



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO ÁCIDO 2-(3-FENIL-1,2,4-
OXADIAZOL-5-IL)METOXI) BENZOICO**

YANNE CELESTE SILVA DE MEDEIROS

CUITÉ – PB

2019

YANNE CELESTE SILVA DE MEDEIROS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO ÁCIDO 2-(3-FENIL-1,2,4-
OXADIAZOL-5-IL)METOXI) BENZOICO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité, como requisito obrigatório da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Cuité – PB

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE

Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

M488s Medeiros, Yanne Celeste Silva de.

Síntese e avaliação biológica do ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-IL) metoxi) benzoico. / Yanne Celeste Silva de Medeiros.

– Cuité: CES, 2019.

53 fl.

1. Química medicinal. 2. Atividade biológica. 3. 1,2,4- oxadiazol 3,5- dissustituído. 4. Toxicidade. 5. *Artemia Salina* Leach. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 615.12

YANNE CELESTE SILVA DE MEDEIROS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE 1,2,4-OXADIAZOL 3,5-
DISSUBSTITUÍDO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso de bacharelado em farmácia do centro de educação e saúde da universidade federal de campina grande, como requisito obrigatório para obtenção do título de bacharel em farmácia.

Aprovado em:/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas
(Orientador/ UABQ/CES/UFCG)

Prof. Dr. Egberto Santos Carmo
(Examinador/UAS/CES/UFCG)

Ms. Cosme Silva Santos
(Examinador/UAAS/UFRP)

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus pelo dom da vida e minha mãe, assim como pela força e persistência.

A minha família por tudo que fazem apesar dos contratempos. Pai, mãe e minhas irmãs, sem vocês nada teria sido possível.

Aos meus amigos de longa data, que sempre me acolhem da mesma forma ao se encontra. Daniel, Yandra, Rafaela, Ingrid, Cin, Ianny, Josa. Gente não vou lembra de todos, mas vocês sabem que os amo.

A família que construí em Cuité. Vocês são essenciais, supriram tudo, foram base, com tanto acolhimento, força, ajuda. Não tenho como agradecer. Ah, essa é subdividida.

Primeiro minha casa da aveia: Amanda, Mirla, Magda, Patrícia, Maria Rita. Não tenho como descrever o que vive com vocês, o tanto que aprendi e são importantes. Uma casa de 6 mulheres cada uma com sua particularidade e grandeza. Obrigada por tudo e desculpa minhas meninas por certos acontecimentos.

A primeira casinha de campina: Bruna, Cesar, Nando, Lucas, Thaynara e nossa japa que fazia parte tanto quanto. Gente, foi difícil aquela temporada e vocês tornaram mais leve. A gente só precisava de um quarto de tanto amor kkkkk.

A segunda casinha de campina: Mirla, Rafa e Leticia. Ahhhh, eu construí um laço lindo. Leticia mais recatada, mas sempre pronta a ajuda. Rafa, você entrou de forma que fiquei por que não conheci antes? Minha parceira nesse caminho do tcc, do lab ao final. Como sou grata a vocês. Mirla, sempre acolhendo a gente em seu quarto, também precisávamos de muito não, só do quarto cheio de amor. Além de Arielly e Ricardo, vocês foram essenciais.

A vizinhança: Pedro, Chico, Isadora, Raquel, Leticia, Anaysa. Foram tantas as coisas juntas que não cabe aqui, mas todos os finais de semana foram mais fáceis e leves com vocês. Obrigada, amo cada um. E minhas meninas das mulheres da minha vida, cada uma tem um significa e um lugar.

A minha turma de curso. A grande família. Gente não vai ter como citar todos, mas sem vocês não sei como seria. Tenho orgulho de cada um. Essa turma é diferenciada, a gente pode ter alguns momentos de briga, mas a maioria é companheirismo. Só sucesso para cada um e quero reencontra todos, não sumam.

O começo um quinteto (Marcus, Maria, Mirla, Renata). Podemos não ser mais os mesmos, mas vocês sempre vão estar comigo. Marcus obrigada por tudo, por ajudar sempre que precisei até quando estava com medo. Renata com sua imensidão de vida e pessoa me ensinou tanto e tornava tudo mais leve. Maria as noites de estudos e crescimento, ah pequena tu és muito especial.

E a minha pessoa, Mirla, tu esteve em tudo do começo ao fim. Aquele verdadeiro Bob esponja e Patrick, Cris e Greg. Não tem uma sem a outra. Obrigada por não desistir de mim, por permanecer, por ser essa pessoa maravilhosa que me ensinou a amar, ser caridosa e várias outras características que tu tens. Que não te perca. Desculpa pelas vezes que sou ... Tu sabe. Te amo.

Fora as varias outras pessoas que me acolheram no meio desse caminho, foram essenciais. Cuité é acolhimento.

Agradeço ao meu orientador Juliano Carlos Rufino Freitas pela paciência e sempre acreditar que daria certo. Agradeço também a banca examinadora pela disponibilidade.

Agradeço a Cosme pela grande ajuda na pesquisa e a todos do laboratório de orgânica (LASO). Aqueline, Jadson, Tatiane (obrigada por dividir sua caixinha de utensílios kkk), Cadu, Herbet. Todos que contribuíram e ajudaram de alguma forma.

RESUMO

Moléculas ativas podem ter duas rotas seja a sintética ou a natural, ambas direcionadas a produção de fármacos, que frente a diferentes patologias e resistência de microrganismos necessita de inovações. Com a química orgânica e medicinal proporcionou-se uma larga escala de produção com segurança química, físico-química, farmacológica e toxicológica tanto para fármacos de fontes naturais como sintética. Esta última possui uma classe de compostos orgânicos promissora, os heterociclos, destacando-se os que possuem núcleo oxadiazólico, que apresentam aplicações tanto na indústria de materiais, como na química medicinal, nesta devido as propriedades anti-inflamatória, antitumoral, antifúngica entre outras. Neste contexto, a fim de proporcionar uma síntese rápida, fácil e econômica sintetizou-se o ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxibenzoico em irradiação de micro-ondas, contemplando a química verde, além da síntese selecionou-se a aplicabilidade da avaliação biológica, a validar-se investimentos nesta molécula, observando a viabilidade do teste de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, um microcústaceo, capaz de determinar a CL50. Dessa forma foi possível a síntese da molécula em um tempo de 2 min com rendimento considerável de 60%, provando um método eficaz. Porém, o teste quanto a sua toxicidade tornou-se inviável, devido a sua baixa solubilidade em solução salina básica, meio necessário à vida das *Artemias*, sendo necessário estudos mais aprofundados quanto ao PKa e log P da substância. Considerando-se as diferentes aplicabilidades em materiais e atividades farmacológicas dos oxadiazólicos estudos ficam em aberto, visto a vantagem de síntese, a demais outras possíveis áreas de estudo e a possíveis testes para atividade fungicida.

Palavras chaves: química medicinal; atividade biológica; 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído; toxicidade; *Artemia salina* Leach.

ABSTRACT

Active molecules can have two routes, either synthetic or natural, both directed to the production of drugs, which in face of different pathologies and resistance of microorganisms need innovations. With organic and medicinal chemistry, a large scale of safe chemical, physicochemical, pharmacological and toxicological production has been provided for drugs from both natural and synthetic sources. The latter has a promising class of organic compounds, heterocycles, especially those with oxadiazolic nuclei, which have applications in the materials industry, as well as medicinal chemistry, due to their anti-inflammatory, antitumor, antifungal properties, among others. In this context, in order to provide a quick, easy and economical synthesis, 2- (3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl) methoxy) benzoic acid was synthesized in microwave irradiation. green chemistry, besides synthesis, the applicability of the biological evaluation was selected, and investments in this molecule were validated, observing the viability of the toxicity test against *Artemia salina* Leach, a microcystace, capable of determining the LC50. Thus it was possible to synthesize the molecule in a time of 2 min with considerable yield of 60%, proving an effective method. However, the test for its toxicity became unfeasible, due to its low solubility in basic saline solution, a necessary medium for *Artemias* life, requiring further studies on the substance PKa and log P. Considering the different applicability in materials and pharmacological activities of oxadiazolic studies are open, given the advantage of synthesis, other possible areas of study and possible tests for fungicidal activity.

Keywords: medicinal chemistry; biological activity; 3,5-disubstituted 1,2,4-oxadiazole; toxicity; *Salemia* brine shrimp Leach.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Conformações isoméricas do oxadiazol. Rotatividade do heteroátomos N, O.....	16
Figura 2. Estrutura das <i>phidianidines</i> A e B.....	17
Figura 3. Ácido quisquálico.....	18
Figura 4. Síntese do 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído pela rota da amidoxima.....	18
Figura 5. Estrutura da lixebina, oxalamina e irrigor.....	20
Figura 6. <i>Artemia salina</i> Leach.....	25
Figura 7. Método.....	30
Figura 8. Reação de síntese da benzamidoxima (2).....	31
Figura 9 Espectro de infravermelho benzamidoxima (2).....	32
Figura 10. Reação de síntese do ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi) – benzoico (6).....	33
Figura 11. Espectro infravermelho do composto (6).....	33
Figura 12. Forno de micro-ondas Panasonic.....	35
Figura 13. Região de maior incidência de energia micro-ondas.....	36
Figura 14. Cálculo da potência real de trabalho do forno de micro-ondas.....	36
Figura 15. Curva de calibração da potência real e equação da reta.....	37
Figura 16. Rota sintética do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)-benzóico.....	37
Figura 17. CCD reação oxadiazol.....	38
Figura 18. Produto oxadiazol.....	38
Figura 19. Espectro infravermelho do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)-benzóico.....	38
Figura 20. Cálculo da solução estoque. Onde, X é a concentração em ppm; m, massa do composto em g; V, volume em ml.....	41
Figura 21. Solubilidade do 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído (DMSO + Sol. Salina).41	

Figura 22. Testes de solubilidade da molécula 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituido.....42

Figura 23. Ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico (7).....42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Síntese da benzamidoxima (2).....31

Tabela 2. Valores da potência teórica e potência real do micro-ondas.....38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IC₅₀ Concentração Inibitória para matar 50%

FDA Food and Drug Administration

MAOS Microwave Assistent Orgnic Chemistre

CIM Concentração Inibitória Mínima

% PORCENTAGEM

g Grama

v Volume

ml Mililitro

L Litro

cm Centímetros

µg Micrograma

Δ Variação

°C Graus celsos

ppm Partes por milhão

h Horas

DMSO Dimetilsulfóxido

DMF Dimetilformamida

DCM Diclorometano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3 ESTUDO DA ARTE.....	17
3.1 Aspectos gerais dos 1,2,4-oxidiazol 3,5-dissubstituído.....	19
3.2 Importância farmacológica dos 1,2,4-oxidiazole 3,5-dissubstituído.....	21
3.2.1 <i>Antineoplásica</i>	22
3.2.2 <i>Antiinflamatória</i>	24
3.2.3 <i>Antimicrobiana</i>	24
3.2.4 <i>Antiasmática</i>	25
3.2.5 <i>Antidiabética</i>	25
3.3 Estudo toxicológico frente à <i>Artemia salina</i> leach.....	28
4 METODOLOGIA.....	28
4.1 Local de pesquisa.....	28
4.2 Materiais.....	28
4.3 Procedimento para obtenção da benzoamidoxima.....	28
4.4 Procedimento para alquilação do ácido salicílico – esterificação de Fischer.....	29
4.5 Procedimento para determinar o local de maior incidência do micro-ondas.....	29
4.6 Procedimento para determinar a potência real do micro-ondas.....	30
4.7 Síntese 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído.....	30
4.8 Toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	30

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
6 CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIA	46

INTRODUÇÃO

Os compostos orgânicos apresentam grande importância científica devido à sua diversidade funcional, e por atuarem no tratamento de diferentes enfermidades. Esses compostos eram exclusivamente obtidos de fontes naturais, no entanto, com os avanços da química orgânica permitiu a produção e a comercialização em larga escala, com elevado controle químico, físico-químico, farmacológico e toxicológico (RATES, 2001; SANGI, 2016).

Embora o desenvolvimento de novos fármacos demande muito tempo e recursos, é indispensável a sua busca (NASCIUTTI, 2012). Neste sentido, inúmeras pesquisas apresentam como foco principal a modificação estrutural em compostos naturais ou sintéticos. Os compostos heterociclos contribuem significativamente na busca por novos fármacos, uma vez que apresentam diversas ações farmacológicas e podem ser facilmente modificados (HOTE; BHOYAR, 2014; AGUIAR, 2016).

Dentre os vários tipos de compostos heterociclos uma classe que merece destaque são os 1,2,4-oxadiazóis, dado que esses heterocíclicos possuem diversas utilidades seja para a indústria de materiais na produção de polímeros, materiais luminescentes ou na química medicinal. Isso se deve à biocompatibilidade e atividades farmacológicas desse núcleo, a citar a atividade antifúngica, potencializada por essa molécula, demonstrando relevância terapêutica frente a resistência fúngica e dificuldade no tratamento (KRISHNA, et al. 2015). Além disso, os 1,2,4-oxadiazóis apresentam outras atividades terapêuticas como anti-inflamatória, antitumoral, antiasmática e antidiabética (PACE; PIERRO, 2009).

Além do que, Regueira, Freitas e Filho (2016), Harsanyi (1966) e Eloy e Lenaers (1966), salientam que fármacos contendo núcleos oxadiazólicos foram extensivamente utilizados na década de 60, o que potencializou as pesquisas envolvendo essa classe de compostos heterocíclicos. Exemplos desses medicamentos contendo o núcleo oxadiazólicos são, lixebina e oxolamina que atuam como antitussígeno, além do irrigor que atua como vasodilatador e anestésico local.

Durante muito tempo pensava-se que os 1,2,3-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos só podiam ser obtidos sinteticamente (CORRÊA; ZUIN, 2009). Mas Carbone e colaboradores (2011) descrevem o isolamento desses compostos do molusco *Phidiana militaris* demonstrando que esses também podem ser obtidos na natureza. De acordo com

Takemoto e colaboradores (1975) e Flippen e Gilardi (1976), outra fonte natural na qual é possível encontrar essas substâncias são nas sementes de *Quisqualis indica* e *Quisqualis fructus*. Desse modo as vantagens de moléculas, que são inúmeras, contendo a unidade 1,2,4-oxadiazólica vem aumentando significativamente em vista da importância desses compostos como *scaffolds* no desenvolvimento de novos fármacos.

Entre os vários testes necessários durante a criação de um novo fármaco, um bioensaio indispensável é o teste de toxicidade. Esse teste faz-se necessário para avaliar a toxicidade dos novos protótipos através de ensaios *in vitro* e *in vivo*, a fim de validar sua biocompatibilidade e gerar qualidade e segurança no momento de uso do novo fármaco (LOMBARDINO; LOWE, 2004; FERREIRA et al., 2009; GUIDO et al., 2010).

Entre os bioensaios para averiguação da toxicidade, um simples, prático e econômico é o estudo toxicológico com *Artemia salina* Leach. As artêmias conhecidas como camarão de salmoura, possuem sensibilidade a diversas substâncias e possibilitam a determinação da concentração letal para matar 50% dos indivíduos (CL_{50}). Devido a essas características a metodologia com *Artemia salina* vem ganhando espaço nas pesquisas e na avaliação toxicológica de fármacos (MEYER, 1982; LUNA, 2005; HIROTA, 2012).

Diante do exposto, o presente trabalho tem por objetivo sintetizar o ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico além de caracteriza-lo utilizando as técnicas espectrométricas de IV e RMN. E posteriormente, realizar a possível avaliação biológica aplicando a viabilidade do teste toxicológico frente às *Artemia salina* Leach, afim de deduzir o seu poder tóxico em humano, validando investimentos nestas moléculas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar e caracterizar por espectroscopia de IV o ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico a fim de viabilizar possível teste toxicológico frente a *Artemia salina* Leach.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar o ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico utilizando micro-ondas;
- ✓ realizar a caracterização estrutural do ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico utilizando a técnica de IV;
- ✓ sintetizar a benzoamidoxima por três diferentes métodos;
- ✓ realizar a caracterização estrutural da benzoamidoxima utilizando a técnica de IV;
- ✓ sintetizar o ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi)-benzoico;
- ✓ realizar a caracterização do ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi)-benzoico utilizando a técnica de IV e
- ✓ determinar a possível concentração inibitória para matar 50% (IC₅₀) das artêmias do ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico;

3 ESTADO DA ARTE

3.1 Aspectos gerais dos 1,2,4-oxadiazóis

Os oxadiazóis foram sintetizados pela primeira vez há mais de um século, pelos pesquisadores Tiemann e Krüger, sendo hoje objeto de estudo de diversos grupos de pesquisa que buscam estudar suas aplicações nas mais diferentes áreas do conhecimento (PACE; PIERRO, 2009).

Esses compostos são anéis de cinco membros, que devido sua aromaticidade permite diferentes rearranjos em heterocíclicos mais estáveis e cadeias laterais possíveis de mudanças, dando origem a novas características e propriedades químicas rentáveis a indústria (SAUER, 2013).

Por ser uma estrutura heterocíclica com núcleo principal formado por duplas ligações e heteroátomos (N, O), de fórmula molecular $C_2H_2N_2O$, permite rotatividade desses heteroátomos em diferentes conformações isoméricas (figura 1). Os oxadiazóis podem ainda potencializar seu acoplamento com outros grupos dependendo do meio reacional, funcionando como nucleófilo ou eletrófilo em diversos pontos do seu anel. (PACE; PIERRO, 2009; FERREIRA; FREITAS; FREITAS FILHO, 2016).

Figura 1. Conformações isoméricas do oxadiazol. Rotatividade do heteroátomos N, O.



Fonte: Adaptado FREITAS FILHO et al., (2016).

As formas isoméricas diferenciam-se na aromaticidade, que influencia no aspecto biológico, no entanto os isômeros 1,2,4- e o 1,3,4-oxadiazol são os mais estáveis e por isso biologicamente mais aceitos e estudados (PITASSE-SANTOS; SUETH-SANTIAGO; LIMA, 2018).

A interação dos oxadiazóis no meio biológico está associada a presença dos nitrogênios em seu anel, característica de muitos fármacos, como constatado por Vitaku,

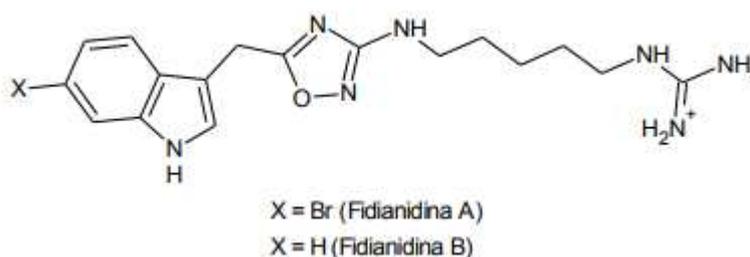
Smith e Njardarson (2014), os quais afirmam que 59% dos fármacos aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA), contém um anel heterociclo possuidor de um átomo de nitrogênio em várias classes de medicamentos, que abrange todas os sistemas do organismo, deste de cardiovascular até ao sistema nervoso, entre outros.

Além da característica ligada ao nitrogênio, os oxadiazóis, possuem ainda em sua estrutura um conjunto de elétrons livres no heteroátomo, aspecto que permite interações com outras moléculas ou com um sítio ativo.

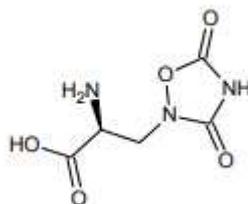
Ademais, essas moléculas oxadiazólicas são utilizadas como bioisómeros de ésteres e amidas, desempenhando melhores atividades de potência, seletividade, e melhores propriedades físico-químicas, como estabilidade em água e resistência a degradação enzimática, atributos importantes na área da química medicinal (PITASSE-SANTOS, SUETH-SANTIAGO; LIMA, 2018).

Em fontes naturais os 1,2,4-oxadiazol é encontrado associado a grupos laterais como os compostos *phidianidines A* e *B* retirados do molusco *Phidiana militaris* em 2011 que possuem atividade antineoplásica (CARBONE et al, 2011). Além disso, o anel 1,2,4-oxadiazólico também se apresenta na estrutura do ácido quisqualico retirado das sementes de *Quisqualis indica* e *Quisqualis fructus*. Adicionalmente, os 1,2,4-oxadiazóis podem ser sintetizados por diferentes métodos, utilizando diferentes fontes de energia, como aquecimento convencional, irradiação de micro-ondas ou ultrassom deferindo no tempo, custo e rendimento (TAKEMOTO et al, 1975; FLIPPEN, JUDITH & GILARDI RICHARD, 1976; CARBONE et al, 2011).

Figura 2. *phidianidines A e B*

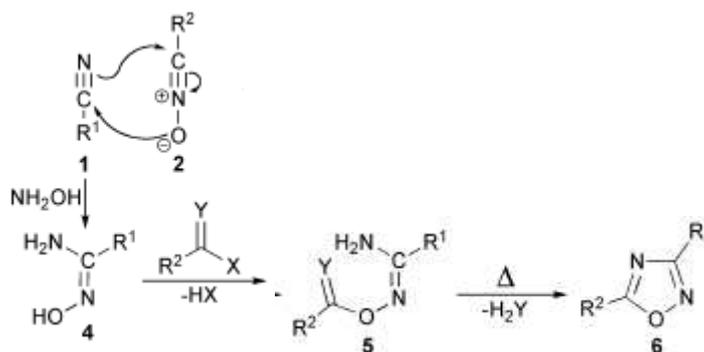


Fonte: Adaptado CARBONE et al., (2011).

Figura 3. Ácido quisquálico

Fonte: Adaptado TAKEMOTO et al., (1975).

A literatura dispõe de diferentes metodologias para preparação dos 1,2,4-oxadiazóis (FREITAS, et al. 2012; CHAWLA, 2018), entretanto a rota sintética mais utilizada, envolve a reação entre amidoximas e derivados carbonílicos, que geralmente são ácidos carboxílicos, cloretos ácidos, anidridos ácidos ou ésteres (PACE; PIERRO, 2009). Devido à popularidade dessa reação entre os membros da comunidade científica, essa estratégia ficou conhecida como rota da amidoxima (Esquema 1) podendo ser uma reação simples, de fácil acesso, baixo custo e contemplando a química verde, se utilizado o método de irradiação por micro-ondas.

Figura 4. Síntese do 1,2,4-oxadiazóis utilizando a rota da amidoxima

Fonte: Adaptado PACE; PIERRO., (2009).

Compostos heterocíclicos estão presentes em diversas áreas de estudo devido suas diferentes aplicações em especial o 1,2,4-oxadiazol que atuam como bioisósteros de ésteres e amidas o que o torna importante na produção de medicamentos que vão desde de ação antimicrobiana, analgésicos a anti-inflamatórios, entre outras como segue na importância farmacológica (HAUPTMANN, 2003; MARTINS et al, 2009; SUZUKI et al, 2011; EICHER; SAUER, 2013).

3.2 Importância farmacológica dos 1,2,4-oxadiazóis

As inovações tecnológicas em medicamentos, para a saúde pública, têm valor na ação terapêutica do fármaco, ou seja, na diminuição de efeitos adversos e de toxicidade, entre outras características que gerem benefícios à saúde. Propriedades, essas observadas no desenvolvimento de fármacos contendo a unidade oxadiazólica, que quando aliada a inovação tecnológica, contribui com novos compostos em diversas áreas terapêuticas e com o melhoramento de aspectos como seletividade e toxicidade em fármacos (VITRY, SHIN & VITRE, 2013; WARD et al. 2014).

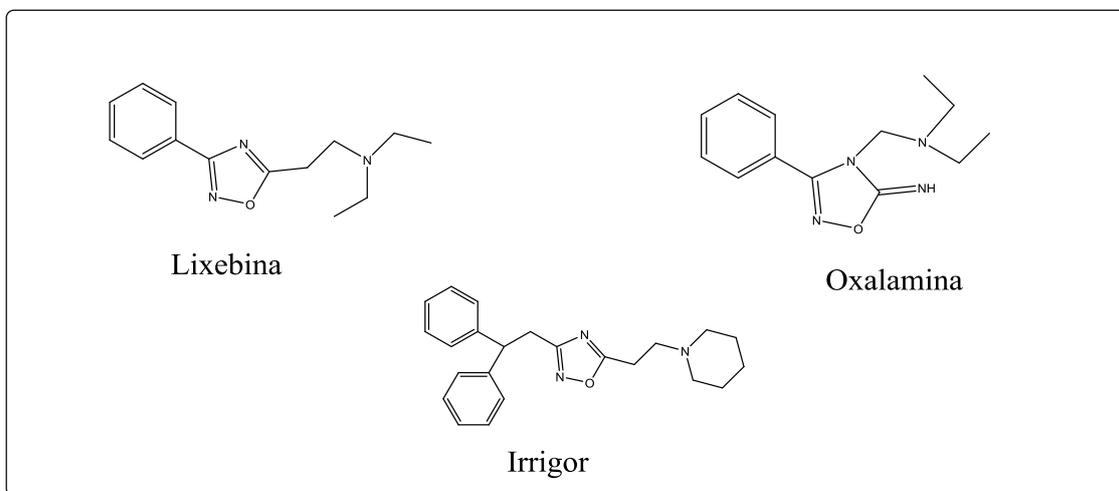
Esses aspectos citados são particularidades dos medicamentos que se utilizados incorretamente pode haver malefícios, principalmente, devido seus efeitos adversos, reações esperadas não confortáveis ao doente, porém é indistinguível a melhora e contribuição que os fármacos trazem a saúde (NASCIUTTI, 2012). Dessa forma a inovação tecnológica supri os efeitos adversos, a toxicidade, a resistência ou a baixa potência de ação de fármacos, dando origem a novas moléculas que atendam a essas limitações. Isso contribui tanto para a indústria como para a saúde pública visto às limitações frente às rápidas modificações de microrganismos e das patologias a se tratar, tornando-se necessária a criação de novos valores terapêuticos (THOMAS, 2012; BOTELHO, MARTINS, REIS, 2018).

Como salientado, os 1,2,4-oxadiazóis são potenciais fontes de contribuição a saúde pública, visto suas diferentes classes terapêuticas como, antiasmática, antidiabética, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticâncer, antiparasitária, entre outras (BOSTROM et al., 2012; AGUIAR; CUNHA, 2015).

Pesquisas em atividades farmacológicas relacionadas as unidades oxadiazólicas foram ampliadas com a descoberta da ação antineoplásica das fidianidinas A e B (figura 2), evidenciando estudos no isolamento e síntese de núcleos 1,2,4-oxadiazólicos e derivados, com igual terapêutica e demais outras ações farmacológicas (FREITAS et al, 2012).

Núcleos oxadiazólicos em fármacos já se encontram no mercado desde os anos 60, como a oxolamina e a libexina, que apresentam, respectivamente, atividade vasodilatadora e antitussígena, além do fármaco irrigor com ação anestésica. Em estudos mais recentes presentes na literatura podemos encontrar publicações importantes relacionadas a atividade biológica dos 1,2,4-oxadiazóis, as quais serão resumidas a seguir.

Figura 5. Estrutura da lixebina, oxalamina e irrigor.



Fonte: Autoria própria

3.2.1 Antineoplásica

A atividade celular descontrolada é a principal característica do câncer, bem como o foco de combate dessa doença, na qual a apoptose seletiva é umas das formas mais desejadas. No entanto há três vertentes para o controle do crescimento celular desordenado, que são indução do auto destruímento celular, inibição da enzima glicogênio sintase e inibição do crescimento celular (angiogênese) (PACE & PIERRO, 2009; CUNHA & AGUIAR, 2015).

Há estudos experimentais com oxadiazóis apresentando ação antineoplásica nas três vertentes citadas, tendo como composto de ação celular autodestrutiva derivados de 3,5-diaril-1,2,4-oxadiazóis sintetizados por Zhang e colaboradores (2005). Eles fizeram uso de estudos *Quantitation Structure Activity Relationship* (QSAR) indicando que a estrutura com o substituinte trifluorometila no C-4 do radical fenila apresentou o melhor valor de inibição de crescimento 0,22 μM , sendo o de melhor atividade farmacológica.

A ação inibitória da enzima glicogênio sintase foi observada por Koryakova e colaboradores (2008) a partir da síntese do 1,2,4-oxadiazóis-5-carboxamida e avaliação de inibição da enzima glicogênio sintase quinase 3 (GSK3), que regula reações de

diferenciações e proliferação celular. Foi sugerido que o nitrogênio, em sua posição no anel oxadiazólico, está associado a atividade inibitória dessa quinase já que ensaios *in vitro* de derivados piridina e pirimidina demonstraram atividade de alta a moderada além da natureza de substituintes no grupo fenila (PACE & PIERRO, 2009; CUNHA & AGUIAR, 2015).

As células tumorais apresentam em sua superfície um receptor ($\alpha_v\beta_3$) que ao reconhecer a sequência de arginina-glicina-ácido aspártico é capaz de inibir a angiogênese. Sendo essa a terceira vertente na qual utiliza-se o núcleo oxadiazólico com função isómero do grupo éster/amida em derivados não peptídicos análogos dos $\alpha_v\beta_3$ como os ácidos 1,2,4-oxadiazolebutanóicos. Estes farmacologicamente apresentaram alta potência, boa biocompatibilidade e promissora farmacocinética, o melhor derivado apresentou um $CI_{50} = 0,26$ nM (TIWARI & KOHLI, 2008; PACE & PIERRO, 2009; CUNHA & AGUIAR, 2015).

Um dos problemas existentes nos fármacos antineoplásicos é a não distinção das células cancerígenas das células normais. Porém foi constatado que o 3,5-diaril-1,2,4-oxadiazóis estudado e sintetizado por Zhang e colaboradores (2005) induziu apoptose seletiva em células cancerígenas sem afetar as saudáveis com maior potencial de aplicação para os cânceres de mama e colorretal. Outro fato interessante é que na síntese dos derivados inibidores do glicogênio sintase a substituição do anel de 1,2,4-oxadiazol por um anel de 1,3,4-oxadiazol resultou em perda de atividade (PACE; PIERRO, 2009; CUNHA; AGUIAR, 2015).

A literatura descreve ainda a ação de derivados 1,2,4-oxadiazol contra câncer de próstata, leucemia e inibidores de tubulina (KUMAR, et al 2011; ZHANG et al, 2013; GAKH et al, 2013).

3.2.2 Anti-inflamatórios

A atividade anti-inflamatória dos oxadiazóis está baseada na inibição, principalmente, da lipoxigenase. Um dos primeiros estudos utilizou o 5-metil-3-fenil-1,2,4-oxadiazol em 1972 (DAHLGREN; DALHAMN, 1972; CUNHA; AGUIAR, 2015). Este trabalho fomentou pesquisas para outros oxadiazóis com atividade anti-inflamatória como o desenvolvido por Bezerra e colaboradores (2005) que incorporou ao núcleo oxadiazólico longas cadeias de hidrocarbonetos no C-5, qualificando como isómeros do ácido palmítico, desempenhando a mesma atividade que a aspirina e

ibuprofeno, inibindo a enzima hidrolase de amida de ácido graxo (FAAH) (PACE; PIERRO, 2009; CUNHA; AGUIAR, 2015).

3.2.3 Antimicrobianos

Durante as últimas décadas, diferentes tipos de microrganismos vêm adquirindo resistências aos antimicrobianos convencionais, devido em parte a seus mecanismos de resistência que expulsam o fármaco, ou através de enzimas que inativam ou diminuem a atividade do fármaco, ou ainda por meio de processos adaptativos. No entanto, cabe destacar que o uso indiscriminado dos antimicrobianos vem contribuindo significativamente para o aumento da resistência desses microrganismos. Devido a isto, o espectro de atuação dos antimicrobianos convencionais vem diminuindo, impulsionando a busca por novas moléculas que atuem contra esses microrganismos patogênico (KAPLANCIKLI, 2007; CHAWLA, 2010; HARIKRISHNA & RAVINDRANATH, 2014).

Diante disto, os núcleos oxadiazólicos apresentam-se como alternativa de novos compostos de menor resistência e menores efeitos adversos, capazes de atuarem contra os patógenos. Os oxadiazóis podem ainda melhorar efeitos adversos e a atividade dos antimicrobianos em mercado, fomentando pesquisa de derivados desse núcleo e, além disso, é possível observar na literatura compostos já testados e confirmados com atividade antifúngica, antiviral, antibacteriana e antiparasitária. Estes, por sua vez, agem como biostático, se inibem o metabolismo e reprodução dos microrganismos, ou com biocida, se inibe a síntese de produtos essenciais a vida dos mesmos (SAUER, 2013; CUNHA; AGUIAR, 2015)

Neste aspecto Kumar e colaboradores (2011) descreveram a síntese de 6 novos oxadiazóis que foram preparados em rendimentos que variaram de 40 a 55%. Estes compostos oxadiazólicos foram testados contra a cepa bacteriana *Mycobacterium tuberculosis*, os quais apresentam valores de CIM que variaram de 12,63 a 24,08 μM , valores esses que foram maiores aos comparados com os fármacos comerciais, a citar, Ciprofloxacina (4,71 μM), Etambutol (7,64 μM), Isoniazida (0,36 μM) e Rifampicina (0,12 μM). No entanto, devido esses compostos serem novos fármacos que ainda passaram por testes *in vivo* podem ainda serem modificados a fim de otimizar essa atividade biológica.

Infecções fúngicas crescem tanto quanto as bacterianas, com a mesma problemática de fármacos não eficazes. Dentre os estudos de atividade antifúngica pode-se citar o realizado por Krishna e colaboradores (2015), no qual compostos 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos foram associados a compostos cumarínicos a fim de obter compostos heterociclos mistos, visto que juntos podem potencializar os benefícios desses compostos. Dessa forma, os autores avaliaram a atividade antifúngica desses compostos mistos frente aos fungos *Aspergillus terreus* e *Rhizoctonia solani*, observando que a atividade dos mesmos foi maior que a do fármaco padrão controle Clotrimazol de concentração 20µg/mL, já que a concentração dos compostos heterociclos mistos foi de 100µg/mL e 200µg/mL.

Os núcleos oxadiazólicos possuem ainda atividade, como o fármaco comercializado e liberado pela FDA para o tratamento de HIV/AIDS antirretroviral denominado Raltegravir[®], inibidor da enzima integrase do HIV, primeiro fármaco contendo núcleo oxadiazólico com tal atividade (SAVARINO, 2006).

Há também pesquisas com oxadiazóis que apresentam ainda atividade antiparasitária, como nos estudos de Cotterill e colaboradores (2004) que demonstra atividade antiprotozoária de compostos 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído associado a triazóis contra *Leishmania* e *Trypanosomes* africanos. Em sua pesquisa foi demonstrado que o componente oxadiazol permitia seletividade e que a introdução de grupos mais lipofílicos na posição 3-aryl ligada ao oxadiazol aumentava a potência antileishmanial porém a associação ao triazol tornava-se fundamental para a atividade antiprotozoária.

3.2.4 Antiasmática

Os oxadiazóis também são estudados para o tratamento da asma, apesar de ser a menor área estudada e pesquisada. Palmer e colaboradores (2006), estudaram um banco de dados de moléculas testando qual a melhor configuração de derivados 1,2,4-oxadiazólicos que inibissem a enzima humana triptase, a qual potencializa a bradicinina, potente vasoconstritor, por meio de mediadores químicos e os mastócitos levando a um ciclo de ativação. No seu estudo observou que a atividade inibitória é possível e que o grupo 3,4-diclorofeniletila otimizou tempo de meia vida e depuração (PACE; PIERRO, 2009; CUNHA; AGUIAR, 2015).

Além da via da enzima tirosina quinase, há estudos também com outras vias como foi realizado na pesquisa por Elzein e colaboradores (2006) que testaram

derivados oxadiazóis associado ao pirazol N-substituído como padrão para atividade antagonista de receptores de adenosina, reduzindo dessa forma a capacidade de resposta alergênica dos mastócitos. Foi obtido como resultado que a mudança da amida por um 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído no composto padrão melhorou a seletividade para os receptores e que apresentou igual atividade que o padrão.

3.2.5 Antidiabéticos

Atividades antidiabéticas de núcleos oxadiazóis também são estudadas, conforme o estudo realizado por Tóth colaboradores (2009) que relataram a síntese de 3-β-D-glicopiranosil-1,2,4-oxadiazóis com substituições de grupos laterais no C5 a fim de averiguar a melhor resposta inibitória da enzima glicogênio fosforilase. As substituições sucederam-se dos grupos metila, hidróxi-metila, fenila, t-butila e 2-naftila observando que grupos maiores e hidrofóbicos atribuiu melhor inibição da enzima glicogênio fosforilase.

3.3 Estudo toxicológico e *Artemia salina leach*

Uma das etapas do desenvolvimento de fármacos é o ensaio toxicológico pré-clínico, objetivando garantir segurança a saúde humana (HORNBERG, 2014). Portanto, moléculas *scaffolds* como os oxadiazóis para que sejam vantajosas e rentáveis a indústria apresentar baixa toxicidade. Por isso existem testes toxicológicos que objetivam mensurar o malefício de substâncias ao sistema biológico e dimensionar a toxicidade relativa (LAVANDEIRA, 2014; HORNBERG, 2014; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Os ensaios toxicológicos para fármacos podem ser realizados *in vitro* e *in vivo*. O teste *in vivo* utiliza-se de animais, possuindo muitas variáveis, alto custo e questões éticas devido o sofrimento causado aos mesmos (PARRA, 2001). Entretanto existe uma política que regulamenta esse ensaio a *Reduction, Refinement e Replacement* (3R's). Essa política se baseia na redução da utilização de animais, na diminuição da dor e sofrimento destes e na substituição por metodologias alternativas (CAZARIN, et al., 2004).

Diante disso os testes *in vitro* por se utilizarem de microrganismo ou microcrustáceos, cultura de células, vias bioquímicas e estudos *Quantitation Structure Activity Relationship* (QSAR) apresentam-se como metodologias alternativas

(MOREIRA, 2013; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014). Esses testes além de compreenderem os 3R's minimizando a utilização e o sofrimento de animais são vantajosos pela ausência de interferentes externos além de econômicos em infraestrutura e consumo bem como práticos, rápidos e reprodutíveis (CRUZ, 2004; VICTAL, 2014).

O bioensaio utilizando *Artemia salina* (figura 6), vem se destacando no cenário dos estudos pré-clínicos de toxicidade, como um teste preliminar, por sua sensibilidade a diversas substâncias e pela determinação da concentração media letal para matar 50% dos indivíduos em 48 horas (MEYER et al., 1982; LUNA, 2005).

Figura 6. *Artemia salina* Leach



Fonte: <https://www.psychologymania.com/2013/07/artemia-salina.html>

Esse camarão de salmoura é um microcrustáceo da ordem Anostraca, utilizado em ensaios toxicológicos principalmente de plantas, mas que vem ganhando destaque por sua facilidade de obtenção e realização de teste com outras substâncias. Além de permitir um teste toxicológico geral e de toxicidade aguda letal. Sendo um ensaio alternativo para a utilização de animais respeitando os 3R's, podendo também ser usado como teste de triagem para substâncias altamente dispendiosas (HARADA, 2009; CUNHA, 2011; BEDNARCZUK, 2010).

A *Artemia* possui vantagens devido a sua importância e serventia, como comida de peixe tornando-se de fácil acesso, além da resistência dos ovos ao ambiente, que esses podem ser armazenados em temperatura ambiente por muito tempo sem perda de viabilidade gerando grande número de larvas náuplios após a eclosão de um ovo (CUNHA, 2011; HIROTA, 2012).

As larvas náuplios é o principal estágio de vida desse microcrustáceo utilizado em teste de toxicidade aguda devido seu tempo de nascimento de 24-48 horas

permitindo determinar a concentração media letal da substância frente a contagem de movimentação das larvas, distinção das larvas vivas das não vivas, após contato com a amostra (HARADA, 2009; CUNHA, 2011).

O teste com *Artemia* é usado principalmente em produtos naturais devido a necessidade de baixas quantidade de substâncias para os ensaios e gerar resultados quanto a sua toxicidade, servindo ainda de triagem (BEDNARCZUK, 2010). Devido as diversas características desta metodologia, a mesma tem sido aprimorada para uso em demais áreas, como para teste na síntese de fármacos, na farmacologia, na química, no meio ambiente e ecologia determinado águas toxicas, entre outras (CUNHA, 2011; HIROTA, 2012).

O bioensaio com artemia ainda é comparado com o teste de toxicidade oral aguda, realizado *in vivo* em ratos albinos suíços, a toxicologia frente a artemia apresentou igual resultado conforme o estudo feito por Parra e colaboradores (2001). É correlacionado também o ensaio da artemia à ensaios antineoplásicos de forma a ser um método de triagem por ser um teste preliminar geral que permite determinar o investimento em substâncias específicas e dispendiosas (HARADA, 2009).

Existem estudos que utilizam tal método em composto heterocíclico nitrogenado como os oxadiazóis, como exemplo o estudo realizado por Machado e colaboradores (2005) frente a *Artemia* quanto a toxicidade do 3,5-difinlclorado 1,2,4-oxadiazol.

Diante de todas as características a metodologia com *Artemia* costuma ser utilizada em laboratórios tradicionais de química bem como frente a fármacos sintéticos, compostos heterocíclicos entre outros (MACHADA, 2005; CUNHA, 2011; HIROTA, 2012). Dessa forma o composto ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico, uma vez sintetizado e caracterizado, será realizado a viabilidade do bioensaio deste composto frente a *Artemia salina* Leach afim de deduzir a dose media letal desse derivado 1,2,4-oxadiazol 3,5-disubstituído.

4 METODOLOGIA

4.1 Local da pesquisa

A síntese do composto ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico foi realizada no Laboratório de Síntese Orgânica (LASO), localizado no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité (CES-UFCG), enquanto que as análises de espectroscopia (IV) foram realizados na Central Analítica localizada no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, Campus Recife (DQF-UFPE). A viabilidade do bioensaio toxicológica desse composto frente à *Artemia salina* Leach foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da UFCG-CES.

4.2 Materiais e equipamentos

Foram utilizados balão de fundo redondo, béquer, Erlenmeyer, funil de separação, kitassato, espátulas, placa para cromatografia em camada delgada (CCD), cuba de eluição para CCD ou béquer de 100 mL; pinça, câmara com lâmpada UV, forno de micro-ondas doméstico Panasonic, chapa agitadora, ultrassom com aquecimento, balança analítica, pipeta. Os reagentes necessários a síntese foram o bromoacetado de etila, DMSO, carbonato de potássio, benzonitrila, cloridrato de hidroxalamina. A caracterização do composto foi realizada por espectrometria de infravermelho.

Para o ensaio toxicológico frente *Artemia salina* Leach utiliza-se uma cuba dividida ao meio por uma barreira permeável, sal marinho, água destilada, espátulas, pipetas, lâmpada, ovos das artemias, balança analítica. O ensaio é realizado em temperatura ambiente com pH entre 8-9 e meio salino.

4.3 Procedimento para obtenção da benzoamidoxima

Em um balão de fundo redondo de capacidade 125 mL adicionou-se 10 mmol de benzonitrila (1,0283 g) dissolvido em 20 mL de etanol. Separadamente, em um Erlenmeyer de 100 mL foi adicionado 30 mmol de cloridrato (2,0855 g) dissolvido em 20 mL de água, adicionando-se então 15 mmol de carbonato de sódio (1,5903 g)

vertendo conteúdo no balão junto à benzonitrila e o etanol. A mistura reacional foi submetida em três diferentes condições. Na primeira delas foi utilizado ultrassom a 25°C, a segunda condição em banho ultrassônico a 55°C e por último em chapa agitadora a 25 °C, por 30 min. A reação foi acompanhada por CCD e visualizada no ultravioleta. Após a verificação do termino da reação o solvente foi retirado sob pressão reduzida. A mistura reacional foi transferida para funil de separação com lavagem em acetado (3x de 20 mL) e solução supersaturada de cloreto de amônio (20 mL), separando fase aquosa da orgânica. A fase orgânica foi separada e seca com Na₂SO₄, sendo filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. Para purificação foi utilizada a cristalização, na qual a benzoamidoxima foi solubilizada em sistema clorofórmio e hexano e mantida a temperatura ambiente em repouso, obtendo-se cristais brancos que foram filtrados a vácuo e lavados com sistema Hexano:Clorofórmio.

4.4 Procedimento para alquilação do ácido salicílico – esterificação de Fischer

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 25 mL adicionou-se 1,5 mmols (207,2 mg) de ácido salicílico em 2,0 mL do dimetilsulfóxido (DMSO). Em seguida foi adicionado o carbonato de potássio 3,0 mmols (414,0 mg) e essa mistura reacional foi agitada por 5 minutos a 25°C para então se adicionar rapidamente o etil 2-bromoacetato (1,7 mmols, 284 mg). O sistema foi vedado para evitar a evaporação do bromoacetato, o termino da reação foi acompanhada por CCD em sistema de eluição Hexano:Acetato de etila (9;1). Constatando o final da reação, a mistura reacional foi tratada com 15 ml de solução aquosa saturada de NH₄Cl e acetato de etila (3 x 15 mL) separando fase orgânica da aquosa. A fase orgânica foi separada e seca com Na₂SO₄, sendo filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna, fornecendo o composto ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi) - benzóico na forma de um óleo incolor.

4.5 Procedimento para determinar o local de maior incidência do micro-ondas

O forno de micro-ondas utilizado na parte experimental pertence ao modelo Panasonic de tensão 220 V, capacidade 21 L, potencial máximo 700 W de frequência 2,45GHz. Para determinar o local de maior incidência desse aparelho foi preparado uma solução de cloreto de cobalto (II) hexaidratado a 4% m/v (4 g em 100 mL de água destilada). Posteriormente, embebeu-se um papel de filtro com mesmo diâmetro que o

parto do micro-ondas, 27 cm. O mesmo foi colocado sob irradiação do micro-ondas com o prato parado na potência 100% durante 3 minutos.

4.6 Procedimento para determinar a potência real do micro-ondas

Em um béquer com capacidade de 1 L foi adicionado água destilada e sua temperatura inicial medida. Em seguida esse sistema foi submetido a irradiação de micro-ondas em potência máxima 100% durante 2 minutos verificando a temperatura final. O procedimento foi repetido para as potências de 80%, 60%, 40% e 20%.

4.7 Síntese 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído

Em um vidro reator (vidro de penicilina) transparente para melhor captura de energia foi adicionado 0,86 mmol (0,194 g) do ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi) - benzóico, 1,29 mmol (0,1752 g) de benzoamidoxima, 0,128 mmol (0,178 g) de carbonato de potássio e 10 gotas de DMF. Homogeneizando-se a mistura reacional levou-se ao forno de micro-ondas doméstico Panasonic, sendo irradiada durante 2 min em potência 8. O término da reação foi acompanhado por CCD em sistema de eluição Hexano:Acetato de etila 7:3. Constatando final da reação, a mistura reacional foi tratada com 5 ml de solução aquosa saturada de NH_4Cl e acetato de etila (3 x 5 mL) separando fase orgânica da aquosa. A fase orgânica foi separada e seca com Na_2SO_4 , filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida, sendo o produto purificado por cromatografia em coluna, fornecendo um composto na forma de cristais sólidos brancos.

4.8 Toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach

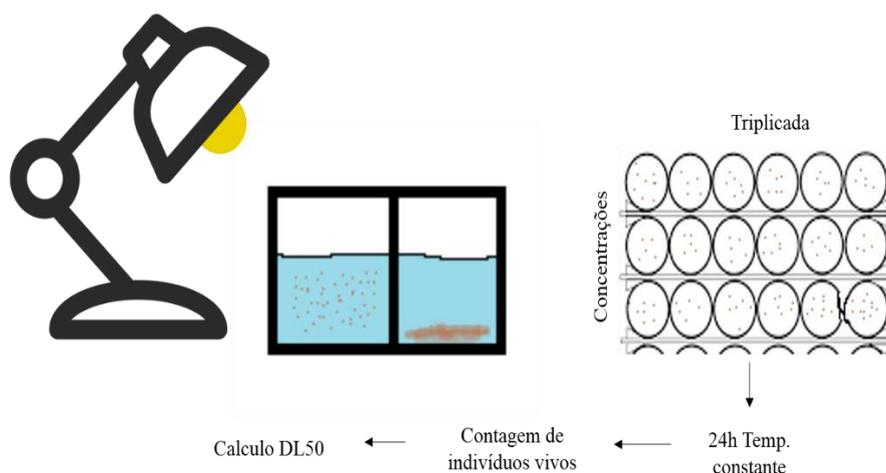
Foi utilizada como base a metodologia de Meyer et al (1982) para a realização do primeiro passo do ensaio toxicológico, a triagem da faixa toxicológica, utilizando *Artemia salina* Leach.

Dessa forma, os ovos de *Artemia* foram incubados em uma cuba contendo uma solução, preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1 L de água destilada em pH entre 8 e 9. Essa incubação foi mantida por 48 horas, o tempo necessário para nascimento dos náuplios. A cuba possui uma membrana semipermeável permitindo a passagem dos náuplios de um lado para outro, guiados pela iluminação de uma lâmpada

que atrai os mesmo por fototropismo, conforme figura 9 (MEYER, 1982; MACHADO, 2005; LUNA, 2005; MOREIRA, 2013; BUENO, 2015).

Realizado esse procedimento preparou-se a solução teste (solução salina adicionada da substância teste), a 2000 ppm, inviabilizando o teste. Se o teste fosse possível ser seguido, os náuplios após recolhidos por uso de micropipeta e inseridos em tubos contendo solução salina e amostra teste. Para então observa-se movimentação e sedimentação dos mesmo após 24 horas. Com os dados recolhidos o próximo passo é o calculado do CL_{50} , são considerados tóxicos resultados maiores que $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e atóxicas para resultados menores que $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ (MEYER, 1982; MACHADO, 2005; LUNA, 2005; MOREIRA, 2013; BUENO, 2015).

Figura 7. Método Artemia

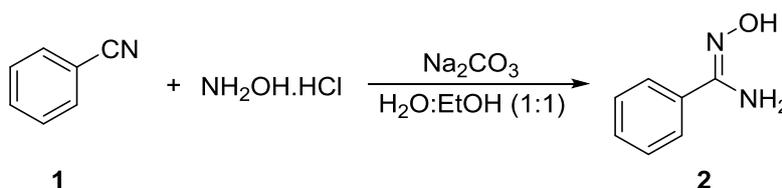


Fonte: Autoria própria

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese da benzamidoxima (2) a partir da reação entre a benzonitrila (1) e o cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico, conforme descrito no esquema 2.

Figura 8. Reação de síntese da benzamidoxima (2)



Fonte: Autoria própria

A benzamidoxima (2) foi preparada utilizando diferentes formas de energia, a citar, a irradiação ultrassônica e a agitação mecânica. Os resultados dessas sínteses estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Síntese da benzamidoxima (2)

Experimento	Tipo de energia	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	Ultrassônica $25\pm 3^\circ\text{C}$	1 h 30 min	60%
2	Ultrassônica $55\pm 3^\circ\text{C}$	1 h	75%
3	Agitação $25\pm 3^\circ\text{C}$	22 h	65%

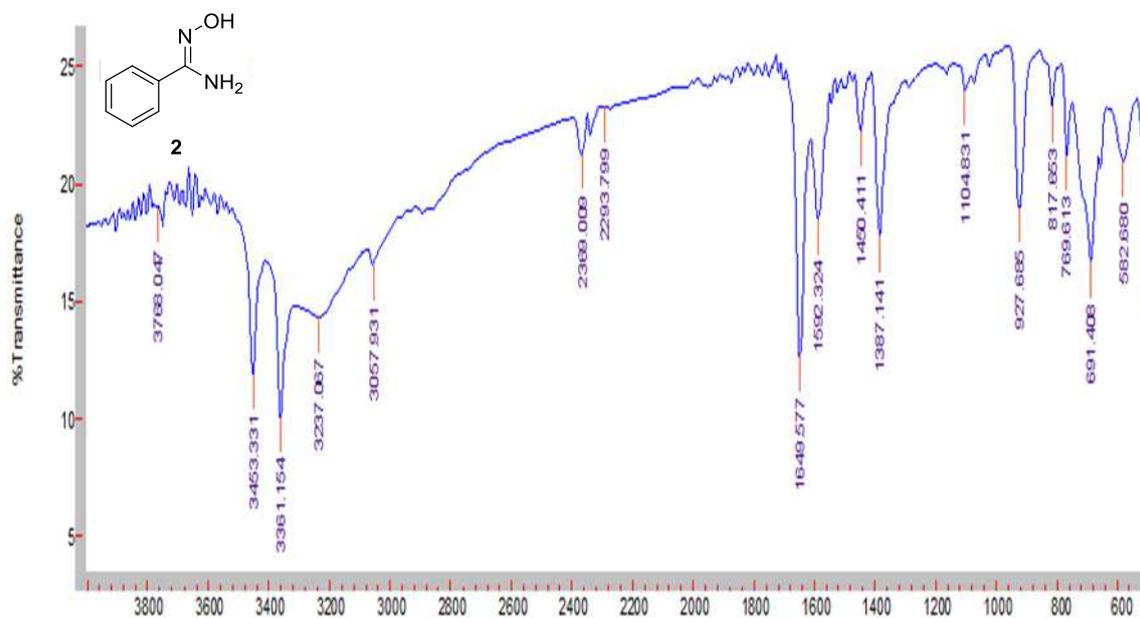
Fonte: Autoria própria

De acordo com a Tabela 1 constatou-se que o melhor resultado, com relação ao tempo e rendimento, foi obtido quando a reação foi conduzida em irradiação ultrassônica e aquecimento ($55\pm 3^\circ\text{C}$), uma vez que a benzamidoxima (2) foi obtida após um tempo de 1 h com 75% de rendimento (Experimento 2). Essa mesma metodologia utilizada foi empregada por Barros (2011) e Freitas Filho (2016), contudo esses autores

obtiveram resultados diferentes, no procedimento de Barros foi realizado 10 sínteses observando variáveis no tempo e rendimento prevalecendo o tempo reacional de 30 min com rendimentos de 40 a 92% já no procedimento de Freitas filho foi realizado apenas uma síntese em 30 min com rendimento de 85%. Essa divergência no tempo reacional é justificada por vários motivos, a citar a potência do banho ultrassônico, quantidade de material utilizada, percentual de pureza dos reagentes utilizados, entre outros aspectos.

A benzamidoxima obtida foi inicialmente caracterizada por espectroscopia de infravermelho, e analisando o seu espectro de infravermelho (Figura 10) observa-se a presença de bandas em 1592.324 cm referentes às ligações C=C de anel aromático e outra em 3057.931 cm referente a C-H de anel aromático, comprovando anel aromático presente na estrutura do composto **2**. Permite concluir isso pois segundo Paiva (2015) ligações C=C características de anéis aromáticos ocorrem entre 1.600 e 1.450 cm, normalmente em pares, e que deformações axiais C-H aromática ocorre a esquerda de 3000 cm. Banda em 1649.577 cm refere-se ao estiramento C=N presente na estrutura da benzoamidoxima. Aminas primarias podem expressar picos fracos e médios na região 3600 a 3200 cm (PAVIA, 2015). Assim correspondendo então os dois picos em pares em 3453 e 3361 cm ao grupamento amina (NH₂) presente na estrutura do composto **2**, por meio do espectro, figura 10, e das bandas apresentadas é possível confirmar que a estrutura do composto **2** é uma benzoamidoxima.

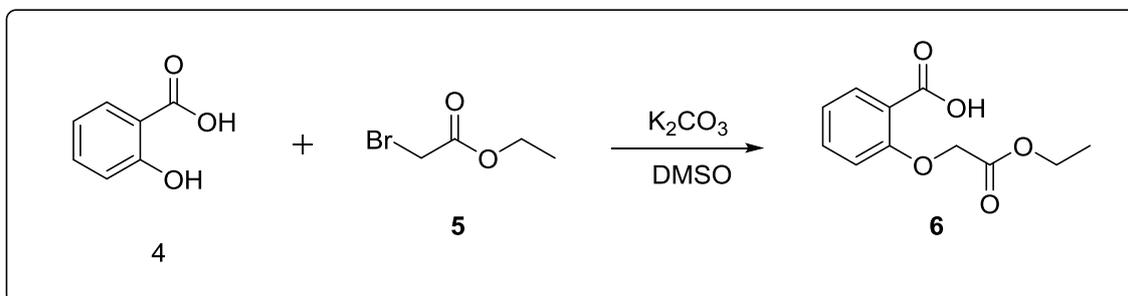
Figura 9. Espectro de infravermelho benzamidoxima (**2**)



Fonte: DQF-UFPE

Uma vez sintetizada e caracterizada a benzamidoxima (2), partiu-se para a síntese do composto (6) ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi) - benzoico a partir da reação de alquilação, na qual o ácido salicílico (4) foi alquilado com o etil 2-bromoacetato (5), conforme a figura 10.

Figura 10. Reação de síntese do ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi) – benzoico (6)

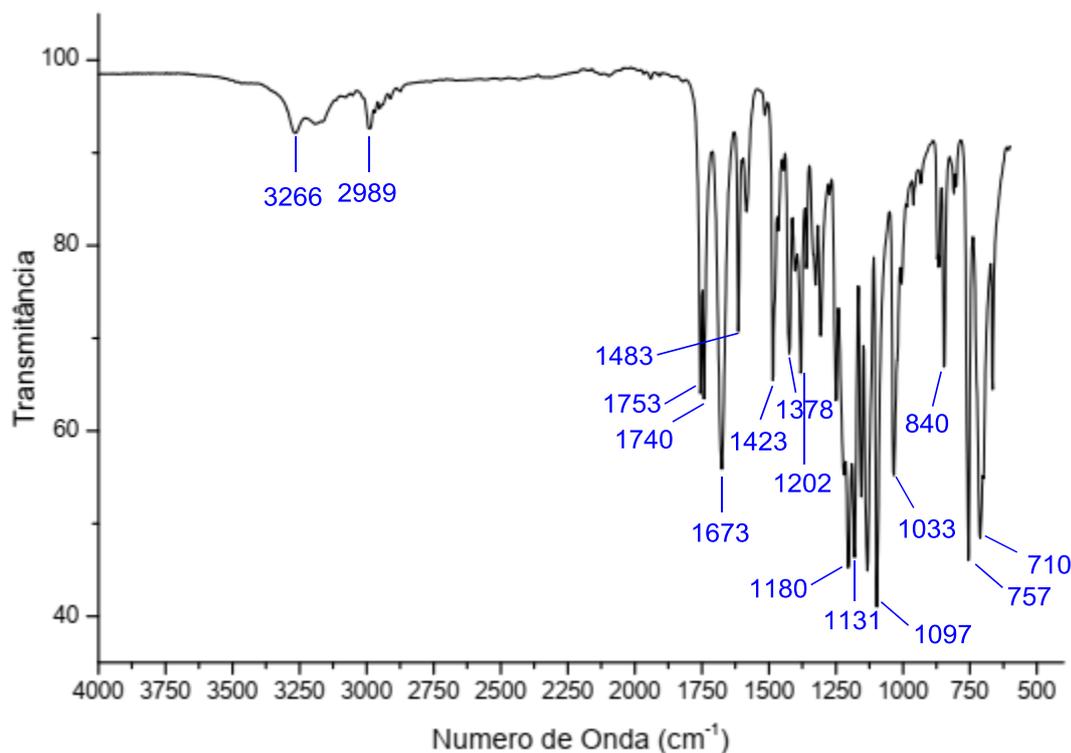


Fonte: Autoria própria

O composto 6 foi sintetizado pelo método agitação em temperatura ambiente $25 \pm 3^\circ C$ com tempo reacional de 2 h e rendimento de 85 %. Uma metodologia parecida, foi utilizada por Tripathi e colaboradores (2007) diferindo no solvente e derivado fenólico obteve um rendimento comparável (80%) mas um tempo reacional menor, 10 min.

A molécula 6 foi caracterizada por espectro de infravermelho, apresentado na figura 11.

Figura 11. Espectro infravermelho do composto (6)



Fonte: DQF-UFPE

Na qual observa-se que a banda em 3266 cm^{-1} é referente a vibração da ligação -OH que segundo Pavia (2015) o estiramentos de -OH ácidos carboxílicos se apresenta na região de $3400\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$ como uma banda larga e sinais para fenóis se apresenta na faixa de até 3100 cm^{-1} com um estiramento forte banda essa não observada no espectro, provando ausência da parte fenólica presente no ácido salicílico percurso da molécula. A banda em 2989 cm^{-1} é referente a absorção do estiramento da ligação $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ cuja hibridização de carbonos sp^3 segundo Paiva (2015) se apresenta de $3000\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$. Bandas de carbonila geralmente são dois sinais fortes e se apresentam de $1740\text{-}1760\text{ cm}^{-1}$ segundo Paiva 2015 porem para anidridos as bandas podem comporta-se em vibrações simétricas ($1830\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$) e assimétricas, sendo as assimétricas duas bandas moderadas de $1775\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$. Dessa forma como a molécula apresenta um núcleo rígido e duas carbonilas, obtidas de seus reagentes, separadas pelo núcleo rígido. Assim as duas bandas moderadas apresentadas no espectro em 1753 e 1740 cm^{-1} associa-se ao grupamento C=O como um comportamento de vibração assimétrico passando de uma vibração forte para moderada. Já o a banda em 1673 cm^{-1} representa a presença da carbonila ácida, visto que as carboxilas de ácidos se apresentam na região de 1320 a 1210 cm^{-1} segundo Paiva (2015). O estiramento da ligação C-O se apresenta segundo Lopes e Fasio (2004) na faixa de $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ dessa forma as bandas de 1180 a 1097

cm^{-1} relaciona-se ao estiramento da ligação C-O. A banda na região de 1483 cm^{-1} representa o estiramento de ligações C=C de anel aromático visto que Lopes e Fasio (2004) apresenta bandas em estiramentos médios na região de $1450\text{-}1600 \text{ cm}^{-1}$. Ainda segundo Lopes e Fasio 2004 deformações $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ fora do plano de anéis aromáticos mono-substituídos varia de $770\text{-}730 \text{ cm}^{-1}$ e de $710\text{-}690 \text{ cm}^{-1}$ assim a banda em 757 cm^{-1} representa as deformações $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ de anéis aromáticos fora do plano.

Uma vez sintetizada e caracterizada a benzamidoxima (**2**) e o ácido 2 (carboximidoxi) benzoico (**6**), partiu-se para a síntese do ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico utilizando como fonte de energia a irradiação de micro-ondas, uma vez que é uma energia sustentável e que atende alguns princípios da química verde já que esse oferece menor gasto de energia, alta reatividade, pureza do produto, e leva a formação de poucos ou nenhum subprodutos. Vale ressaltar que desde 1986 a irradiação de micro-ondas, técnica conhecida como MAOS (Microwave Assistend Orgnic Chemistre), vem sendo utilizada em reações rentáveis e explicada por meio da fricção de moléculas pela alta temperatura e energia, provocando uma dipolarização de dipolo ou condução iônica (OBERMAYER, et al., 2009; SAUER, 2013).

Devido a essas características da irradiação de micro-ondas e como a pesquisa visou a síntese do ácido 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico utilizando o micro-ondas doméstico fez necessário padroniza-lo, verificando a região de maior incidência e a potência real visando garantir reprodutibilidade e confiabilidade de resultados.

Figura 12. Forno de micro-ondas Panasonic



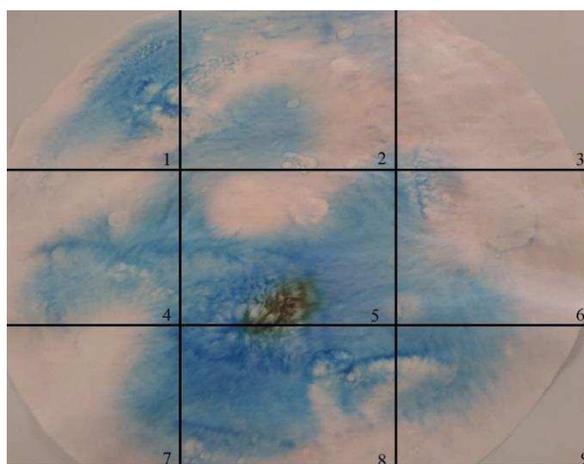
Fonte: Autoria própria

Dessa forma, foi demarcado o local de maior incidência do forno de micro-ondas doméstico Panasonic, utilizando um papel de filtro embebido em solução de cloreto de cobalto que após irradiado no micro-ondas apresentou regiões com diferentes tons de

azul e rósea, devido ao fenômeno de dissociação do complexo $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, o qual apresenta coloração rósea quando hidratado e na sua forma anidra possui coloração azulada. O fenômeno é explicado pela ebulição das moléculas de água provocado no aquecimento da irradiação de micro-ondas.

A cor determina a região de maior incidência, sendo a coloração azul forte a que representa o local de maior incidência. Desse modo, foi observado que as regiões 5 e 8, pela intensa cor azulada uniforme, demonstrada na figura 15, correspondem a melhor região para realizar-se o processo reacional no micro-ondas, devido a observação de que estas são as regiões de maior incidência.

Figura 13. Região de maior incidência de energia micro-ondas.



Fonte: Autoria própria

Além do teste de incidência foi realizado a verificação da real potência do micro-ondas a partir da equação 1, figura 14, com os resultados simulados na tabela 2.

Figura 14. Cálculo da potência real de trabalho do forno de micro-ondas.

$$P = \frac{K C_p m (\Delta T)}{t}$$

Fonte: Autoria própria

Na qual, P significa potência real ($W = J.s^{-1}$), K representa o fator de conversão: $cal/s \rightarrow W$ ($4,184 J.s.cal^{-1}$); C_p representa a capacidade calorífica da água ($1,0 cal.g^{-1}.^{\circ}C^{-1}$), m representa a massa da amostra de água (998,7g), ΔT representa a variação de temperatura observada ($^{\circ}C$) e t representa o tempo de irradiação (s).

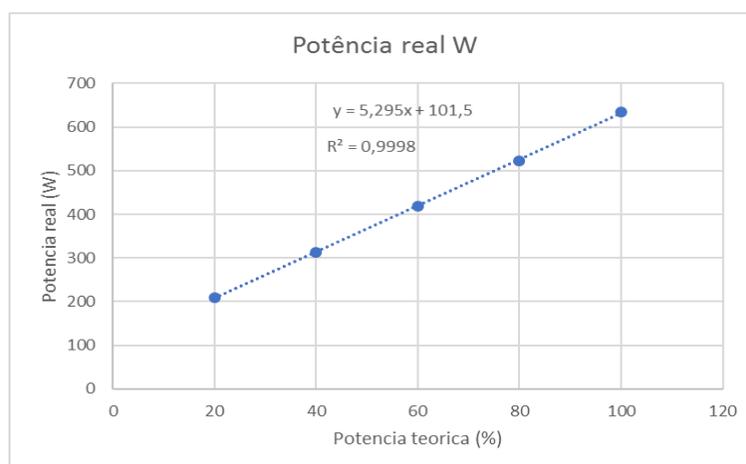
Tabela 2. Valores da potência teórica e potência real do micro-ondas

Potência %	Temperatura ΔT $^{\circ}C$	Potência teórica W	Potência real W
100	18,2	700	634
80	15	560	522
60	12	420	418
40	9	280	313
20	6	140	209

Fonte: Autoria própria

Após a determinação da potência real pela equação 1, obteve-se a curva de calibração e a equação linear a fim de saber a real potência do micro-ondas Panasonic para a potência programa utilizada na reação, potência 8. A curva de calibração, figura 15, foi construída pela tabela 2 no software Excel 2013.

Figura 15. Curva de calibração da potência real e equação da reta

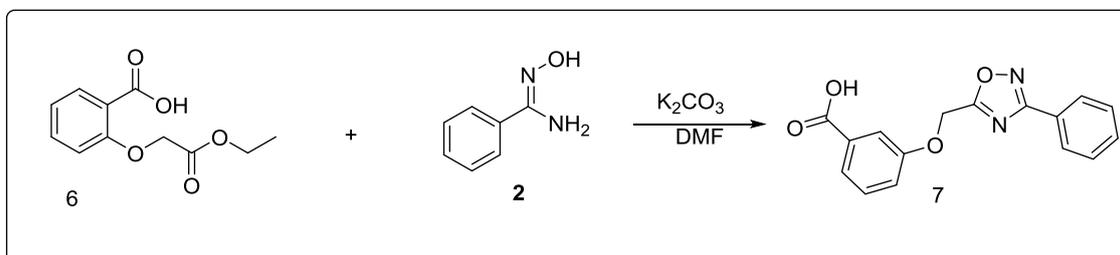


Fonte: Autoria própria

Como demonstrado na figura 15, o valor de regressão linear $R^2 = 0,9998$ permite confiabilidade, a equação da reta e a determinação da potência real programada, a qual confirmou ser de 522 W para uma potência de 80%, desse modo, a potencia real é menor do que a fornecida pelo fabricante.

Dessa forma, uma vez concluída as etapas de síntese e caracterização estrutural da benzoamidoxima (**2**) e do ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi)-benzeno (**6**), bem como a calibração do aparelho de micro-ondas, a próxima etapa do trabalho foi a síntese (figura 16), do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)-benzóico utilizando irradiação de micro-ondas na potência 522 W por 2 min.

Figura 16. Rota sintética do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)-benzóico



Fonte: autoria própria

Esse tempo foi confirmado por CCD, demonstrada na figura 17, na qual pode-se notar o consumo total do reagente limitante (**6**). O produto foi obtido com rendimento 60%, na forma sólido branco (**7**), característico de oxadiazóis (figura 19).

Figura 17. CCD reação oxadiazol



Fonte: Autoria própria

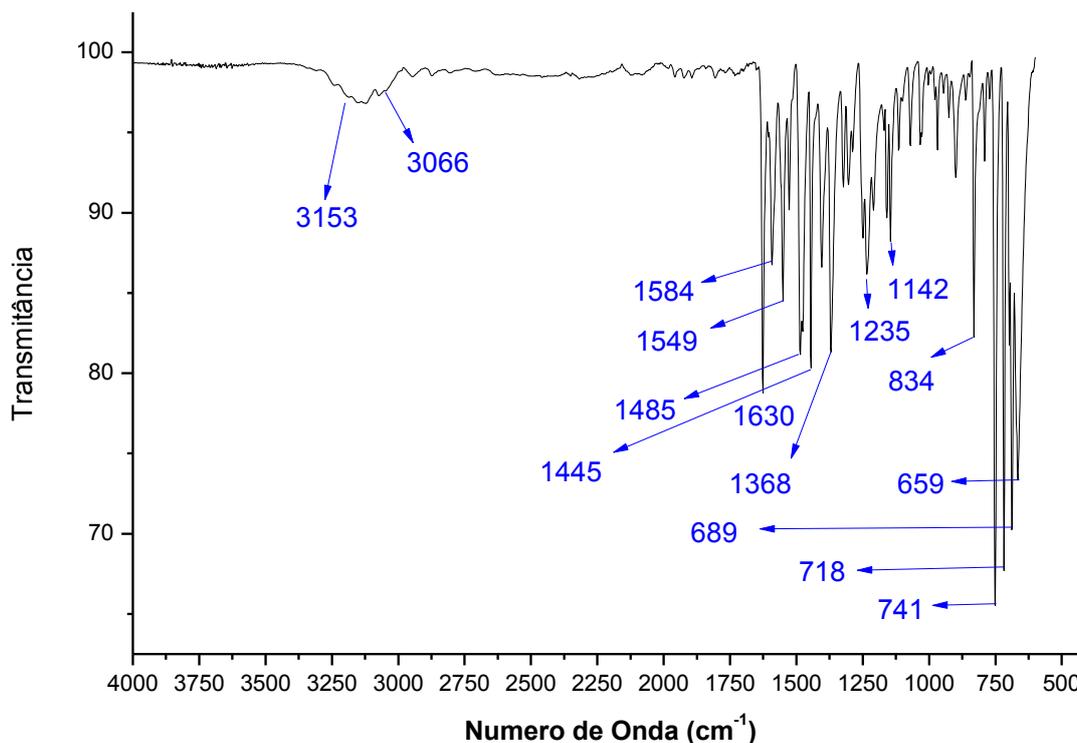
Figura 18. Produto oxadiazol



Fonte: Autoria própria

Uma vez sintetizado o composto (**7**), o mesmo foi caracterizado por espectro de infravermelho, figura 18.

Figura 19. Espectro infravermelho do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)-benzóico



Fonte: DQF-UFPE

De acordo com a figura 18, pode-se observar que a banda em 3153 cm⁻¹ é referente ao estiramento da ligação -OH que segundo Pavia (2015) ligações de OH de ácidos carboxílicos se apresenta na região de 3400-2400cm⁻¹ como uma banda larga e sinais para álcool ou fenóis se apresenta na faixa de até 3100 cm⁻¹ com um estiramento forte o que não é observado para a banda do estiramento -OH no espectro figura 21. Além disso a banda na região de 1235 cm⁻¹ refere-se ao estiramento C-O que segundo Lopes e Fasio (2004) esse estiramento quando presente junto ao grupo C=O apresenta uma banda forte entre 1300-1000 cm⁻¹ mas Pavia (2015) afirma que o estiramento C-O ocorre na faixa de 1320 a 1210 cm⁻¹, com intensidade média em ácidos carboxílicos e a molécula apresenta próxima ao estiramento C-O uma porção acida carboxílica.

A banda fraca na região de 3066 cm⁻¹, relaciona-se ao estiramento C_{sp2}-H de anel aromático visto que Lopes e Fasio (2004) afirma que ligações C_{sp2}-H de anel aromático se apresentam como estiramentos fracos a médios na região de 3100-3000 cm⁻¹. Segundo Pavia (2015) absorções do estiramento da ligação C=C de anel aromático ocorre em pares na faixa de 1600 cm⁻¹ e 1475 cm⁻¹ dessa forma correlaciona-se as

bandas na região de 1445 a 1584 cm^{-1} ao estiramento da ligação C=C de anel aromático. A banda na região de 1630 cm^{-1} pode ser relacionada ao estiramento C=N visto que segundo Pavia (2015) estiramentos de iminas e oximas ocorre entre 1690-1640 cm^{-1} provando também na estrutura a presença da ligação N-O. A banda em 741 cm^{-1} representa a deformação C-H fora do plano de benzeno e derivados mono-substituídos que segundo Lopes e Fasio (2004) deformações C-H fora do plano para benzeno e derivados mono-substituídos se apresenta na faixa de 770-730 cm^{-1} .

Com a síntese do composto (7), observou-se o tempo reacional de 2 min para obtenção do mesmo foi menor que o descrito na literatura e que seu rendimento, 60%, foi equivalente aos demais estudos. Isso foi notado quando comparamos esses resultados com os estudos de Freitas filho e colaboradores 2016 que utilizam micro-ondas doméstico na potência 10 W por 7 min na síntese do 3-fenil-[1,2,4-oxadiazol-5-il]-propan-2-ona, no qual o rendimento desse produto foi de 88%.

Assim, as reações em micro-ondas se demonstram vantajosas em tempo e rendimento na síntese de moléculas quando comparada a métodos convencionais. No estudo de Wolf (2015), por exemplo, foram sintetizados (S)-N-(1-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)alquil)-2-(calcogenofenil) acetamidas em agitação sob temperatura de 100°C durante 8h com rendimento de 47%.

Assim como no estudo de Freitas e colaboradores (2007) que compararam a síntese da molécula 4-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)-butan-2-onas em método convencional sob refluxo, na qual o produto foi obtido com 92% de rendimento e um tempo reacional de 18 horas. Em micro-ondas, por sua vez, o produto foi obtido com 93% de rendimento em 10min. Desse modo foi observado um menor tempo reacional e obtenção de um produto mais puro além de contemplar aspectos da química verde.

Um melhor comportamento reacional em micro-ondas também foi observado no estudo de Ubaradka e colaboradores (2013) que sintetizaram uma série de 5 moléculas oxadiazólicas substituídas. As (1,2,4-oxadiazol-3-il)-3,4-di-hidro-2H-cromen-2-amina) foram obtidas com tempo reacional de 5 min na forma de um sólido com rendimentos de 83-95%, além disso, as mesmas apresentaram atividade anticonvulsivante e anti-inflamatória.

É possível inferir pelo resultado obtido e os estudos apresentados que os constituintes reacionais e outras variáveis interferem no comportamento reacional,

especialmente no tempo e rendimento. Assim como no estudo de Sauer (2013) que sintetizou diferentes oxadiazóis 3,5-dissubstituídos com diferentes L - aminoácidos pelo método de micro-ondas (100 W; 115°C). foi observado que o solvente interfere na obtenção dos produtos, os quais foram obtidos em tempos de 2-15 min e rendimentos que variaram de 70-90%.

Com a síntese concluída a próxima etapa foi a possível avaliação biológica com a viabilidade da substância ao teste toxicológico frente a *Artemia salina* Leach, de modo a calcular o seu CL50 do composto ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzóico.

Além de corroborar com os vários exemplos, da literatura de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídas que apresentaram baixa toxicidade, conforme os trabalhos de Carbone e colaboradores (2011), Takemoto e colaboradores (1975) e Flippen e Gilardi (1976), que enfatizaram a baixa citotoxicidade dos núcleos oxadiazólicos encontrados na natureza.

Dessa forma, o teste de toxicidade foi iniciado com o preparo de uma solução estoque contendo o ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzóico e solução salina a ser inserida em tubos com as artêmias. Primeiramente se realiza a triagem de morte para aprimorar as concentrações e determinar a possível CL50.

Assim sendo, foi realizado o cálculo da solução estoque a 2000 ppm em um volume de 20 ml contendo 40 mg do composto, calculado a partir da fórmula, figura 20.

Figura 20. Cálculo da solução estoque. Onde, X é a concentração em ppm; m, massa do composto em g; V, volume em ml;

$$X = \frac{m}{v} \times 10^{-6}$$

Fonte: Autoria própria

Após realizado o cálculo, preparou-se primeiramente a solução salina, como descrito em Meyer e colaboradores (1982), 38 g de sal marinho foram solubilizados em 1 L de água destilada, e o pH dessa solução foi mantido em 8, garantir a otimização do meio a vida das artêmias. Seguindo com a realização do teste e preparo da solução estoque pesou-se então a substância e fez-se a diluição com DMSO, a fim de melhorar a solubilidade de substâncias na solução salina.

Após a solubilização do composto, foi adicionado aos poucos a solução salina, sob agitação, não perturbando o sistema, porém à medida que a solução foi adicionada, observou-se a formação de precipitado branco, conforme figura 21. Porém o mesmo não foi possível ser realizado e assim obter a CL50 da molécula devido a incompatibilidade do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzóico com a solução salina de caráter básica, meio necessário a vida das artemias.

Figura 21. Solubilidade do composto (7) em DMSO + Sol. Salina



Fonte: Autoria própria

Com isso foi realizado testes de solubilidade com 1g de substância para 0,1ml de diferentes solventes em 3ml de solução salina a fim de encontrar um co-solvente, mas não foi possível como demonstrado na figura 22.

Figura 22. Testes de solubilidade do composto (7).

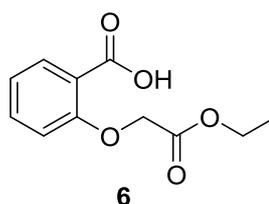
Oxadiazol	Co-solvente	Solubilidade	Solubilidade em solução salina
ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzóico	DMSO	Solúvel c/ aquecimento	Insolúvel Precipitado branco
	DMF	Solúvel	
	ACETATO DE ETILA	Solúvel	
	DCM	Solúvel c/ aquecimento	

	TWEEN 20	Insolúvel	-----
	ETANOL	Insolúvel	-----

Fonte: Autoria própria

Diante dos resultados expostos na figura 22, que demonstram a incompatibilidade e insolubilidade do ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico em meio a solução salina, o teste de toxicidade em *Artemia* foi impossibilitado assim como a determinação da CL50. A baixa solubilidade pode ser explicada pela inserção de grupos substituintes em uma molécula que por mudanças estruturais altera propriedades físico químicas, sendo interessante estudos de pka e log P da molécula.

Figura 23. Ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico (7)



Fonte: Autoria própria

Dessa forma o grupo benzeno na posição 3 diminui a solubilidade em água da molécula, pelo aumento do log P além de restrições estéricas. Porém na posição 5 o grupamento ácido aumenta a solubilidade em água, mas também causa restrições estéricas no núcleo oxadiazólico. Mesmo possuindo uma porção hidrofílica e uma acida, as mesmas não foram suficientes para garantir a solubilidade em solução salina básica frente a hidrofobicidade dos dois anéis aromáticos da molécula (3), figura 21 (BARREIRA; FRAGO, 2014).

Entretanto, a característica da molécula possuir em sua estrutura anel aromático facilita a absorção em tecidos orgânicos, aspecto interessante para possível futuro teste de atividade biológica, como a antifúngica, na qual fármacos clássicos se apresentam pouco eficientes diante da resistência. Além de que, vários estudos relatam atividade de núcleos oxadiazólicos frente a fungos, com atividade inibitória melhor que a de fármacos clássicos, como no estudo de Tale e colaboradores (2011) no qual a substância 4- (5-ester metílico do ácido trifluorometil- [1,2,4] oxadiazol-3-il)-benzóico exibiu atividade antifúngica CIM 10 µg / mL contra *Fusarium solani* mais potente que o

miconazol padrão, CIM 50 µg / mL. Sendo pertinente, futuro teste de atividade antifúngica da molécula ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos permitem concluir que a síntese da benzoamidoxima (2), obtida por três diferentes tipos de energias, demonstrou que o melhor resultado foi obtido através do uso de ultrassom com aquecimento a 55°C fornecendo o produto com 75% de rendimento em 1 hora. Sendo possível a caracterização estrutural por espectroscopia de infravermelho, na qual foi demonstrada confirmação da benzoamidoxima. Assim como, o composto ácido 2-(2-etoxi-2-oxoetoxi) – benzoico (6), foi sintetizado com bom rendimento de 85% em 2 horas de reação a temperatura ambiente, possibilitando a confirmação estrutural por espectroscopia de infravermelho, demonstrando formação do produto esperado.

Conclui-se, que os métodos utilizados na síntese dos compostos (2) e (6), se demonstraram eficazes para obtenção desses reagentes utilizados na síntese do composto ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico (7), que foi obtido em um curto tempo reacional de 2 minutos com rendimento de 60%, utilizando a irradiação de micro-ondas doméstico. Demonstrando que foi possível uma síntese, caracterizada pela química verde, rápida, fácil e econômica. Mas que é necessário a calibração do micro-ondas, visto que o estudo revelou que a potência real é menor do que a potência fornecida pelo fabricante.

Porém, o teste de avaliação toxicológica do composto (7) não foi possível frente à *Artemia salina* Leach. Devido a baixa solubilidade do composto (7) na solução salina, que mesmo com um co-solvente se demonstrou insolúvel, visto que os co-solventes testados não foram capazes de solubilizar o composto (7) na solução salina. Sendo necessário estudos mais aprofundados, visto que, como demonstrado na literatura e pelos comportamentos reacionais deste estudo os grupamentos adicionais no núcleo oxadiazol influenciam em suas características químicas, físico-químicas e biológicas.

Dessa forma, outros ensaios biológicos podem ser realizados, ficando em aberto demais estudos, como, por exemplo, o teste de potencial antifúngico do composto (7), uma vez que resultados muito promissores, para essa atividade, têm sido alcançados para derivados oxadiazólicos.

Portanto, essa molécula ácido 2-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metoxi)benzoico (7) trona-se pertinentes de estudos, principalmente, por ser passível de uma síntese rápida e fácil, com bom rendimento, utilizando micro-ondas.

REFERÊNCIA

AGUIAR, Deivson Ferreira et al. Estudos visando a síntese de novos derivados 1, 2, 4-oxadiazólicos 3, 5-dissubstituídos. 2016.

AMARASINGHE, K. K. D. et al. One-pot synthesis of 1, 2, 4-oxadiazoles from carboxylic acid esters and amidoximes using potassium carbonate. **Tetrahedron letters**, v. 47, n. 22, p. 3629-3631, 2006.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal:- As bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed Editora, 2014.

BEDNARCZUK, V. O. et al. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 43-50, 2010.

BEZERRA, N. M. M. et al. Synthesis of 3-aryl-5-decapentyl-1, 2, 4-oxadiazoles possessing antiinflammatory and antitumor properties. **II Farmaco**, v. 60, n. 11-12, p. 955-960, 2005.

BOSTRÖM, J. et al. Oxadiazoles in medicinal chemistry. **Journal of medicinal chemistry**, v. 55, n. 5, p. 1817-1830, 2012.

BOTELHO, S. F.; MARTINS, M. A. P.; REIS, A. M. M. Análise de medicamentos novos registrados no Brasil na perspectiva do Sistema Único de Saúde e da carga de doença. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 215-228, 2018.

BRITO, M. A. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 2, p. 159-168, 2011.

BRUNTON, L. L.; CHABNERBA, K. B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2012.

BUENO, A. C.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando Artemia salina: fatores envolvidos em sua eficácia. **Instituto Federal de Santa Catarina**, 2015.

CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JUNIOR, J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios. **Gazeta médica da Bahia**, v. 78, n. 1, p. 98-106, 2008.

CARBONE, M. et al. Structure and cytotoxicity of phidianidines A and B: first finding of 1, 2, 4-oxadiazole system in a marine natural product. **Organic letters**, v. 13, n. 10, p. 2516-2519, 2011.

CARBONE, M. et al. Structure and cytotoxicity of phidianidines A and B: first finding of 1, 2, 4-oxadiazole system in a marine natural product. **Organic letters**, v. 13, n. 10, p. 2516-2519, 2011.

CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 289-299, 2004.

CHAWLA, R. et al. Synthesis of novel 1, 3, 4-oxadiazole derivatives as potential antimicrobial agents. **Synthesis**, v. 181, p. 23, 2010.

COTTER, J. L.; KNIGHT, G. J. Pyrolysis of 3, 5-diphenyl-1, 2, 4-oxadiazole and 2, 5-diphenyl-1, 3, 4-oxadiazole. **Chemical Communications (London)**, n. 11, p. 336-337, 1966.

COTTRELL, D. M. et al. Antikinetoplastid activity of 3-aryl-5-thiocyanatomethyl-1, 2, 4-oxadiazoles. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 12, n. 11, p. 2815-2824, 2004.

CRUZ, A. S.; BARBOSA, M. L.; PINTO, T. J. A. Testes in vitro como alternativa aos testes in vivo de Draize In vitro tests used as an alternative to Draize in vivo tests. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 1, p. 1-9, 2004.

DAHLGREN, S. E.; DALHAMN, T. The Anti-Inflammatory Action of Phenyl-Methyl-Oxadiazole (PMO): An Experimental Study on the Guinea-Pig Trachea. **Acta pharmacologica et toxicologica**, v. 31, n. 3, p. 193-202, 1972.

DE AGUIAR, A. P.; CUNHA, F. S. Síntese e Bioatividade de 1, 2, 4-Oxadiazóis. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2509-2530, 2015.

DE FREITAS, J. J. R. et al. 1, 2, 4-Oxadiazóis: Síntese e aplicações. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 670-691, 2012.

DE FREITAS, J. J. R. et al. Microwave-induced one-pot synthesis of 4-[3-(aryl)-1, 2, 4-oxadiazol-5-yl]-butan-2-ones under solvent free conditions. **Tetrahedron letters**, v. 48, n. 35, p. 6195-6198, 2007.

Desenvolvimento de farmacos. priscilla nasciutti. Disponível em <http://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/1%C2%B0_Semin%C3%A1rio_PRISCILLA_NASCIUTTI.pdf?1350665635> Acesso em: 05.10.2019.

EICHER, T.; HAUPTMANN, S.; SPEICHER, A. **The Chemistry of Heterocycles: Structures, Reactions, Synthesis, and Applications**. John Wiley & Sons, 2013.

ELOY, F.; LENAERS, R. Synthèse d'amino-oxadiazoles-1, 2, 4. **Helvetica Chimica Acta**, v. 49, n. 4, p. 1430-1432, 1966.

ELZEIN, E. et al. Novel 1, 3-dipropyl-8-(1-heteroarylmethyl-1H-pyrazol-4-yl)-xanthine derivatives as high affinity and selective A_{2B} adenosine receptor antagonists. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 16, n. 2, p. 302-306, 2006.

ENES, Karine Braga et al. Síntese e avaliação biológica de 1, 2, 4-oxadiazóis acoplados a diaminas. 2017.

FERREIRA, F. G.; POLLI, M. C.; OSHIMA FRANCO, Y.; FRACETO, L. F. Fármacos: do desenvolvimento à retirada do mercado. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Goiás, v.6, n.1, p.14-24, 2009.

FLIPPEN, JUDITH L.; GILARDI, RICHARD D. Quisqualic acid. **Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 32, n. 3, p. 951-953, 1976.

FREITAS FILHO, J. R. et al. Amidoximas: Aplicações e Principais Estratégias Sintéticas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2549-2596, 2015.

GAKH, A. A. et al. Identification of diaryl 5-amino-1, 2, 4-oxadiazoles as tubulin inhibitors: The special case of 3-(2-fluorophenyl)-5-(4-methoxyphenyl) amino-1, 2, 4-oxadiazole. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 5, p. 1262-1268, 2013.

GAVA, C. M.; BERMUDEZ, J. A. Z.; PEPE, V. L. E.; REIS, A. L. A. Novos medicamentos registrados no Brasil: podem ser considerados como avanço terapêutico? **Ciencia Saude Coletiva** 2010; 15(3):3403-3412.

GRANT, D.; DAHL, R.; COSFORD, N. D. P. Rapid multistep synthesis of 1, 2, 4-oxadiazoles in a single continuous microreactor sequence. **The Journal of organic chemistry**, v. 73, n. 18, p. 7219-7223, 2008.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Revista Estudos Avançados**. São Paulo, v.24, n.70, p.81-98, 2010.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010.

HARADA, Thaís Nichikuma. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em Artemia salina Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais**. 2009. Dissertação de Mestrado.

HARIKRISHNA, S.; RAVINDRANATH, L. K. "SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL STUDIES OF 1, 3, 4-OXADIAZOLE DERIVATIVES OF SULTAMS". 2014.

HARSANYI, K. et al. The synthesis of an antitussive action derivative of 1, 2, 4-oxadiazole, 3-(2, 2-diphenylethyl)-5-(2-piperidinoethyl)-1, 2, 4-oxadiazole. **Arzneimittel-Forschung**, v. 16, n. 5, p. 615-617, 1966.

HIROTA, B. C. K. et al. AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE IN VITRO: APLICABILIDADE DO ENSAIO DE LETALIDADE FRENTE À Artemia salina. **Visão Acadêmica**, v. 13, n. 2, p. 42-48, 2012

HORNBERG, J. J. et al. Exploratory toxicology as an integrated part of drug discovery. Part I: Why and how. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 8, p. 1131-1136, 2014.

HOTE, S. V.; BHOYAR, S. P. Heterocyclic Compound—A Review. **IOSR Journal of Applied Chemistry**, p. 43-46, 2014.

JESSEN, K. A. et al. The discovery and mechanism of action of novel tumor-selective and apoptosis-inducing 3, 5-diaryl-1, 2, 4-oxadiazole series using a chemical genetics approach. **Molecular cancer therapeutics**, v. 4, n. 5, p. 761-771, 2005.

KAPLANCIKLI, Z. A. et al. Synthesis and antimicrobial activity of some thiazolyl-pyrazoline derivatives. **Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements**, v. 182, n. 4, p. 749-764, 2007.

KORYAKOVA, A. G. et al. Novel aryl and heteroaryl substituted N-[3-(4-phenylpiperazin-1-yl) propyl]-1, 2, 4-oxadiazole-5-carboxamides as selective GSK-3 inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 18, n. 12, p. 3661-3666, 2008.

KRISHNA, C. et al. Synthesis and antimicrobial assessment of novel coumarins featuring 1, 2, 4-oxadiazole. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 10, p. 3743-3751, 2015.

KUMAR, D. et al. Synthesis of novel 1, 2, 4-oxadiazoles and analogues as potential anticancer agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 7, p. 3085-3092, 2011.

LAVANDEIRA, Fernanda Márcia Ferreira. **Ensaio toxicológicos pré-clínicos na avaliação da segurança de novos fármacos**. 2014. Tese de Doutorado. [sn].

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. The role of the medicinal chemist in drug Discovery – then and now. **Nature Reviews Drug Discovery**. London, v.3, n.10, p.853-862, 2004.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LUNA, J. de S. et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

MACHADO, S. L. et al. Synthesis, toxicity towards brine shrimp (*Artemia salina* Leach) and antimicrobial activity evaluation of 3, 5-diphenylchlorinated-1, 2, 4-oxadiazoles. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 27, n. 2, p. 107-110, 2005.

MAFTEI, C. V. et al. Synthesis and characterization of novel bioactive 1, 2, 4-oxadiazole natural product analogs bearing the N-phenylmaleimide and N-phenylsuccinimide moieties. **Beilstein journal of organic chemistry**, v. 9, p. 2202, 2013.

MAP, M.; FRIZZO, C. P.; MOREIRA, D. N.; BURIOL, L. M. P. **Revista Chemistry**, v. 109, p. 4140, 2009.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

MOREIRA, LAYSSA APARECIDA DE OLIVEIRA. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA EM ARTEMIA SALINA LEACH. DE EXTRATOS DE DUAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA MELASTOMATACEAE**. 2013.

NEWMAN, H. Photochemistry of 3, 5-diphenyl-1, 2, 4-oxadiazole I. Photolysis in aprotic media. **Tetrahedron Letters**, v. 9, n. 20, p. 2417-2420, 1968.

OBERMAYER, D.; GUTMANN, B.; KAPPE, C. O. Microwave chemistry in silicon carbide reaction vials: separating thermal from nonthermal effects. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 44, p. 8321-8324, 2009.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia**. 4ed. São Paulo: Atheneu, 2014. 704 p.

PACE, A.; PIERRO, P. The new era of 1, 2, 4-oxadiazoles. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 7, n. 21, p. 4337-4348, 2009.

PALMER, J. T. et al. Design and synthesis of selective keto-1, 2, 4-oxadiazole-based tryptase inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 16, n. 13, p. 3434-3439, 2006.

PARRA, A. L. et al. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.

PIMENTEL BARROS, C. J. et al. Synthesis of amidoximes using an efficient and rapid ultrasound method. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 56, n. 2, p. 721-722, 2011.

PITASSE-SANTOS, P.; SUETH-SANTIAGO, V.; LIMA, M. E. F. 1, 2, 4-and 1, 3, 4-Oxadiazoles as Scaffolds in the Development of Antiparasitic Agents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 3, p. 435-456, 2018.

PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 738-744, 2003.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

REGUEIRA, J. L.; DE FREITAS, J. J. R.; DE FREITAS FILHO, J. R. PREPARAÇÃO DE 1, 2, 4-OXADIAZOL: SEQUÊNCIA DIDÁTICA APLICADA EM DISCIPLINA DE SÍNTESE ORGÂNICA NA GRADUAÇÃO. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 1019-1025, 2016.

SAKAMOTO, T. et al. Synthesis and anti-HIV activity of new metabolically stable alkenyldiarylmethane non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors incorporating N-methoxy imidoyl halide and 1, 2, 4-oxadiazole systems. **Journal of medicinal chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3314-3321, 2007.

SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 995-1006, 2016.

SAUER, A. C. et al. Síntese de 1, 2, 4-oxadiazóis 3, 5-dissubstituídos derivados de Laminoácidos e arilamidoximas sob irradiação de micro-ondas. 2013.

SAVARINO, A.. A historical sketch of the discovery and development of HIV-1 integrase inhibitors. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 15, n. 12, p. 1507-1522, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. Editora Clannad, 2017.

SUZUKI, J. et al. Synthesis and insecticidal activity of 1, 2, 4-oxadiazole and 1, 2, 4-thiadiazole derivatives. **Journal of Pesticide Science**, v. 36, n. 3, p. 392-401, 2011.

TAKEMOTO, T. et al. Studies on the constituents of *Quisqualis fructus*. I. On the amino acids. **Journal**, 1975.

THOMAS, G. **Química medicinal: uma introdução**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

TIWARI, S. B.; KOHLI, D. V. Synthesis of 3-(5-bromo-2, 3-dimethoxy-phenyl)-[1, 2, 4] oxadiazole analogues and their evaluation as anti-Parkinson' s agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 17, n. 2-7, p. 386-398, 2008.

TÓTH, M. et al. Synthesis and structure–activity relationships of C-glycosylated oxadiazoles as inhibitors of glycogen phosphorylase. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 17, n. 13, p. 4773-4785, 2009.

UBARADKA, S. R. et al. Synthesis, characterization and their anticonvulsant, anti-inflammatory studies of some novel chromeno oxadiazoles. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 3, p. 1497-1503, 2013.

VICTAL, J. C. et al. Métodos alternativos in vitro e in silico: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, 2014.

VIDOTTI, C. C. F.; CASTRO, L. L. C.; CALIL, S. S. New drugs in Brazil: do they meet Brazilian public health needs?. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 24, p. 36-45, 2008.

VITAKU, E.; SMITH, D. T.; NJARDARSON, J. T. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among US FDA approved pharmaceuticals: miniperspective. **Journal of medicinal chemistry**, v. 57, n. 24, p. 10257-10274, 2014.

VITRY, A. I.; SHIN, N. H.; VITRE, P. Assessment of the therapeutic value of new medicines marketed in Australia. **Journal of pharmaceutical policy and practice**, v. 6, n. 1, p. 2, 2013.

VUJASINOVIĆ, I. et al. Synthesis and biological validation of novel pyrazole derivatives with anticancer activity guided by 3D-QSAR analysis. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 20, n. 6, p. 2101-2110, 2012.

WARD, D. J. et al. How innovative are new drugs launched in the UK? A retrospective study of new drugs listed in the British National Formulary (BNF) 2001–2012. **BMJ open**, v. 4, n. 10, p. e006235, 2014.

WOLF, L. et al. **Síntese de heterociclos: 2-alkil/arilcalcogeno-n-(4-aryl-1, 3-tiazol-2-il) acetamidas e (s)-n-(1-(3-aryl-1, 2, 4-oxadiazol-5-il) alkil)-2-(calcogenofenil) acetamidas derivados de organocalcogênios**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

ZHANG, H. Z. et al. Discovery and structure– activity relationship of 3-aryl-5-aryl-1, 2, 4-oxadiazoles as a new series of apoptosis inducers and potential anticancer agents. **Journal of medicinal chemistry**, v. 48, n. 16, p. 5215-5223, 2005.

ZHANG, P. et al. 6r, a novel oxadiazole analogue of ethacrynic acid, exhibits antitumor activity both in vitro and in vivo by induction of cell apoptosis and S-phase arrest. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 67, n. 1, p. 58-65, 2013.