

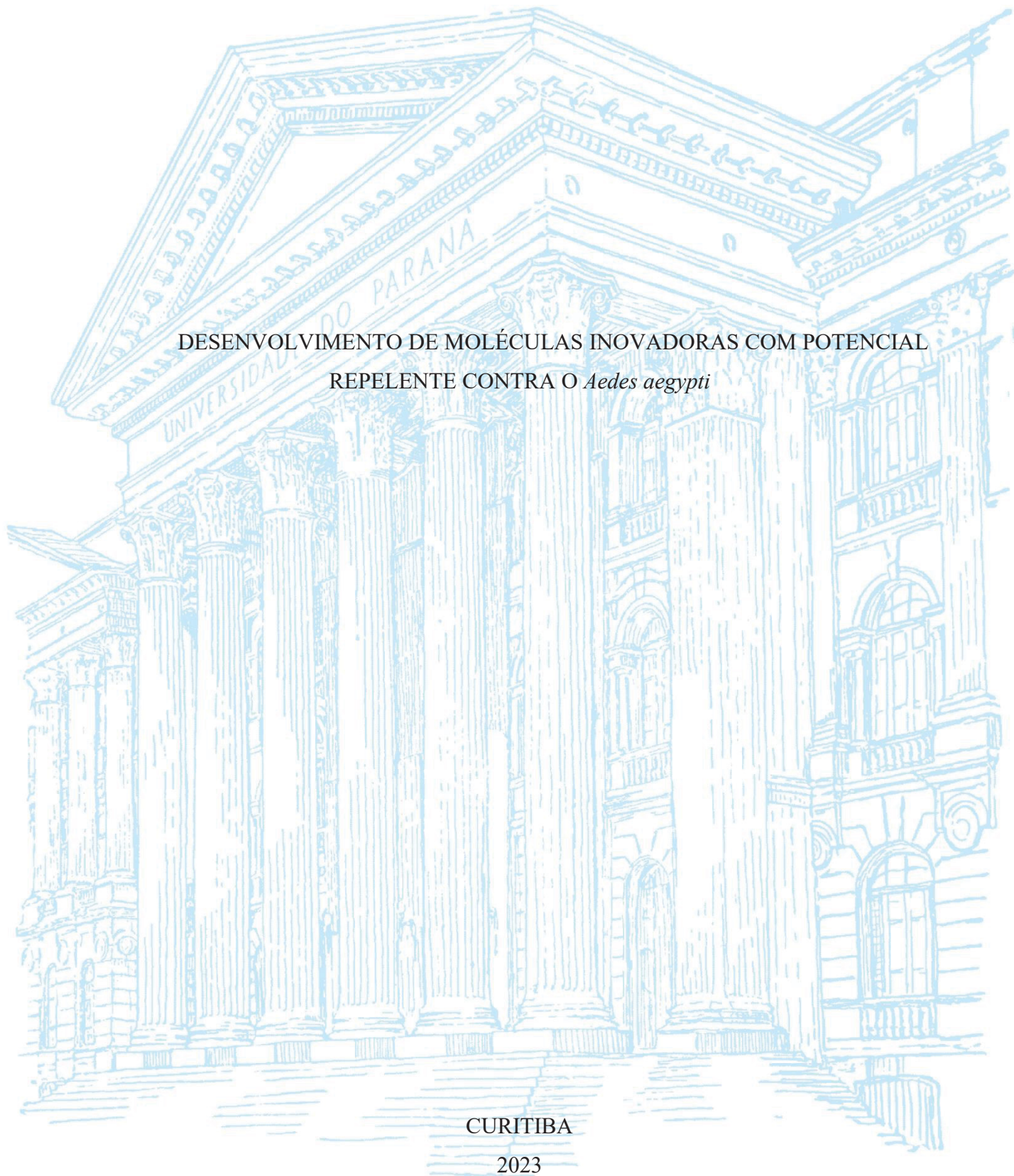
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RENAN REISDÖRFER SCHORR

DESENVOLVIMENTO DE MOLÉCULAS INOVADORAS COM POTENCIAL  
REPELENTE CONTRA O *Aedes aegypti*

CURITIBA

2023



RENAN REISDÖRFER SCHORR

DESENVOLVIMENTO DE MOLÉCULAS INOVADORAS COM POTENCIAL  
REPELENTE CONTRA O *Aedes aegypti*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, no setor de Ciências Exatas, na Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Marques

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Schorr, Renan Reisdörfer

Desenvolvimento de moléculas inovadoras com potencial repelente  
contra o *Aedes aegypti*. / Renan Reisdörfer Schorr. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Francisco de Assis Marques.

1. *Aedes aegypti*. 2. Repelentes de insetos. 3. Ácido láctico  
(Derivados). I. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-  
Graduação em Química. II. Marques, Francisco de Assis. III. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **RENAN REISDÖRFER SCHORR** intitulada: **DESENVOLVIMENTO DE MOLÉCULAS INOVADORAS COM POTENCIAL REPELENTE CONTRA O *Aedes aegypti***, sob orientação do Prof. Dr. FRANCISCO DE ASSIS MARQUES, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 25 de Setembro de 2023.

Assinatura Eletrônica

25/09/2023 20:13:43.0

FRANCISCO DE ASSIS MARQUES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

05/12/2023 08:57:32.0

MARIA FÁTIMA DAS GRAÇAS FERNANDES DA SILVA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS)

Assinatura Eletrônica

25/09/2023 17:59:36.0

GISELLE MARIA MACIEL

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

27/09/2023 16:35:45.0

BRÁS HELENO DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

25/09/2023 21:49:33.0

BÉATRIZ HELENA LAMEIRO DE NORONHA SALES MAIA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

---

CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-3006 - E-mail: [cpgquim@ufpr.br](mailto:cpgquim@ufpr.br)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 317860

**Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 317860**

Dedico este trabalho à minha esposa, Ana Paula Konkol, pelo companheirismo, dedicação, carinho, apoio e compreensão durante todos esses longos períodos de ausência. Ao meu pequeno filho Vítor K. Schorr, por ser a minha inspiração e alegrar os meus dias. Aos meus pais, Renê e Claudia Reisdörfer Schorr, que nunca mediram esforços para me apoiar em todas as minhas escolhas e sempre estiveram ao meu lado. E à minha irmã, Mariele Reisdörfer Schorr, pela nossa amizade de sempre.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Francisco de Assis Marques, por ter aceitado me orientar, por dedicar seu tempo para me ensinar e compartilhar sua rica experiência, conhecimentos e ensinamentos.

À Professora Dra. Beatriz Helena Lameiro De Noronha Sales Maia, pelas contribuições e correções dos meus relatórios anuais, na banca de qualificação e pelo aceite em participar da banca de avaliação desta tese.

Ao Professor Dr. Bráz Heleno de Oliveira, pelas valiosas contribuições com a avaliação deste trabalho na banca de qualificação e por aceitar avaliar esta tese.

À Professora Dra. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva por aceitar avaliar esta tese.

À Professora Dra. Giselle Maria Maciel por aceitar avaliar esta tese.

A todos os professores do Departamento de Química, pelo todo conhecimento transmitido.

À UFPR, em especial, ao Departamento de Química, pela excelente estrutura disponibilizada aos alunos; sem ela, este trabalho não seria possível.

A todos os amigos, egressos e atuais, do Laboratório de Ecologia Química e Síntese de Produtos Naturais (LECOSIN), por toda a jornada compartilhada, a amizade, os conselhos e momentos de descontração.

A todos os amigos e colegas do Departamento de Química, por toda a ajuda, amizade, conselhos e momentos de descontração.

A todos os funcionários da UFPR, pelo profissionalismo e dedicação que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho.

O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano.

*(Isaac Newton)*



## RESUMO

A fêmea do mosquito *Aedes aegypti* é considerada o principal vetor de doenças infecciosas de relevância epidemiológica, incluindo a dengue, febre amarela urbana, Chikungunya e Zika. A dengue, em particular, assume um papel de destaque em termos de importância epidemiológica tanto para o Brasil quanto para outras regiões do mundo, especialmente àquelas caracterizadas por um clima tropical ou subtropical. Desta forma se faz, cada vez mais necessário a busca por novas alternativas para controle deste mosquito, ou mesmo evitar suas picadas, responsáveis pela disseminação das doenças infecciosas. Assim, este trabalho teve como objetivo, sintetizar novas substâncias com propriedades repelentes direcionadas ao mosquito *Ae. aegypti*. O ineditismo desse trabalho está na concepção da síntese de repelentes a partir de substâncias atraentes, o ácido láctico e 1-octen-3-ol. Foram sintetizados ao todo 9 derivados destes compostos que tiveram suas atividades de repelência de contato avaliadas em parceria com pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e a atividade de repelência espacial que foi determinada em parceria com o grupo do professor Dr. Joel R. Coats do Laboratório de Toxicologia de Pesticidas da IOWA State University, EUA. Os resultados dos estudos levaram a síntese de dois compostos derivados do ácido láctico (Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila e Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila), com excelente tempo de repelência de contato (>720 e 355h, respectivamente), frente a fêmeas de *Ae. aegypti*, que também apresentaram elevada atividade de repelência espacial. Em estudos preliminares, o composto de melhor resultado de repelência demonstrou baixa toxidez a seres aquáticos tendo sido aprovado também nos testes de sensibilização e irritação dérmica que foram realizados em laboratório credenciado na ANVISA. Comprovando-se a segurança toxicológica e ambiental, este composto tem o potencial de se estabelecer como o primeiro repelente comercial desenvolvido integralmente no Brasil, alinhado com tecnologias inovadoras e equiparando-se, ou mesmo superando, os padrões dos mais eficazes repelentes disponíveis no mercado, tendo em vista que, por ser solúvel em água, pode levar ao desenvolvimento do primeiro e único repelente de mosquito formulado em base aquosa.

**Palavras-chave:** *Aedes aegypti*. Repelente. Derivados de ácido láctico e oct-1-en-3-ol.



## ABSTRACT

The female *Aedes aegypti* mosquito is considered the main vector of infectious diseases of epidemiological relevance, including dengue, urban yellow fever, Chikungunya and Zika. Dengue, in particular, plays a prominent role in terms of epidemiological importance both for Brazil and for other regions of the world, especially those characterized by a tropical or subtropical climate. This makes it increasingly necessary to search for new alternatives to control this mosquito, or even avoid its bites, which are responsible for the spread of infectious diseases. Thus, this work aimed to synthesize new substances with repellent properties aimed at the *Ae. Aegypti* mosquitoes. The novelty of this work lies in the conception of the synthesis of repellents from attractive substances, lactic acid and 1-octen-3-ol. A total of 9 derivatives of these compounds were synthesized, their contact repellency activities were evaluated in partnership with researchers from the National Institute for Amazonian Research (INPA, of Portuguese) and their spatial repellency activity was determined in partnership with Professor Dr. Joel R. Coats's group of the Pesticide Toxicology Laboratory at IOWA State University, USA. The results of the studies led to the synthesis of two compounds derived from lactic acid ((S)-1-oxo-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl Butyrate and (R)-1-oxo-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl), with excellent contact repellency against females of *Ae. aegypti*, which also showed high spatial repellency activity. In preliminary studies, the compound with the best repellency result demonstrated low toxicity to aquatic beings and was also approved in sensitization and dermal irritation tests that were carried out in a laboratory accredited by ANVISA. Proving its toxicological and environmental safety, this compound has the potential to establish itself as the first commercial repellent developed entirely in Brazil, aligned with innovative technologies and matching, or even surpassing, the standards of the most effective repellents available on the market, considering that, as it is soluble in water, it could lead to the development of the first and only mosquito repellent formulated in aqueous base.

Keywords: *Aedes aegypti*. Repellent. Lactic acid and oct-1-en-3-ol derivatives.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem do mosquito <i>Aedes aegypti</i> no ambiente.....	15
Figura 2. Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i> .....	16
Figura 3. Representação das antenas nos machos e fêmeas de mosquitos pertencentes a família Culicidae.....	17
Figura 4. Estrutura química de cipermetrina e deltametrina .....	18
Figura 5. Estrutura química de algumas das primeiras substâncias empregadas como repelentes.....	19
Figura 6. Estrutura química do repelente N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET). .....	20
Figura 7. Estrutura química da Icaridina. ....	21
Figura 8. Estrutura química da $\beta$ -alanina e do repelente IR 3535. ....	22
Figura 9. Representações das Principais Classes de Inseticidas Químicos .....	24
Figura 10. Compostos encontrados no odor humano responsáveis pela atração de fêmeas de mosquitos antropofágicos .....	27
Figura 11. Principais atraentes que mediam o comportamento de busca por hospedeiro do <i>Aedes aegypti</i> .....	29
Figura 12. Substâncias sintetizadas para avaliação da atividade repelente frente às fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> .....	32
Figura 13. Posicionamento da mão na gaiola durante os testes realizados. ....	40
Figura 14. Aparelho de repelência de ar estático.....	41
Figura 15. Compostos com estrutura química baseada no ácido lático sintetizados .....	42
Figura 16. Repelência de curto prazo de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila .....	44
Figura 17. Repelência de curto prazo de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila .....	45
Figura 18. Repelência de curto prazo de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila .....	45
Figura 19. Repelência de curto prazo de Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c) (0,5%) contra mosquitos fêmeas <i>Culex pipiens</i> * .....	46
Figura 20. Repelência de curto prazo de Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c) (1%) contra mosquitos fêmeas <i>Culex pipiens</i> * .....	46
Figura 21. Repelência de cinco horas de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila .....	47
Figura 22. Repelência de cinco horas de Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (2%) contra mosquitos fêmeas <i>Culex pipiens</i> * .....	47
Figura 23. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a), com expansão da região entre 1,6-3,7ppm. ....	51
Figura 24. Cromatograma realizado em CG-EM (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com coluna capilar DB5-MS (Agilent technology, Santa Clara, EUA) com produto da reação de síntese de Butirato de pirrolidinil (S)-lactamida (1a). ....	53
Figura 25. Espectro de massas de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a) .....	53
Figura 26. Proposta de fragmentação para os principais íon fragmentos de butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a).....	54
Figura 27. Estrutura química de Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-yl (1d) .....	56
Figura 28. Processo de síntese de propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d) .....	56
Figura 29. Processo de síntese de 2-hydroxy-1-(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)propan-1-one (1e) em duas etapas. ....	57

Figura 30. Estrutura química de 2-hydroxy-1-(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)propan-1-one (1e).....	57
Figura 31. Semelhança química estrutural entre substância candidata e substâncias comprovadamente repelentes. ....	57
Figura 32. Mecanismo de redução de (S)-prolina para síntese de prolinol.....	58
Figura 33. Mecanismo de esterificação a partir de DMAP como catalizador e anidrido acético como agente acilante. ....	60
Figura 34. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Acetato de Octen-3-ila, com expansão de regiões selecionadas. ....	61
Figura 35. Cromatograma realizado em CG-EM (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com coluna capilar DB5-MS (Agilent technology, Santa Clara, EUA) com produto da reação de síntese de Acetato de Octen-3-ila, com marcação de tempo de retenção e área relativa. ....	62
Figura 36. Espectro de massas de Acetato de 1-Octen-3-ila. ....	63
Figura 37. Proposta de fragmentação para os principais íon fragmentos de Acetato de 1-Octen-3-ila.....	63
Figura 38. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e). ....	72
Figura 39. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e). ....	72
Figura 40. Espectro de massas de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e).....	73
Figura 41. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d). ....	73
Figura 42. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d).....	74
Figura 43. Espectro de massas de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d). ....	75
Figura 44. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Butirato de 1-Octen-3-ila. ....	75
Figura 45. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Butirato de 1-Octen-3-ila. ....	76
Figura 46. Espectro de massas de Butirato de 1-Octen-3-ila. ....	77
Figura 47. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-Octen-3-ila. ....	77
Figura 48. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (50 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-Octen-3-ila. ....	78
Figura 49. Espectro de massas de Propionato de 1-Octen-3-ila. ....	79
Figura 50. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Pentanoato de oct1-en-3-ila. ....	79
Figura 51. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Pentanoato de 1-Octen-3-ila. ....	80
Figura 52. Espectro de massas de Pentanoato de 1-Octen-3-ila.....	80
Figura 53. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.....	81
Figura 54. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.....	81
Figura 55. Espectro de massas de Hexanoato de 1-Octen-3-ila. ....	82
Figura 64. Estrutura química das substâncias sintetizadas .....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tempo de repelência frente ao <i>Ae. aegypti</i> dos compostos derivados do ácido láctico. ....	43
Tabela 2. Atribuições de sinais de RMN para $^1\text{H}$ 's e $^{13}\text{C}$ 's para Butirato de Pirrolidinil (S)-Lactamida (1a).....	52
Tabela 3. Atribuições de sinais de RMN para $^1\text{H}$ 's e $^{13}\text{C}$ 's para Acetato de Octen-3-ila....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia;
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
DEET	N,N-dietil-3-metilbenzamida;
IR 3535	Butilacetilaminopropionato de etila
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado;
CG-EM	Cromatografia em fase gasosa acoplado à espectrometria de massas;
RMN de <sup>1</sup> H	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio;
RMN de <sup>13</sup> C	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono;
DB5-MS®	Coluna capilar para cromatografia em fase gasosa como fase estacionária composta de Fenil Arileno equivalente a (5%-fenil)-dimetilpolisiloxano marca Agilent Technology;
DMAP	4-dimetilaminopiridina;
MS	Ministério da Saúde do Brasil;
OPAS	Organização Pan-Americana da Saude;
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz;
DENV	Vírus da Dengue;
ZIKV	Vírus da Zika;
CHIKV	Vírus da Chikungunya;
YFV	Vírus da Febre Amarela;
WHO	World Health Organization;
DDT	Diclorodifeniltricloroetano;
DMP	Ftalato de dimetila;
Rutgers 612	2-etil-1,3-hexanodiol;
UBV	Ultrabaixo volume;
ACh	Acetilcolina;
AChE	Enzima acetilcolinesterase;
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue;
DCC	N,N'-diciclohexilcarbodiimida;
THF	Tetrahidrofurano;
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
LMD	Laboratório de Malária e Dengue;
PA	Para Análise;
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation;
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation;
COSY	Correlation spectroscopy;
CDC	Centers for Disease Control and Prevention;
LECOSIN	Laboratório de Ecologia Química e Sínteses de Produtos Naturais;
DQUI	Departamento de Química;
CCD	Cromatografia em camada delgada;
DMSO	Sulfóxido de demetila;
m/z	Relação massa/carga;
u.m.a.	Unidade de massa atômica.

## SUMARIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>15</b>
2.1 <i>Aedes aegypti</i> (LINNAEUS, 1762): ASPECTOS GERAIS E ABORDAGENS PARA O CONTROLE DO MOSQUITO ADULTO .....	15
2.2 ABORDAGEM QUÍMICA PARA A MITIGAÇÃO DAS PICADAS DO MOSQUITO ADULTO: REPELENTE	18
2.2.1 N,N-Dietil-3-metilbenzamida (DEET) .....	20
2.2.2 Icaridina.....	21
2.2.3 Butilacetilaminopropionato de etila (IR 3535).....	21
2.3 ABORDAGEM QUÍMICA PARA O CONTROLE DO MOSQUITO ADULTO: INSETICIDAS.....	22
2.4 PISTAS QUÍMICAS E COMPORTAMENTO DE BUSCA DE HOSPEDEIROS PELO <i>Aedes aegypti</i> .....	25
2.5 DESENVOLVIMENTO DE SUBSTÂNCIAS INOVADORAS COM POTENCIAL REPELENTE CONTRA O <i>Aedes aegypti</i> .....	30
<b>3. OBJETIVO</b> .....	<b>32</b>
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>33</b>
4.1 SÍNTESE DE COMPOSTOS REPELENTE PARA O MOSQUITO <i>Aedes aegypti</i> .....	33
4.1.1 Síntese dos enantiômeros Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Butirato de pirrolidinil (S)-lactamida) e Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Butirato de pirrolidinil (R)-lactamida) .....	33
4.1.2 Síntese de (S)-Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Propionato de pirrolidinil (S)-lactamida).....	35
4.1.3 Síntese do, 2-hidroxi-1-(2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-one .....	35
4.1.4 Síntese de série de ésteres baseados na estrutura química do 1-Octen-3-ol.....	37
4.2 BIOENSAIOS.....	39
4.2.1 Teste de repelência de contato .....	39
4.2.2 Teste de repelência espacial.....	41
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
5.1 SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E RESULTADOS DOS BIOENSAIOS DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO ÁCIDO LÁTICO .....	42
5.2 SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E RESULTADOS DOS BIOENSAIOS DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO OCT-1-EN-3-OL .....	59
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO</b> .....	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>66</b>
<b>ANEXO</b> .....	<b>71</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A fêmea do mosquito *Aedes aegypti* é considerada o principal vetor de doenças infecciosas de relevância epidemiológica, incluindo a dengue, febre amarela urbana, Chikungunya e Zika. A dengue, em particular, assume um papel de destaque em termos de importância epidemiológica tanto para o Brasil quanto para outras regiões do mundo, especialmente àquelas caracterizadas por um clima tropical ou subtropical. Esta enfermidade tem uma ampla disseminação em áreas urbanas e semiurbanas, sendo frequentemente observada em regiões tropicais, com variações regionais de risco que são influenciadas por fatores climáticos, como precipitação e temperatura, bem como pelo processo de urbanização desordenada (MS-MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023; OPAS-ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2023).

No término de 2022, o Brasil alcançou um lamentável marco: de acordo com o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, registrou-se um total de 1.016 óbitos de brasileiros em decorrência da dengue. Este é o mais elevado número de fatalidades pela referida enfermidade desde o início da elaboração do relatório estatístico (MS, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE, 2023).

Mundialmente, a dengue também tem apresentado um notável crescimento ao longo das últimas décadas, configurando-se como um desafio significativo para a saúde pública em âmbito mundial. Aproximadamente metade da população global está exposta ao risco de adquirir a doença. É importante destacar que a dengue grave assume um papel preponderante na morbidade e mortalidade infantil em países da Ásia e América Latina (OPAS, 2023).

Diante da atual ausência de tratamento específico para a dengue ou sua forma grave, a detecção precoce e o acesso a cuidados médicos adequados são determinantes para reduzir as taxas de mortalidade, com índices inferiores a 1%. Nesse contexto, as medidas de prevenção e controle da dengue têm como base estratégica intervenções eficazes no controle do vetor, com enfoque na espécie *Ae. aegypti*. O engajamento tanto das autoridades de saúde quanto da comunidade é imprescindível para enfrentar esse desafio de saúde pública, visando mitigar o impacto da doença e prevenir sua disseminação para novas áreas geográficas (MS, 2023; OPAS, 2021).

Existem três estratégias principais para o controle de mosquitos *Ae. aegypti* (BALDACCHINO et al., 2015; ZARA et al., 2016):

(a) O controle mecânico, que visa diminuir os potenciais criadouros do mosquito, impedindo o desenvolvimento do ciclo de vida do inseto. Esta estratégia é baseada na



remoção de potenciais criadouros com água parada. O método também consiste em armadilhas para eliminar e monitorar a população do mosquito; (b) O controle biológico, que consiste em utilizar um inimigo natural específico, como por exemplo algumas espécies de peixes, parasitas, alguns tipos de fungos e nematoides, contribuindo para diminuir a população de larvas ou do mosquito adulto; (c) O controle químico, que está diretamente ligado ao uso de algum tipo de substância que inibe a eclosão de ovos, que atuam como reguladores de crescimento de larvas ou eliminem o mosquito adulto. Substâncias com ação repelente também se enquadram nesta categoria.

Assim, a presente tese de doutorado, apresenta os resultados dos esforços empregados na síntese de substâncias com propriedades repelentes direcionadas ao mosquito *Ae. aegypti*, vetor de doenças infecciosas de elevada relevância para o Brasil e outras regiões com clima tropical.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762): ASPECTOS GERAIS E ABORDAGENS PARA O CONTROLE DO MOSQUITO ADULTO

O *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762) (Figura 1) é originário da África, com ampla distribuição nos continentes desde o século XVI, período das grandes navegações. O macho, se nutre de alimentos com fonte de açúcar como, néctar, seiva, frutas, entre outros. A fêmea, no entanto, necessita de sangue para o seu desenvolvimento e amadurecimento dos ovos que são depositados separadamente nas paredes internas dos objetos, próximos à superfícies de água limpa, local que lhes oferece melhores condições de sobrevivência (ZARA et al., 2016).

Figura 1. Imagem do mosquito *Aedes aegypti* no ambiente.



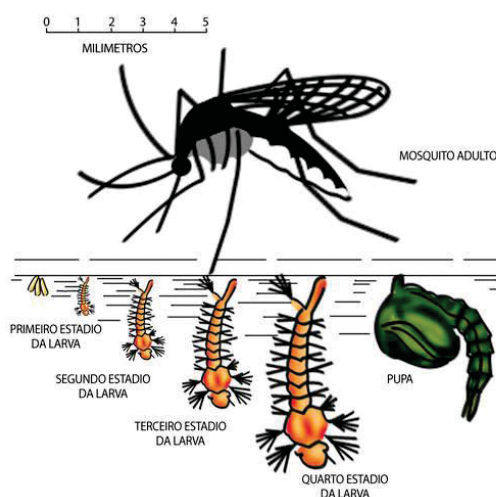
Fonte: [https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Pesquisa\\_Saude/tela7\\_2.html](https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Pesquisa_Saude/tela7_2.html)

O mosquito, é o vetor para o vírus da dengue (DENV), Zika (ZIKV), Chikungunya (CHIKV) e Febre amarela (YFV) (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ), 2022).

Os vetores são os veículos de transmissão do agente causador da doença, ou seja, é o organismo capaz de transmitir o micro-organismo que realmente desencadeará uma enfermidade. Estudos demonstram, que uma vez infectada, e isso pode ocorrer numa única inseminação, a fêmea do *Ae. aegypti* transmitirá o vírus por toda a vida, havendo a possibilidade de parte de suas descendentes já nascerem portadoras (DONALISIO, FREITAS e ZUBEN, 2017). Dessa forma, estas arboviroses têm sido motivo de grande preocupação para a saúde pública em todo o mundo, e as principais manifestações clínicas podem variar de doença febril leve, a síndromes febris hemorrágicas, articulares e neurológicas (DONALISIO, FREITAS e ZUBEM, 2017; TEICH, ARINELLI e FAHHAM, 2018).

O ciclo de vida do *Ae. aegypti* (Figura 2) inicia-se após a deposição dos ovos por uma fêmea na parede de um criadouro com água e após a eclosão do ovo, este torna-se larva. As larvas possuem quatro estágios evolutivos, chamados de instar. Após passar pelos quatro estágios, a larva se torna pupa e o período compreendido entre a eclosão e a pupação gira em torno de cinco dias. O período de pupa dura em média três dias, no qual ocorre a metamorfose que marcará o início da fase adulta (PORT, 2016).

Figura 2. Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*

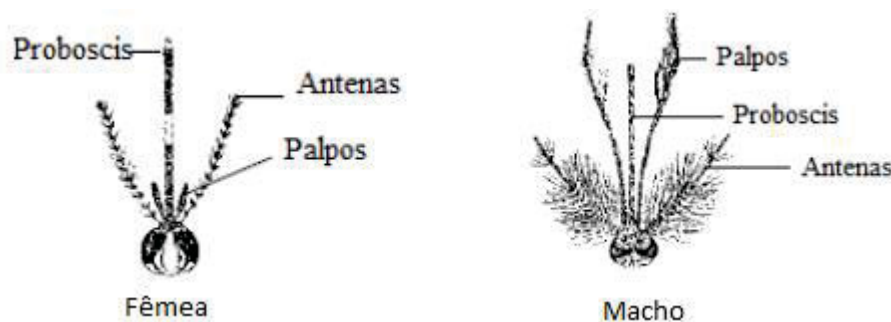


Fonte: <http://www.tribunadonorte.com.br/noticia/dengue-transmissao-facil-combate-difcil/176665>

A fase adulta é a mais conhecida, uma vez que é a fase em que o *Ae. aegypti* pode transmitir doenças ao homem. As fêmeas preferem o sangue humano como fonte de proteína ao de qualquer outro animal vertebrado. Atacam no início da manhã ou ao entardecer. Sua saliva possui uma substância anestésica, que torna quase indolor a picada. (MS, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2015).

O mosquito, para picar, é atraído pelo calor, pela transpiração, pelo odor corporal e pela respiração. A fêmea introduz o probóscide (Figura 3) na pele, até atingir um vaso sanguíneo. Em seguida, injeta a saliva (que contém uma proteína anticoagulante para evitar que o canal fique entupido pela coagulação) e começa a sugar o sangue. Uma fêmea pode sugar, se não for espantada, até cinco microlitros de sangue, que é a capacidade do seu abdômen. Quando vai embora, deixa um pouco de saliva na pele de quem foi picado, que provoca coceira e pequeno inchaço ao redor da picada. Um único mosquito (fêmea) pode picar até 300 pessoas nos seus 30 dias de vida e tem uma postura de 300 ovos. A temperatura ideal para o mosquito agir reside entre 26° e 28° C. Com a temperatura acima de 42° C, o mosquito morre (COSTA e FERREIRA, 2002).

Figura 3. Representação das antenas nos machos e fêmeas de mosquitos pertencentes a família Culicidae.



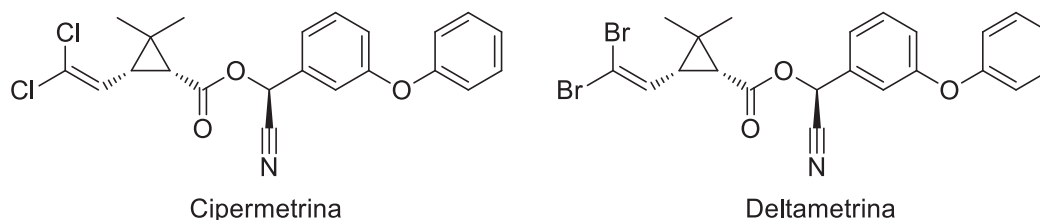
Fonte: World Health Organization - WHO (1992);

Em paralelo, diversos fatores contribuem para que o atual modelo de controle de doenças transmitidas por vetores não seja tão efetivo quanto o esperado. Dentre eles, a falta de compromisso dos governos, a fragilidade técnica dos programas, a insuficiência de recursos humanos bem capacitados, assim como, a baixa cobertura das ações, de forma que nas últimas décadas tem-se observado, um importante aumento de infecções em áreas urbanas (OPAS, 2019).

Na tentativa de diminuir a transmissão da doença e propagação do mosquito, são adotadas algumas medidas profiláticas como por exemplo, a eliminação de potenciais criadouros, o uso de inseticidas para controlar mosquitos adultos e larvas, uso de repelentes para proteger os indivíduos da picada além, de ações de educação ambiental e campanhas de conscientização da população. Entretanto, o grande desafio na utilização dos inseticidas sintéticos reside no uso continuado, afetando negativamente o meio ambiente. Como alternativa a estes compostos, se tem utilizado por exemplo, os piretroides (cipermetrina e deltametrina, Figura 4), porém, em razão do aparecimento de resistência em amostras de

populações de *Ae. aegypti* torna-se necessário a busca por novas metodologias para controle do mosquito, como é o caso dos repelentes (SMITH et al., 2016).

Figura 4. Estrutura química de cipermetrina e deltametrina



## 2.2 ABORDAGEM QUÍMICA PARA A MITIGAÇÃO DAS PICADAS DO MOSQUITO ADULTO: REPELENTES

Os repelentes podem ser definidos como substâncias químicas voláteis que induzem os artrópodes a se moverem na direção oposta às superfícies previamente tratadas, fazendo-os serem repelidos. Esses produtos se apresentam para os consumidores como infinidades de formulações e aplicações, como aerossóis, cremes, sprays, e telas ou roupas impregnadas (DOLAN e PANELLA, 2011).

Idealmente, um repelente precisa ter as seguintes características:

- Ter uma efetividade duradoura contra uma grande variedade de artrópodes;
- Ser inócuo para o ser humano após aplicação na pele ou nas roupas;
- Apresentar odor agradável ou ser inodoro;
- Ao ser aplicado na pele, não deixar uma sensação oleosa e resistir à remoção por fricção, lavagem ou suor;
- Ser inerte ao entrar em contato com plásticos de uso comum (como armações de óculos, canetas etc.);
- Ser quimicamente estável e economicamente viável para uso difundido.

Todos os repelentes exibem algum grau de volatilidade, e o ponto de ebulição das substâncias com ação repelente costuma ficar entre 230 °C e 260°C. Compostos com um ponto de ebulição menor se dissipam mais facilmente e apresentam tempo de repelência reduzido e compostos com pontos de ebulição mais altos são ineficazes pois não volatilizam em taxa efetiva para exercerem o efeito desejado (MAIBACH et al., 1974).

A maioria dos repelentes, assim que são aplicados na pele ou na roupa, em uma área pequena ao redor da aplicação, agem produzindo uma camada de vapor que cria uma

superfície desagradável ou ofensiva para os mosquitos. Porém também existem os repelentes que agem neutralizando os compostos que atraem os artrópodes para os humanos, agindo como uma camuflagem (DOLAN e PANELLA, 2011).

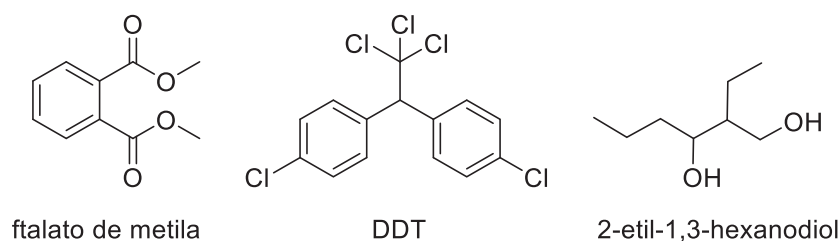
O tempo de repelência depende de vários fatores e cada composto tem uma proteção intrínseca diferente que varia entre espécies de mosquito. No momento da aplicação, há um período em que a substância repele todos os mosquitos e não há observação de pouso ou picadas, seguido de um período em que a substância começa a perder alguns dos seus efeitos, permitindo que os mosquitos pousem na pele tratada. Quando o repelente perde totalmente sua eficácia é quando as picadas ocorrem (LUPI, HATZ e SCHLAGENHAUF, 2013).

O uso de repelentes remonta à antiguidade, quando se queimavam plantas para utilizar a fumaça, ou a extração de óleos para se utilizar na repelência de insetos. Inúmeras plantas e seus derivados, em particular óleos essenciais, já foram investigados e descritos como fontes naturais em potencial para repelentes de insetos (ANNIE, 2012).

Os repelentes provenientes de fontes naturais vendidos atualmente no mercado costumam conter uma mistura de óleos obtidos da citronella (*Cymbopogon nardus*), eucalipto (*Eucalyptus maculata*), gerânio (*Pelargonium reniforme*), capim limão (*Cymbopogon citratus*), dentre outros. Apesar de os repelentes naturais terem um efeito pouco duradouro em relação aos sintéticos, sua toxicidade costuma ser mais baixa, o que justifica os esforços feitos no sentido de buscar compostos com atividade de repelência em extratos vegetais (ANNIE, 2012; CHOOCHOTE et al., 2007).

Para os repelentes obtidos sinteticamente, os estudos foram iniciados e vários compostos foram testados no período da Segunda Guerra Mundial. Até 1942, os compostos DDT (diclorodifeniltricloroetano), DMP (ftalato de dimetila) e Rutgers 612 (2-etil-1,3-hexanodiol), com suas estruturas químicas apresentadas na Figura 5, foram liberados para uso do exército americano, com uma repelência de duas horas. Porém, seus usos foram vetados mais tarde devido à observações de toxicidade (BERNIER e TSIKOLIA, 2011; ISLAM et al. 2017).

Figura 5. Estrutura química de algumas das primeiras substâncias empregadas como repelentes.

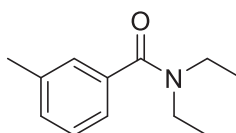


Em 1946, teve início a utilização do N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET), substância repelente amplamente reconhecida como o padrão de referência até os dias atuais. Em conjunto com a icaridina e o IR 3535, o DEET destaca-se como um dos repelentes mais recomendados e comercializados (PAUMGARTTEN e DELGADO, 2016).

### 2.2.1 N,N-Dietil-3-metilbenzamida (DEET)

O DEET (Figura 6), é um dos princípios ativo mais antigos e utilizados dentre os repelentes. Foi avaliado pela primeira vez em 1944 (contra *Ae. aegypti*) e patentado pelo exército americano em 1946. Depois de novos estudos em 1952, foi finalmente lançado no mercado em 1954 e passou a ser usado amplamente em 1957. Existem mais de 140 produtos contendo DEET registrados na Agência de Proteção Ambiental americana, fabricados por 40 empresas (CARLOS e ANDRADE, 2008).

Figura 6. Estrutura química do repelente N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET).



Esse repelente atua diminuindo a resposta dos insetos atraídos pelo ácido láctico (liberados por meio da transpiração), o que pode classificá-lo como um inibidor comportamental que reduz a atração ao invés de ativar um comportamento de repelir (SFARA et al., 2011).

O DEET exerce um efeito fixador notável, atenuando a volatilização de substâncias odoríferas a partir da superfície cutânea, na qual é aplicado (SYED E LEAL, 2008). O composto é perceptível pelo sistema olfativo do mosquito a partir de uma proximidade iminente, configurando-se como um indício volátil de caráter aversivo. No caso de um mosquito pousar sobre uma região cutânea tratada com DEET, o sistema gustativo da espécie é capaz de detectar o referido composto, classificando-o como um estímulo aversivo, caracterizado por sua qualidade amarga (RAY, 2015).

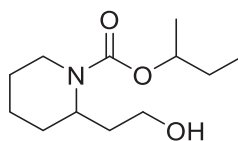
Segundo Legeay et al. (2018), estudos realizados em diferentes espécies de artrópodes indicam que o DEET atua como um estímulo sensorial e pode ser detectado pelos neurônios do receptor olfativo presente nas antenas de diferentes espécies, tornando esse repelente eficiente contra uma grande variedade de insetos.

Sua maior vantagem é o baixo custo e efeito duradouro que, em uma concentração de 20-30% do composto, pode durar mais de 6 h. Entretanto, entre os repelentes atualmente disponíveis, sua toxicidade é a mais alta. Está descrito que o DEET pode causar danos em fibras sintéticas das roupas, plásticos e acrílicos, além de não ser recomendado para uso de grávidas ou crianças menores de dois anos, por causar diversas formas de alergias cutâneas (TAVARES et al., 2018).

### 2.2.2 Icaridina

Também conhecido como picaridina, é um princípio ativo derivado da pimenta, cuja estrutura química está representada na Figura 7. É um repelente de uso amplo e eficaz contra mosquitos, moscas, carrapatos, etc. Por evaporar de uma forma mais lenta na pele, oferece um tempo de repelência maior que a do DEET, além de ser mais efetivo para mosquitos do gênero *Aedes* (TAVARES et al., 2018).

Figura 7. Estrutura química da Icaridina.



A concentração mínima para a ação de repelência começa em 5% e, em uma concentração de 20%, ele oferece uma proteção de até 10 h. É um repelente sem odor, não oleoso, não causa danos em plásticos e acrílicos e a utilização em crianças menores de seis meses é permitida. Apesar disso, pode danificar alguns materiais e roupas de couro animal (TAVARES et al. 2018).

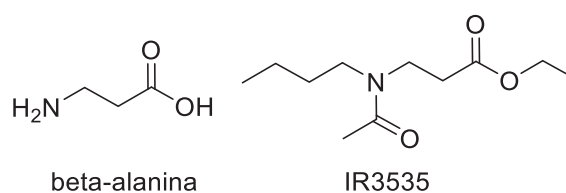
A icaridina possui dois estereocentros e é comercializada como uma mistura de estereoisômeros (ISENMANN, 2021).

### 2.2.3 Butilacetilaminopropionato de etila (IR 3535)

Disponível desde 1980, o Butilacetilaminopropionato de etila (IR 3535) tem sua estrutura química baseada em uma substância natural ( $\beta$ -alanina), conforme pode ser observado na Figura 8. Ele é efetivo contra mosquitos, moscas, carrapatos, piolhos, vespas e abelhas. Sua eficácia é pouco menor em comparação ao DEET, se utilizado em uma concentração acima de 10% (DOLAN e PANELLA, 2011).



Figura 8. Estrutura química da  $\beta$ -alanina e do repelente IR 3535.



Seu mecanismo de ação consiste em formar uma barreira de vapor que previne o contato de insetos com a pele devido ao odor ofensivo que a substância apresenta aos mesmos, embora não apresente cheiro aos seres humanos. Apesar de ser efetivo por um tempo menor, ele tem um perfil toxicológico muito menor, podendo ser utilizado por crianças pequenas e mulheres grávidas (TAVARES et al., 2018).

Algo possível de se observar em todas as estruturas químicas anteriormente apresentadas é que todas elas têm alguns grupos funcionais em comum, como por exemplo, o grupo amida e o grupo éster ou carbamato. Alguns trabalhos já exploraram a influência desses grupos para a propriedade de repelência apresentada por esses compostos, consistindo na avaliação de análogos dos repelentes utilizados comercialmente (OLIFERENKO et al., 2013; SURYANARAYANA et al., 1991).

### 2.3 ABORDAGEM QUÍMICA PARA O CONTROLE DO MOSQUITO ADULTO: INSETICIDAS

A utilização de substâncias inseticidas é responsável por desencadear efeitos fisiológicos específicos em organismos vivos, o que leva à designação de inseticida a qualquer composto químico ou natural com a capacidade de combater insetos (CORRÊA e SALGADO, 2011).

O controle das populações de mosquitos adultos (adulticidas) e na fase larvária (larvicidas) é alcançado por meio de abordagens distintas, como o tratamento focal e perifocal, bem como a aspersão aeroespacial de inseticidas em UBV - ultrabaixo volume (ZARA et al., 2016).

No tratamento focal, é aplicado um produto larvicida, podendo ser de natureza química ou biológica, nos locais onde as larvas residem e não podem ser removidas mecanicamente. Já o tratamento perifocal consiste na aplicação de uma camada residual de adulticida, utilizando-se um aspersor manual, nas paredes externas dos criadouros estrategicamente localizados. Essa abordagem é recomendada para áreas recentemente

infestadas, com o objetivo de complementar o tratamento focal em pontos estratégicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; ZARA et al., 2016).

A aspersão aeroespacial de inseticidas em UBV é realizada por meio de equipamentos portáteis costais ou acoplados a veículos, visando eliminar as formas adultas de *Ae. aegypti*. Essa técnica é restrita ao bloqueio de transmissão e ao controle de surtos ou epidemias, pois não possui seletividade, resultando na eliminação indiscriminada de qualquer mosquito presente no ambiente. Portanto, seu uso indiscriminado para combate de outros insetos não é recomendado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; ZARA et al., 2016).

No mercado brasileiro, há uma ampla variedade de produtos e marcas de inseticidas, em diversas formas, como líquidos, pós, pastas e elétricos, contendo uma grande diversidade de princípios ativos, o que pode acarretar potenciais riscos à saúde das pessoas. Os consumidores são atraídos por campanhas midiáticas que oferecem esses produtos como protetores da saúde e sinônimos de limpeza (MERTENS, 2007).

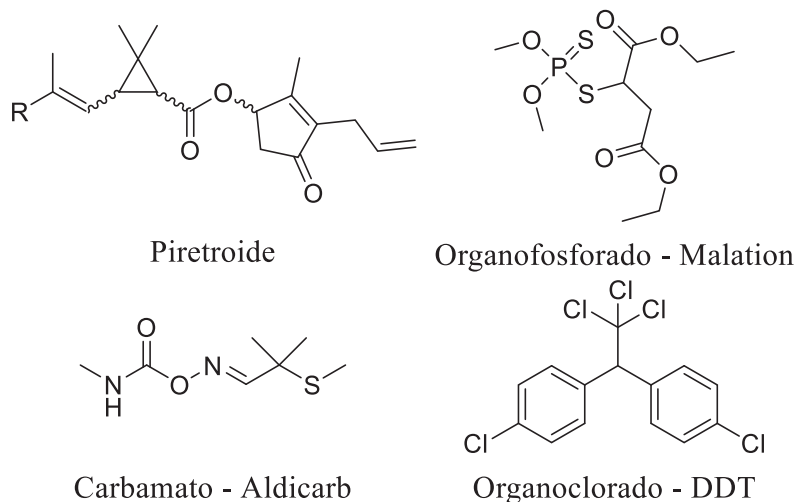
No entanto, a emergência de cepas resistentes aos inseticidas tem levado os consumidores a persistirem em seu uso, o que aumenta o risco de intoxicação. A resistência a pesticidas tem sido amplamente documentada em mais de 100 espécies de mosquitos, alguns dos quais têm importância relevante na área da saúde (CASTRO e ROZEMBERG, 2015).

Por mais de três décadas, tem sido objeto de questionamento o emprego da aspersão de pesticidas no meio ambiente como medida de controle urbano da dengue. A utilização contínua desses agentes tem acarretado o desenvolvimento de resistência por parte das espécies alvo e tem contribuído para o contínuo aumento no número de casos da doença em diferentes regiões do globo terrestre, resultando em um cenário que contradiz os objetivos iniciais propostos para esse método de controle (MERTENS, 2007).

A ausência de adequada regulamentação no emprego das substâncias químicas em nosso país, de maneira geral, assim como o uso simultâneo e, frequentemente, em elevadas doses dessas substâncias, apontam para a existência de um risco substancial que, em um período breve, pode resultar em consequências graves tanto para a saúde pública quanto para o meio ambiente (PERES e MOREIRA, 2003). Além disso, é importante destacar que, em grande parte das ocasiões, os consumidores não possuem conhecimento acerca das propriedades tóxicas das formulações utilizadas, incluindo os princípios ativos, solventes e sinergistas presentes. A falta de consciência e o desconhecimento acerca da toxicidade dos produtos empregados foram amplamente constatados em estudos realizados em Londres (2011).

Os inseticidas empregados no controle de mosquitos são categorizados em quatro grupos principais, com base em suas estruturas químicas: piretroides, organofosforados, carbamatos e organoclorados (Figura 9), sendo os dois primeiros amplamente utilizados como agentes de controle de vetores (PERES e MOREIRA, 2003).

Figura 9. Representações das Principais Classes de Inseticidas Químicos



Os inseticidas piretróides possuem capacidade de serem absorvidos pela pele, por inalação e pelo trato gastrointestinal. No que tange à sua ação tóxica, estudos experimentais em ratos têm revelado efeitos neurológicos, manifestados por um quadro de agressividade nos animais, acompanhado de tremores e, em um estágio avançado de intoxicação, convulsões, descoordenação e prostração. Essas intoxicações podem ocorrer de forma aguda ou crônica, tanto acidental quanto intencional, em função das diferentes vias de exposição, seja em curto, médio ou longo prazo. A velocidade e quantidade de absorção pelas diversas vias são determinadas pelas propriedades físico-químicas do agente tóxico, pela formulação utilizada e por fatores fisiológicos e anatômicos específicos do organismo afetado (PAIVA e MENEZES, 2003).

Os compostos organofosforados e carbamatos são agentes inibidores da colinesterase, cuja função é impedir a inativação da acetilcolina (ACh) (CALDAS, 2000). A enzima acetilcolinesterase (AChE) é o principal alvo para a ação desses agentes neurotóxicos, uma vez que ela regula as atividades centrais e periféricas do neurotransmissor ACh. Esses compostos têm a capacidade de inibir de forma irreversível a AChE, resultando na incapacidade desta enzima de hidrolisar a ACh. Como consequência, ocorre o acúmulo de ACh nas sinapses centrais e periféricas, o que desencadeia hiperestimulação colinérgica,

culminando em manifestações como broncorreia, contração muscular e cardíaca, convulsões, depressão respiratória e até mesmo óbito (TAFURI e ROBERTS, 1987).

Os pesticidas organoclorados são substâncias caracterizadas por sua alta resistência à degradação, tanto por meios químicos quanto biológicos. Esses compostos apresentam baixa solubilidade em água, são semi-voláteis e, devido à sua elevada lipossolubilidade, tendem a acumular-se nos tecidos adiposos dos organismos. Como resultado, percorrem rapidamente a cadeia alimentar, causando impactos mais significativos nos níveis tróficos mais elevados, como os carnívoros. Além disso, esses pesticidas têm a capacidade de serem secretados no leite materno e atravessar a placenta. Atualmente, a maioria dos organoclorados teve seu uso restrito ou foi completamente proibida no Brasil e em várias regiões do mundo, devido aos seus efeitos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde (CIRCUNVIS, 2017).

Devido à resistência observada em populações de *Ae. aegypti* a certos inseticidas, o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) tem promovido, ao longo do tempo, a substituição desses compostos. Os organofosforados (malationa, fenitrotona e temefós) foram os primeiros a substituir os organoclorados. Por sua vez, os piretroides (cipermetrina e deltametrina) têm sido empregados como alternativa para substituir os organofosforados, devido à sua alta eficiência no combate a mosquitos adultos, o que permite o uso de menores quantidades de princípio ativo. Entretanto, os piretróides têm desvantagens, como seu alto custo e potencial impacto ambiental (GUZMAN, 2010). O monitoramento da susceptibilidade a inseticidas em diferentes regiões do país é uma estratégia fundamental para a ampliação do conhecimento acerca dos mecanismos de resistência e para o controle dos níveis de infestação vetorial em âmbito local (BRAGA e VALLE, 2007).

#### 2.4 PISTAS QUÍMICAS E COMPORTAMENTO DE BUSCA DE HOSPEDEIROS PELO *Aedes aegypti*

No início do século XX, os odores não eram considerados na atração de mosquitos. Em vez disso, a temperatura foi inicialmente postulada como o principal estímulo atrativo para esses insetos: supunha-se que os mosquitos possuíssem a capacidade de detectar a presença de hospedeiros de sangue quente por meio de sua atração ao "ar quente ascendente de superfícies aquecidas" (DORMONT et al., 2021). Alguns anos após, Rudolfs (1922) foi o primeiro a propor a hipótese de que o CO<sub>2</sub> produzido pela respiração é o agente atrativo inicial para os mosquitos. Posteriormente, comprovou-se rapidamente que o dióxido de

carbono era altamente eficaz na captura de mosquitos durante campanhas de captura em campo (DORMONT et al. 2021).

Haddow (1942) foi o primeiro a investigar os odores humanos em ensaios comportamentais, constatando que a presença de crianças “não lavadas” dentro de cabanas possibilitou a captura de um número significativamente maior de mosquitos em comparação com cabanas que abrigavam crianças lavadas. A utilização de extratos de odores humanos como isca para armadilhas de mosquitos foi desenvolvida somente na década de 1990 (DORMONT et al., 2021).

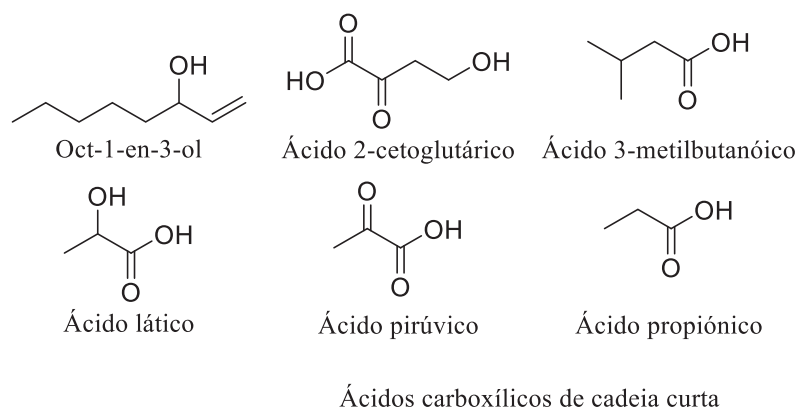
Ainda em meados do século XX, alguns pesquisadores empreenderam investigações sobre o possível papel de compostos isolados, já conhecidos por serem produzidos pelo suor, na modulação do comportamento dos mosquitos. Dentre essas substâncias, o ácido láctico foi objeto de interesse. Estudos iniciais, como o de Rudolfs (1922), evidenciaram um efeito repelente associado ao ácido láctico. Adicionalmente, em pesquisas realizadas durante essa mesma época, observou-se que esse composto pode apresentar variações de resposta comportamental em diferentes espécies de mosquitos, podendo ser atrativo, neutro ou repelente. Posteriormente, Müller (1968) demonstrou que a ação do ácido S-láctico pode variar entre repelente e atrativo, dependendo da concentração utilizada nos testes experimentais. A atratividade do ácido láctico foi corroborada por ensaios laboratoriais e estudos fisiológicos adicionais, estabelecendo-o como um atrativo eficaz para mosquitos, e seu uso tem se mostrado bem-sucedido em armadilhas de campo, frequentemente em associação com outros atrativos (DEKKER et al., 2002; DORMONT et al., 2021).

A amônia foi outra substância alvo de investigações como possível atrativo. Inicialmente testada isoladamente, esse composto demonstrou ser pouco ou não atrativo para espécies de *Aedes* e *Anopheles*. Geier et al. (1999) foram os primeiros a suspeitar de efeitos sinérgicos com o ácido láctico e demonstraram que a amônia, na verdade, era um composto atrativo para *Ae. aegypti* quando combinado com o ácido láctico. A atividade fisiológica das antenas de mosquitos em resposta à amônia foi posteriormente demonstrada por Meijerink et al. (2001) e a amônia foi adicionada à lista de componentes atrativos para armadilhas com iscas em campo (DORMONT et al., 2021).

Os ácidos carboxílicos foram alvo de suspeitas iniciais quanto ao seu potencial papel na atração de mosquitos. Os efeitos de compostos como ácido benzoico, fórmico, propiônico, butírico e caproico foram investigados, entretanto, nesses estudos, nenhum efeito atrativo desses compostos em mosquitos foi observado. Somente em estágios posteriores, na segunda metade do século XX, o efeito atrativo desses compostos foi

efetivamente demonstrado. Estudos subsequentes confirmaram atividades fisiológicas e comportamentais de diversos ácidos carboxílicos de cadeia curta (Figura 10) e média em *An. gambiae* e *Ae. aegypti*, levando à utilização desses ácidos carboxílicos como iscas em experimentos com armadilhas (DORMONT et al., 2021).

Figura 10. Compostos encontrados no odor humano responsáveis pela atração de fêmeas de mosquitos antropofágicos



O efeito atrativo de mosquitos de outro composto, o 1-octen-3-ol, foi inicialmente demonstrado como atrativo para outras espécies de insetos-praga. Posteriormente, Takken e Kline (1989) foram os primeiros a demonstrar a eficácia do 1-octen-3-ol como atrativo para mosquitos, usado individualmente como isca em armadilhas, ou em sinergia com o CO<sub>2</sub>. Atualmente este composto vem sendo frequentemente utilizado como isca em armadilhas durante experimentos de campo (DORMONT et al., 2021; RAY, 2015).

Além das pistas químicas, as fêmeas de mosquitos usam a visão, o olfato, o calor e a umidade, como mecanismos orientadores em direção aos hospedeiros. Os odores corporais são resultantes da atividade metabólica de bactérias residentes na pele, as quais convertem os metabólitos secretados no suor em odorantes que conferem o característico aroma corporal. Os mosquitos detectam esses compostos por meio de receptores olfativos presentes em seus neurônios antenais específicos para o olfato. Essas informações são, posteriormente, integradas com os estímulos sensoriais de temperatura e umidade, bem como a visão, e são processadas no encéfalo para resultar em uma resposta comportamental, direcionando, assim, a busca por hospedeiros (CARDÉ, 2015; COUTINHO-ABREU et al., 2022; SMALLEGANGE et al., 2011).

O mecanismo de busca por hospedeiros é composto por diversas etapas desencadeadas por diferentes pistas provenientes do hospedeiro. Essas etapas comportamentais incluem ativação, atração em longas distâncias mediadas por odores, pairar

e aterrissagem. As pistas químicas que desencadeiam tais comportamentos englobam o dióxido de carbono e os odores emanados pela pele do hospedeiro. Estímulos visuais atuam como guia para orientar o comportamento mediado por odores em direção ao hospedeiro, desempenhando um papel significativo no comportamento de aterrissagem, enquanto a temperatura e a umidade são consideradas atrativos em curta distância. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) tem sido demonstrado como um ativador dos mosquitos em repouso, além de induzir atração em longas distâncias (orientação >1 m). Uma vez em proximidade de um hospedeiro humano (<1 m), as fêmeas de mosquitos permanecem pairando até identificarem a parte do corpo mais atraente para aterrissar. Essa atração em curta distância pode ser desencadeada pelos odores do hospedeiro provenientes do suor, que são produzidos pela microbiota residente da pele (CARDÉ, 2015; COUTINHO-ABREU et al., 2022; SMALLEGANGE et al., 2011).

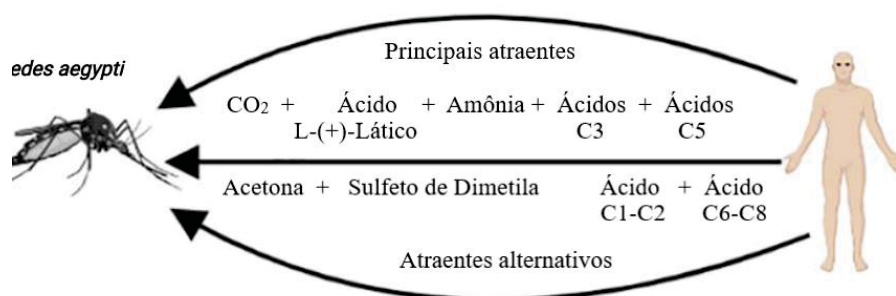
O sistema olfativo das espécies de mosquitos antropofílicos está adaptado para reconhecer e responder à composição do suor humano. Dentre os componentes presentes no suor humano, o ácido S-(+)-lático desempenha um papel fundamental como coadjuvante do CO<sub>2</sub> e é um atrativo relevante para certas espécies de mosquitos. Por outro lado, para outras espécies, a amônia é o principal odorante atrativo que, em conjunto com o CO<sub>2</sub>, desencadeia a resposta de atração aos seres humanos. Esses mosquitos têm preferência pelo suor envelhecido, o qual contém níveis mais elevados de amônia, resultante da ação da microbiota da pele que consome o ácido S-(+)-lático. Os ácidos carboxílicos de cadeia curta são abundantes na pele humana, e esses compostos reforçam ainda mais a atração dos mosquitos pelo ácido S-(+)-lático, pela amônia e pelo CO<sub>2</sub> (CARDÉ, 2015; COUTINHO-ABREU et al., 2022; SMALLEGANGE et al., 2011).

A interação entre o odor da pele e o CO<sub>2</sub> apresenta uma influência sinérgica no comportamento atrativo do *Ae. aegypti* (Figura 11). Fêmeas de *Ae. aegypti* não são exclusivamente atraídas pelo ácido S-(+)-lático, e demonstram uma fraca atração apenas ao CO<sub>2</sub> ou ao odor da pele humana isoladamente. Ademais, combinações de ácido S-(+)-lático ou odor da pele com CO<sub>2</sub> resultam em uma modificação sinérgica no comportamento atrativo. A presença conjunta de CO<sub>2</sub> e odorantes encontrados na pele humana, tais como o ácido S-(+)-lático, a amônia e ácidos carboxílicos de cadeia curta (C1-C3) e média (C5-C8), mostrou-se quase tão atrativa quanto a combinação de CO<sub>2</sub> com o odor da pele humana. Mosquitos fêmeas de *Ae. aegypti* também são atraídos por diferentes combinações de ácido S-(+)-lático com cetonas específicas, sulfetos e/ou cloroalcanos, indicando que tais odorantes podem substituir o CO<sub>2</sub> como atrativo. Algumas dessas combinações revelaram



ser mais atrativas para esses mosquitos do que o odor da pele humana ou as misturas de CO<sub>2</sub> com ácido S-(+)-lático. Adicionalmente, ácidos carboxílicos específicos e compostos de enxofre podem induzir, de maneira isolada, o pouso para esta espécie de mosquito (CARDÉ, 2015; COUTINHO-ABREU et al., 2022; SMALLEGANGE et al., 2011).

Figura 11. Principais atraentes que mediam o comportamento de busca por hospedeiro do *Aedes aegypti*



Combinações de CO<sub>2</sub>, S-(+)-ácido lático, amônia, um ácido carboxílico C1-C3 e um ácido carboxílico C5-C8 são suficientes para desencadear a atração de fêmeas do *Ae. aegypti*. Os odorantes substitutivos acetona e sulfeto de dimetila, podem desempenhar os papéis do CO<sub>2</sub> e do ácido S-(+)-lático, respectivamente (COUTINHO-ABREU et al., 2022).

Uma característica intrigante do sistema olfativo dos mosquitos é a capacidade de alguns odorantes da pele se ligarem também ao receptor de CO<sub>2</sub>, desencadeando respostas neuronais e induzindo comportamento. Os odorantes da pele e seus análogos químicos têm sido empregados para a ativação, superativação e inibição do receptor de CO<sub>2</sub>, permitindo, por conseguinte, a manipulação do comportamento de busca do hospedeiro por parte dos mosquitos (COUTINHO-ABREU et al., 2022; RAY, 2015).

Em concentrações não fisiológicas, a 2,3-butanodiona, odorante da pele humana, desencadeia uma atividade neuronal prolongada no neurônio de CO<sub>2</sub>, resultando na desorientação do comportamento de busca do hospedeiro em mosquitos *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. A ciclopentanona e o piruvato de etila, dois odorantes com estrutura química similar aos odores da pele, apresentam a capacidade de ativar e inibir o neurônio do receptor de CO<sub>2</sub>, respectivamente. Enquanto o primeiro atua como um atrativo, o segundo pode reduzir a atração da fonte de CO<sub>2</sub> em fêmeas de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (COUTINHO-ABREU et al., 2022; RAY, 2015).

Da mesma forma, a acetona foi identificada como outro ativador do neurônio do receptor de CO<sub>2</sub>, e fêmeas de *Ae. aegypti* demonstram uma atração similar à acetona e ao ácido S-(+)-lático, assim como ao CO<sub>2</sub> e ao ácido S-(+)-lático. Adicionalmente, um odor

corporal humano denominado espermidina inibe a ativação de CO<sub>2</sub> e reduz o pouso de *Ae. aegypti* induzido pelo odor da pele humana (CARDÉ, 2015; COUTINHO-ABREU et al., 2022).

Frente ao apresentado acima, sabe-se que os odores do suor desempenham um papel importante na atratividade dos vertebrados para os mosquitos, e a composição única do suor humano parece explicar seu efeito tentador sobre os mosquitos de predileção antropofílica. Entender, como as pistas atuam para a atração dos mosquitos pode ser a chave para encontrar estratégias e maneiras de modular o comportamento de busca de hospedeiro por esses artrópodes, levando, em última instância, à mitigação das incidências de picadas e à contenção da propagação de enfermidades veiculadas por esses insetos.

## 2.5 DESENVOLVIMENTO DE SUBSTÂNCIAS INOVADORAS COM POTENCIAL REPELENTE CONTRA O *Aedes aegypti*

A demanda crescente pela descoberta de repelentes novos, economicamente acessíveis e seguros, capazes de mitigar as limitações do DEET, particularmente voltados à sua implementação em áreas do globo que se encontram mais vulneráveis às doenças veiculadas por mosquitos (RAY, 2015), somada à possibilidade de produzir uma substância com tecnologia e produção nacional, são grandes motivadores desta pesquisa, que encontra uma nova abordagem na busca por novas substâncias com atividade repelente frente a *Ae. aegypti*.

Uma das abordagens adotada para o desenvolvimento de novos repelentes está ancorada em investigações *in silico*, as quais se fundamentam em similaridades química estruturais com o DEET e outros agentes repelentes já conhecidos, para propor novas substâncias. Em um estudo, foi empregada uma metodologia de informática química, por meio da qual foram antecipadas 34 carboximidas e 34 N-acilpiperidinas a partir de modelos de estrutura-atividade quantitativa, utilizando dados de repelência arquivados pelo USDA para derivados do composto DEET. Estes compostos foram subsequentemente sintetizados e submetidos a testes comportamentais com o propósito de evidenciar uma eficácia biológica superior àquela observada para o DEET (KATRITZKY et al., 2010). De forma similar, em uma abordagem interligada, um conjunto específico de descritores físico-químicos foi identificado a partir dos repelentes empregados nestes estudos, sendo usados para o treinamento de máquina (KAIN et al., 2013). O modelo previamente treinado foi empregado para conduzir uma triagem *in silico* da estrutura química de uma coleção de mais de 400000 compostos químicos, o que culminou na identificação de aproximadamente 1000 novos

repelentes, dentre os quais mais de 100 são de origem natural. Um conjunto reduzido composto por 10 agentes provenientes dessa seleção foi submetido à avaliações comportamentais utilizando moscas como modelo, resultando em uma taxa de sucesso preditivo de 80%. Dentro dessa seleção, os antranilatos se destacaram ao exibir aprimorados perfis de toxicidade, além de não promoverem a dissolução de materiais como náilon e plástico, e apresentarem características cosméticas superiores (apresentando um aroma suave e agradável) quando comparados ao padrão de comparação DEET (KAIN et al., 2013).

Além dos repelentes de origem vegetal, tradicionalmente explorados na busca por novas substâncias, como exemplificado pela citronela e pelo *p*-metano-3,8-diol, os quais também manifestaram uma eficácia notável, ainda que com períodos de atuação mais curtos quando comparados ao DEET, observa-se, de forma mais recente, um direcionamento à identificação de repelentes através da análise de voláteis presentes na derme humana, exibindo uma baixa atratividade por mosquitos. Em uma abordagem de ecologia química, realizou-se uma prospecção para identificar componentes do odor humano correlacionados com a preferência por hospedeiro, culminando na identificação de 33 compostos candidatos a repelentes para *Ae. aegypti*, dentre os quais cinco foram selecionados para experimentos comportamentais. Dentro deste conjunto, o decanal foi validado como um potencial agente repelente. Ademais, dois outros candidatos, a geranilacetona e a 6-metil-5-hepten-2-ona, evidenciaram uma notável capacidade de repelência contra *Ae. aegypti*, especialmente quando coaplicados na proporção 1:1 (KAIN et al., 2013; LOGAN et al., 2008).

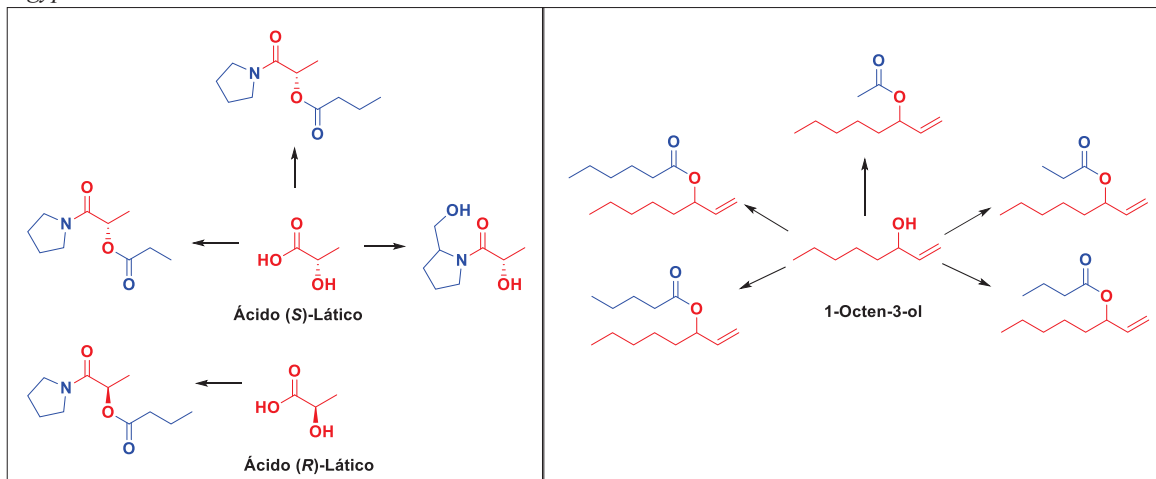
A estratégia inovadora empregada pelo grupo de pesquisa fundamenta-se na concepção de novas substâncias, inspiradas em compostos de natureza atrativa que são excretados pela transpiração humana e que exercem poder de atração sobre as fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*. A intenção subjacente é capitalizar a interação pré-existente entre tais substâncias e os receptores sensoriais presentes nos mosquitos e transmitir uma mensagem adversa à praga.

A partir de tal abordagem, pode-se aproveitar da ampla gama de compostos químicos endogenamente liberados pelo corpo humano em situações como transpiração e respiração, constituindo-se como agentes sinalizadores de atração, para sintetizar novos repelentes, agindo como protetor individual e evitando picadas de mosquitos que transmitem doenças.

A partir destas observações, tomou-se a decisão de explorar substâncias utilizadas pelas fêmeas do mosquito, tais como o ácido láctico e o 1-octen-3-ol, conhecidos como sinalizadores, a fim de propor novos derivados contendo funções orgânicas presentes em repelentes com reconhecida eficácia. Portanto, sintetizou-se 4 derivados, partindo do ácido

(S)-lático e (R)-lático, expostos na Figura 12 e 5 derivados, tendo como base a estrutura química do 1-Octen-3-ol (Figura 12).

Figura 12. Substâncias sintetizadas para avaliação da atividade repelente frente às fêmeas de *Ae. aegypti*



Uma substância em específico, proveniente desta estratégia, previamente investigada pelo nosso grupo de pesquisa, manifestou um notável potencial de ação repelente direcionado a fêmeas de *Ae. aegypti* (conforme documentado na Tabela 1, página 43). Tendo em vista o potencial deste composto, foram empregados esforços a fim de submeter esta substância a uma avaliação abrangente de suas propriedades toxicológicas em distintos contextos, resultando em uma iminente perspectiva de incorporação em cenários comerciais (MARQUES et al. 2021), como um novo repelente, ou disponibilizando-o para o governo brasileiro como parte integrante de suas iniciativas destinadas à mitigação da disseminação de enfermidades ocasionadas pelo *Ae. aegypti*.

### 3. OBJETIVO

Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade repelente de compostos derivados de ácido lático e 1-octen-3-ol, frente a fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar, purificar e caracterizar série de ésteres (C2-C6), derivados de 1-octen-3-ol;
- Avaliar atividade repelente da série de ésteres derivados do 1-octen-3-ol, frente a fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*;

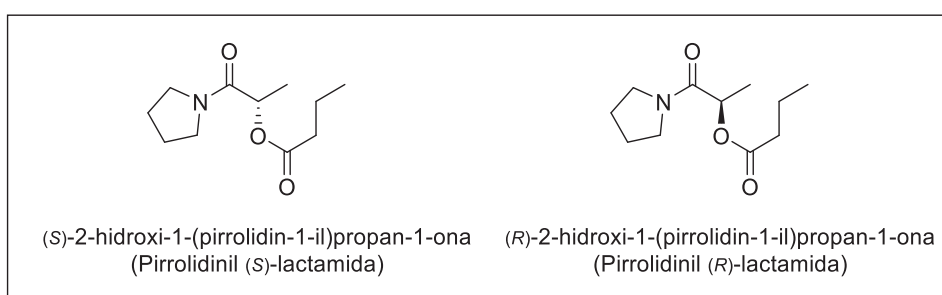
- Sintetizar, purificar e caracterizar par de enantiômeros do butirato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila;
- Sintetizar, purificar e caracterizar serie de derivados do ácido (S)-lático e ácido (R)-lático;
- Avaliar o poder de repelência dos derivados do ácido (S)-lático e ácido (R)-lático frente a fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*.

#### 4. METODOLOGIA

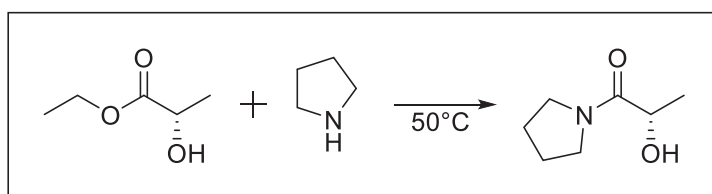
##### 4.1 SÍNTESE DE COMPOSTOS REPELENTES PARA O MOSQUITO *Aedes aegypti*

Este projeto, foi realizado em duas etapas. A síntese dos compostos repelentes utilizou metodologias clássicas disponíveis em literatura, com adaptações, quando necessárias, e foi realizada no LECOSIN. Abaixo encontram-se as metodologias utilizadas para a síntese dos enantiômeros derivados do ácido lático, bem como para a síntese de ésteres derivados 1-octen-3-ol. A segunda etapa, trata-se então da avaliação da atividade destes compostos como potenciais repelentes e está sendo realizada em parceria com pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e com o professor Dr. Joel R. Coats do Laboratório de Toxicologia de Pesticidas da IOWA State University, EUA.

##### 4.1.1 Síntese dos enantiômeros Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Butirato de pirrolidinil (S)-lactamida) e Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Butirato de pirrolidinil (R)-lactamida)



##### 4.1.1.1 Síntese de (S)-2-hidroxi-1-(pirrolidin-1-il)propan-1-ona (Pirrolidinil (S)-lactamida)

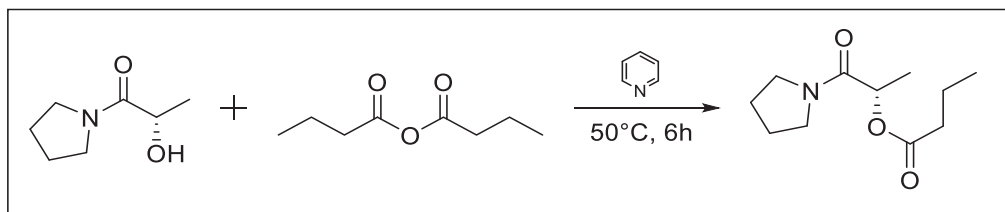


Adicionou-se em um balão de reação (S)-lactato de etila (8,46 mmol, 1 g, 970  $\mu$ L) e pirrolidina (9,306 mmol, 902,5 mg, 764,2  $\mu$ L). Deixou-se a reação sob agitação, em banho de óleo a 50°C, por 48 h, em que se atingiu cerca de 97% de conversão do lactato de etila em produto (acompanhamento da reação por cromatografia em fase gasosa acoplado à espectrometria de massas, CG-EM).

Ao final das 48 h adicionou-se éter etílico (30 mL) ao meio reacional. A fase orgânica foi lavada sob agitação, com auxílio de agitador magnético, com água destilada (2 x 800  $\mu$ L), deixando agitar por 30 min, posteriormente, lavada da mesma forma com uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M (2 x 800  $\mu$ L), novamente água destilada (1 x 800 $\mu$ L) e solução saturada de NaCl (1 x 20 mL), levando ao produto Pirrolidinil (S)-lactamida, com rendimento reacional de 93%.

O mesmo procedimento experimental foi utilizado, partindo do reagente (R)-lactato de etila, para a síntese de Pirrolidinil (R)-lactamida, com rendimento reacional de 95%.

#### 4.1.1.2 Síntese do Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Butirato de pirrolidinil (S)-lactamida)



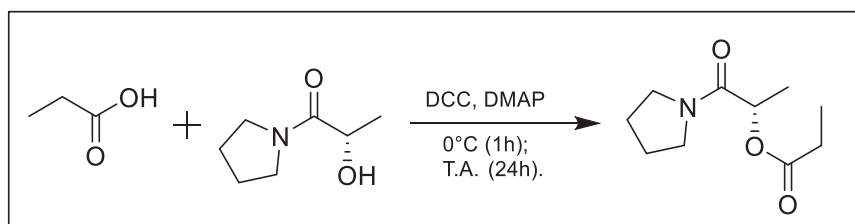
Adicionou-se o produto da reação anterior Pirrolidinil (S)-lactamida (7,89 mmol, 1,130 g) e piridina (1,97 mmol, 155,8 mg, 159  $\mu$ L) em um balão de reação. Após purga do sistema, com Argônio, adicionou-se anidrido butírico à reação (9,07 mmol, 1,43 g, 1,484  $\mu$ L). A reação foi conduzida com aquecimento em banho de óleo, mantendo a temperatura em 50°C, por 6 h.

Ao término das 6 h, adicionou-se água destilada (600  $\mu$ L) ao meio reacional, a temperatura do banho de óleo foi elevada à 80°C, deixando agitar por mais 30 min.

Adicionou-se éter etílico (30 mL) à mistura reacional que foi transferida para funil de separação. Na sequência, lavou-se a fase orgânica com água destilada (2 x 2 mL), solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M (2 x 2 mL), água destilada (2 x 2 mL), solução de NaHCO<sub>3</sub> 10% (2 x 2 mL), novamente água destilada (1 x 2 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 2mL). A fase orgânica foi secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, após filtração, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, levando ao produto Butirato de pirrolidinil (S)-lactamida em rendimento reacional de 63%.

O mesmo procedimento experimental foi utilizado, partindo do reagente pirrolidinil (R)-lactamida, para a síntese de Butirato de pirrolidinil (R)-lactamida, com rendimento reacional de 50%.

#### 4.1.2 Síntese de (S)-Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (Propionato de pirrolidinil (S)-lactamida)

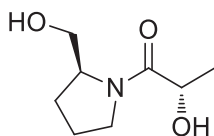


Adicionou-se a um balão de reação pirrolidinil (S)-lactamida (10,40 mmol, 1,490 g) e ácido propiônico (9,43 mmol, 697 mg, 705  $\mu$ L) em diclorometano (25 mL), sob banho de gelo. Após a mistura agitar por 15 min, foram adicionados DCC (N,N'-diciclohexilcarbodiimida) e DMAP (4-dimetilaminopiridina) ao balão reacional, após deixou-se sob agitação por 1 h, deixou-se a reação alcançar a temperatura ambiente e manteve-se a reação por mais 24h.

Então filtrou-se a mistura e adicionou-se mais diclorometano (25 mL), a mistura foi transferida para funil de separação e efetuou-se as lavagens da fase orgânica. A fase orgânica foi lavada com água (1 x 2 mL), solução de ácido cítrico 10% (1 x 2 mL), novamente água (1 x 2 mL), solução de  $\text{NaHCO}_3$  10% (1 x 2 mL), por fim, solução saturada de NaCl (1 x 2 mL). A fase orgânica foi secada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, após filtrada a mistura, evaporou-se o solvente sob pressão reduzida.

O produto da reação foi purificado por cromatografia em coluna por gravidade, utilizando sílica (63-220  $\mu\text{m}$ ) e a mistura de solventes, acetato de etila/metanol (9/1) como eluente, para levar ao composto puro com rendimento de 60%.

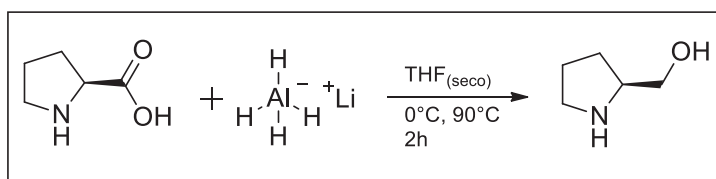
#### 4.1.3 Síntese do, 2-hidroxi-1-(2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-one



2-hidroxi-1-(2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-one



## 4.1.3.1 Síntese de (S)-Prolinol



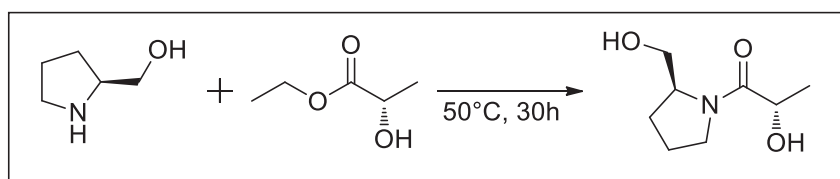
Primeiramente, pesou-se LiAlH<sub>4</sub> em pastilhas (36,89 mmol, 1,4g), adicionou-se em balão de reação contendo THF (30 mL, armazenado sob peneira molecular). Após purga do sistema com gás inerte, (S)-prolina (13,03 mmol, 1,5 g) foi adicionada à reação, sob banho de gelo, com auxílio de balão de adição de sólido acoplado ao sistema. Ao adicionar os reagentes, retirou-se a reação do banho de gelo e colocou-se sob banho de óleo, prosseguindo a reação a 90°C, por 2 h. Ao término deste período, retirou-se o aquecimento, filtrou-se a mistura e os resíduos foram colocados para refluxar novamente, com THF adicional.

Juntou-se as porções de THF. Adicionou-se à mistura solução de KOH 1M, até que o resíduo sólido se apresentasse totalmente branco. Após filtração da mistura, o solvente foi secado com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e evaporado sob pressão reduzida, levando ao produto (S)-prolinol, com rendimento de 93%. Os dados espectrais de RMN de <sup>1</sup>H gerados pela substância sintetizada estão descritos abaixo.

(S)-Prolinol; Rendimento = 93%;

RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, DMSO) δ 3,44 (m, 2H), 3,24 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,98 (m, 1H), 2,73 (m, 3H), 1,62 (m, 2H), 1,30 (m, 1H).

## 4.1.3.2 Síntese de 2-hidroxi-1-(2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-one

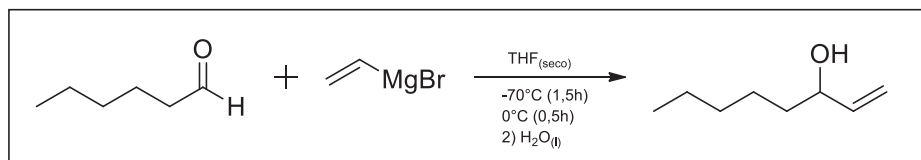


Adicionou-se (S)-lactato de etila (10,87 mmol, 1,28 g) sob (S)-prolinol (11,7 mmol, 1,182 g). A reação foi mantida sob agitação por 30 h, em temperatura de 50°C. O produto foi transferido para funil de separação com éter etílico (30 mL) seguido da adição de água (10 mL). Após separação de fases, a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 15mL), solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M (2 x 15 mL), água destilada (1 x 15 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 15mL). A fase orgânica foi secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, após filtração o solvente foi eliminado sob pressão reduzida, levando ao produto 2-hidroxi-1-(2-(hidroximetil)pirrolidin-

1-il)propan-1-ona, com rendimento de 52,4%. A purificação do produto foi realizada por cromatografia em coluna dry-flash utilizando acetato de etila como eluente.

#### 4.1.4 Síntese de série de ésteres baseados na estrutura química do 1-Octen-3-ol

##### 4.1.4.1 Síntese de 1-Octen-3-ol



Primeiramente, efetuou-se a purificação de hexanal, para eliminar resíduos de ácido hexanoico. Para isto, adicionou-se hexano (70 mL) ao hexanal (15 mL) e lavou-se esta fase orgânica com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  10% (3 x 10 mL), água destilada (2 x 10 mL), solução saturada de  $\text{NaCl}$  (1 x 10 mL) e secou-se com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, após filtração o solvente foi evaporado sob pressão reduzida.

Após fez-se a purga do balão de reação, com ciclos de vácuo, auxiliado por bomba de vácuo, e recarga com gás inerte (Ar). Este processo foi repetido por 3 vezes, antes da terceira recarga com gás Ar, flambou-se o balão, com auxílio de um soprador térmico.

Com o balão de reação, tampado com septo, sob atmosfera inerte e livre de umidade, adicionou-se, auxiliado por uma seringa, solução em THF do reagente de Grignard, brometo de vinil magnésio (100 mmol, 13,125 g). O balão foi colocado sob banho de etanol e iniciou-se o abaixamento da temperatura do banho para  $-70^\circ\text{C}$ , com adição de  $\text{N}_2(l)$ . Adicionou-se o hexanal purificado (87,43 mmol, 8,757 g, 10,5 mL) gota-a-gota. Manteve-se a reação sob agitação na temperatura entre  $-50$  a  $-70^\circ\text{C}$ , por 90 min. Após o término deste tempo, deixou-se o banho chegar a  $0^\circ\text{C}$  e manteve-se a reação sob agitação por mais 30 min. Para terminar a reação, adicionou-se água destilada (5 mL) a mistura.

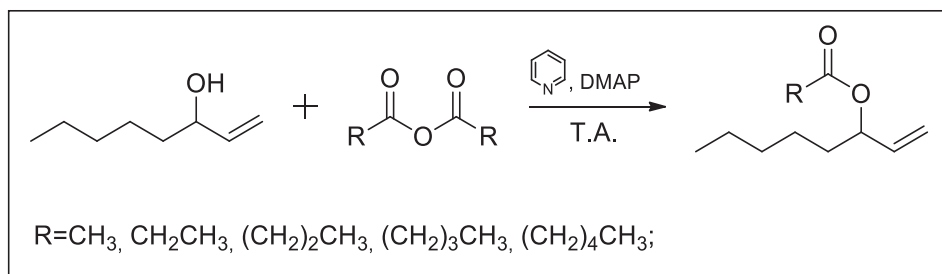
Adicionou-se hexano (40 mL) ao balão reacional. Formou-se grande quantidade de sólido branco opaco, impossibilitando a separação de fase orgânica e aquosa. O sólido branco opaco foi dissolvido após ajuste do pH, com solução de  $\text{HCl}$  1M, de básico para próximo de  $\text{pH} = 1$ , desta forma, percebeu-se a separação de fases com adição de água. O produto foi extraído da fase aquosa com hexano (3 x 50 mL). Juntou-se as fases orgânicas, e lavou-se com água destilada (3 x 40 mL). A fase orgânica foi secada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, após filtração o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O rendimento reacional foi de 86% com pureza de 86%, aferido por CG-EM (cromatografia a gás acoplado a espectrometria de massas).

O produto foi purificado via cromatografia em coluna por gravidade, sendo o eluente uma mistura de dicloro metano/acetato de etila (9,5/0,5). As purificações tiveram rendimento de 87,3%. Os dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$  gerados pela substância sintetizada estão descritos abaixo.

Oct-1-em-3-ol; Rendimento = 86%;

RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,87 (ddd,  $J = 17,2, 10,4, 6,3$  Hz, 1H), 5,22 (dt,  $J = 17,2, 1,4$  Hz, 1H), 5,10 (dt,  $J = 10,4, 1,4$  Hz, 1H), 4,10 (m, 1H), 1,72 (sl, 1H), 1,40 (m, 8H), 0,89 (t,  $J = 6,5$  Hz, 3H).

#### 4.1.4.2 Esterificação de 1-Octen-3-ol



Adicionou-se em um balão de reação, 1-octen-3-ol (7,8 mmol, 1 g), piridina (15,6 mmol, 1,23 g, 1,26 mL) e DMAP ( $4,092 \cdot 10^{-4}$  mol, 50 mg). Após purgar o sistema com gás Ar, adicionou-se o anidrido de interesse, sendo eles anidrido acético, propanoico, butanoico pentanoico ou hexanoico (15,6 mmol). Para a síntese de acetato, propionato e butirato de 1-octen-3-ila, a reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 4 h. Para a síntese do pentanoato e hexanoato de 1-octen-3-ila, a reação foi mantida por 24 h. A reação foi encerrada adicionando água destilada ao balão reacional (15 mL) e deixando agitar por 30 min à temperatura ambiente para acetato de octen-3-ila, para os demais ésteres na temperatura de 100°C.

Adicionou-se hexano (50 mL) ao balão reacional e transferiu-se para funil de separação. Após separação das fases, a orgânica foi lavada com água destilada (3 x 15 mL), solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M (2 x 15 mL), água destilada (2 x 15 mL), solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  10% (2 x 10 mL), água destilada (2 x 15 mL), solução saturada de  $\text{NaCl}$  (1 x 15 mL). A fase orgânica foi secada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e após filtração o solvente foi evaporado sob pressão reduzida.

Os produtos propionato, pentanoato e hexanoato de 1-octen-3-ila, foram obtidos e não houve necessidade de posterior purificação. Acetato e butirato de 1-octen-3-ila, foram purificados por cromatografia em coluna por gravidade, utilizando a mistura de solventes

hexano/acetato de etila (8/2), como eluente. Ao final obteve-se os produtos acetato, propionato, butirato, pentanoato e hexanoato de octen-3-ila. Os rendimentos reacionais foram de 88,7%, 89,9%, 57,6%, 89,2% e 99,5%, respectivamente. A pureza (aferido por CG-EM) dos produtos acetato, propionato, butirato, pentanoato e hexanoato de octen-3-ila, foram de >99%, >98%, >99%, 99 e >99%.

## 4.2 BIOENSAIOS

### 4.2.1 Teste de repelência de contato

Os testes de repelência foram realizados em parceria com pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), sob coordenação da Pesquisadora Rosemary Aparecida Roque.

Seis voluntários maiores de 18 anos, de ambos os sexos, participaram do estudo, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. Todos os voluntários foram avaliados 24 horas antes do início dos testes, quanto a possíveis reações alérgicas. Sendo todos aptos a participar dos testes, sem nenhuma reação alérgica dos seis derivados e também do repelente comercial (25% DEET), que foi utilizado como controle do estudo. A avaliação foi realizada em duplo cego, ou seja, o aplicador e o pesquisador responsável pelas avaliações desconheciam a composição de cada derivado avaliado.

Não foram incluídos neste estudo crianças, gestantes, ou pessoas que possuem alergias a picadas de insetos. Também foram excluídos os voluntários que apresentaram sintomas gripais no dia do teste ou alergias decorrentes dos derivados e do repelente comercial (DEET 25%).

#### 4.2.1.1 Criação e manutenção do mosquito *Ae. aegypti* em condições de laboratório

A criação e manutenção dos mosquitos foi realizada conforme o Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Malária e Dengue (LMD) do INPA. As fêmeas de *Ae. aegypti* utilizadas neste estudo foram obtidas da colônia mantida no LMD, em condições controladas de temperatura (26 – 28°C), umidade (70 a 80%) e fotoperíodo (12 L:12 D). Os mosquitos adultos (machos e fêmeas) foram mantidos em gaiolas cilíndricas de papelão, devidamente identificadas, com cerca de 300 mosquitos, alimentados apenas com solução de sacarose (10%). A solução é colocada no interior da gaiola, através de um frasco Erlenmeyer contendo um “pavio” confeccionado de algodão e gazes e todas as fêmeas utilizadas nos testes não realizaram repasto sanguíneo.

#### 4.2.1.2 Estimativa do tempo de proteção completa

O estudo seguiu o protocolo desenvolvido pela World Health Organization-WHO (2009), para testes de eficácia de repelentes de mosquitos em humanos. Todos derivados avaliados, estavam codificados, impossibilitando suas identificações. O repelente comercial utilizado como controle do experimento, teve sua quantidade aplicada de acordo com as orientações do fabricante e aplicada na mão direita, no pulso, torso, palma e dedos da mão. Já os seis derivados repelente a serem testados, foram diluídos em Etanol PA, sendo 100  $\mu$ L do derivado de octenol em 900  $\mu$ L de Etanol PA, totalizando 1 mL, aplicado na mão esquerda, no pulso, torso, palma, dedos da mão de cada voluntário, sendo aguardado cinco minutos para total evaporação. Antes do início dos testes, os voluntários tiveram suas mãos e antebraços higienizados com água e detergente neutro e secos com papel toalha. Além disso todos utilizaram jaleco durante as avaliações, permanecendo apenas com as mãos expostas. Duas gaiolas foram utilizadas, sendo uma gaiola controle e outra teste, contendo em cada uma delas, 30 fêmeas de *Ae. aegypti*.

O Experimento consistiu em inserir o braço tratado com o repelente a ser testado na gaiola apropriada e expô-lo por 3 minutos, como exemplificado na Figura 13, para determinar a atividade de aterrissagem e/ou sondagem. Em seguida, o braço com DEET aplicado foi exposto para determinar a atividade de aterrissagem e/ou sondagem. Este procedimento foi repetido em intervalos de 90 minutos e foi usado consistentemente ao longo do experimento. A ocorrência de uma aterrissagem e/ou sondagem em um intervalo de teste de 3 minutos concluiu o teste para aquela dose de repelente. O tempo de proteção completo foi calculado como o número de minutos decorridos entre o momento da aplicação do repelente e a primeira aterrissagem e/ou sondagem de mosquito.

Figura 13. Posicionamento da mão na gaiola durante os testes realizados.

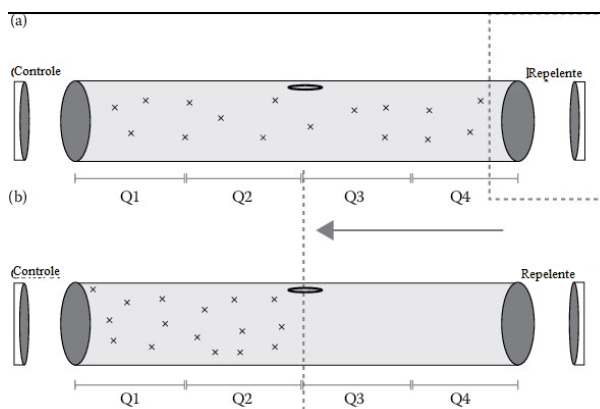


#### 4.2.2 Teste de repelência espacial

Os compostos derivados de (S)-lactato de etila e (R)-lactato de etila (Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila e Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila) foram enviados para realização do teste de repelência espacial, para o Laboratório de Toxicologia de Pesticidas da Iowa State University, com a coordenação do professor Dr. Joel R. Coats.

Neste ensaio de repelência de mosquitos, foi utilizada câmara de repelência de ar estático (Figura 14). Este ensaio foi realizado com adição de 1 mL de solução da formulação testada em papel filtro de 90 mm, que foram deixados secar por 5 minutos. O papel filtro tratado foi colocado sobre uma extremidade da câmara, sendo esta extremidade fechada com uma placa de Petri. Um papel filtro não tratado foi adicionado à outra extremidade do tubo, sendo tampado da mesma maneira. Fita adesiva foi então usada para vedar a câmara (fixando as placas de Petri nas extremidades da câmara). Os mosquitos *Culex pipiens* fêmea, não alimentados, foram então adicionados ao centro da câmara, e um cronômetro foi iniciado. Ao longo de 2 horas, a câmara foi observada em diferentes momentos, e a distribuição dos mosquitos ao longo da câmara é registrada. Em seguida, calculou-se um valor de repelência em porcentagem para cada composto em cada ponto de observação.

Figura 14. Aparelho de repelência de ar estático



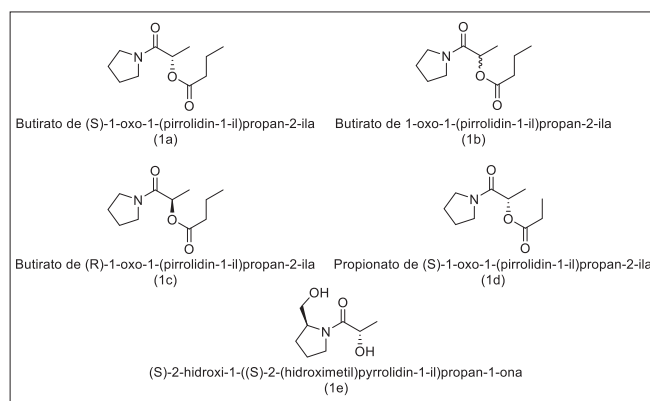
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RESULTADOS DOS BIOENSAIOS DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO ÁCIDO LÁTICO

O trabalho com os repelentes derivados do ácido lático, desenvolvido e apresentado nesta tese, se deu como uma continuação da pesquisa desenvolvida por BAIÁK (2020). O trabalho anteriormente realizado, partiu da síntese de alguns compostos contendo as funcionalidades éster e amida, derivadas do ácido lático, os quais tiveram suas atividades de repelência frente ao mosquito *Ae. aegypti* avaliadas. A substância, selecionada para a continuidade da pesquisa, o butirato de pirrolidinil (S)-lactamida (composto 1a), apresentou tempo de repelência comparada à da icaridina, como pode ser visualizado na Tabela 1, página 43, repelente de melhor eficiência encontrado no mercado mundial. O efeito do estereocentro presente no butirato de pirrolidinil (S)-lactamida (1a), foi parcialmente investigado e, a priori, a mistura racêmica (1b) mostrou atividade pouco inferior à apresentada pelo estereoisômero de maior abundância natural, o estereoisômero S (Tabela 1, página 43). Ressalta-se que esta pesquisa, devido à importante inovação na tecnologia de repelentes, foi protegida sob patente (MARQUES et al. (2021)).

Para a continuidade desta pesquisa, resolveu-se investigar o efeito do estereocentro, sob o tempo de repelência de butirato de pirrolidinil (S)-lactamida (1a) e butirato de pirrolidinil (R)-lactamida (1c), partindo-se dos reagentes enantiomericamente puros, (S)-lactato de etila (derivado de abundância natural) e (R)-lactato de etila, chegando as substâncias repelentes, utilizando as metodologias descritas na sessão 4.1.1. Outras estruturas químicas também foram sintetizadas, apresentadas na Figura 15, como o derivado com 3 carbonos na porção éster da estrutura química (1d) e derivado oriundo da amidação do (S)-lactato de etila e prolinol (1e), utilizando as metodologias das sessões 4.1.2 e 4.1.3, respectivamente.

Figura 15. Compostos com estrutura química baseada no ácido lático sintetizados





Os compostos 1a, 1d e 1e, foram enviados para o INPA. A pesquisa para determinar a repelência de contato destes derivados já foram realizados e podem ser observados na Tabela 1. O derivado com estereocentro *R* (1c), será determinada posteriormente em interação com o INPA.

Tabela 1. Tempo de repelência frente ao *Ae. aegypti* dos compostos derivados do ácido láctico.

Estrutura química	Nome	$\alpha_d^{20}$ (50 mg·mL <sup>-1</sup> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Rendimento (%)	Repelência (min)
	Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a)	-14,9	63	>720*
	Butirato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila* (1b)	0*	62*	600*
	Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c)	+14,4	50	?
	Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d)	-13,1	60	285-355**
	(S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pyrrolidin-1-il)propan-1-ona (1e)	-99,4	52,5	0**

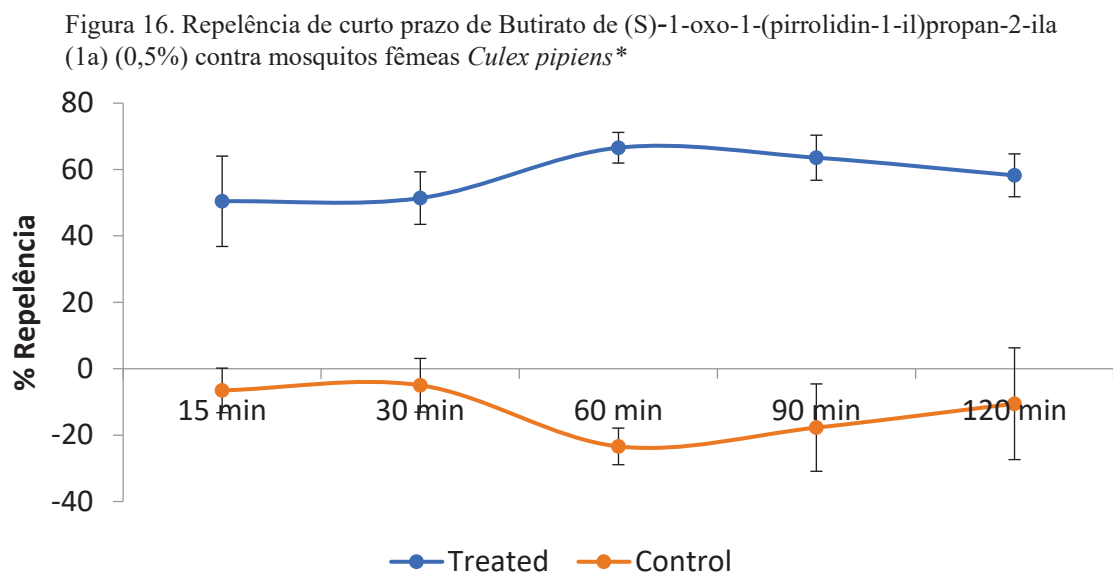
\*Fonte: BAIK (2020);

\*\*Testado no INPA;

O repelente comercial (25% DEET) utilizado como controle do estudo, demonstrou eficácia, ou seja, atividade repelente em todos os voluntários, o tempo de proteção conferida pelo repelente comercial (DEET 25%) alcançou seis a dez horas. Após isso, o comportamento de hematofagia das fêmeas de *Ae. aegypti* e os pousos nas mãos foram observados frequentemente. O derivado 1d, demonstrou bom tempo de repelência, alcançando de 285-355min, quase 6h de proteção contra as picadas das fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*, utilizando 3 voluntários para o teste de repelência. Assim como com o DEET 25%, decorrido este tempo, o comportamento de hematofagia das fêmeas de *Ae. aegypti* e os pousos nas mãos foram observados frequentemente. O composto 1e, falhou já na primeira avaliação, não apresentando atividade de repelência, fato observado durante três horas de

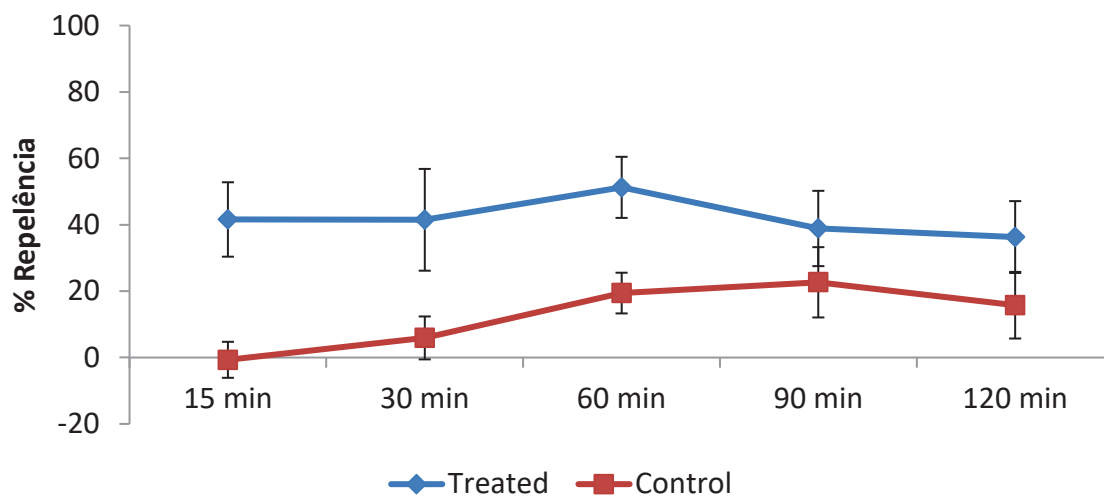
avaliação, ou seja, três repetições. Fato que ocasionou a suspensão e o término dos testes com derivado 1e. Diante disso, não houve a necessidade de testar os demais voluntários.

Os experimentos de repelência espacial foram conduzidos com dois períodos totais de avaliação, sendo de 2h (curto prazo) e 5h, os resultados podem ser melhor visualizados nas figuras: Figura 16 à Figura 22. Os experimentos de curto prazo foram conduzidos com concentrações de 0,5% e 1% para ambos os compostos (1a e 1c). Nos testes com 0,5%, o 1c apresentou a maior repelência, com uma média de 75% ao longo de duas horas, enquanto a repelência média para o 1a foi de 58%. Quando a concentração da formulação foi aumentada para 1%, o 1c continuou a ter a maior repelência, com uma média de 67%, e o 1a teve 41%. Nos testes de repelência de 5h com o 1c, a solução com concentração de 0,5% não apresentou repelência, então uma nova formulação foi feita com 2%, e a média da repelência foi de 61%, evidenciando um bom tempo de retenção do produto. Além disso, foram realizados dois testes aumentando a concentração com o 1a para 2%. Na repelência de curto prazo, a média foi de 82%, e a média para a repelência após 5 horas foi de 77%, mostrando que este produto também tem um bom efeito repelente espacial, apenas precisa ser usado com concentrações mais elevadas.



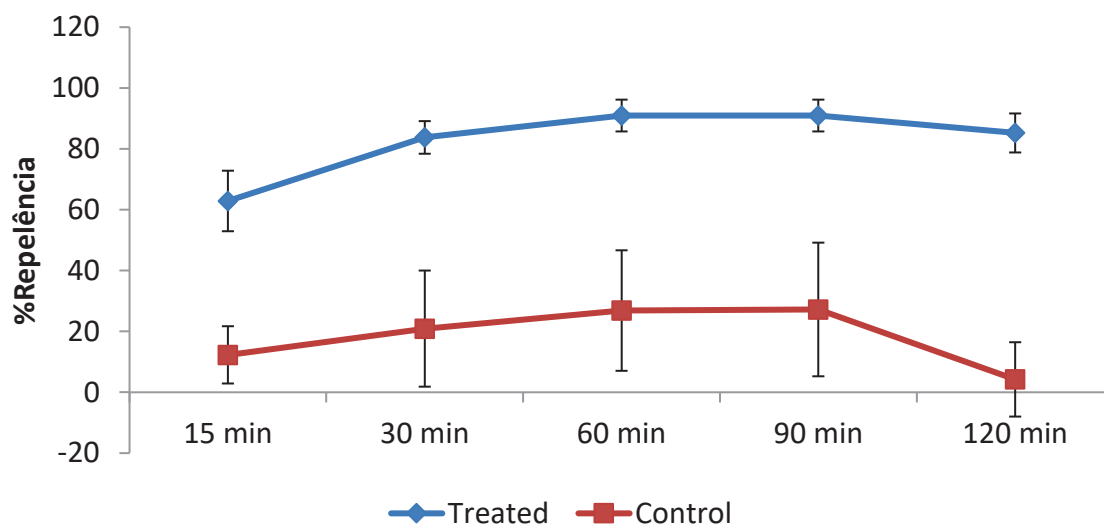
\*Esta figura mostra a repelência associada à aplicação da formulação Repelente 1a concentrada a 0,5% e Acetona (Controle) em um papel de filtro de 90 mm em fêmeas de mosquitos *Culex pipiens* durante 2 horas.

Figura 17. Repelência de curto prazo de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a) (1%) contra mosquitos fêmeas *Culex pipiens*\*



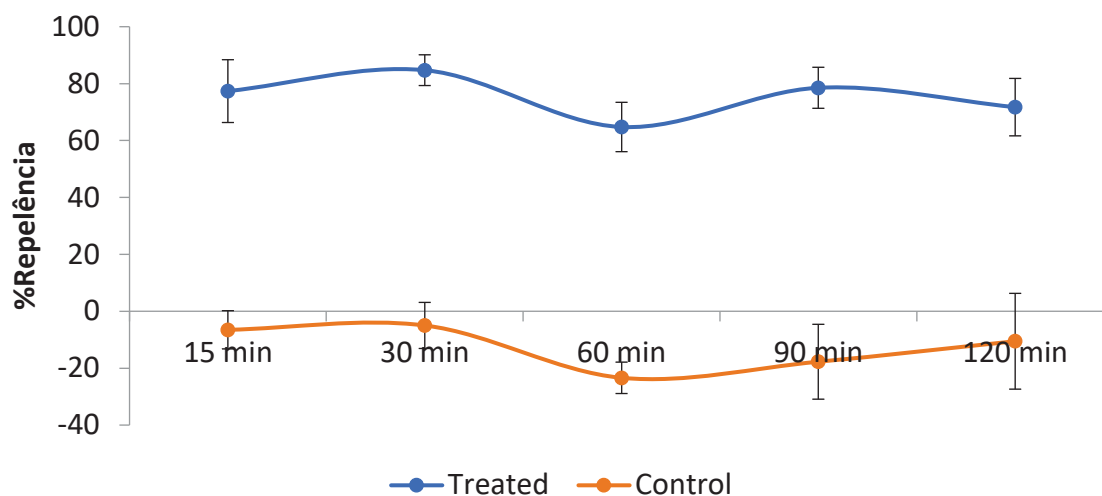
\*Esta figura mostra a repelência associada à aplicação da formulação Repelente 1a concentrada a 1% e Acetona (Controle) em um papel de filtro de 90 mm em fêmeas de mosquitos *Culex pipiens* durante 2 horas.

Figura 18. Repelência de curto prazo de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a) (2%) contra mosquitos fêmeas *Culex pipiens*\*



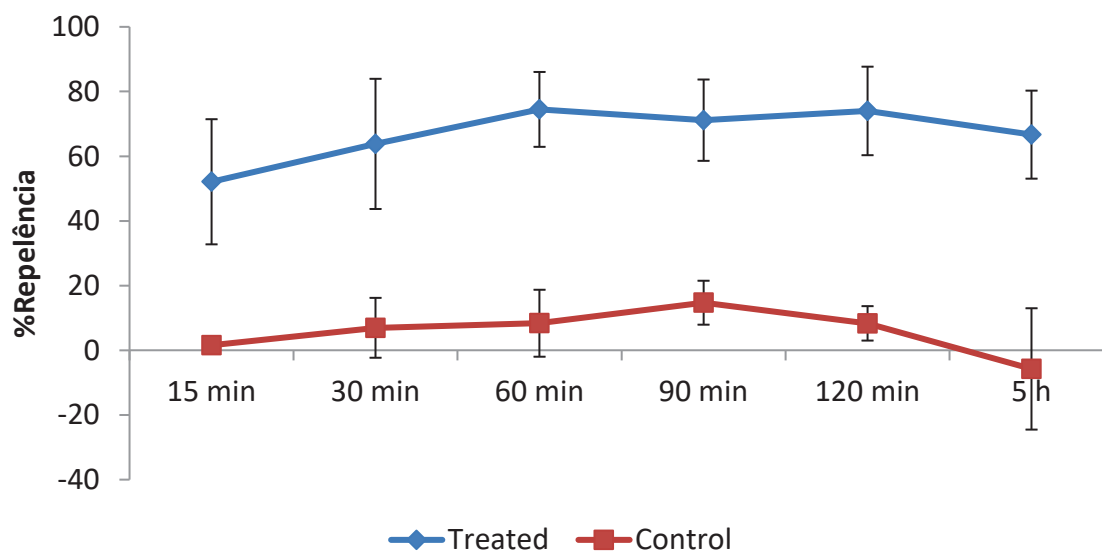
\*Esta figura mostra a repelência associada à aplicação da formulação Repelente 1a concentrada a 2% e Acetona (Controle) em um papel de filtro de 90 mm em fêmeas de mosquitos *Culex pipiens* durante 2 horas.

Figura 19. Repelência de curto prazo de Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c) (0,5%) contra mosquitos fêmeas *Culex pipiens*\*



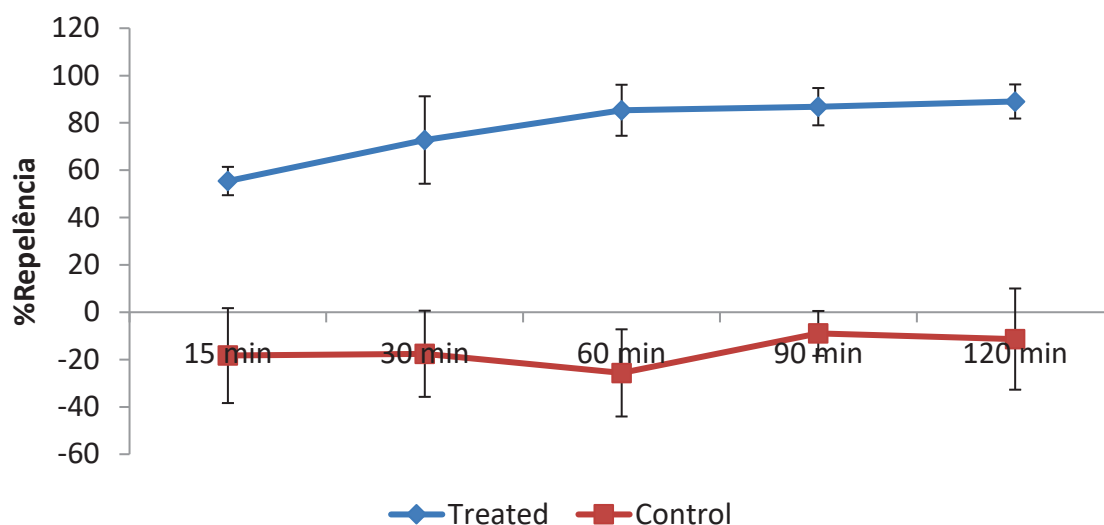
\*Esta figura mostra a repelência associada à aplicação da formulação 1c Repelente concentrada a 0,5% e Acetona (Controle) em papel filtro de 90 mm em fêmeas de mosquitos *Culex pipiens* durante 2 horas.

Figura 20. Repelência de curto prazo de Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c) (1%) contra mosquitos fêmeas *Culex pipiens*\*



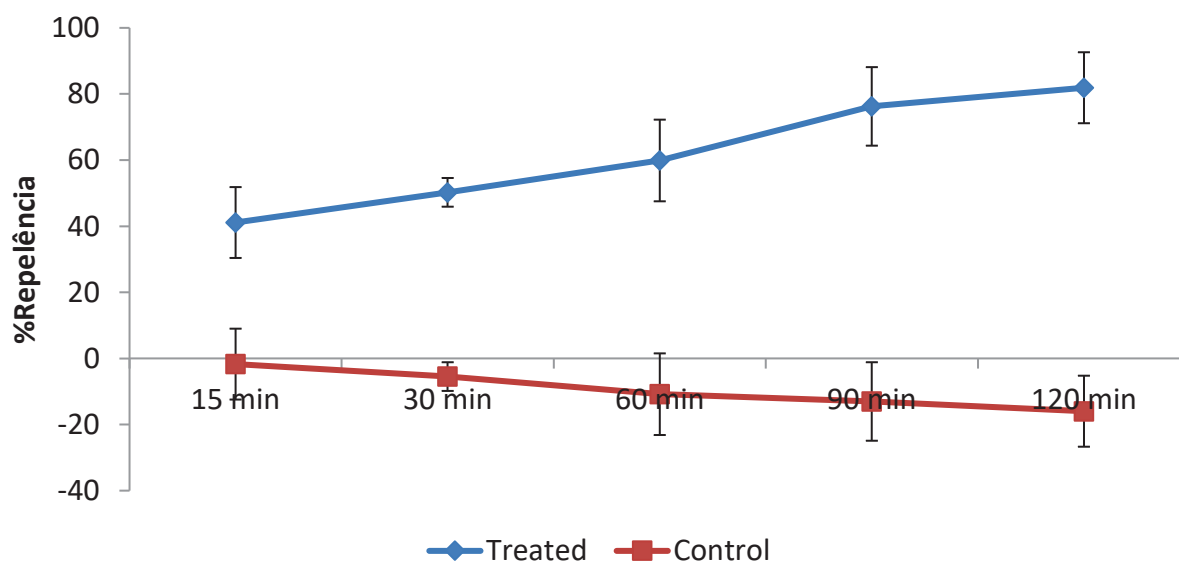
\*Esta figura mostra a repelência associada à aplicação da formulação Repelente 1c concentrada a 1% e Acetona (Controle) em papel filtro de 90 mm em fêmeas de mosquitos *Culex pipiens* durante 2 horas.

Figura 21. Repelência de cinco horas de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a) (2%) contra mosquitos fêmeas *Culex pipiens*\*



\*Esta figura exhibe a repelência associada à aplicação da formulação de Repelente 1a concentrada a 2% e Acetona (Controle) em papel de filtro de 90 mm em mosquitos fêmeas *Culex pipiens*, cinco horas após a aplicação e ao longo de 2 horas.

Figura 22. Repelência de cinco horas de Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (2%) contra mosquitos fêmeas *Culex pipiens*\*



\*Esta figura exhibe a repelência associada à aplicação da formulação de Repelente 1c concentrada a 2% e Acetona (Controle) em papel de filtro de 90 mm em mosquitos fêmeas *Culex pipiens*, cinco horas após a aplicação e ao longo de 2 horas.

O composto, Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a), conforme evidenciado na Tabela 1, página 43, manifestou uma notável capacidade de repelência, abrangendo tanto a repelência por contato quanto a repelência espacial, como exemplificado na Figura 18 e Figura 21. Em virtude de sua síntese de baixa complexidade, estabilidade

química estrutural, solubilidade em água e a reduzida probabilidade de exibir toxicidade, emerge a perspectiva de que esta substância possa ser considerada como um potencial princípio ativo em formulações comerciais de produtos com ação repelente.

O processo de registro de um novo princípio ativo perante a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) no território brasileiro se caracteriza como um procedimento de natureza complexa, compreendendo múltiplas etapas. Inicialmente, é necessário a realização da coleta de documentação, abrangendo a apresentação de dados relativos ao princípio ativo, informações concernentes à sua fabricação, bem como a submissão de estudos toxicológicos e farmacológicos, entre outros elementos indispensáveis para o pleito do registro.

Visando o registro na ANVISA, primeiramente o composto 1a, foi testado quanto a sua segurança ambiental. Para tal, realizou-se o teste de toxicidade aquática aguda, com a finalidade de se determinar o perigo a ambientes aquáticos. A substância repelente foi avaliada de acordo com os métodos de teste OECD TG 249 (peixes) e ABNT NBR nº 12648 (algas). Ambos os testes foram conduzidos no Laboratório de (Eco)Toxicologia *In Vitro*, Departamento de Genética/UFPR, em parceria com a Profa. Daniela Morais Leme.

O método OECD TG 249, tem como finalidade determinar o potencial de substâncias químicas em causar toxicidade aguda em peixes empregando células de brânquias de truta arco-íris (linhagem celular RTgill-W1). Brevemente, células RTgill-W1 foram expostas (24 h) a exposição em 6 concentrações diferentes do repelente (1000 – 31,25 mg/mL) e quantificações de viabilidade celular foram realizadas por três marcadores fluorescentes diferentes, que cobrem diferentes mecanismos de ação de citotoxicidade. Os dados gerados por este teste enquadram a nova substância repelente com baixa toxicidade aguda para peixes segundo Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS), da Organização das Nações Unidas.

Em relação ao método ABNT NBR nº 12648, culturas algácea foram expostas (72 h) a diferentes concentrações da substância repelente (1000 – 31,25 mg/mL), sendo posteriormente avaliadas em leitor de microplacas quanto a absorbância (684 nm) para determinação da biomassa algácea final. Resultados preliminares indicam ausência de toxicidade em algas, porém, ainda estão sendo determinados valores de concentração de efeito não observado (CENO) e concentração de efeito observado (CEO), para adequada verificação de enquadramento nas categorias de toxicidade aquática.

Ainda em parceria com o Laboratório de (Eco)Toxicologia *In Vitro*, coordenado pela Profa. Daniela Morais Leme, foi investigado o potencial da substância repelente em causar

irritação na pele pelo método de teste OECD TG 439, que emprega Epiderme Humana Reconstituída In Vitro (RHE). Brevemente, a substância repelente foi aplicada topicamente no modelo SkinVitro-RHE, segundo o método de teste validado SkinEthic RHE (OECD TG 439). Após tempo de exposição (42 min exposição seguido de 42 h de recuperação), viabilidade tecidual foi determinada pelo teste do MTT. Substâncias que apresentam viabilidade  $> 50\%$  em relação ao controle negativo são consideradas não irritantes e substâncias com viabilidade  $\leq 50\%$  são classificadas como irritantes. Os resultados gerados mostraram que a nova substância repelente apresenta viabilidade tecidual superior a 50% em relação ao CN, assim, recebendo a classificação de não irritante de pele.

Adicionalmente, em consonância com a perspectiva de submissão do registro junto a uma agência reguladora, uma considerável quantidade de princípio ativo tem sido encaminhada para a realização de ensaios toxicológicos nas instalações do Laboratório de Análises Ecolyser, devidamente credenciado pela ANVISA. Os desfechos deste conjunto de experimentações serão empregados como subsídios para a composição do dossiê técnico referente ao referido princípio ativo, requisito indispensável para a formalização do pedido de registro junto à ANVISA. No escopo deste laboratório, uma série de ensaios toxicológicos é executada, abrangendo, dentre outros, avaliações de citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade. Até o presente momento, constata-se que os resultados obtidos para este composto têm se mostrado favoráveis.

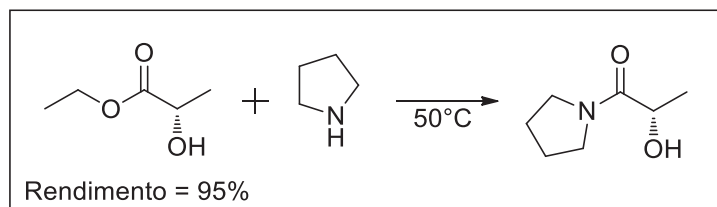
Conseqüentemente, o composto 1a ostenta substancial probabilidade de ascender à condição de produto comercial, figurando como uma interessante alternativa aos mais destacados agentes repelentes disponíveis no cenário global. Tal perspectiva, ancorada em tecnologia e produção de origem nacional, mitigaria a necessidade de importação de insumos primários, culminando não apenas em vantagens substanciais no contexto do combate ao mosquito vetor da dengue, mas também engendrando perspectivas de fomento socioeconômico para a nação brasileira.

A concepção da estabilidade do repelente 1a originou-se de um procedimento rápido de avaliação, no qual sua formulação sob a forma de gel manifestou-se como sendo substancialmente inalterada ao longo de um período temporal superior a seis meses. Notavelmente, o gel encontra-se acondicionado em um recipiente de natureza translúcida, exposto à condição ambiente em termos de temperatura e luminosidade, e durante esse período não evidenciou a presença de quaisquer substâncias de degradação associadas ao princípio ativo.



## 5.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO COMPOSTOS DERIVADOS DO ÁCIDO LÁTICO

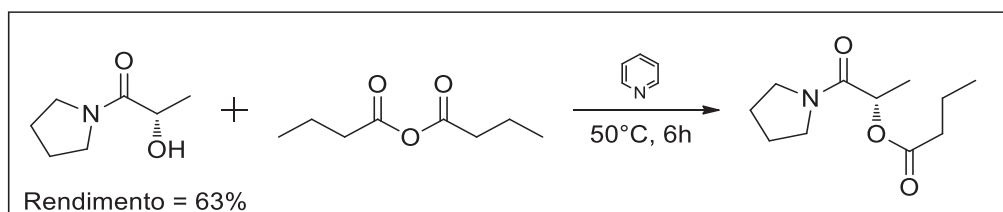
Para a síntese de 1a, iniciou-se com a formação de uma amida, a partir da reação entre (S)-lactato de etila e pirrolidina.



Esta síntese, foi de fácil reprodução, chegando a altos rendimentos, tanto para Pirrolidinil (R)-lactamida quanto para Pirrolidinil (S)-lactamida (95 e 93%, respectivamente). Os dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  gerados para Pirrolidinil (S)-lactamida estão descritos abaixo. Os dados espectrais de RMN de  $^1\text{H}$  para Pirrolidinil (R)-lactamida não serão exibidos aqui, por tratar-se de substâncias com relação enantiomérica os dados para estas substâncias foram os mesmos.

(S)-2-hidroxi-1-(pirrolidin-1-il)propan-1-ona; Rendimento = 93%.
RMN de $^1\text{H}$ (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 4,31 (q, $J = 6,7$ Hz, 1H), 3,45 (m, 4H), 1,92 (m, 4H), 1,34 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).
RMN de $^{13}\text{C}$ (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 173,67, 65,66, 46,40, 46,11, 26,21, 24,04, 20,75.

A etapa de acilação com anidrido butírico gerou maior dificuldade, visto pelo baixo rendimento reacional (63 e 50%, respectivamente).

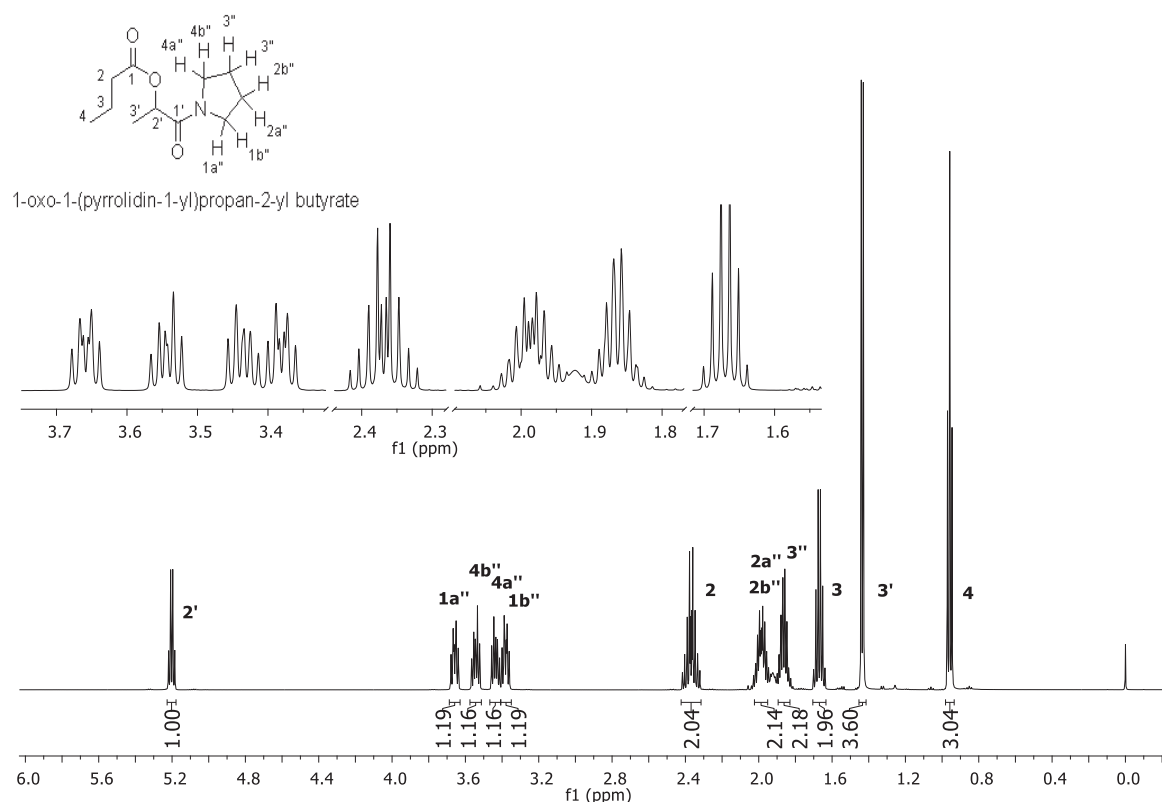


Embora a análise por meio da placa de cromatografia em camada delgada (CCD) tenha revelado um consumo integral dos reagentes empregados, os rendimentos substancialmente reduzidos não se mostraram congruentes com tal observação. Em virtude dessa observação, procedeu-se a realização de testes adicionais, culminando na identificação de um fenômeno de miscibilidade da substância em questão com a água. Tal descoberta suscitou a hipótese de que uma parcela significativa do produto poderia estar se perdendo

durante as fases de extração e lavagem da fase orgânica, bem como nos procedimentos destinados à eliminação do anidrido butírico residual, o qual, igualmente, requer o uso de água como componente reagente.

Para a caracterização da substância repelente 1a, foram utilizadas técnicas de ressonância magnética nuclear, unidimensional, como aquisição dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , e bidimensional, como as técnicas de COSY, HSQC e HMBC. A Figura 23, expõem o espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , com expansão da região entre 1,6-3,7 ppm, realizado em espectrômetro que opera a 14,1 Tesla (600 MHz).

Figura 23. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a), com expansão da região entre 1,6-3,7ppm.



A caracterização foi iniciada ao observar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da estrutura química da substância, em que, o sinal com maior deslocamento, refere-se ao sinal do hidrogênio 2', H2' (segundo numeração da Figura 23), por estar ligado a um carbono que faz ligação com o oxigênio, fazendo com que a nuvem eletrônica seja deslocada no sentido do oxigênio, o elemento mais eletronegativo, tornando com isso este hidrogênio mais desprotegido. A sua multiplicidade e a integração da área dos sinais também corrobora com esta posição para o H2', por ser um quarteto, confirmando ser vicinal a um grupo metila e possuir uma integral relativa a 1 hidrogênio.

O H3', pertencente ao mesmo sistema de spins da porção oriunda do ácido láctico, assim como o H2', somente poderia ser um duplete com integração referente a 3 hidrogênios, sendo este sinal encontrado em 1,44 ppm. Esta informação foi confirmada pelas técnicas bidimensionais, como COSY, que mostra os acoplamentos homonucleares entre hidrogênios dentro de um mesmo sistema de spins e HMBC, que mostra os acoplamentos heteronucleares a longa distância (distância de 2 e 3 ligações, J<sub>2</sub> e J<sub>3</sub>, respectivamente). Os hidrogênios e carbonos ligados diretamente, foram atribuídos com auxílio da técnica HSQC, outra metodologia bidimensional.

Da mesma forma como ocorreu para a atribuição dos sinais da porção oriunda do ácido láctico, foram realizadas as atribuições das porções pertencentes ao grupamento éster e pirrolidina. Na Tabela 2, encontram-se todos os sinais dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e RMN de <sup>13</sup>C atribuídos aos elementos em suas respectivas posições, bem como, os acoplamentos a longa distância, que servem como embasamento para a elucidação da estrutura química da substância repelente 1a.

Tabela 2. Atribuições de sinais de RMN para <sup>1</sup>H's e <sup>13</sup>C's para Butirato de Pirrolidinil (S)-Lactamida (1a)

Posição	δ <sub>H</sub> (ppm)	δ <sub>C</sub> (ppm)	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>
<b>1</b>	-	173,43	-
<b>2<sup>a</sup></b>	2,39 (dt, J = 15,0, 7,4 Hz, 1H);	35,82	13,64, 18,3, 173,43;
<b>2<sup>b</sup></b>	2,35 (dt, J = 15,8, 7,5 Hz, 1H);	35,82	13,64, 18,3, 173,43;
<b>3</b>	1,67 (sest, J = 7,4 Hz, 2H);	18,30	13,64, 35,82, 173,4;
<b>4</b>	0,96 (t, J = 7,4 Hz, 3H);	13,64	18,30, 35,82;
<b>1'</b>	-	168,95	-
<b>2'</b>	5,20 (q, J = 6,75Hz, 1H);	68,12	16,52, 168,95, 173,43;
<b>3'</b>	1,44 (d, J = 6,8 Hz, 3H);	16,52	68,12, 168,95;
<b>1a''</b>	3,66 (dt, J = 9,7, 6,9Hz, 1H);	46,06	23,98, 26,19, 46,09, 168,95;
<b>1b''</b>	3,38 (dt, J = 9,7, 6,9 Hz, 1H);	46,06	23,98, 26,19, 46,09, 168,95;
<b>2a''</b>	2,01 (dqui, J = 13,6, 6,8 Hz, 1H);	26,19	23,98, 46,09;
<b>2b''</b>	1,97 (dqui, J = 13,6, 6,8 Hz, 1H);	26,19	23,98, 46,09;
<b>3''</b>	1,86 (m, 2H);	23,98	26,19, 46,09;
<b>4a''</b>	3,43 (dt, J = 12,01, 6,9, 1H);	46,09	23,98, 26,19, 46,06, 168,95;
<b>4b''</b>	3,54 (dt, J = 12,07, 6,9 Hz, 1H);	46,09	23,98, 26,19, 46,06, 168,95;

Resumidamente, os dados espectrais de RMN gerados para 1a estão descritos abaixo.

Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a); Rendimento = 63%

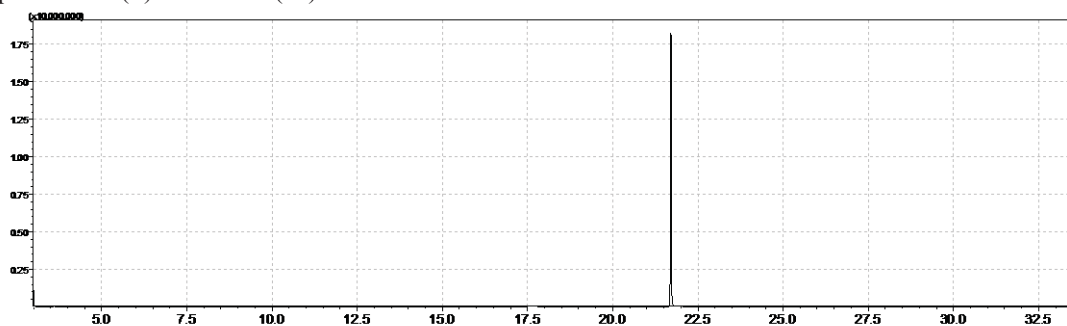
<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,20 (q, J = 6,75Hz, 1H); 3,66 (dt, J = 9,7, 6,9Hz, 1H); 3,54 (dt, J = 12,07, 6,9 Hz, 1H); 3,43 (dt, J = 12,01, 6,9, 1H), 3,38 (dt, J = 9,7, 6,9 Hz, 1H); 2,39 (dt, J = 15,0,

7,4 Hz, 1H), 2,35 (dt, J = 15,8, 7,5 Hz, 1H); 2,01 (dp, J = 13,6, 6,8 Hz, 1H), 1,97 (dp, J = 13,6, 6,8 Hz, 1H); 1,86 (m, 2H); 1,67 (h, J = 7,4 Hz, 2H); 1,44 (d, J = 6,8 Hz, 3H); 0,96 (t, J = 7,4 Hz, 3H).
<sup>13</sup> C NMR (151 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 173,43, 168,95, 68,12, 46,09, 46,06, 35,82, 26,19, 23,98, 18,30, 16,52, 13,64.
EM-EI m/z (intensidade relativa) 98,10 (100,0), 55,05 (32,6), 71,05 (30,5), 43,10 (21,9), 125,10 (20,6), 70,10 (14,8), 97,10 (11,2), 56,05 (9,8), 41,10 (7,0), 99,10 (6,2).

Os dados de RMN para esta substância foram os mesmos que o apresentado pelo Butirato de pirrolidinil (R)-lactamida (1c), por tanto não serão exibidos.

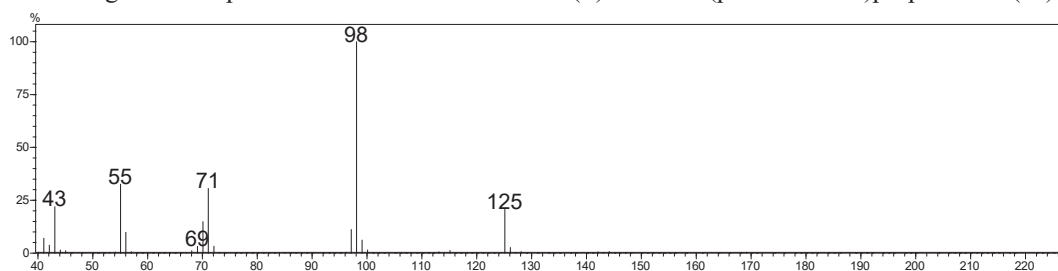
A Figura 24, apresenta um cromatograma obtido para aferir a pureza da amostra, antes de serem enviadas para análises de RMN. Pode-se notar no cromatograma a alta pureza da amostra.

Figura 24. Cromatograma realizado em CG-EM (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com coluna capilar DB5-MS (Agilent technology, Santa Clara, EUA) com produto da reação de síntese de Butirato de pirrolidinil (S)-lactamida (1a).



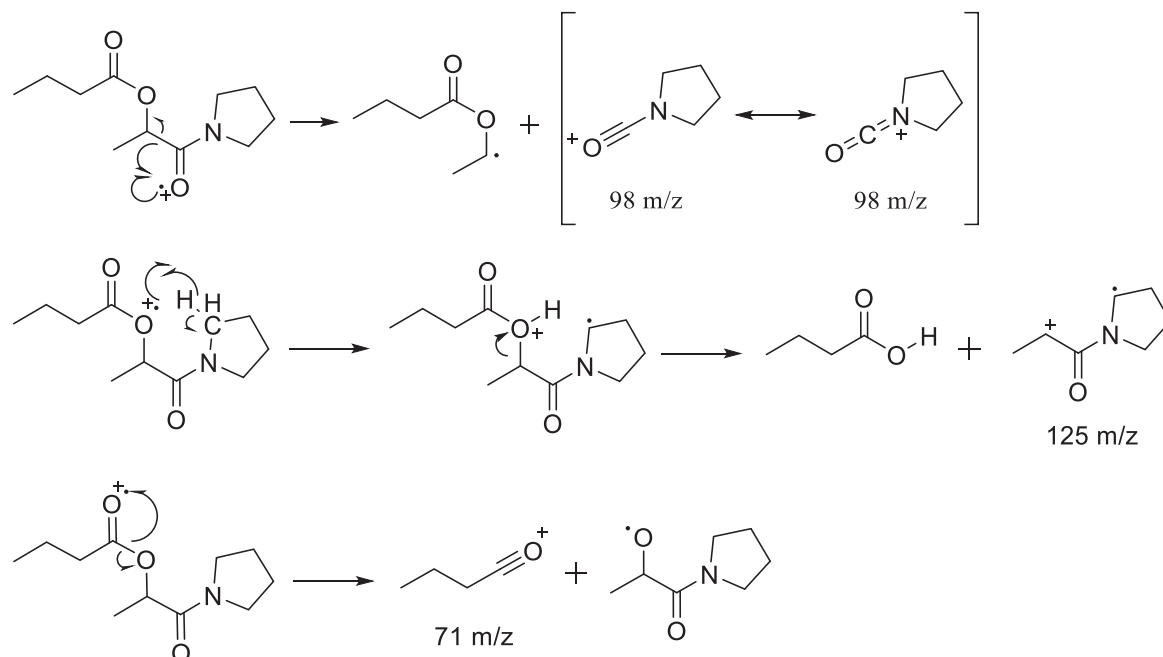
Além da espectroscopia de RMN, utilizou-se a espectrometria de massas, por impacto de elétrons, para caracterizar as estruturas químicas dos repelentes. Para 1a, o íon molecular ( $M^+$   $m/z = 213$ ), não pode ser apreciado no espectro de massas, como pode ser observado na Figura 25.

Figura 25. Espectro de massas de Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a)



O pico base trata-se do fragmento com  $m/z = 98$ , oriundo de formação de cátion acílio, fragmentação comum para ésteres, somado à estabilização da carga elétrica devido a presença de contribuintes de ressonância, assim como exemplificado na Figura 26. O íon fragmento  $m/z = 125$ , vem de perda de molécula neutra e o fragmento  $m/z = 71$ , da formação de outro possível íon acílio, que ocorre na porção éster (Figura 26).

Figura 26. Proposta de fragmentação para os principais íon fragmentos de butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a)



O mesmo procedimento foi utilizado para sintetizar Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c), bem como, aferir a pureza do produto final. Ambos enantiômeros, como esperado, apresentaram os mesmos dados espectrais, diferindo apenas na atividade óptica. O ângulo de rotação do plano de luz polarizada para Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1a) foi  $[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = -14,9$  ( $50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) e para Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1c) foi  $[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = +14,4$  ( $50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

Os testes toxicológicos para 1a, realizados no Laboratório Ecolyser, demandaram quantidade substancial de princípio ativo, cerca de 1kg deve ser enviado para realização de todos os testes. A síntese desta quantidade de amostra, não é trivial. As características do composto trouxeram muitos desafios em relação a sua purificação em grande quantidade

A solubilidade em água descarta a possibilidade de purificação por extração líquido-líquido, a quantidade de composto a ser sintetizado, inviabiliza a possibilidade de purificação por coluna cromatográfica ou outro método cromatográfico. O composto também apresenta alto ponto de ebulição, em torno de  $270^\circ\text{C}$  (aferido de maneira indireta), levando a destilação sob vácuo como única e interessante possibilidade de purificação de 1a.

Inicialmente, não foi possível encontrar na no Departamento de Química da UFPR sistema de destilação adequado para a destilação de 1a sem causar a degradação da estrutura química, devido à alta temperatura atingida durante a destilação. Após algumas tentativas,

fez-se algumas intervenções no sistema de vácuo e após, a destilação a vácuo passou a ocorrer a cerca de 130°C no banho de óleo para pirrolidinil (S)-lactamida e a 140°C para 1a.

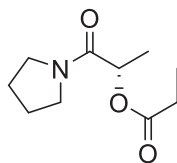
Posteriormente aos ajustes no sistema de vácuo, percebeu-se que, após a destilação não era possível separar por destilação a vácuo o intermediário pirrolidinil (S)-lactamida que dava origem ao produto 1a. Desta forma decidiu-se entender o tempo de reação e adicionar quantidades progressivas de anidrido butírico (reagentes e condições experimentais são as mesmas que apresentado na sessão 4.1.1, exceto pela quantidade em excesso de agente acilante e piridina) até que houvesse quantidade proporcionalmente menor de 1% de pirrolidinil (S)-lactamida no meio reacional, aferido por RMN de  $^1\text{H}$ , para só então submeter a purificação por destilação a vácuo.

Assim, o design experimental utilizado atualmente é repetir o procedimento experimental da sessão 4.1.1, porém adicionando quantidade progressivas de pirrolidina (cerca de 30% de excesso em 3 dias de reação), para gerar a amidação de lactado de etila até levar à formação de mais de 99% pirrolidinil (S)-lactamida. Essa mistura reacional é, primeiramente, submetida à destilação a vácuo em sistema de vácuo mais robusto, para retirar a maior parte do excesso de pirrolidina, e pequena parte de lactato de etila não reagido. Após esta etapa, a mistura é submetida a destilação a vácuo em sistema mais eficiente. Com pirrolidinil (S)-lactamida de pureza >99%, inicia-se a segunda etapa de síntese, para formação de 1a, repetindo o procedimento experimental da sessão 4.1.1, porém adicionando excesso de anidrido butírico (cerca de 70% de excesso em 6 dias de reação), para gerar a acilação de pirrolidinil (S)-lactamida até levar a formação de mais de 99% de 1a. Essa mistura reacional é então submetida à destilação a vácuo em sistema de vácuo mais robusto primeiramente, para retirar a maior parte da piridina e pequena parte do excesso de anidrido butírico. Após esta etapa, a mistura é submetida a destilação a vácuo em sistema mais eficiente, levando à obtenção de 1a com pureza >99%. Somente então, o composto de interesse apresenta pureza adequada para ser utilizado nos testes toxicológicos.

Além de 1a, procedeu-se à síntese do Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d), conforme representado na Figura 27. O protocolo de síntese e a subsequente caracterização desta substância assemelharam-se aos procedimentos previamente empregados para a obtenção do composto 1a, com execução de outro mecanismo de acilação, como exemplificado na Figura 28. Esta síntese foi empreendida com o intuito de completar a avaliação do impacto do tamanho do grupo éster na durabilidade da atividade repelente da substância em questão, uma vez que compostos análogos contendo

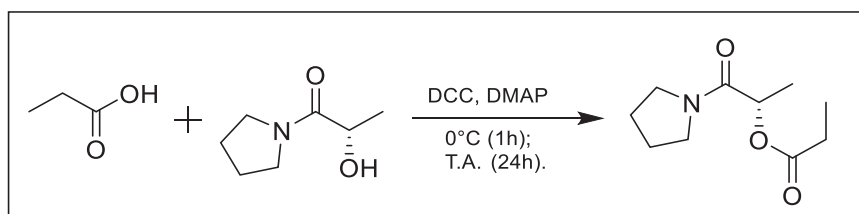
ésteres com 2, 4, 5 e 6 átomos de carbono já haviam sido previamente sintetizados e caracterizados e avaliados.

Figura 27. Estrutura química de Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-yl (1d)



Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-yl (1d)  
(propionato de pirrolidinil (S)-lactamida)

Figura 28. Processo de síntese de propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d)



O composto 1d foi caracterizado, seguindo os mesmos passos, que os apresentados para 1a. Os dados espectrais desta estrutura química estão descritos abaixo e os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e espectro de massas podem ser consultados em Anexo 1.

Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d); Rendimento = 60,03%;
RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,20 (q, J = 6,8 Hz, 1H), 3,67 (ddd, J = 9,8, 7,4, 6,4 Hz, 1H), 3,55 (dt, J = 12,0, 7,1 Hz, 1H), 3,43 (dt, J = 11,9, 6,9 Hz, 1H), 3,38 (ddd, J = 9,8, 7,1, 6,6 Hz, 1H), 2,44 (dq, J = 16,8, 7,6 Hz, 1H), 2,39 (dq, J = 16,7, 7,5 Hz, 1H), 1,99 (m, 2H), 1,86 (m, 2H), 1,44 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,15 (t, J = 7,6 Hz, 3H);
RMN de $^{13}\text{C}$ (151 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 174,24, 168,98, 68,20, 46,09, 46,06, 27,23, 26,19, 23,99, 16,52, 8,91;
EM-EI m/z (Intensidade relativa) 98,10 (100,0%), 55,05 (56,4%), 57,05 (51,6%), 70,10 (20,9%), 56,05 (20,1%), 125,10 (19,7%), 97,15 (9,4%), 43,05 (9,3%), 41,05 (7,7%), 99,10 (6,2%);

Outra substância, a (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e), estrutura química evidenciada na Figura 30, foi sintetizada, a partir das etapas descritas na Figura 29. Esta substância foi pensada, por ser derivada do ácido láctico, aliado à presença de duas hidroxilas livres na estrutura química, a qual faz paralelo a outras substâncias com atividade repelente, como é o caso de *p*-mentano-3,8-diol e 2-etil-1,3-hexanodiol, ilustrados na Figura 31, já usadas como repelente. O *p*-mentano-3,8-diol é bastante usado nos EUA e Europa, vendido comercialmente em spray (10% a 14% de princípio ativo) e apresenta



eficácia e duração do efeito repelente equivalente ao DEET (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2020).

Figura 29. Processo de síntese de 2-hydroxy-1-(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)propan-1-one (1e) em duas etapas.

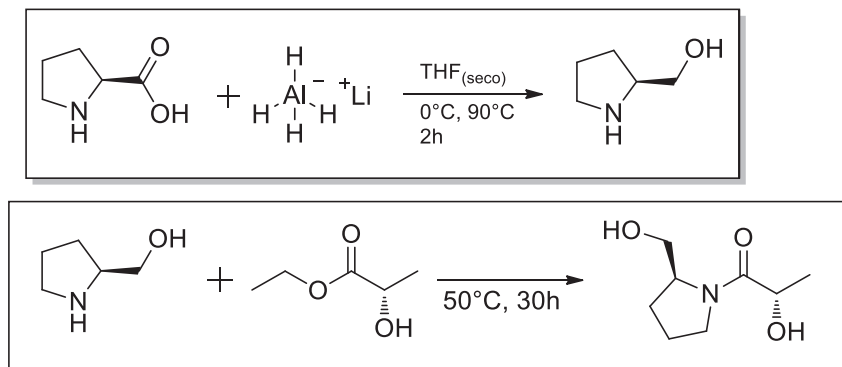
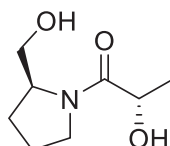
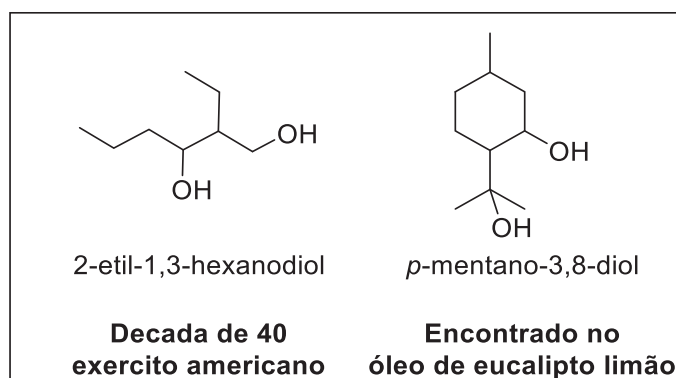


Figura 30. Estrutura química de 2-hydroxy-1-(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)propan-1-one (1e)



2-hydroxy-1-(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)propan-1-one (1e)

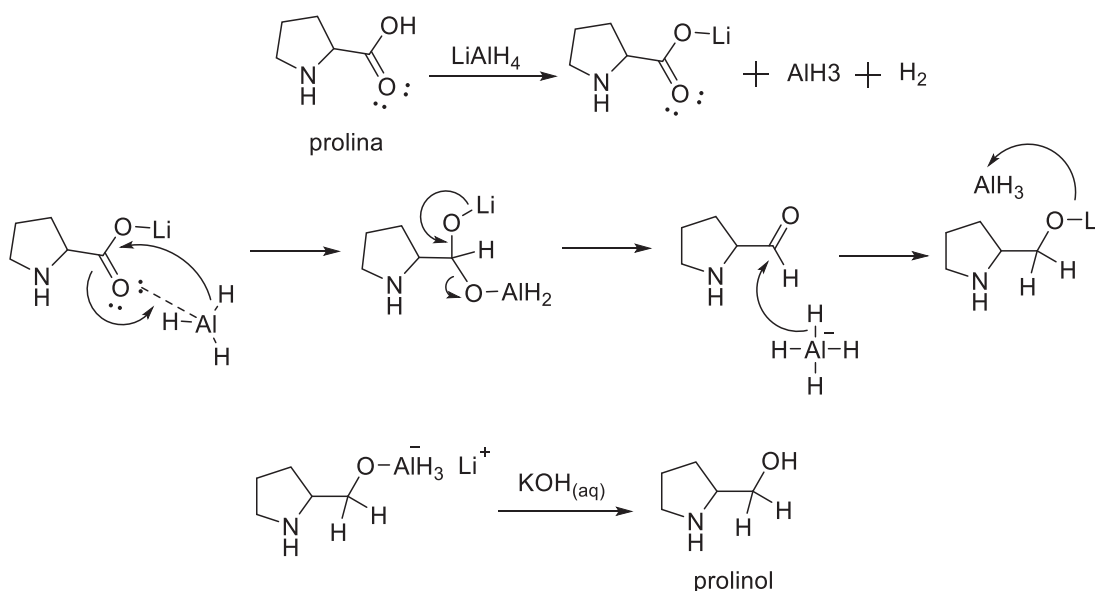
Figura 31. Semelhança química estrutural entre substância candidata e substâncias comprovadamente repelentes.



Além das semelhanças químicas estrutural entre estes repelentes, a substância foi pensada para ser sintetizada em apenas uma etapa reacional, podendo ser obtida a partir da reação de amidação do lactato de etila com prolinol, álcool que foi sintetizado a partir de (S)-prolina.

O prolinol, foi sintetizado a partir da redução do aminoácido (S)-prolina, utilizando hidreto de alumínio e lítio,  $\text{LiAlH}_4$  como agente redutor, a partir do mecanismo exposto na Figura 32. Na primeira etapa,  $\text{LiAlH}_4$  atua como base de bronsted-lowry, abstraindo H ácido da prolina, evoluindo  $\text{H}_2$ . A ligação com lítio, torna a carbonila mais eletrofílica, comparativamente ao éster correspondente, permitindo o ataque nucleofílico a carbonila, auxiliado pela ligação com a espécie de alumínio, transferindo hidreto e formando um aldeído. O aldeído na presença de  $\text{LiAlH}_4$ , aceita um hidreto e reduz a álcool primário. Na etapa final, o  $\text{KOH}$ , converte os metais da mistura em hidróxidos, terminando a reação e gerando prolinol como produto.

Figura 32. Mecanismo de redução de (S)-prolina para síntese de prolinol



O composto 1e foi caracterizado, seguindo os mesmos passos, que os apresentados para 1a. Os dados espectrais desta estrutura química estão descritos abaixo e os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e espectro de massas podem ser consultados em Anexo 1.

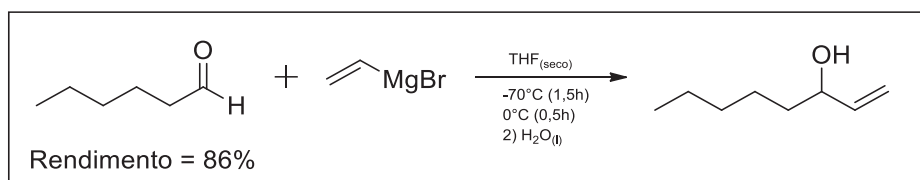
(S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e); Rendimento = 52,4%;
RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 4,36 (q, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,24 (qd, $J = 7,2, 3,2$ Hz, 1H), 3,70 (dd, $J = 11,5, 3,2$ Hz, 1H), 3,58 (m, 1H), 3,59 (dd, $J = 11,4, 7,1$ Hz, 1H), 3,36 (ddd, $J = 10,3, 8,0, 6,9$ Hz, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,99 (m, 1H), 1,87 (ddt, $J = 15,4, 12,5, 7,7$ Hz, 1H), 1,65 (ddt, $J = 12,5, 8,2, 6,8$ Hz, 1H), 1,37 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H);
RMN de $^{13}\text{C}$ (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 175,86, 66,31, 65,70, 61,57, 47,36, 27,68, 24,63, 20,83,
EM-EI, m/z (Intensidade relativa) 70,10 (100,0%), 142,10 (40,9%), 43,05 (15,5%), 41,05 (12,4%), 45,05 (12,4%), 67,05 (8,3%), 57,05 (7,1%), 55,05 (6,6%), 68,05 (6,0%), 85,10 (5,6%);

### 5.3 SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E RESULTADOS DOS BIOENSAIOS DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO OCT-1-EN-3-OL

Similarmente ao ácido láctico, o composto 1-octen-3-ol é identificado na composição da transpiração e no odor corporal de todos os organismos de sangue quente, desempenhando um papel fundamental como atrativos essenciais no processo de reconhecimento de potenciais fontes sanguíneas pelas fêmeas de *Ae. aegypti*, atividade esta, imprescindível após a realização da cópula (COUTINHO-ABREU et al., (2022); VERHULST et al., (2010).

Conforme observado em nossa investigação científica anterior, em que empregou-se o ácido láctico, reconhecido como um atrativo para as fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*, com o intuito de desenvolver um agente repelente, almejou-se examinar se a mesma premissa se aplica igualmente aos derivados do 1-octen-3-ol.

A síntese desses derivados iniciou-se com a preparação do 1-octen-3-ol a partir da reação do hexanal com brometo de vinila.



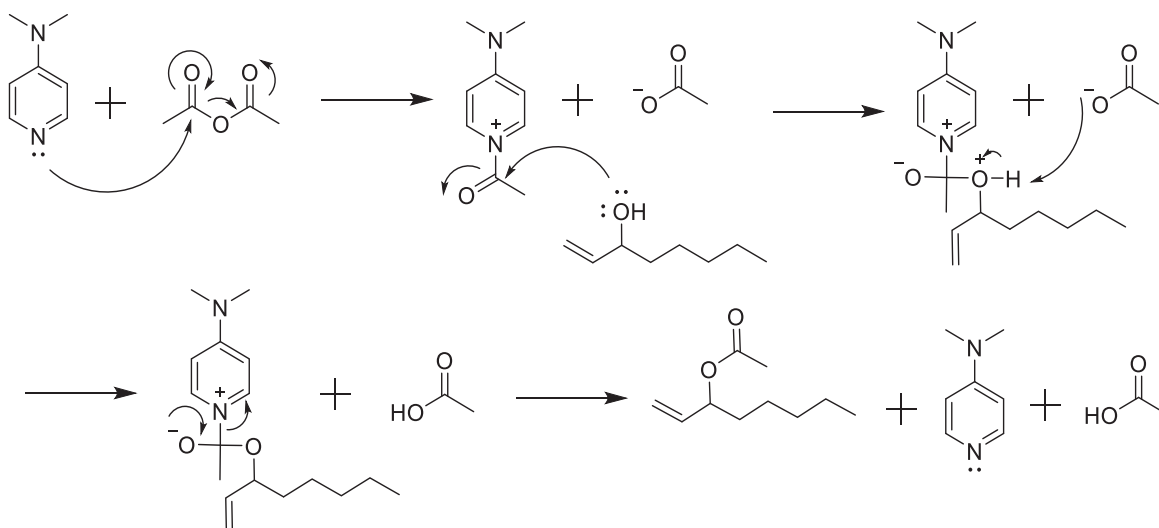
A formação da nova ligação C-C, com reagente de Grignard, para síntese do 1-octen-3-ol, ocorreu de maneira adequada, dessa forma obteve-se, 1-octen-3-ol em 86% de rendimento e com pureza de 86% (GC-EM).

Para as purificações deste produto, foi utilizada a técnica de cromatografia em coluna, utilizado variações na mistura de eluentes, no diâmetro da coluna e na utilização de bomba para exercer pressão sob a cabeça da coluna. Ao final determinou-se que a conjugação de melhor eficiência foi com coluna de 50 mm, 21 cm de preenchimento da coluna com sílica ativada (63-220  $\mu\text{m}$ ), 1 L de eluente, sendo a mistura de dicloro metano/acetato de etila (9,5/0,5), sob gravidade, com vazão gota-a-gota. Os dados espectrais de RMN gerados pela substância sintetizada estão descritos abaixo.

1-Octen-3-ol; Rendimento = 86%
RMN de $^1\text{H}$ (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,87 (ddd, $J = 17,1, 10,3, 6,3$ Hz, 1H), 5,22 (dt, $J = 17,2, 1,5$ Hz, 1H), 5,10 (dd, $J = 10,3, 1,5$ Hz, 1H), 4,09 (m, 1H), 1,52 (m, 2H), 1,29 (m, 6H), 0,89 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H).
$^{13}\text{C}$ NMR (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 141,54, 114,73, 73,50, 37,21, 31,96, 25,21, 22,80, 14,23.

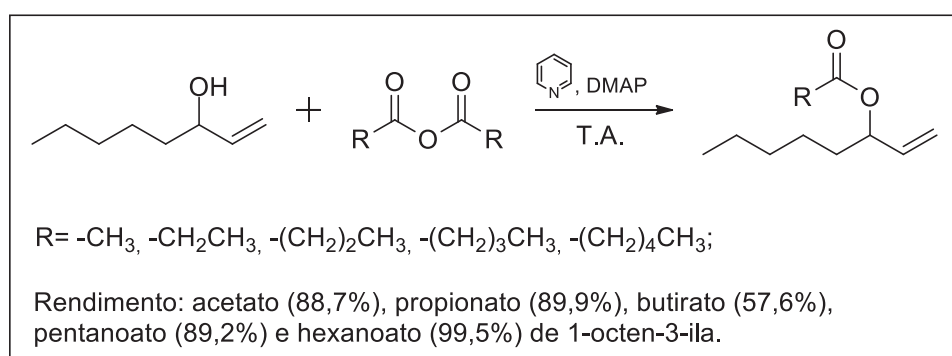
A etapa de esterificação do 1-octen-3-ol, não demonstrou maiores dificuldades. A reação foi catalisada pelo uso de 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) que é um nucleófilo mais forte que o álcool e ocorre segundo o mecanismo apresentado na Figura 33.

Figura 33. Mecanismo de esterificação a partir de DMAP como catalizador e anidrido acético como agente acilante.



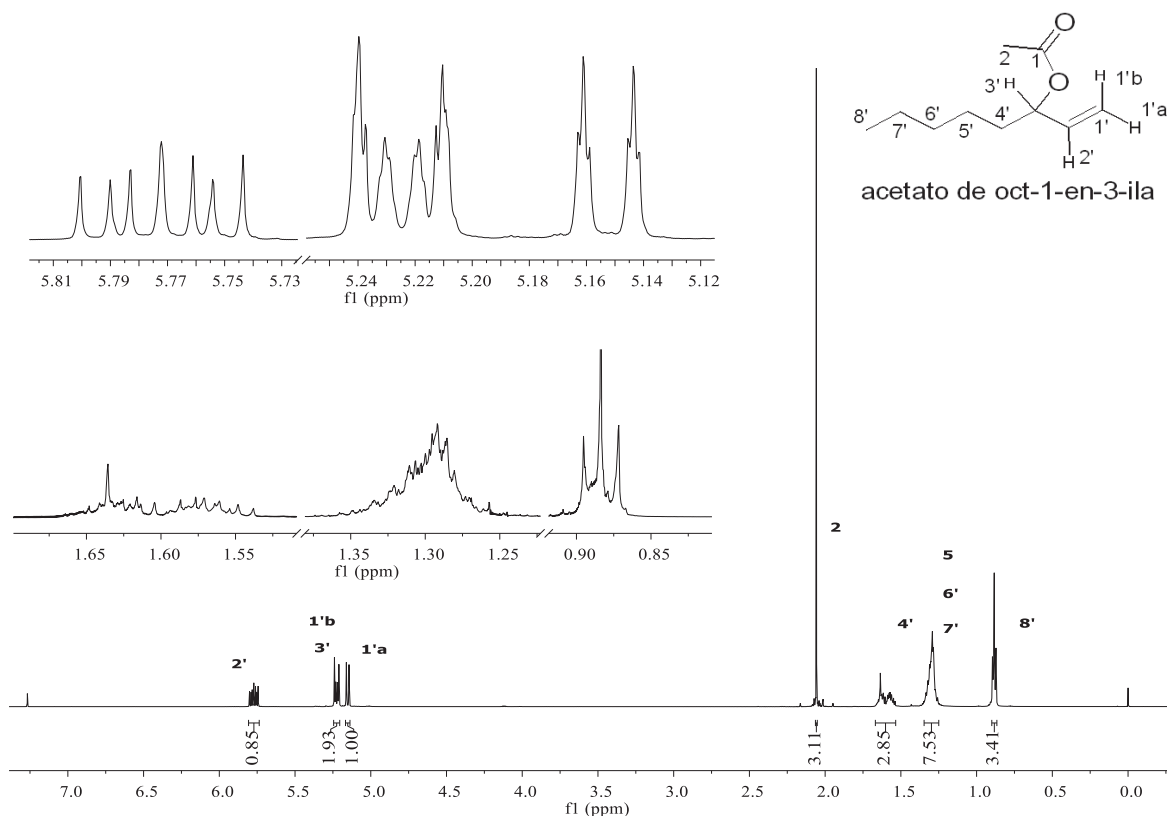
O mecanismo de reação é o mesmo ao utilizar anidrido propanoico, butanoico, pentanoico ou hexanoico.

A partir do 1-octen-3-ol, foram preparados acetato, propionato, butirato, pentanoato e hexanoato de 1-octen-3-ila, conforme esquema abaixo.



Serão discutidos aqui apenas os dados espectrais para a caracterização do acetato de 1-octen-3-ila, sendo que os demais foram caracterizados da mesma maneira. Para a caracterização do acetato de 1-octen-3-ila, foram utilizadas técnicas de ressonância magnética nuclear, unidimensional, como aquisição dos espectros de RMN de  $^1H$  e RMN de  $^{13}C$ , e bidimensional, como a técnica de COSY. A Figura 34, mostra o espectro de RMN de  $^1H$ , com expansão de regiões selecionadas, realizado em espectrômetro que opera a 14,1 Tesla (600 MHz).

Figura 34. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Acetato de Octen-3-ila, com expansão de regiões selecionadas.



Mesmo com a utilização de um espectrômetro que opera 14,1 Tesla, o RMN de  $^1\text{H}$  da estrutura química, apresenta a maioria dos sinais não resolvidos. Os sinais com multiplicidade bem definida são, os hidrogênios vinílicos  $\text{H}2'$ , 5,77ppm (ddd,  $J = 17,1, 10,5, 6,3$  Hz, 1H) e  $\text{H}1\text{a}'$ , 5,15 (dt,  $J = 10,4, 1,3$  Hz, 1H), bem como, os hidrogênios metílicos  $\text{H}2$ , 2,06 (s, 3H) e  $\text{H}8'$ , 0,88 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H).

A posição correta de cada hidrogênio foi atribuída de acordo com os acoplamentos homonucleares visualizados no mapa de correlação de COSY. Desta forma, por exemplo, pode-se perceber que  $\text{H}1'\text{b}$  e  $\text{H}3'$  coincidentemente possuem o mesmo deslocamento químico. As posições dos carbonos foram atribuídas de acordo com o RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Na Tabela 3, encontram-se todos os sinais dos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  atribuídos aos elementos em suas respectivas posições, que servem como embasamento para elucidação da estrutura química da substância repelente.

Tabela 3. Atribuições de sinais de RMN para  $^1\text{H}$ 's e  $^{13}\text{C}$ 's para Acetato de Octen-3-ila.

Posição	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H,C}}$
1	-	170,39	-
2	2,06 (s, 3H);	34,18	-
1a'	5,15 (dt, J = 10,4, 1,3 Hz, 1H);	116,49	-
1b'	5,22 (dt, J = 17,6, 1,3 Hz, 1H);	116,49	-
2'	5,77 (ddd, J = 17,1, 10,5, 6,3 Hz, 1H);	136,71	-
3'	5,22 (m, 1H);	74,9	-
4'	1,60 (m, 2H);	31,57	-
5'	1,30 (m, 6H);*	24,73	-
6'	1,30 (m, 6H);*	22,51	-
7'	1,30 (m, 6H);*	21,26	-
8'	0,88 (t, J = 7,0 Hz, 3H);	13,98	-

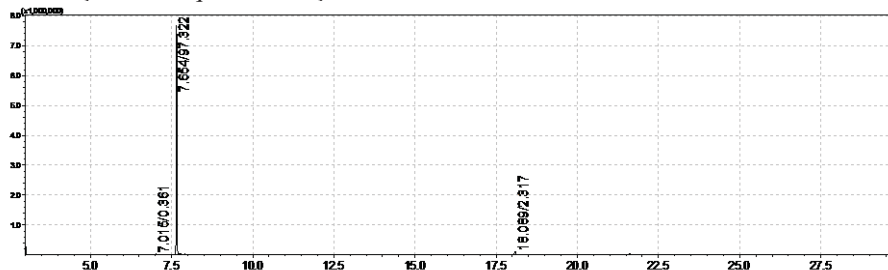
\*Hidrogênios de diferentes posições com sinais sobrepostos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ .

Resumidamente os dados espectrais para acetato de 1-Octen-3-ila, estão expostos no quadro abaixo.

Acetato de 1-Octen-3-ila; rendimento: 88,7%;
RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,77 (ddd, J = 17,1, 10,5, 6,3 Hz, 1H), 5,22 (m, 1H), 5,22 (dt, J = 17,6, 1,3 Hz, 1H), 5,15 (dt, J = 10,4, 1,3 Hz, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,60 (m, 2H), 1,30 (m, 6H), 0,88 (t, J = 7,0 Hz, 3H);
$^{13}\text{C}$ NMR (151 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 170,39, 116,49, 116,49, 136,71, 74,9, 34,18, 31,57, 24,73, 22,51, 21,26, 13,98;
EM-EI, m/z (intensidade relativa) 43,05 (100,0%), 99,10 (40,2%), 54,05 (18,3%), 41,10 (11,8%), 81,10 (11,5%), 72,10 (11,5%), 67,10 (11,0%), 55,05 (10,4%), 68,10 (9,2%), 57,05 (8,07);

A Figura 35, apresenta um cromatograma obtido para aferir a pureza da amostra, antes de serem enviadas para análises de RMN. Pode-se notar no cromatograma a alta pureza da amostra.

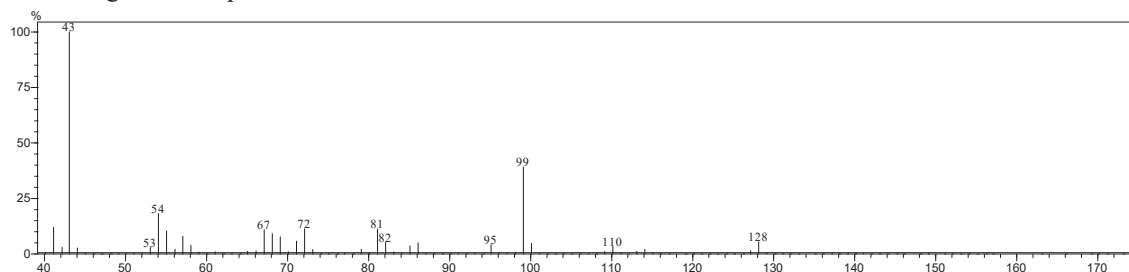
Figura 35. Cromatograma realizado em CG-EM (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com coluna capilar DB5-MS (Agilent technology, Santa Clara, EUA) com produto da reação de síntese de Acetato de Octen-3-ila, com marcação de tempo de retenção e área relativa.



Além da espectrometria de RMN, utilizou-se a espectrometria de massas, por impacto de elétrons, para caracterizar a estrutura química dos repelentes. Para acetato de 1-

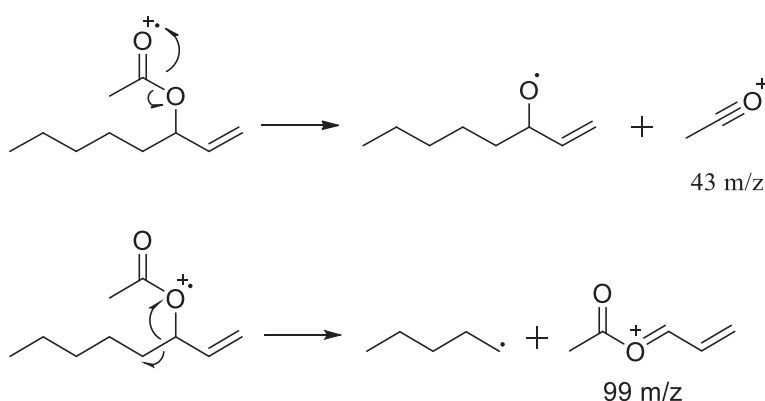
Octen-3-ila, o íon molecular ( $M^+$   $m/z = 170$ ), não pode ser apreciado no espectro de massas, como pode ser observado na Figura 36.

Figura 36. Espectro de massas de Acetato de 1-Octen-3-ila.



O pico base trata-se do fragmento com  $m/z = 43$ , oriundo de formação de cátion acílio, fragmentação comum para ésteres, como pode ser visto na Figura 37. O íon fragmento  $m/z = 99$ , vem de segmentação  $\alpha$ , levando a formação íon acílio, estabilizado por um sistema estendido de ligações duplas conjugadas (Figura 37).

Figura 37. Proposta de fragmentação para os principais íon fragmentos de Acetato de 1-Octen-3-ila



As demais estruturas químicas, derivados do 1-Octen-3-ol, foram caracterizadas, seguindo os mesmos passos, que os apresentados acima. Os dados espectrais destas estruturas químicas estão descritos abaixo e os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e massas podem ser consultados em Anexo 1.



Propionato de 1-Octen-3-ila; Rendimento = 89,9%;
RMN de $^1\text{H}$ (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,78 (ddd, $J = 17,5, 10,4, 6,2$ Hz, 1H), 5,25 (m, 1H), 5,22 (m, 1H), 5,15 (m, 1H), 2,34 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,57 (m, 2H), 1,30 (m, 6H), 1,15 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H), 0,88 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H);
RMN de $^{13}\text{C}$ (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 173,99, 137,01, 116,54, 77,87, 77,23, 76,59, 74,81, 34,37, 31,74, 28,06, 24,90, 22,70, 14,15, 9,37;
EM-EI m/z (Intensidade relativa) 57,05 (100,0%), 113,10 (13,7%), 54,05 (13,6%), 69,10 (13,2%), 41,10 (10,8%), 55,05 (10,3%), 99,10 (9,5%), 67,05 (7,6%), 81,10 (7,3%), 72,10 (6,9%);
Butirato de 1-Octen-3-ila; Rendimento = 57,6%;
RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,77 (ddd, $J = 17,0, 10,5, 6,4$ Hz, 1H), 5,24 (m, 1H), 5,22 (dt, $J = 17,3, 1,3$ Hz, 1H), 5,15 (dt, $J = 10,6, 1,2$ Hz, 1H), 2,29 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,67 (sest, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,58 (m, 2H), 1,3 (m, 6H), 0,95 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 0,88 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H);
RMN de $^{13}\text{C}$ (151 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 173,03, 136,83, 116,37, 74,54, 36,53, 34,20, 31,56, 24,74, 22,53, 18,55, 13,99, 13,68;
EM-EI m/z (Intensidade relativa) 71,05 (100,0%), 43,10 (37,9%), 69,10 (17,3%), 41,10 (16,3%), 54,05 (14,4%), 55,05 (12,0%), 99,10 (9,3%), 127,10 (9,3%), 72,10 (9,2%), 67,05 (7,8%);
Pentanoato de 1-Octen-3-ila; Rendimento = 89,2%;
RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,77 (ddd, $J = 17,1, 10,5, 6,4$ Hz, 1H), 5,23 (m, 2H), 5,14 (dt, $J = 10,6, 1,2$ Hz, 1H), 2,31 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,62 (p, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,58 (m, 2H), 1,36 (h, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,28 (m, 6H), 0,92 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 0,88 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H);
RMN de $^{13}\text{C}$ (151 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 173,20, 136,83, 116,37, 74,54, 34,37, 34,20, 31,56, 27,15, 24,74, 22,54, 22,29, 13,99, 13,73;
EM-EI m/z (Intensidade relativa) 85,10 (100,0%), 57,10 (39,9%), 69,10 (20,0%), 41,05 (19,0%), 54,05 (13,0%), 55,05 (13,0%), 67,05 (8,7%), 81,10 (8,5%), 86,10 (7,6%), 68,10 (7,2%);
Hexanoato de 1-Octen-3-ila; Rendimento = 99,5%;
RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 5,77 (ddd, $J = 17,0, 10,5, 6,4$ Hz, 1H), 5,24 (m, 1H), 5,22 (dt, $J = 17,4, 1,3$ Hz, 1H), 5,15 (dt, $J = 10,6, 1,1$ Hz, 1H), 2,31 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,63 (p, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,6 (m, 2H), 1,30 (m, 10H), 0,89 (m, 6H);
RMN de $^{13}\text{C}$ (151 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 173,21, 136,83, 116,37, 74,54, 34,62, 34,20, 31,56, 31,33, 24,75, 24,75, 22,54, 22,35, 14,00, 13,92,
EM-EI, m/z (Intensidade relativa) 99,10 (100,0%), 71,10 (41,1%), 43,10 (30,7%), 69,10 (24,9%), 41,05 (16,0%), 55,05 (15,2%), 54,05 (13,4%), 81,10 (10,0%), 67,05 (9,4%), 68,10 (8,1%);

Assim como os derivados do ácido láctico, os derivados do 1-octen-3-ol, também formam enviados ao INPA, com a parceria da pesquisadora Rosemary Aparecida Roque, para teste de repelência por contato.

Os seis derivados a base de 1-octen-3-ol avaliados contra fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*, falharam desde a primeira avaliação, fato observado durante três horas de avaliação. O que ocasionou a suspensão e o término dos testes com os derivados de 1-octen-3-ol. Por fim, nenhum dos derivados a base de 1-octen-3-ol demonstrou atividade de repelência contra fêmeas de *Ae. aegypti*.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Substâncias candidatas a repelentes, derivadas do Ácido (S)-Lático (1a, 1d e 1e), bem como um derivado do Ácido (R)-Lático (1c), foram sintetizadas com êxito no decorrer deste estudo. A obtenção destes compostos deteve uma relevância significativa, oferecendo discernimento aprofundado acerca da relação estrutura-atividade desta série de compostos, os quais se baseiam em uma substância reconhecida como atraente às fêmeas de *Ae. aegypti*.

Especificamente, as substâncias repelentes 1a e 1c, que constituem um par de enantiômeros, manifestaram-se eficazes na promoção da repelência espacial, resultados estes derivados de uma colaboração com o professor Joel R. Coats, da Iowa State University. Em relação à repelência de contato, as substâncias 1a e 1d exibiram uma notável capacidade repelente, embora seja necessário otimizar os procedimentos experimentais empregados nas análises realizadas no INPA.

No contexto da evolução destas pesquisas, o composto repelente 1a foi submetido a ensaios toxicológicos conduzidos no laboratório Ecolyser, devidamente credenciado perante à ANVISA. Tal iniciativa visa a preparação subsequente do dossiê do composto, uma etapa mandatória para a submissão do pedido de registro junto à agência regulatória sanitária brasileira. Comprovando-se a segurança toxicológica e ambiental, este composto tem o potencial de se estabelecer como o pioneiro repelente comercial desenvolvido integralmente no Brasil, alinhado com tecnologias inovadoras e equiparando-se, ou mesmo superando, os padrões dos mais eficazes repelentes disponíveis no mercado.

É pertinente ressaltar que a elevada solubilidade da substância 1a em água suscita a perspectiva de conceber um repelente em formulação aquosa, uma abordagem inovadora em escala global.

Por outro lado, os derivados acilados do 1-octen-3-ol não demonstraram atividade repelente, ensejando a necessidade de direcionar investigações adicionais para explorar outras vias químicas, potencialmente promissoras no contexto dos derivados do 1-octen-3-ol. Em consonância com essa perspectiva, é conveniente explorar possibilidades de modificação química estrutural com base em substâncias reconhecidas como atrativas.

A possibilidade de sintetizar compostos com propriedades repelentes, derivados de substâncias que atuam como atrativos para as fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*, instaura uma inovadora abordagem na pesquisa e desenvolvimento de novas formulações repelentes. Esse enfoque tem potencial de contribuir de maneira substancial para o avanço do campo, oferecendo à sociedade significativos benefícios. Tal estudo reveste-se de grande relevância, notadamente quando se considera a possibilidade de combater as enfermidades transmitidas

por esse mosquito, as quais há muito acometem as populações residentes principalmente em regiões tropicais.

## REFERÊNCIAS

ANNIE, V. **Determinação Estrutura química, Síntese e Aplicação de Compostos de Origem Botânica e ou Derivados Sintéticos Visando o Controle Populacional e o Efeito de Repelência do Mosquito *Aedes aegypti***, 2012. Universidade Federal do Paraná.

BIAIAK, R. DE C. **DESENVOLVIMENTO DE NOVO REPELENTE PARA *Aedes aegypti* SINTETIZADO A PARTIR DO ÁCIDO LÁTICO E SEUS DERIVADOS**, 2020. Universidade Federal do Paraná.

BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A. .; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. **Pest Management Science**, v. 71, n. 11, p. 1471–1485, 2015.

BERNIER, U. R.; TSIKOLIA, M. Development of novel repellents using structureactivity modeling of compounds in the USDA archival database. **ACS Symposium Series**, v. 1090, p. 21–46, 2011.

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

CALDAS, L. Q. A. **Intoxicações exógenas agudas por carbamatos, organofosforados, compostos bipiridílicos e piretroides**. 1º ed. Rio de Janeiro: Centro de controle de intoxicações, 2000.

CARDÉ, R. T. Multi-Cue Integration: How Female Mosquitoes Locate a Human Host. **Current Biology**, v. 25, n. 18, p. R793–R795, 2015.

CARLOS, P.; ANDRADE, F. S. Repelentes de Mosquitos – Base Técnica para Avaliação. **Ecologia Aplicada**, p. 1–9, 2008.

CASTRO, J. S. M.; ROZEMBERG, B. Propaganda de inseticidas: estratégias para minimização e ocultamento dos riscos no ambiente doméstico. **Saúde e Sociedade**, v. 24, n. 1, p. 308–320, 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Avoid Bug Bites. Disponível em: <<https://wwwnc.cdc.gov/travel/page/avoid-bug-bites>>. Acesso em: 30/8/2022.

CHOOCHOTE, W.; CHAITONG, U.; KAMSUK, K.; et al. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 78, p. 359–364, 2007.

CIRCUNVIS, B. C. Organoclorados e organofosforados: principais características e seus efeitos potenciais à saúde humana. **Revista uningá review**, v. 3, n. 1, p. 4, 2017.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 500–506,

2011.

COSTA, A. E. A.; FERREIRA, L. G. Considerações sobre o dengue clássico e o hemorrágico. **Pharmacia Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 49–54, 2002.

COUTINHO-ABREU, I. V.; RIFFELL, J. A.; AKBARI, O. S. Human attractive cues and mosquito host-seeking behavior. **Trends in Parasitology**, v. 38, n. 3, p. 246–264, 2022.

DEKKER, T.; STEIB, B.; CARDÉ, R. T.; GEIER, M. L-lactic acid: A human-signifying host cue for the anthropophilic mosquito *Anopheles gambiae*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 16, n. 1, p. 91–98, 2002.

DOLAN, M. C.; PANELLA, N. A. A. Review of arthropod repellents. **ACS Symposium53 Series**, v. 1090, p. 1–19, 2011.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 30, p. 5–10, 2017.

DORMONT, L.; MULATIER, M.; CARRASCO, D.; COHUET, A. Mosquito Attractants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 47, n. 4–5, p. 351–393, 2021.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ); RETS - REDE INTERNACIONAL DE EDUCAÇÃO DE TÉCNICOS EM SAÚDE. Doenças transmitidas por vetores. Disponível em: <<https://www.rets.epsjv.fiocruz.br/doencas-transmitidas-por-vetores#:~:text=Doenças transmitidas por vetores são,em risco de contrair dengue.>>. Acesso em: 22/4/2022.

GEIER, M.; BOSCH, O. J.; BOECKH, J. Ammonia as an Attractive Component of Host Odour for the Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti*. **Chemical Senses**, v. 24, n. 6, p. 647–653, 1999.

GUZMAN, M. Dengue: a continuing global threat. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 1, p. S7 – 16, 2010.

HADDOW, A. The mosquito fauna and climate of native huts at Kisumu, Kenya. **Bull Entomol Res**, v. 33, p. 91–142, 1942.

ISENMANN, A. F. **Princípios químicos em produtos cosméticos e sanitários**. 1. ed. ed. Porto Alegre, 2021.

ISLAM, J.; ZAMAN, K.; DUARAH, S.; RAJU, P. S.; CHATTOPADHYAY, P. Mosquito repellents: An insight into the chronological perspectives and novel discoveries. **Acta Tropica**, v. 167, p. 216–230, 2017.

KAIN, P.; BOYLE, S. M.; THARADRA, S. K.; et al. Odour receptors and neurons for DEET and new insect repellents. **Nature**, v. 502, n. 7472, p. 507–512, 2013.

KATRITZKY, A. R.; WANG, Z.; SLAVOV, S.; et al. Novel Carboxamides as Potential Mosquito Repellents. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 5, p. 924–938, 2010.

LAURA DE SENE AMÂNCIO ZARA, A.; MARIA DOS SANTOS, S.; SYNTHIA FERNANDES-OLIVEIRA, E.; GOMES CARVALHO, R.; EVELIM COELHO, G. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 1–2, 2016.

LEGEAY, S.; CLERE, N.; APAIRE-MARCHAIS, V.; FAURE, S.; LAPIED, B. Unusual modes of action of the repellent DEET in insects highlight some human side effects. **European Journal of Pharmacology**, v. 825, p. 92–98, 2018.

LOGAN, J. G.; BIRKETT, M. A.; CLARK, S. J.; et al. Identification of human-derived volatile chemicals that interfere with attraction of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n. 3, p. 308–322, 2008.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. 1<sup>o</sup> ed. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.

LUPI, E.; HATZ, C.; SCHLAGENHAUF, P. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp. - A literature review. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 11, p. 374–411, 2013.

MAIBACH, H. I.; AKERS, W. A.; JOHNSON, H. L.; KHAN, A. A.; SKINNER, W. A. Insects. Topical insect repellents. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, p. 970–973, 1974.

MARQUES, F. D. A.; MAIA, B. H. L. D. N. S.; ANNIES, V.; et al. REPELENTE DE ARTRÓPODES OBTIDOS A PARTIR DA TRANSFORMAÇÃO QUÍMICA DE ÁCIDO LÁTICO, LACTATOS OU OUTROS DERIVADOS DO ÁCIDO LÁTICO. , 2021. República Federativa do Brasil.

MEIJERINK, J.; BRAKS, M. A. .; VAN LOON, J. J. . Olfactory receptors on the antennae of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* are sensitive to ammonia and other sweat-borne components. **Journal of Insect Physiology**, v. 47, n. 4–5, p. 455–464, 2001.

MERTENS, F. Abordagem ecossistêmica em saúde: ensaios para o controle do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 734–736, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Febre de chikungunya: manejo clínico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção Básica. , 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE; VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília, 2009.

MS-MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>>. Acesso em: 15/5/2023.

MS-MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E

AMBIENTE. Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 52 de 2022. **Bolitin Epidemiológico**, v. 54, n. 1, p. 1–14, 2023.

MÜLLER, W. Die Distanz-und Kontakt-Orientierung der Stechmücken (*Aedes aegypti*) (Wirtsfindung, Stechverhalten und Blutmahlzeit). **Zeit Ver Physiol**, v. 58, p. 241–303, 1968.

OLIFERENKO, P. V. OLIFERENKO, A. A.; PODA, G. I.; OSOLODKIN, D. I.; et al. Promising *Aedes aegypti* Repellent Chemotypes Identified through Integrated QSAR, Virtual Screening, Synthesis, and Bioassay. **PLoS ONE**, v. 8, p. 1–13, 2013.

OPAS-ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Dengue. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/dengue#:~:text=Aproximadamente metade da população mundial,em áreas urbanas e semiurbanas.>>. Acesso em: 18/7/2023.

OPAS-ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAUDE. Dengue. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/dengue#:~:text=Aproximadamente metade da população mundial,em áreas urbanas e semiurbanas>>. Acesso em: 15/5/2023.

OPAS. Avaliação das estratégias inovadoras para o controle de *Aedes aegypti*: desafios para a introdução e avaliação do impacto dessas. **OPAS**, 2019.

PAIVA, K. B. S.; MENEZES, M. L. DE. Avaliação do emprego dos adsorventes: carvão ativo, chromosorb W e membrana C18 na preparação de amostras de ar para a determinação de d-aletrina em ambientes fechados. **Eclética Química**, v. 28, n. 1, p. 97–103, 2003.

PAUMGARTTEN, F. J. R.; DELGADO, I. F. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 4, p. 97–104, 2016.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003.

PORT, Â. Promoção de saúde para a proteção da ação do vetor *Aedes aegypti*: um relato de vivência. **Salão do Conhecimento**, v. 2, n. 1, p. 1–10, 2016.

RAY, A. Reception of odors and repellents in mosquitoes. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 34, n. Figure 1, p. 158–164, 2015.

RUDOLFS, W. Chemotropism of mosquitoes. **Bull New Jersey Agric Exp Stn**, v. 367, p. 4–23, 1922.

SFARA, V.; MOUGABURE-CUETO, G.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Adaptation of the repellency response to DEET in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, p. 1431–1436, 2011.

SMALLEGANGE, R. C.; VERHULST, N. O.; TAKKEN, W. Sweaty skin: an invitation to bite? **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 143–148, 2011.



SMITH, L. B.; KASAI, S.; SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 1–12, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; DEPARTAMENTO CIENTÍFICO DE DERMATOLOGIA. Repelentes e outras medidas protetoras contra insetos na infância. , 2020.

SURYANARAYANA, M. V. S.; PANDEY, K. S.; PRAKASH, S.; et al. Structure-Activity Relationship Studies with Mosquito Repellent Amides. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, p. 1055–1057, 1991.

SYED, Z.; LEAL, W. S. Mosquitoes smell and avoid the insect repellent DEET. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 36, p. 13598–13603, 2008.

TAFURI, J.; ROBERTS, J. Organophosphate poisoning. **Annals of Emergency Medicine**, v. 16, n. 2, p. 193–202, 1987.

TAKKEN, W.; KLINE, D. Carbon dioxide and 1-octen-3-ol as mosquito attractants. **J Am Mosq Control Assoc**, v. 5, p. 311–316, 1989.

TAVARES, M.; DA SILVA, M. R. M.; DE SIQUEIRA, L. B. D. O.; et al. Trends in insect repellent formulations: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 539, p. 190–209, 2018.

TEICH, V.; ARINELLI, R.; FAHHAM, L. *Aedes aegypti* e sociedade: o impacto econômico das arboviroses no Brasil. **J Bras Econ Saúde**, v. 46, n. 3, p. 267–276, 2018.

VERHULST, N. O.; TAKKEN, W.; DICKE, M.; SCHRAA, G.; SMALLEGANGE, R. C. Chemical ecology of interactions between human skin microbiota and mosquitoes. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 74, n. 1, p. 1–9, 2010.

WHO. Guidelines for efficacy testing of mosquito repellents for human skin. **Who/Htm/Ntd/Whopes/2009.4**, p. 1–6, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Entomological field techniques for malaria control. Part 1. Learner's guide**. Geneva: WHO Cataloguing in Publication, 1992.

ZARA, A. L. DE S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S. . C.; R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saude do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.

ZARA, A. L. DE S. A.; DOS SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.

## ANEXOS

## ANEXO 1

Espectros de RMN de <sup>1</sup>

Figura 38. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e). .....	72
Figura 39. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e). .....	72
Figura 40. Espectro de massas de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e).....	73
Figura 41. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d). .....	73
Figura 42. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d).....	74
Figura 43. Espectro de massas de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d). .....	75
Figura 44. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Butirato de 1-Octen-3-ila. ....	75
Figura 45. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Butirato de 1-Octen-3-ila. ....	76
Figura 46. Espectro de massas de Butirato de 1-Octen-3-ila. ....	77
Figura 47. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-Octen-3-ila. ....	77
Figura 48. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (50 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Propionato de 1-Octen-3-ila. ....	78
Figura 49. Espectro de massas de Propionato de 1-Octen-3-ila. ....	79
Figura 50. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Pentanoato de oct1-en-3-ila. ....	79
Figura 51. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Pentanoato de 1-Octen-3-ila. ....	80
Figura 52. Espectro de massas de Pentanoato de 1-Octen-3-ila.....	80
Figura 53. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (600 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.....	81
Figura 54. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (150 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.....	81
Figura 55. Espectro de massas de Hexanoato de 1-Octen-3-ila. ....	82
Figura 56. Estrutura química das substâncias sintetizadas .....	82



Figura 38. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e).

(S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona

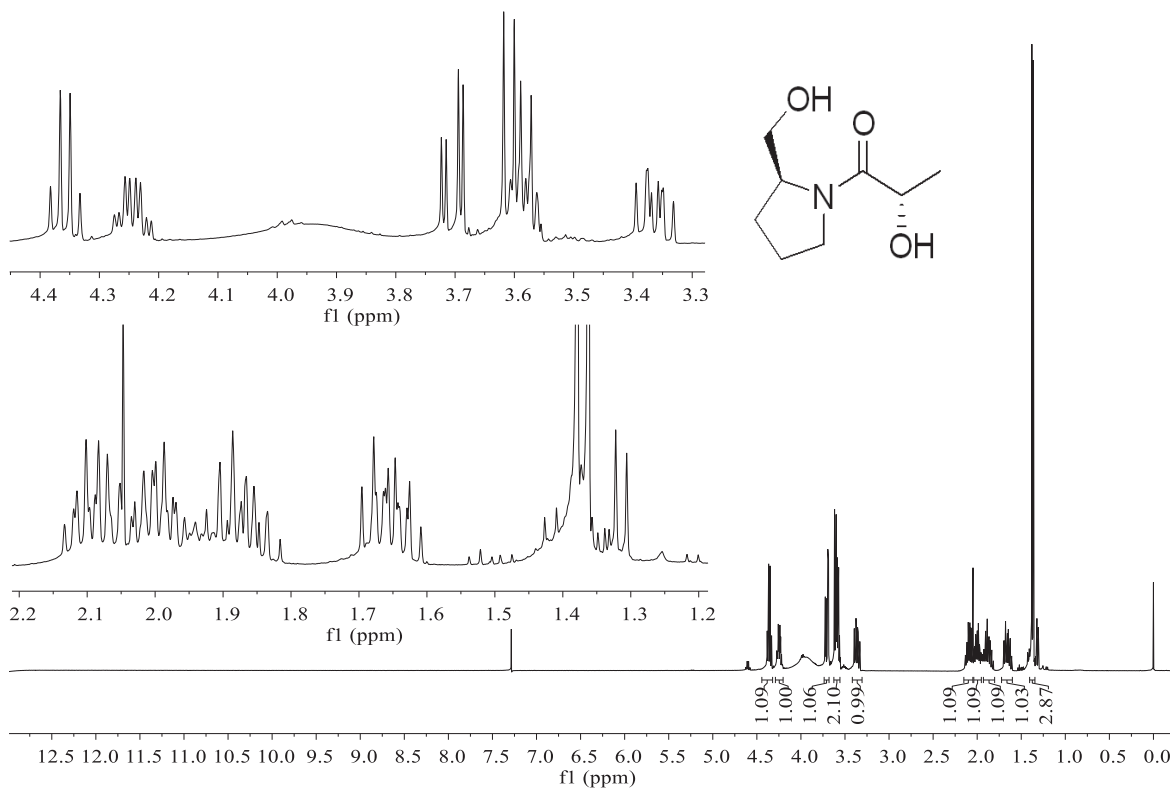


Figura 39. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e).

(S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona

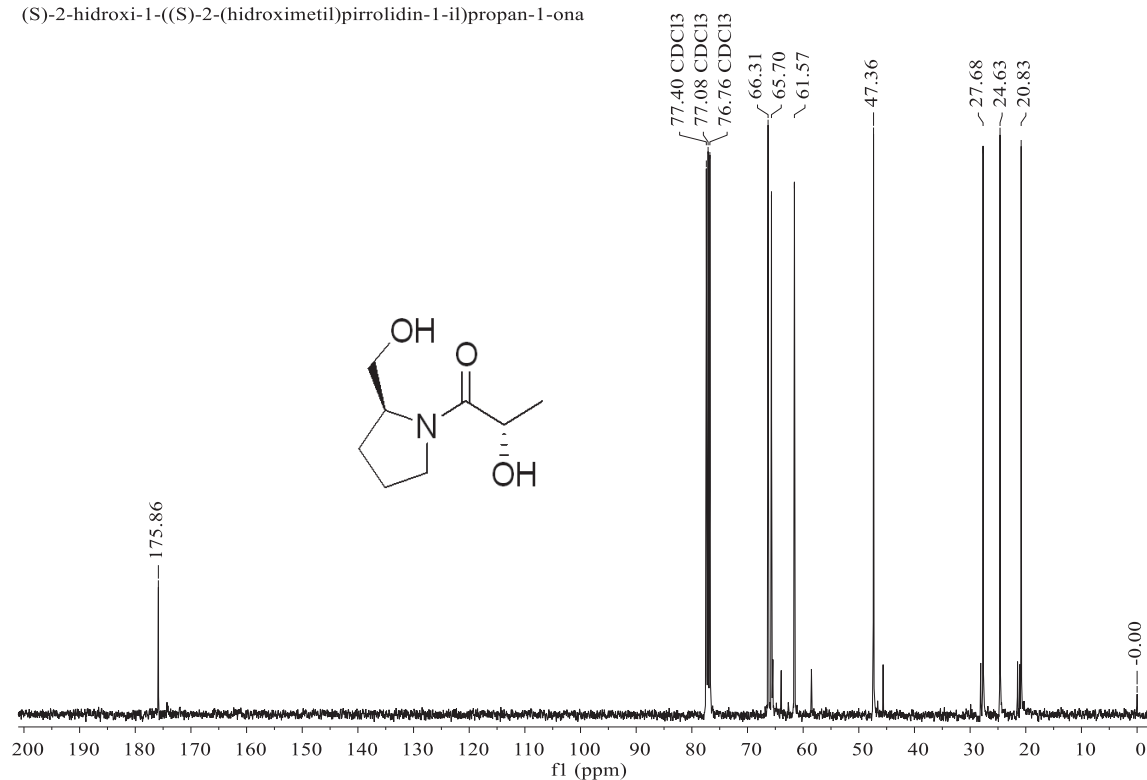


Figura 40. Espectro de massas de (S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona (1e).

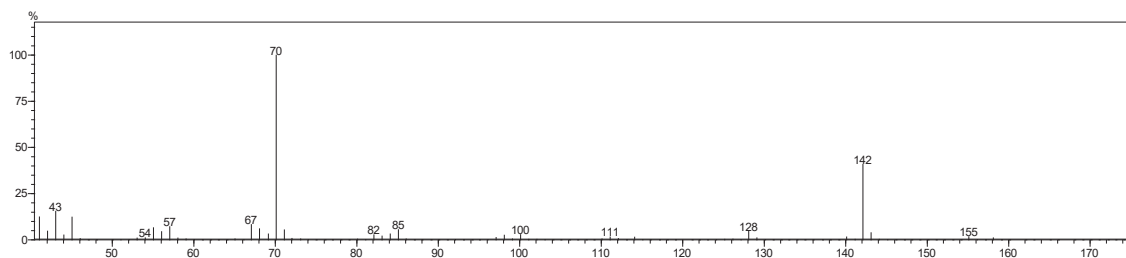
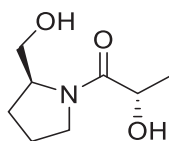


Figura 41. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d).

Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila

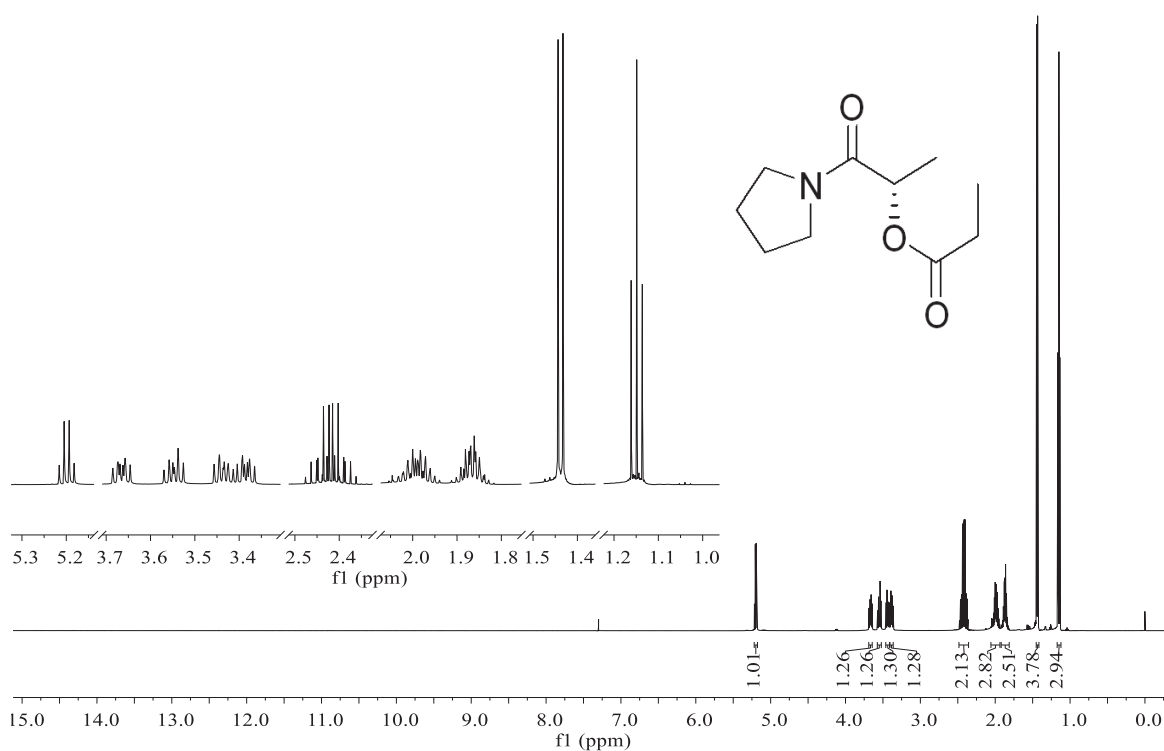


Figura 42. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d).

Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila

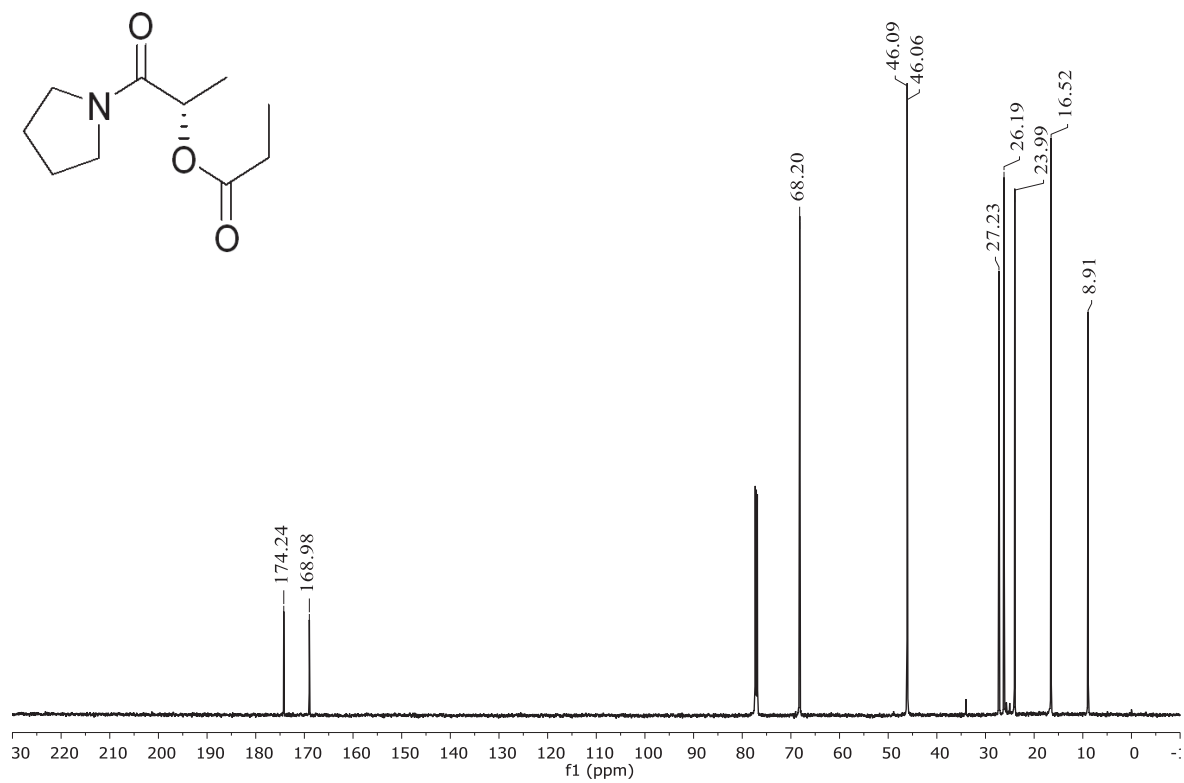


Figura 43. Espectro de massas de Propionato de 1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila (1d).

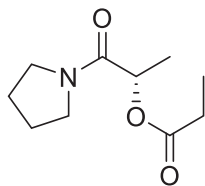


Figura 44. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Butirato de 1-Octen-3-ila.

Butirato de Oct-1-en-3-ila

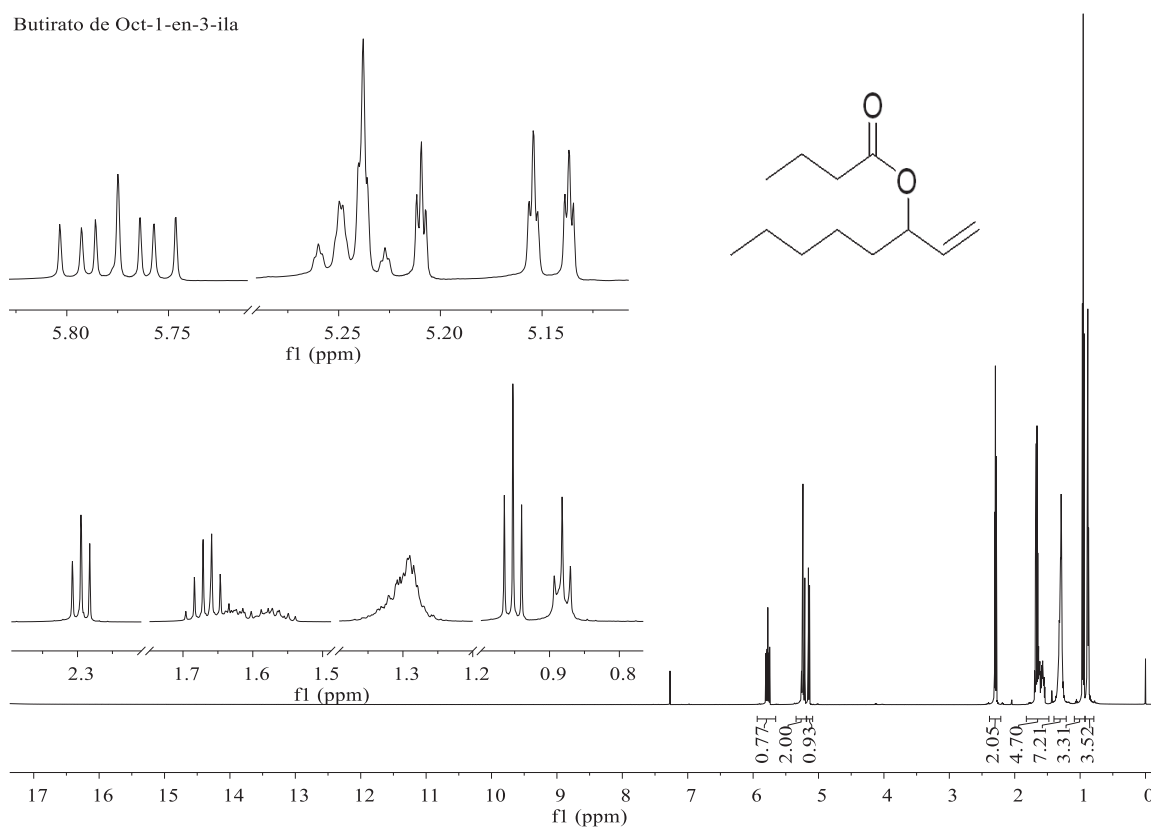


Figura 45. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Butirato de 1-Octen-3-ila.

Butirato de Oct-1-en-3-ila

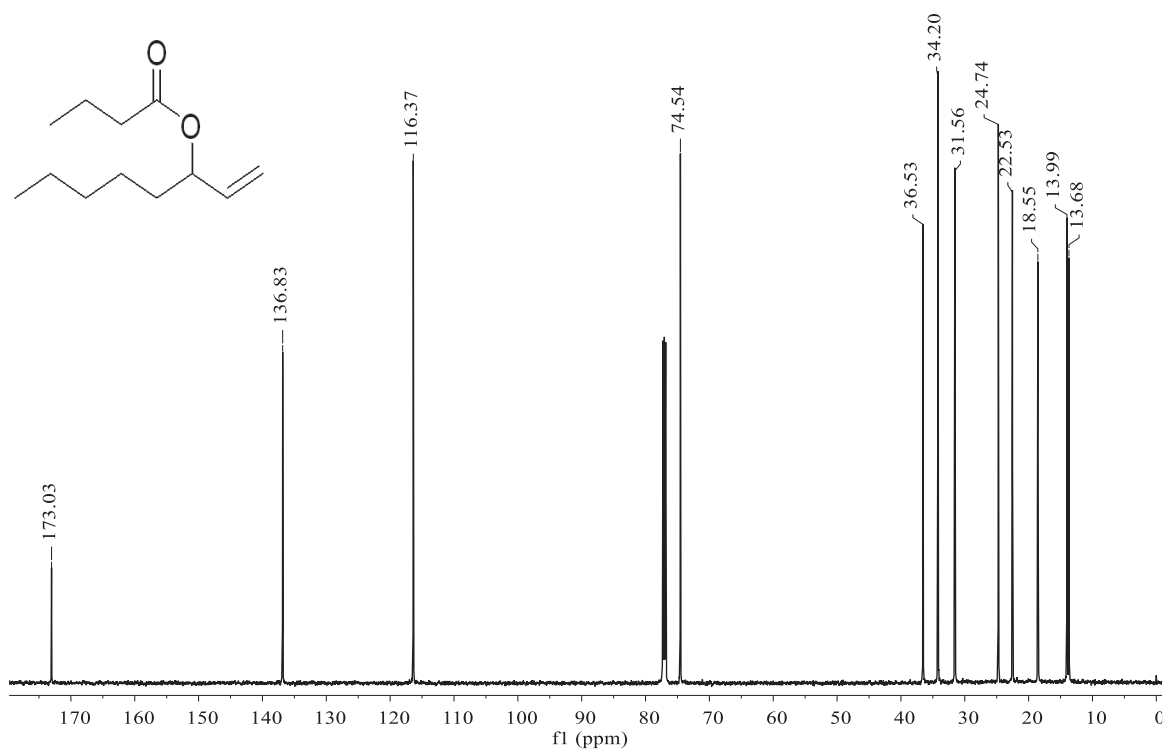
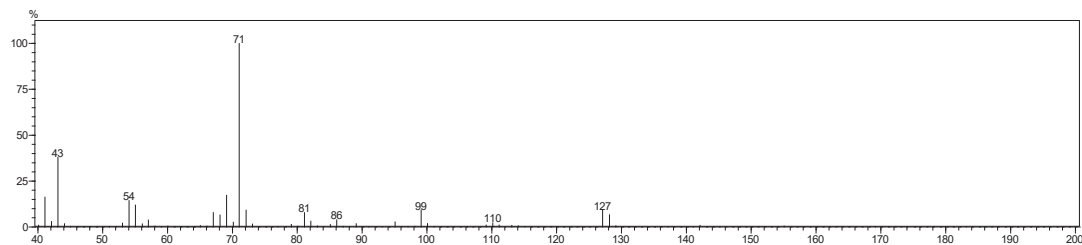
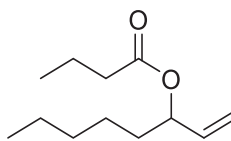


Figura 46. Espectro de massas de Butirato de 1-Octen-3-ila.

Figura 47. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Propionato de 1-Octen-3-ila.

Propionato de oct1-em-3-ila

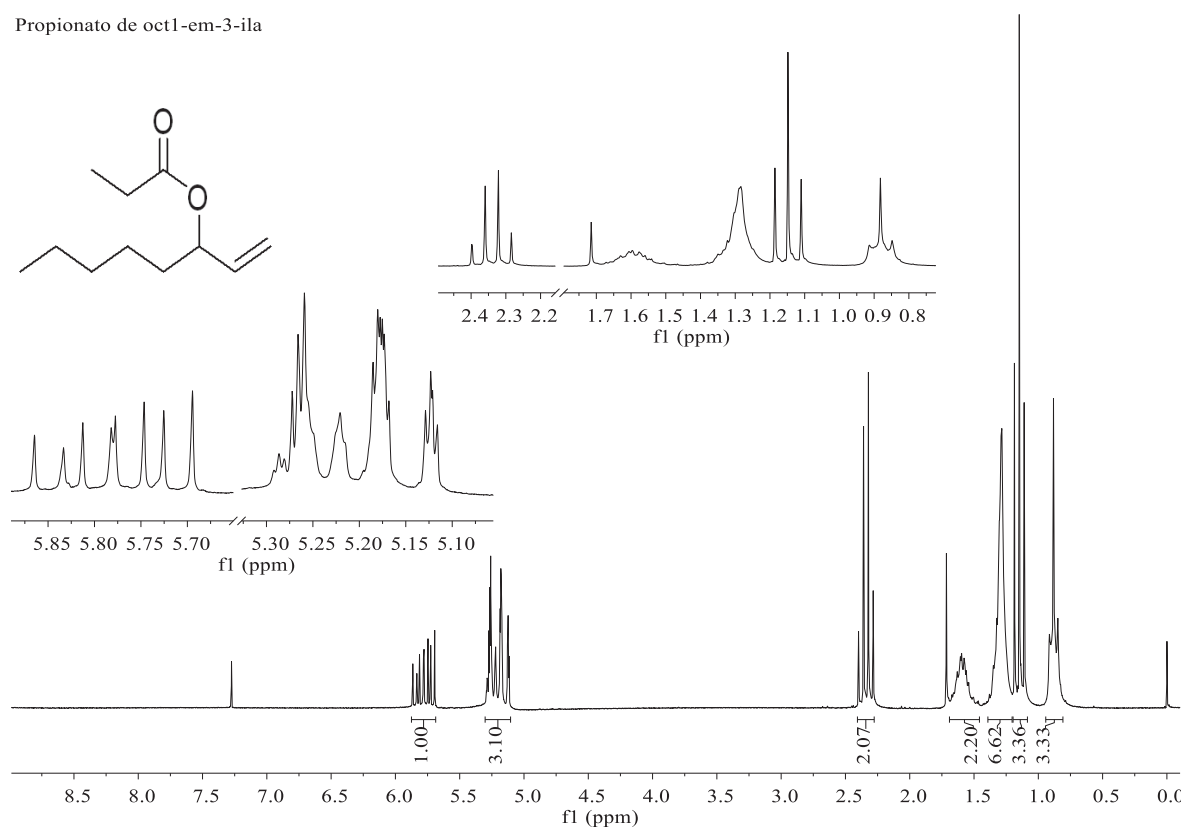


Figura 48. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Propionato de 1-Octen-3-ila.

Propionato de oct1-em-3-ila

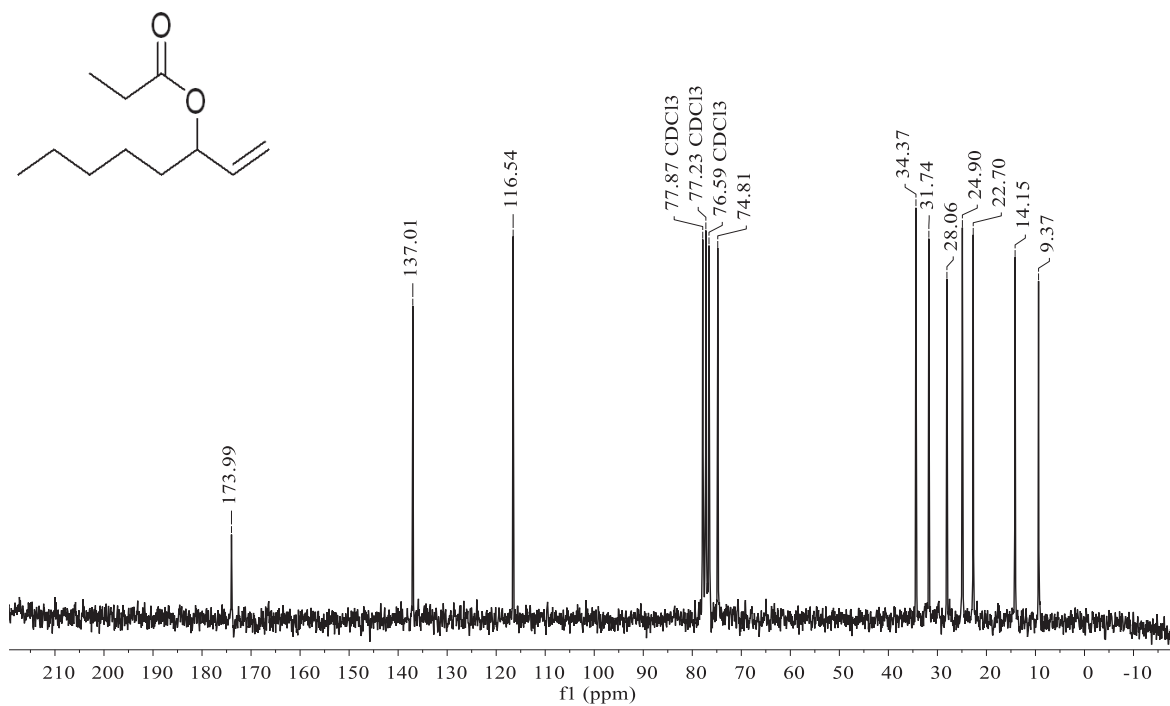
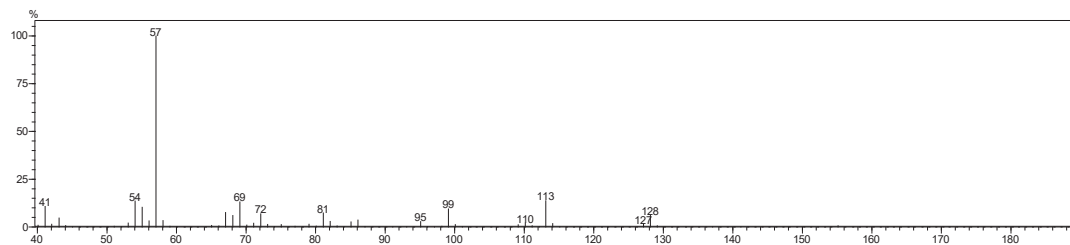
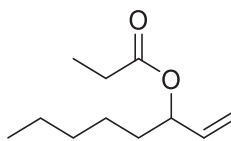


Figura 49. Espectro de massas de Propionato de 1-Octen-3-ila.

Figura 50. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Pentanoato de oct1-en-3-ila.

Pentanoato de Oct-1-en-3-ila

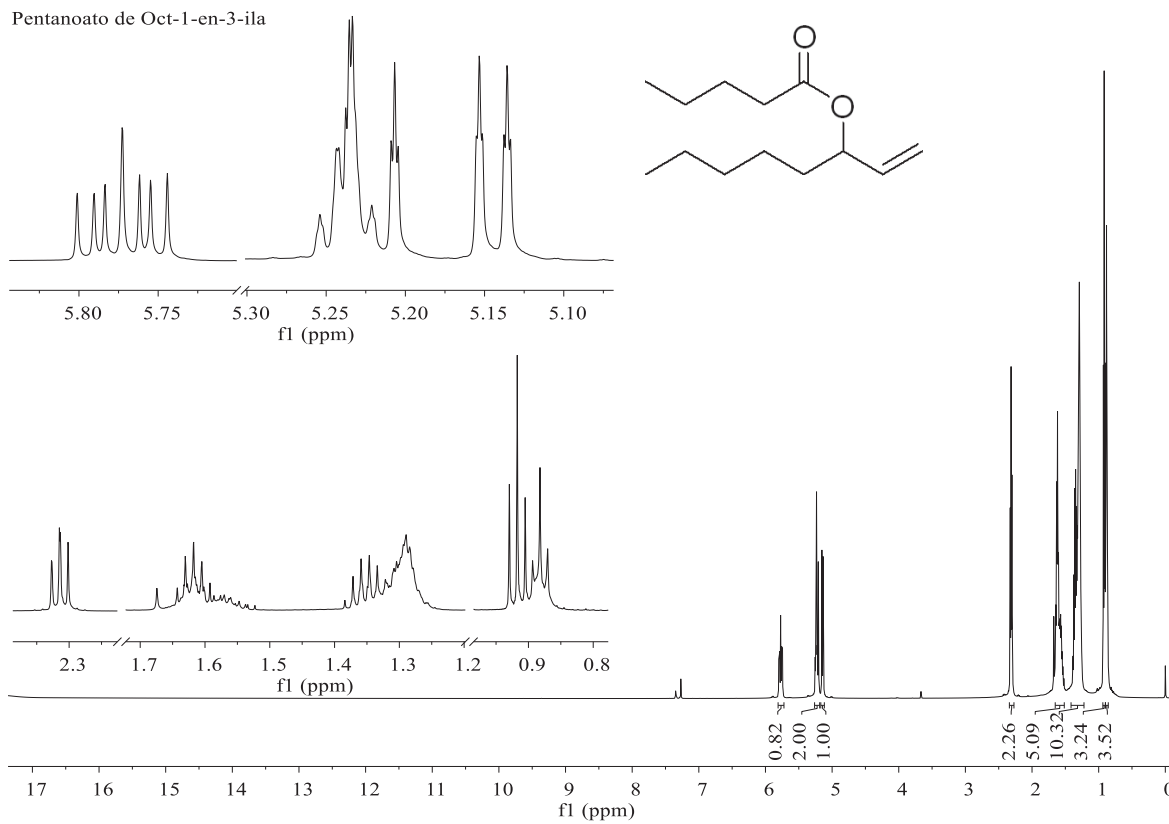




Figura 51. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Pentanoato de 1-Octen-3-ila.

Pentanoato de Oct-1-en-3-ila

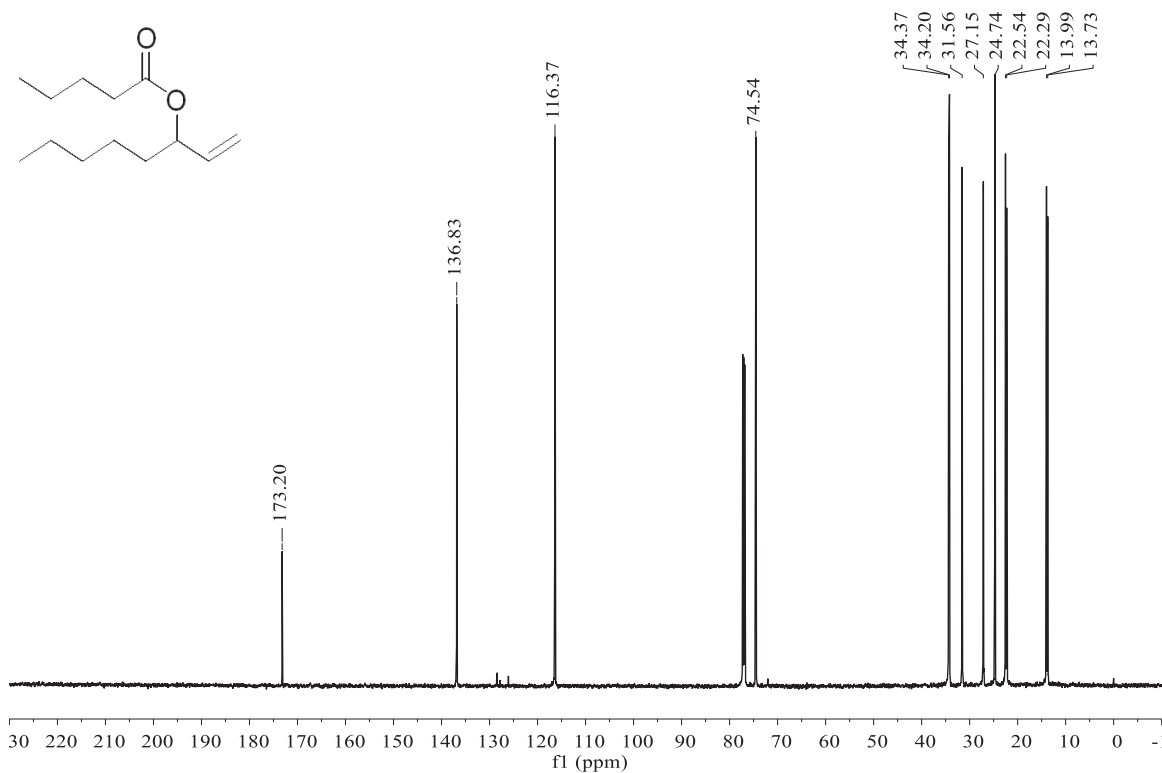


Figura 52. Espectro de massas de Pentanoato de 1-Octen-3-ila.

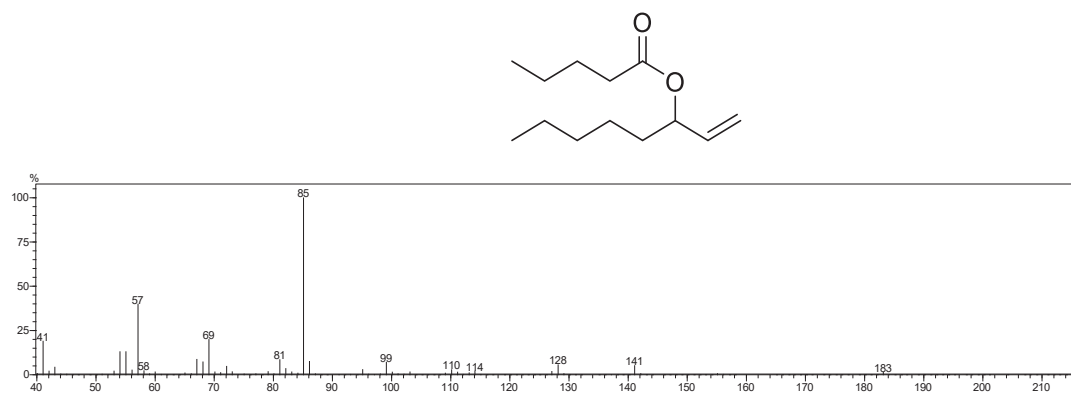
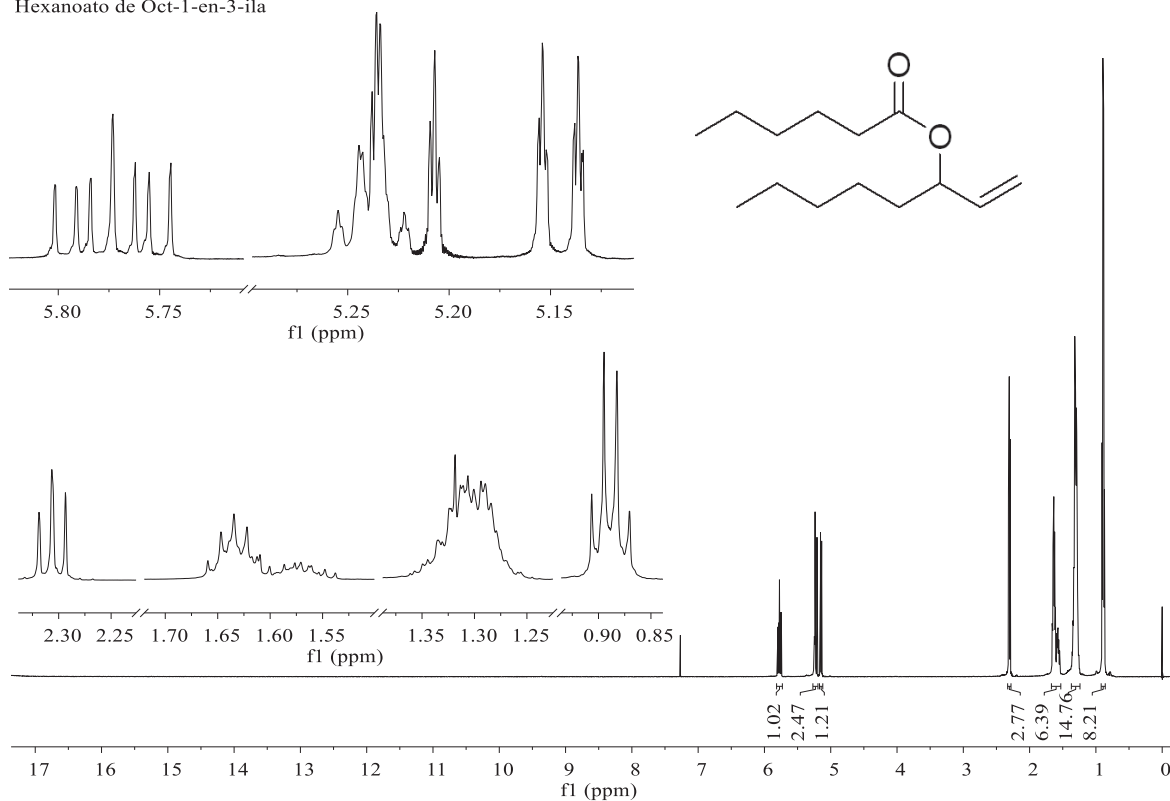


Figura 53. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.

Hexanoato de Oct-1-en-3-ila

Figura 54. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.

Hexanoato de Oct-1-en-3-ila

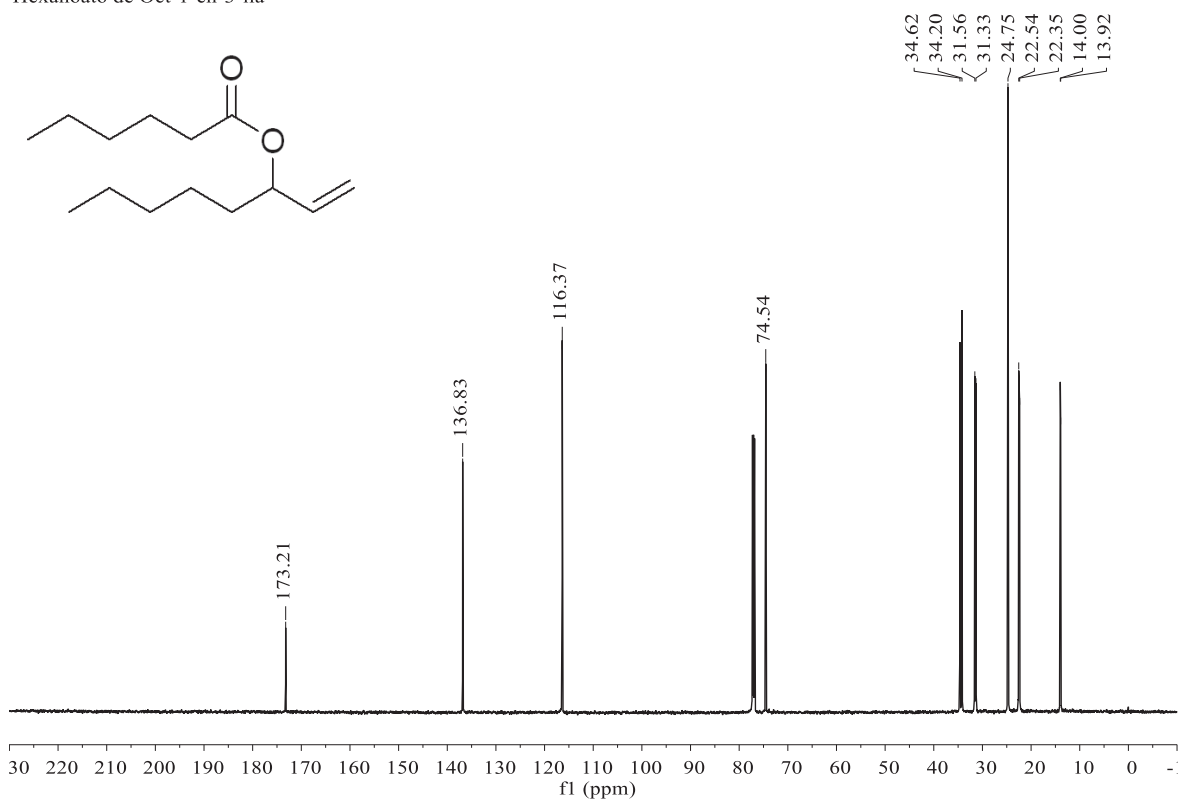


Figura 55. Espectro de massas de Hexanoato de 1-Octen-3-ila.

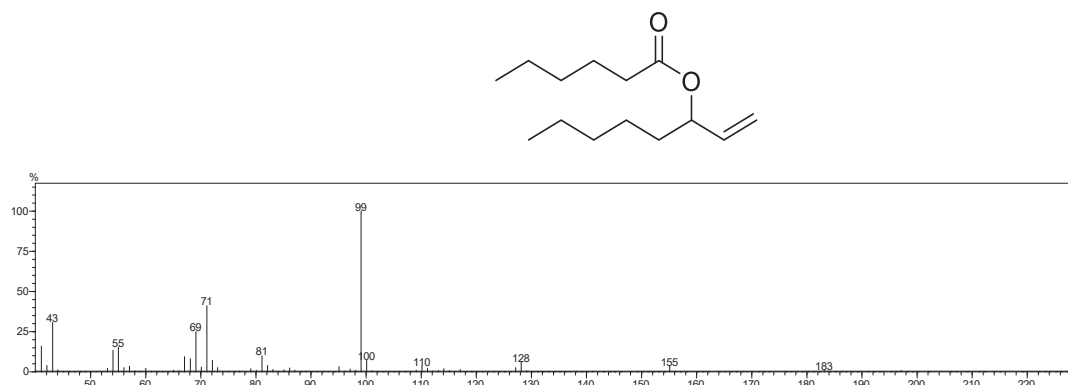
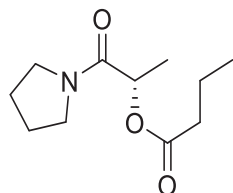
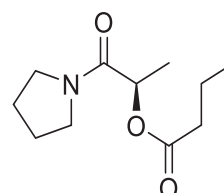
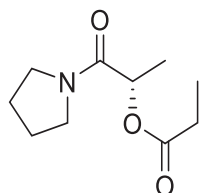
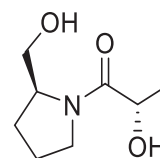
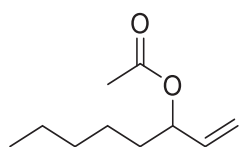
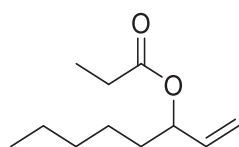


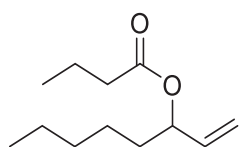
Figura 56. Estrutura química das substâncias sintetizadas

Butirato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila  
(1a)Butirato de (R)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila  
(1c)Propionato de (S)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-ila  
(1d)(S)-2-hidroxi-1-((S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona  
(1e)

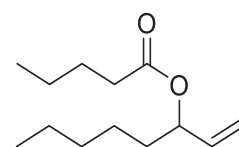
Acetato de 1-Octen-3-ila



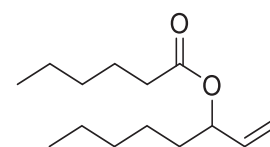
Propionato de 1-Octen-3-ila



Butirato de 1-Octen-3-ila



Pentanoato de 1-Octen-3-ila



Hexanoato de 1-Octen-3-ila