



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JÉSSICA DA SILVA NASCIMENTO

**Análise da atividade larvicida de Hidrazidas contendo anéis do 1,2,4-oxadiazol  
e estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* L.  
(DIPTERA, CULICIDAE)**

MONOGRAFIA

Recife,  
15 de Agosto de 2018



JÉSSICA DA SILVA NASCIMENTO

**Análise da atividade larvicida de Hidrazidas contendo anéis do 1,2,4-oxadiazol  
e estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* L.  
(DIPTERA, CULICIDAE)**

Monografia submetida ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do Departamento de Biologia, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Lourinalda Luiza Dantas da Silva Selva de Oliveira

Co-orientadora: Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro

Recife,  
15 de Agosto de 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N244a Nascimento, Jéssica da Silva Nascimento

Análise da atividade larvívica de Hidrazidas contendo anéis do 1,2,4-oxadiazol e estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* L. (DIPTERA, CULICIDAE) / Jéssica da Silva Nascimento Nascimento. - 2018.  
24 f. : il.

Orientadora: Lourinalda Luiza Dantas da Silva Selva de Oliveira.  
Coorientadora: Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro.  
Inclui referências e anexo(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2020.

1. *Aedes aegypti*. 2. larvívica. 3. 1,2,4 -oxadiazol. 4. histomorfologia. I. Oliveira, Lourinalda Luiza Dantas da Silva Selva de, orient. II. Navarro, Daniela Maria do Amaral Ferraz, coorient. III. Título

JÉSSICA DA SILVA NASCIMENTO

**Análise da atividade larvícida de Hidrazidas contendo anéis do 1,2,4-oxadiazol  
e estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* L.  
(DIPTERA, CULICIDAE)**

Monografia submetida ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do Departamento de Biologia, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

APROVADA em 15 de Agosto de 2018

Daniela M. do Amaral Ferraz Navarro  
(UFPE)

André Severino da Silva  
(UFPE)

Lourinalda Luiza Dantas da Silva Selva de Oliveira  
(Orientador (a))

RECIFE  
PERNAMBUCO – BRASIL

## Agradecimentos

À minha família, por tanto amor, todo apoio em minhas escolhas e serem sempre meu porto seguro, base e abrigo. Mesmo quando a Universidade precisava ser a minha segunda casa, de vocês recebi toda torcida do mundo no regresso.

À minha irmã Joana D'arc, por ser meu exemplo de ser humano e determinação.

À professora Daniela Navarro, por todo ensinamento, pelo exemplo de pesquisadora e pessoa que é, por toda atenção e pelo total apoio na realização e em tantos momentos difíceis ao longo deste trabalho. Por toda amizade e confiança que construímos nesse período.

À professora Lourinalda Oliveira, por ter me recebido tão bem em seu laboratório, pelos bons conselhos e colaboração.

À todos que fazem parte e egressos do Laboratório de Ecologia Química.

Ao Técnico do Laboratório de Ecologia Química Júlio César, por tanta paciência e ajuda com seu conhecimento químico.

Ao professor Álvaro Aguiar Coelho Teixeira, Professora Valéria Wanderley Teixeira, Cristiane Thalita dos Santos Silva e Kamilla de Andrade Dutra pela realização e apoio nos experimentos morfo-histológicos.

Aos amigos de graduação, por toda torcida e por serem sinônimo de amizade em minha vida.

Aos amigos da vida, que mesmo com a distância se fazem presente.

À Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade e espaço de realização do trabalho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco por disponibilizar toda estrutura para o meu aprendizado.

## Resumo

O controle ao *Aedes aegypti* é hoje um grande desafio de saúde pública por ser o responsável por importantes arboviroses, como: Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela urbana. Tendo como melhor método de disseminação o controle vetorial usando métodos de manejo ambiental e químico integrados. Neste trabalho, propomos um estudo da atividade larvicida de 15 hidrazidas frente às larvas de *A. aegypti*, visando identificar características estruturais responsáveis pela atividade larvicida dos compostos. Larvas do 4º instar foram submetidas aos compostos por 48 horas em diferentes concentrações e posteriormente determinou-se o LC50. Dos compostos estudados, 9 apresentaram considerável potencial no controle do *A. aegypti* (LC50<100ppm). O composto identificado como HCBA apresentou maior atividade larvicida quando comparado aos demais (LC50=20,63ppm) e despertou o interesse em entender seu mecanismo de ação. Larvas no 4º instar foram submetidas ao HCBA (20,63ppm), onde permaneceram por 24 horas. As larvas que atingiram estado letárgico foram coletadas, fixadas em formolína, incluídas em resina, seccionadas, as lâminas coradas por azul-de-toluidina e analisadas por microscopia de luz. As alterações morfohistológicas das larvas submetidas ao tratamento foram: elevada vacuolização no citoplasma e desorganização do epitélio. Estes resultados demonstram que o composto HCBA pode ser efetivo no controle do *A. aegypti* por promover alterações a nível de mesêntero.

**Palavras-chave:** *Aedes aegypti* / larvicida / 1,2,4 -oxadiazol / histomorfologia

## Abstract

The control of *Aedes aegypti* is now a major public health challenge because it's responsible for important arboviruses such as: Dengue, Chikungunya, Zika and Urban Yellow Fever. In this work, we propose a study of the structure-activity relationship of 15 hydrazides against *A. aegypti* larvae, aiming to identify structural characteristics responsible for the larvicidal activity of the compounds. Fourth instar larvae were submitted to the compounds for 48 hours at different concentrations and then the LC50 was determined. Of the studied compounds, 9 presented considerable potential in the control of *A. aegypti* (LC50 <100ppm). The compound identified as HCBA presented greater larvicidal activity when compared to the others (LC50 = 20.63ppm) and aroused interest in understanding its mechanism of action. Larvae in the 4th instar were submitted to HCBA (20.63ppm), where they remained for 24 hours. The larvae that reached sublethal state were collected, fixed in formoline, included in resin, sectioned, the blades stained by toluidine blue and analyzed by light microscopy. The morphohistological changes of the larvae submitted to the treatment were: high vacuolization in the cytoplasm and disorganization of the epithelium. These results demonstrate that the P-Cloro (HCBA) compound may be effective in controlling *A. aegypti* for promoting changes at the mesenteric level.

Palavras-chave: *Aedes aegypti* / larvicidal / 1,2,4 -oxadiazol / histomorphology



## Lista de ilustrações

Figura 1 – Ciclo de vida <i>Aedes aegypti</i> . . . . .	9
Figura 2 – Larvas e pupas de <i>Aedes aegypti</i> . . . . .	10
Figura 3 – Fotomicrografias de secções em historesina, coradas em azul-de-toluidina, de larvas de 3º instar de <i>A. aegypti</i> mantidas por 24 h em solução do HCBA a 20ppm . . . . .	18
Figura 4 – Gráfico da análise probit. StatPlus, 2018. . . . .	21

## Lista de tabelas

Tabela 1 – Sigla e estrutura dos compostos oxadiazóis. . . . .	12
Tabela 2 – LC50, em ppm, para os compostos oxadiazóis. . . . .	16

## Sumário

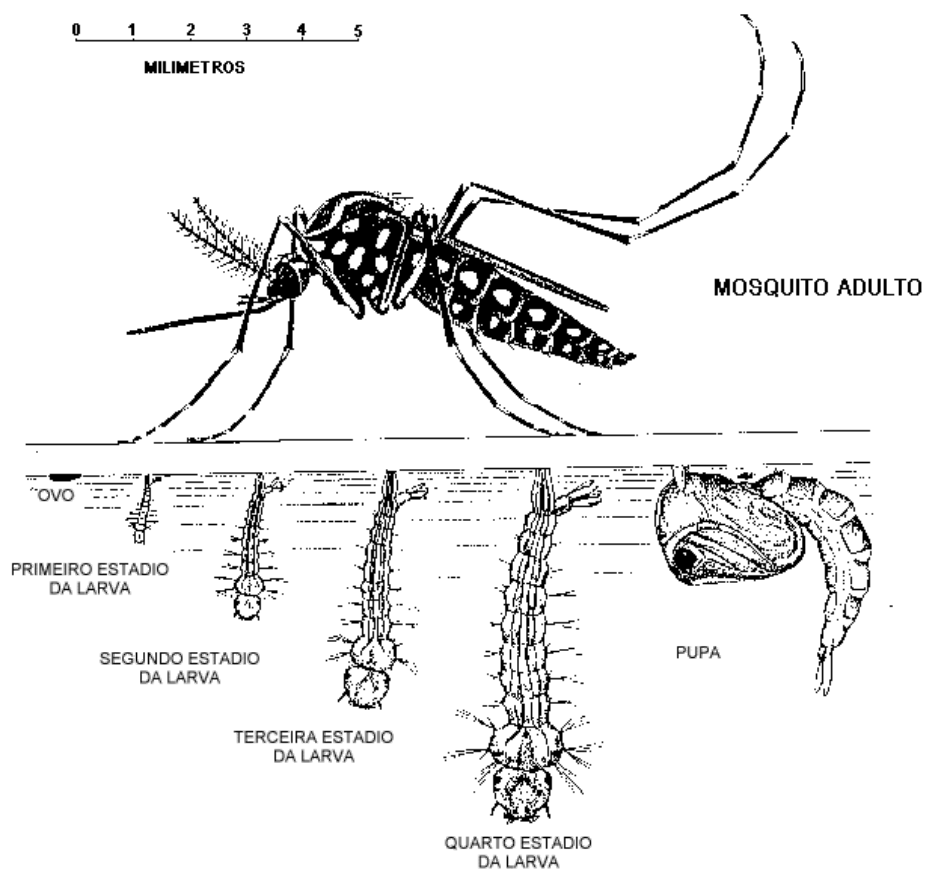
1	LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	9
2	LISTA DE TABELAS.....	10
3	INTRODUÇÃO .....	12
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
6	CONCLUSÃO ..	22
7	ANEXOS .....	23
8	REFERÊNCIAS .....	25

## 1 Introdução

### MOSQUITO

O mosquito *Aedes aegypti*, pertence à classe Insecta, ordem Díptera, família Culicidae e subfamília Culicinae. O *Aedes aegypti* adulto, possui abdômen afilado e pontudo, tórax enegrecido, escudo ornamentado com faixas longitudinais com escamas branco-prateadas, os artículos tarsais das pernas posteriores têm aspecto listrado (com anéis claros e escuros) e a probóscide (órgão sugador) de comprimento semelhante ao do fêmur anterior. Foi amplamente distribuído por todo o mundo<sup>25</sup>, e é responsável pela transmissão da Febre amarela urbana<sup>10</sup>, a Dengue<sup>30</sup> e mais recentemente descoberto, os vírus Chikungunya<sup>6</sup> e Zika<sup>1</sup>.

Figura 1 – Ciclo de vida *Aedes aegypti*



<https://www.taringa.net/posts/salud-bienestar/14035816/Dengue-No-te-asustes-como-prevenirse-ConCafe.html>

O *A. Aegypti* é uma espécie muito bem adaptada a condição urbana. Seus criadouros podem ser artificiais, nos recipientes deixados pelo homem ou em ambiente natural, em frestas de árvores e bromélias<sup>10</sup>. O ciclo de vida de *A. aegypti* é formado por quatro fases: ovo, larva (com 4 estágios larvários), pupa e adulto. Os ovos possuem forma elíptica e as fêmeas os depositam na lâmina d'água da parede dos depósitos, podendo ficar em diapausa durante um longo período. A eclosão larvária é auxiliada pelo atrito de um “dente” quitinoso situado dorsalmente na cabeça da larva contra a casca do ovo. O estágio larval (L1–L4) e o de pupa se desenvolvem em meio aquático. O corpo da larva é dividido em cabeça, tórax e abdômen. Já a pupa possui apenas cefalotórax e abdômen. A mudança entre os estádios larvais dura aproximadamente 24 horas e o pupal tem um tempo médio de 48h, numa temperatura média de 28,5°C. As larvas se alimentam de microplâncton ou de algumas partículas de matéria orgânica<sup>10</sup>.

Figura 2 – Larvas e pupas de *Aedes aegypti*



<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/galeria/galeria.html>

## PANORAMA ATUAL

Atualmente o Brasil passa por uma tríplice epidemia de Dengue, Chikungunya<sup>5</sup> e Zika, doenças transmitidas pela picada do mosquito *A. aegypti* infectado<sup>9</sup>. Somente neste ano, foram registrados 181.807, 61.646 e 5.941 casos prováveis de dengue, chikungunya e Zika, respectivamente<sup>8</sup>. A febre causada pelo Zika vírus se tornou ainda mais preocupante, pois já foi comprovada sua ligação aos casos de microcefalia em recém-nascidos<sup>1</sup>, com números cada vez mais expressivos. Pelo último boletim Epidemiológico do Ministério de Saúde somente em 2018, foram notificados 660 casos de Microcefalia no país<sup>7</sup>. Apesar de existir uma vacina disponível contra os quatro sorotipos do vírus Dengue e um quinto sorotipo identificado nas Américas<sup>19</sup>, o *A. aegypti* se mostra altamente adaptado às condições urbanas<sup>17</sup>. O uso da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) como larvicida foi feito desde 2000 como medida de manejo da resistência do Temefós<sup>4</sup>. Porém, na literatura acadêmica, já existe relatos de resistência para esse inseticida larval<sup>23</sup>. Apesar do desenvolvimento de métodos alternativos, os inseticidas químicos continuam sendo uma importante ferramenta dos programas integrados de controle.

## COMPOSTOS SINTÉTICOS COM ATIVIDADE LARVICIDA

O DTT foi descoberto em 1939. É um dos mais antigos compostos inseticidas descritos na literatura. As benzoil-3-fenilureias foram descritas com uma excelente atividade larvicida. Outros compostos orgânicos foram descritos posteriormente com grande potencial larvicida<sup>21</sup>, benzoil-ureias e benzoil-biuretos<sup>29</sup>, isoxazolil di-hidropirimidino-tiona quinolinonas e benzoilureias com grupos isoxazolina e isoxazole<sup>26</sup>. Outros compostos foram relatados mais recentemente, anacardato de sódio<sup>14</sup>, isoxazoles<sup>13</sup>, 1-aryl-4-methyl-3,6-bis-(5-methylisoxazol-3-yl)-2-thioxo-2,3,6,10b-tetrahydro-1H-pyrimido[5,4-c]quinolin-5-ones<sup>22</sup>, naftoquinonas<sup>24</sup>, porfirina sintética meso-substituída C14<sup>18</sup>.

## HISTOMORFOLOGIA

Estudos morfológicos que esclarecem os efeitos tóxicos sobre larvas de *A. aegypti* auxiliam na compreensão das diversas formas de ação desses produtos. A demonstração do local de atuação e da forma de ação tem grande importância para a potencialização de seus efeitos e para o desenvolvimento de novas alternativas inseticidas. Neste estudo, são apresentadas a atividade larvicida e as alterações morfohistológicas do indicado por HCBA sobre o *A. aegypti*, visando evidenciar os

mecanismos de ação sobre as larvas desse mosquito. Estudos realizados com inseticidas demonstraram considerável ação à nível de mesêntero, motivo pelo qual este trabalho focalizou nesta região do tubo digestivo<sup>3</sup>.

## 2 Materiais e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em parceria com o Laboratório de Histologia do Departamento de Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE e o Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco.

**Tabela 1 – Sigla e estrutura dos compostos oxadiazóis.**

FIGURA		FIGURA	
Sigla	-R	Sigla	-R
HTA	H	HP1	H
HFBA	F	HP3	F
HCBA	Cl	HP4	Cl
HBBA	B	HP5	Br
HNBA	NO <sub>2</sub>	HP6	-NO <sub>2</sub>
HTB	CH <sub>3</sub>	HP2	-CH <sub>3</sub>
HMBA	-OCH <sub>3</sub>	HP7	-OCH <sub>3</sub>
HO1	-O-CH <sub>2</sub> -O		

A autora, 2018

### Criação de *Aedes aegypti*:

As larvas utilizadas nos bioensaios larvicidas são oriundas da colônia do *A. aegypti* Linnaeus (cepa Rockefeller) do insetário do Laboratório de Ecologia Química da UFPE. O insetário foi mantido à temperatura constante de 28°C, umidade relativa de 60% e fotoperíodo de 14D:10N. Este procedimento é realizado normalmente

dentro de 24 horas. As larvas recém eclodidas são condicionadas em bacias plásticas redondas contendo cerca de 450 mL de água destilada. No caso do primeiro estágio larval a alimentação é realizada com ração para gato® pulverizada. A água das bacias é trocada periodicamente e a partir da primeira troca de água as larvas que se encontram nas bacias são alimentadas com um pellet de ração para gato®, a água que havia posteriormente nas bacias é filtrada e descartada. Cada estágio larval apresenta média de 24 horas. A partir do estágio de pupa a alimentação é dispensada e nesse estágio faz-se necessário a união das bacias para as mesmas serem colocadas em gaiolas quadradas de 35cm<sup>2</sup> de lado, onde segue até a emergência dos mosquitos adultos. Os adultos são alimentados diariamente com uma solução de sacarose a 10%. As fêmeas de *A. aegypti* são hematófagas e necessitam das proteínas presentes no sangue para o desenvolvimento dos ovos, portanto é oferecido às fêmeas repasto sanguíneo no 4° e no 7° dia de vida, tornando-se prontas para ovoposição três dias após o repasto sanguíneo e para coleta dos ovos são colocadas nas gaiolas sítios para o depósito. Após a deposição dos ovos, estes são retirados, secados e guardados para posterior eclosão das larvas<sup>20</sup>.

#### Bioensaio larvicida:

Foi realizado um bioensaio preliminar com cada um dos compostos sintetizados. Para avaliar a atividade larvicida foi utilizada a metodologia recomendada pela OMS (1981) com adaptações segundo Navarro et al.<sup>20</sup>. O bioensaio foi realizado no Laboratório de Ecologia Química, do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco. Para determinar a faixa de concentração de atuação do composto foi realizado um teste larvicida preliminar com uma solução estoque (100 ppm). A concentração foi obtida diluindo 0,005g do composto em 0,7ml de DMSO e completada a um volume de 50 mL com água destilada. A partir desse estoque, por meio de diluição com água destilada, prepararam-se três soluções com concentrações 10, 50 e 100 ppm. Os ensaios foram realizados para cada concentração da amostra em triplicatas, e para cada ensaio um controle negativo foi incluído com água destilada, contendo a mesma quantidade de DMSO como na amostra teste. Vinte larvas do mosquito *A. aegypti* no quarto instar inicial (L-4, cabeça branca) foram colocadas em copinhos de plástico contendo a solução. O número de larvas mortas bem como alterações morfológicas e comportamentais foi registrado após 24 horas de início do experimento e novamente após um período de 48 horas. As larvas foram consideradas mortas quando não responderam a estímulos ou quando não mantiveram um movimento de descida e subida até a superfície da solução. De acordo com o resultado obtido nos testes preliminares foram determinadas as concentrações que seriam testadas nos ensaios subsequentes. Foram considerados inativos os compostos que não apresentaram



mortalidade nas concentrações acima de 150ppm. Os bioensaios seguiram a mesma metodologia utilizada nos testes preliminares e foram realizados em triplicata para garantir a confiabilidade dos resultados. Foram realizados vários testes larvicida com um mesmo composto para a definição dos pontos necessários para a construção da curva concentração/mortalidade para o cálculo da CL50 (concentração que promove a morte de 50% da amostra da população de larvas). A CL50 para os bioensaios larvicidas foi calculada através da análise de sobrevivência Probit<sup>15</sup> com o emprego do software Statplus® 2008 for Windows.

#### Análise Morfo-histológica:

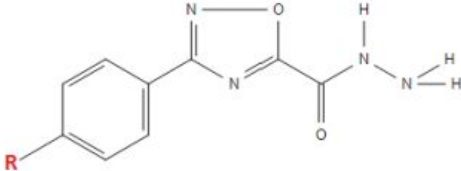
Para verificar a letalidade, foram observadas a mobilidade das larvas e sua reação a estímulos externos. Foram coletadas apenas as que se apresentavam em estado letárgico. As mortas foram descartadas. As larvas em estado letárgico foram coletadas e fixadas em formolína a 10% e desidratados em banhos de etanol (70-100%) por 10 minutos cada, depois absorvidos em historesina + álcool (1:1) por 24h e incluídos em Leica © his-toresin. As seções obtidas foram incluídas em resina, seccionadas e as lâminas coradas por azul-de-toluidina e analisadas por microscopia de luz<sup>25,27</sup>.. O tratamento Histomorfológico foi realizado no Laboratório de Histologia do Departamento de Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

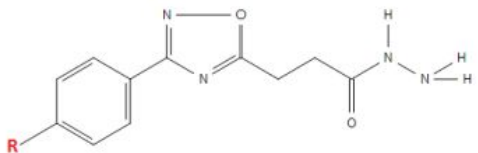
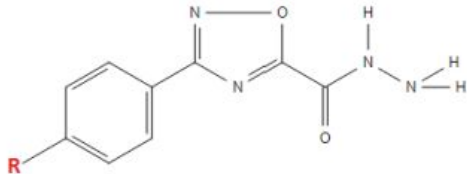
### 3 Resultados e Discussão

#### Bioensaio larvicida

Com relação ao bioensaio larvicida, os dados não mostraram uma melhor atividade para grupos eletrosacadores com exceção do *p*-Cloro. Este composto apresentou uma LC50 (20,63ppm) melhor que o aromático não substituído com LC50 (44,84ppm). Grupos substituintes volumosos, tais como, Bromo e Nitro promoveram uma piora acentuada na atividade larvicida. Já os grupos eletrodoadores como substituinte do aromático, mostraram uma menor atividade larvicida (LC50>56ppm) para as moléculas hidrazidas, como mostra na tabela 2. Ao introduzir uma cadeia hidrocarbônica (2CH2) entre o anel oxadiazol e a hidrazida houve uma diminuição significativa na atividade larvicida independente do substituinte ser eletrosacador ou doador, exceto P-Cloro. Os nossos dados estão de acordo com estes autores. Assim como da Silva et al. (2015) observaram que as moléculas Thiosemicarbazones substituídos com P-Cloro na porção fenila tiveram uma atividade larvicida melhor que quando o substituinte era o P-Bromo<sup>12</sup>. Possivelmente o maior volume do substituinte Bromo deve interferir de maneira negativa na atividade larvicida. Freitas et al. (2012) mostrou que moléculas aromáticas de oxidiazóis apresentam diversas aplicações biológicas.

**Tabela 2 – LC50, em ppm, para os Compostos Oxadiazóis.**

					
Sigla	-R	LC50	x 2	Grau de liberdade	Valor-p
HBA	H	44,84ppm	0,6398	4	0,9585
HFBA	F	>150ppm	-	-	-
HCBA	Cl	20,63ppm	0,4002	3	0,9402

HBBA	Br	40,39ppm	0,1114	3	0,9904
HNBA	NO2	73,13ppm	0,1287	2	0,9377
HTB	-CH3	109,36ppm	0,1951	3	0,9784
					
HMBA	-OCH3	87,82ppm	0,1008	3	0,9917
HO1	-O-CH2- O	56,90ppm	0,0237	3	0,9882
					
Sigla	-R	LC50	x2	Grau de liberdade	Valor-p
HP1	H	>150ppm	-	-	-
HP3	F	>150ppm	-	-	-
HP4	Cl	>150ppm	-	-	-
HP5	Br	26,54ppm	0,4051	3	0,9392
HP6	NO2	53,65ppm	0,4663	3	0,9262
HP2	-CH3	>150ppm	-	-	-
HP7	OCH3	>150ppm	-	-	-

### Histomorfológico

A primeira alteração causada pelo HCBA às larvas de *A. aegypti* diz respeito a sua movimentação. As larvas do grupo controle apresentavam grande mobilidade e sua locomoção em meio líquido é realizada através das contrações do corpo, reagindo

rapidamente a qualquer toque, o que está de acordo com Forattini (1965)<sup>31</sup>. Porém, nas larvas submetidas ao composto estudado na concentração de 14 ppm, a perda da mobilidade teve início com 20h de tratamento e o estado letárgico foi estabelecido após 24h de exposição. A redução da mobilidade das larvas de *A. aegypti*, neste trabalho, está de acordo com os resultados de Arruda et al. (2003b) com a *M. pubescens*. Esses trabalhos evidenciam que a redução da mobilidade larval é o primeiro sinal da atividade larvicida (Ruiz et al. 2004).

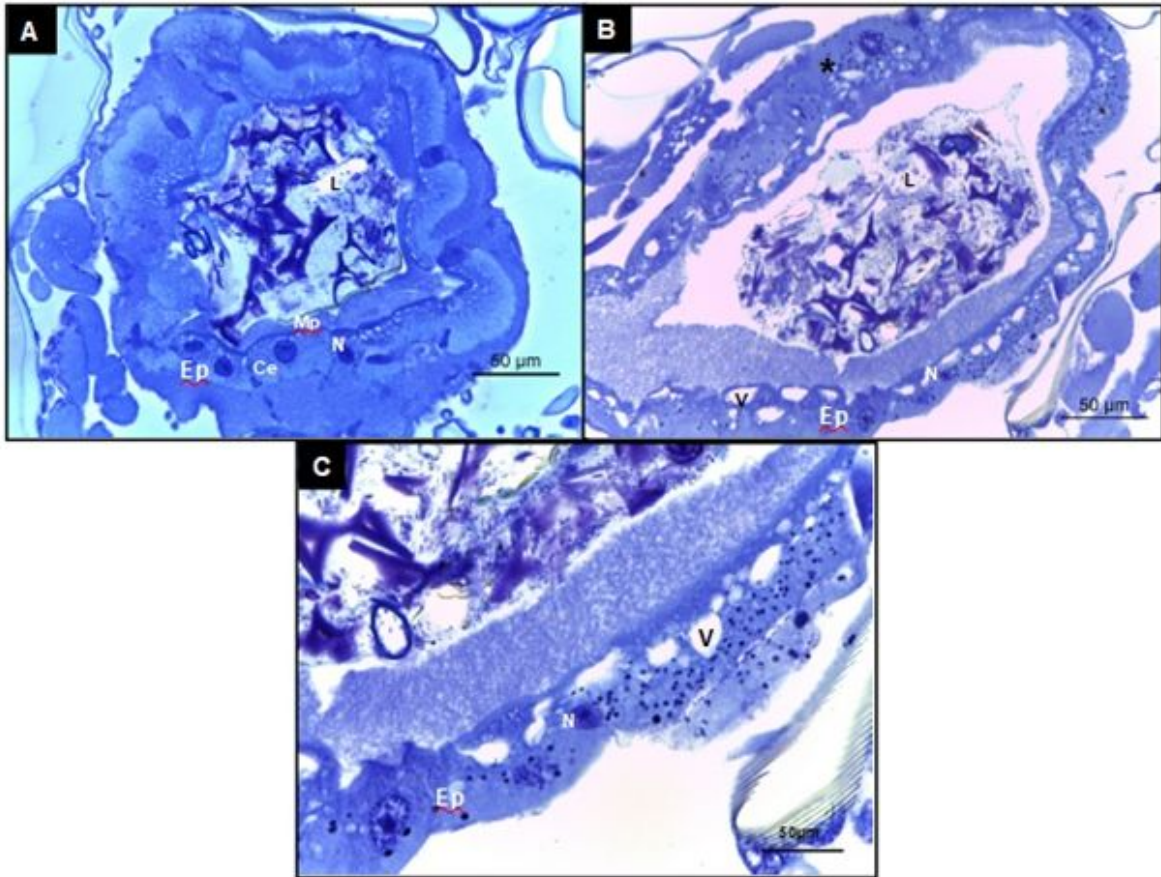
Nas preparações em resina, coradas por azul-de-toluidina, todo o mesêntero apresentou-se revestido por um epitélio cilíndrico simples. Observou-se uma matriz peritrófica<sup>21</sup> envolvendo todo o conteúdo alimentar no tubo digestivo das larvas controle. Gusmão et al. (2002), menciona em seu trabalho que a matriz peritrófica dos mosquitos vetores funcione como um filtro semipermeável para as enzimas digestivas e que a mesma possui função de proteção contra os alimentos ingeridos e contra patógenos<sup>18</sup>.

As alterações deletérias causadas nas células do mesêntero incluíram várias mudanças histopatológicas como grande desorganização do epitélio e alta vacuolização do citoplasma.

Ruiz et al. (2004), em estudos realizados em larvas de *A. aegypti*, *A. albimanus* e *C. quinquefasciatus* expostas à toxina Cry11Bd de *B. thuringiensis medellin*, descreveu sérias mudanças histopatológicas, como vacuolização do citoplasma, hipertrofia das células epiteliais e de seus núcleos, deterioração do bordo em escova e desintegração celular, formação de vesículas apicais que liberavam seu material no lúmen intestinal. Neste trabalho, o HCBA provocou algumas dessas alterações.

A toxicidade do HCBA sobre as larvas de *A. aegypti* foi demonstrada pelo estudo morfohistológico, sendo evidenciada pelos vários danos às células do mesêntero, sinalizando que esse composto pode ser um candidato larvicida alternativo ao controle do *A. aegypti*.

**Fig. 3: Fotomicrografias de secções em historesina, coradas em azul-de-toluidina, de larvas de 3º estágio de *A. aegypti* mantidas por 24 h em solução do HCBA a 14ppm.**



A autora, 2018.

**A.** Visão Geral de secções de historesina de larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti* do grupo controle. 40X **B.** Fotomicrografias do mesêntero de larvas de *A. aegypti* submetidas por 24 horas ao HCBA Evidenciando alta desorganização do epitélio(\*) e grande vacuolização. 40X **C.** Região anterior mostrando células com citoplasma altamente vacuolizado. 100X Ep=Epitélio, Mp=Matriz peritrófica, L=Lúmen, N=Núcleo, Ce=Célula epitelial e V=Vacúolos.

#### **4. Conclusão**

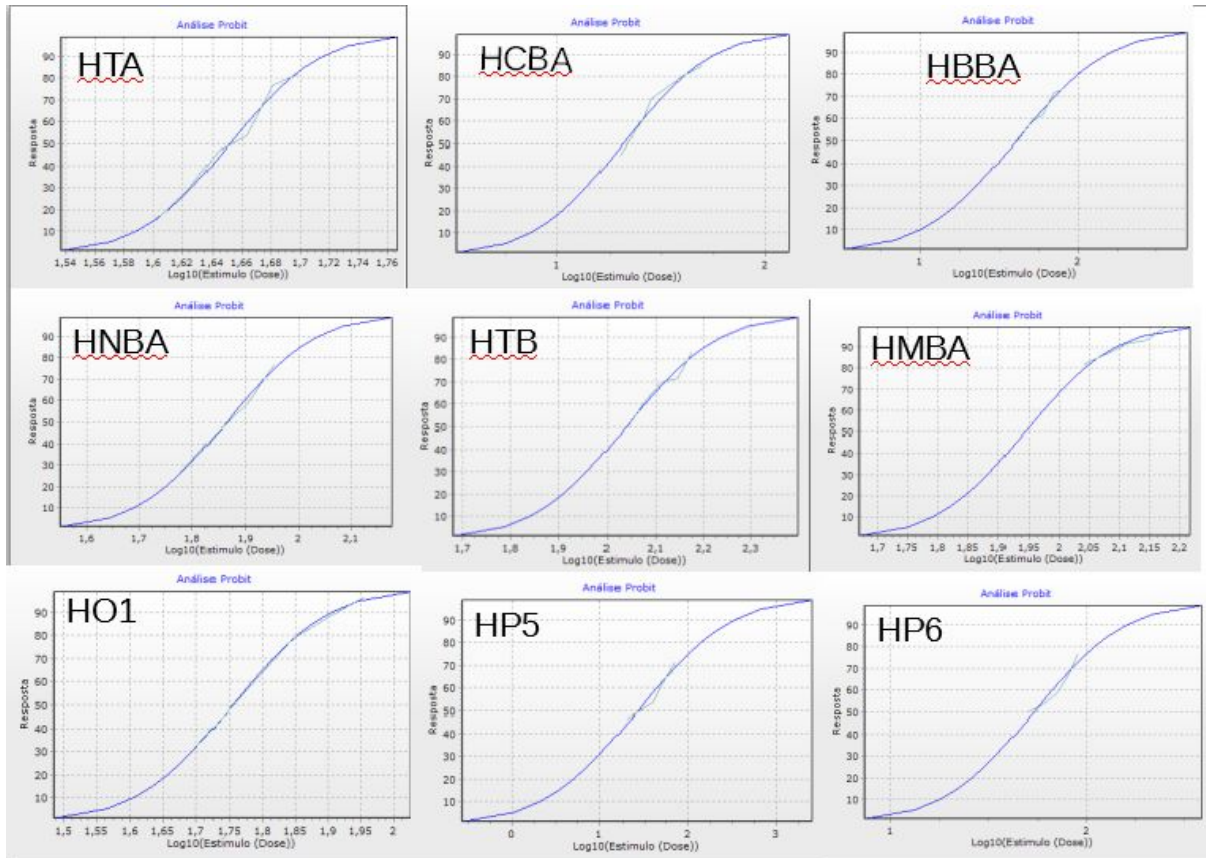
O composto com o substituinte *p*-cloro se destacou por sua atividade larvicida em 20,63ppm e se mostrou com potencial para ser empregado no controle de larvas do *A. aegypti*. apresentando uma atividade maior que o aromático não substituído.

Em termos estruturais, a presença de grupos eletrosacadores não influenciou na atividade larvicida. Os grupos volumosos (br e NO<sub>2</sub>) entre o anel oxidiazol hidrazida promoveram uma acentuada diminuição da atividade larvicida. A presença de grupos eletrodoadores e a introdução do espaçador (-2 CH<sub>2</sub>) promoveu uma importante redução da atividade larvicida.

Do ponto de vista morfo histológico foi possível observar que a toxicidade do *p*-cloro (HCBA) sobre as larvas do *A. aegypti* causou danos às células do mesêntero. Apresentando grande desorganização do epitélio e alta vacuolização do citoplasma.

# ANEXOS

**Figura 4 - Gráfico da análise probit. StatPlus, 2018**



**A autora, 2018**



## 5. Referências

1. ARAÚJO, T. et al.; **Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil,: preliminary report of a case-control study.** January to May, 2016.
2. BANSAL, S. K.; SINGH, K.V.; **Relative susceptibility of some common mosquito vector larvae to synthetic insecticidal compounds in north-western Rajasthan.** Journal of Environmental Biology 28(4):829-32. 2007.
3. BORGES, R. A. et al.; **Mecanismos da ação larvicida do diflubenzuron sobre *Aedes aegypti* evidenciados pelas alterações ultraestruturais.** Rev. Patol. Trop. 41, 222–232. 2012.
4. BRAGA, I. A.; VALLE, D.; ***Aedes aegypti*: insecticides, mechanisms of action and resistance.** Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília,16(4):279-293, out-dez, 2007.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de saúde - **Atenção básica Chikungunya: Manejo Clínico** - Brasília, 2017.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil.** Brasília, 2014.
7. BRASIL. Ministério da Saúde Informe Epidemiológico N°29/2018 - Semana Epidemiológica 49 - **Monitoramento integrado de alterações no crescimento e desenvolvimento relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas.** Brasília, 2018.
8. BRASIL. Ministério da Saúde Informe Epidemiológico N°33/2018 - Semana Epidemiológica 49 - **Monitoramento dos casos de Dengue, febre de Chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika.** Brasília, 2017.
9. CARRERA, M. Insetos de Interesse Médico e Veterinário. Curitiba: Editora da UFPR, 1991.
10. CONSOLI, RAGB., and OLIVEIRA, RL. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ,. 228 p. ISBN 85-85676-03-5. 1994.
11. FREITAS, et al.; - **1,2,4-Oxadiazóis: Síntese e aplicações.** Rev. Virtual Quim., 2012, 4 (6), 670-691. 2012.
12. DA SILVA , J. et al.; **Thiosemicarbazones as *Aedes aegypti* larvicidal.** European Journal of Medicinal Chemistry Volume 100, Pages 162-175. 2015.
13. DA SILVA-ALVES et al.; **Larvicidal isoxazoles: synthesis and their effective susceptibility towards *Aedes aegypti* larvae.** Bioorg. Med. Chem., 21, pp. 940-947. 2013 .
14. FARIAS, F. D. et al.; **Insecticidal Action of Sodium Anacardate from Brazilian Cashew Nut Shell Liquid against *Aedes aegypti*.** Journal of the American Mosquito Control Association, 25(3):386-389. 2009.
15. FINNEY, D.J. **Probit analysis.** Cambridge Univ. Press, Cambridge, 333 pp. 1971.

16. GUSMÃO, D. S. et al.; **Derris (Lonchocarpus) urucu (Leguminosae) Extract Modifies the Peritrophic Matrix Structure of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae).** Mem Inst Oswaldo Cruz 97: 371-375, 2002.
17. KUNO, G.; **Review of the Factors Modulating Dengue Transmission,** *Epidemiologic Reviews*, Volume 17, Pages 321–335. 1995.
18. LUCANTONI, L. et al.; **Novel, Meso-Substituted Cationic Porphyrin Molecule for PhotoMediated Larval Control of the Dengue Vector Aedes aegypti.** PLoS Negl Trop Dis 5(12): e1434. 2011.
19. MUSTAFA, M. S., Rastogi V., Jain S., Gupta V. **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. 2015.
20. NAVARRO, D. M. A. F. et al.; **The potential attractant or repellent effects of different water types on oviposition in Aedes aegypti L. (Dipt., Culicidae).** Journal of Applied Entomology 127: 46-50, 2003.
21. PETERS, W. **Peritrophic membranes.** In SD Bradshaw, W Burggren, HC Heller, S Ishii, H Langer, G Neuweiler, DJ Randall (eds), *Zoophysiology*, vol. 30, Springer-Verlag, Berlin, 238 pp. 1992
22. RAJANARENDAR, E. et al.; **Synthesis, antimicrobial, and mosquito larvicidal activity of 1-aryl-4-methyl-3,6-bis-(5-methylisoxazol-3-yl)-2-thioxo-2,3,6,10b-tetrahydro-1H-pyrimido[5,4-c]quinolin-5-ones.** *Bioorg. and Med. Chem. Lett.*, 20, 6052. 2010.
23. RESTREPO, G. C., SARAZA J., ORDUZ S. **Treatment of an Aedes aegypti colony with the Cry11Aa toxin for 54 generations results in the development of resistance.** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 107(1): 74-79, 2012.
24. RIBEIRO, K. A. L., Carvalho, C. M., Molinab, M. T., Limac, E. P., López-Montero, E., Reys, J. R. M., Oliveira, M. B. F., Pinto, A.V., Santana, A. E. G., Goulart, M. O. F., 2009. **Activities of naphthoquinones against A. aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), vector of dengue and Biomphalaria glabrata (Say, 1818), intermediate host of Schistosoma mansoni.** Acta Tropica 111, 44–50. 2009.
25. SILVA C.T.d.S et al. **Biochemical parameters of Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) treated with citronella oil (Cymbopogon winterianus Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction.** Acta Histochemica 118: 347–352. 2016.
26. SUN R. et al. **Design, synthesis, and insecticidal evaluation of new benzoylureas containing isoxazoline and isoxazole group.;** J. Agric. Food Chem. 2011.
27. VALOTTO, et al. **Alterações ultraestruturais em larvas de Aedes aegypti submetidas ao diterpeno labdano, isolado de Copaifera reticulata (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de Magonia pubescens (Sapindaceae).** Rev da Soc. Brasileira de Medicina Tropical. 2011.
28. VASCONCELOS, P. F. da C. **Doença pelo vírus Zika: ¿um novo problema emergente nas Américas?.** Rev Pan-Amaz Saude, Ananindeua, v. 6, n. 2, p. 9-10, 2015.

29. WELLINGA, K. et al. **Synthesis and laboratory evaluation of 1-(2, 6-disubstituted benzoyl)-3-phenylureas, a new class of insecticides. II. Influence of the acyl moiety on insecticidal activity.** Journal of agricultural and. Agr. Food Chem. 1973.
30. WHO. **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.** Geneva. 2009.
31. FORATTINI, O. P. **Culicini: Culex, Aedes e Psorophora.** São Paulo: Editora da USP; Entomologia médica, V.2, 506p. 1965.