

RESUMO EXPANDIDO - PÔSTER OU ORAL. - VERMELHA - RELACIONADA
À SAÚDE, ENVOLVE O DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS,
TRATAMENTOS MÉDICOS, VACINAS, FÁRMACOS E MANIPULAÇÕES
GENÉTICAS.

**AVALIAÇÃO DA CHALCONA HETEROCÍCLICA COMO AGENTE INSETICIDA
E SEU IMPACTO MORFOLÓGICO EM OVOS DE AEDES AEGYPTI
(DIPTERA: CULICIDAE)**

João Paulo Carvalho De Lima (joaopaulo152500@gmail.com)

Shayenne Eduarda Ramos Vanderley (shayenne.erv@gmail.com)

Emille Raulino De Barros (emilleraulinob@gmail.com)

Luís Fellipe Alves Da Silva (lfas@academico.ufpb.br)

Thalita Barbosa Andrade (thalitabandrade1@gmail.com)

Natália Ferreira De Sousa (nataliafsousa@lft.ufpb.br)

Fernando Ferreira Leite (fernandoferreira_15@hotmail.com)

Fabiola Da Cruz Nunes (fabiola@cbiotec.ufpb.br)

Introdução

O mosquito *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) é responsável por inúmeros desafios na saúde pública, uma vez que é descrito como o principal vetor dos vírus da dengue, chikungunya e zika (Terra et al., 2017). A elevada incidência de doenças virais, tem representado um grande problema econômico, social e de saúde pública. A dificuldade em controlar a sua proliferação pode ser atribuída às suas características biológicas, como adaptabilidade a diferentes esferas ambientais, temperatura e sazonalidade (Morais et al., 2020).

O controle vetorial é uma das formas mais importantes de impedir a propagação dessas doenças. Em resposta a este problema, os compostos sintéticos tornam-se ferramentas com grande funcionalidade, com potencial para servir como métodos eficazes para o controle químico de vetores (Aguiar et al., 2017; Mendes et al., 2017). Dessa forma, visando novas possibilidades para o combate ao vetor, tem se avaliado a partir da síntese orgânica, a necessidade de busca sobre novos constituintes com potencial inseticida, como por exemplo as chalconas. As chalconas são moléculas precursores de flavonóides, que possuem uma grande aplicabilidade biológica, como por exemplo, anti-microbiana, anti-parasitária, inseticida, entre outras. Logo, apesar de sua ampla atividade, ainda existe uma deficiência de informações sobre o quanto esses compostos poderiam auxiliar no controle populacional de vetores (Gomes et al., 2020).

Baseando-se neste contexto, o objetivo geral deste estudo é avaliar os efeitos da chalcona heterocíclica (CHH) *in silico* e sob o desenvolvimento em *Ae. aegypti*, com o intuito de contribuir para o conhecimento científico vigente.

Metodologia

1. Síntese da CHH e preparação do composto

A CHH (C₁₄H₁₀O₃S [massa: 258,01]) foi obtida do Laboratório de Síntese Orgânica e Medicinal (LASOM)/UFPB. Para solução trabalho, a mesma foi condicionada em temperaturas ideais de 3°C ± 1°C e utilizada em diferentes concentrações para uso nos bioensaios.

2. Docking Molecular

O Docking Molecular (DM) foi utilizado para investigar o mecanismo da CHH em estudo, através da afinidade de ligação do composto à proteína transportadora de esterol-2 (PTE2) complexada com ácido palmítico (AP) (PDB: 1PZ4), utilizando o software Molegro Virtual Docker v.6.0.1. A estrutura 3D da proteína foi obtida do Protein Data Bank (PDB) (Bernstein et al., 1977). A estrutura química do composto foi desenhada no software Marvin Sketch e ChemAxon, sendo padronizada em 3D, e a energia do composto foi minimizada por mecânica molecular e semi-empírico usando o software Spartan 14 e WaveFunction.

3. Modelo de predição

O potencial larvicida da CHH em estudo foi avaliado através da base de dados Molpredict X (Scotti et al., 2022). Sendo considerados ativos os compostos que possuem valor pIC₅₀ = 4,05 e apresentam validação global determinada pelo coeficiente de correlação de mathews de 0,68, indicando uma boa predição. O referido modelo apresenta validação experimental descrita na pesquisa de Fernandes e colaboradores (2019).

4. Bioensaios

Bioensaios sob o *Ae. aegypti* (LAPAVET-SD) foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Parasitas e Vetores (LAPAVET) no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

5. Criação e manutenção do ciclo de vida do *Aedes aegypti*

Foram utilizados *Ae. aegypti* da linhagem Lapavet-SD, obtidos de uma colônia cíclica mantida no LAPAVET. Os mesmos foram mantidos dentro de uma câmara do tipo Biological Oxygen Demand (BOD), sob condições de temperatura controlada de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar $75\% \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro (Imam et al. 2014; Nunes et al. 2015). A utilização de condições normalizadas de manutenção do ciclo de vida para bioensaios é essencial para garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos dados (WHO, 2015).

6. Bioensaios sob a atividade larvívora e de eclodibilidade em *Aedes aegypti*

A atividade larvívora foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela WHO (2015). Larvas L3 de *Ae. aegypti* ($n = 25$) foram coletadas de bandejas e transferidas para tubos falcon de 15 mL contendo 10 mL de água desclorada. Em seguida, os grupos foram expostos à substância teste em concentrações que variaram de 5 a 100 ppm. Para avaliar a atividade de eclodibilidade, discos de papel filtro contendo 30 ovos recém coletados, foram expostos a menor concentração da substância teste que matou 100% das larvas. Os ovos foram mantidos nas condições ideais de desenvolvimento e observados ao longo de 10 dias para contagem de ovos eclodidos, considerando como inviáveis os que após 10 dias não eclodiram. Utilizou-se da microscopia eletrônica de varredura

(MEV) para análise morfológica (200µm) dos ovos frente exposição a CHH. Para o controle negativo (CN), foram expostos a água desclorada e Tween® 80 e 20 (2%). Já para o controle positivo utilizou-se um inseticida comercial com composição Imiprotrina 0,02%, Permetrina 0,05% e Esbiotrina 0,1% (Nunes et al. 2015).

7. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Os valores serão expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m). Realizou-se o teste T de Student; a análise de variância “one-way” e “two-way” de acordo com o experimento. Foi considerado $p < 0,05$ para significância estatística das análises obtidas. Resultados foram feitos em triplicata.

Resultados e discussão

1. Modelo de predição e docking molecular

Os resultados sob o modelo de predição demonstraram que a CHH apresentou um valor de probabilidade de atividade correspondente a 1, o que indica uma alta probabilidade de atividade larvícida (Scotti et al., 2022).

Já nos resultados de DM, a CHH foi submetida a simulações diante da PTE2 complexada ao AP (PDB: 1PZ4). Valores mais negativos indicaram maior afinidade pelo alvo em estudo. O resultado referente à energia de ligação da CHH sob a PTE2 complexada ao AP (PDB: 1PZ4), foi de -117,151 kcal.mol⁻¹. Observou-se que a CHH apresentou menor energia de ligação quando

comparada ao ligante co-cristalizado ($-116,139 \text{ kcal.mol}^{-1}$), demonstrando assim, maior afinidade ao alvo em estudo. Além de avaliar o "score" de energia, foram avaliadas as interações químicas estabelecidas entre a CHH e a PTE2 complexada ao AP (PDB: 1PZ4). As interações derivadas da CHH com a PTE2 complexada ao AP (PDB: 1PZ4) são interações hidrofóbicas (IH) e interações de ligações de hidrogênio (ILH). As IH foram as mais prevalentes. As interações corresponderam a: Ile 12, Leu 102, Arg 24, Val 26 e Phe 105 (1 interação cada). Vale ressaltar que os resíduos Leu 102 e Arg 24 são resíduos chave na manutenção da cadeia hidrofóbica da proteína em estudo.

2. Avaliação sob a atividade larvícida, e de eclodibilidade em *Ae. aegypti*

Nos resultados da atividade larvícida, foram utilizadas concentrações que variaram de 5 a 100 ppm, sendo a concentração de 100 ppm, a menor capaz de causar maior mortalidade no período de 24 e 48 horas de exposição. As concentrações de 10 a 100 ppm ($p < 0,0001$ [24 horas]), e 5 ppm ($p < 0,0001$ [48 horas]) apresentaram maior significância estatística quando comparada ao CN. No período de 48 horas de exposição da CHH, observou-se um incremento de 65% na mortalidade. A CHH apresentou uma promissora atividade mesmo em concentrações baixas, com valores de CL50 de 10,04 ppm (24 horas), e 6,84 ppm (48 horas) de exposição. Diante dos dados apresentados, podemos observar que a medida em que ocorre um aumento da exposição ao composto, há um aumento substancial na mortalidade. Esse fenômeno pode ser atribuído a um possível mecanismo de ação envolvendo a ligação da PTE2 complexada ao AP evidenciada na análise *in silico* frente a CHH. A proteína atua em conjunto com o AP no transporte e metabolismo dos ácidos graxos. Por ser um ácido graxo saturado adquirido pela dieta, como por exemplo da alimentação por matéria orgânica pelas larvas, o ácido palmítico participa das vias do metabolismo lipídico para síntese de Acetil-CoA e ATP (adenosina trifosfato) (Dyer et al., 2003). A interferência da CHH nesse processo poderia justificar o aumento da taxa de mortalidade quando expostos à substância.

Para avaliar a atividade de eclodibilidade, discos de papel filtro contendo 30 ovos recém-coletados do insetário, foram expostos a menor concentração da substância teste que matou 100% das larvas. Os ovos foram mantidos nas condições ideais de desenvolvimento e observados ao longo de 10 dias. Ao avaliar os dados, observou-se que a CHH obteve atividade significativa ($p < 0,0001$), diminuindo em 99,4% a eclodibilidade dos ovos de *Ae. Aegypti* após 10 dias de exposição. Possivelmente, a atividade evidenciada sobre a eclodibilidade está relacionada a danos ao exocório (camada externa dos ovos), como observado através das imagens estabelecidas por MEV, em comparação ao CN.

Conclusões

Em conclusão, a CHH apresentou atividade larvívica eficaz em diferentes concentrações e menor energia de ligação comparada ao composto co-cristalizado. As IH com resíduos Leu 109, Leu 102, Arg 24 e Phe 105 sugerem que os compostos podem compartilhar o mesmo sítio ativo. Além disso, a CHH reduziu a eclodibilidade dos ovos de *Ae. aegypti* em 99,4%. Estudos futuros são essenciais para entender melhor o papel da CHH e seus mecanismos envolvidos, visando mitigar a resistência dos vetores e melhorar o seu controle.

Palavras-chave: culicídeo; insetívica sintética; flavonóides; exocório.