

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDOS DE SÍNTESE, TOXICIDADE E RELAÇÃO
ESTRUTURA-ATIVIDADE DE DERIVADOS INDÓLICOS
3-SUBSTITUÍDOS EM *Aedes aegypti* (Diptera:
Culicidae) E *Artemia* sp. (Artemidae)**

Thaysnara Batista Brito

SÃO CRISTÓVÃO-SE
FEVEREIRO, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDOS DE SÍNTESE, TOXICIDADE E RELAÇÃO
ESTRUTURA-ATIVIDADE DE DERIVADOS INDÓLICOS
3-SUBSTITUÍDOS EM *Aedes aegypti* (Diptera:
Culicidae) E *Artemia* sp. (Artemidae)**

Thaysnara Batista Brito

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, da Universidade Federal
de Sergipe, como requisito à obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

Orientador: Prof. PhD. Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti

SÃO CRISTÓVÃO-SE
FEVEREIRO, 2018

Brito, Thaysnara Batista. ESTUDOS DE SÍNTSE, TOXICIDADE E RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE DERIVADOS INDÓLICOS 3-SUBSTITUÍDOS EM *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) E *Artemia* sp. (Artemidae). 2018.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Sergipe

Brito, Thaysnara Batista
B862e

Estudo de síntese, toxicidade e relação estrutura-atividade de derivados indólicos 3-substituídos em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e *Artemia* sp. (Artemidae) / Thaysnara Batista Brito; orientador Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti. – São Cristovão, 2018.

82f.: il.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Dengue. 2. Chicungunya. 3. Zika virus. 4. *Aedes aegypti*. 5. Indol. I. Cavalcanti, Sócrates Cabral de Holanda, orient. II. Estudo de síntese, toxicidade e relação estrutura-atividade de derivados indólicos 3-substituídos em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e *Artemia* sp. (Artemidae)

CDU 615.285.7:615.9

**ESTUDOS DE SÍNTESE, TOXICIDADE E RELAÇÃO
ESTRUTURA-ATIVIDADE DE DERIVADOS INDÓLICOS
3-SUBSTITUÍDOS EM *Aedes aegypti* (Diptera:
Culicidae) E *Artemia* sp. (Artemidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, da Universidade Federal
de Sergipe, como requisito à obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

Orientador: Professor Dr. Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti, PhD.

1º Examinador: Professor Dr. Marcelo Cavalcante Duarte, DSc.

2º Examinador: Professor Dr. Tiago Branquinho Oliveira, DSc.

PARECER

DEDICÁTORIA

**À minha família (pais e irmãos) com amor
e cuidado. Dedico-lhes esta obra com
infinita gratidão.**

AGRADECIMENTOS

Mais árduo que esta pesquisa, é encontrar as palavras certas e agradecer de forma justa às pessoas especiais que fazem parte da minha vida, e àquelas sem as quais eu jamais teria conseguido estes resultados. Aqui, deixo registrado meu profundo agradecimento.

Primeiramente a Deus pelo dom de existir. Aquele que me deu a vida, me fez forte para lutar e persistir nessa longa caminhada. Agradeço a ti, Senhor, por me proporcionar inteligência e sabedoria.

Aos meus pais Rosimeire e Genilson por não medir esforços para me ajudar e por todos os momentos de apoio em família. “Eu sempre vou te amar...”

Aos meus irmãos Genysson, Nayara e Tayslaine pela constante motivação em toda minha vida e por acreditarem em minha capacidade profissional. Amo vocês!

Ao meu tio Rosivaldo, sua esposa Patrícia e meus primos Radson, Raquel e Rony: o meu eterno agradecimento. Sempre me ajudaram. Tenho um carinho enorme por vocês!

Aos meus amigos, companheiros e ex-companheiros de laboratório Nathália, Rafael, Rafaela, Ulisses e Viviane por todos os momentos compartilhados. Agradeço pelas palavras de força e motivação. Obrigada por fazer parte da minha vida profissional!

À equipe do Laboratório de Parasitologia pela ajuda na cessão das larvas. Obrigada, Prof^a Dr^a Roseli La Corte Santos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química por ceder a sala de Análise do Infravermelho.

O meu grande reconhecimento aos professores Norberto Peporine Lopes (Universidade de São Paulo- Ribeirão Preto) pelas análises de massas e Grace Gosmann (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) pelos espectros de RMN.

Em especial, ao meu orientador Profº PhD. Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti pela ilustre oportunidade de grandes aprendizados. Sou muito grata a ti, por toda paciência e incentivo. Muitíssimo obrigada!

A minha gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro.

“É necessário uma enorme força de vontade e um amor profundo por si mesmo e por aqueles que nos amam e querem que estejamos bem. É necessária uma dose muito grande de perdão. É necessário tentar esquecer uma página do livro da própria vida, rasgá-la, queimá-la. E depois, é preciso aprender a viver sem essa parte, viver uma vida nova e diferente”.

Letícia Thomp

RESUMO

Consideradas doenças virais de grande reemergência no mundo, a dengue, chikungunya e zika têm como principal vetor o *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:Culicidae). O controle vetorial baseado em larvicidas é uma medida importante de prevenir a transmissão de tais infecções. Um grande desafio nas formas de controle desse artrópode está na baixa sensibilidade de sua população através do uso de larvicidas convencionais. Assim, o inseto adquire resistência, reduzindo a eficácia desses pesticidas. Consequentemente, levará a um aumento nos riscos de toxicidade em organismos não-alvo e uma alteração ao meio ambiente. Uma alternativa para evitar problemas ocasionados pela utilização desses produtos é a pesquisa por novos compostos com menos impacto ambiental e melhores benefícios à saúde humana. O anel da molécula do indol representa uma das subunidades com grande importância na descoberta de novos produtos pesticidas para o mercado farmacêutico. Por reação de acilação de Friedel-Crafts, o C-3 deste anel torna suscetível a reagir quimicamente. Assim, foram sintetizados 12 análogos do indol como potenciais agentes larvicidas contra o *Ae. aegypti* no seu 3º estágio larvar, seguido pela avaliação da toxicidade em náuplios de *Artemia* sp. Os compostos sintetizados foram identificados por cromatografia em camada delgada analítica, purificados em coluna cromatográfica de sílica gel 60 (utilizando o sistema binário Hexano: Acetato de etila (90:10, v/v) como fase móvel), e caracterizados por ponto de fusão, RMN de ^{13}C e ^1H (utilizando um pico de solvente residual ou TMS como referência para os espectros de RMN ^1H), espectro de massas e infravermelho. Os bioensaios foram realizados utilizando 20 larvas por teste, copos descartáveis contendo 20 mL da solução teste em triplicata. Derivados de cadeias laterais alifáticas ramificadas foram mais potentes que os demais, e os lineares exibiram oscilação de potência conforme acréscimo das cadeias de metileno. Ensaios de toxicidade apontaram que a (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona, com potência larvicida moderada ($\text{CL}_{50} = 50,59$ ppm), exibiu o maior índice de seletividade ($\text{IS} > 19,7$), sendo menos tóxico para *Artemia* sp do que para o *Ae. aegypti*. As relações entre mudanças estruturais dos derivados do indol e seus resultados de CL_{50} fornecem informações que podem contribuir para a compreensão da influência de propriedades físico-químicas na ação larvícida desta classe de compostos, sem prejuízos ao ecossistema.

Palavras-chave: Indol, Dengue, Chicungunya, Zika, Atividade larvícida e Atividade toxicológica.

Considered viral diseases of major re-emerging in the world, the dengue, chikungunya and Zika have as the main vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Larvicidal vector control is an important measure to prevent the transmission of such infections. A major challenge in the control of this arthropod is the low sensitivity of its population through the use of conventional larvicides. Thus, the insect acquires resistance, reducing the effectiveness of these pesticides. Consequently, it will lead to an increase in the risks of toxicity in non-target organisms and a change in the environment. An alternative to avoid problems caused by the use of these products is the search for new compounds with less environmental impact and better benefits to human health. The indole molecule ring represents one of the subunits of great importance in the discovery of new pesticide products for the pharmaceutical market. By Friedel-Crafts acylation reaction, the C-3 of this ring makes it susceptible to chemically react. Thus, 12 indole analogues were synthesized as potential larvicidal agents against *Ae. aegypti* in its 3rd larval stage followed by the evaluation of the toxicity in nauplii of *Artemia* sp. The compounds were identified by analytical thin-layer chromatography, purified on a silica gel 60 chromatographic column (using the Hexane: Ethyl acetate (90:10, v / v) binary system as the mobile phase) and characterized by melting point, ¹³C and ¹H NMR (using a residual solvent peak or TMS as reference for ¹H NMR spectra), mass spectrum and infrared. Bioassays were performed using 20 larvae per test, disposable cups containing 20mL of the test solution in triplicate. Branched aliphatic side chain derivatives were more potent than the others were, and the linear ones exhibited potency oscillation as the addition of the methylene chains. Toxicity tests indicated that (3-chlorophenyl)1-(1H-indol-3-yl)methanone, with moderate larvicidal potency (LC₅₀ = 50.59 ppm), showed the highest selectivity index (SI >19.7), being less toxic to *Artemia* sp. than *Ae. aegypti*. The relationships between structural changes in indole derivatives and their LC₅₀ results provide information that may contribute to the understanding of the influence of physicochemical properties on the larvicidal action of this class of compounds, without damage to the ecosystem.

Keywords: Indole, Dengue, Chikungunya, Zika, Larvicidal activity, Toxicological activity.

Sumário

DEDICATÓRIA.....	v
AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
SUMÁRIO.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE TABELAS.....	xvi
ÍNDICE DE ESQUEMA.....	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xviii
LISTA DE SÍMBOLOS E FÓRMULAS.....	xx
1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1. DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA	23
2.2. CICLO BIOLÓGICO DO VETOR	26
2.3. CONTROLE E RESISTÊNCIA DO VETOR.....	27
2.4. INDOL: PROPRIEDADES QUÍMICAS E SEUS DERIVADOS.....	28
2.5. <i>Artemia</i> sp. E ECOTOXICOLOGIA	32
2.6. ESTUDOS DE REA	33
3. OBJETIVOS	36
3.1. GERAL	36
3.2. ESPECÍFICOS.....	36
4. EXPERIMENTAL	37
4.1 ESPECIFICAÇÕES DOS MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	37
4.1.1. Aparelhos utilizados	37
4.1.2. Substâncias, reagentes e outros materiais utilizados	37
4.1.3. Métodos cromatográficos	38

4.2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS DO INDOL	40
4.2.1. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)etanona (5a)	41
4.2.2. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona (5b)	41
4.2.3. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona (5c)	42
4.2.4. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)pentan-1-ona (5d)	43
4.2.5. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona (5e)	44
4.2.6. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)heptan-1-ona (5f)	45
4.2.7. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona (5g)	46
4.2.8. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona (5h)	47
4.2.9. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3-metilbutan-1-ona (5i)	48
4.2.10. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3,3-dimetilbutan-1-ona (5j)	49
4.2.11. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)(fenil)metanona (5k)	50
4.2.12. Síntese do (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona (5l)	51
4.3. ENSAIO LARVICIDA CONTRA <i>Ae. aegypti</i>	52
4.3.1 Obtenção dos ovos	52
4.3.2 Eclosão das larvas	53
4.3.3 Preparação das soluções estoque dos compostos	53
4.3.4 Exposição das larvas	53
4.4 ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM <i>Artemia</i> sp	54
4.4.1 Obtenção dos cistos	54
4.4.2 Eclosão dos náuplios	54
4.4.3 Preparação das soluções estoque dos compostos	54
4.4.4 Exposição dos náuplios	54
4.5 ANÁLISE ESTÁTISTICA	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56

5.1. SÍNTESE	56
5.2. ATIVIDADE LARVICIDA CONTRA <i>Ae. aegypti</i>	58
5.3. ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM <i>Artemia</i> sp	59
5.4. REA	61
6. CONCLUSÃO	67
7. REFERÊNCIAS	68
ANEXOS.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Criomicroscopia eletrônica do vírus <i>Flavivirus</i>.....	23
Figura 2. Micrografia do vírus Zika.....	24
Figura 3. Criomicroscopia eletrônica do vírus <i>Alphavirus</i>.....	25
Figura 4. Ciclo biológico do <i>Ae. aegypti</i>.....	26
Figura 5. Estrutura química do piriproxifeno.....	28
Figura 6. Estrutura química do indol.....	29
Figura 7. Introdução benzofenonas na molécula do indol.....	30
Figura 8. Introdução de grupamentos amídicos na molécula do indol....	30
Figura 9. Introdução de grupamentos acilas na molécula do indol.....	31
Figura 10. Gráfico da relação entre estrutura e atividade larvicida com concentração letal de 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) da série homóloga de derivados do indol com cadeias alifáticas lineares.....	61
Figura 11. Estrutura química dos derivados do indol (2) com cadeia lateral alifática linear (5a-5f), seguida de suas respectivas CL₅₀.....	62
Figura 12. Relação entre estrutura e atividade de toxicidade ambiental com concentração letal de 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) da série homóloga de derivados do indol com cadeias alifáticas lineares.....	63

Figura 13. Estrutura química dos derivados do indol (2) com cadeia lateral alifática ramificada (5g-5j), seguida de suas respectivas CL₅₀.....64

Figura 14. Estrutura química dos derivados do indol (1) com cadeia lateral aromática (5k-5l), seguida de suas respectivas CL₅₀.....65

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Fórmula molecular, massa molecular e rendimento dos compostos sintetizados.....	57
Tabela 2. Dados espectroscópicos e espectrométricos do composto inédito sintetizado.....	58
Tabela 3. Valores da concentração letal 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) (Log 1/CL₅₀ Molar) nos ensaios larvicidas contra Ae. aegypti.....	58
Tabela 4. Valores da concentração letal 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) (Log 1/CL₅₀ Molar) nos ensaios de toxicidade com <i>Artemia</i> sp.....	59
Tabela 5. Valores da concentração letal 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) nos ensaios de atividade larvicida contra Ae aegypti e de toxicidade com <i>Artemia</i> sp, seguidos dos seus Índices de Seletividade (IS).....	60
Tabela 6. Descritores que apresentaram correlação significativa com a atividade larvicida contra o <i>Aedes aegypti</i> e atividade toxicológica frente a náuplios de <i>Artemia</i> sp.	69

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Reação de Friedel-Crafts.....	32
Esquema 2. Mecanismo da síntese dos derivados indólicos 3-substituídos, via reação de Friedel-Crafts.....	40
Esquema 3. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)etanona.....	41
Esquema 4. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona	42
Esquema 5. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona.....	43
Esquema 6. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)pentan-1-ona.....	44
Esquema 7. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona.....	45
Esquema 8. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)heptan-1-ona.....	46
Esquema 9. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona.....	47
Esquema 10. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona.....	48
Esquema 11. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3-metilbutan-1-ona.....	49
Esquema 12. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3,3-dimetil-butan-1-ona.....	50
Esquema 13. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)(fenil)metanona.....	51
Esquema 14. Síntese do (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona.....	52
Esquema 15. Esquema geral da síntese dos derivados do indol.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ae. - *Aedes*

B.t.i. - *Bacillus thuringiensis*

Calcd - Calculado

CCDA - Cromatografia em camada delgada analítica

CHIKV - Chikungunya vírus

CL₅₀ - Concentração letal que mata 50 % da população em estudo

DENV - Denominação atribuída aos sorotipos do vírus da dengue

EM- Espectro de massas

ESI - Electrospray ionization

FCFRP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

FT-IR - Infravermelho por transformada de Fourier

Hz - Hertz

IC - Intervalo de confiança

ISQ- Inibidor da síntese de quitina

IV - Infravermelho

KBr - Brometo de potássio

M - Massa

MHz- Mega Hertz

MS - Ministério da Saúde

Obtd - Obtido

OMS - Organização Mundial da Saúde

PF - Ponto de fusão

ppm - Parte por milhão

RCIs - Reguladores de crescimento de insetos

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

REA - Relação estrutura-atividade

REAQ - Relação estrutura-atividade quantitativa

™ - Trademark

TMS - Tetrametilsilano

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UFS - Universidade Federal de Sergipe

UofT - University of Toronto

USP - Universidade de São Paulo

ZIKV- Zika virus

LISTA DE SÍMBOLOS E FÓRMULAS

br.s. - “broad singlet” (simpleto amplo)

$^{\circ}\text{C}$ - grau Celsius

σ - deslocamento químico

% - porcentagem

cm^{-1} - inverso do centímetro

C - Carbono

CDCl_3 - Clorofórmio deuterado

CH_2Cl_2 - Diclorometano

CH_3NO_2 - Nitrometano

$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ - Acetato de etila

$\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ - Éter etílico

d - duploto

dt - duploto de tripletos

DMSO - Dimetilsufóxido

g - grama

H - Hidrogênio

h - hora

H_2O - Água

Hz - Hertz

J - constante de acoplamento

L - Litro

mmol - milimolar

mL - Mililitro

MgSO_4 - Sulfato de magnésio anidro

m - multiploto

Na^+ - Sódio

Na_2SO_4 - Sulfato de sódio anidro

q - quadruploto

s - singletos

sp. - espécie

SnCl_4 - Tetracloreto de Estanho

1. INTRODUÇÃO

Dengue, chikungunya e zika constituem três grandes doenças virais com epidemias recorrentes no mundo (Barnay et al., 2016). A primeira, caracterizada como uma doença febril, a segunda, por apresentar um quadro clínico de dores articulares, adquirindo uma aparência curvada em doentes acometidos e a terceira é especificada por ser uma enfermidade autolimitada relacionada à erupção cutânea, condições neurológicas e aumento das taxas de microcefalia em recém-nascidos (Liu et al., 2017).

Os principais vetores das enfermidades acima mencionadas são espécies do gênero *Aedes*, em especial o *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), identificado por apresentar manchas brancas nas pernas e uma marca sobre o tórax, na forma de uma lira (Engdahl et al., 2015; Garcia et al., 1969; Weaver et al., 2016). Seu ciclo de vida compreende quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos (Beserra et al., 2009). Para completar o desenvolvimento e amadurecimento dos ovos, a fêmea deste mosquito ingere nutrientes e hormônios do sangue de vertebrados, particularmente o sangue de humanos (Talyuli et al., 2015).

A incidência de condições neurológicas, tais como a meningoencefalite e a síndrome de Guillain-Barré, foi associada a infecções pelo ZIKV (Araujo et al., 2016; Carteaux et al., 2016). Além disso, evidências científicas e epidemiológicas comprovaram a presença de uma sequência viral do ZIKV em cérebro dos fetos de gestantes infectadas por este vírus. Diagnósticos incluíram atrofia, com calcificações presentes sobre a substância branca do cérebro fetal que resultam em microcefalia (Oliveira Melo et al., 2016; Rubin et al., 2016).

O controle vetorial baseado em larvicidas é uma medida importante de prevenir a transmissão de tais infecções. Dentre os larvicidas aprovados para uso, no Brasil, citam: o inibidor da acetilcolinesterase (AchE), como o temefós; os inibidores da síntese de quitina, como novaluron e diflubenzuron; toxinas de bactérias, utilizadas em locais de procriação, como *Bacillus thuringiensis israelensis* (B.t.i.) e *Bacillus sphaericus* (Guzmán e Kourí, 2002; Grigoraki et al., 2016; Vontas et al., 2012); além dos reguladores do crescimento de insetos (RCIs), como metopreno e piriproxifeno. Este é atualmente utilizado em substituição à toxina do B.t.i. Ademais, já foi aprovada uma vacina contra

dengue, a DengvaxiaTM (Recker et al., 2016), mas apresenta limitações no seu uso.

Porém, um grande desafio nas formas de controle desse artrópode está na baixa sensibilidade de sua população através do uso de larvicidas e inseticidas convencionais. Assim, o inseto adquire resistência, reduzindo a eficácia desses pesticidas (Bellinato et al., 2016; Brito et al., 2013; Khan et al., 2016; Rodríguez et al., 2012). Com isso, faz-se necessário aplicações crescentes de pesticidas ou a troca de um pesticida para outro. Consequentemente, levará a um aumento nos riscos de toxicidade em organismos não-alvo e uma alteração ao meio ambiente (Cunningham, 1976; Vieira Santos et al., 2017).

Uma alternativa para se evitar problemas ocasionados pela utilização de agentes pesticidas é a realização de pesquisa por novos produtos com menos impacto ambiental e melhores benefícios à saúde humana. O anel da molécula do indol representa uma das subunidades com grande importância na descoberta de novos produtos pesticidas para o mercado farmacêutico.

O indol e seus análogos apresentam uma variedade de atividades biológicas e farmacológicas comprovadas em literatura (El Ashry et al., 2013; Hu et al., 2016; Licznerska e Baer-Dubowska, 2016; Nge et al., 2016; Teguh et al., 2013), incluindo atividades repelente, atraente e inseticida (Bao et al., 2017; Bohbot et al., 2011; Chen et al., 2016). Estudos prévios com o indol demonstraram que a sua atividade é promissora (76 ppm) como agente larvicida.

Para determinar a toxicidade aguda de produtos químicos frente a uma espécie não-alvo, um teste simples com microcrustáceos tem sido utilizado e representa um pre-screening para fornecer informações iniciais de toxicidade ambiental. Estes ensaios são realizados através de um estudo prévio de toxicologia em microcrustáceos *Artemia* sp. (Vanhaecke e Persoone, 1981).

Diante do exposto, o presente trabalho buscou a modificação na molécula do indol por inclusão de grupos funcionais em locais específicos a fim de melhorar sua atividade larvicida frente a larvas do mosquito *Ae. aegypti* (organismo alvo), além de determinar sua toxicidade aguda em organismos não-alvo (*Artemia* sp.). Com a finalidade de encontrar compostos mais potentes e seletivos contra este vetor, sem prejuízos ao ecossistema.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA

O mosquito *Aedes aegypti* é considerado de alto valor epidemiológico, por ser o principal vetor de três grandes arboviroses com elevados surtos de infecção registrados nos últimos anos (Barbosa da Silva et al., 2002; Barreto and Teixeira, 2008; Kraemer et al., 2015; Nogueira et al., 1990; Powers e Logue, 2007; Schatzmayr, 2000; Weaver e Forrester, 2015). Dengue, chikungunya e zika vêm apresentando consequências significativas à população mundial e são consideradas importantes doenças virais transmitidas por artrópodes (Maniero et al., 2016).

O vírus da dengue (DENV, figura 1) e zika (ZIKV, figura 2, página 26) pertencem ao gênero *Flavivirus*, membro da família Flaviviridae. O DENV possui cinco sorotipos circulantes, sendo o DENV-5 isolado em Outubro de 2013 durante a triagem de amostras de um agricultor no estado de Sarawak, na Malásia, e antigenicamente diferente dos demais sorotipos (Guzmán e Kourí, 2002; Mustafa et al., 2015).



Figura 1: Criomicroscopia eletrônica do vírus Dengue.

Fonte: <http://footage.framepool.com/en/shot/175282356-encefalitis-west-nile-virus-meningitis-flavivirus>

Infecções pela dengue podem variar de um grau assintomático a um estado grave. O período para aparecimento dos sintomas varia de 3 a 14 dias e envolve febre alta, erupção cutânea com manchas vermelhas. Na fase clínica da doença, além dos sintomas apresentados, têm-se dor de cabeça e mialgia; na fase de febre hemorrágica ou síndrome de choque de dengue, inclui perda de fluidos extensa, hepatomegalia e choque.

Isolado e identificado pela primeira vez em 1943 (Messina et al., 2014), o DENV vem sendo disseminando por todo o mundo e o seu principal condicionante é a variação nas condições climáticas (Fernandes et al., 2016; Silva et al., 2009a).

No Brasil, a introdução da dengue com confirmação laboratorial ocorreu em meados de 1981 e 1982, na cidade de Boa Vista (Roraima), onde foram isolados os sorotipos DENV-1 e DENV-4. A partir daí o país já vivenciou diversos surtos epidêmicos (Forattini, 1995; Schatzmayr, 2000; Schatzmayr et al., 1986).

Nas infecções pelo ZIKV, em sua maior parte, o indivíduo acometido permanece assintomático. Dentre as principais manifestações clínicas incluem: febre de baixo grau, cefaléia, prurido, erupção maculopapular eritematosa, conjuntivite não purulenta, mialgia e artralgia (Chang et al., 2016; Liu et al., 2017).

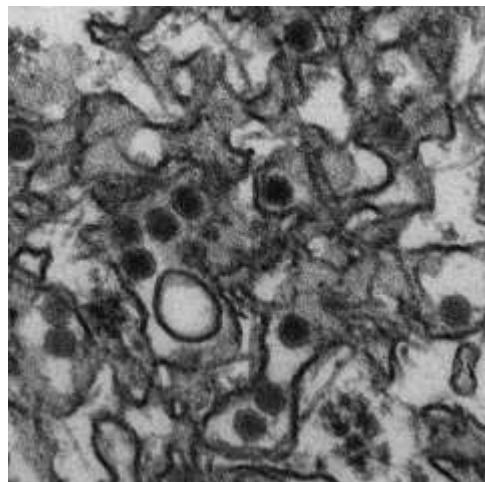


Figura 2: Micrografia do vírus Zika. As partículas virais têm em torno de 40 nm de diâmetro, com um núcleo denso e cápsula exterior.

Fonte: <https://www.cdc.gov/zika/>

O vírus Zika (ZIKV) foi isolado pela primeira vez em 1947 a partir de um primata não humano, macaco *rhesus*, na floresta Zika (Uganda, África). Posteriormente, em 1948, foi identificado a partir de mosquitos, no mesmo continente. Apesar da doença ter sido conhecida por infectar humanos a partir dos anos 50, somente em 1969, na Nigéria, este vírus foi isolado de um ser humano (Chang et al., 2016; Musso and Gubler, 2016).

O primeiro caso de transmissão autóctone de ZIKV registrado no Brasil ocorreu em maio de 2015. A ocorrência crescente de casos de microcefalia em bebês nascidos no país comprova que há uma forte relação entre a infecção pelo vírus e uma lesão cerebral. O surto do ZIKV apareceu paralelo à incidência de casos de microcefalia em diversas regiões brasileiras (Chang et al., 2016).

O vírus da chikungunya (CHIKV, figura 3) pertence ao gênero *Alphavirus*, membro da família Togaviridae. Em sua grande maioria, pacientes com a febre chikungunya é sintomática, com um período de incubação de 2 a 4 dias e envolve febre alta, erupções cutâneas e maculopapular, intensas dores e inchaço nas articulações (pode estender a 3 anos, na fase crônica da doença). Em casos raros, pode apresentar retinite, mielite e meningoencefalite.

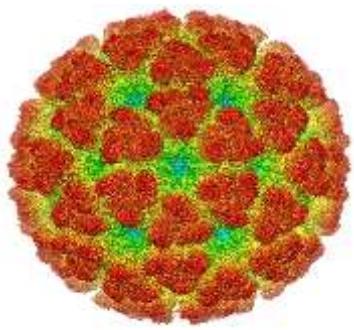


Figura 3: Criomicroscopia eletrônica do vírus Chikungunya.

Fonte: <http://www.genengnews.com/gen-news-highlights/developing-a-single-vaccine-for-chikungunya-and-related-viruses/81251970>

A doença chikungunya (CHIK) foi relatada pela primeira vez no sul da Tanzânia, localizada na África Oriental, em 1952 e, subsequentemente, o CHIKV foi disseminado pela África subsaariana, sudoeste da Ásia e pelo Pacífico, provocando grandes surtos (Sudeep e Parashar, 2008; Weaver e Forrester, 2015).

A infecção por CHIKV normalmente é transmitida entre humanos pelos vetores antropofílicos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Quatro genótipos CHIKV foram identificados desde a sua descoberta em 1952. O primeiro registro de transmissão da febre CHIK nas Américas ocorreu em 2013, no Caribe. Em seguida, em 2014 foi confirmada a ocorrência no Brasil (Oiapoque) (Donalilio and Freitas, 2015).

2.2. CICLO BIOLÓGICO DO VETOR

A ocorrência do *Ae. aegypti* foi primeiramente descrita no Egito por Linnaeus, em 1762 (Christophrs, 1960), estando o mosquito presente nos trópicos e subtrópicos em praticamente todo o continente americano, no Sudeste da Ásia, e em toda a Índia (Kraemer et al., 2015). Pertencente ao filo Artropoda (pés articulados), este vetor é identificado por apresentar manchas brancas nas pernas e uma marca sobre o tórax na forma de uma lira (Engdahl et al., 2015). Esse inseto constitui um ciclo biológico completo, ou seja, é holometábolo (fase oval ao adulto) (figura 4) (Cardilya, 2012).

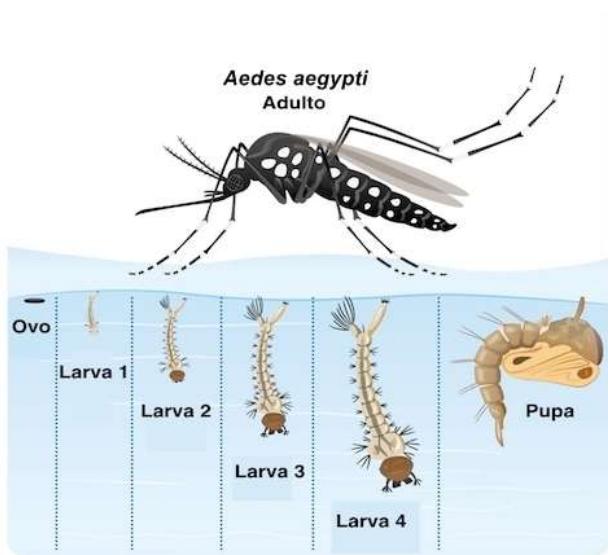


Figura 4: Ciclo biológico do *Ae. aegypti*.

Fonte: <http://pt.depositphotos.com/portfolio-4297405.html> (Adaptado)

Os ovos do *Ae. aegypti* têm um comprimento aproximado de 1 mm, são depositados individualmente pela fêmea na superfície de recipientes com água parada e adquirem uma coloração negra brilhante. O desenvolvimento completo do embrião se dá em 2 dias, em condições de temperatura e umidade. Os ovos são capazes de resistir por mais de um ano em locais isentos de água e se, em contato com água, pode haver eclosão (Sanofi, 2007). Permitindo, assim, o seu transporte a longas distâncias tornando o principal meio de dispersão do mosquito (Silva et al., 2009).

A fase larvar é um período de alimentação e crescimento. Elas se alimentam de substâncias orgânicas, bactérias, fungos presentes na água. Em condições de temperatura (25 a 29°C) e boa alimentação, essa fase pode

alcançar 10 dias a algumas semanas. As larvas movimentam-se em forma de “S” e é sensível a movimentos bruscos.

A fase de pupa é quando ocorre a mudança da fase larvar para a adulta e tem duração de 2 dias, em condições de temperatura. A pupa não se alimenta e, raramente, é atingida por ação de larvicidas.

Na fase adulta, o macho e a fêmea alimentam-se de néctar e sulcos vegetais até o acasalamento. A partir de então, a fêmea necessita de sangue para a maturação dos ovos, que acontece geralmente durante o dia (Sanofi, 2007).

2.3. CONTROLE E RESISTÊNCIA DO VETOR

Até o momento, as medidas de saúde pública mais eficazes estão voltadas para o controle da população de mosquitos pelo uso de larvicidas e para a prevenção da exposição direta do ser humano ao vetor (Engdahl et al., 2015; Guidelines, 2009; Ramanibai et al., 2015).

Uma vacina contra dengue foi aprovada, a DengvaxiaTM, porém, apresenta eficácia de 60% e seu uso é restrito a indivíduos com idades entre 9 e 45 anos que vivem em áreas endêmicas e que já foram infectados por, pelo menos, um dos sorotipos do vírus. Os fatores econômico e financeiro da população também limitam o seu uso (Recker et al., 2016).

Atualmente, de acordo com a OMS, o pesticida mais utilizado no Brasil é o piriproxifeno (1, figura 5, página 28). Regulador de crescimento de insetos (RCI), o piriproxifeno é destacado por apresentar grande potencial para substituir a toxina do *Bacillus thuringiensis israelensis*, a qual causou resistência à população do *Ae. aegypti* em um período de 2 meses (Belinato and Valle, 2015). Este agente químico interrompe o crescimento do inseto, inibindo o desenvolvimento de suas características adultas, como asa, maturação dos órgãos reprodutivos e genitália externa.

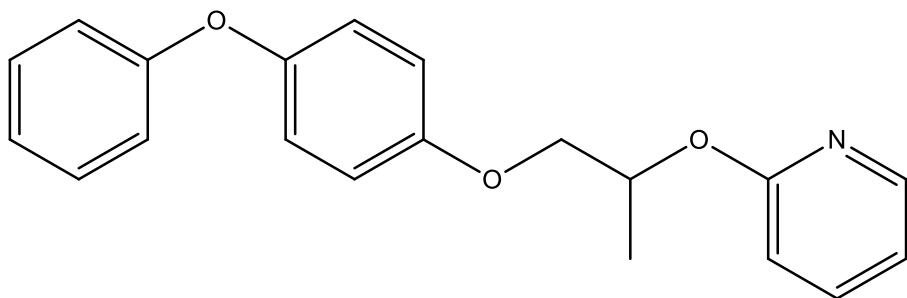


Figura 5. Estrutura química do piriproxifeno (1).

Há registros de vários locais que apresentaram uma emergência de populações do *Ae. aegypti* resistentes aos produtos químicos comumente utilizados no Brasil e no mundo. Devido a este fator, faz-se necessário aplicações crescentes de pesticidas ou a troca de um pesticida para outro, levando a um aumento no risco de toxicidade em organismos não-alvo e alteração no meio ambiente. Apesar desses indícios, as medidas efetivamente empregadas para o controle de mosquitos ainda estão voltadas ao uso de inseticidas sintéticos.

O Laboratório de Química Farmacêutica (LQF), da Universidade federal de Sergipe, vem trazendo resultados significativos, através de técnicas modernas da química medicinal, na obtenção de moléculas bioativas. Compostos inéditos (uma vez pesquisados no banco de dados ScinFinder e não encontrados, em scifinder.cas.org) são sintetizados periodicamente por nossa equipe no intuito de desenvolver novas classes de agentes larvicidas.

2.4. INDOL: PROPRIEDADES QUÍMICAS E SEUS DERIVADOS

A molécula do indol (2, figura 6, página 29) apresenta importância significativa para o grupo de pesquisas do LQF. Derivado do aminoácido triptofano, o indol tem em sua estrutura um anel aromático heterocíclico presente em várias substâncias essenciais às reações metabólicas do vetor *Ae. aegypti* (Bohbot et al., 2011; Han et al., 2002). Em estudos, esta molécula exibiu um potencial larvicida favorável ($CL_{50} = 76,0$ ppm, 648 μ molar) frente a larvas do *Ae. aegypti*.

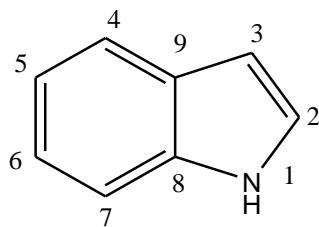
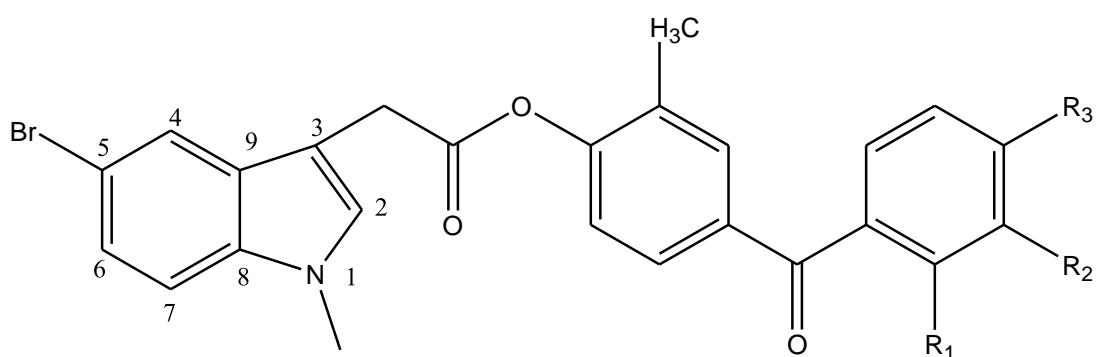


Figura 6. Estrutura química do indol (2).

O bloqueio da via desse aminoácido resultaria em um déficit na produção de compostos importantes para o desenvolvimento do artrópode, como a síntese dos omocromos (pigmentos dos olhos de alguns insetos) e destoxificação de espécies reativas contendo radical oxigênio (Han et al., 2002). Em determinadas concentrações o indol é tóxico ao mosquito de *Escherichia coli* (Thanabalu et al., 1996a), além de atraí-lo para meios contento larvicidas por ativar receptores neuronais olfativos do vetor (Bohbot et al., 2011).

Relatos da literatura comprovaram uma variedade de atividades inseticida, atraente e repelente do indol frente a insetos (Bohbot et al., 2011; Chen et al., 2016b; Lai et al., 2017; Liu et al., 2017). Em determinadas concentrações este alcaloide demonstrou ser tóxico a larvas das espécies *Culex quinquefasciatus* e *Ae. aegypti* (Thanabalu et al., 1996), o que levou à escolha dessa substância como sendo o protótipo das reações desta pesquisa.

Ranganatha e colaboradores (2013) provaram que uma série análoga de indol (**3a-3j**) demonstrou atividades larvicidas satisfatórias contra *Culex quinquefasciatus*, ganhando destaque a molécula **3j** ($R_1=R_2=R_3= H$, $CL_{50}= 1,63$ ppm, 3,5 μ molar) (figura 7, página 30).



- | | |
|---|--------------------------------------|
| $R_1=R_2=H$, $R_3=OCH_3$ (3a) | $R_1=Br$, $R_2=R_3=H$ (3f) |
| $R_1=R_2=H$, $R_3=CH_3$ (3b) | $R_1=R_2=H$, $R_3=Br$ (3g) |
| $R_1=CH_3$, $R_2=R_3=H$ (3c) | $R_1=R_2=H$, $R_3=F$ (3h) |
| $R_1=R_3=H$, $R_2=CH_3$ (3d) | $R_1=R_3=Cl$, $R_2=H$ (3i) |
| $R_1=R_3=H$, $R_2=Cl$ (3e) | $R_1=R_2=R_3=H$ (3j) |

Figura 7: Introdução de benzofenonas na molécula do metil-indol (**3a-3j**).

À princípio, o grupo do LQF propôs uma modificação no C-3 do indol, pela introdução de grupos amídicos. Esta molécula provou que apresenta atividade larvicida moderada contra o *Ae. aegypti* (495 ppm). Além disso, um estudo de REA com seus derivados (**4a-4k**, figura 8) mostrou um aumento de até 640% na atividade larvicida, quando o número de carbonos da cadeia lateral da amida é aumentado (Oliveira et al., 2014). Os efeitos deste grupamento foram observados, sendo que a molécula N- (2- (1H-indol-3-il) etil)-2,2,2-tricloroacetamida exibiu o maior potencial larvicida (**4k**, $CL_{50} = 48,6$ ppm, 159 μ molar) (Oliveira et al., 2014).

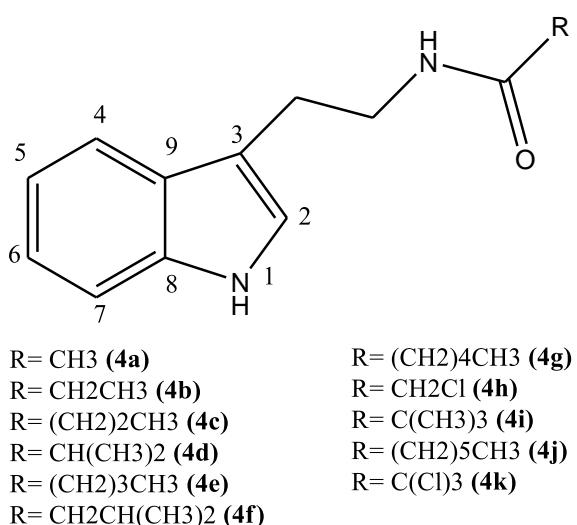
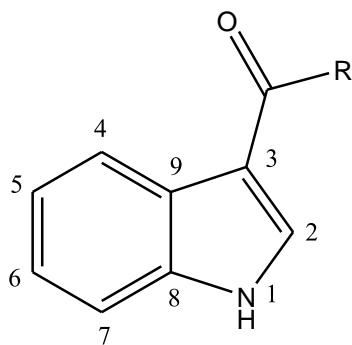


Figura 8. Introdução do grupamento amídico na molécula do indol (**4a-4k**).

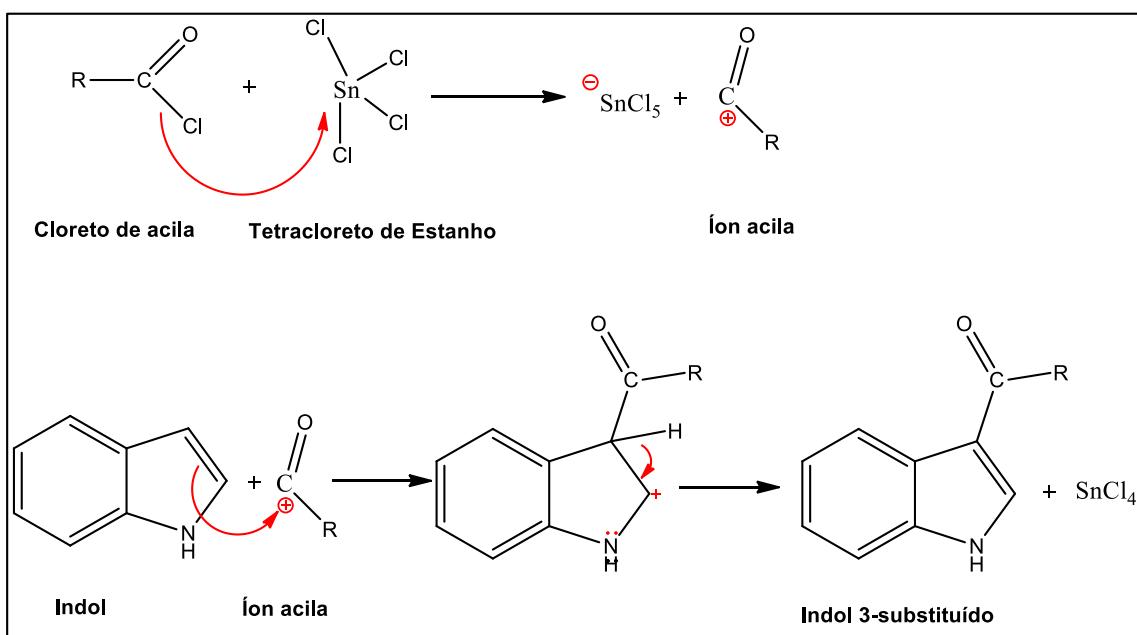
Estes resultados levaram a uma orientação do presente estudo. Com isso, na busca de moléculas mais potentes, a equipe buscou uma alteração do grupamento no C-3 do indol, obtendo derivados acilas (**5a-5l**, figura 9).



$R = \text{CH}_3$ (5a)	$R = \text{C}(\text{CH}_3)_3$ (5h)
$R = \text{CH}_2\text{CH}_3$ (5b)	$R = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (5i)
$R = (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ (5c)	$R = \text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ (5j)
$R = (\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ (5d)	$R = \text{C}_6\text{H}_5$ (5k)
$R = (\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ (5e)	$R = \text{C}_6\text{H}_4(m\text{-Cl})$ (5l)
$R = (\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ (5f)	
$R = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (5g)	

Figura 9. Introdução de grupamentos acilas na molécula do indol (**5a-5l**).

Esta modificação ocorre através de uma reação de acilação de Friedel-Crafts (esquema 1, página 32), por adição do grupamento acila, numa substituição eletrofílica aromática (Solomons e Fryhle, 2012). Descoberta em 1877 pelos químicos Charles Friedel e James Crafts, este tipo de reação envolve o uso de um catalisador atuando como ativador do eletrófilo, o qual tornará deficiente em elétrons, com carga parcialmente positiva (carbocáton), apto a sofrer um ataque pelo nucleófilo que, neste caso, trata-se de um composto contendo anel aromático (rico em elétrons π), obtendo os compostos acilados.



Esquema 1. Reação de Friedel-Crafts.

Este tipo de reação ocorre de forma regiosseletiva, onde tem preferência em regiões na molécula com maior disponibilidade de pares de elétrons para doar ao carbocátion.

2.5. *Artemia* sp. E ECOTOXICOLOGIA

Estudos de toxicidade são realizados como forma de avaliar ou prever efeitos tóxicos sobre os sistemas biológicos e a toxicidade relativa dos compostos para o meio ambiente, através de um ensaio prévio de ecotoxicologia sobre organismos vivos. Várias espécies devem ser utilizadas como organismos-teste, a exemplo do microcrustáceo *Artemia* sp., peixes e plantas.

Por ser de manipulação relativamente simples em laboratório e de ampla distribuição, a *Artemia* sp. vem sendo extensamente utilizada como um indicador em testes agudos de toxicidade (Silva et al., 2016). Sendo assim, este bioensaio ocorre de forma rápida, com baixo custo econômico e alta reprodutibilidade (Nunes et al., 2006).

A *Artemia* sp. é uma espécie de microcrustáceo de água salgada, pertencente ao filo Arthropoda (Lima, 2009). Seu ciclo de vida ocorre entre 1 e 3 semanas e compreende ovos, ovos secos (cistos), larvas (náuplios) e adultos (macho e fêmea).

Estudos de letalidade com esta espécie são relatados em literatura. Toxicidade de plantas usadas na medicina tradicional é citada por Miao e colaboradores (Miao et al., 2012). Toxicidade em agentes molucicida e larvicida é explicada por Luna e colaboradores (2005); e inseticida por Uchida e colaboradores (2005) (Miao et al., 2012; Uchida et al., 2005).

Em estudos prévios, metil cinamato exibiu toxicidade semelhante frente à nauplios de *Artemia salina* e larvas de *Ae. aegypti* (35,5 e 35,4 ppm, respectivamente), um indicativo de toxicidade ambiental elevada (Fujiwara et al., 2017). Piriproxifeno, um larvicida comercial atualmente utilizado no controle do *Ae. aegypti*, demonstrou ser extremamente tóxico a *A. salina* na concentração acima de 0,001 ppm (Vieira Santos et al., 2017). Diflubenzuron causa alteração nos perfis de reprodutibilidade da *A. salina* em concentrações entre 0,001 e 0,01 ppm e mortalidade acima de 0,01 ppm (Cunningham, 1976).

2.6. ESTUDOS DE REA E RQEA

A maioria dos fármacos age num sítio específico, seja enzima ou receptor. Com isso, compostos estruturalmente semelhantes tendem a apresentar mesmas atividades farmacológicas, porém podem exibir diferentes potências e efeitos colaterais e, em alguns casos, diferentes atividades. Essas diferenças estruturalmente relacionadas são comumente conhecidas como Relação Estrutura-Atividade (REA) ou Structure-Activity Relationship (SAR) (Korolkovas, 1977).

O estudo de REA de um composto protótipo e de seus análogos visa determinar partes da estrutura do protótipo responsáveis por sua atividade biológica (farmacóforo) e por seus efeitos colaterais. Estas informações também são utilizadas para o desenvolvimento de novos fármacos com atividade aumentada, atividade diferente e menos efeitos colaterais indesejados.

As REAs são determinadas fazendo pequenas alterações na estrutura do protótipo e avaliação do efeito que esta pequena alteração teve sobre a atividade biológica. Algumas modificações estruturais específicas utilizadas são: dimensão e conformação no esqueleto de carbono, natureza e grau de substituição e estereoquímica do protótipo. Vários compostos protótipos já foram investigados, sendo possível fazer generalizações amplas sobre os efeitos biológicos de alterações estruturais específicas.

Quanto à alteração no tamanho e conformação, pode-se modificar a estrutura de uma molécula alternando o número de grupamentos metíleno (-CH₂) nas cadeias e nos anéis; aumentando ou diminuindo o grau de insaturação; ou introduzindo ou removendo um sistema de anel.

Quanto à introdução de novos substituintes, pode-se incluir grupamentos alquílicos, influenciando no aumento da lipofilia (tendência de acúmulo nos tecidos adiposos) e no aumento ou redução das taxas de metabolismo dos fármacos. A adição de halogênios, por exemplo, aumentando a lipofilia; grupamentos hidroxilas que também influencia no metabolismo; grupamentos básicos como aminas, amidinas, guanidinas podem favorecer a interação com o sítio alvo por ligação iônica ou ligação de H; grupos ácidos carboxílicos e sulfônicos acometendo o aumento da hidrofilia com maior facilidade de

eliminação e na ausência de efeito na atividade, respectivamente; e, por fim, a introdução de grupos tióis, sulfetos e outros contendo enxofre são poucos utilizados e agem na melhora da quelação de metais (Barreiro e Fraga, 2008).

As propriedades físico-químicas de compostos orgânicos influenciam diretamente na atividade farmacológica, isso se deve pelo fato de que a interação do ligante com o receptor seja regida pelas forças intermoleculares que agem no momento deste acoplamento, sendo estas de natureza hidrofóbica, eletrônica e estereoquímicas. Assim a atividade biológica está associada a interações intermoleculares que ocorrem durante os processos de absorção, distribuição e biotransformação e/ou na própria interação fármaco-receptor, sendo este o paradigma que fundamenta o estudo da Relação Quantitativa entre a Estrutura e Atividade (RQEA). O objetivo principal dos estudos de QSAR é racionalizar e aperfeiçoar a busca por compostos promissores, ou seja, com o intuito de testar compostos com determinadas propriedades já conhecidas que serão fundamentais para uma atividade biológica satisfatória.

Em estudos de REAQ, Oliveira e colaboradores (2014) provaram que derivados amídicos da triptamina exibiram um aumento de até 640% na atividade larvicida frente a larvas do *Ae. aegypti* quando o número carbonos da cadeia lateral da amida é aumentado, sendo a lipofilicidade responsável por esta melhora na atividade (Oliveira et al., 2014).

Assim, o indol foi escolhido para ser o composto padrão para estudos de REA e RQEA por apresentar em sua estrutura química um anel heterocíclico, sendo a posição 3 do anel indólico com maior disponibilidade para reagir quimicamente, possibilitando uma variedade de derivados sintéticos. E com os resultados obtidos da CL_{50} , através dos ensaios larvicida realizados, em estudos posteriores, poderá ser possível construir modelos matemáticos que relacionem duas variáveis quantitativas (atividade biológica/ atividade de toxicidade ambiental e parâmetros físico-químicos) de uma série de compostos análogos ao indol.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Realizar estudos de síntese e Relação entre a Estrutura e a Atividade (REA) e de Toxicidade de novos derivados do ind 3-substituídos frente ao *Ae. aegypti* e *Artemia* sp.

3.2. ESPECÍFICOS

- Sintetizar derivados do indol, sendo estes:
- Série com cadeia lateral alquílica:
 - 1-(1H-indol-3-ila)etanona (**5a**);
 - 1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona (**5b**);
 - 1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona (**5c**);
 - 1-(1H-indol-3-ila)pentan-1-ona (**5d**);
 - 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona (**5e**);
 - 1-(1H-indol-3-ila)heptan-1-ona (**5f**);

- 1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona (**5g**);
- 1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona (**5h**);
- 1-(1H-indol-3-ila)-3-metilbutan-1-ona (**5i**);
- 1-(1H-Indol-3-ila)-3,3-dimetil-butan-1-ona (**5j**).
- Série com cadeia lateral aromática:
 - 1-(1H-indol-3-ila)(fenil)metanona (**5k**);
 - (3-clorofenila)-(1H-indol-3-ila)-metanona (**5l**).
- Caracterizar os compostos sintetizados;
- Determinar a concentração letal 50% (CL_{50}) dos compostos sintetizados frente a larvas do *Ae. aegypti*;
- Determinar a CL_{50} dos compostos sintetizados frente a náuplios de *Artemia sp.*;
- Determinar o índice de seletividade (IS) dos compostos sintetizados;
- Realizar uma relação prévia entre a estrutura e a atividade observada dos compostos.

4. EXPERIMENTAL

A etapa química e biológica deste trabalho foi desenvolvida no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF), da Universidade Federal de Sergipe (UFS). E as caracterizações químicas foram realizadas em colaboração com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e a *University of Toronto* (UofT).

4.1 ESPECIFICAÇÕES DOS MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

4.1.1. Aparelhos utilizados

- Balança analítica (Marconi AW 220);
- Placa de aquecimento com agitação magnética (Fisatom modelo 753A);
- Evaporador rotativo (Logen Scientific LSRE- 5299);
- Banho ultra termostático (Quimis Q214M2);
- Lâmpada de ultravioleta (ViberLourmat CN- 6);

- Ponto de fusão (Logens cientific PFM II);
- Concentrador a vácuo (Labconco modelo 117);
- Aparelho de Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear- RMN (Bruker spectrometer- 400);
- Aparelho de Espectroscopia por Infravermelho (Bruker Alpha em KBr);
- Aparelho de Espectrometria de Massas (micrOTOF II - ESI-TOF com bomba de infusão com fluxo 300 μ L/h).

4.1.2. Substâncias, reagentes e outros materiais utilizados

- Indol (Sigma Aldrich);
- Cloreto de acetila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de propionila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de butirila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de isobutirila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de valeroíla (Sigma Aldrich);
- Cloreto de hexanoíla (Sigma Aldrich);
- Cloreto de heptanoíla (Sigma Aldrich);
- Cloreto de dimetilacetila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de trimetilacetila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de 2,2-dimetilbutirila (Sigma Aldrich);
- Cloreto de benzoíla (Sigma Aldrich);
- Cloreto de 3-clorofenila (Sigma Aldrich);
- Tetracloreto de estanho (SnCl_4 - Sigma Aldrich);
- Diclorometano (CH_2Cl_2);
- Nitrometano (CH_3NO_2);
- Hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ - Dinâmica);
- Acetato de etila ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ -Vetec);
- Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4 - Vetec);
- Sílica gel 60, ART 7734 da Sigma Aldrich (0,063-0,200 mm);
- Tween 80 (Vetec);
- Dimetilsufóxido ($\text{CH}_3)_2\text{SO}$ - DMSO- Synth);
- Temefós (Padrão analítico- Sigma Aldrich);
- Pipetas automáticas (EcopipetteTM);

Todos os reagentes e solventes utilizados para as sínteses são de grau P.A. (Para Análise), exceto quando especificado.

4.1.3. Métodos cromatográficos

As Cromatografias em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram realizadas utilizando cromatofolhas de sílica gel da marca Sigma Aldrich. Este tipo de cromatografia consiste na separação de uma mistura através da migração de seus componentes sobre uma camada delgada adsorvente (fase estacionária).

As placas de CCDA possuíam, aproximadamente, 5 cm de altura e a largura variava de acordo como número de amostras aplicadas. Para serem analisadas, as amostras foram eluídas em um solvente volátil e a aplicação foi realizada utilizando um tubo capilar. Após a aplicação das amostras, a placa foi introduzida em uma cuba de vidro contendo o sistema binário de solventes apropriado (fase móvel, Hexano: Acetato de etila (90:10, v/v)). Assim, a fase móvel ascendeu, por capilaridade, até a extremidade superior arrastando os compostos para a devida separação. Por fim, a placa foi retirada e seca ao ar ou ao calor.

Um processo de revelação das amostras foi realizado, para que pudesse ser identificado manchas correspondentes aos compostos. Após secar ao ar livre, a placa cromatográfica foi posta num revelador U.V. (Ultravioleta) com indicador de fluorescência (PF₂₅₄). Em seguida, a placa foi aquecida com um secador de ar quente para posterior revelação individual em anisaldeído (revelador para compostos carbonílicos), vanilina (revelador com variedade de colorações em diferentes grupos funcionais) e niidrina (revelador para aminas). Com este processo, foi possível monitorar todas as reações e calcular o fator de referência (relação entre a distância percorrida pela substância e a corrida do solvente) de cada produto obtido.

A técnica de Cromatografia em Coluna (CC) foi utilizada para purificar os compostos orgânicos, remover o material de partida e isolar o produto desejado de cada reação qu. Sendo assim, foi empregada como fase estacionária sílica gel 60 da marca Sigma Aldrich, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm, sendo empacotadas dentro de colunas de vidro cilíndricas de dimensões

variadas de acordo com a quantidade de composto a ser purificado. Como fase móvel, utilizou-se o sistema binário Hexano: Acetato de etila (90:10, v/v). Os vários componentes das amostras foram separados através da interação diferenciada com a fase móvel e a fase estacionária. Os compostos polares interagem mais fortemente que os apolares, ficando mais retidos e sendo eluídos posteriormente.

4.1.4. Métodos espectrométricos

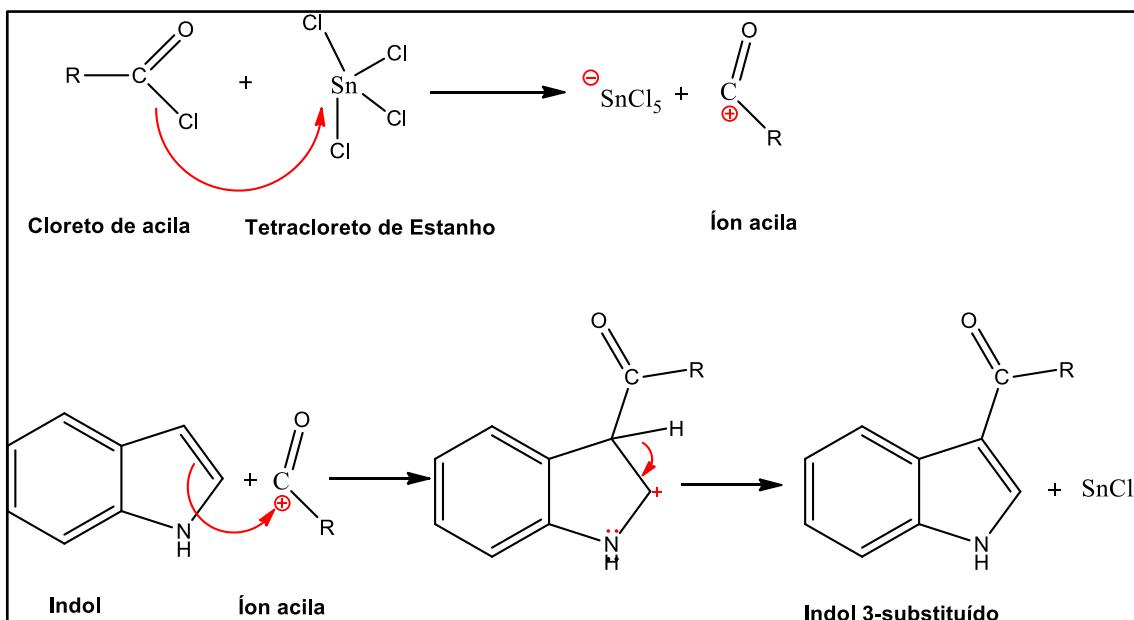
As análises de ponto de fusão foram determinadas no aparelho Logen Scientific e não estão corrigidas, no Laboratório de Química Farmacêutica, da UFS. O ponto de fusão das substâncias foi determinado pela temperatura à qual passam do estado sólido para o estado líquido. Uma substância funde a uma temperatura bem definida, sendo uma característica de qualquer substância cristalina.

A faixa de fusão foi observada através da visualização do início da fusão do primeiro cristal até não se observar a forma cristalina. A fusão foi realizada dentro de capilares de vidro com auxílio de lente para ampliação do campo visual, em aparelho de ponto de fusão.

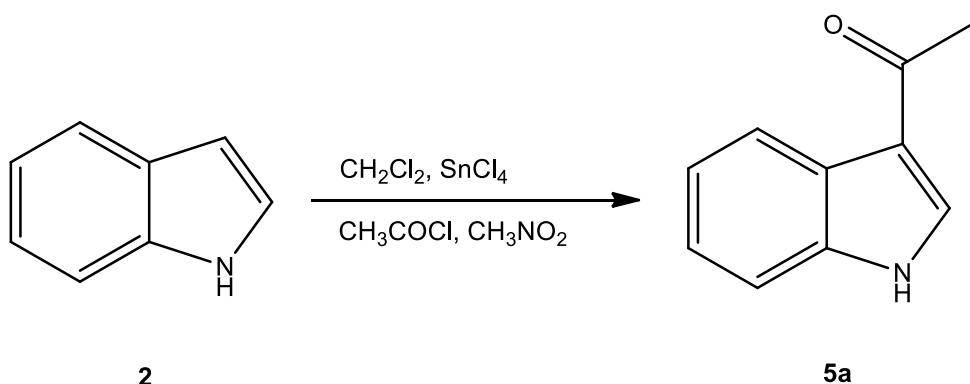
Os espectros de RMN de ^{13}C e ^1H foram registrados num espetrômetro Brucker Avance (400 MHz para ^1H), no Laboratório de Ressonância de Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os deslocamentos químicos foram relatados em ppm (δ) e as constantes de acoplamento relatadas em Hz, utilizando um pico de solvente residual ou TMS como referência para os espectros de RMN ^1H . Como padrões de divisão, foram designados da seguinte maneira: *br.s.* (“broad singlet”, singuleto amplo), *s*(singuleto), *d*(dubleto), *dd*(duplo doubleto), *t*(tripleto), *dt*(duplo tripleto), *q*(quarteto), *dq*(duplo quarteto), *qin*(quinteto), *dquin*(duplo quinteto), *sxt*(sexteto), *m*(multiplet).

Os espectros de FT-IR foram realizados no aparelho Bruker Alpha em pastilha de diamante da UofT. E os espectros de massa foram determinados no espetrômetro micrOTOF II-ESI-TOF com bomba de infusão com fluxo de 300 $\mu\text{L/h}$, na FCFRP-USP. O método empregado para se obter os espectros de massas foi o Electrospray (ESI), e o pico $[\text{M}^+ + \text{Na}^+]$ foi observado.

4.2. SÍNTSE DE DERIVADOS DO INDOL



4.2.1. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)etanona (5a)

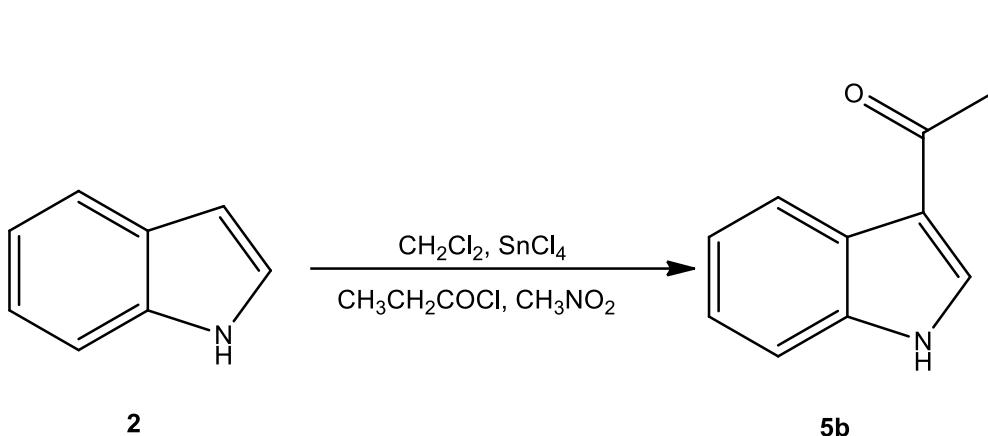


Esquema 3. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)etanona (Yang et al., 1997).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de acetila (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída com DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em

sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,5263, utilizando como solvente hexano:EtOAc (1:1), de modo a obter 0,74 g, 4,7 mmol, 55% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 179-181°C. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 8,83 (br. s., 1 H), 8,41 (d, J=9,29 Hz, 1 H), 7,88 (d, J=2,93 Hz, 1 H), 7,44 (d, J=9,29 Hz, 1 H), 7,27 – 7,33 (m, 2 H), 2,57 (s, 3 H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 193,7, 136,3, 131,5, 125,4, 123,7, 122,7, 122,4, 118,6, 111,3, 27,6. IV (KBr, cm⁻¹): 1611 (C=O), 3154 (N-H). ESI/ EM (+ve) para C₁₀H₉NO (M+Na⁺): [calcd: 182,7], obt: 182,06.

4.2.2. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona (5b) (Esquema 4, página 42)

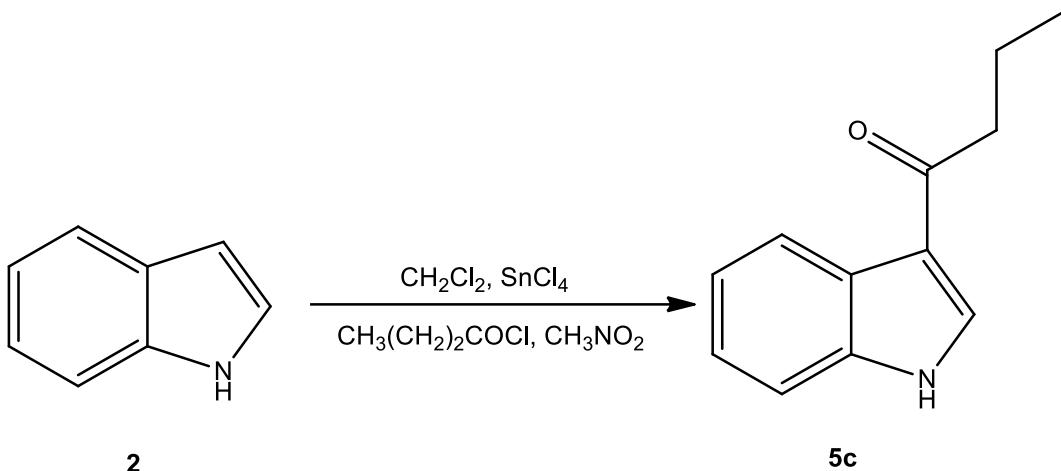


Esquema 4. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona (Ottoni et al., 2001).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de propanoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl₄ (10,9 mmol) sob atmosfera de N₂. A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase organic foi separada, extraída DCM e água, seca (Na₂SO₄) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,6842, utilizando como solvente hexano:EtOAc (1:1), de modo a obter 1,03 g, 5,95 mmol, 70% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 169-170°C. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 8,90 (br. s., 1 H), 8,042 (d, J=9,29 Hz, 1 H), 7,90 (d, J=2,93 Hz, 1 H), 7,43 (d, J=9,29 Hz, 1 H), 7,27 – 7,34 (m, 2 H), 2,94 (q, J=7,34 Hz, 2 H), 1,29 (t, J=7,34 Hz, 3 H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ

ppm: 197,2, 136,3, 130,9, 125,5, 123,6, 122,6, 122,4, 117,8, 111,4, 33,0, 8,9. IV (KBr, cm^{-1}): 1630 (C=O), 3213 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 196,08], obtd: 196,07.

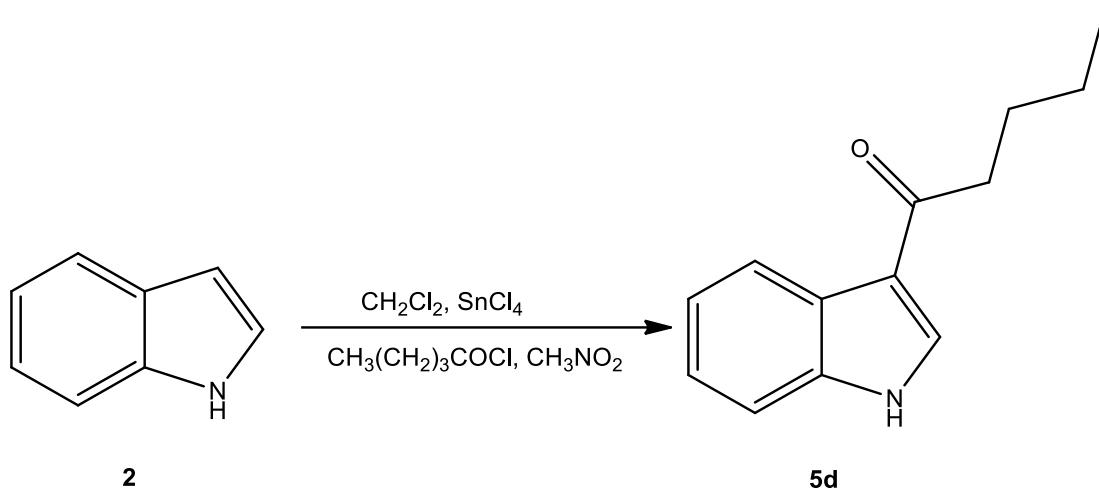
4.2.3. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona (5c) (Esquema 5, página 43)



Esquema 5. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona (Das et al., 2014).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de butirila (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,5238, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 1,49 g, 7,99 mmol, 94% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 175-178°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 8,95 (br. s., 1 H), 8,43 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,89 (d, $J=2,93$ Hz, 1 H), 7,43 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,26 – 7,33 (m, 2 H), 2,87 (t, $J=7,34$ Hz, 2 H), 1,84 (sxt, $J=7,34$ Hz, 2 H), 1,04 (t, $J=7,34$ Hz, 3 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 196,7, 136,4, 131,1, 125,5, 123,6, 122,6, 122,4, 118,2, 111,4, 41,9, 18,6, 14,1. IV (KBr, cm^{-1}): 1625 (C=O), 3154 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 210,10], obtd: 210,09.

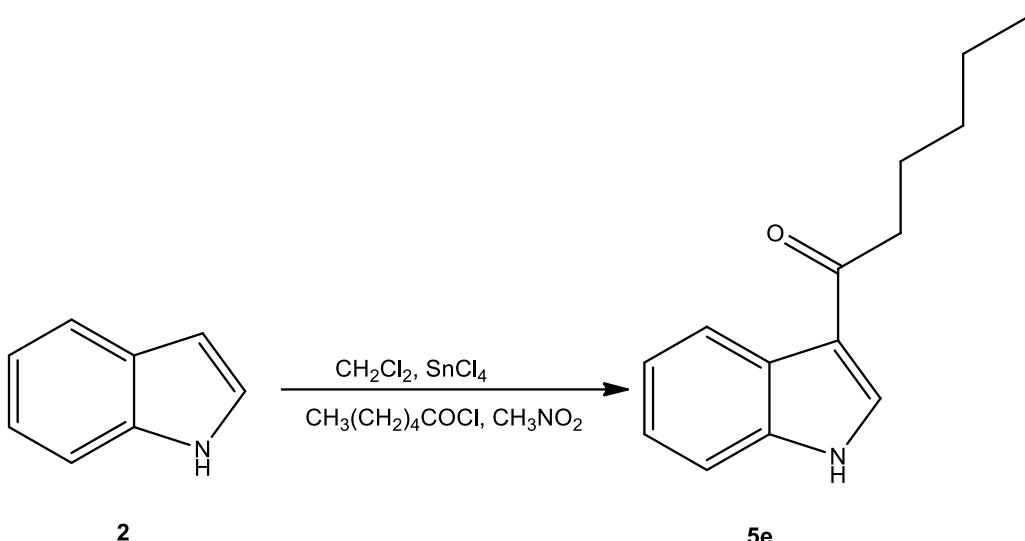
4.2.4. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)pentan-1-ona (5d) (Esquema 6, página 44)



Esquema 6. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)pentan-1-ona (Basset et al., 2012).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de valeroíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,5714, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 1,06 g, 5,27 mmol, 62% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 173-176°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 8,81 (br. s., 1 H), 8,42 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,89 (d, $J=2,93$ Hz, 1 H), 7,43 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,26 – 7,34 (m, 2 H), 2,89 (t, $J=7,58$ Hz, 2 H), 1,79 (dt, $J=15,16, 7,58$ Hz, 2 H), 1,44 (dq, $J=15,04, 7,38$ Hz, 2 H), 0,97 (t, $J=7,34$ Hz, 3 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 196,8, 136,3, 131,0, 125,5, 123,7, 122,6, 122,5, 119,9, 111,3, 39,7, 27,3, 22,7, 14,0. IV (KBr, cm^{-1}): 1618 (C=O), 3153 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 224,11], found: 224,10.

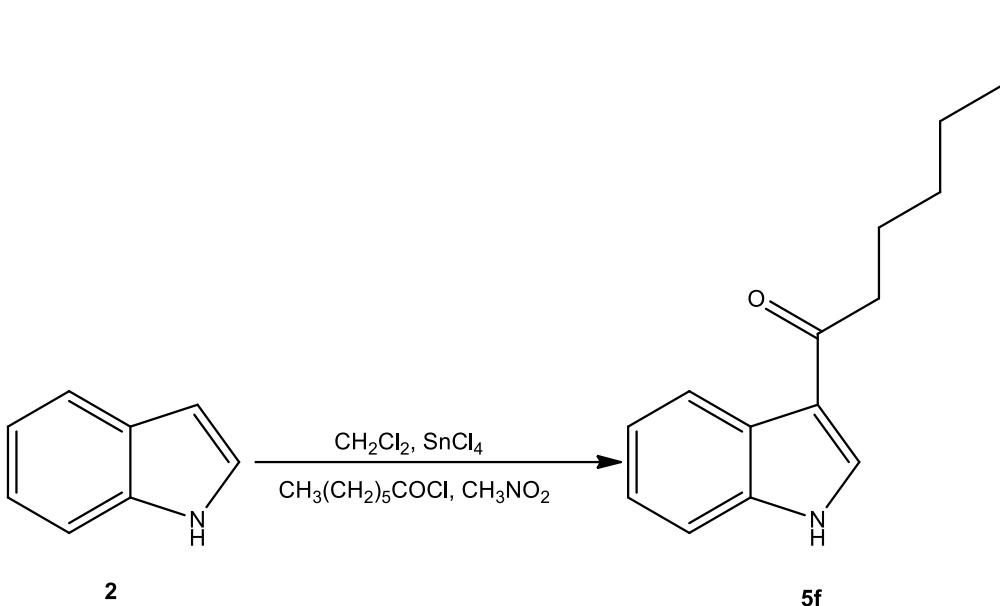
4.2.5. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona (5e) (Esquema 7, página 45)



Esquema 7. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona (Basset et al., 2012).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de hexanoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,6250, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 0,80 g, 3,74 mmol, 44% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 154-155°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 8,96 (br. s., 1 H), 8,40 – 8,46 (m, 1 H), 7,89 (d, J =2,93 Hz, 1 H), 7,43 (d, J =8,80 Hz, 1 H), 7,26 – 7,34 (m, 2 H), 2,88 (t, J =7,34 Hz, 2 H), 1,81 (dq, J =7,46 Hz, 4 H), 1,29 – 1,45 (m, 2 H), 0,92 (t, J =6,85 Hz, 3 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 196,9, 136,4, 131,1, 125,5, 123,6, 122,6, 122,4, 118,2, 111,4, 40,0, 31,7, 25,0, 22,6, 14,0. IV (KBr, cm^{-1}): 1617 (C=O), 3169 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 238,13], obtd: 238,12.

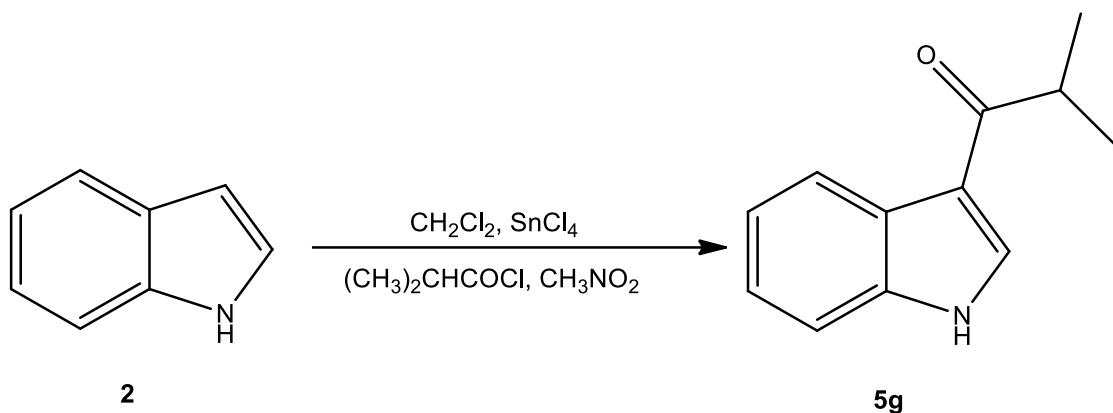
4.2.6. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)heptan-1-ona (5f) (Esquema 8, página 46)



Esquema 8. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)heptan-1-ona (Jacob).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de heptanoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,7619, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 0,86 g, 3,74 mmol, 44% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 132-135°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 8,65 (br. s., 1 H), 8,42 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,88 (d, $J=2,93$ Hz, 1 H), 7,42 (d, $J=9,29$ Hz, 1 H), 7,26 – 7,33 (m, 2 H), 2,88 (t, $J=7,34$ Hz, 1 H), 1,80 (dt, $J=15,16, 7,58$ Hz, 1 H), 1,38 – 1,46 (m, 2 H), 1,20 – 1,36 (m, 6 H), 0,90 (t, $J=7,09$ Hz, 3 H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ ppm: 196,6, 130,8, 127,0, 125,5, 123,7, 122,6, 122,5, 111,2, 40,0, 31,7, 29,7, 29,2, 25,2, 22,6, 14,1. IV (KBr, cm^{-1}): 1617 (C=O), 3153 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 252,14], obtd: 252,13.

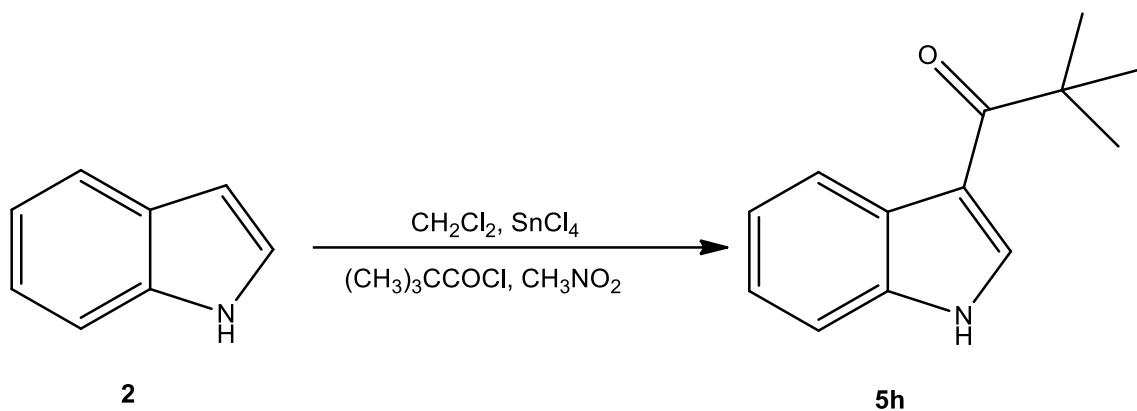
4.2.7. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona (5g) (Esquema 9, página 47)



Esquema 9. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona (Li e Gevorgyan, 2012)

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de 2-metilpropanoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,6429, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 0,52 g, 2,80 mmol, 33% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 124-127°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 8,98 (br. s., 1 H), 8,45 (d, $J=7,34$ Hz, 1 H), 7,91 (d, $J=1,47$ Hz, 1 H), 7,43 (d, $J=7,34$ Hz, 1 H), 7,25 – 7,34 (m, 2 H), 3,37 (m, $J=7,21$ Hz, 1 H), 1,29 (dd, $J=6,85, 1,96$ Hz, 6 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 201,0, 136,5, 130,9, 125,8, 123,7, 122,6, 122,5, 116,9, 111,4, 37,2, 19,8. IV (KBr, cm^{-1}): 1624 (C=O), 3172 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 210.10], obtd: 210.09.

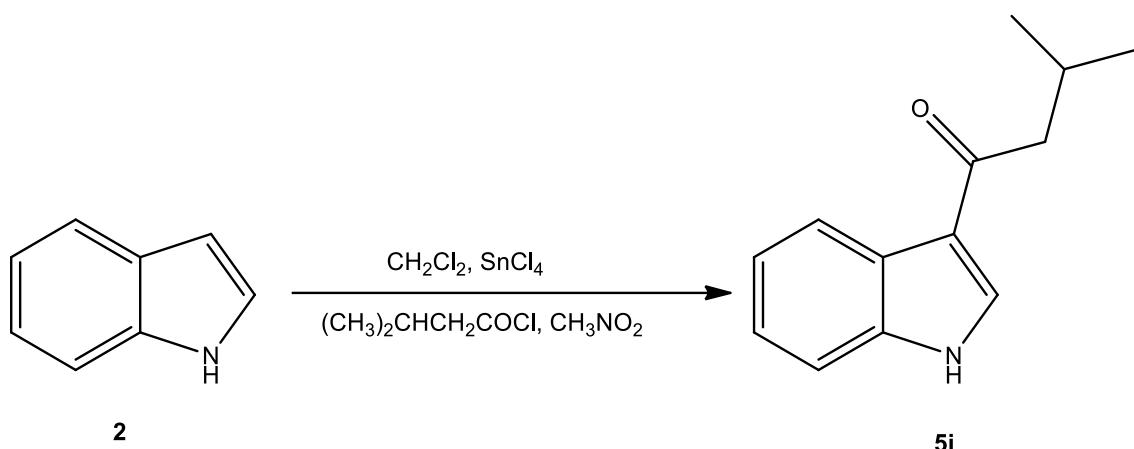
4.2.8. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona (5h) (Esquema 10, página 48)



Esquema 10. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona (Liu and Liebeskind, 2008a).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de 2,2-dimetilpropanoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,7381, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 0,65 g, 3,23 mmol, 38% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 160-163°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 9,01 (br. s., 1 H), 8,53 (d, $J=9,29$ Hz, 1 H), 7,93 (d, $J=2,93$ Hz, 1 H), 7,40 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,26 – 7,31 (m, 2 H), 1,43 (s, 9 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 203,1, 135,4, 130,4, 127,3, 123,5, 123,0, 122,5, 114,2, 111,1, 44,2, 28,9. IV (KBr, cm^{-1}) 1609 (C=O), 3220 (N-H). ESI/EM (+ve) para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 224,11], obtd: 224,10.

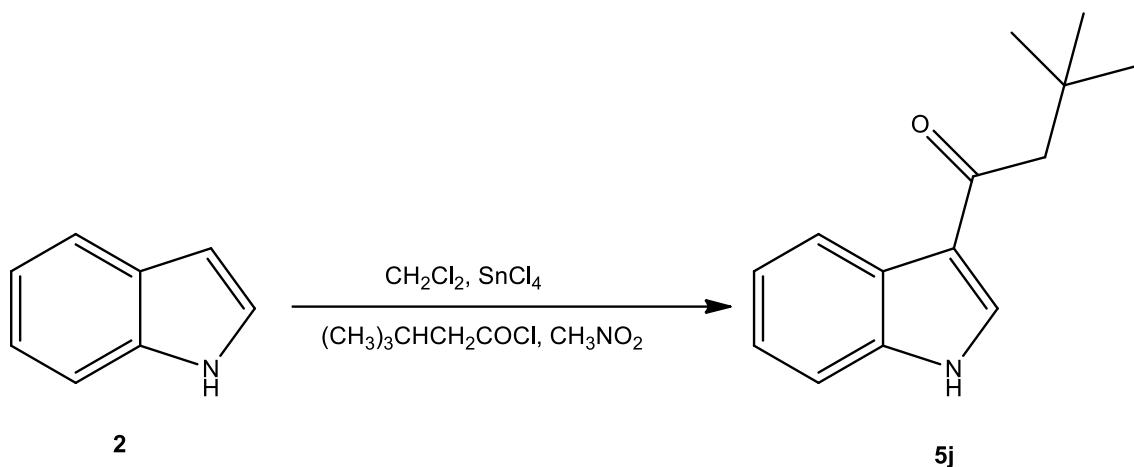
4.2.9. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3-metilbutan-1-ona (5i) (Esquema 11, página 49)



Esquema 11. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3-metilbutan-1-ona (Yang et al., 1997).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de 3-metilbutirila (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,6905, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 1,25 g, 6,20 mmol, 73% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 126-129°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 9,51 (*br. s.*, 1 H), 8,46 (*d*, $J=8,80$ Hz, 1 H), 7,89 (*d*, $J=2,93$ Hz, 1 H), 7,44 (*d*, $J=8,31$ Hz, 1 H), 7,26 – 7,33 (*m*, 2 H), 2,75 (*d*, $J=7,34$ Hz, 2 H), 2,37 (*m*, 1 H), 1,03 (*dd*, $J=6,85$ Hz, 6 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 197,0, 136,6, 131,9, 125,5, 123,7, 122,6, 122,3, 118,5, 111,6, 49,1, 26,1, 22,9. IV (KBr, cm^{-1}): 1628 (C=O), 3206 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 224,11], obtd: 224,10.

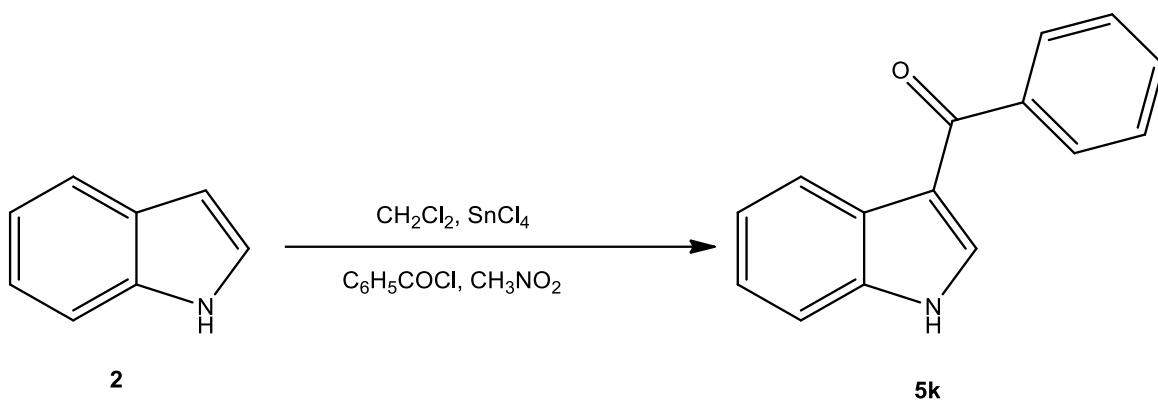
4.2.10. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3,3-dimetilbutan-1-ona (5j) (Esquema 12, página 50)



Esquema 12. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)-3,3-dimetilbutan-1-ona (Inédito).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de 3,3-dimetilbutirila (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,7143, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 1,63 g, 7,57 mmol, 89% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 156-160°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 11,90 (br. s., 1H), 8,34 (*d*, J =2,2 Hz, 1H), 8,25 (*d*, J =6,49 Hz, 1H), 7,45 (*d*, J =8,20 Hz, 1H), 7,19 (*m*, 2H), 2,69 (*s*, 2H), 1,03 (*s*, 9H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 197,0, 136,6, 131,9, 125,6, 123,7, 122,6, 122,3, 118,5, 111,6, 49,1, 26,1, 22,9. IV (KBr , cm^{-1}) 1608 (C=O), 3153 (N-H). ESI/ EM (+ve) for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 238,13], obt: 238,12.

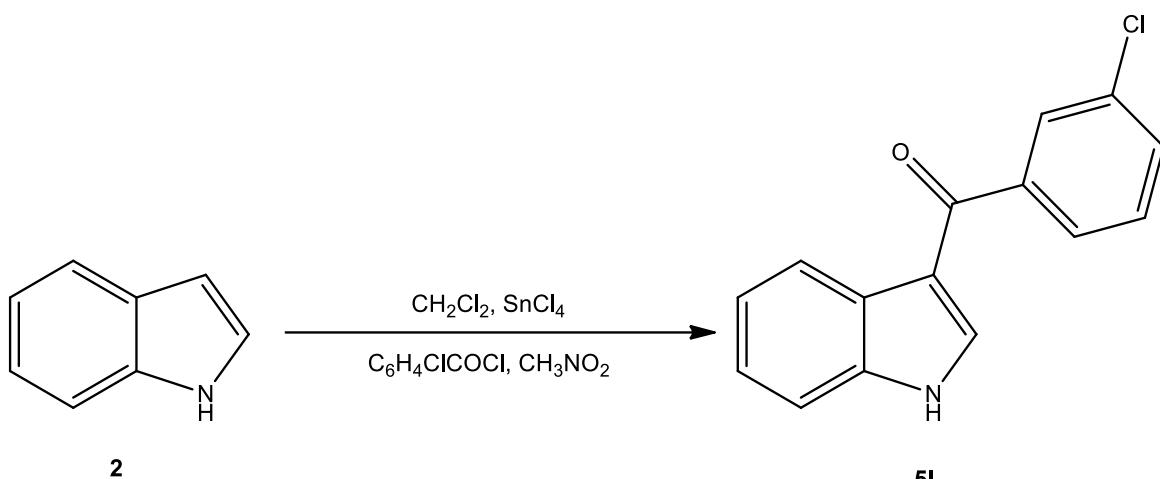
4.2.11. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)(fenil)metanona (5k) (Esquema 13, página 51)



Esquema 13. Síntese do 1-(1H-indol-3-ila)(fenil)metanona (Parvanak-Boroujeni and Parvanak, 2011).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de benzoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,5263, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 1,05 g, 4,76 mmol, 56% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 127-131°C. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm: 8,38 – 8,49 (*t*, 1 H), 7,85 (*d*, J =7,34 Hz, 1 H), 7,70 (*d*, J =2,93 Hz, 1 H), 7,41 – 7,61 (*m*, 1 H), 7,27 – 7,36 (*m*, 1 H), 4,10 (*d*, J =6,85 Hz, 1 H), 3,10 (*m*, 1 H), 1,60 (*br. s.*, 1 H), 1,34 – 1,51 (*m*, 1 H), 1,12 – 1,29 (*m*, 1 H), 1,00 (*d*, J =6,36 Hz, 1 H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm: 200,6, 145,3, 133,3, 131,1, 129,2, 128,7, 128,2, 126,5, 124,0, 122,7, 122,6, 111,2, 110,0, 108,3, 101,1. IV (KBr, cm^{-1}): 1636 ($\text{C}=\text{O}$), 3357 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 244,07], obtd: 244,07.

4.2.12. Síntese do (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona (5l) (Esquema 14, página 52)



Esquema 14. Síntese do (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona (Zhang et al., 2016).

A um balão de fundo redondo foi adicionado nesta ordem sob agitação: indol (1 g, 8,5 mmol), DCM (17,1 mL), cloreto de 3-clorobenzoíla (8,8 mmol) gota a gota, nitrometano (12,8 mL) e SnCl_4 (10,9 mmol) sob atmosfera de N_2 . A mistura reacional foi agitada por 24 h a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. Em seguida, foi adicionada água destilada (30 mL) à mistura reacional, a fase orgânica foi separada, extraída DCM e água, seca (Na_2SO_4) e evaporada até a secagem. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluente hexano:EtOAc (9:1). O fator de retenção (fr) obtido por CCDA foi de 0,5000, utilizando como solvente hexano:EtOAc (7:3), de modo a obter 0,82 g, 3,23 mmol, 38% do produto final. Pó branco. Ponto de fusão 159–161°C. RMN ^1H (DMSO-*d*6, 600 MHz) δ ppm: 12,15 (br.s., 1H), 8,24 (d, J =6,97 Hz, 1H), 7,98 (d, J =2,93 Hz, 1H), 7,73 – 7,76 (m, 2H), 7,66 – 7,68 (m, 1H), 7,55 – 7,59 (m, 2H), 7,24 – 7,30 (m, 2H). RMN ^{13}C (DMSO-*d*6, 190 MHz) δ ppm: 188,76, 166,56, 142,92, 133,81, 133,47, 133,14, 131,11, 130,87, 129,28, 128,37, 127,5, 123,79, 122,59, 121,88, 112,82. IV (KBr, cm^{-1}): 1699 (C=O), 3082 (N-H). ESI/ EM (+ve) para $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{NOCl}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): [calcd: 278,04], obtd: 278,03.

4.3 ENSAIO LARVICIDA CONTRA *Ae. aegypti*

Os ensaios larvicidas foram realizados de acordo com a metodologia descrita pela Organização Mundial de Saúde e adaptada por Santos *et al.* 2011 com modificações (Santos *et al.*, 2011).

4.3.1 Obtenção dos ovos

Ovos de *Ae. aegypti* foram produzidos em insetário e mantidos secos, aderidos em tiras de papel até o uso, utilizando larvas Rockefeller (sensível ao temefós) do vetor (Santos et al., 2011).

4.3.2 Eclosão das larvas

Como preparação para os ensaios, tiras de papel contendo os ovos foram postas em um recipiente retangular com água e aproximadamente 500 mg de ração para peixe Tetra Color Tropical Granules. O recipiente foi mantido no insetário, com temperatura ($26\pm2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa ($60\pm10\%$) controladas, de modo a permitir a eclosão e o desenvolvimento das larvas, por volta de quatro dias, quando larvas de terceiro estádio (L_3) foram coletadas. As larvas foram cedidas pela Prof^a Roseli La Corte dos Santos, provenientes do insetário do Departamento de Morfologia, Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Sergipe (Santos et al., 2011).

4.3.3 Preparação das soluções estoque dos compostos

Uma solução padrão de 20.000 ppm foi preparada com Tween-80 (10% v/v), DMSO (30% v/v), e água desclorada (60% v/v). Assim, foi realizada uma série de diluições variando de 10 a 1000 ppm, em 20 mL de água (triplicata) (WHO, 1963). Copos descartáveis foram utilizados para evitar contaminação cruzada e, consequentemente, reduzir a probabilidade de erro nos testes (Santos et al., 2011).

4.3.4 Exposição das larvas

As larvas ficaram expostas à solução por 24 h, registrando-se o total de mortalidade. Os compostos não foram aplicados diretamente nos copos descartáveis contendo as larvas. Inicialmente, foi realizada um pré-solubilização dos mesmos com uma parte do volume de água dos copos contendo as larvas e, posteriormente, as larvas foram vertidas lentamente. Foram feitos testes paralelos, o controle negativo utilizando Tween-80, DMSO e água, na maior concentração aplicada em cada teste. E como controle positivo, foi utilizado o organofosforado temefós, um inseticida padrão. As faixas de concentração dos ensaios de toxicidade foram pré-determinadas por uma curva concentração-resposta em replicata de 20 larvas no terceiro estágio (Santos et al., 2011).

4.4 ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM *Artemia* sp.

Os ensaios de toxicidade com *Artemia* sp. foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Artemia Reference Center (ARC) (Vanhaecke e Persoone, 1981).

4.4.1 Obtenção dos cistos

Os ovos secos de *Artemia* sp. foram obtidos no comércio, mantidos em sua própria embalagem, no Laboratório de Química Farmacêutica da Universidade Federal de Sergipe.

4.4.2 Eclosão dos náuplios

Como preparação dos ensaios, aproximadamente 100 mg de cistos foram incubados em 1000 mL de água salina artificial padrão ($35\text{g} \pm 1\%$) num recipiente cilindro cônico, a temperatura $25^{\circ}\text{C} \pm 1\%$, sob iluminação constante e lateral, e aeração. Após 18 a 24 horas de incubação, os náuplios foram transferidos para um recipiente cilíndrico contendo 200 mL de água salina, mantidos por 24 horas. Assim, náuplios do segundo ao terceiro estágio foram coletados (Vanhaecke e Persoone, 1981).

4.4.3 Preparação das soluções estoque dos compostos

Uma solução padrão de 10.000 ppm foi preparada com Tween-80 (10% v/v), DMSO (30% v/v) e água destilada (60% v/v). Assim, foi realizada uma série de diluições variando de 10 a 1000 ppm, em 10 mL de água (triplicata) (Vanhaecke e Persoone, 1981).

4.4.4 Exposição dos náuplios

Os náuplios ficaram expostos à solução por 24 h, registrando-se o total de mortalidade. Foram feitos testes paralelos, o controle negativo utilizando Tween-80, DMSO e água, na maior concentração aplicada em cada teste. E como controle positivo, foi utilizado o organofosforado temefós, um inseticida padrão. As faixas de concentração dos ensaios de toxicidade foram pré-determinadas por uma curva concentração-resposta em replicata de 10 náuplios do segundo ao terceiro estágio (Vanhaecke e Persoone, 1981).

4.5 ANÁLISE ESTÁTISTICA

Os dados da taxa de mortalidade foram submetidos à análise Probit (FINNEY, 1971). A estimativa da CL₅₀ (concentração letal de 50% das larvas) e o intervalo de confiança (IC 95%) foram calculados para cada composto utilizando o software Minitab® (Versão 16.1.1). Em casos onde ocorreu morte no controle $\geq 20\%$, os dados foram corrigidos pela fórmula de Abbott's (Abbott, 1987).

% Mortalidade= $\{(Ca - Ta)/Ca\} \times 100$, onde Ca é o número de larvas vivas no controle e Ta, o número de larvas no teste.

A atividade dos compostos foi considerada diferente quando o IC 95% não se sobrepôs.

A eficácia e toxicidade entre os compostos foram comparadas através do índice de seletividade (IS), calculado pela relação entre os valores de CL₅₀ obtidos nos ensaios de toxicidade e as respectivas CL₅₀ da atividade larvicida.

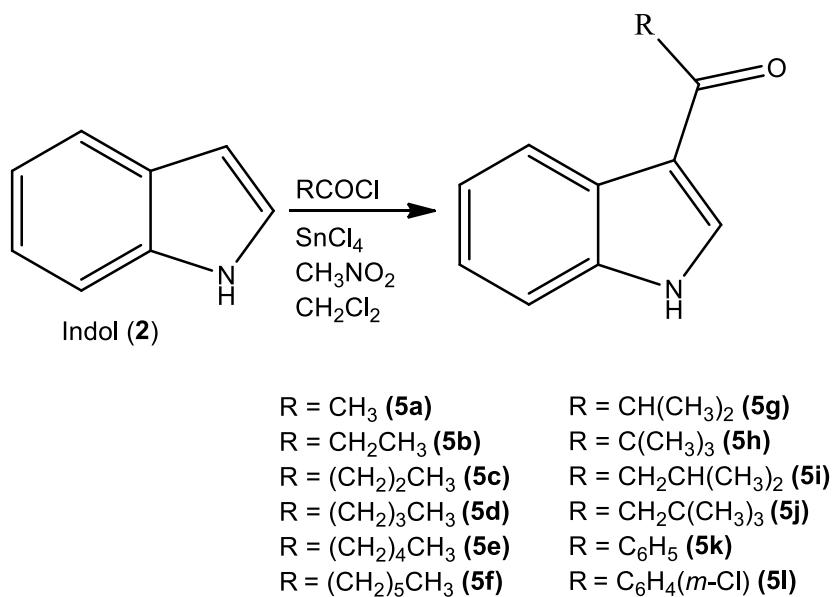
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SÍNTESE

As sínteses dos derivados indólicos 3-substituídos foram realizadas a partir do indol com cloretos de acila, na presença de diclorometano (DCM), nitrometano (CH_3NO_2) e cloreto de estanho (SnCl_4), como mostra o esquema 15, onde ocorre uma substituição eletrofílica aromática, via reação de açilação de Friedel-Crafts.

A escolha do catalisador foi fundamental para a realização das sínteses. Uma vez testadas várias metodologias utilizando outros catalisadores, somente o catalisador SnCl_4 apresentou ser eficiente para que a reação ocorresse apenas na posição 3 do indol.

A substituição na posição 3 do anel indólico é explicada de acordo com os híbridos de resonância de sua estrutura molecular. Ao tentar reagir em outras posições, como nas regiões 1 e 2 do indol, o sistema aromático é perturbado e, consequentemente, não levará à estabilidade do anel.



Esquema 15. Esquema geral da síntese dos derivados do indol.

Foram obtidos rendimentos (%) satisfatórios das moléculas, variando entre 33% (1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona) (**5g**) e 94% (1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona) (**5c**) (tabela 1, página 57).

Tabela 1. Fórmula molecular, massa molecular e rendimento dos compostos sintetizados.

Compostos	Fórmula Molecular	Massa Molecular Exper. (g/mol)	(%)
Indol (2)	C ₈ H ₇ N	117,148	-
1-(1H-indol-3-ila)etanona (5a)	C ₁₀ H ₉ NO	159,185	55
1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona (5b)	C ₁₁ H ₁₁ NO	173,211	70
1-(1H-indol-3-ila)butan-1-ona (5c)	C ₁₂ H ₁₃ NO	187,238	94
1-(1H-indol-3-ila)pentan-1-ona (5d)	C ₁₃ H ₁₅ NO	201,264	62
1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona (5e)	C ₁₄ H ₁₇ NO	215,291	44
1-(1H-indol-3-ila)heptan-1-ona (5f)	C ₁₅ H ₁₉ NO	229,317	44
1-(1H-indol-3-ila)-2-metilpropan-1-ona (5g)	C ₁₂ H ₁₃ NO	187,238	33
1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona (5h)	C ₁₃ H ₁₅ NO	201,264	38
1-(1H-indol-3-ila)-3-metilbutan-1-ona (5i)	C ₁₃ H ₁₅ NO	201,264	73
1-(1H-indol-3-ila)-3,3-dimetilbutan-1-ona (5j)	C ₁₄ H ₁₇ NO	215,291	89
1-(1H-indol-3-ila)(fenil)metanona (5k)	C ₁₅ H ₁₁ NO	221,254	56
(3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona (5l)	C ₁₅ H ₁₀ CINO	255,699	38

#: Rendimento em porcentagem. Exp.: Experimental

De todos os produtos desta reação, onze são conhecidos e os seus dados espectroscópicos são descritos na literatura (Li e Gevorgyan, 2012; Liu e Liebeskind, 2008; Parvanak-Boroujeni e Parvanak, 2011; Yang et al., 1997; Zhang et al., 2016). O composto inédito (**5j**, tabela 2, página 58) foi confirmado pela presença do pico de carbonila no espectro de infravermelho (1608 cm⁻¹, Anexo I) e pelos picos de CH, CH₂ e CH₃ observados nos espectros de ¹H e ¹³C RMN (Anexos II e III), além da comprovação pelos íones [M+H]⁺ do espectro de massas (Anexo IV).

Tabela 2. Dados espectroscópicos e espectrométricos do composto inédito sintetizado (**5j**).

Compostos	Deslocamento químico RMN H ¹ (δ , ppm)	Deslocamento químico RMN C ¹³ (δ , ppm)	Bandas de carbonila e amina (cm ⁻¹)	Íons [M+Na ⁺] (+ve)
5j	11,90 (<i>br. s.</i> , 1H), 8,34 (<i>d</i> , J =2,2 Hz, 1H), 8,25 (<i>d</i> , J =6,49 Hz, 1H), 7,45 (<i>d</i> , J =8,20 Hz, 1H), 7,19 (<i>m</i> , 2H), 2,69 (s, 2H), 1,03 (s, 9H).	197,0, 136,6, 131,9, 125,6, 123,7, 122,6, 122,3, 118,5, 111,6, 49,1, 26,1, 22,9.	1608 (C=O), 3153 (N-H)	238,12

5.2. ATIVIDADE LARVICIDA CONTRA *Ae. aegypti*

Os compostos sintetizados foram submetidos à atividade biológica como agentes larvicidas contra *Ae. aegypti* e os resultados obtidos são observados na tabela 3.

Tabela 3. Valores da concentração letal 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) nos ensaios larvicidas contra *Ae. aegypti*.

Compostos	CL ₅₀ (ppm)	IC (ppm)
2	76,94	73,96 à 79,40
5a	57,49	52,52 à 62,82
5b	249,79	205,42 à 297,22
5c	143,07	121,65 à 17021
5d	> 1000	-
5e	19,89	16,44 à 24,6
5f	> 1000	-
5g	81,03	75,74 à 86,86
5h	22,44	20,95 à 24,06
5i	30,28	28,08 à 32,51
5j	48,53	43,14 à 54,01
5k	> 1000	-
5l	50,59	48,61 à 52,53

O 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-ona (**5e**) mostrou a maior atividade larvicida com CL₅₀ de 19,89 ppm e o 1-(1H-indol-3-ila)propan-1-ona (**5b**) exibiu a menor

atividade larvícida, apresentando CL_{50} de 249,79 ppm. Já os compostos **5d**, **5f** e **5k** apresentaram ser inativos contra larvas do *Ae. aegypti*. Os derivados de cadeias alifáticas ramificadas foram, em geral, mais potentes que os demais derivados. A 1-(1H-indol-3-ila)-2,2-dimetilpropan-1-ona (**5h**) exibiu potência larvícida semelhante ao composto **5e**, pois os respectivos IC se sobrepõem.

5.3. ENSAIO TOXICOLÓGICO COM *Artemia* sp.

O método padrão realizado no ARC da Universidade Estadual de Gand, na Bélgica (Vanhaecke e Persoone, 1981), visa determinar a toxicidade aguda de substâncias químicas e efluentes industriais e domésticos despejados no mar frente a náuplios do microcrustáceo *Artemia* sp. Assim, os compostos sintetizados foram submetidos ao teste toxicidade ambiental, sendo determinadas as CL_{50} em 24 horas descritas na tabela 4.

Tabela 4. Valores da concentração letal 50% (CL_{50}) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) nos ensaios de toxicidade com *Artemia* sp.

Compostos	CL_{50} (ppm)	IC (ppm)
2	8,32	7,02 à 9,83
5a	126,43	121,40 à 131,82
5b	279,17	171,99 à 464,94
5c	11,28	8,18 à 15,43
5d	71,32	28,30 à 136,63
5e	5,02	3,22 à 7,68
5f	545,46	415,13 à 726,44
5g	27,86	24,45 à 32,18
5h	1,75	1,64 à 1,85
5i	3,81	3,22 à 4,37
5j	56,33	39,08 à 78,34
5k	> 1000	-
5l	> 1000	-

Com o intuito de obter compostos potencialmente ativos e ausentes de efeitos tóxicos para o ecossistema, foram realizados cálculos do índice de seletividade (IS). De acordo com os resultados apresentados na tabela 5, o

composto (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila)metanona (**5l**), que apresentou potência larvicida mediana, mostrou ser acima de 19,77 vezes menos tóxico para o meio contendo *Artemia* sp. Contrariamente, os demais compostos obtiveram um IS relativamente baixo, variando de 0,08 a 2,20.

Tabela 5. Valores da concentração letal 50% (CL₅₀) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) nos ensaios de atividade larvicida contra *Ae aegypti* e de toxicidade com *Artemia* sp, seguidos dos seus índices de Seletividade (IS).

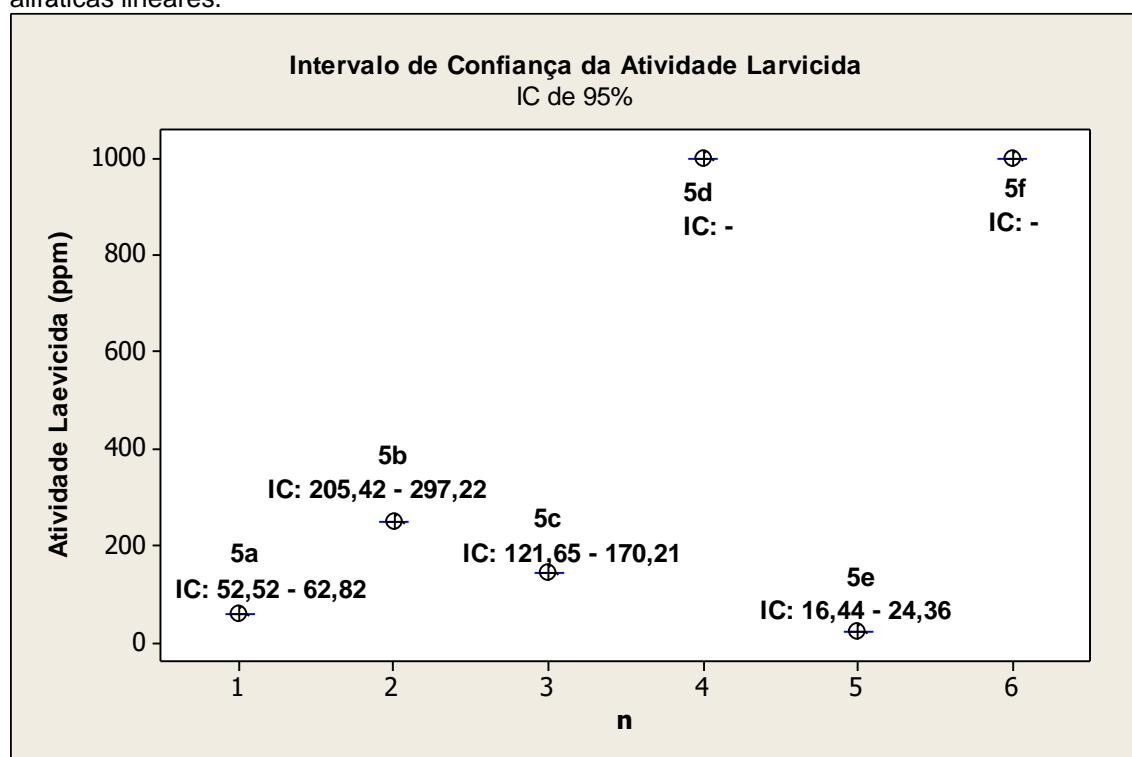
Compostos	Atividade Larvicida	Ensaio de Toxicidade	Índice de Seletividade
	CL₅₀/ IC (95%) (ppm)	CL₅₀ / IC (95%) (ppm)	IS
2	76,94 (73,96 à 79,40)	8,32 (7,02 à 9,83)	0,11
5a	57,49 (52,52 à 62,82)	126,43 (121,40 à 131,82)	2,20
5b	249,79 (205,42 à 297,22)	279,17 (171,99 à 464,94)	1,12
5c	143,07 (121,65 à 170,21)	11,28 (8,18 à 15,43)	0,08
5d	➤ 1000	71,32 (28,30 à 136,63)	-
5e	19,89 (16,44 à 24,36)	5,02 (3,22 à 7,68)	0,25
5f	> 1000	545,46 (415,13 à 726,44)	-
5g	81,03 (75,74 à 86,86)	27,86 (24,45 à 32,18)	0,34
5h	22,44 (20,95 à 24,06)	1,75 (1,64 à 1,85)	0,08
5i	30,28 (28,08 à 32,51)	3,81 (3,22 à 4,37)	0,12
5j	48,53 (43,14 à 54,01)	56,33 (39,08 à 78,34)	1,16
5k	> 1000	> 1000	-
5l	50,59 (48,61 à 52,53)	> 1000	>19,77

Apesar do composto **5e** ser o mais potente contra larvas do *Ae. aegypti*, ele é tóxico para *Artemia* sp. Porém, o composto **5l**, além de ser menos tóxico para o *Ae. aegypti*, é inócuo para os náuplios de *Artemia* sp.

5.4. REA E RQEA

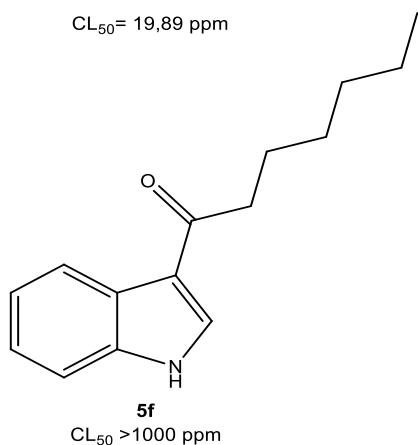
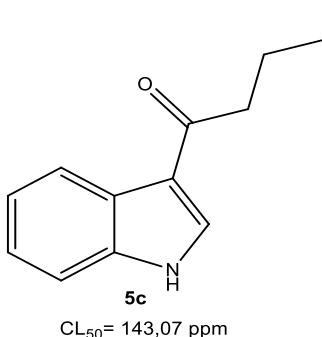
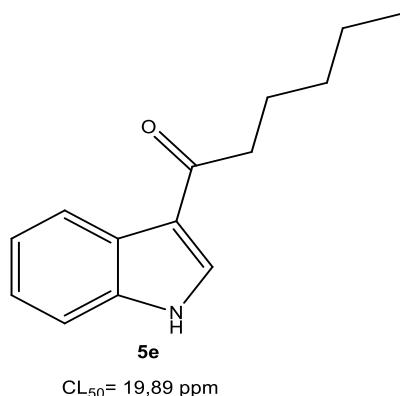
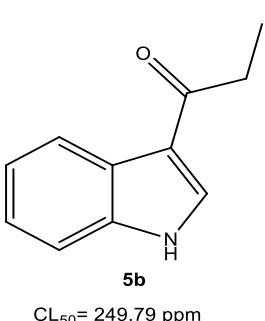
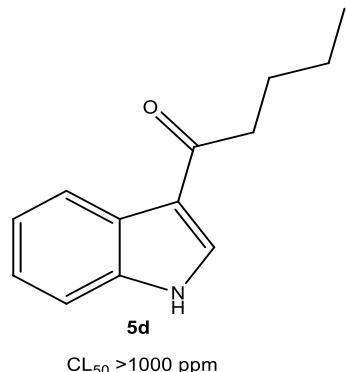
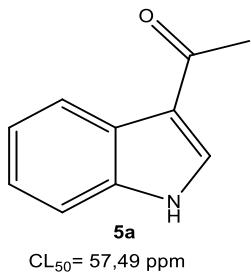
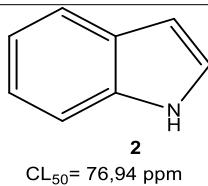
Os compostos estruturalmente relacionados apresentaram perfis de potência larvicida diferentes, variando de 19,89 a 1000 ppm. Para os compostos alifáticos lineares houve uma oscilação de potência conforme o aumento das cadeias de metileno, sendo os compostos com o número ímpar de carbonos mais ativos do que os compostos com o número par de carbonos na cadeia lateral (figuras 10 e 11, página 62). Além disso, a presença de anéis aromáticos resultou na redução da potência larvicida dos derivados do indol.

Figura 10. Relação entre estrutura e atividade larvicida com concentração letal de 50% (CL_{50}) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) da série homóloga de derivados do indol com cadeias alifáticas lineares.



Um comportamento semelhante aos resultados de atividade larvicida foi observado nos ensaios de toxicidade com *Artemia* sp., onde os derivados indólicos 3-substituídos apresentaram perfis de toxicidade variando de 1,75 a 1000 ppm. Os compostos com cadeia lateral linear e número par de carbonos exibiram maiores toxicidades para o meio ambiente (figuras 11, página 61 e 12, página 62), enquanto os compostos com número ímpar de carbonos na cadeia lateral apresentaram menos tóxicos, com toxicidade mediana e, até, não tóxicos.

Figura 11. Estrutura química dos derivados do indol (2) com cadeia lateral alifática linear (5a - 5f).

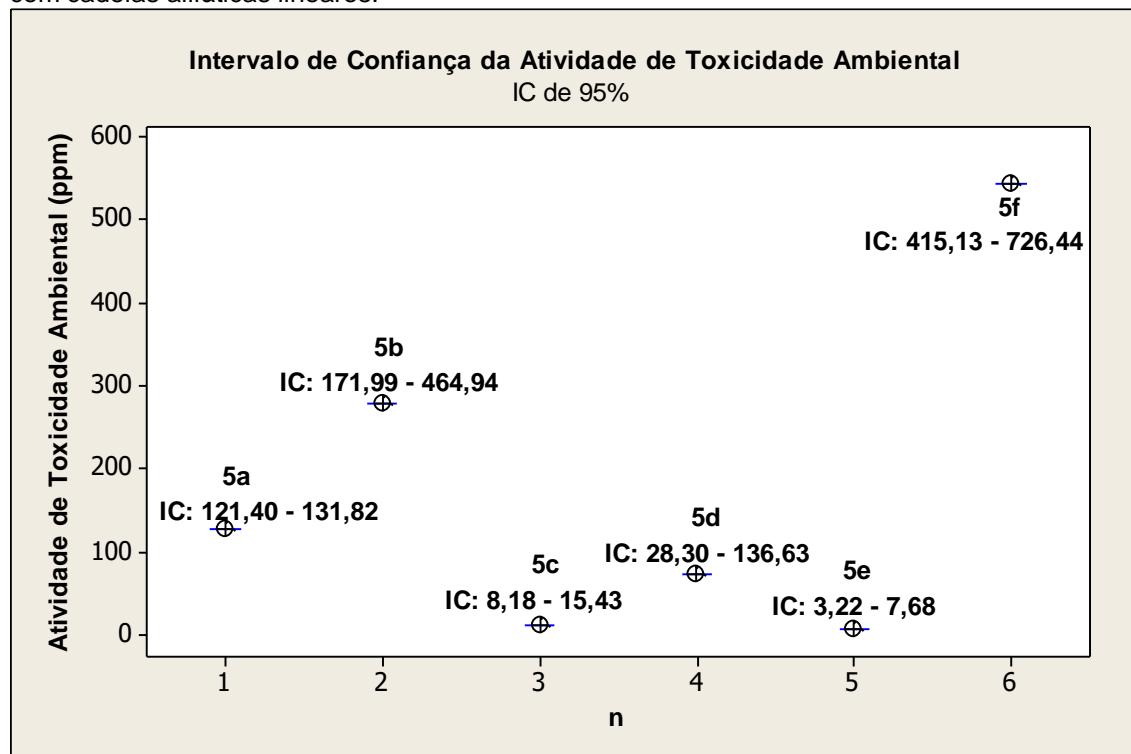


Estudos em antimaláricos derivados da 6-metoxi-8-aminoquinolina também relatam esta oscilação, onde a atividade biológica é maior nos compostos com número ímpar do que com o número par de carbonos na cadeia central (Magidson and Strukow, 1933); em atividade esquistossomídica de análogos do dimetilamino, sendo os membros ímpares de carbono mais ativos que os pares adjacentes (Raison and Standen, 1955); e em atividade reguladora

do crescimento de folha de tomate dos derivados de ácidos 2,4-diclorofenoxialcônicos, onde a série homóloga com número par de átomos de carbono foi ativa no tomate (Synerholm e Zimmerman, 1947).

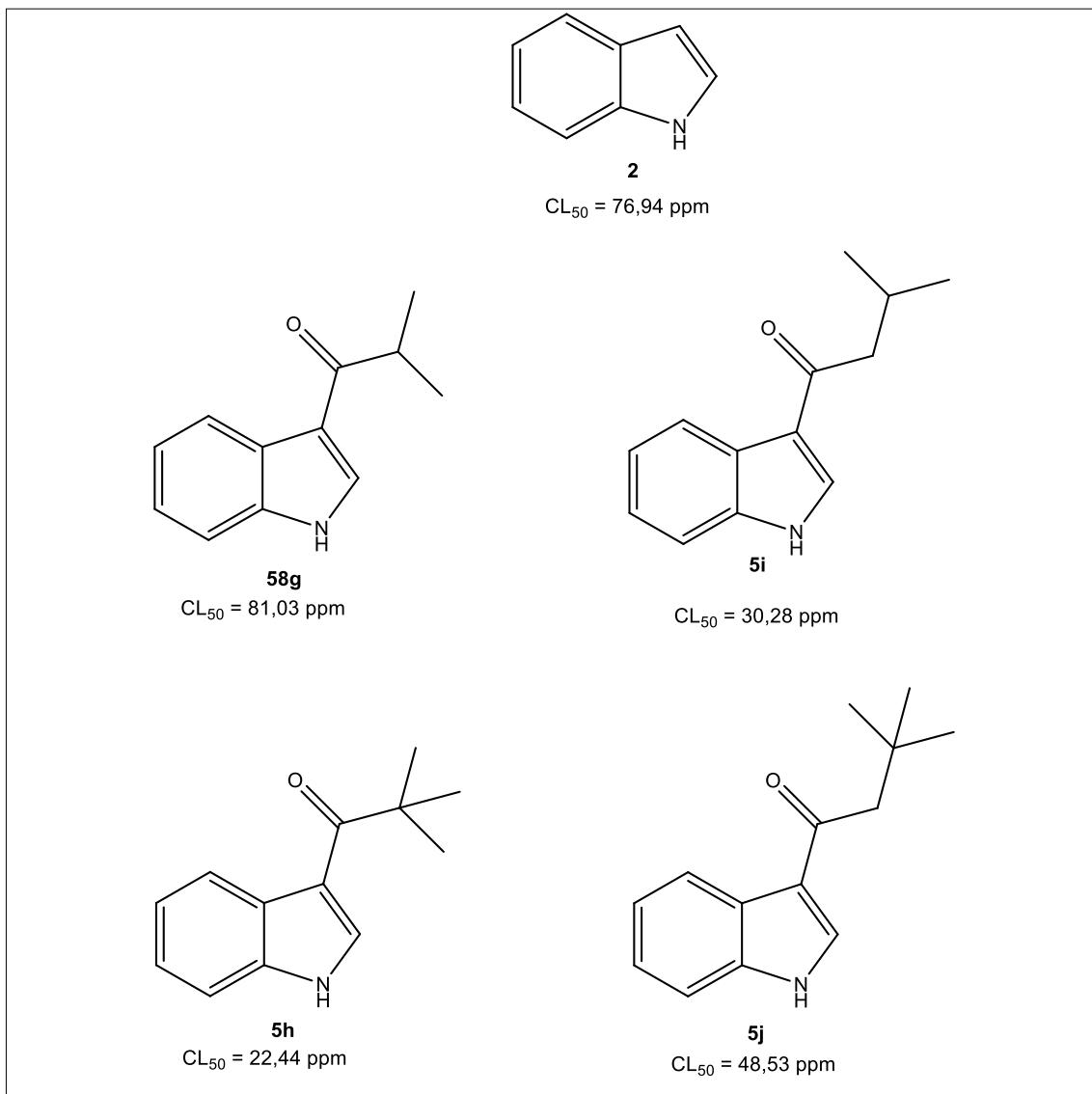
Esta oscilação pode ser explicada pelas propriedades de uma série homóloga, e os resultados larvicidas presentes estão possivelmente relacionados ou com uma interação específica fármaco-receptor ou com o metabolismo e excreção dos compostos (Ing, 1964). Este fenômeno também pode estar relacionado às propriedades físicas dos membros de uma série homóloga, justificado pela oscilação de certas características, como ponto de fusão e solubilidade, à medida que o *n* aumenta.

Figura 12. Relação entre estrutura e atividade de toxicidade ambiental com concentração letal de 50% (CL_{50}) (ppm) e intervalo de confiança 95% (IC) da série homóloga de derivados do indol com cadeias alifáticas lineares.



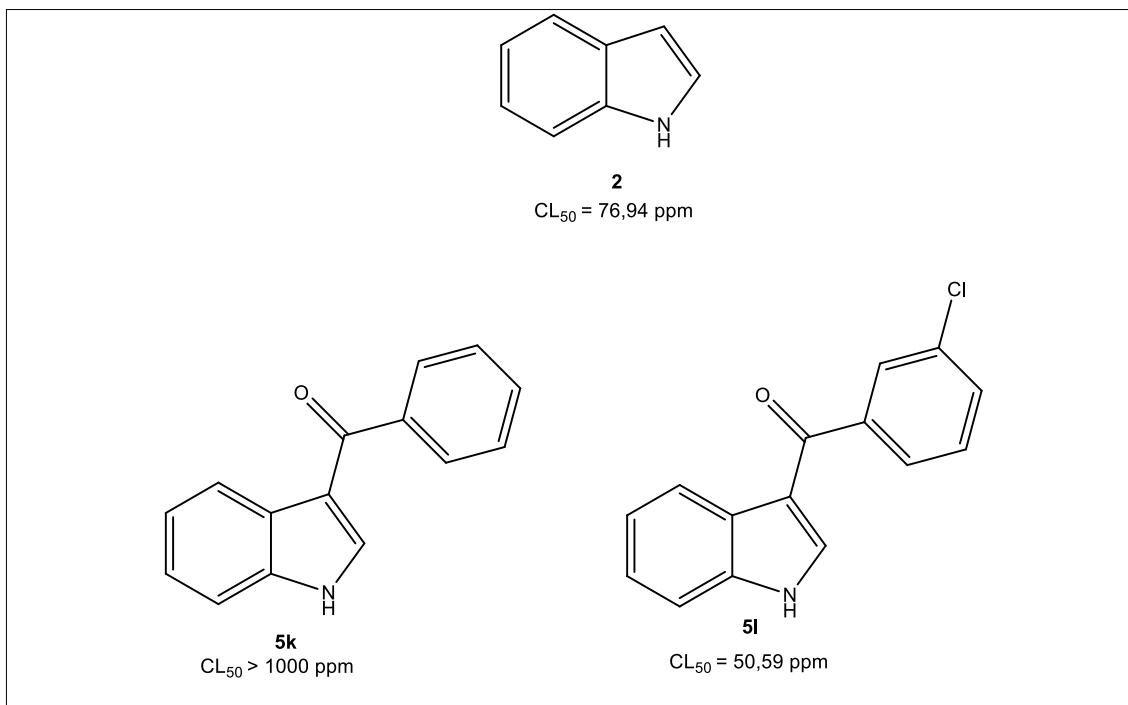
Os compostos com cadeia lateral alifática ramificada exibiram potencial larvicida variando de 22,44 a 81,03 ppm, sendo que as ramificações com número par de carbonos resultaram na melhor contribuição para o aumento da potência (figura 13).

Figura 13. Estrutura química dos derivados do indol (2) com cadeia lateral alifática ramificada (5g – 5j), seguida de suas respectivas CL_{50} .



A presença de um anel benzênico à cadeia lateral do indol resultou numa redução significativa da potência larvicida ($CL_{50} > 1000 \text{ ppm}$), porém com a substituição do próton na posição no anel benzeno por um cloro observou-se uma melhora na atividade ($CL_{50} = 50,59 \text{ ppm}$) contra as larvas *Rockfeller*, comprovando que a introdução de halogênios contribui para o aumento da lipofilia e, consequentemente, da atividade biológica (2011) (figura 14).

Figura 14. Estrutura química dos derivados do indol (**2**) com cadeia lateral aromática (**5k – 5l**), seguida de suas respectivas CL_{50} .



Após os resultados obtidos da atividade larvicida frente a larvas do *Ae. aegypti* e da toxicidade ambiental frente a náuplios de *Artemia* sp., foi realizado um estudo de Relação Quantitativa entre as Estruturas dos compostos (**5a-5l**) e suas respectivas Atividades biológicas realizadas (RQEA).

Os descritores VolSurf demonstraram ser úteis na previsão da propriedade farmacocinética. Com isso, o VolSurf/Vsurf (Crivori et al., 2000; Cruciani et al., 2000, 2004) é capaz de compactar informações relevantes, como a predição de propriedades do sistema ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) presentes em mapas 3D de alguns descritores caracterizados pela facilidade de uso e interpretação. Estes descritores podem ser comparados quantitativamente e usados para construir modelos multivariados que correlacionam estruturas moleculares 3D com atividades biológicas.

A validação cruzada do Q² foi utilizada para avaliar os modelos de RQEA propostos. Baseado neste princípio, o modelo de três variáveis foi selecionado como o melhor modelo. A equação de regressão correspondente à atividade larvicida e os parâmetros estatísticos estão descritos na equação 1.

$$\begin{aligned}
 -\text{Log CL}_{50} = & 11,1482 + 0,182137 \times \text{vsurf_DD23} + (-2,82006) \times \text{vsurf_EDmin1} \\
 & + 8,93905 \times \text{vsurf_IW1} \quad (\text{Equação 1})
 \end{aligned}$$

Onde, n_{teste} (número de compostos-teste) = 13; R^2_{teste} (coeficiente de correlação dos compostos-teste) = 0, 798019; $RMSE_{teste}$ (erro da raiz quadrada média dos compostos-teste) = 0, 267323; Q^2 (coeficiente de correlação de validação cruzada dos compostos-teste) = 0,692498.

Para os resultados dos ensaios de toxicidade ambiental frente a náuplios de *Artemia* sp., foi realizado também um estudo quantitativo de relação estrutura-atividade (RQEA) dos derivados indólicos 3-substituídos. Assim, a equação de regressão correspondente e os parâmetros estatísticos foram os seguintes:

-Log CL₅₀ = 24,8411 + (-2,51104) × vsurf_IW5 + (-0,0728094) × vsurf_W2 + 2,61354 × vsurf_W6 (Equação 2)

Onde, n_{teste} (número de compostos-teste) = 13; R^2_{teste} (coeficiente de correlação dos compostos-teste) = 0.772377; $RMSE_{teste}$ (erro da raiz quadrada média dos compostos-teste) = 0,846813; Q^2 (coeficiente de correlação de validação cruzada dos compostos-teste) = 0,780068.

6. CONCLUSÃO

Em suma, doze derivados indólicos foram sintetizados, caracterizados e avaliados contra larvas de *Aedes aegypti* e frente a náuplios de *Artemia* sp. A

série homóloga (compostos **5a** a **5f**) exibiu oscilação tanto da atividade larvicida frente ao *Ae. aegypti* como da toxicidade frente a náuplios de *Artemia* sp., sendo mais pronunciada no *Ae. aegypti*. Compostos com cadeia lateral ramificada apresentaram potências larvicidas com valores intermediários e baixa seletividade para o *Ae. aegypti*.

A 1-(1H-indol-3-ila)hexan-1-oná (**5e**), exibiu a melhor potência larvicida. No entanto este derivado apresentou baixo índice de seletividade apresentando alta toxicidade a náuplios de *Artemia* sp. A (3-clorofenila)1-(1H-indol-3-ila) metanona (**5l**), além de ter exibido uma atividade larvicida razoável em relação ao indol, demonstrou ser acima de 19,77 vezes menos tóxico para *Artemia* sp. A alta seletividade deste derivado clorado revela a necessidade de um estudo mais aprofundado de derivados aromáticos halogenados do indol substituídos no C-3 com o intuito de obter maior seletividade entre as duas espécies.

Os ensaios toxicológicos com *Artemia* sp. ofereceram uma forma rápida, com baixo custo econômico, além de alta reprodutibilidade. Assim, os compostos testados concedem informações úteis para a produção de novos agentes larvicidas potencialmente ativos e com uma redução dos efeitos tóxicos para o meio ambiente.

Os modelos RQEA propostos demonstraram que as propriedades de volume molecular e área de superfície, e hidrofilicidade, possivelmente dominam as atividades larvicidas e toxicológicas desses compostos, respectivamente.

7. REFERÊNCIAS

Abbott, W.S. (1987). A method of computing the effectiveness of an insecticide. 1925. J. Am. Mosq. Control Assoc. 3, 302–303.

Araujo, L.M., Ferreira, M.L.B., and Nascimento, O.J. (2016). Guillain-Barré syndrome associated with the Zika virus outbreak in Brazil. *Arq. Neuropsiquiatr.* 74, 253–255.

Bao, M.-F., Zeng, C.-X., Liu, Y.-P., Zhang, B.-J., Ni, L., Luo, X.-D., and Cai, X.-H. (2017). Indole Alkaloids from *Hunteria zeylanica*. *J. Nat. Prod.* 80, 790–797.

Barbosa da Silva, J., Siqueira, J.B., Coelho, G.E., Vilarinhos, P.T.R., and Pimenta, F.G. (2002). Dengue in Brazil: current situation and prevention and control activities. *Epidemiol. Bull.* 23, 3–6.

Barnay, J.-L., Cabie, A., Abel, S., Javelle, E., Troisgros, O., and René-Corail, P. (2016). Neurotropism of arboviruses seen by a physiatric view, Martiniquaises experiences through epidemics of Dengue, Chikungunya and Zika. *Ann. Phys. Rehabil. Med.* 59, e167.

Barreto, M.L., and Teixeira, M.G. (2008). Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. *Estud. Av.* 22, 53–72.

Basset, J., Romero, M., Serra, T., and Pujol, M.D. (2012). A convenient access to 1,3-disubstituted furo[3,4-b]indoles by acid ion-exchange resin-catalyzed furan formation. *Tetrahedron* 68, 356–362.

Belinato, T.A., and Valle, D. (2015). The Impact of Selection with Diflubenzuron, a Chitin Synthesis Inhibitor, on the Fitness of Two Brazilian *Aedes aegypti* Field Populations. *PLOS ONE* 10, e0130719.

Bellinato, D.F., Viana-Medeiros, P.F., Araújo, S.C., Martins, A.J., Lima, J.B.P., and Valle, D. (2016). Resistance Status to the Insecticides Temephos, Deltamethrin, and Diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* Populations. *BioMed Res. Int.* 2016, 8603263.

Beserra, E.B., Freitas, E.M. de, Souza, J.T. de, Fernandes, C.R.M., and Santos, K.D. (2009). Ciclo de vida de *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* (Diptera, Culicidae) em águas com diferentes características. *Iheringia Sér. Zool.* 99, 281–285.

Bohbot, J.D., Fu, L., Le, T.C., Chauhan, K.R., Cantrell, C.L., and Dickens, J.C. (2011). Multiple activities of insect repellents on odorant receptors in mosquitoes. *Med. Vet. Entomol.* 25, 436–444.

Brito, L.P., Linss, J.G.B., Lima-Camara, T.N., Belinato, T.A., Peixoto, A.A., Lima, J.B.P., Valle, D., and Martins, A.J. (2013). Assessing the Effects of *Aedes aegypti* kdr Mutations on Pyrethroid Resistance and Its Fitness Cost. *PLoS ONE* 8, e60878.

Carteaux, G., Maquart, M., Bedet, A., Contou, D., Brugières, P., Fourati, S., Cleret de Langavant, L., de Broucker, T., Brun-Buisson, C., Leparc-Goffart, I., et al. (2016). Zika Virus Associated with Meningoencephalitis. *N. Engl. J. Med.* 374, 1595–1596.

Chang, C., Ortiz, K., Ansari, A., and Gershwin, M.E. (2016). The Zika outbreak of the 21st century. *J. Autoimmun.* 68, 1–13.

Chen, L., Xie, J., Song, H., Liu, Y., Gu, Y., Wang, L., and Wang, Q. (2016a). Design, Synthesis, and Biological Activities of Spirooxindoles Containing Acylhydrazone Fragment Derivatives Based on the Biosynthesis of Alkaloids Derived from Tryptophan. *J. Agric. Food Chem.* 64, 6508–6516.

Chen, L., Xie, J., Song, H., Liu, Y., Gu, Y., Wang, L., and Wang, Q. (2016b). Design, Synthesis, and Biological Activities of Spirooxindoles Containing Acylhydrazone Fragment Derivatives Based on the Biosynthesis of Alkaloids Derived from Tryptophan. *J. Agric. Food Chem.* 64, 6508–6516.

Christophrs, S.S.R. (1960). *Aëdes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito; its life history, bionomics and structure. *Aëdes aegypti Yellow Fever Mosq. Its Life Hist. Bionomics Struct.*

Crivori, P., Cruciani, G., Carrupt, P.A., and Testa, B. (2000). Predicting blood-brain barrier permeation from three-dimensional molecular structure. *J. Med. Chem.* 43, 2204–2216.

Cruciani, G., Crivori, P., Carrupt, P.-A., and Testa, B. (2000). Molecular fields in quantitative structure–permeation relationships: the VolSurf approach. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* 503, 17–30.

Cruciani, G., Meniconi, M., Carosati, E., Zamora, I., and Mannhold, R. (2004). VOLSURF: A Tool for Drug ADME-Properties Prediction. In *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, H. van de Waterbeemd, H. Lennernäs, and P. Artursson, eds. (Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA), pp. 406–419.

Cunningham, P.A. (1976). Effects of Dimilin (Th 6040) on Reproduction in the Brine Shrimp, *Artemia salina*. *Environ. Entomol.* 5, 701–706.

Das, T., Chakraborty, A., and Sarkar, A. (2014). Palladium catalyzed addition of arylboronic acid or indole to nitriles: synthesis of aryl ketones. *Tetrahedron Lett.* 55, 7198–7202.

Donalisio, M.R., and Freitas, A.R.R. (2015). Chikungunya no Brasil: um desafio emergente. *Rev. Bras. Epidemiol.* 18, 283–285.

El Ashry, E.S.H., El Tamany, E.S.H., El Fattah, M.E.D.A., Boraei, A.T.A., and Abd El-Nabi, H.M. (2013). Regioselective synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of S-glycosides and S,N-diglycosides of 1,2-Dihydro-5-(1H-indol-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thione. *Eur. J. Med. Chem.* 66, 106–113.

Engdahl, C., Knutsson, S., Fredriksson, S.-Å., Linusson, A., Bucht, G., and Ekström, F. (2015). Acetylcholinesterases from the Disease Vectors *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae*: Functional Characterization and Comparisons with Vertebrate Orthologues. *PLOS ONE* 10, e0138598.

Fernandes, C.I.R., Perez, L.E. da C., and Perez, D.E. da C. (2016). Uncommon oral manifestations of dengue viral infection. *Braz. J. Otorhinolaryngol.*

FINNEY, D.J. (1971). Probit Analysis. *J. Pharm. Sci.* 60, 1432.

Forattini, O.P. (1995). Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. *Cad. Saúde Pública* 11, 157–158.

Fujiwara, G.M., Annies, V., de Oliveira, C.F., Lara, R.A., Gabriel, M.M., Betim, F.C.M., Nadal, J.M., Farago, P.V., Dias, J.F.G., Miguel, O.G., et al. (2017). Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 139, 238–244.

Garcia, R., Marchette, N.J., and Rudnick, A. (1969). Isolation of Zika Virus from *Aedes aegypti* Mosquitoes in Malaysia *. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 18, 411–415.

Guzmán, M.G., and Kourí, G. (2002). Dengue: an update. *Lancet Infect. Dis.* 2, 33–42.

Han, Q., Fang, J., and Li, J. (2002). 3-Hydroxykynurenine Transaminase Identity with Alanine Glyoxylate Transaminase: A probable detoxification protein in *Aedes aegypti*. *J. Biol. Chem.* 277, 15781–15787.

Hu, H.-Y., Yu, X.-D., Wang, F., Lin, C.-R., Zeng, J.-Z., Qiu, Y.-K., Fang, M.-J., and Wu, Z. (2016). Novel N-Substituted 2-(2-(Adamantan-1-yl)-1H-Indol-3-yl)-2-Oxoacetamide Derivatives: Synthesis and Biological Evaluation. *Molecules* 21, 530.

Ing, H.R. (1964). The pharmacology of homologous series. *Fortschritte Arzneimittel-forschung Prog. Drug Res. Progres Rech. Pharm.* 7, 305–339.

Jacob, S. 3-indolyl vinyl ketones.

Khan, H.A.A., Akram, W., Arshad, M., and Hafeez, F. (2016). Toxicity and resistance of field collected *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) against insect growth regulator insecticides. *Parasitol. Res.* 115, 1385–1390.

Kraemer, M.U., Sinka, M.E., Duda, K.A., Mylne, A.Q., Shearer, F.M., Barker, C.M., Moore, C.G., Carvalho, R.G., Coelho, G.E., Van Bortel, W., et al. (2015). The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *ELife* 4.

Lai, C.-Y., Lo, I.-W., Hewage, R.T., Chen, Y.-C., Chen, C.-T., Lee, C.-F., Lin, S., Tang, M.-C., and Lin, H.-C. (2017). Biosynthesis of Complex Indole Alkaloids:

Elucidation of the Concise Pathway of Okaramines. *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**, 9478–9482.

Li, Z., and Gevorgyan, V. (2012a). One-Pot Arylative Epoxidation of Ketones by Employing Amphoteric Bromoperfluoroarenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 1225–1227.

Li, Z., and Gevorgyan, V. (2012b). One-Pot Arylative Epoxidation of Ketones by Employing Amphoteric Bromoperfluoroarenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 1225–1227.

Licznerska, B., and Baer-Dubowska, W. (2016). Indole-3-Carbinol and Its Role in Chronic Diseases. In *Anti-Inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases*, S.C. Gupta, S. Prasad, and B.B. Aggarwal, eds. (Cham: Springer International Publishing), pp. 131–154.

Liu, S., and Liebeskind, L.S. (2008a). A Simple, Modular Synthesis of Substituted Pyridines. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 6918–6919.

Liu, S., and Liebeskind, L.S. (2008b). A Simple, Modular Synthesis of Substituted Pyridines. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 6918–6919.

Liu, L.E., Dehning, M., Phipps, A., Swienton, R.E., Harris, C.A., and Klein, K.R. (2017). Clinical Update on Dengue, Chikungunya, and Zika: What We Know at the Time of Article Submission. *Disaster Med. Public Health Prep.* **11**, 290–299.

Magidson, O.J., and Strukow, I.T. (1933). Die Derivate des 8-Aminochinolins als Antimalaria präparate. Mitteilung II: Der Einfluß der Länge der Kette in Stellung 8. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **271**, 569–580.

Messina, J.P., Brady, O.J., Scott, T.W., Zou, C., Pigott, D.M., Duda, K.A., Bhatt, S., Katzelnick, L., Howes, R.E., Battle, K.E., et al. (2014). Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol.* **22**, 138–146.

Miao, F.-P., Li, X.-D., Liu, X.-H., Cichewicz, R.H., and Ji, N.-Y. (2012). Secondary Metabolites from an *Algiculous aspergillus versicolor* Strain. *Mar. Drugs* **10**, 131–139.

- Musso, D., and Gubler, D.J. (2016). *Zika Virus. Clin. Microbiol. Rev.* *29*, 487–524.
- Mustafa, M.S., Rasotgi, V., Jain, S., and Gupta, V. (2015). Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Med. J. Armed Forces India* *71*, 67–70.
- Nge, C.-E., Sim, K.-S., Lim, S.-H., Thomas, N.F., Low, Y.-Y., and Kam, T.-S. (2016). A Hexacyclic, Iboga-Derived Monoterpenoid Indole with a Contracted Tetrahydroazepine C-Ring and Incorporation of an Isoxazolidine Moiety, a Seco-Corynanthean, an *Aspidosperma-Aspidosperma* Bisindole with Anticancer Properties, and the Absolute Configuration of the Pyridopyrimidine Indole Alkaloid, Vernavosine. *J. Nat. Prod.* *79*, 2709–2717.
- Nogueira, R.M.R., Miagostovich, M.P., Lampe, E., and Schatzmayr, H.G. (1990). Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* *85*, 253–253.
- Nunes, B.S., Carvalho, F.D., Guilhermino, L.M., and Van Stappen, G. (2006). Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environ. Pollut.* *144*, 453–462.
- Oliveira, R., Brito, T., Nepel, A., Costa, E., Barison, A., Nunes, R., Santos, R., and Cavalcanti, S. (2014a). Synthesis, Activity, and QSAR Studies of Tryptamine Derivatives on Third-instar Larvae of *Aedes aegypti* Linn. *Med. Chem.* *10*, 580–587.
- Oliveira, R.R.B., Brito, T.B., Nepel, A., Costa, E.V., Barison, A., Nunes, R.S., Santos, R.L.C., and Cavalcanti, S.C.H. (2014b). Synthesis, activity, and QSAR studies of tryptamine derivatives on third-instar larvae of *Aedes aegypti* Linn. *Med. Chem. Shariqah United Arab Emir.* *10*, 580–587.
- Oliveira Melo, A.S., Malinger, G., Ximenes, R., Szejnfeld, P.O., Alves Sampaio, S., and Bispo de Filippis, A.M. (2016). Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg?: Physician Alert. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* *47*, 6–7.

- Ottoni, O., Neder, A. de V.F., Dias, A.K.B., Cruz, R.P.A., and Aquino, L.B. (2001). Acylation of Indole under Friedel–Crafts ConditionsAn Improved Method To Obtain 3-Acyliindoles Regioselectively. *Org. Lett.* 3, 1005–1007.
- Parvanak-Boroujeni, K., and Parvanak, K. (2011). Friedel-Crafts acylation of arenes with carboxylic acids using polystyrene-supported aluminum triflate. *J. Serbian Chem. Soc.* 76, 155–163.
- Powers, A.M., and Logue, C.H. (2007). Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *J. Gen. Virol.* 88, 2363–2377.
- Raison, C.G., and Standen, O.D. (1955). The schistosomicidal activity of symmetrical diaminodiphenoxylalkanes. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 10, 191–199.
- Recker, M., Vannice, K., Hombach, J., Jit, M., and Simmons, C.P. (2016). Assessing dengue vaccination impact: Model challenges and future directions. *Vaccine* 34, 4461–4465.
- Rodríguez, C.M.M., Bisset, C.J.A., Hernández, C.H., Ricardo, Y., French, L., Pérez, O., and Fuentes, I. (2012). [Partial characterization of esterase activity in a temephos-resistant *Aedes aegypti* strain]. *Rev. Cubana Med. Trop.* 64, 256–267.
- Rubin, E.J., Greene, M.F., and Baden, L.R. (2016). Zika Virus and Microcephaly. *N. Engl. J. Med.* 374, 984–985.
- Santos, S.R.L., Melo, M.A., Cardoso, A.V., Santos, R.L.C., de Sousa, D.P., and Cavalcanti, S.C.H. (2011). Structure–activity relationships of larvicidal monoterpenes and derivatives against *Aedes aegypti* Linn. *Chemosphere* 84, 150–153.
- Schatzmayr, H.G. (2000). Dengue situation in Brazil by year 2000. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95, 179–181.

Schatzmayr, H.G., Nogueira, R.M., and Travassos da Rosa, A.P. (1986). An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro--1986. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 81, 245–246.

Silva, S.L. da, Nascimento, A.A. do, Ribeiro, E.F.B., Ribeiro, R.B., Alves, C.M., Santos, A.M. dos, Burmann, A.P.R., and Mira Neto, R. de A. (2016). Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). *Acta Amaz.* 46, 73–80.

Silva, V.C., Serra-Freire, N.M., Silva, J.D.S., Scherer, P.O., Rodrigues, I., Cunha, S.P., and Alencar, J. (2009a). [Comparative study between larvitrapas and ovitraps for evaluating the presence of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Campo Grande, State of Rio de Janeiro]. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 42, 730–731.

Silva, V.C., Serra-Freire, N.M., Silva, J. dos S., Scherer, P.O., Rodrigues, I., Cunha, S.P., and Alencar, J. (2009b). Estudo comparativo entre larvitrampas e ovitrampas para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Campo Grande, Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 42, 730–731.

Solomons, T.W.G., and Fryhle, C.B. (2012). Química orgânica. volume 2 volume 2.

Sudeep, A.B., and Parashar, D. (2008). Chikungunya: an overview. *J. Biosci.* 33, 443–449.

Talyuli, O.A.C., Bottino-Rojas, V., Taracena, M.L., Soares, A.L.M., Oliveira, J.H.M., and Oliveira, P.L. (2015). The use of a chemically defined artificial diet as a tool to study *Aedes aegypti* physiology. *J. Insect Physiol.* 83, 1–7.

Teguh, S.C., Klonis, N., Duffy, S., Lucantoni, L., Avery, V.M., Hutton, C.A., Baell, J.B., and Tilley, L. (2013). Novel Conjugated Quinoline–Indoles Compromise *Plasmodium falciparum* Mitochondrial Function and Show Promising Antimalarial Activity. *J. Med. Chem.* 56, 6200–6215.

Thanabalu, T., Porter, A.G., and Hindley, J. (1996a). Purification and Identification of a Metabolite from *Escherichia coli* Which Is Toxic to Mosquito Larvae. *J. Invertebr. Pathol.* *67*, 306–308.

Thanabalu, T., Porter, A.G., and Hindley, J. (1996b). Purification and Identification of a Metabolite from *Escherichia coli* Which Is Toxic to Mosquito Larvae. *J. Invertebr. Pathol.* *67*, 306–308.

Uchida, R., Imasato, R., Yamaguchi, Y., Masuma, R., Shiomi, K., Tomoda, H., and Ōmura, S. (2005). New Sesquicillins, Insecticidal Antibiotics Produced by *Albophoma* sp. FKI-1778. *J. Antibiot. (Tokyo)* *58*, 397–404.

Vieira Santos, V.S., Caixeta, E.S., Campos Júnior, E.O. de, and Pereira, B.B. (2017a). Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of pyriproxyfen. *J. Toxicol. Environ. Health A* *80*, 155–160.

Vieira Santos, V.S., Caixeta, E.S., Campos Júnior, E.O. de, and Pereira, B.B. (2017b). Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of pyriproxyfen. *J. Toxicol. Environ. Health A* *80*, 155–160.

Weaver, S.C., and Forrester, N.L. (2015a). Chikungunya: Evolutionary history and recent epidemic spread. *Antiviral Res.* *120*, 32–39.

Weaver, S.C., and Forrester, N.L. (2015b). Chikungunya: Evolutionary history and recent epidemic spread. *Antiviral Res.* *120*, 32–39.

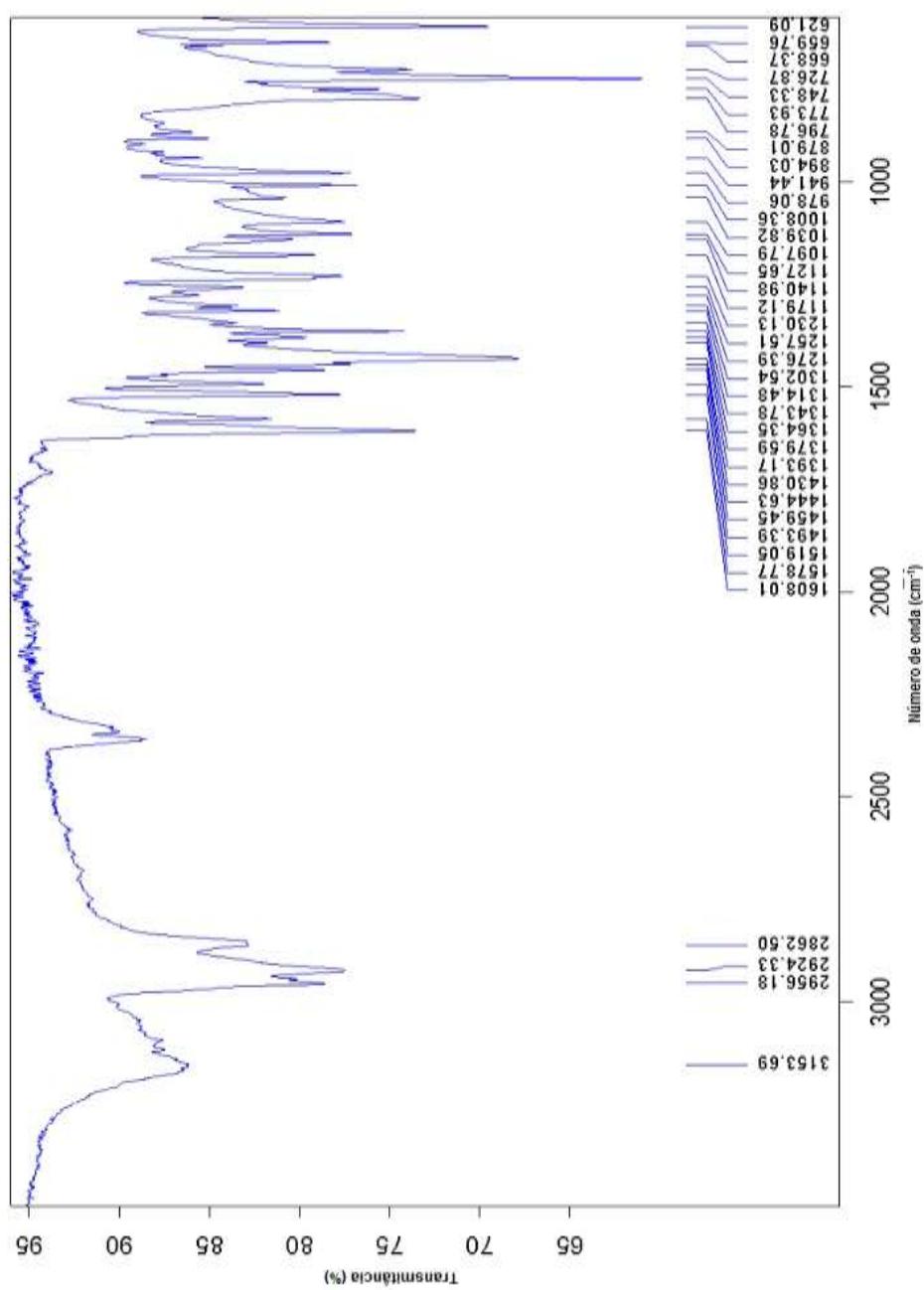
Weaver, S.C., Costa, F., Garcia-Blanco, M.A., Ko, A.I., Ribeiro, G.S., Saade, G., Shi, P.-Y., and Vasilakis, N. (2016). Zika virus: History, emergence, biology, and prospects for control. *Antiviral Res.* *130*, 69–80.

Yang, C., Patel, H.H., Ku, Y.-Y., Shah, R., and Sawick, D. (1997). The Use of Lewis Acid in the Reaction of Zinc Salts of Indoles and Acyl Chloride. *Synth. Commun.* *27*, 2125–2132.

Zhang, Z.-W., Xue, H., Li, H., Kang, H., Feng, J., Lin, A., and Liu, S. (2016). Collective Synthesis of 3-Acylindoles, Indole-3-carboxylic Esters, Indole-3-sulfinic Acids, and 3-(Methylsulfonyl)indoles from Free (N-H) Indoles via Common *N*-Indolyl Triethylborate. *Org. Lett.* **18**, 3918–3921.

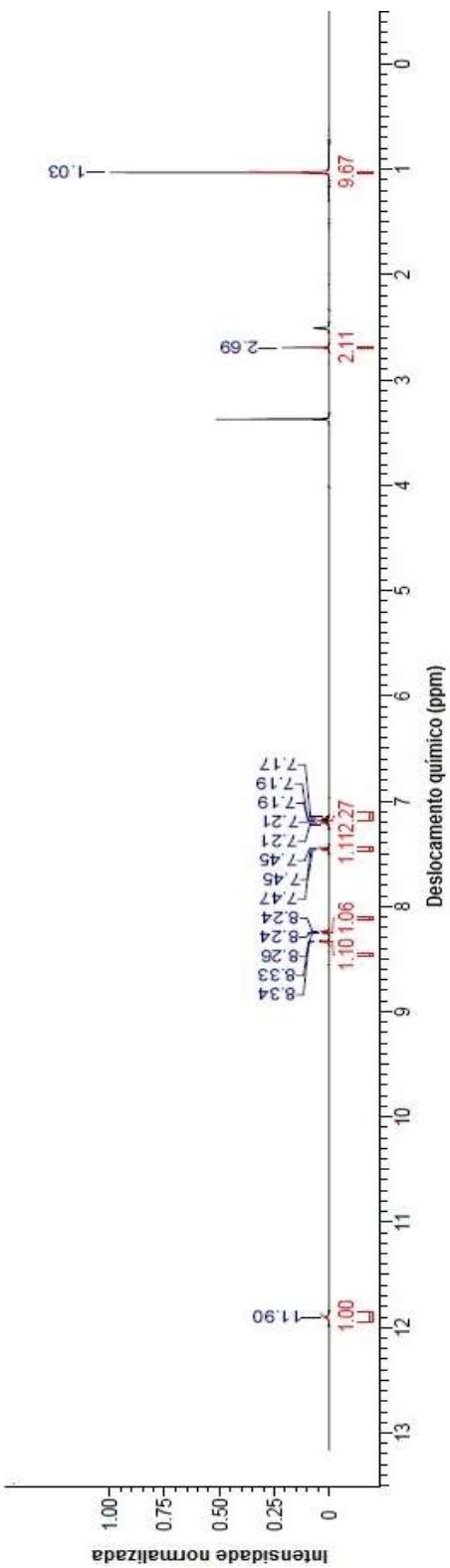
Anexo I

Espectro de Infravermelho 1-(1H-Indol-3-ila)-3,3-dimetil-butan-1-ona (5j)



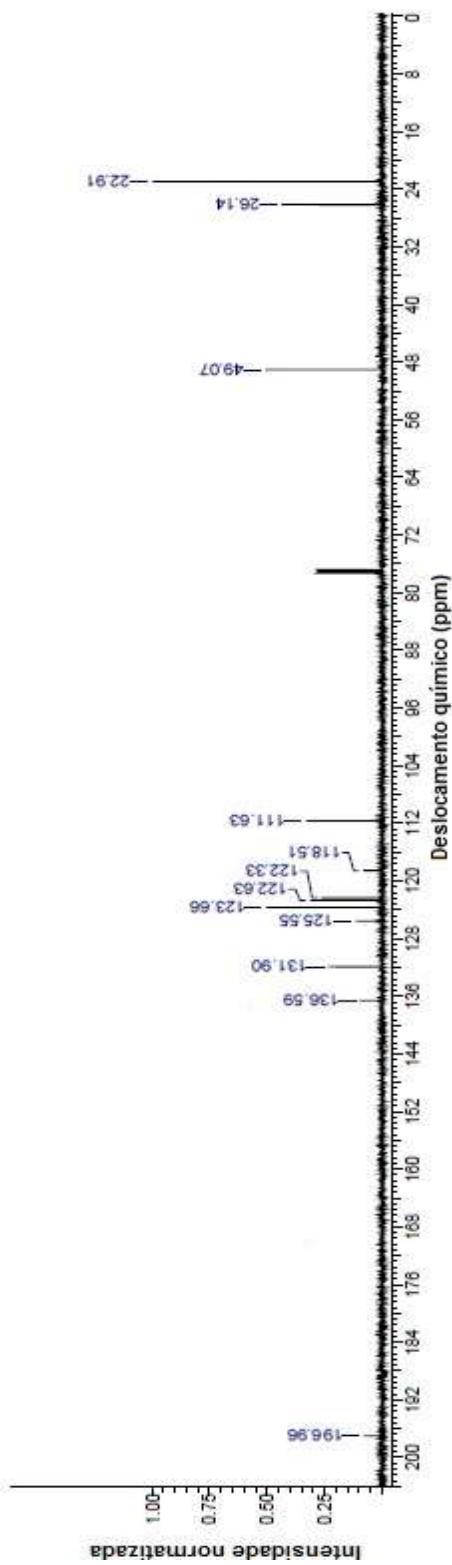
Anexo II

Espectro de RMN H¹ 1-(1H-Indol-3-ila)-3,3-dimetil-butan-1-ona (5j)



Anexo III

Espectro de RMN C¹³
1-(1H-Indol-3-ila)-3,3-dimetil-butan-1-ona (5j)



Anexo IV

Espectro de Massas
1-(1H-Indol-3-ila)-3,3-dimetil-butan-1-ona (5j)

