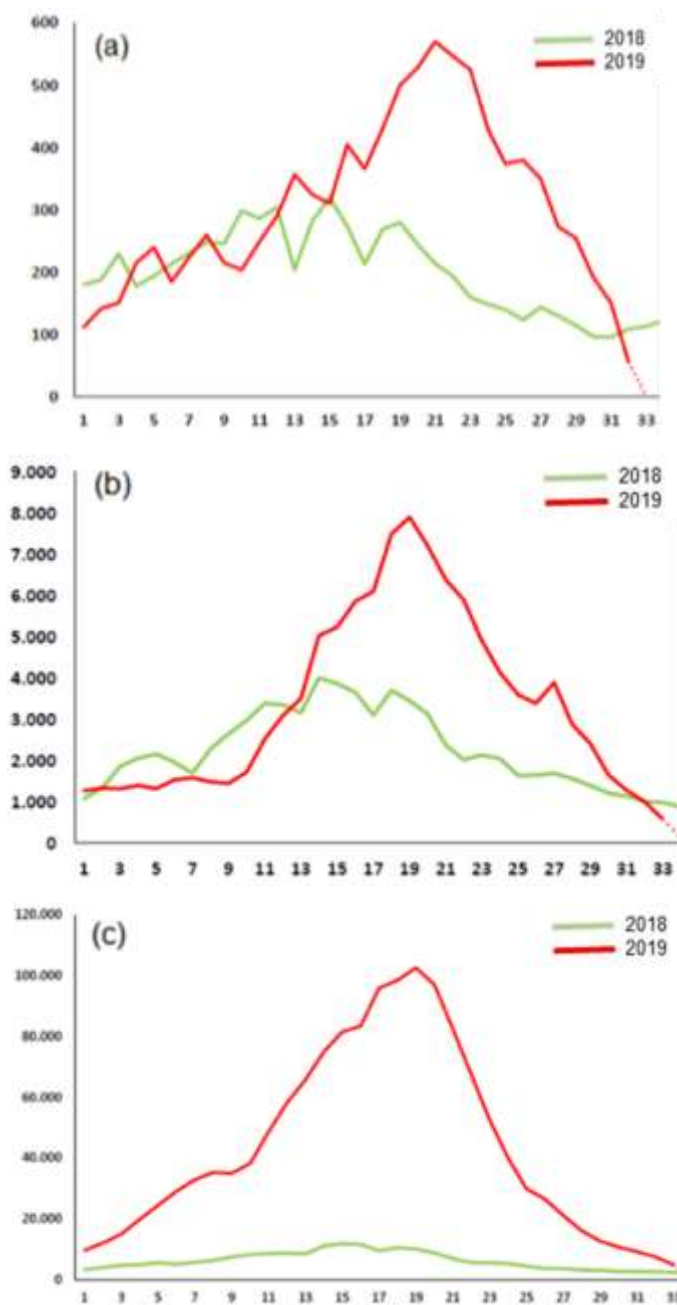
Entre as doenças transmitidas por artrópodes, podemos destacar aquelas causadas por vírus (arboviroses). Acredita-se que cerca de dois terços da população mundial vivem em áreas onde encontram-se vetores de arboviroses e segundo estimativas da organização mundial de saúde (OMS) cerca de meio milhão pessoas são hospitalizadas anualmente em todo o mundo em decorrência dessas doenças, com uma taxa de mortalidade de cerca de 2,5% (CLARO; TOMASSINI; ROSA, 2002; OMS, 2012a). Sob tal aspecto, países em zona de clima tropical e subtropical tem estado em alerta em relação a disseminação de arboviroses em seu território, pois climas quentes e úmidos favorecem a proliferação do mosquito vetor (TAUIL, 2002).

Nos últimos anos foi observado o aumento significativo de casos de arboviroses no mundo, com destaque para: a febre amarela e encefalites Saint Louis, cujo vetores são mosquitos do gênero *Culex*; e a dengue, chikungunya, zika, febre do Oeste do Nilo e mayaro, cujo principais vetores são mosquitos do gênero *Aedes*.

No Brasil, segundo dados do boletim epidemiológico das arboviroses do ministério da saúde somente no período de 2017/2018 foram registrados 220 921

casos prováveis de dengue resultando em 130 óbitos, 80 940 casos prováveis de chikungunya resultando em 34 óbitos e 7 544 casos prováveis de zika (BRASIL, 2018), e conforme podemos observar na figura 2 tem ocorrido aumento do número de casos dessas doenças no período de 2018/2019 (SINAN, 2019). Isso levou somente no ano de 2016, um investimento de 1,5 bilhões em políticas de combate ao vetor no Brasil (TEICH; ARINELLI; FAHHAM, 2017).

Figura 2. Comparação do número de casos de zika (a), dengue (b) e chikungunya (c) nas primeiras 33 semanas de 2018 e 2019.



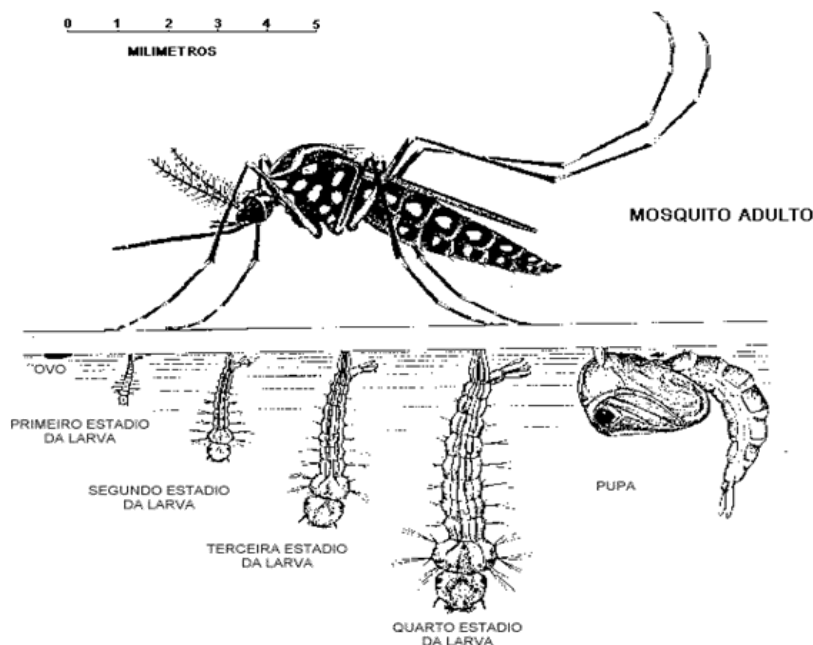
Fonte: SINAN, 2019.

1.2 O MOSQUITO *Aedes aegypti*

O *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) é um mosquito pertencente ao ramo *Arthropoda* (pés articulados), classe *Hexapoda* (três pares de patas), ordem *Diptera* (um par de asas anterior funcional e um par posterior transformado em halteres), família *Culicidae* e gênero *Aedes*. Ele se destaca pela pigmentação preta com listras brancas e mede cerca de um centímetro de comprimento, e assim como outros insetos, seu ciclo de desenvolvimento é composto por quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos (Figura 3), sendo que as fases de larvas e pupas são aquáticas e os adultos são terrestres.

Após eclosão dos ovos, as larvas estão perfeitamente adaptadas à vida aquática. Duas características principais determinam o seu modo de vida, sendo o uso de oxigênio atmosférico na respiração e a alimentação de partículas orgânicas em suspensão ou no sedimento do sistema aquático. Isso exige desse indivíduo um contato quase permanente com a superfície da água, onde se estabelecem as trocas gasosas. O estágio larval é subdividido em 4 estádios (L1 - L4) que são caracterizados pela troca total do esqueleto (ecdise). Em condições controladas a mudança de estágio larval varia de dois a três dias. O tempo de duração de cada fase larvária dependerá de vários fatores ambientais, tais como a temperatura da água, luz e disponibilidade de alimentos (REY, 2018).

Figura 3. Estágios do desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*.



A pupa é o último estágio da fase aquática do inseto. Neste estágio de desenvolvimento o inseto não se alimenta e há substituição de vários órgãos da larva por órgãos do inseto adulto. As trocas gasosas na fase de pupa se dão por meio das duas largas trompetas respiratórias presentes no cefalotórax. Quando o mosquito adulto está formado a pressão interna no interior da cutícula da pupa aumenta e o inseto lentamente se expande para fora da cutícula. A ecdise pupa-adulto representa a transição do indivíduo do meio aquático para o terrestre. Ela ocorre em cerca de dois dias em condições favoráveis de temperatura e umidade do meio externo (REY, 2018).

Os mosquitos machos são os primeiros a emergir e após a eclosão das fêmeas o acasalamento acontece perto do criadouro. O mosquito adulto vive em média de 30 a 35 dias. Quanto à alimentação, machos e fêmeas necessitam de carboidratos, geralmente na forma de néctares e sucos vegetais, no entanto, as fêmeas necessitam ainda de proteínas para o desenvolvimento dos ovos que são obtidas do sangue de animais vertebrados. A preferência alimentar das fêmeas por animais (zoofilia) ou humanos (antropofilia) condiciona o seu papel como vetor de agentes patogênicos. Após o repasto sanguíneo, as fêmeas do mosquito procuram um abrigo e entram num período de inatividade relativa em que se dá a digestão e maturação dos ovos. Uma fêmea pode dar origem a mais de mil mosquitos durante seu ciclo de vida. Elas distribuem seus ovos por diversos criadouros como uma estratégia para preservar a espécie. Se a fêmea estiver infectada pelo vírus da dengue quando realizar a postura de ovos, há a possibilidade de as larvas filhas já nascerem com o vírus, no processo chamado de transmissão vertical (ZEIDLER, 2008).

A oviposição ocorre fora, porém muito próximo, do meio líquido e/ou em locais com alta probabilidade de inundações. Após essa etapa, os ovos tornam-se resistentes à dessecação por longos períodos que podem superar um ano (SILVA; SILVA; LIRA, 1998; TAUIL, 2002). A capacidade de resistência à dessecação dos ovos possibilita inclusive seu transporte de uma região ou mesmo de um país para outro. Isso constitui um sério obstáculo à erradicação do mosquito (FIOCRUZ, 2014; FUNASA, 2001). No entanto, sempre que os ovos nesses potenciais criadouros receberem água o suficiente para atingi-los, eles serão estimulados a eclodir, liberando as larvas do mosquito (NATAL, 2002), reiniciando assim o ciclo de vida deste vetor.

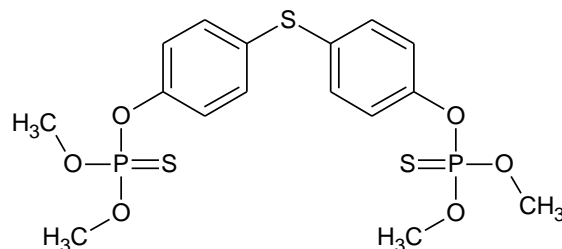
1.3 CONTROLE DO VETOR

Os métodos de controle de mosquitos podem ser dirigidos às formas imaturas (larvas e pupas) ou aos insetos adultos, sendo aplicados os métodos: físicos, focado na localização e remoção dos criadouros; químicos, focado no uso de adulticidas ou larvicidas; e biológicos, focado na utilização de insetos modificados ou incapazes de transmitir doenças (FUNASA, 2001; ZARA *et al.*, 2016). A OMS recomenda o controle integrado dos vetores, visando o uso racional, eficaz e ecologicamente sustentável desses três tipos de abordagens (FUNASA, 2001; SENAPATI *et al.*, 2019; OMS, 2012b).

Quando se trata do controle do *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762), a resposta não é outra a não ser o combate dos criadouros, sendo que no Brasil a estratégia utilizada é o monitoramento por agentes de endemias das residências, eliminando-os ao aplicar agentes larvicidas nos depósitos de água fixos e/ou mal acondicionados. Entretanto, o controle vetorial apenas retarda novas epidemias (LOPES, 2017; PENNA, 2003).

O temefós foi o primeiro agente larvicida utilizado no combate ao *Aedes aegypti* e cujo uso foi liberado para administração em água potável (Figura 4) (OMS, 1996; BRAGA; VALLE, 2007; MACHADO, 2015). Ele pertence à classe dos organofosforados e seu mecanismo de ação baseia-se na inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase, levando ao acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas das larvas, e como consequência, desencadeia o processo de paralisia que resulta na sua morte do inseto (BRAGA; VALLE, 2007; MACHADO, 2015). Este efeito é observado após poucas horas de contato com o agente químico, sendo comum a utilização do experimento em larvas do estágio L4 como preconizado pela OMS (2005) para avaliação do potencial larvicida.

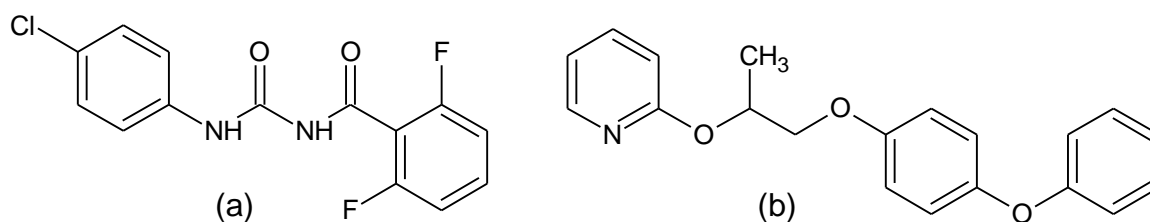
Figura 4. Fórmula estrutural do temefós.



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Contudo, vários estudos detectaram resistência de mosquitos ao temefós (CARVALHO; SILVA, 2007; RODRÍGUEZ, MAGDALENA *et al.*, 1999; CARVALHO; SILVA, 1999). Em 2012, foi recomendada a interrupção do seu uso no combate ao vetor, sendo que essa suspensão no Brasil ocorreu a partir de 2014 (BRASIL, 2014). Diante disso, novos agentes larvicidas tiveram seu uso recomendado pela OMS, tais como as benzoilfenilureias e o piriproxifeno (Figura 5) (OMS, 2012a).

Figura 5. Fórmula estrutural de um composto da classe das benzoilfenilureias (a) e piriproxifeno (b).



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

As benzoilfenilureias atuam inibindo a síntese de quitina e interferem na formação da cutícula durante o início da ecdise, o que causa a desidratação e morte do indivíduo (JIN, 2014). O piriproxifeno atua sobre as larvas do mosquito mimetizando o hormônio juvenil, interrompendo o desenvolvimento das características adultas do inseto como as asas, a maturação dos órgãos reprodutivos e genitália externa (BRASIL, 2013). Portanto, esses produtos têm pouco efeito agudo sobre mortalidade de larvas (BRAGA, 2007). Devido a esses mecanismos, a morte do vetor não ocorre imediatamente após a aplicação do agente químico, o que faz necessário a utilização de experimentos que avaliem a inibição de emergência com larvas no estágio L3 para avaliar a toxicidade dos compostos, como preconizado pela OMS (2005).

Apesar de não ter sido relatado até o presente momento casos de resistência às benzoilfenilureias e piriproxifeno é apenas um questão de tempo até que populações desses vetores desenvolvam mecanismos para inibir ou reduzir a sua ação, sendo importante um monitoramento contínuo da resistência após ciclos de aplicação desses novos larvicidas.

1.4 RESISTÊNCIA AOS LARVICIDAS

Resistência é um fenômeno natural que ocorre em qualquer população, ou seja, é uma variação genética (mutação) e uma característica que confere uma proteção

natural a esta população, onde os indivíduos mais adaptados ao ambiente reproduzem e passam adiante sua mutação (SANTOS, 2014). No entanto, quando se pensa em desenvolver substâncias capazes de combater vetores, essa característica pode comprometer a eficácia a longo tempo do agente larvicida.

A resistência aos inseticidas é geralmente o resultado de alguma mutação que pode afetar características fisiológicas ou comportamentais do inseto (MONTELLA, 2008). Os principais mecanismos que podem conferir resistência a inseticidas é a redução na penetração do inseticida, comportamental, a insensibilidade ao sítio alvo do inseticida e o aumento da detoxificação do inseticida (ARAÚJO, 2013; BRAGA, 2007; XU *et al.*, 2017; BALMERT *et al.*, 2014).

Vários estudos têm mostrado o aparecimento de resistência aos inseticidas/larvicidas usados no combate ao *Aedes aegypti*. Entre eles podemos citar:

- O trabalho de Bharati e Saha (2018) que demonstrou o aparecimento de resistência na região norte de Bengala ocidental a maioria das classes de inseticidas testados, como o organoclorado diclorodifeniltricloroetano (DDT), organofosforados (temefós, malation), piretróides sintéticos (deltametrina, lambdachalotrina e permetrina) e carbamato (propoxur);

- O trabalho de Aponte e colaboradores (2013) que demonstrou altos índices de resistência devido aos múltiplos mecanismos de resistência do mosquito *Aedes aegypti* aos inseticidas da classe dos piretróides e DDT no estado de Guerrero no México;

- O trabalho de Araújo (2013) realizado em 17 municípios de Pernambuco, mostrou uma situação crítica de resistência aos inseticidas nas populações pernambucanas do mosquito *Aedes aegypti* aos agentes larvicidas temefós e à cipermetrina;

- O trabalho de Lima (2011) demonstra que duas populações de *Aedes aegypti* no Ceará são resistentes aos inseticidas temefós e cipermetrina de três populações estudadas;

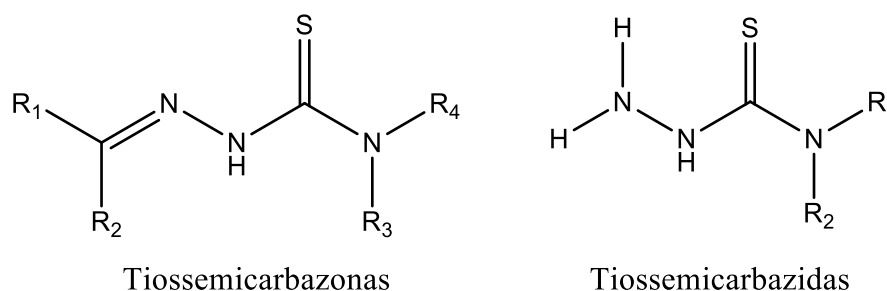
- O trabalho de Paiva (2006) indicou o aparecimento de resistência ao inseticida temefós em linhagens de mosquito *Aedes aegypti* da região metropolitana do Recife e uma de Araripe.

Por isso, tem se incentivado o desenvolvimento de novos agentes larvicidas que sejam efetivos no combate dos insetos vetores e que apresentem baixa toxicidade ao meio ambiente (SIMAS *et al.*, 2004).

1.5 TIOSSEMICARBAZONAS

Tiossemicarbazonas são derivados hidrazônicos que apresentam o esqueleto mostrado na figura 6. Eles são geralmente formados pela condensação de tiossemicarbazidas com aldeídos e cetonas, apresentando um alto rendimento. O esqueleto desses compostos no estado sólido é geralmente plano, podendo adotar as configurações *Z* e *E* em relação à ligação C=N dependendo dos grupos substituintes nas posições R₁ e R₂. Esses compostos são muito empregados como intermediários na síntese orgânica de importantes heterociclos, tais como tiazol, 1,2,4-triazina, 1,2,4-ditiazolinas, 4-tiazolidiononas e 5-aminopirazol (TENÓRIO *et al.*, 2005).

Figura 6. Fórmula estrutural do esqueleto de tiossemicarbazonas e tiossemicarbazidas.



R₁, R₂, R₃, R₄ = grupo substituinte

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Vários trabalhos demonstram o papel da modificação química de tiossemicarbazonas e o aumento/variação da atividade farmacológica (CASAS *et al.*, 2000; BERALDO, 2004; LOBANA *et al.*, 2009). Uma justificativa para isso é que a presença de átomos de N e S do tipo sp² no esqueleto da tiossemicarbazona confere uma alta deslocalização eletrônica a estes átomos, permitindo ainda a coordenação com metais de transição, sendo, portanto, excelentes agentes quelantes (TENÓRIO, 2005). Na tabela 1 estão apresentados alguns trabalhos demonstrando a atividade biológica das tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos.

Tabela 1. Algumas atividades farmacológicas atribuídas às tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos.

Composto	Potencial atividade	Referência
Tiossemicarbazonas contendo um grupo para-iodo-fenil na posição N(4)	antimalárica	DUAN; ZHANG, 2011.
Complexos de ouro(I) com tiossemicarbazonas contendo grupo fosfina	citotóxica	GONZÁLEZ-BARCIA <i>et al.</i> , 2019.
Complexos de gálio(III) de tiossemicarbazonas derivada de 2-acetilpiridina	Antimicrobiana e citotóxica	LESSA, 2013
Complexos de zinco(II), paládio(II) e cobre(I) de tiossemicarbazonas derivadas da cânfora	citotóxica	KOKINA <i>et al.</i> , 2019.
Complexos de cobre(II) tiossemicarbazonas derivadas de 3-formil-6-metilcromona	Antimicrobiana	ILIES <i>et al.</i> , 2014.
Nitroariltiossemicarbazonas	Antichagássica	REVOREDO, 2010.
Complexo de índio(III) de tiossemicarbazona derivadas de 2-acetilpiridina	citotóxica	OLIVEIRA, 2017

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Os potenciais alvos de tiossemicarbazonas são a enzima ribonucleosídeo difosfato redutase com ação antitumoral e a enzima cruzaína com ação antichagássica (BERALDO, 2004; GONÇALVES, 2016). O trabalho de Beebe e colaboradores (2020) demonstra a atuação de tiossemicarbazonas na ligação ao DNA, inibe a topoisomerase e induz a apoptose. Seu mecanismo de ação, em muitos casos, envolve a coordenação a metais, o que torna o estudo dos complexos tão, ou mais importante, que o estudo das bases livres. Além disso, muitas vezes o complexo é mais ativo do que a tiossemicarbazona livre, ou o complexo pode ativar o ligante como agente citotóxico e diminuir a resistência celular à droga. Alguns efeitos colaterais causados pelos ligantes podem ser atenuados pela complexação.

Apesar dos muitos trabalhos sobre a atividade antimicrobiana e citotóxica desses compostos poucos são os estudos relacionados com a atividade larvicidas, entre eles podemos destacar:

- O trabalho de Espíndola (2010) que demonstra a atividade frente às larvas de *Aedes aegypti* de tiossemicarbazonas contendo halogênios “Cl” e “Br” ligados ao anel fenílico, e as derivadas de fenil-propenaldeído e (3,4-diclorofenoxi)acetaldéído em concentrações menores que 50 ppm, sendo que esse último derivado apresentou baixa toxicidade a células de mamíferos.

- O trabalho de Da Silva e colaboradores (2015) que ao realizar um estudo de (Q)SAR de aril e fenoximetil-tiossemicarbazonas em relação a sua atividade larvicida observou que o momento do dipolo elétrico (μ) e o logaritmo do coeficiente de partição ($\log P$) são parâmetros importantes o aumento da atividade larvicida. Além disso, ele demonstrou a partir de estudos de “docking” que a atividade poderia estar associada a inibição da proteína transportadora de esterol (AeSCP-2).

- O trabalho de Grossi (2018) que durante o estudo da atividade larvicidas de tiossemicarbazonas derivadas de benzaldeído e benzofenona, demonstrando que somente as tiossemicarbazonas derivadas da benzofenona foram ativas frente as larvas do *Aedes aegypti*. Foi observado ainda a redução da mobilidade, deformidade e alterações de células do intestino médio das larvas após exposição as tiossemicarbazonas.

1.6 METODOLOGIAS APLICADAS NA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NOVOS COMPOSTOS

As metodologias frequentemente empregadas na avaliação da atividade larvicida em novos compostos são os preconizados pela OMS (2005). Esses bioensaios fundamentam-se na avaliação da toxicidade frente aos estádios desenvolvidos das larvas de mosquitos (L3 e/ou L4). A partir da avaliação da toxicidade de compostos frente ao estágio L4 de larvas do mosquito pode-se obter o valor da dose letal para 50% das larvas (DL_{50}), que é um parâmetro importante para avaliar a toxicidade aguda do composto.

Faz-se necessário ainda obter informações sobre o mecanismo de ação dos novos agentes larvicidas, visto que o bioensaio utilizado para compostos que apresentam toxicidade dentro de um estágio larval é diferente daqueles que atuam como reguladores do crescimento. Contudo, desvendar esse mecanismo de ação nem sempre é uma tarefa fácil e o próprio agente larvicida piriproxifeno teve seu uso liberado antes que seu mecanismo de ação fosse elucidado (SALGADO, 2013). Por esta razão, a OMS padronizou a realização do teste de inibição de emergência para

compostos em que o mecanismo de ação seja a regulação do crescimento de insetos. Nesse experimento um importante parâmetro a ser obtido é a dose necessária para inibir a emergência de 50% dos insetos adultos (IE_{50}).

Na metodologia preconizada pela OMS não há menção de um tipo de inseto a ser utilizado como modelo nos estudos, ficando a cargo dos pesquisadores a escolha da larva do mesmo. Os mosquitos escolhidos são principalmente dos gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (PIPLANI, 2019; SILVA, 2019; JOHNSON, 2018; CHANDRASHEKHARAPPA, 2018). Deste modo, considerando o impacto causado pelas doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*, o mesmo foi utilizado como modelo neste trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade de tiosemicarbazonas modificadas na porção do aldeído ou cetona contra os estádios larvais (L3 e L4) e estágios (larva-pupa-adulto) do mosquito *Aedes aegypti*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

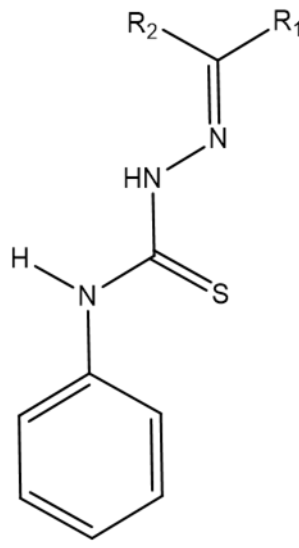
- Avaliar a atividade larvicida no estágio L4 de vários compostos da classe da tiosemicarbazonas.
- Determinar se existe ou não uma relação entre as modificações químicas e a atividade.
- Avaliar a atividade dos compostos sobre estádios/estágios desenvolvidos do mosquito através do experimento para avaliação de inibição de emergentes.




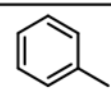


3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS

Todos os reagentes e solventes usados nos experimentos foram adquiridos de empresas idôneas (Merck, Aldrich, J.T. Baker e Synth) em alto grau de pureza, sendo utilizados sem nenhum tratamento prévio. As tiossemicarbazonas (Figura 7) foram cedidas pela professora Heloisa de Oliveira Beraldo do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

Figura 7. Representação esquemática das tiossemicarbazonas utilizadas neste trabalho.



Sigla	R1	R2
H2Fo4Ph		H
H2Ac4Ph		CH3
H2Bz4Ph		
H2Am4Ph		NH2
H2AcT4Ph		CH3

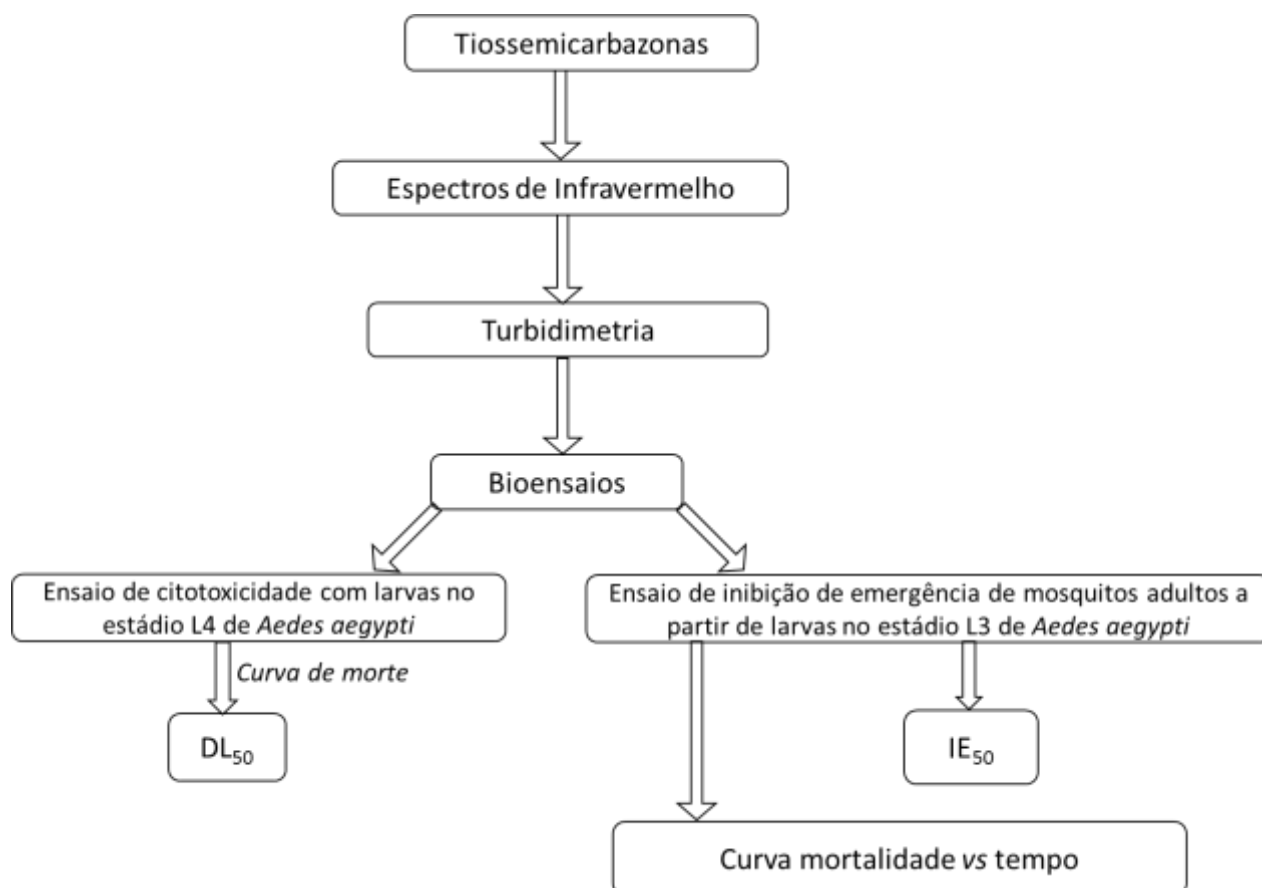
Legenda: H2Fo4Ph = *N*(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona; H2Ac4Ph = *N*(4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona; H2Bz4Ph = *N*(4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona; H2Am4Ph = *N*(4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona e H2AcT4Ph = *N*(4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

3.2. MÉTODOS

O presente estudo foi organizado da forma mostrada no esquema abaixo (Figura 8).

Figura 8. Fluxograma contendo as etapas realizadas neste trabalho.



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

3.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho médio (4000 a 400 cm^{-1}) dos compostos puros foram obtidos utilizando um espectrofotômetro da Perkin Elmer (série Spectrum Two™) com transformada de Fourier, a partir de pastilhas das amostras prensadas com KBr. Elas foram preparadas macerando o composto desejado juntamente com o KBr na proporção de 1:100, em um gral de ágata. Esse material foi transferido para o pastilhador e prensado utilizando uma prensa manual. Os espectros foram obtidos como a média de 8 varreduras consecutivas e resolução de 2 cm^{-1} . O programa Perkin Elmer Spectrum ES (versão: 10.03.08.0133) foi utilizado para a aquisição dos espectros. Os dados foram exportados para edição no programa Microcal Origin 9.0.

3.2.2 Turbidimetria

O monitoramento da turbidez das soluções/suspensões contendo as amostras foi realizado através de leituras imediatamente após as diluições e em intervalos de 2, 4, 6, 24 e 48 horas. As soluções/suspensões foram preparadas a partir da dissolução do composto desejado em uma solução aquosa de DMSO 1%. As concentrações de trabalho foram 100, 50, 10, 1, 0,1 e 0,01 μM . Antes de cada leitura, a solução/suspensão foi agitada manualmente por 1 minuto. O equipamento utilizado foi um turbidímetro PoliControl Ap2000, previamente calibrado com suspensões padrões de sulfato de bário na faixa de 0,1 a 800 NTU (unidade nefelométrica de turbidez). Este experimento foi realizado em duplicata. As curvas de turbidez em função do tempo foram construídas utilizando o programa GraphPad Prism® 5.0. Na figura 9 estão representadas as etapas envolvidas neste experimento.

Figura 9. Esquema do experimento para determinação da turbidez da solução/suspensão em função do tempo.



Fonte: GROSSI, 2018.

3.2.3 Bioensaios

3.2.3.1 Obtenção das larvas

Os ovos de *Aedes aegypti*, doados pelo Professor Gustavo Ferreira Martins do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, foram colocados para eclodir em bacias plásticas com dimensões de 30 x 20 x 7 cm contendo 2 L de água decolorada, em ambiente climatizado. Após 24 h foram obtidas as larvas de 1° estágio (L1) que foram transferidas para outra bacia, onde se adicionou 2 L de água decolorada e aproximadamente 118 mg de alimento (ração de peixe GoldFish®). A partir daí a água foi trocada diariamente fazendo reposição do alimento até os

indivíduos atingirem o estágio de desenvolvimento necessário para cada teste descrito a seguir.

3.2.3.2 Avaliação da toxicidade de tiossemicarbazonas frente a larvas no estágio L4 de *Aedes aegypti*

A avaliação da atividade larvicida dos compostos foi realizada através de uma adaptação do método recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2005). Vinte larvas de *Aedes aegypti* no estágio L4 foram transferidas com o auxílio da pipeta de Pasteur para um balão volumétrico e o volume ajustado para 50 mL com água deionada. Posteriormente, o material foi transferido para um béquer de 250 mL e adicionados 50 mL de solução do composto em concentrações definidas para um volume final de 100 mL, gerando as concentrações teste (100, 50, 10, 1, 0,1 e 0,01 μM em DMSO 1%). Após 24 e 48 h de exposição das larvas ao tratamento foi registrado o número de larvas mortas, sendo a sua morte constatada pela ausência de movimento, mesmo que sob estímulos externos (ver figura 9). Dois experimentos independentes foram realizados em triplicata para cada concentração. Somente foram considerados os experimentos que apresentaram formação de pupas menor que 10% no período de até 48 h e mortalidade no controle inferior a 20%, conforme recomendações preconizadas pela literatura (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

As porcentagens de mortalidade foram calculadas para cada experimento e construídas as curvas em função da concentração para cada composto. Essas curvas foram ajustadas por meio da análise estatística PROBIT pelo programa GraphPad Prism® 5.0, para determinar a dose letal a 50% das larvas (DL_{50}). Como controle negativo foi utilizado água e a solução de DMSO 1%.

Na figura 10 estão representadas as etapas envolvidas neste experimento.

Figura 10. Representação esquemática do experimento para avaliação da atividade contra larvas no estágio L4 de *Aedes aegypti*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

3.2.3.3 Avaliação da inibição de emergência (IE) em larvas do mosquito *Aedes aegypti*

A avaliação da inibição de emergência para os compostos foi realizada através de uma adaptação do método recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2005). Vinte larvas no estágio L3 foram transferidas com o auxílio da pipeta de Pasteur para um balão volumétrico e o volume ajustado para 50 mL com água. Posteriormente, o material foi transferido para um béquer de 250 mL e adicionados 50 mL de solução do composto em concentrações definidas (100; 50; 10; 1; 0,1 e 0,01 μM em DMSO 1%) para um volume final de 100 mL. A mortalidade foi verificada em intervalos de 12 em 12 horas, sendo o número de indivíduos mortos registrado. Foram considerados mortos aqueles que não apresentaram movimento ou não responderam aos estímulos externos. Para cada concentração, três experimentos independentes foram realizados em triplicata. Como controle negativo foi utilizado água e a solução de DMSO 1%. Devido ao mecanismo de ação desses inseticidas a mortalidade foi acompanhada até a emergência de todos os adultos no controle (média de 10 dias após as larvas entrarem no estágio L3). Todos aqueles que estavam mortos ou apresentaram deformações foram considerados afetados para o cálculo da porcentagem de inibição de emergência.

Gráficos de porcentagem de mortalidade dos estádios/estágios em função do tempo e de porcentagem de inibição de emergência (%IE) no décimo dia de experimento em função do logaritmo da concentração dos compostos foram construídos no GraphPad Prism 5.0. Os últimos gráficos foram submetidos à análise

estatística PROBIT pelo programa GraphPad Prism 5.0, para determinar a dose necessária para inibir a ecdise pupa-inseto adulto para 50% da população (IE_{50}).

Somente foram considerados os experimentos onde no controle negativo a emergência de adultos no controle foi superior a 80%. Quando o percentual de emergência ficou no intervalo de 80% a 95%, os dados foram corrigidos pela fórmula de Abbott, atendendo às recomendações da literatura (OMS, 2005).

Na figura 11 estão representadas as etapas envolvidas neste experimento.

Figura 11. Representação esquemática do experimento para avaliação da inibição de emergência.



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

3.2.4 Cálculo do logaritmo do coeficiente de partição ($\log P$) e solubilidade em água

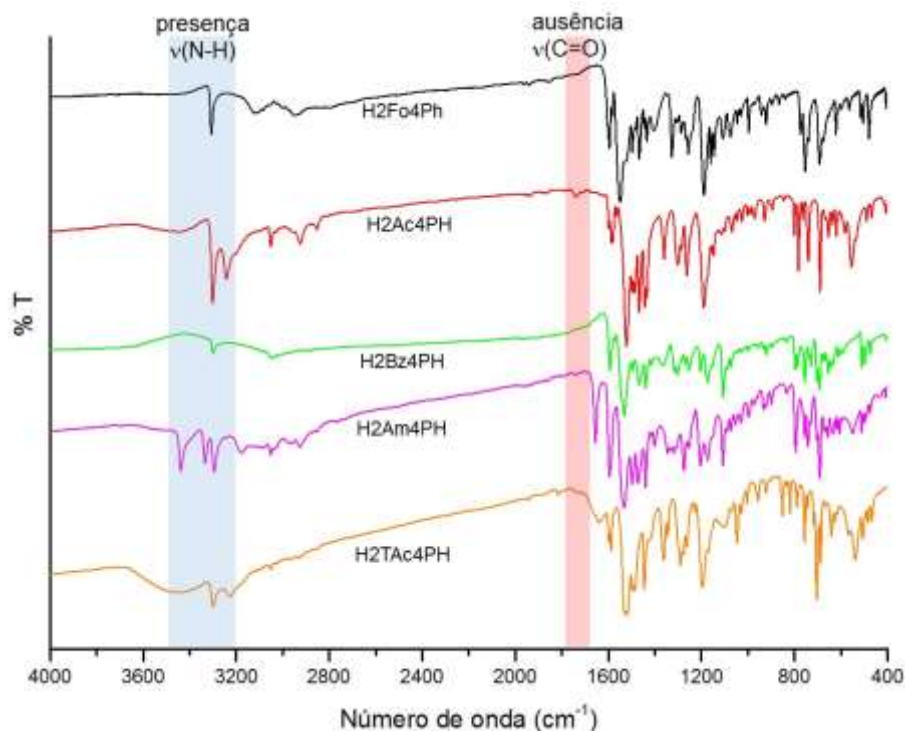
O logaritmo do coeficiente de partição ($\log P$) e o valor da solubilidade em água para os compostos foram calculados algoritmo do software ALOGPS 2.1 (ALOGPS 2.1, 2001).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Uma vez que os compostos foram preparados e caracterizados pelo grupo da professora Heloisa de Oliveira Beraldo do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, não nos interessou repetir a caracterização completa dos mesmos. Contudo, no intuito de verificar a integridade dos compostos foram obtidos os seus espectros na região do infravermelho dos compostos, como mostrado na figura 12.

Figura 12. Espectros na região do infravermelho de *N*(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph), *N*(4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H2Ac4Ph), *N*(4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H2Bz4Ph), *N*(4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona (H2Am4Ph) e *N*(4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona (H2AcT4Ph) em pastilha de KBr.



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Nesses espectros podemos observar a ausência de absorções de intensidade forte na região de 1660 a 1730 cm^{-1} referentes ao estiramento de ligação C=O, bem como o aparecimento de bandas finas de intensidade média a forte em 3200 e 3550 cm^{-1} referentes aos estiramentos da ligação N-H da porção tioamida (DA SILVA, 2013). Esses dados confirmam a integridade do esqueleto das tiossemicarbazonas.

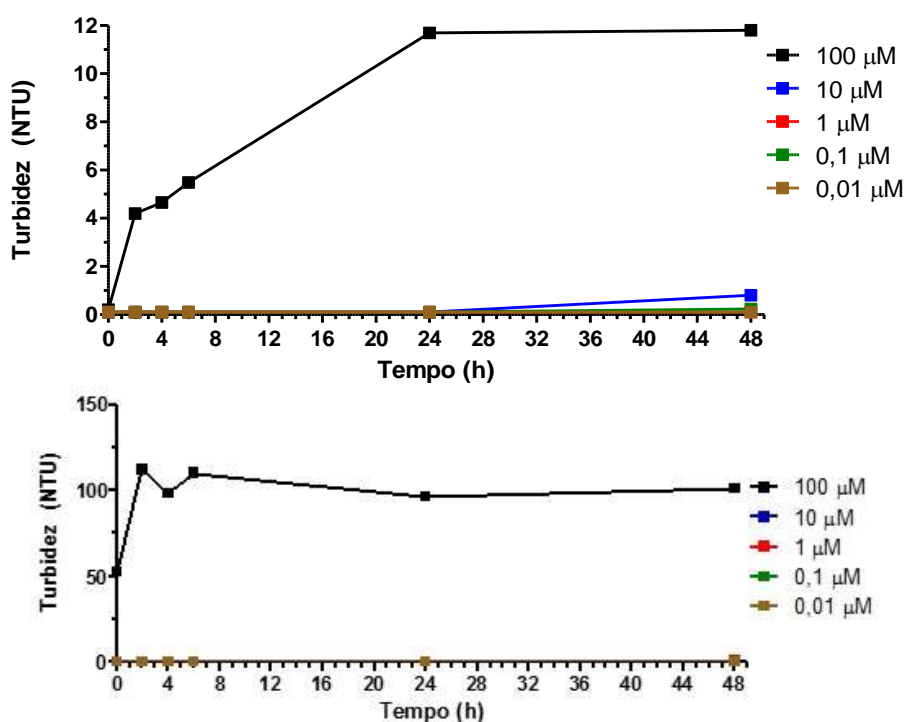
4.2 TURBIDIMETRIA

Sabendo que tiossemicarbazonas são pouco solúveis em água (GROSSI, 2018) e que os compostos estudados apresentaram baixos valores teóricos para a sua solubilidade em água, a saber $H_2Fo_4Ph = 123 \mu M$, $H_2Ac_4Ph = 77 \mu M$, $H_2Bz_4Ph = 5 \mu M$, $H_2Am_4Ph = 199 \mu M$ e $HAcT_4Ph = 19 \mu M$ (ALOGPS 2.1, 2001), no presente estudo foi avaliada a formação de precipitado através de medidas de turbidez em suspensão.

O solvente utilizado no preparo das amostras foi o dimetilsulfóxido (DMSO), devido a sua alta constante dielétrica, capacidade de solubilizar as tiossemicarbazonas e o fato de ser miscível em água. Todas as soluções/suspensões de tiossemicarbazonas foram preparadas em solução aquosa de DMSO 1%, visto que esse foi o meio utilizado para realização dos ensaios biológicos envolvendo larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

As curvas de turbidez em função do tempo para as tiossemicarbazonas em solução aquosa com DMSO 1%, como exemplificado por H_2Fo_4Ph e H_2AcT_4Ph na figura 13.

Figura 13. Curvas de turbidez em função do tempo para *N*(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H_2Fo_4Ph) e *N*(4)fenil-2-acetil-tiofeno tiossemicarbazona (H_2AcT_4Ph) em solução aquosa com DMSO 1%.



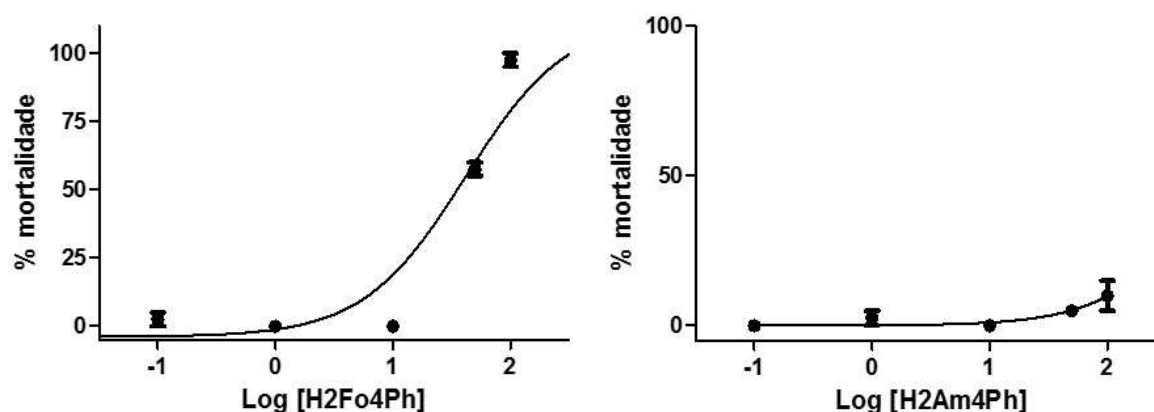
Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Nas concentrações utilizadas apenas H2Bz4Ph e H2AcT4Ph apresentaram turbidez significativa (maior que 20 NTU) na concentração de 100 µM. Logo, não seria interessante que durante os ensaios biológicos a concentração fosse superior a este valor, visto que estaria mais sujeita a precipitação/sedimentação dos compostos. Outro ponto importante é que esse experimento indica que H2Bz4Ph e H2AcT4Ph apresentam menor solubilidade que os demais nas condições testadas.

4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FRENTE AO ESTÁDIO L4 DE LARVAS DO MOSQUITO *Aedes aegypti*

Neste experimento foi avaliada a capacidade das tiossemicarbazonas em promover a morte de larvas do mosquito *Aedes aegypti* no estágio L4 de seu desenvolvimento. Na figura 14 estão apresentados os tipos de curvas dose-resposta obtidas para composto onde foi possível (por exemplo, H2Fo4Ph) ou não (por exemplo, H2Am4Ph) calcular os valores de DL₅₀. Na Tabela 2 estão apresentados os valores de DL₅₀ obtidos para as tiossemicarbazonas frente a estas larvas.

Figura 14. Curva de porcentagem de mortalidade das larvas no estágio L4 de *Aedes aegypti* em função do logaritmo da concentração de *N*(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph) e *N*(4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona (H2Am4Ph) após 24 h de exposição.



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Tabela 2. Toxicidade de *N*(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph), *N*(4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H2Ac4Ph), *N*(4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H2Bz4Ph), *N*(4)fenil-2-aminopiridina tiossemicarbazona (H2Am4Ph) e *N*(4)fenil-2-acetiltiofeno tiossemicarbazona (H2AcT4Ph) frente a larvas no estágio L4 do mosquito *Aedes aegypti*.

Compostos	DL ₅₀ (intervalo de confiança) (μmol L ⁻¹ - 24 h)	DL ₅₀ (intervalo de confiança) (ppm - 24 h)	DL ₅₀ (intervalo de confiança) (μmol L ⁻¹ - 48 h)	DL ₅₀ (intervalo de confiança) (ppm - 48 h)
H2Fo4Ph	41,47 (19,95 – 86,20)	10,63 (5,11 - 22,09)	36,83 (17,21 – 78,81)	9,44 (4,41 – 20,20)
H2Ac4Ph	28,08 (13,19 – 59,81)	7,20 (3,38 - 15,33)	19,23 (5,93 – 62,35)	4,93 (1,52 – 15,98)
H2Bz4Ph	41,24 (25,47 – 66,77)	10,57 (6,53 – 17,11)	20,95 (8,18 – 53,69)	5,37 (2,10 – 13,76)
H2Am4Ph	>100	>27,13	>100	>27,13
H2AcT4Ph	>100	>25,63	>100	>25,63

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Com base nesses dados podemos observar que H2Am4Ph e HAcT4Ph não foram ativos nas concentrações testadas após 24 ou 48 horas de exposição. Entre os compostos ativos, H2Ac4Ph apresentou o menor valor de DL₅₀ tanto após 24 h quanto 48 horas de exposição. Além disso, o aumento do tempo de exposição levou a um aumento da atividade larvicida dos compostos ativos, o que sugere que o tempo de exposição possa ser importante para absorção dos compostos pelas larvas. Este aumento de exposição e a hidrofobicidade dos compostos se relacionam diretamente com o aumento da atividade larvicida (SILVA, 2015)

Considerando a classificação apresentada por Cheng e colaboradores (2003), os compostos H2Fo4Ph, H2Ac4Ph e H2Bz4Ph enquadram-se como altamente ativos por apresentarem valores de DL₅₀ menores que 50 ppm. Os demais compostos não podem ser considerados inativos segundo essa classificação, pois não foram testados nas concentrações maiores que 100 ppm. Contudo, esses valores ainda são maiores do que aqueles recomendados para formulações utilizadas em água destinada a consumo humano (temefós = 1 ppm, diflubenzuron = 0,25 ppm, novaluron = 0,05 ppm, piriproxifeno = 0,01 ppm e espinosade = 0,5 ppm) (OMS, 2011).

Os dados sugerem ainda que a presença da piridina pode ser importante para a atividade larvicida destes compostos, contudo a inserção de um grupo amino (forte doador de elétrons) levou a diminuição da atividade larvicida.

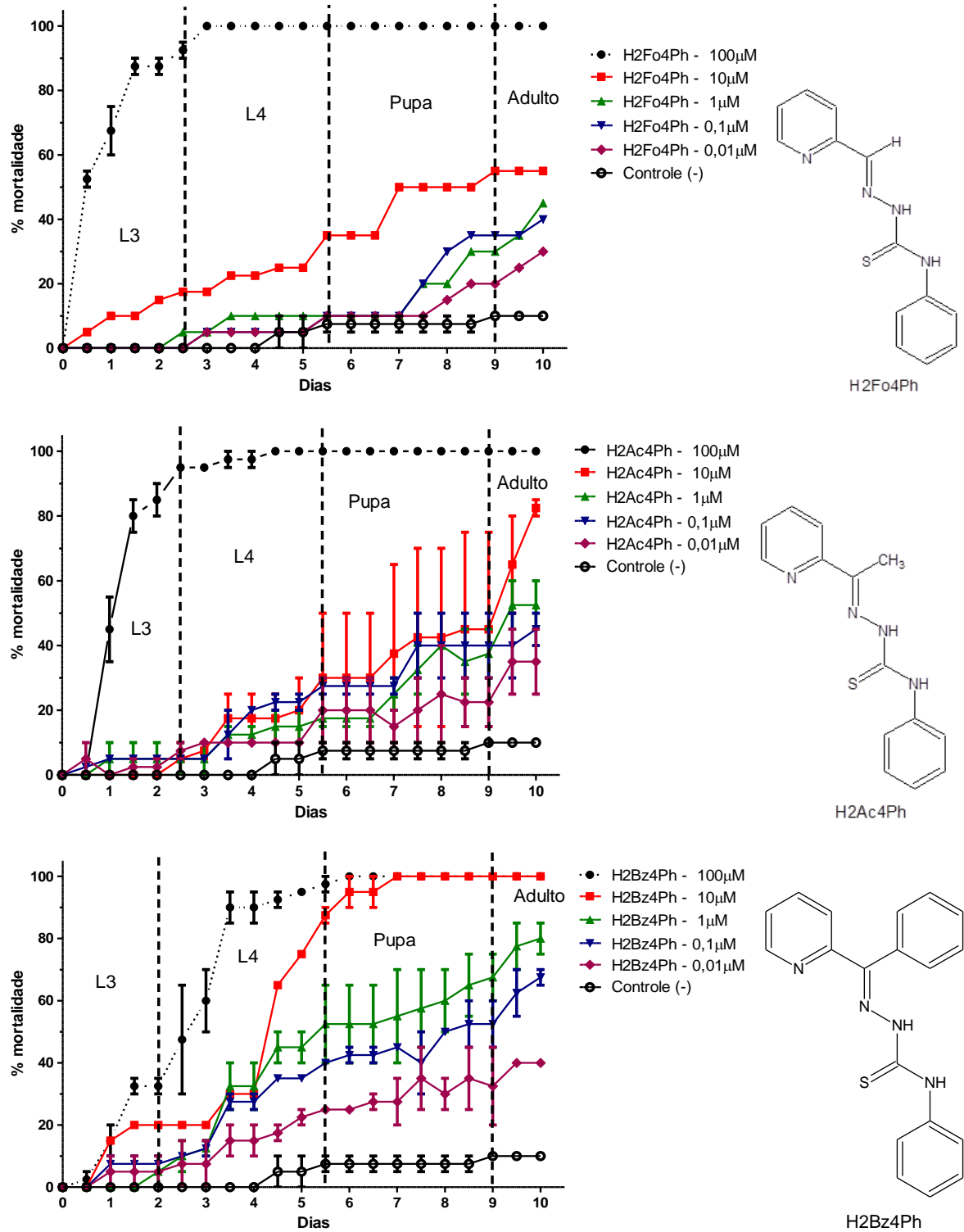
Ao compararmos os valores de DL_{50} obtidos neste trabalho com os valores calculados de $\log P$ dos compostos, a saber para $H_2Fo_4Ph = 2,47$; $H_2Ac_4Ph = 2,54$; $H_2Bz_4Ph = 4,01$; $H_2Am_4Ph = 1,74$ e $H_2AcT_4Ph = 3,30$, podemos observar que não houve uma correlação clara entre o $\log P$ e a atividade larvicida dos compostos estudados. Esta informação é contrária ao indicado no trabalho de Silva e colaboradores (2015) ao estudar a atividade larvicida de aril- e fenoxifeniltiossemicarbazonas onde é descrito que substituintes que aumentam o $\log P$, melhoram a atividade larvicida do composto.

4.4 AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DE EMERGÊNCIA

Compostos cujo mecanismo de ação estão relacionados com alterações no processo de crescimento e/ou desenvolvimento dos insetos irão necessitar de um acompanhamento do desenvolvimento dos estádios larvais, pupa e emergência do mosquito adulto durante a exposição ao potencial agente larvicida. Uma vez que não há relatos de tal experimento para as tiossemicarbazonas, o mesmo foi realizado neste trabalho.

Na figura 15 estão apresentados os dados de porcentagem de mortalidade dos estádios/estágios em função do tempo durante o experimento de inibição de emergência para H_2Fo_4Ph , H_2Ac_4Ph e H_2Bz_4Ph nas concentrações de 100, 10, 1, 0,1 e 0,01 μM . O acompanhamento foi realizado durante um período de 10 dias, pois este foi o tempo máximo que todas as larvas no grupo controle negativo levaram para se transformar no inseto adulto. Os compostos H_2Am_4Ph e H_2AcT_4Ph não foram avaliados pois não apresentaram atividade no experimento com larvas no estágio L4.

Figura 15. Porcentagem de mortalidade dos estádios/estágios em função do tempo durante o experimento de inibição de emergência para *N(4)*fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph), *N(4)*fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H2Ac4Ph) e *N(4)*fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H2Bz4Ph) nas concentrações de 100 - 0,01 μM .



Nota: As linhas verticais tracejadas no gráfico representam o dia que ocorre a ecdise no grupo controle negativo (água decolorada + DMSO1%).

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

A partir desses dados podemos observar que em baixas concentrações dos compostos não foi observada a morte dos indivíduos nos primeiros dias do experimento, porém para a concentração de 100 μM ocorreu a morte dos indivíduos. Isso demonstra que há um comportamento dose-dependente dentro de um mesmo estágio/estádio. Podemos observar ainda que o aumento do tempo de exposição leva a um aumento significativo da mortalidade das larvas, como demonstrado pelas curvas na concentração de 10 μM (ver Figura 15). Outro ponto observado foi o aumento no tempo médio até ocorrer a ecdise em relação aos indivíduos do grupo controle.

Na tabela 3 estão apresentados os valores de dose capaz de inibir a emergência de 50% da população dos insetos (IE_{50}) para H2Fo4Ph, H2Ac4Ph e H2Bz4Ph.

Tabela 3. Concentrações de *N*(4)fenil-2-formilpiridina tiossemicarbazona (H2Fo4Ph), *N*(4)fenil-2-acetilpiridina tiossemicarbazona (H2Ac4Ph) e *N*(4)fenil-2-benzoilpiridina tiossemicarbazona (H2Bz4Ph) necessárias para inibir a emergência de 50% dos mosquitos adultos (IE_{50}).

Compostos	IE_{50} (intervalo de confiança) em $\mu\text{mol L}^{-1}$	IE_{50} (intervalo de confiança) em ppm
H2Fo4Ph	1,628 (0,157 – 16,910)	0,417 (0,040 - 4,334)
H2Ac4Ph	0,222 (0,057 – 0,868)	0,0570 (0,014 – 0,222)
H2Bz4Ph	0,0255 (0,0124 – 0,0527)	0,00653 (0,00317 – 0,0135)

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Todos os compostos apresentaram baixos valores de IE_{50} , demonstrando que eles foram efetivos em inibir o desenvolvimento dos mosquitos a partir do estágio larval L3. O composto mais efetivo foi H2Bz4Ph inibindo até nove vezes mais o aparecimento dos mosquitos em relação as demais tiossemicarbazonas.

Ao comparamos os dados acima com as doses recomendadas para formulações com mecanismo de ação baseado na inibição de emergência (diflubenzuron = 0,25 ppm, novaluron = 0,05 ppm e piriproxifeno = 0,01 ppm) (OMS, 2011), podemos observar que as tiossemicarbazonas apresentam doses para inibição de emergência de mosquitos adultos na mesma ordem de grandeza que os larvicidas preconizados pela OMS. Esses dados reforçam que essas tiossemicarbazonas apresentam um grande potencial para atuarem como agentes larvicidas/inseticidas.

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho foi possível determinar os valores de DL₅₀ frente a larvas no estágio L4 para tiossemicarbazonas derivadas de piridina (H₂Fo₄PH, H₂Ac₄Ph e H₂Bz₄PH), porém não foi possível entender a ausência de atividade dos outros derivados. A solubilidade das tiossemicarbazonas em solução aquosa em DMSO 1% não tem relação direta com o aumento ou diminuição da atividade larvicida no estágio L4, pois não houve uma correlação dos dados de turbidimetria e os valores de DL₅₀. Ao compararmos os valores de DL₅₀ como os de IE₅₀ podemos notar que o aumento do tempo de exposição aos compostos leva a um aumento da mortalidade das larvas.

No geral, os dados reafirmam que tiossemicarbazonas apresentam potencial para desenvolvimento de novos larvicidas, sendo que a estratégia de inserção do grupo piridina na porção oriunda do aldeído ou cetona pode ser interessante para melhoria da atividade larvicida. Além disso, novos estudos são necessários para entendermos o que causa a morte das larvas e pupa durante sua exposição prolongada as tiossemicarbazonas.

6. REFERÊNCIAS

ANTHONY, N.; ROCHELEAU T.; MOCELIN G.; LEE H. J.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Cloning, sequencing and functional expression of an acetylcholinesterase gene from the yellowfever mosquito *Aedes aegypti*. **FEBS**, 368, p. 461–65, 1995.

ALOGPS 2.1. 2001. Disponível em: <<http://www.vcclab.org/lab/alogps/>>. Acesso em: 03 de setembro de 2019

APONTE, A. H.; PENILLA, R. P. Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* from Colombia. **Acta Tropica**, v. 191, p.146-154, 2019.

APONTE, A. H.; PENILLA, R. P.; LÓPEZ, A. D.; RODRÍGUEZ, A. D. The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from the Guerrero state, Mexico. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 107, n. 2, p.226-234, 2013.

ARAÚJO, Ana Paula de. **Análise da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. 2013. Tese (Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Pernambuco (Recife), 2013.

ARIBI, N.; LAKBAR, B.; SOLTANI-MAZOUNI, N.; SOLTANI, N. Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 84, n. 1, p.55-62, 2006.

BALMERT, N.; J.; RUND, S. S. C. Time-of-day specific changes in metabolic detoxification and insecticide resistance in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. **Journal Of Insect Physiology**, v. 64, p.30-39, maio 2014.

BEEBE, S. J. Synthesis, characterization, DNA binding, topoisomerase inhibition, and apoptosis induction studies of a novel cobalt(III) complex with a thiosemicarbazone ligand. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, v. 203, 2020.

BERALDO, H. Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.

BHARATI, M.; SAHA, D. Assessment of insecticide resistance in primary dengue vector, *Aedes aegypti* (Linn.) from Northern Districts of West Bengal, India. **Acta Tropica**, v. 187, p.78-86, 2018.

BITTENCOURT, Vanessa Cristina Estevam. **Complexos de inclusão de inseticidas em ciclodextrinas: obtenção, caracterização físico-química, atividade inseticida frente a larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e avaliação toxicológica**. Dissertação de Mestrado (Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Juiz de Fora, Governador Valadares, 2016.

BLOMMEL, M. L.; Pregabalin: An antiepileptic agent useful for neuropathic pain. **American Journal Of Health-system Pharmacy**, v. 64, n. 14, p.1475-1482, 2007.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 16(4):279-293, 2007.

BRASIL, 2006. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. Secretaria de Vigilância da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL, 2014. Larvicidas. **Ministério da saúde**, Brasil, 27 de Março. De 2014. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/controle-de-vetores-inseticidas-e-larvicidas/larvicidas>>. Acesso em: 10 de junho de 2019.

BRASIL, 2018. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 43 de 2018. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/agosto/13/Informe-Arboviroses-SE-30.pdf>>. Acesso em: 19 de setembro de 2019.

BRASIL, 2019. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika) até a Semana Epidemiológica 30/08 de agosto de 2019 e Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA). **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/novembro/13/2018-056.pdf>>. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

BUSATO, M. A. Potencial larvicida de *Melia azedarach* L. e *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. no controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera: Culicidae). **Ciência e Natura**, v. 37, n. 2, p. 277-282, 2015.

CARBONARO, E. S.; ARRUDA, E. J.; OLIVEIRA, S. C. L.; VILA NOVA, C. C. P.; ARAKAKI, H. A.; MACHULEK, J. A. A síntese de novos ativos larvicidas para controle populacional do *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE). **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde** – ISSN: 2236-1103, 2015.

CARVALHO, L. A. F.; SILVA, L. G. Atividade Larvicida Do Temephqs A 1% Sobre O *Aedes Aegypti* (Lin., 1762), Em Diferentes Criadouros Artificiais. **Revista de Patologia Tropical**, v. 28, n. 2, 2007.

CASAS; J.S.; GARCÍA-TASENDE; M.S.; SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 209, p. 197–261, 2000.

CHANDRASHEKHARAPPA, S. One-pot microwave assisted synthesis and structural elucidation of novel ethyl 3-substituted-7-methylindolizine-1-carboxylates with larvicidal activity against *Anopheles arabiensis*. **Journal of Molecular Structure**, v. 1156, p. 377-384, 2018.

CHENG, S.; CHANG, H.; CHANG, S. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p.99-102, 2003.

CLARO, L.B.L.; TOMASSINI, H.C.B.; ROSA, M.L.G. Prevenção e controle do dengue: uma revisão de estudos sobre conhecimentos, crenças e práticas da

população. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 6, p.1447-1457, 2002.

CONSOLI, Rotraut A.G.B.; OLIVEIRA, R. L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 228p.1994.

DA SILVA, Jeferson Gomes. **Derivados modificados de tiossemicarbazonas e diclofenaco: perfil farmacológico e efeito da coordenação a metais**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências-químicas). Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte), 2010.

DA SILVA, J. P.; NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA, A. G.; SANTOS, G. K. N.; DUTRA, K. A.; RAMOS, M. M.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; OLIVEIRA, A. D. T.; BRONDANI, D. J.; LEITE, A. C. L.; HERNANDES, M. Z.; PEREIRA, V. R. A.; CASTRO, M. C. A. B.; OLIVEIRA, B. C.; LAN, Q.; MER JR, K. M. M. Thiosemicarbazones as *Aedes aegypti* larvicidal. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 100, p.162-175, 2015.

VIANA, G. A.; SAMPAIO, C. G. MARTINS, V. E. P. Produtos naturais de origem vegetal como ferramentas alternativas para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 449-462, 2018.

DENGUE. 2014. < Disponível em: <<http://www.vcclab.org/lab/alogps/>>. Acesso em: 08 de maio de 2019

DUAN, L.P.; ZHANG, H.B. Novel thiosemicarbazones derivatives bearing aromatic iodine moiety: Design, synthesis and anti-malarial activity. **Arabian Journal Of Chemistry**, v. 4, n. 2, p.231-234, abr. 2011.

ESPÍNDOLA, Wanderlan Pontes J. **Síntese de derivados hidrazônicos como possíveis candidatos a inseticidas larvais frente ao *Aedes Aegypti* e a fármacos para o tratamento da doença de chagas**. 2010. Tese. Universidade Federal de Pernambuco (Recife), 2010.

FONSECA, E. O. L.; MONTE-ALEGRE, A. F. Estudo experimental sobre a ação de larvicidas em populações de *Aedes aegypti* do município de Itabuna, Bahia, em condições simuladas de campo. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 28, p. e2017316, 2019.

FUNASA, 2001. Controle de Vetores - Procedimento de Segurança, elaborado por Eng. Paulo Cesar da Silva, Eng. Farnésio Luís Guimarães e Assistente Social Raimunda Nonata Carlos Ferreira, 1ª edição - Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

FUNASA. Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. - 3. ed., rev. - Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

GONÇALVES, Ana Cristina Resende. Complexos de PdII, PtII e AuIII com tiossemicarbazonas derivadas da diacetilmonooxima: síntese, caracterização,

atividade antitrypanozoma cruzi e citotoxicidade. Tese (Multicêntrico em química). Universidade Federal do Triângulo Mineiro. 2016.

GONZÁLEZ-BARCIA, L. M. Comparative study of the antitumoral activity of phosphine-thiosemicarbazone gold(I) complexes obtained by different methodologies. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [s.l.], p.110931, nov. 2019.

GROSSI, Jenifer Carvalho. Avaliação da toxicidade de tiosemicarbazonas derivadas de benzaldeído, acetofenona e benzofenona frente a larvas de *Aedes aegypti*. Universidade Federal de Juiz de Fora, Governador Valadares. 2018.

HENNESSEY, M.; FISCHER, M.; STAPLES, J. E. Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, n. 3, p. 55–8, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26820163>>. Acesso em: 4 de setembro de 2019.

ILIES, D-C.; PAHONTU, E.; SHOVA, S.; GEORGESCU, R.; STANICA, N.; OLAR, R.; GULEA, A.; ROSU, T. O Synthesis, characterization, crystal structure and antimicrobial activity of copper(II) complexes with a thiosemicarbazone derived from 3-formyl-6-methylchromone. **Polyhedron**, v. 81, p.123-131, 2014.

JOHNSON, M.; MAHARA, P.; MURUGESAN, S.; JANAKIRAMAN, N.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; BARBOSA, C. R. S.; COUTINHO, H. D. M. Larvicidal activity of some medicinal plant extracts against filariasis fever mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 61, p. 1-4, 2018.

JIN, N. Diflubenzuron. **Encyclopedia Of Toxicology**, v. 4, p.146-148, 2014.

KOKINA, T. E.; GLINSKAYA, L. A.; SHELDYAKOVA, L. A.; EREMINA, Y. A.; KLYUSHOVA, L. S.; KOMAROV, V. Y.; PIRYAZEV, D. A.; TKACHEV, V. T.; LARIONOV, S. V. Synthesis, structure, and cytotoxicity of complexes of zinc(II), palladium(II), and copper(I) chlorides with (-)-camphor thiosemicarbazone. **Polyhedron**, v. 163, p.121-130, 2019.

LESSA, J. A.; SOARES, M. A.; SANTOS, R. G.; MENDES, I. C.; SALUM, L. B.; DAGHESTANI, H. N.; ANDRICOPULO, A. D.; DAY, B. W.; VOGT, A.; BERALDO, H. Gallium (III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazonas: antimicrobial and cytotoxic effects and investigation on the interactions with tubulin. **Biometals**, v. 26, n. 1, p. 151-165, 2013.

LIMA, E. P.; PAIVA, M. H.; ARAÚJO, A. P.; SILVA, E. V.; SILVA, U. M.; OLIVEIRA, L. N.; SANTANA, A. E.; BARBOSA, C. N.; PAIVA NETO, C. C.; GOULART, M. O.; WILDING, C. S.; AYRES, C. F.; SANTOS, M. M. A. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 5, 2011.

LOBANA, T. S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals-An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 977–1055, 2009.

LOPES, T. S.; CAMPOS JÚNIOR, E. O.; COCCO, D. D. A. O uso do detergente como larvicida alternativo no controle às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista GeTeC**, v. 5, n. 10, 2017.

MACHADO, A. A.; COLEONE, A. C.; ABE, F. R.; AMÉRICO, J. H. P.; LIMA, J. B. P.; MACHADO NETO, J. G. A eficácia do Diflubenzuron no controle de larvas de duas populações de *Aedes aegypti* com diferentes níveis de suscetibilidade ao Temephos, em condições de laboratório. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 3, n. 1, p. 25-29, 2015.

MATHEWS, N. A.; JACOB, J. M.; BEGUM, P. M. S.; KURUP, M. R. P. Cu(II) and Zn(II) complexes from a thiosemicarbazone derivative: Investigating the intermolecular interactions, crystal structures and cytotoxicity. **Journal Of Molecular Structure**, p.127319-1, 2019.

MONTELLA, I. R. Estudos dos mecanismos bioquímicos de resistência a inseticidas em diferentes populações de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1972) do Brasil. **Fundação Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 2008.

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

OLIVEIRA, A. O. PERDIGÃO, G. M. C.; SILVA, J. G. SOUZA-FAGUNDES, E. M.; BERALDO, H. Indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones exhibit cytotoxic activity against human leukemia and solid tumor cell lines. **Polyhedron**, v. 135, p. 72-78, 2017.

OMS, 1996. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. WHO/CDS/WHOPES/97.2; 1996.

OMS, 2005. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13, 2005.

OMS, 2009. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control**. Geneva, WHO, 2009. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/publications/documents/dengue-diagnosis.pdf?ua=1>> Acesso em: 21 de setembro de 2019

OMS, 2011. EDITION, Fourth. **Guidelines for drinking-water quality**. WHO chronicle, v. 38, n. 4, p. 104-8, 2011.

OMS, 2012a. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Handbook for integrated vector management**. Geneva, 2012.

OMS, 2012b. **Dengue and severe dengue**. Janeiro de 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/15 April 2019>>. Acesso em: 15 de abril, de 2019.

PAIVA, Marcelo Henrique Santos. **Monitoramento do gene, que codifica a esterase, envolvido na resistência a inseticidas organofosforados em populações naturais de Aedes aegypti do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Fundação Osvaldo Cruz, Pernambuco (Recife), 2006.

PENNA, M. L. F. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, n.1, pp. 305 – 309, 2003.

PEREIRA, Dayane Kelly Sabec. **Síntese, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana de complexos metálicos sintetizados com ligantes orgânicos**. 2015. Dissertação (Ciências aplicadas à saúde). Universidade federal de Goiás (Jataí).2015

PIPLANI, M.; BHAGWAT, D. P.; SIGHVI, G.; BALANA-FOUCE, R.; VATS, T., CHANDER, S. Plant-based larvicidal agents: An overview from 2000 to 2018. **Experimental parasitology**, v. 199, p. 92-103, 2019.

RESENDE, M. C.; GAMA, R. A. Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para Aedes aegypti. **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 72-5, 2006.

REVORÊDO de Carvalho Silva, Dyego. **Síntese e avaliação das atividades antimicrobiana e anti-T. Cruzi de derivados nitroariltiossemicarbazônicos**. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco (Recife). 2010.

REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

RODRÍGUEZ, M. M.; BISSET, J. A.; MILÁ, L. H.; CALVO, E.; DÍAZ, C.; SOCA, L. A. Niveles de resistência a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de Aedes aegypti de Santiago de Cuba. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 51, n. 2, p. 83-88, 1999.

SANTOS, Sandra Regina Lima. **Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao Aedes aegypti**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Sergipe, Sergipe (São Cristóvão), 2014.

SENAPATI, A.; SARDAR, T. GANGULY, K. S.; GANGULY, K. S.; HATTOPADHYAY, A. K.; CHATTOPADHYAY, J. Impact of adult mosquito control on dengue prevalence in a multi-patch setting: A case study in Kolkata (2014–2015). **Journal Of Theoretical Biology**, v. 478, p.139-152, out. 2019.

SILVA, H. H G.; SILVA, I. G.; LIRA, K. S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, v. 27, n.1,p 53 – 63, 1998.

SILVA, Thiago David dos Santos. **Determinação da atividade antitumoral e citotóxica de derivados híbridos da piridina, tiossemicarbazona e tiazóis**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal de Pernambuco (Recife) 2017.

SILVA, P. T.; TEIXEIRA, A. M. R.; BANDEIRA, P. N.; HOLANDA, C. L.; VALE, J. P. C.; PEREIRA, E. J. P.; MENEZES, J. E. S. A.; RODRIGUES, T. H. S.; SOUZA, E. B.; SILVA, H. C.; SANTIAGO, G. M. P. Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 329-332, 2019.

SIMAS, N.K.; LIMA, E.C.; CONCEIÇÃO, S.R.; KUSTER, R.M.; OLIVEIRA FILHO, A.M.O.; LAGE, C. L. S. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v.27, n.1, p.46-49, 2004.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, p.99-102, 2001.

TEICH, V; ARINELLI, R; FAHHAM, L. *Aedes aegypti* e sociedade: o impacto econômico das arboviroses no Brasil. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 9, n. 3, p.267-276, dez. 2017.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; ALVES, A.J.; AQUINO, T. M. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030, 2005.

VIANA-MEDEIROS, P.F. Investigações sobre os mecanismos de resistência em larvas e adultos de *Aedes aegypti*, Linnaeus, 1762. **Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ**, 2011.

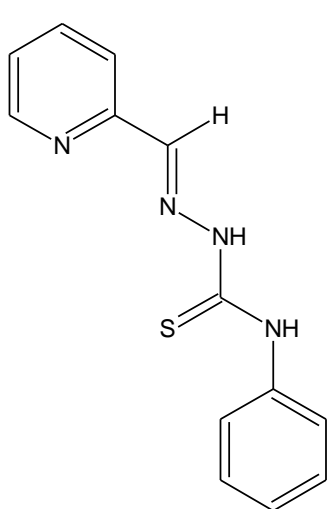
XU, W.; LIU, S.; ZHANG, Y.; GAO, J.; YANG, M.; LIU, X.; TAO, L. Cypermethrin resistance conferred by increased target insensitivity and metabolic detoxification in *Culex pipiens pallens* Coq. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 142, p.77-82, 2017.

ZARA, A. L. S. Amâncio *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. **Instituto Evandro Chagas**, v. 25, n. 2, p.1-2, jun. 2016.

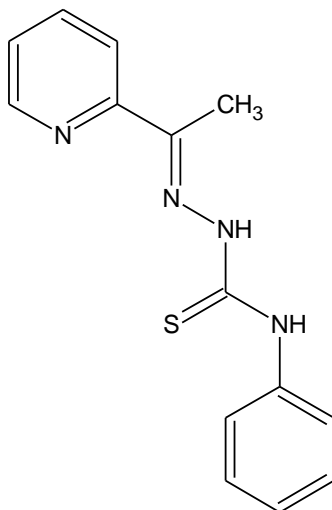
ZEIDLER, J. D.; ACOSTA, P. O. A.; BARRÊTO, P. P.; CORDEIRO, J. S. Dengue virus in *Aedes aegypti* larvae and infestation dynamics in Roraima, Brazil. **Revista de saúde pública**, v. 42, n. 6, p. 986-991, 2008.

7. APÊNDICES

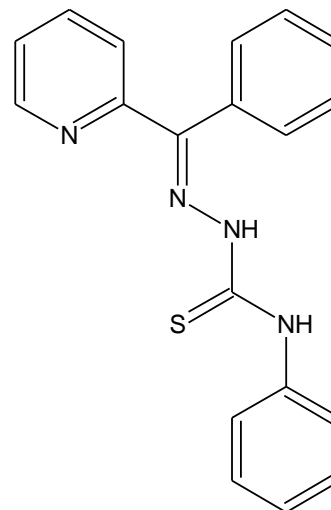
A.1. Representação estrutural da tiossemicarbazonas estudadas neste trabalho.



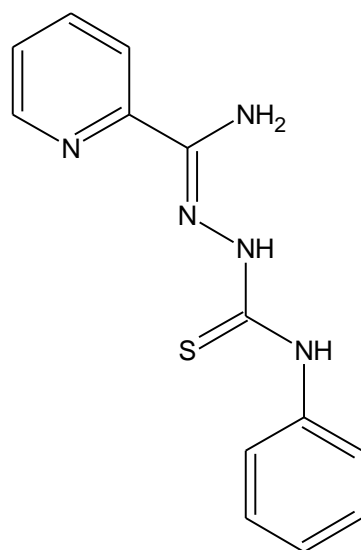
H2Fo4Ph



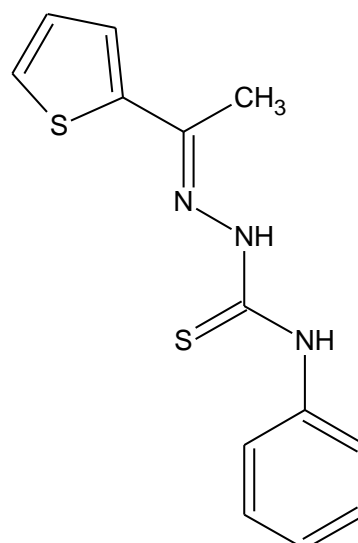
H2Ac4Ph



H2Bz4Ph

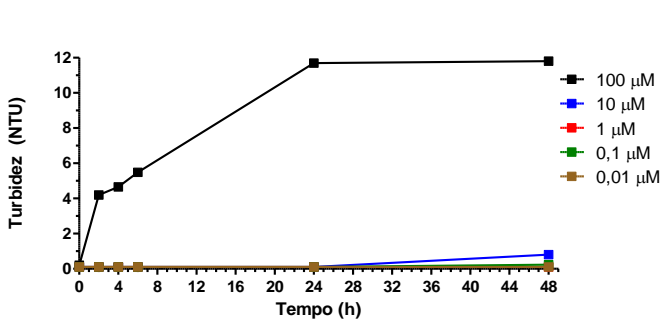


H2Am4Ph

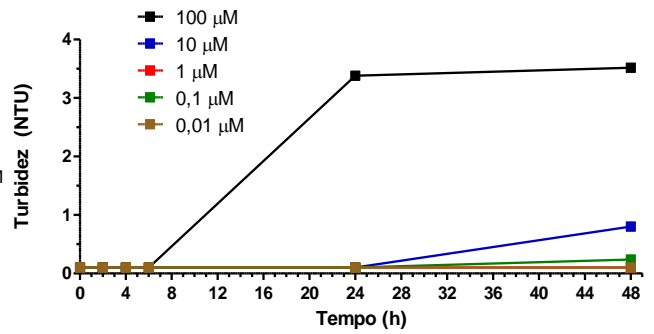


H2AcT4Ph

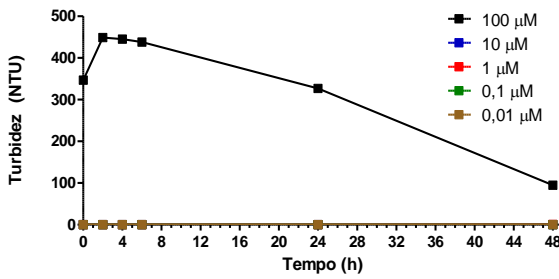
A.2. Curvas de turbidez em função do tempo para as demais tiossemicarbonas estudadas neste trabalho.



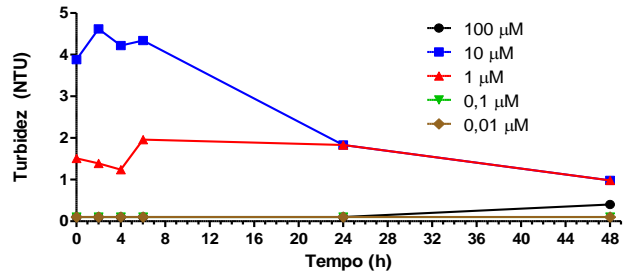
H2Fo4Ph



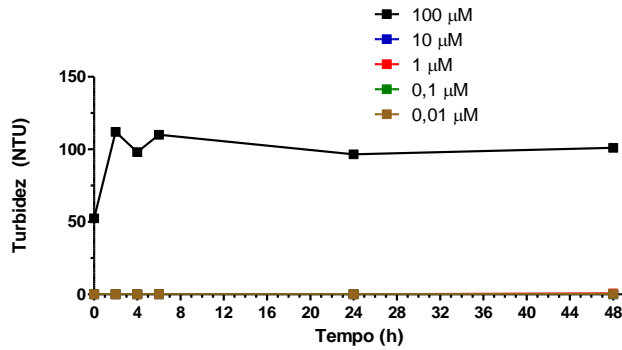
H2Ac4Ph



H2Bz4Ph



H2Am4Ph



H2Act4Ph