



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCG
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE - CES
UNIDADE ACADÊMICA DE BIOLOGIA E QUÍMICA - UABQ
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

MICAIA NE MEDEIROS DANTAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA BENZAMIDOXIMA FRENTE À
ARTEMIA SALINA LEACH**

CUITÉ – PB

2019

MICAIANE MEDEIROS DANTAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA BENZAMIDOXIMA FRENTE À
ARTEMIA SALINA LEACH**

Trabalho de Conclusão de Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, como parte integrante requisitada para obtenção do Grau de Licenciatura em Química.

Orientador: Prof^o. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas.

CUITÉ – PB

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

D192s

Dantas, Micaiane Medeiros.

Síntese e Avaliação Toxicológica da Benzamidoxima Frente à *Artemia salina* Leach. / Micaiane Medeiros Dantas. – Cuité: CES, 2019.

55 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2019.

Orientação: Dr. JULIANO CARLO RUFINO DE FREITAS.

1. Química Orgânica. 2. Amidoximas. 3. *Artemia salina* Leach. I. Título.

Biblioteca do CES – UFCG

CDU 577.1

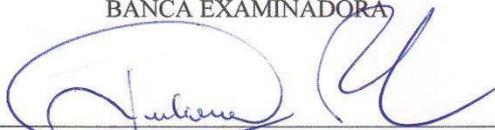
MICAIA NE MEDEIROS DANTAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA BENZAMIDOXIMA FRENTE
À ARTEMIA SALINA LEACH**

Monografia apresentada ao curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, para a obtenção do Grau de Licenciatura em Química.

Aprovada em 19 / 06 / 2019

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Gustavo Fabián Velardez
UFCG/CES/UABQ



Prof. Dr. Paulo Sérgio Gomes da Silva
UFCG/CES/UABQ

Cuité - PB

2019

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, à toda minha família, ao meu amor Marcos Vinícius, meus amigos, meu orientador Prof. Dr. Juliano, todos os meus professores e a todos que me apoiaram nessa longa jornada.

AGRADECIMENTOS

Neste momento de alegria, quero agradecer primeiramente a Deus que sempre esteve comigo, pela dádiva da vida e pela oportunidade de viver momentos inesquecíveis;

Aos meus pais por todo apoio, por me ensinarem desde criança a valorizar o estudo e por me ensinarem a ser uma pessoa melhor a cada dia;

Ao meu amor Marcos Vinícius por cada palavra de incentivo, compreensão, companheirismo, carinho, paciência, por toda ajuda, por acreditar em mim, por estar sempre comigo em todos os momentos da minha vida me apoiando;

À toda minha família pelo apoio e motivação;

À minha prima e amiga Raiane e a Douglas por toda ajuda, apoio e incentivo desde o início do meu curso, agradeço de coração;

Aos meus amigos que a faculdade me deu a quem sou extremamente grata, Carlos, Ana Priscila, Rafaele, Pedro e Tatiana, por cada palavra de motivação, carinho, união, ajuda e por melhorarem os meus dias nesses últimos anos com as conversas paralelas em meio as turbulências dos nossos estudos, pois sem vocês teria sido ainda mais difícil;

Aos meus companheiros do laboratório de Orgânica (LASOQM), Verônica, Tatiana, Romário, Cosme, Jadson, Carlos Eduardo, Aqueline, Monali e Raiane, agradeço de coração por toda ajuda, incentivo, por todo conhecimento que adquiri através de todos vocês, pela convivência e por todo carinho;

Ao meu orientador Prof. Dr. Juliano Freitas pelo compartilhamento dos seus valiosos conhecimentos, pelo apoio, respeito, orientação, paciência, por acreditar em mim e por cada palavra de incentivo e ajuda durante a realização deste trabalho, fazendo-se presente em todas as etapas deste trabalho;

Aos professores que participaram da minha banca, Prof. Dr. Juliano Freitas, Prof. Dr. Paulo Sérgio Gomes e o Prof. Dr. Gustavo Fábio. Obrigada por aceitarem o convite e por cada contribuição para a melhoria deste trabalho. Gratidão eterna!

Ao grupo PET-Química (Programa de Educação Tutorial), sob tutoria da Prof. Dr^a. Cláudia Patrícia, no qual fui bolsista. Agradeço de coração pelo acolhimento, às amigadas que construí através desse grupo, pelos conselhos, carinho, apoio, por todo conhecimento adquirido e pelas experiências únicas, nos quais contribuíram muito para minha formação acadêmica e pessoal;

À Central Analítica da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE) pelas análises espectroscópicas de RMN do ^1H e do ^{13}C ;

A todos os meus professores que tive a oportunidade de encontrar ao longo do meu curso, estes que muito me ensinaram, reconheço a importância e admiro o profissionalismo que apresentaram, além do incentivo, carinho e motivação;

Às melhores coordenadoras de química que a UFCG-CES poderia ter, Prof. Dr^a Jacqueline do Carmo Barreto e Prof. Dr^a Joana Barros, e nosso eterno coordenador Prof. Dr. Marciano Henrique de Lucena Neto.

Aos meus amigos e demais que contribuíram de forma direta ou indireta para minha evolução acadêmica e pessoal e realização desse trabalho.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivo Específico	14
3. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Aspectos Gerais e Aplicações das Amidoximas	15
3.2 Estudo Toxicológico da <i>Artemia Salina</i> Leach	22
4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	26
4.1 Locais da pesquisa	26
4.2 Materiais e equipamentos	26
4.2.1 Síntese	26
4.2.2 Caracterização	27
4.2.3 Preparação para eclosão da <i>Artemia salina</i> Leach	27
4.3 Procedimentos sintéticos	27
4.3.1 Procedimento Sintético da Benzamidoxima – Método A: Utilizando Apenas Agitação Magnética	28
4.3.2 Procedimento Sintético da Benzamidoxima – Método B: Utilizando Agitação Magnética e Aquecimento de 50 °C	29
4.3.3 Procedimento Sintético da Benzamidoxima – Método C: Utilizando Ultrassom Aquecido	30
4.4 Bioensaio frente às larvas da <i>Artemia salina</i> Leach	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
6. CONCLUSÃO	44
7. CRONOGRAMA	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

LISTA DE ESQUEMAS E TABELAS

Esquema 1. Síntese do <i>Isuretin</i>	15
Esquema 2. Formas tautoméricas das amidoximas	16
Esquema 3. Conformações na forma tautomérica da amino-oxima.....	16
Esquema 4. Procedimento de preparação de aril-amidoximas.....	18
Esquema 5. Síntese de tricloroacetoamidoximas	18
Esquema 6. Rearranjo da oxima α -hidroxilamino para formar amidoxima cíclica	21
Esquema 7. Síntese de alquil e arilamidoximas	21
Esquema 8. Síntese de amidoximas a partir do método de irradiação de micro-ondas	22
Esquema 9. Condições reacionais para a síntese da benzamidoxima	28
Esquema 10. Condições reacionais para a síntese da benzamidoxima	35
Esquema 11. Mecanismo para a síntese de amidoximas proposta por Srivastava e colaboradores	38
Tabela 1. Resultados obtidos das diferentes metodologias A, B e C	38
Tabela 2. Contagem das artêmias	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alguns compostos orgânicos heterocíclicos	12
Figura 2. Amidoximas utilizadas como adsorventes de CO ₂	17
Figura 3. Composto <i>N, N</i> -bis(2-((<i>Z</i>)-3-amino-3-(hidroxiimina)propoxi)etil)benzamida	19
Figura 4. Amidoximas preparadas a partir da reação de nitroalcanos	20
Figura 5. Microcrustáceo <i>Artemia salina</i> Leach em seu estado náuplio	23
Figura 6. Utilização da agitação magnética na síntese da benzamidoxima	29
Figura 7. Utilização da agitação magnética e aquecimento de 50 °C	30
Figura 8. Utilização do ultrassom na síntese da benzamidoxima.....	31
Figura 9. Cuba com parede divisória e proteção de luz	32
Figura 10. Incubadora das <i>Artemias salina</i> Leach	33
Figura 11. Tubos com as artêmias	34
Figura 12. Imagem da CCD da reação de formação da benzamidoxima	36
Figura 13. Imagem da CCD da reação de formação da benzamidoxima	36
Figura 14. Imagem da CCD da reação de formação da benzamidoxima	37
Figura 15. Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-d ₆ , 300 MHz) da benzamidoxima	40
Figura 16. Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO-d ₆ , 300 MHz) da benzamidoxima	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOET	Acetato de etila
H₂O	Água
A	Alfa
Δ	Aquecimento
Ar	Aрила
N-benzimidamida	Benzamidoxima
C₇H₅N	Benzonitrila
KBr	Brometo de potássio
Br	Bromo
CTI	Calorimetria de Titulação Isotérmica
C	Carbono
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
NH₄Cl	Cloreto de amônio
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
Cl	Cloro
Cu	Cobre
CL₅₀	Concentração letal capaz de matar 50% dos animais testados
J	Constante de acoplamento
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DL₅₀	Dose letal capaz de matar 50% dos animais testados
EtOH	Etanol
Eu	Európio
Ph	Fenila
g	Gramas
°C	Graus Celsius
NH₂	Grupo Amina
NOH	Grupo Isonitroso

Hz	Hertz
H	Hora
NH₂OH.HCl	Hidrocloreto de hidroxilamina
H	Hidrogênio
NaOH	Hidróxido de sódio
AcO⁻	Íon acetato
H₂PO₄⁻	Íon fosfato de dihidrogênio
I⁻	Íon iodeto
NO₃⁻	Íon nitrato
ClO₄⁻	Íon perclorato
HSO₄⁻	Íon sulfato de hidrogênio
MHz	Mega hertz
µg/mL	Microgramas por mililitro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
min	Minuto
OMS	Organização Mundial de Saúde
ppm	Partes por milhão
<i>o-</i>	Posição <i>orto</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear do Carbono treze
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear do Hidrogênio
t.a.	Temperatura ambiente
W	Watts

RESUMO

As amidoximas e seus derivados apresentam inúmeras aplicações nas mais diversas áreas do conhecimento, por exemplo, na química sintética, no campo tecnológico, na área farmacológica e biológica. Especificamente, a benzamidoxima, composto que possui importantes atividades biológicas, tais como: hipotensivas e tuberculostáticas. Em paralelo, um dos ensaios biológicos tem ganhado bastante destaque por utilizar organismos vivos simples (microcrustáceos) como parâmetro de análise biológica, é o bioensaio de toxicidade frente às larvas do microcrustáceo *Artemia salina* Leach, devido ser um método simples, rápido e de baixo custo. Diante disso, é evidente a importância das amidoximas, no entanto, avaliar sua toxicidade é necessário. Logo, este trabalho apresentou como objetivo sintetizar a benzamidoxima a partir de três métodos e avaliar a sua toxicidade frente às larvas da *Artemia salina* Leach. A benzamidoxima foi sintetizada a partir da reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico, através das metodologias utilizando apenas agitação magnética, agitação e aquecimento de 50 °C e utilização de ultrassom aquecido. A estrutura do composto foi caracterizada pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C , enquanto que a CL_{50} das artêmias foi determinada através do software *POLO-PC*. Como resultado, a benzamidoxima foi obtida com rendimentos considerados de moderado a bom (29 – 74%), na forma de um sólido branco cristalino e a CL_{50} encontrada através do software *POLO-PC*, com 95% de confiança, foi de 42,8 $\mu\text{g/mL}$, o que é uma elevada toxicidade.

Palavras-Chave: Química Orgânica; Amidoximas; *Artemia salina* Leach.

Abstract

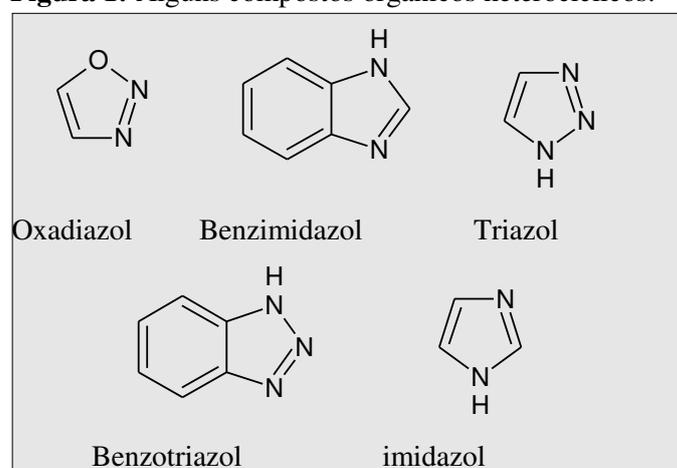
Amidoximes and their derivatives have many applications in the most diverse areas of knowledge, for example in synthetic chemistry, in the technological field, in the pharmacological and biological area. Specifically the benzamidoxime is a compound that has important biological activities, such as: hypotensive and tuberculostatic. In parallel, one of the biological tests has gained considerable prominence by using simple living organisms (microcrustaceans) as parameter of biological analysis is the toxicity bioassay against larvae of the microcrustaceans *Artemia salina* Leach, because it is a simple, fast and low cost method. In view of this, the importance of amidoximes is evident, however, assessing their toxicity makes it necessary. Therefore, this work aimed to synthesize the benzamidoxime from three methods, and to evaluate its toxicity to the larvae of *Artemia salina* Leach. Benzamidoxime was synthesized from the reaction between benzonitrile and hydroxylamine hydrochloride in hydroethanolic medium using methods using only magnetic stirring, stirring and heating at 50 °C and use of heated ultrasound. The structure of the compound was characterized by ¹H and ¹³C NMR spectroscopic techniques, while the LC₅₀ of artemia was determined using the POLO-PC software. As a result, benzamidoxime was obtained in moderate to good yields (29-74%) as a white crystalline solid, and the LC₅₀ found through the 95% confidence *POLO-PC* software was 42,8 µg/mL, which is a high toxicity.

Keywords: Organic Chemistry; Amidoxime; *Artemia salina* Leach.

1. INTRODUÇÃO

As amidoximas e seus derivados apresentam inúmeras aplicações nas mais diferentes áreas do conhecimento, por exemplo, na química sintética, atuam como precursores de inúmeros compostos heterocíclicos, tais como: oxadiazóis, benzimidazóis, triazóis, benzotriazóis, imidazóis, entre outros (CAI et al., 2015; ZHU et al., 2012; ZIENKIEWICZ et al., 2004; XU et al., 2015; WIGLEND & GUST, 2007).

Figura 1: Alguns compostos orgânicos heterocíclicos.



Fonte: Própria autoria.

No campo tecnológico, as amidoximas apresentam uma variedade de aplicações atuando como agente quelante formando complexos com vários íons metálicos em solução aquosa, objetivando a remoção e/ou recuperação desses íons nesta solução, sendo eles: chumbo, prata, ouro, mercúrio, cromo, entre outros (PUSPITASARI et al., 2018; LIU et al., 2010; LIN et al., 1993; QU et al., 2013; COSKUN & DILCI, 2014); na adsorção de gases e como catalisador nas reações de acoplamento para formação de novas ligações C-C, a citar reação de Suzuki e Sonogashira (ZHAO et al., 2014; METWALLY et al., 2013; WU et al., 2012).

As amidoximas também podem ser utilizadas na produção de embalagens e revestimento de suporte para vernizes e tintas, microesferas, fibras, resinas, além de filtro para cigarros e material de partida para novas fibras sintéticas (LEONARD, 1962). A literatura também descreve o uso desses compostos no tratamento as águas residuárias contendo substâncias coloridas (WU et al., 2010; ZHAO et al., 2013) e na preparação de compósitos a base de óxido de grafeno (YUAN et al., 2013).

Na área farmacológica e biológica as amidoximas atuam como precursores na síntese das amidinas, sendo empregadas como pró-fármacos destes compostos. Além disso, as amidoximas atuam como: antimalárico, antimicrobiano, anti-histamínico, anti-hipertensivo, anti-inflamatório/antioxidante, entre outras aplicações (DEGARDIN et al., 2012; OUATTARA et al., 2009; NINGAIAH et al., 2013; SAULTER et al., 2005; BENN et al., 1962; MULL et al., 1958; NICOLAIDES, 1998). As amidoximas também são utilizadas para fins agrícolas, apresentando boa atividade inseticida e fungicida (PAUL, 1981; JIN et al., 1995).

Embora, as amidoximas apresentem uma grande variedade de aplicações faz necessário realizar estudos toxicológicos, uma vez que dependendo de sua toxicidade é preferível não utilizá-las. Deste modo, o uso da mortalidade de organismos simples (microcrustáceo *Artemia salina* Leach) tem sido bastante aproveitado para o supervisionamento de uma resposta biológica, envolvendo apenas um parâmetro: morte ou vida (MEYER et al., 1982; BRANCO, 2009). Um dos ensaios biológicos tem ganhado bastante destaque por utilizar apenas morte ou sobrevivência de organismos vivos (microcrustáceo *Artemia salina* Leach) como único parâmetro de análise, é o bioensaio de toxicidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach, devido ser um método simples, rápido e de baixo custo (MERINO et al., 2015). Vale ressaltar que este ensaio é muito usado em testes de ecotoxicologia, para a avaliação da toxicidade de efluentes e poluentes ambientais (PETERS et al., 1997).

As artêmias vêm sendo utilizadas para avaliar a toxicidade de produtos naturais, a fim de prever o uso desses compostos como a moluscicida, larvicida, anticonvulsivante, citotoxicidade em células de câncer hepático humano, dentre outros (LUNA et al., 2005; BAGHERI et al., 2010).

Diante disso, é evidente a importância das amidoximas, no entanto, avaliar sua toxicidade faz necessário. Logo, o trabalho tem como problema de pesquisa sintetizar e avaliar a toxicidade da benzamidoxima frente à *Artemia salina* Leach.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Sintetizar por diferentes métodos a benzamidoxima e avaliar sua atividade toxicológica frente às larvas da *Artemia salina* Leach.

2.2 Objetivo Específico

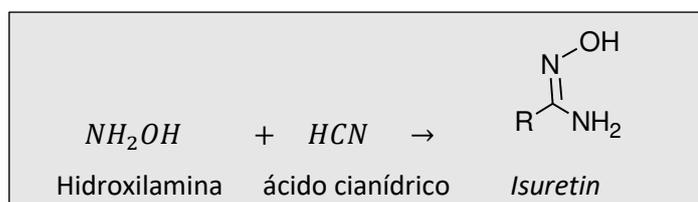
- Sintetizar a benzamidoxima a partir de diferentes métodos;
- Caracterizar a benzamidoxima a partir da técnica espectroscópica de RMN do ^1H e ^{13}C ;
- Comparar o rendimento e o tempo da síntese da benzamidoxima a partir de diferentes métodos;
- Avaliar a toxicidade da benzamidoxima frente às larvas da *Artemia salina* Leach.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Aspectos Gerais e Aplicações das Amidoximas

O primeiro relato da síntese das amidoximas foi descrito, em 1873, por Lossen e Schifferdecher, através da reação entre a hidroxilamina e o ácido cianídrico, em que eles obtiveram pela primeira vez a amidoxima que denominaram “*isuretin*” (**esquema 1**).

Esquema 1: Síntese do *Isuretin*.



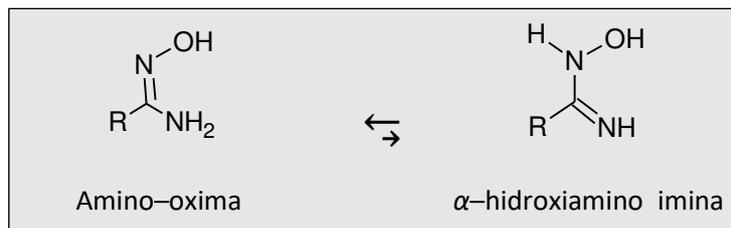
Fonte: Própria autoria.

Entretanto, apenas no ano de 1884 o termo amidoxima foi utilizado por Tiemann, após a síntese da mandelamidoxima e benzamidoxima. Neste mesmo ano, os autores Tiemann e Krüger realizaram as caracterizações desses compostos (TIEMANN & KRÜGER, 1884).

As amidoximas são substâncias cristalinas e incolores (SANTOS et al., 2018), apresentando em sua estrutura os grupos funcionais amina ($-NH_2$) e isonitroso ($=NOH$) ligados simultaneamente a um carbono de hibridização sp^2 . Este carbono está ligado diretamente a um grupo R que pode ser um hidrogênio, um grupo alquila ou um grupo arila. Estas características possibilitam que as amidoximas apresentem inúmeras aplicações em diferentes áreas do conhecimento, por exemplo, na área biológica e farmacológica atuam como pró-fármacos das amidinas, na área tecnológica e na industrial atuam como adsorvente de gases ou agentes complexantes de íons metálicos em soluções aquosas (SANTOS et al., 2018).

Do ponto de vista físico-químico, as amidoximas apresentam caráter anfótero devido a presença dos grupos funcionais amina e isonitroso, os quais possibilitam a existência em duas formas tautoméricas denominadas de amino-oxima e α -hidroxiamino imina (**esquema 2**).

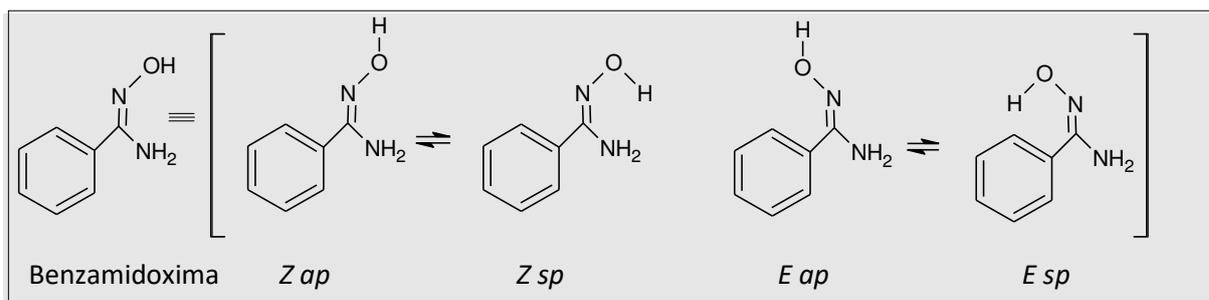
Esquema 2: Formas tautoméricas das amidoximas.



Fonte: Própria autoria.

Vale salientar que a posição dos grupos amina e hidroxila presentes na forma tautomérica mais estável (amino-oxima), permite a configuração do isômero *Z* e *E*, sendo eles denominados *syn*-periplanar (*sp*) e *anti*-periplanar (*ap*), como mostra o esquema 3 (FREITAS FILHO et al., 2015).

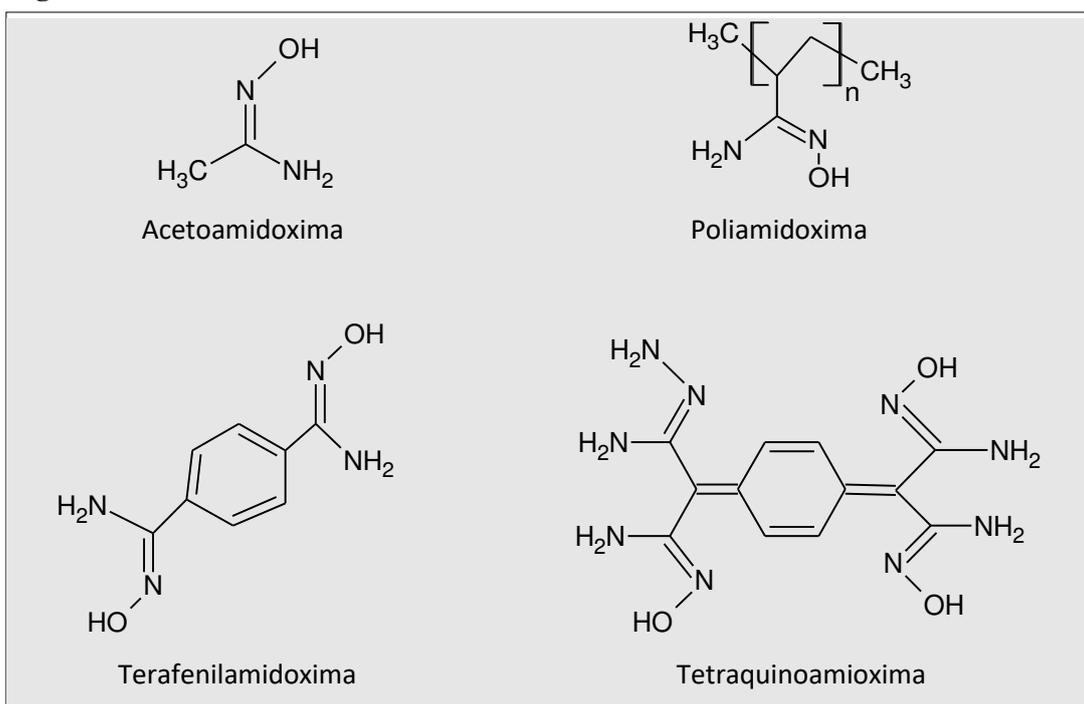
Esquema 3: Conformações na forma tautomérica da amino-oxima.



Fonte: Própria autoria.

Em 2011, Zulfiqar e colaboradores, publicaram um artigo relatando que as amidoximas possuem a capacidade de adsorverem moléculas de CO₂ (um dos principais causadores do efeito estufa). Neste trabalho, os pesquisadores utilizaram a acetoamidoxima, poliamidoxima, terafenilamidoxima e tetraquinoamidoxima, as quais apresentaram diferentes graus de adsorção. A acetoamidoxima apresentou maior capacidade de adsorção de CO₂ (2,71 mmol/g), quando comparado com a terafenilamidoxima e tetraquinoamidoxima. A poliamidoxima demonstrou uma maior adsorção de CO₂ por área superficial (0,53 mmol/m²), quando comparada com o carvão ativo (0,02 mmol/m²). Estes compostos estão descritos na figura abaixo (2).

Figura 2: Amidoximas utilizadas como adsorventes de CO₂.



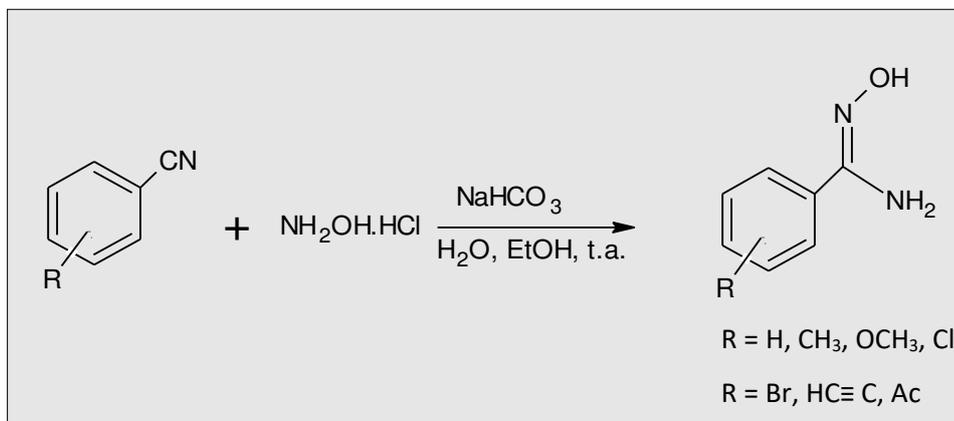
Fonte: Própria autoria.

Hu e colaboradores (2014), realizaram estudos, descrevendo a utilização de uma nova fibra fluorescente, sintetizada a partir do íon complexante Eu³⁺ e a poliamidoxima. Segundo os autores, essa fibra apresentou excelentes resultados na absorção de luz visível e ultravioleta e na emissão de luz, durante o período de 10 horas sem interrupções. A fibra apresentou forte intensidade fluorescente e boas propriedades mecânicas.

Na literatura encontra-se o emprego das amidoximas em diferentes ensaios de adsorção de íons metálicos. Por exemplo, Huang e colaboradores (2013), sintetizaram e utilizaram nanofibras de poliamidoxima (AO-PAN) na adsorção de íons de ferro e cobre. Os valores das capacidades máximas de adsorção dos íons foram respectivamente 215,18 mg/g para os íons de Cu²⁺ e 221,37 mg/g para os íons de ferro. De acordo com os autores, os resultados foram bastante satisfatórios, uma vez que houve um aumento na capacidade de adsorção da nanofibra.

A literatura, descreve a síntese de diversas arilamidoximas utilizando cloridrato de hidroxilamina e arilnitrilas à temperatura ambiente na presença de um sal básico. A partir dessa metodologia, Srivastava e colaboradores (2009), sintetizaram 10 amidoximas com rendimentos que variaram de 31-93% após 20-72 horas de reação (**esquema 4**).

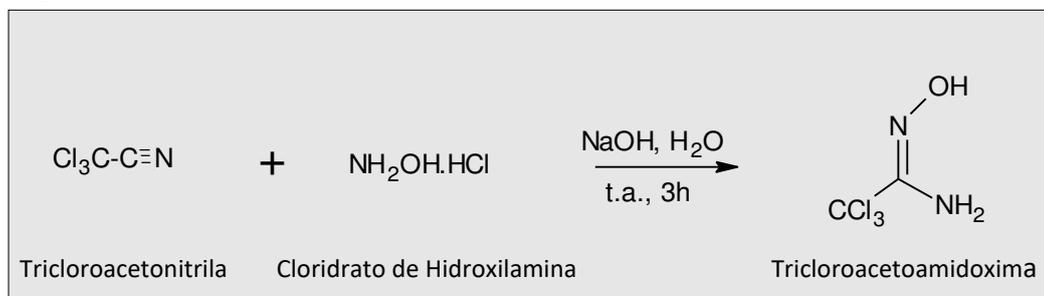
Esquema 4: Procedimento de preparação de aril-amidoximas.



Fonte: Própria autoria.

A literatura também descreve a preparação do tricloroamidoxima através da reação entre a tricloronitrila com cloridrato de hidroxilamina em meio aquoso, na presença de NaOH. Nesta metodologia, descrita por Bretanha e colaboradores (2009), o rendimento obtido foi de 90%, com um tempo curto de 3 horas devido a utilização da hidroxilamina (**esquema 5**).

Esquema 5: Síntese da tricloroacetoamidoxima.

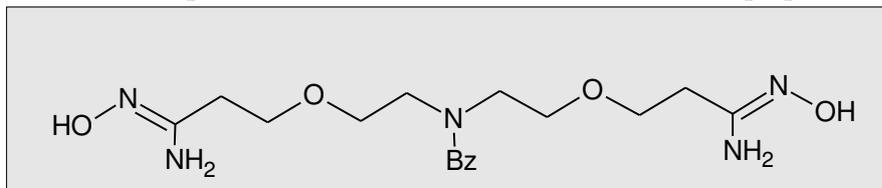


Fonte: Própria autoria.

De acordo com Stemper e colaboradores (2018), a poluição por urânio envolve alta toxicidade e radioatividade, causando risco à saúde humana e ao meio ambiente. Procurando evitar tais riscos, os autores realizaram procedimentos e chegaram a uma conclusão de que a quelatação é um método eficaz para remover urânio (VI) de soluções aquosas. Para tal afirmação, os pesquisadores sintetizaram o composto *N,N*-bis(2-((*Z*)-3-amino-3-(hidroxiimina)propoxi)etil)benzamida através da reação de hidroxilamina com *N,N*-bis(2-(3-cianopropoxi)etil) benzamida. As habilidades do composto *N,N*-bis(2-((*Z*)-3-amino-3-(hidroxiimina)propoxi)etil) benzamida ao complexo uranila catiônico em água foram

avaliadas através da determinação de suas constantes de afinidade e parâmetros termodinâmicos por meio da Calorimetria de Titulação Isotérmica (CTI). Os resultados mostraram boa afinidade pelo urânio, uma vez que a molécula é capaz de quelar vários cátions de urânio, provando ser um método eficaz e importante para a remediação de águas residuais contaminadas com urânio (**figura 3**).

Figura 3: Composto *N,N*-bis(2-((*Z*)-3-amino-3-(hidroxiimina)propoxi)etil)benzamida.

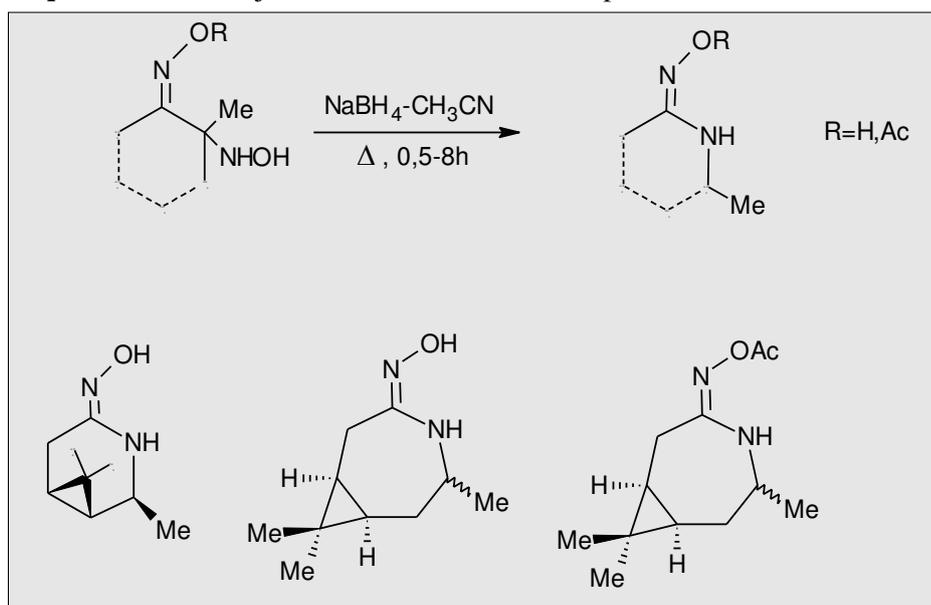


Fonte: Própria autoria.

Em 2018, um novo derivado de amidoxima *O*-acilpireno foi facilmente sintetizado a partir do pireno-1-carbaldeído por Malkondu e colaboradores. Nesta metodologia, também foi investigada a capacidade de detecção de fluorescência do receptor para vários ânions. Tais resultados mostraram que o receptor exibiu comportamento fluorescente distinto por um aumento de 45 vezes na intensidade de emissão ao reagir com o fluoreto. A reação de ciclização induzida por flúor do receptor levou à formação de um derivado de pireno-1,2,4-oxadiazole altamente fluorescente. No entanto, outros ânions como Cl^- , Br^- , I^- , AcO^- , NO_3^- , ClO_4^- , H_2PO_4^- e HSO_4^- não apresentaram um aumento notável na intensidade das emissões. A extinção de fluorescência do receptor foi explicada pelo mecanismo de transferência de elétrons fotoinduzido.

Sanguineti e colaboradores (2011), descreveram a síntese de diferentes amidoximas alifáticas substituídas a partir da reação de nitroalcanos primários com amidas de lítio ou magnésio. A partir desta metodologia, foram obtidas 10 amidoximas com rendimentos que variaram entre 26-68% (**figura 4**).

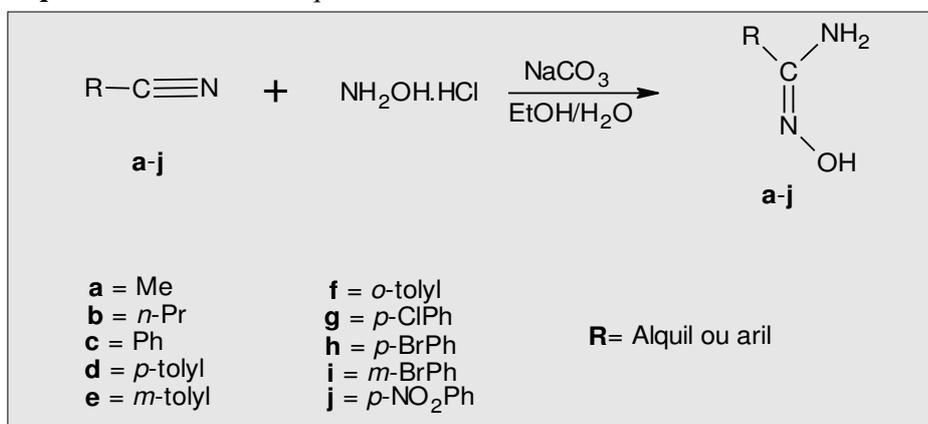
Esquema 6: Rearranjo da oxima α -hidroxilamino para formar amidoxima cíclica.



Fonte: Própria autoria.

Na literatura relata a síntese rápida e eficiente de alquilas e arilamidoximas através do método de irradiação ultrassônica. As alquil e arilamidoximas foram preparados a partir da reação de benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina e adição de carbonato de sódio, tratados com etanol e água em temperatura ambiente. As reações foram irradiadas durante 15 e 30 minutos a uma temperatura de 55 °C (a reação foi monitorada por Cromatografia de Camada Delgada). Através desta metodologia foram obtidos 10 compostos diferentes com altos rendimentos que variaram de 40-92% com intervalos de tempo entre 15-30 min (**esquema 7**). O ponto importante deste trabalho foi promover a reação de forma eficiente com maiores rendimentos e menor tempo de reação do que o método convencional (BARROS et al., 2011).

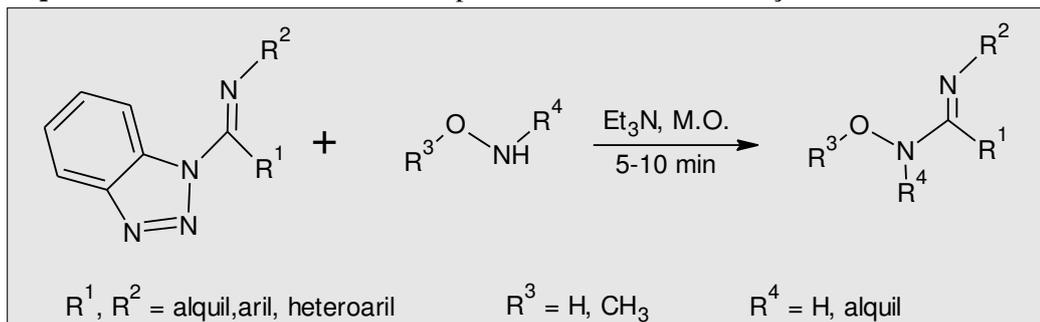
Esquema 7: Síntese de alquil e arilamidoximas.



Fonte: Própria autoria.

Katritzky e colaboradores (2006), sintetizaram diferentes amidoximas a partir do emprego da irradiação de micro-ondas. Nesta metodologia, os autores reagiram imidoilbenzotriazóis com hidroxilaminas apropriadas. Neste trabalho, os autores obtiveram 8 amidoximas com rendimentos que variaram de 65-81% após um intervalo de tempo de 5-15 min (esquema 8).

Esquema 8: Síntese de amidoximas a partir do método de irradiação de micro-ondas.



Fonte: Própria autoria.

3.2. Estudo Toxicológico da *Artemia Salina* Leach

A toxicologia estuda os efeitos nocivos causados por determinadas substâncias em organismos vivos. Os testes de toxicidade são desenvolvidos com o objetivo de identificar ou avaliar os efeitos de substâncias nos sistemas biológicos, além de certificar a toxicidade relativa dessa substância (COSTA et al., 2008).

O teste de toxicidade aguda ocorre devido a um único contato com o agente tóxico em um intervalo de tempo de aproximadamente 24 a 48 horas. Normalmente avaliam a mortalidade dos organismos vivos quando submetidos a uma dose letal para matar 50% dos indivíduos (DL_{50}), geralmente usando ratos e coelhos como formas de avaliação no teste toxicológico, no entanto, estes testes apresentam desvantagens como os custos elevados e uma maior quantidade de amostras a serem utilizadas nos processos experimentais (RIOS, 1995; BUENO & PIOVEZAN, 2015; BAROSA, 2003; XAVIER, 2005). Há muito tempo, animais vêm sendo utilizados para avaliar o risco toxicológico de diversas substâncias e medicamentos. No entanto, além do estudo *in vivo*, existe também o estudo *in vitro*, sendo este, o mais utilizado frequentemente; devido ao grande rigor estabelecido nos laboratórios com o uso de animais. A DL_{50} é a dose necessária capaz de matar 50% da amostra usada nos testes (normalmente medida em miligramas de substância por quilograma de massa corporal

dos indivíduos testados (mg/kg =ppm) para se determinar um tipo de radiação ou de uma dada substância. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam DL_{50} abaixo de 1000 ppm em *Artemia salina* (MEYER et al., 1982; BUENO & PIOVEZAN, 2015).

Devido aos movimentos de defesa dos animais, os ensaios utilizando animais vertebrados vem sendo evitados, uma vez que após os ensaios estes animais são sacrificados. A fim de contornar isso, os ensaios de toxicidade vêm sendo realizados através do processo *in vitro*, em que uma boa escolha é o uso da *Artemia salina* (BRITO NETO, 2013).

A *Artemia salina* Leach também conhecida como camarão salmoura (**figura 5**), é uma espécie de microcrustáceo da ordem Anostraca e família Artemiidae (MEYER et al., 1982), geralmente é utilizada como alimento para diversos peixes e crustáceos presentes no ambiente natural, devido a isso, preferem habitar em locais com difícil sobrevivência para outras espécies predadoras (ATES et al., 2016).

Figura 5: Microcrustáceo *Artemia salina* Leach em seu estado náuplio.



Fonte: Google Imagens, 2019.

A *Artemia salina* apresenta como vantagem, resistência ao ser transportada, simplicidade no cultivo, reprodução e no armazenamento dos cistos (MERINO et al., 2015). Podem ser visualizadas com o auxílio do microscópio ou a olho nu (SOUZA et al., 2015).

Alguns países que realizam a aquicultura comercial utilizam a *Artemia salina* em grande escala, no qual suas características nutritivas são indispensáveis (são ricas em proteínas, vitaminas (caroteno) e sais minerais) auxiliando no desenvolvimento de espécies marinhas durante algumas etapas de seu ciclo de vida (CORRÊA & PENAFORT, 2011). Os cistos apresentam diâmetro de 250 μm . Os náuplios recém-eclodidos possuem 450 μm de

comprimento e uma artêmia adulta 10 mm de comprimento, possuindo corpo alongado (IGARASHI, 2008).

A utilização da *Artemia salina* tem crescido satisfatoriamente nos últimos anos, em consequência da sua simplicidade no manuseio, ensaios rápidos, eficácia nos resultados e o baixo custo, favorecendo a sua utilização em diversos estudos (RAJABI et al., 2015). A artêmia é empregada na avaliação preliminar da toxicidade de substâncias de origem natural ou sintética (BELÉM et al., 2015). O ensaio com a *Artemia salina* evita a utilização de ratos e camundongos em testes *in vivo* e pode ser utilizado como parâmetro para analisar diversas atividades biológicas, a citar citotóxica (CHOHAN et al., 2010), antioxidante (SARAIVA et al., 2011), fototóxica (OJALA et al., 1999), larvicida (LUNA et al., 2005), entre outras (BAGHERI et al., 2010; NINO et al., 2006).

De acordo com Tiew e colaboradores (2002), existem diversos estudos envolvendo a *Artemia salina* como pré-ensaio que avalia a citotoxicidade de plantas, abrindo espaço para futuras análises e uso como protótipos de novos fármacos. Neste contexto, o uso de bioensaios para o monitoramento de extratos, frações e outros compostos de plantas vêm ganhando espaço dentro de laboratórios, em busca de determinar uma variedade de produtos, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina*, na qual é capaz de fornecer importantes informações de atividades biológicas e ainda, poupar a necessidade de ensaios antitumorais mais caros ou em animais (MEYER et al., 1982; NOLDIN et al., 2003; CEPLEANU, 1993).

A idade das larvas da *Artemia salina* foi um dos aspectos levados em consideração em alguns trabalhos realizados, uma vez que este fator influenciou diretamente a toxicidade atribuída a quatro carbamatos por Barahona e Sánchez-Fortún (1999). Os autores concluíram que os microcrustáceos com 72 horas de vida foram mais sensíveis à exposição aos pesticidas do que aqueles com 24 horas. Tendo em vista os resultados, eles definiram que as larvas com 48 h de vida, em estado náuplio, são as mais recomendadas para este ensaio (BARAHONA & SÁNCHEZ-FORTÚN, 1999).

É comprovado através de dados da literatura, diversos estudos que envolvem a *Artemia salina*, no qual englobam suas capacidades laboratoriais, sua utilização para avaliar a qualidade da água e para detectar microorganismos. Nesta mesma linha de raciocínio, Varó e colaboradores (2002) afirmam que: “A *Artemia salina* Leach, além de ser utilizada como bioindicador e biomonitor da qualidade da água, por exemplo, é utilizada na determinação da citotoxicidade de pesticidas e organofosforados” (VARÓ et al., 2002). Há vários outros estudos encontrados na literatura, em que a *Artemia salina* é utilizada em várias avaliações

biológicas, confirmando sua versatilidade e sensibilidade em diversos estudos de toxicidade (HARADA, 2009).

Oliveira e colaboradores (2018), descreveram a síntese e o bioensaio toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* Leach de 4-Bromobenzamidoxima. A 4-Bromobenzamidoxima foi obtida na forma de cristais brancos com um rendimento alto igual a 83%, seguindo a metodologia descrita por Srivastava et al., (1997). O bioensaio toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* Leach apresentou uma CL₅₀ igual a 38,5 µg/mL, que demonstra que a 4-Bromobenzamidoxima é altamente tóxica de forma que a mesma pode apresentar uma potencial atividade biológica.

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1 Locais da pesquisa

Os processos de síntese e purificação das benzamidoximas foram realizadas no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LASOQM), as avaliações de atividade toxicológica frente à *Artemia salina* Leach foram desenvolvidas no Laboratório de Pesquisa de Fisiologia encontrado no bloco J dos laboratórios localizados no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité. Já os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) do hidrogênio (^1H) e carbono (^{13}C) das substâncias avaliadas foram realizados na Central Analítica da Universidade Federal do Pernambuco – Campus Recife.

4.2 Materiais e equipamentos

4.2.1 Síntese

De maneira geral, utilizou-se reagentes e solventes dos fornecedores Aldrich, Vetec, Dinâmica, Neon e Cinética. Os solventes foram destilados para uma purificação adicional de acordo com os dados descrito na literatura (PERRIN & AMAREGO, 1996). O hexano e acetato de etila foram destilados através de destilação fracionada utilizando um sistema de coluna de Vigreux.

A síntese da benzamidoxima realizada a partir do método ultrassônico, foi realizada em um aparelho de irradiação de ultrassom, Ultracleaner 1400A com frequência ultrassônica de 40 KHz e potência ultrassônica 135 W, seu temporizador marca de 0 a 30 minutos e aquecimento de até 60°C.

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para o acompanhamento das reações, para tanto, foram empregados os seguintes sistemas: hexano/acetato de etila (6:4) e acetato de etila/hexano (6:4).

Os solventes das soluções contendo os compostos foram evaporados em um rota evaporador rotacional conectado a uma bomba de vácuo New Pums Sparmaz.

4.2.2 Caracterização

Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Varian Unity Plus de 300 MHz ou em um espectrômetro Varian URMNS de 400 MHz. Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao pico residual do dimetilsulfóxido (DMSO-d₆). Todas as constantes de acoplamento (*J*) foram descritas em hertz (Hz).

4.2.3 Preparação para eclosão da *Artemia salina* Leach

Os cistos da *Artemia salina* foram adquiridos em uma loja de produtos marinhos, sendo armazenadas sob resfriamento de 5 °C até a execução dos experimentos. As larvas da *Artemia salina* foram utilizadas para determinar a Concentração Letal Média (CM₅₀) como parâmetro de avaliação de atividade toxicológica (LOPES et al., 2002).

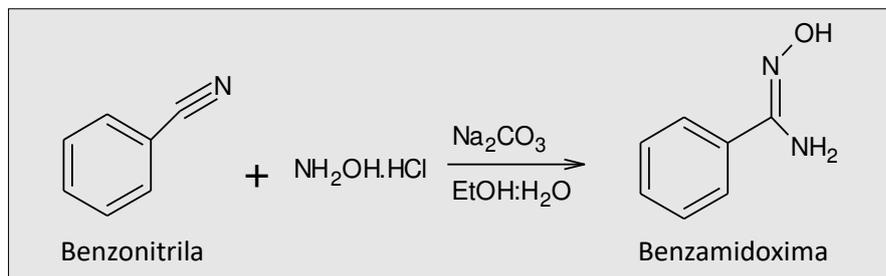
A água do mar artificial, para criação das larvas, foi preparada pela dissolução de 19 g de sal marinho (Natural Ocean[®]), adquirido em loja de produtos marinhos, em 500 mL de água destilada (MEYER, 1982). O pH da água salina foi verificado através de um pHmetro e foi constatado o valor de 7,92 (similar à água do mar) sendo que a literatura relata um valor entre 7,5 a 8,4 indicando um caráter levemente básico da água marinha como condição favorável (SOMESB, FTC – EaD, 2007).

Para eclosão dos cistos da *Artemia salina* utilizou-se uma cuba retangular de vidro (10x15x5 cm) com uma divisória contendo vários furos de 2 mm obtendo-se dois compartimentos na cuba.

4.3 Procedimentos sintéticos

As três metodologias distintas para a realização da síntese da benzamidoxima seguiram o esquema de reação abaixo:

Esquema 9: Condições reacionais para a síntese da benzamidoxima.



Fonte: Própria autoria.

A benzamidoxima foi preparada a partir da reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina com a adição de carbonato de sódio em meio hidroetanólico, ambos em temperatura ambiente. No qual o método **A** consistiu em utilizar apenas agitação magnética, o método **B** agitação magnética e aquecimento de 50 °C e o método **C** ultrassom aquecido.

4.3.1 Procedimento Sintético da Benzamidoxima – Método A: Utilizando Apenas Agitação Magnética

O procedimento sintético para a síntese da benzamidoxima através do método **A** utilizando apenas agitação magnética, consistiu em utilizar um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL contendo 1,5434 g de benzonitrila dissolvida em 30 mL de etanol. Em um erlenmeyer com capacidade de 75 mL, adicionou-se 2,6078 g de cloridrato de hidroxilamina e 1,9875 g de carbonato de sódio dissolvendo-se os 30 mL de água aos poucos devido a liberação de gás na solução, e então, transferido para o balão.

A mistura reacional foi submetida a agitação magnética por 24 h. O monitoramento da reação foi verificado através de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel e sistema de solvente acetato de etila: hexano (6:4). Para visualização das placas, foi utilizada luz ultravioleta. A mistura reacional foi concentrada por evaporação rotativa sob pressão reduzida com temperatura entre 50-60 °C.

O balão foi lavado 3 vezes com uma pequena quantidade de acetato de etila, transferindo a solução para um funil de separação. Em seguida, lavou-se o balão 3 vezes com uma pequena quantidade de solução saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl) transferindo para o funil de separação. A fase orgânica foi separada, seca sob sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente foi removido por evaporação rotativa à pressão reduzida e o produto foi purificado por cristalização utilizando clorofórmio/hexano como solventes levando a formação da

benzamidoxima. Em seguida, o produto bruto que passou para o kitassato foi recristalizado com clorofórmio e hexano. O composto obtido foi seco em um dessecador com bomba de alto vácuo.

Figura 6: Utilização da agitação magnética na síntese da benzamidoxima.



Fonte: Própria.

4.3.2 Procedimento Sintético da Benzamidoxima – Método B: Utilizando Agitação Magnética e Aquecimento de 50 °C

O procedimento sintético para a síntese da benzamidoxima através do método **B** utilizando agitação magnética e aquecimento de 50 °C consistiu em utilizar um erlenmeyer com capacidade de 75 mL, no qual foi adicionado 2,6065 g de cloridrato de hidroxilamina e 1,9878 g de carbonato de sódio dissolvendo-se 30 mL de água aos poucos, devido a liberação de gás na solução, e então, transferiu-se toda a solução para um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL e colocado em agitação magnética e aquecimento de 50 °C. Em seguida, após a solução anterior obter efervescência, adicionou-se 1,5449 g de benzonitrila e 30 mL de etanol.

O balão contendo a mistura reacional foi submetida a agitação magnética por 4 horas e em banho de óleo mineral com temperatura de aproximadamente $50 \pm 5^\circ\text{C}$. O monitoramento da reação foi verificado através de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas

de sílica-gel e sistema de solvente acetato de etila: hexano (6:4). Para visualização das placas, foi utilizada luz ultravioleta. A mistura reacional foi concentrada por evaporação rotativa sob pressão reduzida com temperatura entre 50-60 °C.

O balão foi lavado 3 vezes com uma pequena quantidade de acetato de etila, transferindo a solução para um funil de separação. Em seguida, lavou-se o balão 3 vezes com uma pequena quantidade de solução saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl) transferindo para o funil de separação. A fase orgânica foi separada, seca sob sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente foi removido por evaporação rotativa à pressão reduzida e o produto foi purificado por cristalização utilizando clorofórmio/hexano como solventes levando a formação da benzamidoxima. Em seguida, o produto bruto que passou para o kitassato foi recristalizado com clorofórmio e hexano. O composto obtido foi seco em um dessecador com bomba de alto vácuo.

Figura 7: Utilização da agitação magnética e aquecimento de 50 °C.



Fonte: Própria.

4.3.3 Procedimento Sintético da Benzamidoxima – Método C: Utilizando Ultrassom Aquecido

O procedimento sintético para a síntese da benzamidoxima através do método C utilizando ultrassom aquecido, consistiu em utilizar um erlenmeyer com capacidade de 75

mL, no qual foi adicionado 2,6076 g de cloridrato de hidroxilamina e 1,9880 g de carbonato de sódio dissolvendo-se 30 mL de água aos poucos, devido a liberação de gás na solução, e então, transferiu-se toda a solução para um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL. Depois, colocou-se o balão em banho ultrassônico até cessar efervescência. Em seguida, adicionou-se 1,5443 g de benzonitrila e 30 mL de etanol.

O balão contendo a mistura reacional foi levada ao banho ultrassônico sob temperatura por 45 minutos em um aparelho de irradiação de ultrassom, Ultracleaner 1400 A com frequência ultrassônica de 40 KHz e potência ultrassônica 135 W com temporizador que marca de 0 a 30 min. e aquecimento de até 60 °C. O monitoramento da reação foi verificado através de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel e sistema de solvente hexano: acetato de etila (6:4). Para visualização das placas, foi utilizada luz ultravioleta. Após a comprovação do término da reação através da CCD, concentrou-se a mistura reacional utilizando um evaporador rotatório à pressão reduzida com temperatura entre 50-60 °C.

O balão contendo a mistura reacional foi lavado 3 vezes com uma pequena quantidade de acetato de etila, transferindo a solução para um funil de separação. Em seguida, lavou-se o balão 3 vezes com uma pequena quantidade de solução saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl) transferindo para o funil de separação. A fase orgânica foi separada, seca sob sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente foi removido por evaporação rotativa à pressão reduzida e o produto foi purificado por cristalização utilizando clorofórmio/hexano como solventes levando a formação da benzamidoxima. Em seguida, o produto bruto que passou para o kitassato foi recristalizado com clorofórmio e hexano. O composto obtido foi seco em um dessecador com bomba de alto vácuo.

Figura 8: Utilização do ultrassom na síntese da benzamidoxima.



Fonte: Própria.

4.4 Bioensaio frente às larvas da *Artemia salina* Leach

O ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* Leach seguiu a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982).

Primeiramente é necessário eclodir e selecionar larvas de *Artemia salina* aptas ao teste de toxicidade. Para isso, foi preparado um meio salino, diluindo 19 g de sal marinho em 500 mL de água destilada, com pH 7,92 (similar a água do mar). Sendo que 250 mL foram utilizados para a eclosão dos cistos na cuba específica e o restante para o preparo da diluição da amostra testada. Os cistos foram postos em um lado da divisória o qual foi coberto para se resguardar da luz (**Figura 9**).

Figura 9: cuba com parede divisória e proteção de luz.



Fonte: Própria.

O lado oposto da cuba permaneceu sob iluminação através de uma lâmpada incandescente (40 W), no qual os cistos das artêmias ficaram incubados por 48 horas (**Figura 10**). Por serem fototrópicas, as larvas mais resistentes migram em direção à luz através dos orifícios da divisória, sendo estas, aptas ao teste.

Figura 10: Incubadora das *Artemias salinas* Leach.



Fonte: Própria.

Após 48 horas necessárias para eclosão e seleção das larvas de *Artemia salina* hábeis para o teste de toxicidade, com o auxílio de uma micropipeta, as artêmias foram coletadas em dez grupos com 10 artêmias cada para diferentes tubos de ensaio previamente identificados, no qual receberam a solução aquosa do composto em diferentes concentrações.

No preparo da solução a ser testada foi adicionado 0,04 g de benzamidoxima em 1 mL de DMSO (devido a baixa solubilidade da água salina) e completado com água salina até completar 40 mL de solução (\cong 39 mL de solução salina). Desta solução foram retiradas alíquotas de 250, 225, 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25 μ L que foram transferidas para tubos de ensaio e adicionadas as concentrações de 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 μ g/mL, respectivamente, da solução a ser testada. Desta forma, foram utilizadas 1000 artêmias distribuídas em 100 tubos de ensaios, nos quais foram adicionadas 10 artêmias em cada tubo de ensaio. Os tubos de ensaio foram divididos em grupos de dez em dez contendo concentrações diferentes (10 a 100 μ g/mL).

Em seguida, a cada tubo foi adicionado o meio salino preparado até completar 2,5 mL de solução. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas, após este período foram contabilizadas as larvas vivas e mortas.

Os tubos de ensaio foram deixados em contato com a luz incidente (**Figura 11**) e após 24 horas, foi realizada a leitura dos naúplios. Foram consideradas larvas mortas todas as que

não apresentavam qualquer movimento normal após alguns segundos de observação e foi realizada a contagem de artêmias mortas e vivas em cada tubo.

Figura 11: Tubos com as artêmias.



Fonte: Própria autoria.

O teste também foi acompanhado de um controle negativo (água salina e dimetilsulfóxido). Para a determinação da toxicidade do percentual de mortalidade de 50% das larvas (CL_{50}), foi realizada a análise através do software *POLO-PC* (Copyright LeOra Software 1987).

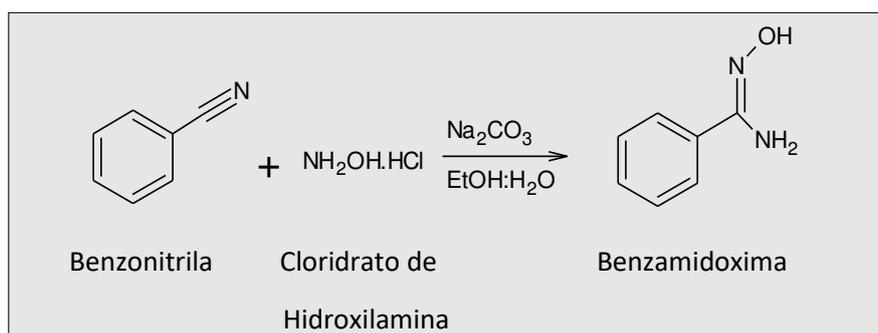
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Uma vez que a literatura descreve diferentes métodos para a síntese das amidoximas, o trabalho visou um estudo comparativo da melhor condição reacional para a síntese da benzamidoxima. Dentre os métodos para síntese desse composto foram escolhidos três, em que a principal diferença entre eles foi a forma de energia empregada, sendo eles:

- Método A: apenas agitação magnética;
- Método B: agitação magnética e aquecimento de 50 °C;
- Método C: ultrassom aquecido.

Os três métodos foram baseados na reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina com a adição de carbonato de sódio em meio hidroetanólico, conforme descrito no esquema **10**.

Esquema 10: Condições reacionais para a síntese da benzamidoxima.

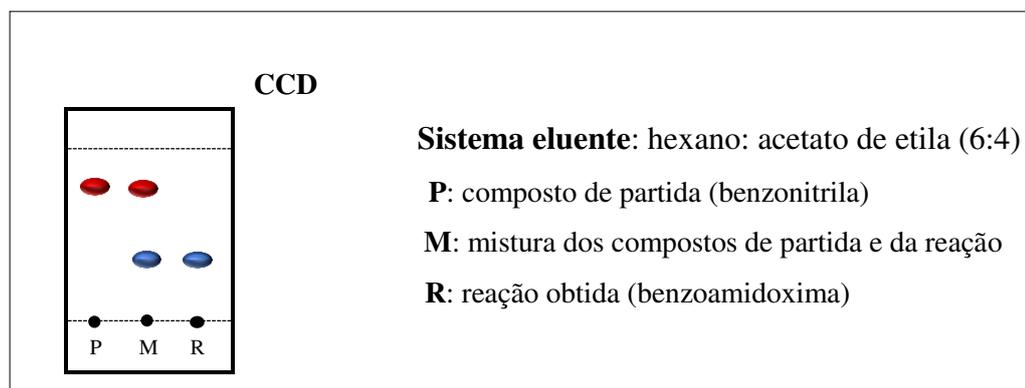


Fonte: Própria autoria.

A benzamidoxima foi preparada a partir da reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina com a adição de carbonato de sódio em meio hidroetanólico, ambos em temperatura ambiente.

O método A caracterizou-se por utilizar apenas agitação magnética. Dessa forma, a benzamidoxima foi obtida após 24 h de reação. A reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD) através de placas de sílica-gel em sistema eluente hexano: acetato de etila (6:4), como mostra a figura **12**. Para a visualização, as placas foram colocadas sob luz ultravioleta.

Figura 12: Imagem da CCD da reação de formação da benzoamidoxima.

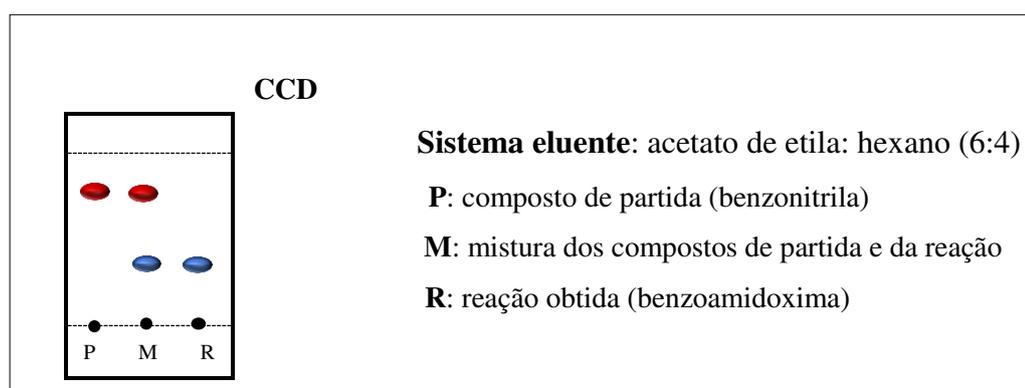


Fonte: Própria autoria.

Através do método A, a benzoamidoxima foi obtida na forma de um sólido branco cristalino. O composto foi obtido com rendimento de 72%, esse valor mostrou-se próximo ao encontrado na literatura com 71% de rendimento em 24 h de reação, utilizando essa mesma metodologia (OLIVEIRA, 2002). As vantagens para esse método estão no menor tempo de reação, maior facilidade de processamento e bom rendimento.

O método B caracterizou-se por utilizar a agitação magnética e aquecimento de aproximadamente 50 ± 5 °C. A benzoamidoxima foi obtida após o tempo reacional de 4 h, sendo monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD) através de placas de sílica-gel em sistema eluente acetato de etila: hexano (6:4), como mostra a figura 13. Para a visualização, as placas foram colocadas sob luz ultravioleta.

Figura 13: Imagem da CCD da reação de formação da benzoamidoxima.

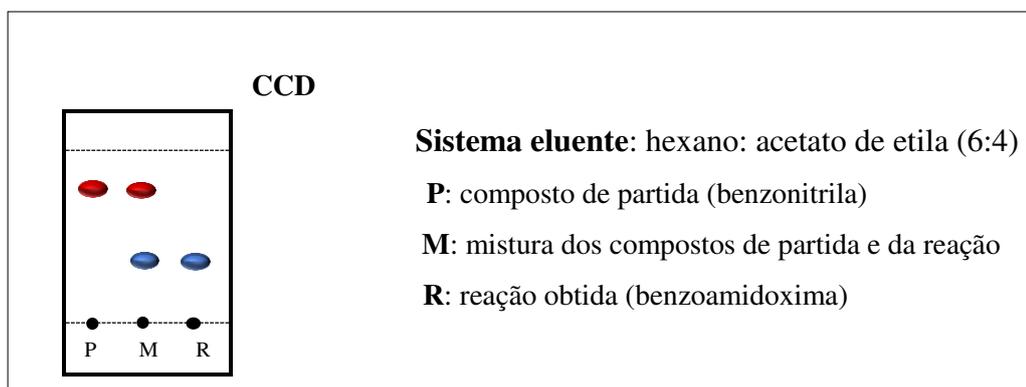


Fonte: Própria autoria.

Através do método B a benzamidoxima foi obtida na forma de um sólido branco cristalino. O composto foi obtido com rendimento de 29 %. As vantagens desse método estão no menor tempo de reação e maior facilidade de processamento. Uma provável justificativa para esse baixo rendimento é devido a formação de subproduto.

O método C caracterizou-se por utilizar o ultrassom aquecido com temperatura de 60 °C. A benzamidoxima foi obtida após o tempo reacional de 45 min, sendo monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD) através de placas de sílica-gel em sistema eluente hexano: acetato de etila (6:4), como mostra a figura 14. Para a visualização, as placas foram colocadas em luz ultravioleta. Neste contexto, a benzamidoxima foi sintetizada utilizando a metodologia descrita por Barros e colaboradores (2011), com algumas modificações, utilizando ultrassom aquecido.

Figura 14: Imagem da CCD da reação de formação da benzoamidoxima.



Fonte: Própria autoria.

Através do método C a benzamidoxima foi obtida na forma de um sólido branco cristalino, com rendimento reacional de 74% em apenas 15 min de reação, esses valores mostraram-se próximos aos encontrados na literatura com 75% de rendimento em 25 min de reação utilizando essa mesma metodologia (VICENTE, 2015).

As vantagens desse método estão no menor tempo de reação, maior facilidade de processamento e bom rendimento.

A tabela abaixo (1) mostra o tempo e rendimento dos três métodos.

Tabela 1: Resultados obtidos das diferentes metodologias **A**, **B** e **C**.

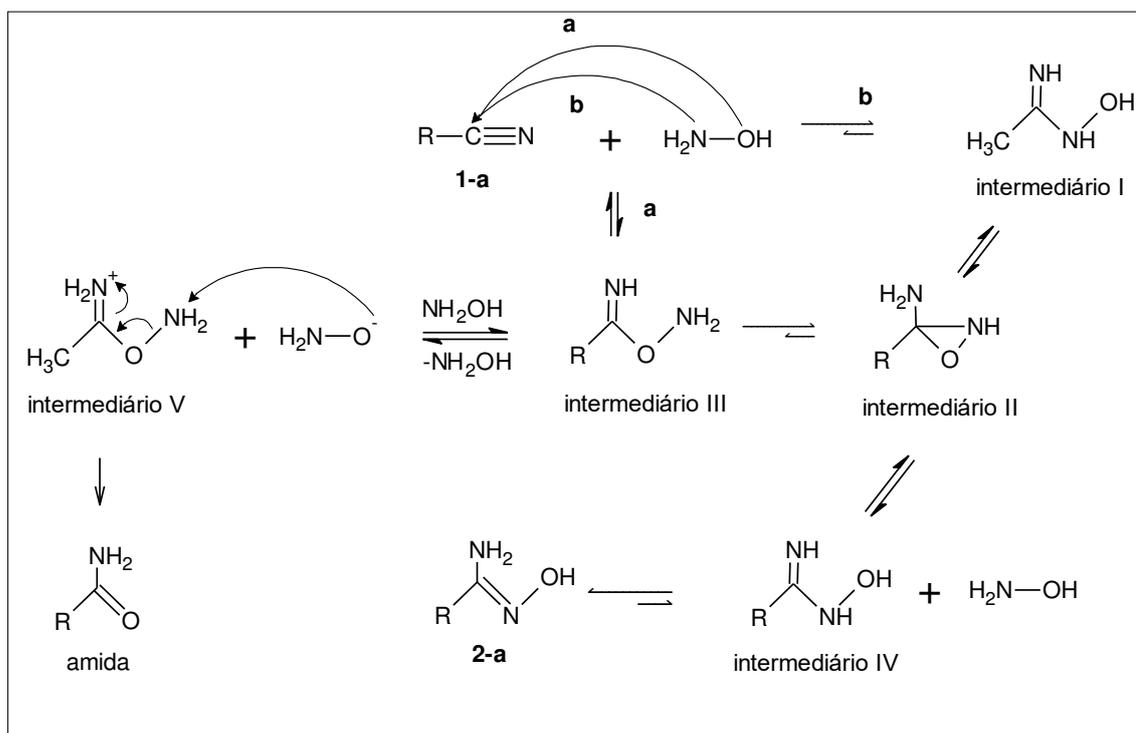
Método	Tempo reacional	Rendimento
A	24 h	72 %
B	4 h	29 %
C	45 min	74 %

Fonte: Própria.

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o método mais econômico, eficiente e com o melhor rendimento foi o método C em que consiste na utilização do ultrassom aquecido para a síntese da benzamidoxima.

A partir dos dados presentes na literatura (Srivastava et al., 2009), essa reação apresenta a seguinte proposta mecanística (esquema 11):

Esquema 11: Mecanismo para a síntese de amidoximas proposta por Srivastava e colaboradores (2009).



Fonte: Própria autoria.

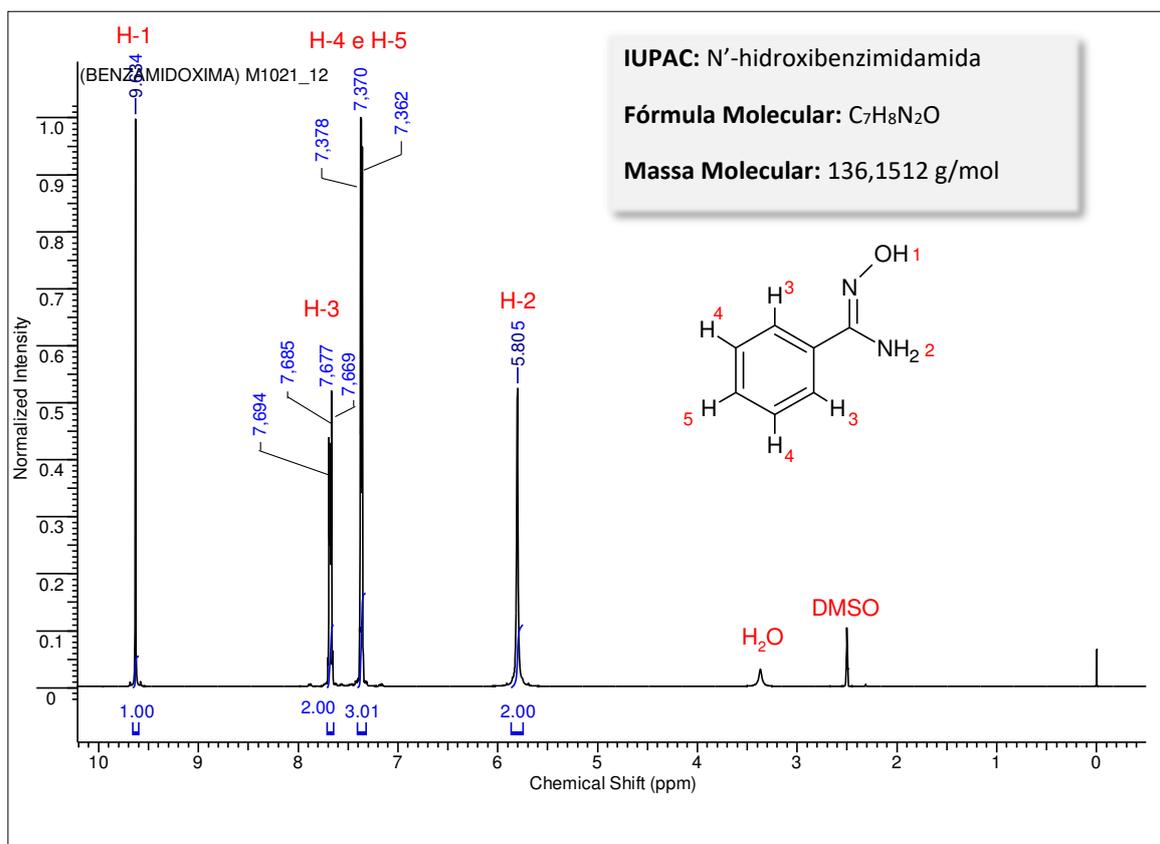
Adicionalmente, os autores propõem que inicialmente o composto **1-a** (nitrila) sofre um ataque nucleofílico da hidroxilamina, em que esse ataque pode ser promovido pelo par de elétrons do átomo de O (via a) ou no N (via b), formando os intermediários I e III. As vias “a” e “b” estão em equilíbrio, no entanto, a via “b” possui o equilíbrio mais deslocado na direção do intermediário I devido essa espécie possuir maior estabilidade quando comparada com o intermediário III e devido a hidroxilamina estar em excesso, favorecendo o equilíbrio para a direita, caracterizando o Princípio da lei de Lê Chatelier (BROWN, 2005). Outra característica interessante é que o intermediário III pode sofrer ataque nucleofílico do par de elétrons do N ligado ao O, levando ao ciclo de três membros, ou seja, o intermediário II. O intermediário II está em equilíbrio com o intermediário III. O intermediário III pode sofrer um ataque intramolecular seguido de um rearranjo alélico da estrutura, formando assim, o composto de interesse **2-a**. A partir desse mecanismo, há a formação de um subproduto indesejado, uma amida, devido ao grande excesso de hidroxilamina.

Desta forma, este trabalho consistiu em sintetizar a benzamidoxima seguindo o mecanismo de reação acima (**esquema 11**), no qual o grupo R do composto de partida (**1-a**) e do composto formado (**2-a**) foi substituído pelo benzeno (C₆H₆), formando assim, o composto de interesse, benzamidoxima.

A caracterização estrutural da benzamidoxima foi realizada através das técnicas espectroscópicas RMN de ¹H e RMN de ¹³C registradas em um espectrômetro VARIAN modelo Unity Plus (300 MHz) ou em um espectrômetro Varian URMNS de 400 MHz. Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao pico residual do dimetilsulfóxido (DMSO-d₆). No qual, todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz).

A figura **15** (abaixo) refere-se ao espectro de RMN de ¹H do composto benzamidoxima.

Figura 15: Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) da benzamidoxima.

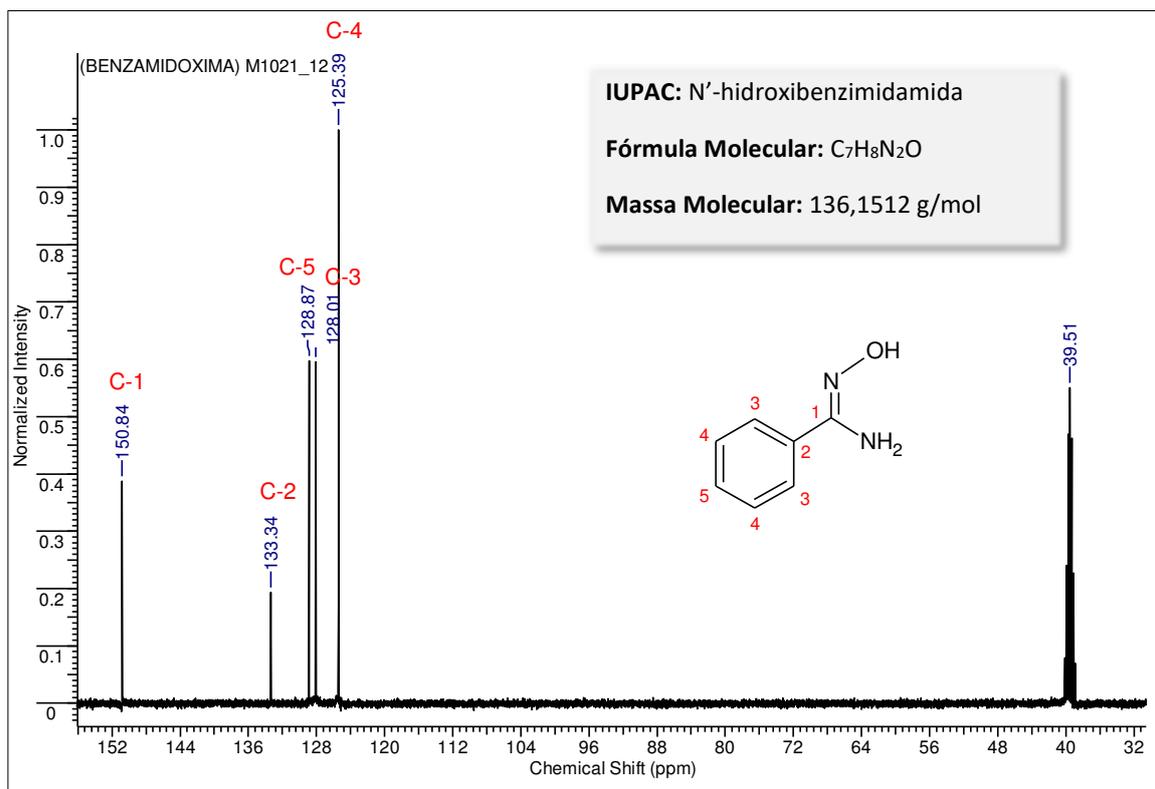


Fonte: Própria.

No espectrômetro de RMN de ^1H , o composto revelou a presença de quatro sinais de hidrogênios, que condiz com a quantidade de hidrogênios quimicamente diferentes na estrutura do composto. Deste modo, o somatório das integrais resulta em um total de oito hidrogênios, que correspondem ao total de hidrogênios da estrutura analisada. Em **9,634** ppm foi observado a presença de um simpleto atribuído ao hidrogênio (**H-1**) pertencente ao grupo isonitroso (NOH). A ampliação do espectro revela um multipletto entre **7,694** a **7,669** ppm com integral igual a dois, que se refere aos hidrogênios (**H-3**). Na região ampliada entre **7,378** a **7,362** ppm há outro multipletto com integral igual a três, sendo atribuídos aos hidrogênios **H-4** e **H-5**. É importante ressaltar que, essas regiões em que apresentaram esses multipletos são características de hidrogênios aromáticos (PAVIA et al., 2015). O ppm **5,805** é atribuído aos hidrogênios **H-2** do grupo NH_2 , que apresentam na forma de um simpleto devido não realizarem acoplamento com nenhum outro hidrogênio presente na estrutura do composto.

A figura **16** (abaixo) refere-se ao espectro de RMN de ^{13}C da amostra benzamidoxima.

Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO-d₆, 100 MHz) da benzamidoxima.



Fonte: Própria.

No espectrômetro de RMN de ^{13}C , o composto apresentou cinco sinais de carbonos quimicamente diferentes. Em **150,84** ppm, o sinal foi atribuído ao carbono **C-1** por estar diretamente ligado a dois átomos de nitrogênios que o desblindam e desloca seu sinal para uma região de campo baixo. O sinal em **133,34** ppm foi atribuído ao carbono **C-2** devido ele sofrer desblindagem em virtude da sua proximidade com a porção amidoxímica que retira densidade eletrônica e por se tratar de um carbono quaternário, o que é caracterizado por uma menor intensidade do sinal. Em **128,01** ppm e **125,39** ppm, os sinais foram atribuídos aos carbonos **C-3** e **C-4**, respectivamente. Os sinais **C-3** e **C-4** são gerados por dois carbonos quimicamente equivalentes, que podem aumentar a intensidade do sinal. Em **128,87** ppm, o sinal foi atribuído ao **C-5**.

Uma vez que a benzamidoxima foi sintetizada e caracterizada, o próximo passo foi realizar o bioensaio desse composto frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

Por se tratar de um microcrustáceo ativo em água salina, foram consideradas larvas mortas todas as que não apresentavam qualquer movimento normal e sedimentação após alguns segundos de observação (BUENO & PIOVEZAN, 2015; MEYER et al., 1982). As artêmias com período de vida entre 24 - 48 horas em estado metanúplios são as mais

recomendadas para este tipo de teste de citotoxicidade, pois os microcrustáceos com 72 horas são mais sensíveis à exposição aos compostos citotóxicos (BARAHONA & SÁNCHEZ-FORTÚN, 1999). Neste teste, foram utilizadas 1000 artêmias distribuídas em 100 tubos de ensaios, nos quais foram adicionadas 10 artêmias em cada tubo de ensaio. Os tubos de ensaio foram divididos em grupos de dez em dez contendo concentrações diferentes (10 a 100 µg/mL).

A tabela abaixo mostra os resultados obtidos das artêmias consideradas vivas e mortas referente às diferentes concentrações da substância testada, a benzamidoxima:

Tabela 2: Contagem das artêmias.

Tubo de ensaio	Concentrações da substância testada (µg/mL)	Volume da solução testada (µL)	Artêmias vivas	Artêmias mortas
1-10	100	250	0	100
1-10	90	225	6	94
1-10	80	200	18	82
1-10	70	175	28	72
1-10	60	150	32	68
1-10	50	125	44	56
1-10	40	100	56	44
1-10	30	75	66	34
1-10	20	50	86	14
1-10	10	25	99	1
100	-	-	435	565

Fonte: Própria.

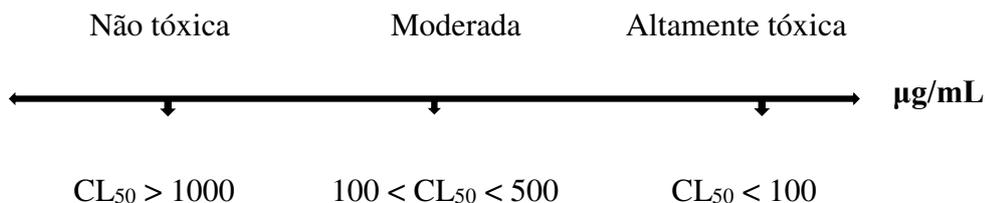
O controle negativo não levou a morte de nenhuma larva.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas substâncias altamente tóxicas as que apresentam $CL_{50} < 100$ µg/mL, toxicidade moderada com CL_{50} entre 100 e 500 µg/mL e $CL_{50} > 1000$ µg/mL são consideradas substâncias não tóxicas, em *Artemia salina* (MEYER et al., 1982).

A CL_{50} da benzamidoxima frente à *Artemia salina* Leach foi encontrada através do software *POLO-PC* (Copyright LeOra Software 1987), com 95% de confiança. Dessa forma, as concentrações testadas no período de exposição de 24 h, apresentou CL_{50} de 42,8 µg/mL

(limite máximo 46,4 e limite mínimo 39,2) apresentando toxicidade elevada, valor próximo ao encontrado na literatura que foi de 40,724 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (MEDEIROS et al., 2017).

Segundo Merino et al., (2015) e Meyer et al., (1982), o valor da CL_{50} igual a 42,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ implica que a benzamidoxima apresenta elevada toxicidade, uma vez que esse valor se enquadra nos índices inferiores a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.



Portanto, a partir dos resultados obtidos, esse bioensaio toxicológico mostrou-se ser um método viável, prático e econômico. Além de ser um método que não utiliza animais vertebrados para analisar diversas atividades biológicas. Logo, estando de comum acordo com o movimento de defesa dos animais (BRITO NETO, 2013). Outros fatores que nos leva à escolha deste microcrustáceo de água salgada é devido sua disponibilidade comercial, possuindo baixo valor econômico, sendo encontrados na forma de ovos (cistos), no qual podem ser preservados assim por muitos anos (MERINO et al., 2015, ARCANJO et al., 2012).

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho, a benzamidoxima foi sintetizada a partir de três métodos diferentes, visando encontrar a melhor condição reacional. O método utilizando apenas agitação magnética levou a benzamidoxima com bom rendimento (72%), utilizando agitação magnética e aquecimento a benzamidoxima foi obtida em baixo rendimento (29%) e utilizando a irradiação de ultrassom aquecido (74%). A benzamidoxima foi caracterizada através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C . A avaliação de toxicidade da benzamidoxima frente às larvas da *Artemia Salina* Leach resultou na CL_{50} 42,8 $\mu\text{g/mL}$, valor esse que implica em elevada toxicidade.

Deste modo, o bioensaio utilizando as larvas da *Artemia salina* Leach mostrou-se ser uma das ferramentas mais úteis para a avaliação preliminar da toxicidade geral, caracterizando em um método seguro, simples, eficiente, rápido, sem necessidade de equipamentos especiais, sendo assim, econômico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCANJO, D. D. R., ALBUQUERQUE, A. C. M., MELO-NETO, B., SANTANA, L. C. L. R., MEDEIROS, M. G. F., CITÓ, A. M. G. L. Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. **Brazilian Journal of Biology**. vol. 72, n. 3, p. 505-509, 2012.

ATES, M.; DEMIR, V.; ARSLAN, Z.; CAMAS, M.; CELIK, F. Toxicity of engineered nickel oxide and cobalt oxide nanoparticles to *Artemia salina* in seawater. **Water, Air, & Soil Pollution**. vol. 227, n. 3, p. 70, 2016.

BAGHERI, S.; SAHEBKAR, A.; GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; MALMIR, M.; IRANSHAHI, M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal *Ferula* species. **Pharmaceutical Biology**. vol. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.

BARAHONA, M. V.; SÁNCHEZ-FORTÚN, S. Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. **Environ Pollut**. vol. 104, n. 3, p. 469-76, 1999.

BAROSA, J., FERREIRA, A., FONSECA, B., SOUZA, I. Teste de toxicidade de cobre para *Artemia salina* – Poluição e ecotoxicologia marinha, 2003.

BARROS, C. J. P.; FREITAS, J. J. R.; OLIVEIRA, R. N.; DE FREITAS FILHO, J. R. Synthesis of amidoximes using an efficient and rapid ultrasound method. **Journal of the Chilean Chemical Society**. vol. 56, n. 2, p. 721-722, 2011.

BELÉM, V. A.; LIMA, F. G. C.; BARROS, L. M.; DUARTE A. E. Estudo da toxicidade e atividade antifúngica de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) como ferramenta de preservação da espécie. **Caderno de Cultura e Ciência**, ano IX, vol. 13, n. 2, p. 51-59, 2015.

BENN, F.R.; CHARLTON, P. T.; HARNER, G. L. M. **British Patent**. vol. 895, n. 495, 1962.

BRANCO, A. C. S. C. Avaliação da toxicidade crônica pré-clínica de *Foeniculum vulgare* mill. 2009. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

BRETANHA, L. C.; VENZKE, D.; CAMPOS, P. T.; DUARTE, A.; MARTINS, M. A. P.; SIQUEIRA, G. M.; FREITAG, R. A. Preparation of trichloroacetoamidoxime in aqueous media and application in one pot synthesis of 1,2,4- oxadiazoles. **Archive for Organic Chemistry**, ano XII, vol. 2009, p. 1-7, 2009.

BRITO NETO, V. O. Análise in vitro do grau de toxicidade do extrato etanólico de *Azadiracta indica* A. Juss em *Artemia salina* e em larvas infectantes de *Haemonchus contortus*. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos-PB, 2013.

BROWN, T. L. LeMAY JR., H. E.; BURSTEN, B. E. Química a ciência central. vol. 1, 9ª ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.

BUENO, A. C.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. Instituto Federal de Santa Catarina, n.1, 2015. Disponível em: <http://docente.ifsc.edu.br/michael.nunes/MaterialDidatico/Analises%20Quimicas/TCC%20II/TCC%202015%202/Ariele.pdf>. Acesso em: 23 mar, 2019.

CAI, J.; WEI, H. T.; HONG, K. H.; WU, X. Q.; CAO, M.; ZONG, X.; LI, L. S.; SUN, C. L.; CHEN, J. Q.; JI, M. Discovery and preliminary evaluation of 2-aminobenzamide and hydroxamate derivatives containing 1,2,4- oxadiazole moiety as potent histone deacetylase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2015.

CEPLEANU, F. Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation. 1993. Tese (Doutorado em Faculdade de Ciências da Universidade de Lausanne) - Faculdade de Ciências da Universidade de Lausanne, Lausanne, Suíça, 1993.

CHOHAN, Z.; SUMRRA, S.; YOUSOUFI, M.; HADDA, T. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**. vol. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010.

CORRÊA, J. M.; PENAFORT, J. M.; Considerações sobre biologia e utilização de Artemia sp. (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca). **Revista Electrónica de Veterinaria**. vol. 12, n. 12, p. 1-11, 2011.

COSKUN, R.; DILCI, Y. Preparation of Double Amidoxime-Containing Chelating Fiber for Removal of Chrome (VI) Ions. **Journal of Macromolecular Science Part A-Pure and Applied Chemistry**. vol. 51, p. 767-782, 2014. ISSN: 1520-5738.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**. vol. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DEGARDIN, M.; WEIN, S.; GOUNI, S.; TRAN VAN BA, C.; DUCKERT, J.-F.; DURAND, T.; ESCALE, R.; VIAL, H.; VO-HOANG, Y. Evaluation of BisAlkylamidoxime O-Alkylsulfonates as Orally Available Antimalarials. **Chem Med Chem**. vol. 7, n. 6, p. 991-1001, 2012.

FREITAS FILHO, J. R.; SILVA, R. L.; SILVA, E. E.; SANTOS, J. A. M.; FREITAS, J. J. R.; FREITAS, J. C. R. Amidoximas: Aplicações e Principais Estratégias Sintéticas. **Revista Virtual Química**. vol. 7, n. 6, p. 2549-2596, 2015.

HARADA, T. N. 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 (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

HU, C. G.; WANG, S. L.; WU, Z. Z.; ZAO, Z.; LI, G. Development and characterization of the amidoxime/Europium (III)-chelated complex fibers. **Revista Materia**. vol. 19, n. 4, p. 350-357, 2014.

HUANG, F.; XU, Y.; LIAO, S.; YANG, D.; YOU-LO, Q.; WEI, Q. Preparation of amidoxime polyacrylonitrile chelating nanofibers and their application for adsorption of metal ions. **Materials**. vol. 6, n. 3, p. 969-980, 2013.

IGARASHI, M. A. **PubVet**. vol. 2, n. 31, 42^a ed, Art. 386, 2008.

JIN, G. Y.; XIE, M. Y.; ZHAO, G. -F.; LIU, Z. -F. Studies on the synthesis and biological activities of aryl amidoxime derivatives including p atom. **Chemical Journal of Chinese Universities**. vol. 16, p.1241. 1995.

KATRITZKY, A. R.; KHASHAB, N. M.; KIRICHENKO, N.; SINGH, A. Microwave-Assisted Preparations of Amidrazones and Amidoximes. **Journal of Organic Chemistry**. vol. 71, n. 24, p. 9051-9056, 2006.

LEONARD, S. F. Polymeric amidoximes and their derivatives and a method of preparing same, Depositador: LEONARD, S. F. US 3063951 A. 1962. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US3063951>. Acessado em: 20 jan. 2019.

LIN, W.; LU, Y.; ZENG, H. J. Studies of the preparation, structure, and properties of an acrylic chelating fiber containing amidoxime groups. **Journal of Applied Polymer Science**. vol. 47, n.1, p. 45-52. 1993.

LIU, X.; CHEN, H.; WANG, C. H.; QU, R. J.; JI, C. N.; SUN, C. M.; XU, Q. Adsorption properties of amidoximated porous acrylonitrile/methyl acrylate copolymer beads for Ag (I). **Polymers for Advanced Technologies**. vol. 22, n.12, p. 2032-2038, 2011.

LÓPEZ, J. C.; GÓMEZ, A. M.; VALVERDE, S.; FRASER-REID, B. FERRIER Rearrangement under Nonacidic Conditions Based on Iodonium-Induced Rearrangements of

Allylic n-Pentenyl Esters, n-Pentenyl Glycosides, and Phenyl Thioglycosides. **The Journal of organic chemistry**. vol. 60, p. 3851-3858, 1995.

LOSSEN, W.; SCHIFFERDECHER, P. Ueber Isuretin, eine dem Harnstoff isomere base. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**. vol. 166, n. 3, p. 295. 1873.

LUNA, J.; SANTOS, A.; LIMA, M.; OMENA, M.; MENDONCA, F.; BIEBER, L.; SANT'ANA, A. E. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

MALKONDU, S.; ALTINKAYA, N.; ERDEMIR, S.; KOCAK, A. A reaction-based approach for fluorescence sensing of fluoride through cyclization of an O-acyl pyrene amidoxime derivative. **Sensors and Actuators B: Chemical**. vol. 276, p. 296-303, 2018.

MEDEIROS, H. I.; CAIANA, R. R. A; OLIVEIRA, F. S.; FREITAS, J. C. R. Síntese e avaliação toxicológica da benzamidoxima frente a larvas de *Artemia salina* Leach, 2017. II Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências (Conapesc), Campina Grande-PB, 2017.

MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J. D.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Planta Médica**, vol. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

METWALLY, S. S.; AYOUB, R. R.; ALY, H. F. Amidoximation of Cyano Group for Chelating Ion Exchange of Some Heavy Metal Ions from Wastewater. **Separation Science and Technology**. vol. 48, n. 12, p. 1830-1840, 2013.

MEYER, B.; FERRIGNI, N.; PUTNAM, J.; JACOBSEN, L.; NICHOLS, D.; McLAUGHLIN, J. A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**. vol. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.

MOREIRA, L. A. O. Avaliação da atividade tóxica em artemia salina leach de extratos de duas espécies da família melastomataceae. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Câmpus Anápolis, Goiás, 2002.

MULL, R. P.; Schmidt, P.; DAPERO, M. R.; HIGGINS, J.; WEISBACH, M. J. Antihypertensively Active Amidoximes. **Journal of the American Chemical Society**. vol. 80, p. 3769-3772, 1958.

NICOLAIDES, D. N.; FYLAKTAKIDOU, K. C.; LITINAS, K. E.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Synthesis and biological evaluation of several coumarin-4-carboxamidoxime and 3-(coumarin-4-yl) -1,2,4-oxadiazole derivatives. **European journal of medicinal chemistry**. vol. 33, n. 9, p. 715-724, 1998.

NINGAIAH, S.; BHADRAIAH, U. K.; KESHAVAMURTHY, S.; JAVARASETTY, C. Novel pyrazoline amidoxime and their 1,2,4- oxadiazole analogues: Synthesis and pharmacological screening. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. vol. 23, n.16. p. 4532, 2013.

NINO, J.; CORREA, Y.; MOSQUERA, O. Antibacterial, antifungal, and cytotoxic activities of 11 Solanaceae plants from Colombian biodiversity. **Pharmaceutical Biology**. vol. 44, n. 1, p. 14-18, 2006.

NOLDIN, V.F.; FILHO, V.C.; MONACHE, F.D.; BENASSI, J.C.; CHRISTMANN, I.L.; PEDROSA, C.P.; YUNES, R.A. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Química Nova**. vol. 26, n. 3, p. 331-334, 2003.

OJALA, T.; VUORELA, P.; KIVIRANTA, J.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R. A bioassay using *Artemia salina* for detecting phototoxicity of plant coumarins. **Planta Medica**, vol. 65, n. 8, p. 715-718, 1999.

OLIVEIRA, R. J.; SANTOS, C. D., LIMA, J. A. C., SILVA, J. F., FREITAS, J. C. R.; 4-bromobenzamidoxima: estudo sintético, caracterização estrutural e bioensaio toxicológico frente às larvas de artemia salina, 2018. III Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências (Conapesc), Campina Grande-PB, 2018.

OLIVEIRA, R. N. Síntese mediada por micro-ondas de glicosídeos contendo diversas agliconas e de 1, 2, 3-oxadiazóis. 2002. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Recife-PB, 2002.

OUATTARA, M.; WEIN, S.; DENOYELLE, S.; ORTIAL, S.; DURAND, T.; Escale, R.; Vial, H.; VoHoang, Y. Design and synthesis of amidoxime derivatives for orally potent C-alkylamidinebased antimalarial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. vol. 19, n.3, p. 624-626, 2009.

PAUL, J. H. US Patent. 4,268,525 A. 1981.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIS, G. S. **Introduction to Spectroscopy**. 5. ed. Stamford: Cengage Learning, 2015.

PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F. **Purification of Laboratory Chemicals**, Pergamon Press: Oxford, 1996.

PETERS, E. C.; GASSMAN, N. J.; FIRMAN, J. C.; OBERT R. H.; RICHMOND, R. H.; POWER, E. A. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**. vol. 16, n. 1, p. 12-40, 1997.

PETUKHOV, P. A.; DENISOV, A.; TKACHEV, A. V. Rearrangement of α -Hydroxylamino oximes to cyclic amidoximes by the action of sodium borohydride. **Tetrahedron**. vol. 53, n. 7, p. 2527-2534. 1997.

PUSPITASARI, T.; KADJA, G. T. M.; RADIMAN, C. L.; DARWIS, D.; MUKTI, R. R. Two-step preparation of amidoxime-functionalized natural zeolites hybrids for the removal of Pb²⁺ ions in aqueous environment. **Materials Chemistry and Physics**. vol. 216, p. 197-205, 2018.

QU, R.; ZHANG, Y.; QU, W.; SUN, C.; CHEN, J.; PING, Y.; CHEN, H.; NIU, Y. Mercury adsorption by sulfur- and amidoxime-containing bifunctional silica gel based hybrid materials. **Chemical Engineering Journal**. vol. 219, p. 51-61, 2013.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI, M., NAJI, T. Artemia salina as a model organismo in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 23, n.1, p. 20, 2015.

RIOS, F. J. B. Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de Artemia sp. Dissertação (mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 1995.

SANGUINETI, G.; LE, H. V.; GANEM, B. Studies on the synthesis of amidoximes from nitroalkanes. **Tetrahedron**. vol. 67, n. 52, p. 10208-10211, 2011.

SANTOS, F. A.; SILVA, R. O.; ADRIANO, W. S.; FREITAS, J. C. R. Prospecção Tecnológica: Uma visão geral dos aspectos e impactos relevantes das amidoximas. **Virtual de Química**. vol. 10, n. 5, p. 1168-1179, 2018.

SARAIVA, A. M.; CASTRO, R. H. A.; CORDEIRO, R. P.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; CASTRO, V. T. N. A; AMORIM, E. L. C.; XAVIER, H. S.; PISCIOTTANO, M. N. C. In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of Schinopsis brasiliensis Engl. (Anacardiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. vol. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SAULTER, J. Y.; KURIAN, J. R.; TREPANIER, L. A.; TIDWELL, R. R.; BRIDGES, A. S.; BOYKIN, D. W.; STEPHENS, C. E.; ANBAZHAGAN, M.; HALL, J. E. Unusual dehydroxylation of antimicrobial amidoxime prodrugs by cytochrome b5 and nadh cytochrome b5 reductase. **Drug Metabolism and Disposition**. vol. 33, n. 12, p. 1886-93, 2005.

SOMESB (Sociedade Mantenedora de Educação Superior da Bahia S/C Ltda); 1ª ed, FTC-EaD, Salvador, 2007.

SOUZA, A. R. C.; SOUZA, P. S. C.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N. Uso da artemia salina como bioindicador na avaliação ecotoxicológica do fármaco cloridrato de ciprofloxacina em solução sintética tratada por processo de eletrocoagulação. VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, Porto Alegre-RS, 2015.

SRIVASTAVA, R. M.; BRINN, I. M.; MACHUCA-HERRERA, J. O.; FARIA, H. B.; CARPENTER, G. B.; ANDRADE, D.; VENKATESH, C. G.; MORAIS, L. P. F. Benzamidoximes: structural, conformational and spectroscopic studies. I. **Journal of Molecular Structure**. vol. 406, p. 159-167, 1997.

SRIVASTAVA, R. M.; PEREIRA, M. C.; FAUSTINO, W. W. M.; COUTINHO, K.; ANJOS, J. V.; MELO, S. J. Synthesis, mechanism of formation, and molecular orbital calculations of arylamidoximes. **Monatshefte für Chemie**. vol. 140, n. 11, p. 1319-1324, 2009.

STEMPER, J.; TUO, WEI.; MAZARÍO, E.; HELAL, A. S.; DJUROVIC, A.; LION, C.; CHAHINE, J-M, E. H.; MAUREL, F.; HÉMADI, M.; GALL, T. L. Synthesis of bis(amidoxime)s and evaluation of their properties as uranyl-complexing agentes. **Tetrahedron**. vol. 74, n. 21, p. 2641-2649. 2018.

TIEMANN, F. Ueber die Einwirkung von Hydroxylamin auf Nitrile. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**. vol. 17, p. 126, 1884.

TIEMANN, F.; KRUGER, P. Ueber Amidoxime und Azoxime. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**. vol. 17, p. 1685.

TIEW P, PUNTUMCHAI A, KOKPOL U, CHAVASIRI W. Coumarins from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm. **Phytochemistry**. vol. 60, n.8, p. 773-6, 2002.

VARÓ, I.; NAVARRO, J.C.; AMAT, F.; GUILHERMINO, L. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. **Chemosphere**. vol. 48, n. 6, p. 563-569, 2002.

VICENTE, D. A. Reações de alilação e crotilação de diferentes aldeídos por trifluoroboratos orgânicos e catalisada por aril-amidoximas. 2005. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal e Rural de Pernambuco, Recife-PE, 2015.

WIGLEND, T.; GUST, R. Structure-activity relationship study to understand the estrogen receptor-dependent gene activation of aryl- and alkyl-substituted 1H-imidazoles. **Journal of Medicinal Chemistry**. vol, 50, p. 1475-1484, 2007.

WU, Z. C.; HUANG, Y.; LU, Y.-N.; TAO, T.-X.; ZHANG, Z. Suzuki reactions of aryl bromides catalyzed by amidoxime fibers-palladiumII complex. **Catalysis Communications**. vol. 29, p. 158-161, 2012.

WU, Z. C; ZHANG, Y.; TAO, T. X.; ZHANG, L.; FONG, H. Silver nanoparticles on amidoxime fibers for photo-catalytic degradation of organic dyes in waste water. **Applied Surface Science**. vol. 257, n. 3, p. 1092-1097, 2010.

XAVIER, J. O controle de pragas agrícolas e a sustentabilidade ecológica. **Ciência e Ambiente**, Santa Maria. vol. 27, n. 2, p. 67-84, 2005.

XU, H.; MA, S.; XU, Y.; BIAN, L.; DING, T.; FANG, X.; ZHANG, W.; REN, Y. Copper-Catalyzed OnePot Synthesis of 1,2,4-Triazoles from Nitriles and Hydroxylamine. **The Journal of Organic Chemistry**. vol. 80, 1789-1794, 2015.

YUAN, Y.; ZHANG, G.; LI, Y.; ZHANG, G.; ZHANG, F.; FAN, X. Poly(amidoamine) modified graphene oxide as an efficient adsorbent for heavy metal ions. **Polymer chemistry**. vol. 4, p. 2164, 2013.

ZHAO, Y.; LI, J.; ZHAO, L.; ZHANG, S.; HUANG, Y.; WU, X.; WANG, X. Synthesis of amidoxime-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core-shell magnetic microspheres for highly efficient sorption of U (VI). **Chemical Engineering Journal**. v. 235, p. 275-283, 2014.

ZHU, J.; CHEN, Z.; XIE, H.; LI, S.; WU, Y. An efficient method to access 2-fluoroalkylbenzimidazoles by PIDA oxidation of amidines. **Journal of Fluorine Chemistry**. vol. 133, p. 134-138, 2012.

ZIENKIEWICZ, J.; KASZYNSKI, P.; YOUNG, V. G. J. Fused-Ring Thiadiazines: Preparation and Crystallographic Characterization of 3-Phenyl Derivative of Benzo-, Pyridio[2,3-e]- Pyrazino[2,3-e]-, and Tetrafluorobenzo- [1,2,4]thiadiazines. **The Journal of Organic Chemistry**. vol. 69, n. 7, p. 2551-2561, 2004.

ZULFIQAR, S.; KARADAS, F.; PARK, J.; DENIZ, E.; STUCKY, G. D.; JUNG, Y.; ATILHAN, M.; YAVUZ, C. T. Amidoximes: promising candidates for CO₂ capture. **Energy & Environmental Science**. vol. 4, p. 4528, 2011.