



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

HERBERT IGOR RODRIGUES DE MEDEIROS

**DESENVOLVIMENTO RACIONAL DE UM CANDIDATO A FÁRMACO:  
ESTUDOS *IN SILICO*, SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO  
BIOLÓGICA DE UM COMPOSTO CONTENDO O GRUPAMENTO  
FARMACOFÓRICO ACCEPTOR DE MICHAEL**

CUITÉ – PB

2019

HERBERT IGOR RODRIGUES DE MEDEIROS

**DESENVOLVIMENTO RACIONAL DE UM CANDIDATO A FÁRMACO:  
ESTUDOS *IN SILICO*, SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO  
BIOLÓGICA DE UM COMPOSTO CONTENDO O GRUPAMENTO  
FARMACOFÓRICO ACCEPTOR DE MICHAEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus* Cuité, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

CUITÉ – PB

2019

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

M488d Medeiros, Herbert Igor Rodrigues de.

Desenvolvimento racional de um candidato a fármaco: estudos *in silico*, síntese, caracterização e avaliação biológica de um composto contendo o grupamento farmacofórico acceptor de Michael. / Herbert Igor Rodrigues de Medeiros. – Cuité: CES, 2019.

75 fl.

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

Orientação: Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas.

1. Planejamento de fármacos. 2. Métodos *in silico*. 3. Carboidratos. 4. Química Medicinal. I. Título.

**HERBERT IGOR RODRIGUES DE MEDEIROS**

**DESENVOLVIMENTO RACIONAL DE UM CANDIDATO A FÁRMACO:  
ESTUDOS *IN SILICO*, SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO  
BIOLÓGICA DE UM COMPOSTO CONTENDO O GRUPAMENTO  
FARMACOFÓRICO ACCEPTOR DE MICHAEL**

Aprovado em: 11/11/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Orientador – UFCG

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Emília da Silva Menezes

Membro – UFCG

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francinalva Dantas de Medeiros

Membro – UFCG

*Dedico este trabalho a minha excelentíssima Mãe, Francisca Costa (in memoriam), que dedicou sua vida para que eu pudesse chegar até aqui, sempre me dando todo o amor, carinho e apoio para a minha jornada.*

## AGRADECIMENTOS

Obrigado Meu Senhor Jesus Cristo, sem ti não estaria aqui e agora. Obrigado por ter incluído anjos durante a minha jornada, por estar sempre ao meu lado, por me guiar nesta missão que só o senhor sabe. Mesmo sem ter conhecimentos, sem entender certas passagens, agradeço pelo senhor nunca ter me abandonado. O senhor e só o senhor é dono disto tudo.

A minha grandiosa, santíssima e excelentíssima Mãe, Francisca Costa (*in memoriam*), ao qual sou fruto de uma mãe de caráter e coração imensurável. Não tenho palavras para te agradecer, pois nada chegará perto do que fizestes por mim. Obrigado por não ter medido esforços para me ajudar e por todos os momentos de apoio em família. Sou eternamente grato ao nosso Senhor Jesus Cristo por ter me dado a honra de ter passado 23 anos da minha vida na sua presença, por ter sido seu filho. “Eu sempre vou te amar...”

Ao meu grande pai, Paulo Rodrigues, que sempre fez de tudo e se sacrificava diariamente para que nunca me falte nada. Por ser este pai exemplar, amoroso, que bota os filhos acima de tudo. Sou grato ao nosso Senhor por ter me dado pais tão grandiosos e que em plena consciência lógica, não vi em nenhuma outra família. Obrigado meu pai, meu herói. Agradeço aos meus pais, que confiaram em mim e batalharam desde o meu nascimento para que eu pudesse chegar até aqui, me ensinando sobre a vida e guiando a construção da minha moral nos melhores alicerces.

À minha amada Iany Louise, que sempre esteve no meu lado, sempre me apoiou e não me deixou faltar nada em todos os âmbitos. Sou grato por ter te conhecido, e ainda mais, por estar com você. Te amo com todas as forças, obrigado por ser essa pessoa tão meiga e amorosa, és tudo e um pouco mais que eu sempre sonhei pra mim.

A minha tia, “Tica Rodrigues”, que me impulsionou e me ajudou nos primeiros momentos da minha permanência no curso, foi quem garantiu minha ida para estudar fora, sem ela nunca nem teria começado.

Aos meus tios, Nilzon Cesino, Jedson Cesino, Júnior Cesino, Josinaldo Cesino, Enilson Cesino e Nailson Cesino, que sempre me apoiaram e me ajudaram nesta jornada, sempre estando presentes e serem esses exemplos de tios e pessoas. Ao meu irmão, Francion Cesino, que me apoia e me ajuda em todos os âmbitos. À minha família como um todo: meus avós, tios, tias e primos, que me mostraram o significado de uma família

unida e amorosa. Todos são muito importantes para mim, não poderia ter uma família melhor.

Ao meu querido e surreal Prof. Juliano Freitas, que sempre me ajudou, me aconselhou e me apoiou de todas as formas. Sou eternamente grato, por ter o senhor na minha vida, não só na acadêmica, como na social e evidentemente, na espiritual. O senhor foi e continua sendo como um anjo que me acolheu e que me fez crescer de todas as formas. Agradeço por ser muito mais que um professor, por ter acreditado em mim. Não somos da mesma família, mas saiba que o senhor constitui um membro da minha família.

A grande Prof. Júlia Beatriz, que sempre me ajudou desde quando comecei esta jornada, não tenho palavras para expressar todo o meu agradecimento. A senhora é muito mais que uma professora, foi um anjo que apareceu na minha vida. Sem seu apoio, talvez não estivesse aqui e agora, és um dos meus alicerces. Agradeço a sua família, em especial, a dona Magnólia, pessoa que me acolheu e sempre buscou me ajudar de todas as formas, tenho um carinho enorme.

Aos meus amigos Rodrigo Ribeiro e Sidney Teles, que são grandes irmãos e estive comigo nesta trajetória.

Aos amigos do Laboratório Aplicado de Síntese Orgânica (LASO), Francirenildo Andrade, Rayane Santos, Cosme Santos, Romário Jonas, Jadson Silva e todos os demais que me ajudaram bastante durante este percurso.

Ao pessoal do Restaurante Universitário, que sempre fizeram excelentes refeições para os estudantes.

A todos os professores do curso de Farmácia, Nutrição, Biologia e Química por todos os ensinamentos e demais funcionários do Centro de Educação e Saúde. À Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelas análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e de Infravermelho (IV) e bioensaio larvicida.

## RESUMO

A tecnologia tem sido essencial no processo de planejamento de fármacos, uma vez que possibilita a otimização do tempo e de custos operacionais, entretanto, mesmo com toda esta tecnologia, a busca por fármacos é uma tarefa bastante difícil. A Química medicinal é a área que concilia inúmeras outras áreas durante o processo de desenvolvimento de fármacos. Associado a isto, o crescente número de casos decorrentes de doenças endêmicas, vem estimulando o governo a investir em pesquisas para o desenvolvimento de compostos que a serem utilizados no tratamento destas. Frente a isto, uma classe de moléculas que vem atraindo a comunidade científica são os carboidratos, moléculas com inúmeras atividades farmacológicas e biológicas. Deste modo, o objetivo deste trabalho consistiu em esboçar a arquitetura molecular de quatro candidatos a fármaco e avaliar suas propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas com o auxílio de ferramentas *in silico*, depois sintetizar o candidato mais promissor e avaliar sua toxicidade por métodos *in vitro*, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* Leach e larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Após as avaliações, foi constatado que o candidato mais promissor foi o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (candidato 4), que foi sintetizado após quatro etapas reacionais, na forma de um sólido branco amorfo, em ótimo rendimento (87%). O candidato apresentou uma  $CL_{50}$  de 610,370  $\mu\text{g/mL}$  frente as artêmias. Já frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, o candidato não apresentou toxicidade significativa e, portanto, foi constatado que o mesmo não apresenta atividade larvicida frente as larvas do *Aedes aegypti*. Em suma, o composto apresentou baixa toxicidade frente as artêmias, resultado bastante promissor, já frente as larvas do *Aedes aegypti* constatou-se que o mesmo não apresentou atividade larvicida e os métodos *in silico* apontaram que a molécula apresenta uma baixa probabilidade de apresentar efeitos tóxicos, boas características para se tornar um bom fármaco, um ótimo potencial de biodisponibilidade oral, e uma acentuada atividade relacionada a inibição enzimática.

**Palavras-chave:** Planejamento de Fármacos. Métodos *in silico*. Carboidratos. Química Medicinal.



## ABSTRACT

Technology has been essential in the drug planning process, as it enables the optimization of time and operating costs, but even with all this technology, the search for drugs is a rather difficult task. Medicinal chemistry is the area that reconciles countless other areas during the drug development process. Associated with this, the growing number of cases resulting from endemic diseases, has been encouraging the government to invest in research for the development of compounds to be used in their treatment. Faced with this, a class of molecules that has attracted the scientific community are carbohydrates, molecules with numerous pharmacological and biological activities. Thus, the objective of this work was to sketch the molecular architecture of four drug candidates and evaluate their pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties with the aid of *in silico* tools, then synthesize the most promising candidate and evaluate their toxicity by *in vitro* methods. using the *Artemia salina* Leach microcrustacean and *Aedes aegypti* mosquito larvae. After evaluations, it was found that the most promising candidate was prop-2-in-1-yl 2,3-dideoxy-2-enopyranosid-4-ulose (candidate 4), which was synthesized after four reaction steps as follows. of an amorphous white solid in excellent yield (87%). The candidate presented an  $LC_{50}$  of 610.370  $\mu\text{g/mL}$  against the brine shrimp. Already against the larvae of the mosquito *Aedes aegypti*, the candidate showed no significant toxicity and, therefore, it was found that it has no larvicidal activity against the larvae of *Aedes aegypti*. In short, the compound showed low toxicity against the brine shrimp, a very promising result, whereas the *Aedes aegypti* larvae did not show larvicidal activity and *in silico* methods indicated that the molecule has a low probability of toxic effects. , good characteristics for becoming a good drug, a great potential for oral bioavailability, and a marked activity related to enzyme inhibition.

**Key-words:** Drug Planning, *In silico* Methods. Carbohydrates. Medicinal Chemistry.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> - Estrutura da vancomicina e teicoplanina.....  | 17 |
| <b>Figura 2</b> - Estrutura da d-glicose e sacarose.....  | 22 |
| <b>Figura 3</b> - Estrutura molecular da vancomicina, teicoplanina e eritromicina.....  | 24 |
| <b>Figura 4</b> - Estrutura molecular contendo um grupamento acceptor de Michael.....   | 25 |
| <b>Figura 5</b> - Produtos naturais e sintéticos contendo uma unidade acceptora de Michael....  | 26 |
| <b>Figura 6</b> - Fisionomia do <i>Aedes aegypti</i> .....  | 27 |
| <b>Figura 7</b> - Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i> .....   | 27 |
| <b>Figura 8</b> - <i>Artemia salina</i> Leach.....  | 30 |
| <b>Figura 9</b> - Diferenças do tipo de ligação dos candidatos “c” e “d” .....  | 48 |
| <b>Figura 10</b> - Esquema da reação de síntese do tri- <i>O</i> -acetil- <i>D</i> -glucal.....   | 48 |
| <b>Figura 11</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do tri- <i>O</i> -acetil- <i>D</i> -glucal.....   | 50 |
| <b>Figura 12</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do tri- <i>O</i> -acetil- <i>D</i> -glucal.....   | 50 |
| <b>Figura 13</b> - Esquema da reação de síntese do <i>O</i> -glicosídeo-2,3-insaturado.....   | 51 |
| <b>Figura 14</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do <i>O</i> -glicosídeo-2,3-insaturado...52   |    |
| <b>Figura 15</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do <i>O</i> -glicosídeo-2,3-insaturado....53  |    |
| <b>Figura 16</b> - Esquema da reação de síntese do glicosídeo hidrolisado.....  | 54 |
| <b>Figura 17</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do glicosídeo hidrolisado.....  | 55 |
| <b>Figura 18</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do glicosídeo hidrolisado.....  | 55 |
| <b>Figura 19</b> - Esquema da reação de síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou glicosídeo oxidado, contendo o grupamento farmacofórico acceptor de Michael..... | 56 |
| <b>Figura 20</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do glicosídeo oxidado.....  | 57 |
| <b>Figura 21</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do glicosídeo oxidado.....  | 58 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| <b>Gráfico 1</b> - Prováveis casos de dengue na paraíba até a 34ª semana de 2018 e 2019..... | 28 |
|--|----|

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1</b> - Arquitetura molecular e nomenclatura dos candidatos a fármacos.....                      | 39 |
| <b>Tabela 2</b> - Resultado das propriedades farmacocinéticas dos candidatos.....                          | 41 |
| <b>Tabela 3</b> - Resultados preditivos da bioatividade dos candidatos nos sistemas biológicos.....        | 43 |
| <b>Tabela 4</b> - Resultados da toxicidade dos candidatos.....   | 44 |
| <b>Tabela 5</b> - Resultados da $DL_{50}$ , <i>drug score</i> e <i>drug likeness</i> dos candidatos.....   | 46 |
| <b>Tabela 6</b> - Dados espectrométricos do tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal.....                            | 49 |
| <b>Tabela 7</b> - Dados espectrométricos do O-glicosídeo-2,3-insaturado.....                               | 51 |
| <b>Tabela 8</b> - Dados espectrométricos do glicosídeo hidrolisado.....                                    | 54 |
| <b>Tabela 9</b> - Dados espectrométricos do glicosídeo oxidado.....  | 57 |
| <b>Tabela 10</b> - Concentrações utilizadas frente as artêmias para a obtenção da $CL_{50}$ .....          | 59 |
| <b>Tabela 11</b> - Resultados da $CL_{50}$ frente as artêmias.....   | 60 |
| <b>Tabela 12</b> - Resultados do teste toxicológico frente a larvas do mosquito <i>Aedes aegypti</i> ..... | 61 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|   |  |
|---|--|
| <b>%ABS</b>                             | Percentual de absorção oral teórico  |
| <b><math>\delta</math></b>              | Deslocamento químico   |
| <b><math>[\alpha]^{20}_D</math></b>     | Rotação específica   |
| <b><math>v_{max}</math></b>             | Número de ondas.   |
| <b>100% M/M</b>                         | 100% massa/massa   |
| <b>Å</b>                                | Angstrom   |
| <b>Ac<sub>2</sub>O</b>                  | Anidrido acético   |
| <b>AcOH</b>                             | Ácido acético  |
| <b>CCD</b>                              | Cromatografia em camada delgada  |
| <b>CDC</b>                              | Centro de controle e prevenção de doenças  |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>                 | Clorofórmio deuterado  |
| <b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>     | Diclorometano  |
| <b>CL<sub>50</sub></b>                  | Concentração letal para matar 50% dos indivíduos                                     |
| <b>CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</b> | Sulfato de cobre pentahidratado  |
| <b><i>D</i></b>                         | Dupleto  |
| <b><i>Dd</i></b>                        | Dupleto de dupleto   |
| <b><i>DI</i></b>                        | Dupleto largo  |
| <b>DL<sub>50</sub></b>                  | Dose letal necessária para matar 50% dos indivíduos                                  |
| <b>DMSO</b>                             | Dimetilsulfóxido   |
| <b><i>Dt</i></b>                        | Dupleto de tripleto  |
| <b>EtOH</b>                             | Etanol   |
| <b>GHS</b>                              | Sistema globalmente harmonizado de classificação e de rotulagem de produtos químicos |
| <b>GPCR</b>                             | Receptores acoplados à proteína G  |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>                   | Água   |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>      | Ácido sulfúrico  |
| <b>Hbr</b>                              | Ácido bromídrico   |
| <b>Hz</b>                               | Hertz  |

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| <b>IV</b>                          | Infravermelho                                       |
| <b>J</b>                           | Constante de acoplamento                            |
| <b>K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b> | Carbonato de potássio                               |
| <b>KBr</b>                         | Brometo de potássio                                 |
| <b>KBr</b>                         | Brometo de potássio                                 |
| <b>L-4</b>                         | Quarto estágio de larva                             |
| <b>LASO</b>                        | Laboratório Aplicado de Síntese Orgânica            |
| <b>Log P</b>                       | Coefficiente de partição                            |
| <b>M</b>                           | Multipeto   |
| <b>MeOH</b>                        | Metanol   |
| <b>MHz</b>                         | Mega-hertz  |
| <b>MMOL</b>                        | Milimol   |
| <b>MnO<sub>2</sub></b>             | Dióxido de manganês                                 |
| <b>nALH</b>                        | Número de aceptores de ligação hidrogênio           |
| <b>NaOAc</b>                       | Acetato de sódio                                    |
| <b>nDLH</b>                        | Número de doadores de ligação hidrogênio            |
| <b>OAc</b>                         | Grupo acetoxi                                       |
| <b>OMS</b>                         | Organização mundial de saúde                        |
| <b>PF</b>                          | Ponto de fusão                                      |
| <b>PM</b>                          | Peso molecular                                      |
| <b>QSAR</b>                        | <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i> |
| <b>QSTR</b>                        | <i>Quantitative Structure Toxicity Relationship</i> |
| <b>RMN</b>                         | Ressonância magnética nuclear                       |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b>          | Ressonância magnética nuclear de carbono 13         |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b>           | Ressonância magnética nuclear de hidrogênio         |
| <b>RTECS</b>                       | Registro de efeitos tóxicos de substâncias químicas |
| <b>S</b>                           | Simpleto  |
| <b>SI</b>                          | Simpleto largo                                      |
| <b>T</b>                           | Tripleto  |
| <b>TMS</b>                         | Tetrametilsilano                                    |
| <b>TPSA</b>                        | Área da superfície polar topológica                 |

**Zn**

Zinco

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | 16 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....  | 19 |
| <b>2.1 Objetivo geral</b> .....   | 19 |
| <b>2.2 Objetivos específicos</b> .....  | 19 |
| <b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....  | 20 |
| <b>3.1 Tecnologia Computacional – Métodos <i>in silico</i></b> .....  | 20 |
| <b>3.2 Carboidratos</b> .....   | 22 |
| <b>3.3 <i>Aedes aegypti</i></b> .....   | 26 |
| <b>3.4 <i>Artemia salina</i> Leach</b> .....  | 29 |
| <b>4 METODOLOGIA</b> .....  | 32 |
| <b>4.1 Locais da pesquisa</b> .....   | 32 |
| <b>4.2 Equipamentos e análise de dados</b> .....  | 32 |
| <b>4.3 Materiais, solventes e reagentes</b> .....   | 33 |
| <b>4.4 Construção da arquitetura molecular</b> .....  | 33 |
| <b>4.5 Análises <i>in silico</i></b> .....  | 33 |
| <b>4.5.1 <i>Osiris property explorer</i></b> .....  | 33 |
| <b>4.5.2 <i>Molinspiration property calculator</i></b> .....  | 34 |
| <b>4.5.3 <i>Protox-II</i></b> .....   | 34 |
| <b>4.6 Procedimento para a síntese do 3,4,6-tri-<i>O</i>-acetil-<i>D</i>-glucal</b> .....   | 35 |
| <b>4.7 Procedimento para a síntese do prop-2-in-1-il 4,6-di-<i>O</i>-acetil-2,3-didesoxi-<math>\alpha</math>-<i>D</i>-eritro-hex-2-enopiranosídeo</b> ..... | 35 |
| <b>4.8 Procedimento para a síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-<math>\alpha</math>-<i>D</i>-eritro-hex-2-enopiranosídeo</b> .....                        | 36 |



|   |           |
|---|-----------|
| <b>4.9 Procedimento para a síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose.....</b> | <b>36</b> |
| <b>4.10 Bioensaio frente a larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....</b>                         | <b>37</b> |
| <b>4.11 Análise estatística do bioensaio frente a <i>Artemia salina</i> Leach.....</b>            | <b>38</b> |
| <b>4.12 Bioensaio frente a larvas do <i>Aedes aegypti</i>.....</b>                                | <b>38</b> |
| <b>4.13 Análise estatística do bioensaio frente a larvas do <i>Aedes aegypti</i>.....</b>         | <b>38</b> |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>  | <b>39</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO.....</b>   | <b>63</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b>  |           |

## 1 INTRODUÇÃO

Durante a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, inúmeros protótipos de fármacos são descartados devido a problemas relacionados a farmacodinâmica, farmacocinética e toxicidade. Diante disto, é necessário a utilização de meios que visem avaliar estes parâmetros, e um destes, é a utilização de técnicas *in silico*, um método computacional que apresenta elevada exatidão, reprodutibilidade, possuem custos exorbitantemente menores e não necessita do uso de animais (SRINIVAS et al., 2014). Essas ferramentas computacionais permitiram uma otimização do tempo e dos custos operacionais, além de dispensarem os experimentos utilizando animais (MAFUD et al., 2016).

Adicionalmente, outra alternativa para contornar os experimentos com animais vertebrados são os modelos *in vitro* como por exemplo, o bioensaio toxicológico utilizando a *Artemia salina* Leach. Este bioensaio serve como um teste preliminar no estudo de substâncias que tenham uma potencial atividade biológica, uma vez que permite a avaliação e a descoberta da toxicidade geral. Frente a isto, as artêmias são pequenos crustáceos empregadas na avaliação prévia da toxicidade de substâncias de origem natural ou sintética, devido sua simplicidade, rapidez, sensibilidade e baixo custo (BELÉM et al., 2015; RAJABI et al., 2015).

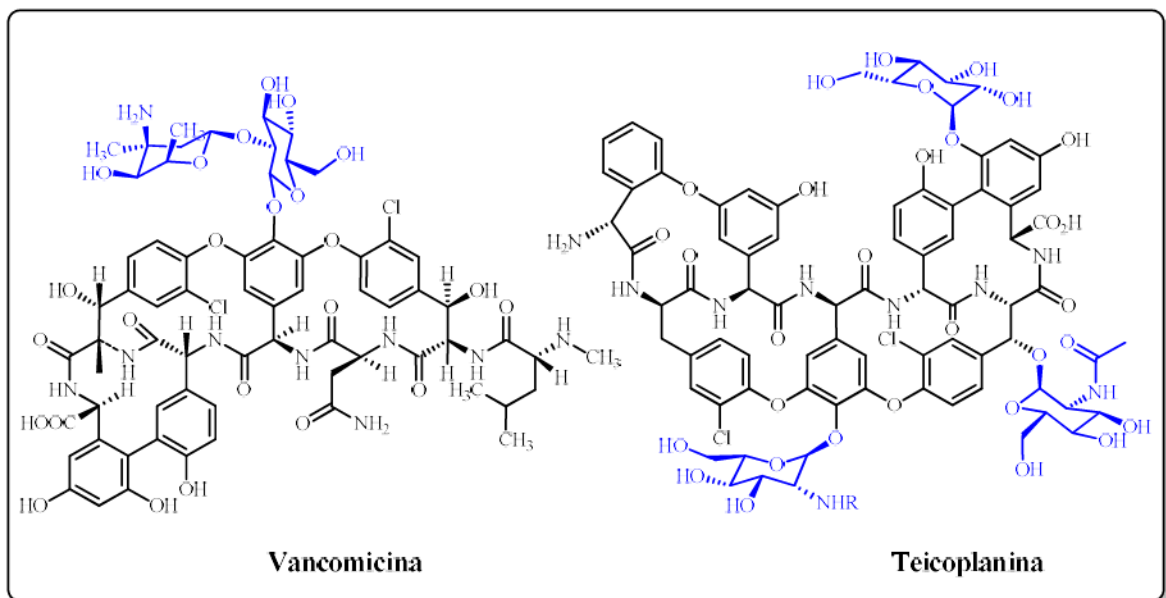
O uso de modelos *in vitro* servem de grande utilidade no processo de desenvolvimento de fármacos. Tendo em vista que o número de pessoas acometidas por patologias cresce a cada dia, tornando-se essencial métodos que otimizem o desenvolvimento de fármacos que sejam eficazes contra estas patologias. Na contemporaneidade, devido ao crescente número de doenças e epidemias, é justificável que a introdução de novos medicamentos venha crescendo, estimulando o desenvolvimento de pesquisas que visem a procura por compostos que apresentem potencialidades farmacológicas, já que estes são de suma importância para a sociedade (MOURA et al., 2018).

Uma das doenças que vem causando diversos problemas de saúde pública no Brasil é a dengue, transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*. De acordo com Brasil (2019b), em até 24 de agosto de 2019, já foram registrados quase 1,5 milhões prováveis casos de dengue em todo o país. Neste sentido, o governo tem investido em pesquisas para o desenvolvimento de agentes que sirvam no tratamento da dengue e na erradicação do seu vetor, com isto, os compostos provindos da natureza, como os produtos naturais, são uma ótima opção. A natureza propicia a descoberta de inúmeras moléculas farmacologicamente ativas, servindo como fonte de recursos terapêuticos, entretanto, obter quantidades significativas de moléculas bioativas provindas da natureza, é ímprobo (CRAGG, NEWMAN, 2013; SILVA, 2015a).

Uma classe de compostos que são abundantemente encontrados em fontes naturais, são os carboidratos, componentes essenciais para os sistemas biológicos, uma vez que regulam diversos processos bioquímicos, como a resposta imunológica, proliferação e diferenciação celular (WU et al., 2015; DELBIANCO et al., 2016; AGIRRE et al., 2017). Os carboidratos possuem características estruturais úteis na busca de novos compostos bioativos que possam vir a alcançar os requisitos necessários para ser um bom fármaco, tais como propriedades relacionadas a atividade, seletividade, toxicidade, tempo de meia vida, dentre outros (NASCIMENTO-JUNIOR, 2015).

Essas biomoléculas apresentam diversas atividades farmacológicas, a citar: ação antineoplásica, anti-inflamatória, antibiótica, antiprotozoária, antiviral, antitrombótica, anti-ulcerogênica, dentre outras (ALMEIDA, 2015; LEODIDO et al., 2017; FIGUEREDO, 2018). Alguns exemplos de importantes fármacos que possuem carboidratos em sua arquitetura são a vancomicina e teicoplanina, principais antibióticos utilizados contra infecções causadas por bactérias gram-positivas (XAVIER; RAUTER, 2012). A Figura (1) esboça as estruturas da vancomicina e teicoplanina, com destaque em azul para os grupamentos de carboidratos.

**Figura 1. Estrutura da vancomicina e teicoplanina.**



**Fonte: Próprio autor, 2019.**

Devido as suas propriedades químicas, os carboidratos têm sido submetidos a diferentes tipos de modificações estruturais pela área sintética, objetivando a descoberta de um novo composto com potenciais terapêuticos (NIGUDKAR; DEMCHENKO, 2015). Dentre essas

modificações, uma que vem se destacando é a introdução do grupamento farmacofórico denominado de aceptor de Michael. Os aceptores de Michael mais conhecidos são as cetonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, por serem ativas contra diversas células tumorais (BARROS, 2015; SANTOS et al., 2017a).

Nesta perspectiva, a química farmacêutica e sintética dispõem de inúmeras ferramentas e métodos que agilizam e otimizam o processo da descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, a citar as avaliações *in silico*, que além de utilizarem *softwares*, fazem uso de modelos matemáticos e estatísticos, com eficácia comprovada, a fim de prever as prováveis características biológicas e farmacológicas de uma molécula em um período curto de tempo (TOROPOVA, 2017).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho consiste em desenhar quatro candidatos a fármaco para avaliar suas propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas com o auxílio de ferramentas *in silico*, depois sintetizar o candidato mais promissor e avaliar sua toxicidade por métodos *in vitro*, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* Leach e larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Desenhar quatro candidatos a fármaco com uma unidade aceptora de Michael e;
- realizar um levantamento de suas características farmacológicas e toxicológicas por métodos *in silico* e;
- sintetizar o candidato mais promissor, partindo da síntese e caracterização do tri-*O*-acetil-D-glucal e;
- promover a reação de glicosidação para a obtenção do prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo e;
- caracterizar o prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo e;
- promover a reação de hidrólise a fim de levar ao prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo e;
- caracterizar o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo e;
- promover a reação de oxidação a fim de obter o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose e;
- caracterizar o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose e;
- determinar a toxicidade do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose frente à *Artemia salina* Leach e;
- determinar a toxicidade do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose frente às larvas do *Aedes aegypti*.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Tecnologia Computacional - Métodos *in silico*

A descoberta de novos fármacos é um processo de grande complexidade, o qual requer tempo e investimento de diferentes setores como, por exemplo, do setor industrial (OLIVEIRA et al., 2018). As indústrias evoluíram bastante e continuam crescendo a cada dia, principalmente devido os avanços tecnológicos. As pesquisas farmacêuticas por exemplo, tem passado por diversas aprimorações, decorrentes dos avanços tecnológicos (GUERRA, 2019). Neste sentido, um grande número de tecnologias computacionais tem sido aplicadas no planejamento e desenvolvimento de novos candidatos a fármaco, e uma das áreas que tem se destacado é a Química Medicinal, que com ajuda de técnicas de triagem virtual (*virtual screening*) e da modelagem molecular, tem sintetizado diversos compostos farmacologicamente ativos e ótimos candidatos a fármacos (GOMES, 2019).

A química medicinal visa o desenvolvimento, otimização e busca de novos fármacos através da conciliação de áreas como a farmácia, química, biologia, medicina e bioinformática (MASCARENHAS et al., 2019). Esta área baseia-se em modelos como a *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR, tradução: Relação Quantitativa Estrutura-Atividade) e *Quantitative Structure-Toxicity Relationship* (QSTR, tradução: Relação Quantitativa Estrutura-Toxicidade) para estabelecer uma relação matemática fidedigna entre propriedades físico-químicas, toxicológicas, farmacológicas e biológicas de um determinado composto (MASCARENHAS et al., 2019; SRINIVAS et al., 2014).

O uso de estratégias computacionais tem proporcionado grandes avanços no árduo processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos, principalmente por mapearem a estrutura tridimensional de alvos moleculares e ligantes, facilitando a identificação de novos candidatos, além disso, são responsáveis por otimizar o tempo das pesquisas à custos financeiros bem menores e nortear as pesquisas, uma vez que diminui o número de procedimentos necessários para a seleção, desenvolvimento e avaliação das propriedades dos candidatos a fármacos (BARBOSA, 2014; FERREIRA et al., 2015).

O grande número de compostos orgânicos explorados no processo da descoberta de fármacos requer o emprego de métodos rápidos e precisos, capazes de identificar, dentre outras, suas prováveis atividades farmacológicas. Uma das principais técnicas utilizadas para este fim são as técnicas *in silico*, métodos computacionais que apresentam como vantagens, a não

utilização de animais, custos exorbitantemente menores, um menor tempo de análise, reprodutibilidade, rapidez e exatidão (SRINIVAS et al., 2014; GOMES, 2019).

Estes estudos têm sido essenciais em pesquisas que buscam avaliar diversas propriedades e características de compostos alvo, afim de identificar características que fomentem o desenvolvimento de estudos mais avançados envolvendo estes compostos (SRINIVAS et al., 2014). As técnicas *in silico* tem sido como uma alternativa para diminuir ou até mesmo substituir testes clínicos, uma vez que implementam conhecimento e racionalidade a cada etapa do processo de descoberta de um novo agente terapêutico, baseando-se em modelos biorreguladores humanos para gerar informações quanto às características farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas das moléculas testadas, além de outros possíveis usos. (SANTOS, 2011; SRINIVAS et al., 2014).

Diante disto, estas técnicas auxiliam na construção de diversas propriedades (farmacodinâmica, farmacocinética e toxicológica), permitindo entender como elas influenciam na ação farmacológica e como podem ser moduladas para evitar a eliminação de bons candidatos devido a características farmacodinâmicas, farmacocinéticas ou toxicológicas desfavoráveis (FOWLER et al., 2017). Um dos métodos *in silico* de vital importância são os que envolvem parâmetros toxicológicos. Os estudos toxicológicos por métodos *in silico* são amplamente utilizados, uma vez que dispõem de métodos computacionais e algoritmos matemáticos eficazes para simular os possíveis efeitos tóxicos frente aos sistemas biológicos, além de compreender como se desenvolvem (TOROPOVA, 2017).

Diversas informações de suma importância no desenvolvimento de um candidato a fármaco, podem ser obtidas utilizando a toxicologia *in silico*, tais como: massa molecular, dose letal necessária para matar 50% dos indivíduos (DL<sub>50</sub>), coeficiente de partição (log P), mutagenicidade, imunotoxicidade, dentre outros (MASCARENHAS et al., 2019). Adicionalmente, técnicas de simulação de absorção do fármaco por via oral, por exemplo, são também muito utilizadas, principalmente por estabelecer estratégias no desenvolvimento da formulação, facilitar o processo de seleção e determinar a velocidade e a extensão da absorção (BARBOSA, 2014).

Dentro destas perspectivas, as pesquisas farmacêuticas caminham para processos mais racionais que levem a novas entidades químicas com promissores perfis farmacológicos. Neste sentido, uma classe de compostos orgânicos que tem demonstrado ser bastante promissora são os carboidratos, moléculas que nos fornecem informações estruturais úteis na busca de novos compostos bioativos que possam vir a alcançar os requisitos necessários para ser um bom

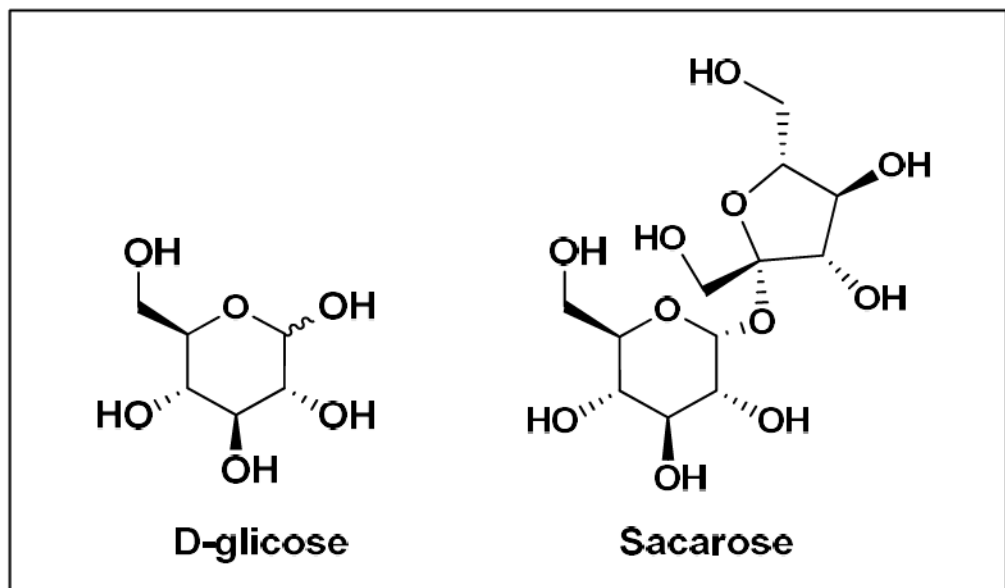
fármaco, tais como propriedades relacionadas a atividade, seletividade, toxicidade, tempo de meia vida, dentre outros (NASCIMENTO-JUNIOR, 2015).

### 3.2 Carboidratos

A natureza propicia a descoberta de inúmeras moléculas farmacologicamente ativas, servindo como fonte de recursos terapêuticos, entretanto, obter quantidades significativas de moléculas bioativas provindas da natureza, é ímprobo, principalmente se sua origem for de fontes escassas e de difícil acesso (CRAGG, NEWMAN, 2013; SILVA, 2015a). Neste sentido, uma classe de compostos que são facilmente encontrados na natureza e em abundância, são os carboidratos, biomoléculas de grande complexidade estrutural que estão presentes em diversos seres vivos, representando a maior classe de compostos naturais (BANDERA et al., 2014).

Estas biomoléculas podem ser facilmente encontradas em nosso cotidiano, a citar: a d-glicose e a sacarose (Figura 2), a celulose e o amido (FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2009).

Figura 2. Estrutura da d-glicose e sacarose.



Fonte: Próprio autor, 2019.

Os carboidratos são biomoléculas polifuncionais que fazem parte, juntamente com os lipídios, ácidos nucleicos e proteínas, das quatro principais classes de biomoléculas essenciais para os organismos vivos (BANDERA et al., 2014; FONTAN, AMADIO, 2015). Sua estrutura molecular é constituída principalmente por átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, podendo



apresentar também átomos de nitrogênio, enxofre ou fósforo, entretanto, a fórmula geral utilizada para estes compostos ainda é a  $(C_nH_2O)_n$ , onde  $n \geq 3$  (FONTAN, AMADIO, 2015; JOOSTEN, LUTTEKE, 2017).

Uma das mais relevantes características dos carboidratos é que suas unidades monoméricas podem se ligar entre si de diferentes maneiras, ao contrário de outras classes de biomoléculas como as proteínas e ácidos nucleicos, que fazem apenas um tipo de ligação (SACHETT, VERLI, 2011; DELBIANCO et al., 2016). Os carboidratos são componentes essenciais para os sistemas biológicos uma vez que regulam diversos processos bioquímicos, como a proliferação celular, diferenciação e resposta imunológica (WU et al., 2015; DELBIANCO et al., 2016; AGIRRE et al., 2017).

Estas importantes biomoléculas estão inseridas em uma enorme variedade de constituintes celulares, apontando nestes, distintas e importantes ações, as quais juntamente com os lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas, proporcionam a integridade celular, além de manter os processos fisiológicos, metabólicos e genéticos dos organismos vivos (DELBIANCO et al., 2016). No entanto, as funções mais conhecidas desempenhadas por esta classe, são o transporte e armazenamento de energia, através da Adenosina Trifosfato, participando do metabolismo energético, além disto, fazem parte também da composição da parede celular de vegetais e fungos (WU et al., 2015).

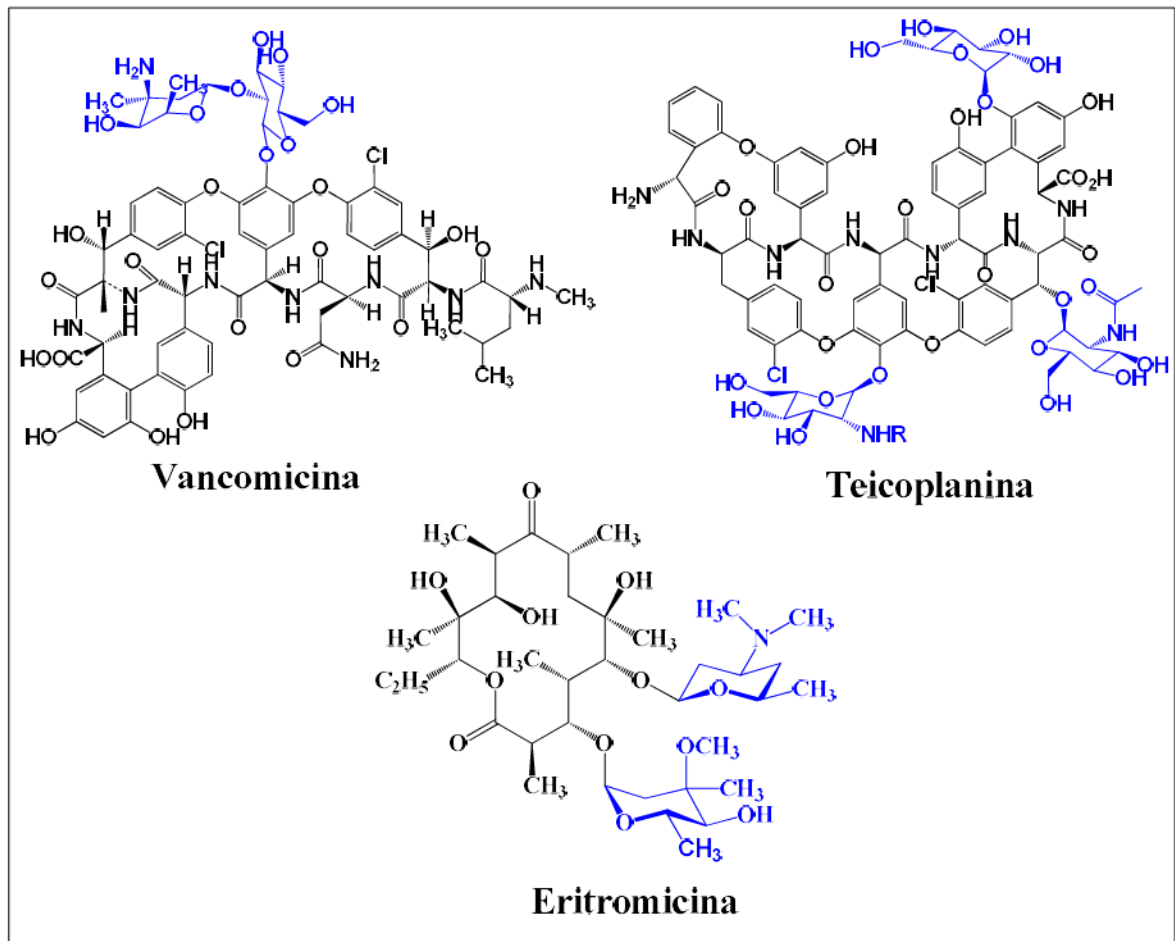
Adicionalmente, os carboidratos estão envolvidos em mecanismos distintos de reconhecimento molecular, como aqueles associados a respostas imunológicas e como sinalizadores no organismo, além de auxiliar na preservação das proteínas, fazendo parte da manutenção, reparação e também do processo de crescimento dos tecidos corporais (BONDUELLE; LECOMMANDOUX, 2013). Além disso, medeiam muitos processos biológicos, tais como a metástase, a defesa imune, a transdução de sinal e o crescimento celular, funções que em sua maioria, são desempenhadas por uma glicoproteína, um carboidrato sinalizador conjugado a uma proteína, a qual atua como sítio receptor, transmitindo sinais de moléculas como os hormônios, para o interior da célula (BONDUELLE, LECOMMANDOUX, 2013; NIGUDKAR, DEMCHENKO, 2015; AGIRRE et al., 2017).

A importância dos carboidratos nos sistemas biológicos é indubitável, visto que sua presença nos mais diferentes componentes celulares os coloca no centro de uma multiplicidade de eventos biológicos. O entendimento da estrutura dessas biomoléculas é primordial para o reconhecimento de suas inúmeras funções nos sistemas biológicos, neste sentido, estas biomoléculas apresentam diversas atividades, a citar: ação antitrombótica, antineoplásica, anti-

inflamatória, antiviral, antibiótica, antiprotozoária, anti-ulcerogênica, dentre outras (ALMEIDA, 2015; LEODIDO et al., 2017; FIGUEREDO, 2018;).

Alguns exemplos de importantes fármacos que possuem carboidratos em sua arquitetura são a vancomicina, teicoplanina e eritromicina, principais antibióticos utilizados contra infecções causadas por bactérias gram-positivas (XAVIER; RAUTER, 2012). A Figura (3) demonstra as estruturas da Vancomicina, Teicoplanina e Eritromicina, com destaque aos grupamentos de carboidratos. Adicionalmente, a literatura cita diversos fármacos que contém carboidratos em sua estrutura, tais como o anti-inflamatório Salicilina (SILVA, 2019), o antiviral Macrolactina (ZENG et al., 2012), os antibióticos Gentamicina e Eritromicina (MOURA et al., 2019).

**Figura 3. Estrutura molecular da vancomicina, teicoplanina e eritromicina.**



Fonte: Próprio autor, 2019.

Diante destas e de outras funções desempenhadas pelos carboidratos, é justificável o interesse por essas biomoléculas, principalmente por parte da indústria farmacêutica e da

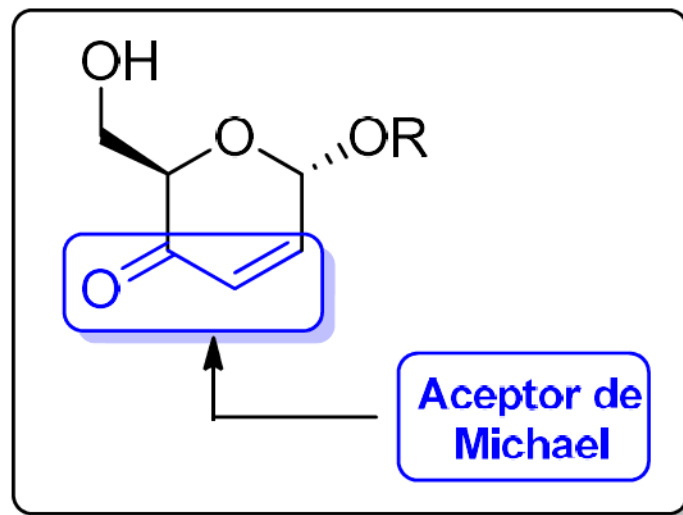
comunidade científica. Com isto, elas são muito cobiçadas pela química medicinal e sintética, por possuírem propriedades químicas bem peculiares, que favorecem o processo de modificação em sua arquitetura molecular (NIGUDKAR; DEEMCHENKO, 2015).

Como consequência, os carboidratos têm sido submetidos a diferentes tipos de transformações, principalmente pelos químicos sintéticos, que buscam na modificação estrutural, uma ferramenta para potencializar as atividades terapêuticas e minimizar problemas relacionados com a toxicidade e efeitos colaterais.

Assim, a realização de modificações na estrutura de substâncias compatíveis com os sistemas biológicos, como os carboidratos, pode otimizar suas atuais propriedades, reduzir sua toxicidade e possibilitar novas aplicações farmacoterapêuticas (DELBIANCO et al., 2016; LEODIDO et al., 2017). Neste sentido, uma modificação interessante nos prováveis candidatos a fármacos, é a incorporação nas suas estruturas químicas de um fragmento molecular denominado de aceptor de Michael, um grupamento farmacofórico que apresenta a conjugação  $-(C=C)_n-R$ , em que R pode ser um carbonil, imina, imínio, ciano, nitro ou sulfonila (BERA et al., 2015; WANG et al., 2015).

As cetonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas são as moléculas mais bem conhecidas que contém os grupamentos aceptores de Michel (Figura 4) e são uma das unidades farmacofóricas mais ativas contra diversas linhagens de células tumorais (BARROS, 2015; SANTOS et al., 2017a).

**Figura 4. Estrutura molecular contendo um grupamento aceptor de Michael.**

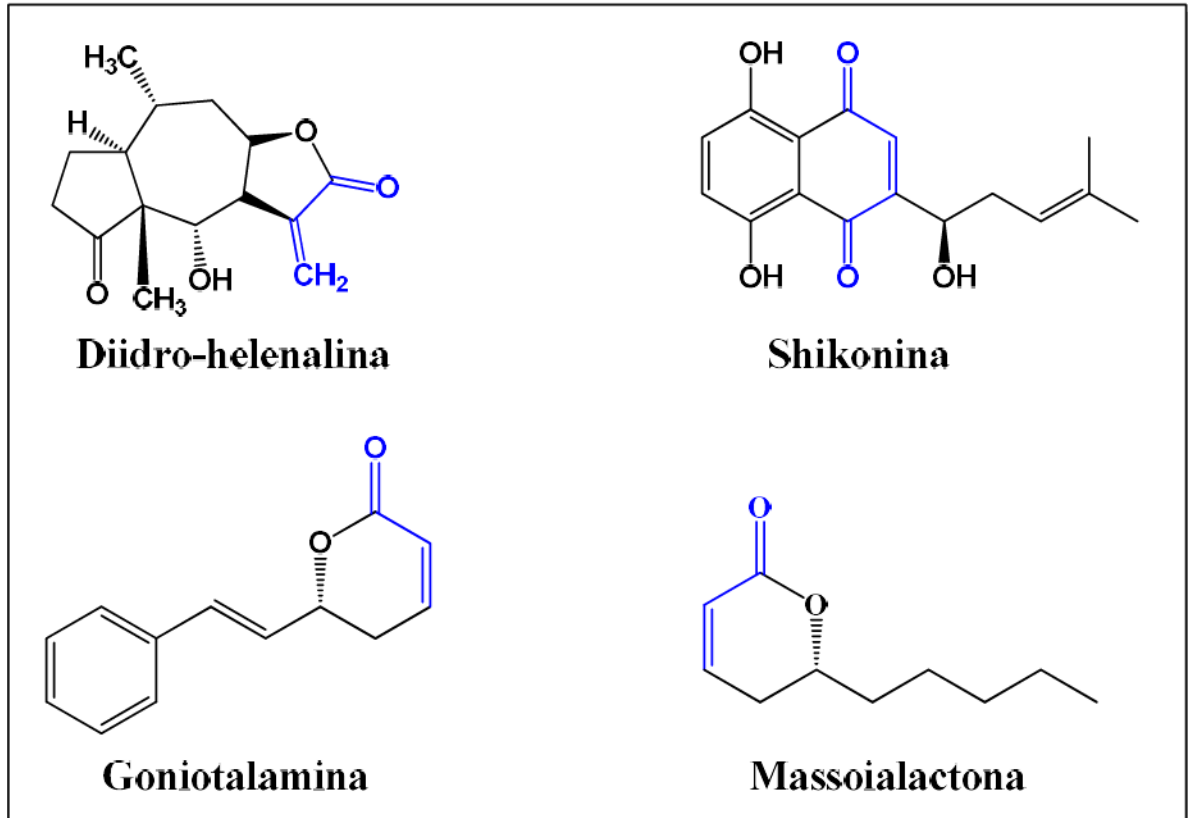


**Fonte: Próprio autor, 2019.**

A literatura relata inúmeros produtos naturais e sintéticos que possuem atividades farmacológicas e que apresentam em sua arquitetura molecular a unidade farmacofórica

aceptora de Michael, a citar: a diidro-helenalina (BARREIRO; FRAGA, 2015), shikonina (SU et al., 2010), goniotalamina (SEMPREBON et al., 2015) e massoialactona (BARROS, 2015) (Figura 5).

**Figura 5. Produtos naturais e sintéticos contendo uma unidade aceptora de Michael.**



Fonte: Próprio autor, 2019.

### 3.3 *Aedes aegypti*

O *Aedes aegypti* é um mosquito de origem africana, com listras brancas no tronco e pernas (Figura 6), possui hábitos diurnos, atua pela manhã e ao entardecer (ENGD AHL et al., 2015; BRITO, 2018). Como ele possui hábitos diurnos, é justificável que os países tropicais acabem sendo os mais atingidos, em razão de suas favoráveis características climáticas, ambientais e sociais (COSTA et al., 2018).

Este mosquito é o vetor das quatro principais arboviroses (dengue, febre amarela, Zika Vírus e Chikungunya) que vem mobilizando os principais órgãos públicos de saúde no combate a sua reprodução e disseminação (SOCIEDADE PORTUGUESA DE BENEFICÊNCIA DE SANTOS, 2018).

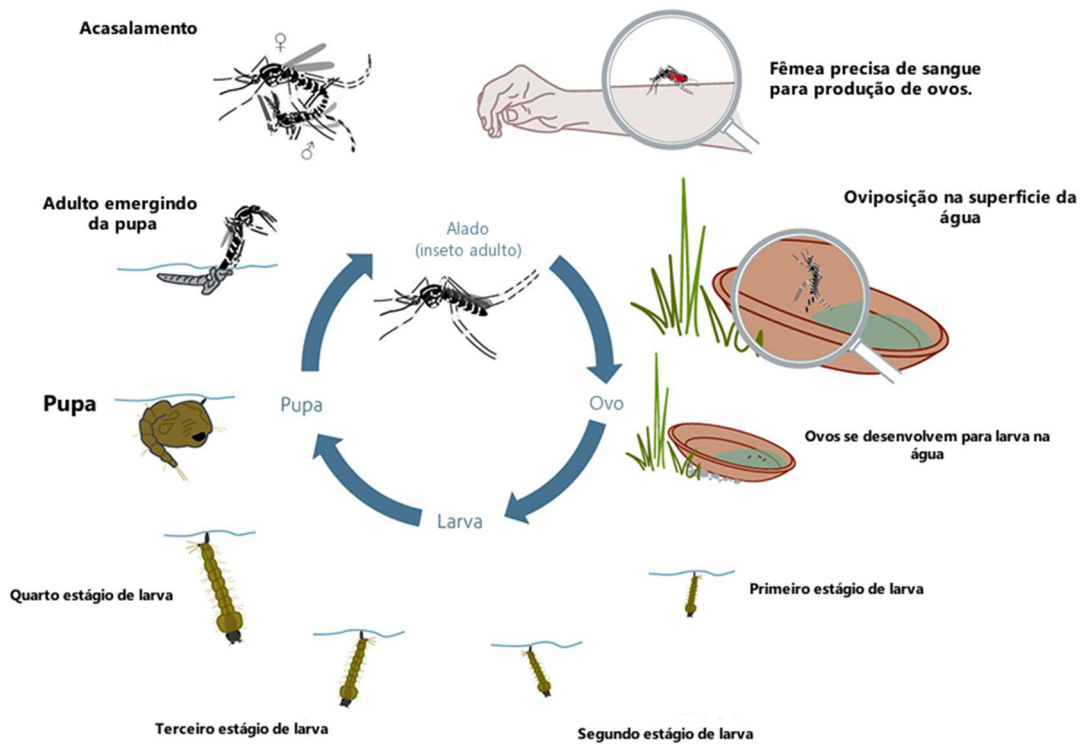
Figura 6. Fisionomia do *Aedes aegypti*.



Fonte: PESQUISA MENSAL DO COMÉRCIO, 2018.

O *Aedes aegypti* apresenta um ciclo de vida (Figura 7) que corresponde a quatro fases: ovo, larva (apresenta estágios denominado: L-1, L-2, L-3 e L-4), pupa e adultos (BRITO, 2018).

Figura 7. Ciclo de vida do *Aedes aegypti*.

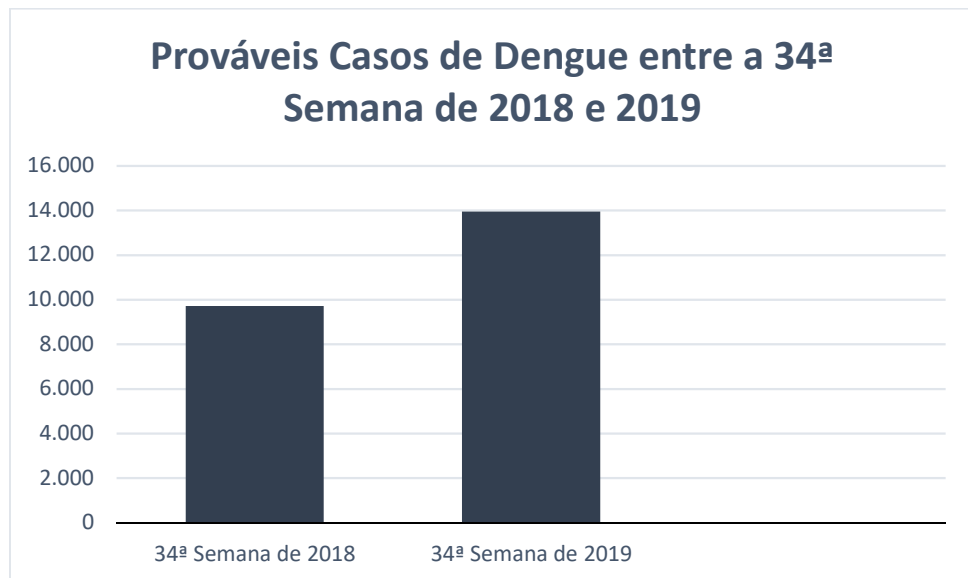


Fonte: SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 2019.

Dentre as arboviroses transmitidas pelo mosquito, a dengue se destaca, tornando-se um dos principais problemas de saúde pública no mundo e objeto da maior campanha de saúde pública no Brasil. De acordo com Brasil (2019b), em até 24 de Agosto de 2019, já foram registrados quase 1,5 milhões prováveis casos de dengue em todo o país, com crescimento de aproximadamente 600% em relação ao mesmo período de 2018 e uma taxa de incidência de 690,4 casos/100 mil habitantes, ainda, já foram registrados 591 casos de óbitos.

O Gráfico (1) faz um comparativo entre o total dos prováveis número de casos até a 34ª semana (24 de Agosto) de 2018 e 2019 no estado da Paraíba, demonstrando que houve um aumento de 43,66% nos casos de 2019 (13.959), se comparado com o mesmo período em 2018 (9.717 casos) (BRASIL, 2019a). Este aumento pode ser justificado por diversos fatores, tais como alterações ambientais (alto volume de chuvas e altas temperaturas), crescente urbanização provindo com saneamento básico deficiente, mudanças no sorotipo predominante, dentre outros (BRASIL, 2019c).

**Gráfico 1. Prováveis casos de dengue na paraíba até a 34ª semana de 2018 e 2019.**



**Fonte: Próprio autor, 2019.**

A dengue pode ser causada por quatro sorotipos de vírus, a citar: DENV – 1, DENV- 2, DENV- 3 e DENV- 4, além destes, estudos afirmam que o vetor também transmite um sorotipo novo, DENV-5, mas no Brasil não há registros de pessoas infectadas por este sorotipo (MUSTAFA et al., 2015; RODRIGUES; COSTA; LIMA, 2018). Esses cinco sorotipos de vírus causam grandes problemas para a saúde pública, pois, além de colaborar para o surgimento de epidemias de dengue, aumentam a taxa de modificações genéticas dos tipos virais, e com isso,

aumentam a possibilidade do aparecimento de genótipos virais mais expressivos, de uma maior facilidade de transmissão, maior capacidade de replicação e com grande potencial epidêmico ou de virulência (GÚZMAN; GARCÍA; KOURÍ, 2006; RIVERA; RODRÍGUEZ, 2010).

A dengue é transmitida aos seres humanos através da picada do mosquito *Aedes aegypti* fêmea durante sua alimentação. Somente as fêmeas se alimentam de sangue, pois precisa do mesmo para a maturação de seus ovos, enquanto que os machos se alimentam de substâncias vegetais e açucaradas (BRASIL, 2019b). Diante da realidade dos casos notificados, algumas estratégias para o controle e erradicação do vetor *Aedes aegypti* são de vital importância, destacando-se principalmente a utilização de produtos químicos e biológicos adaptados a programas de manejo ambiental capazes de erradicar formas larvais e insetos adultos (TORES et al, 2014).

Por exemplo, o piriproxifeno é um dos larvicidas mais utilizado no Brasil, se destacando por apresentar grande potencial para substituir a toxina do *Bacillus Thuringiensis israelensis*, a qual ocasionou resistência ao *Aedes aegypti* (BRITO, 2018). Este agente químico atua interrompendo o crescimento do inseto, inibindo o desenvolvimento de suas características adultas, como a maturação dos órgãos reprodutivos, a asa e a genitália externa (BRITO, 2018).

Em vista desta resistência adquirida pelo mosquito, os pesquisadores vêm buscando novas substâncias naturais ou sintéticas, “isentas” de toxicidade para o ambiente, que sejam eficazes no combate ao mosquito *Aedes aegypti* no seu estágio larval e adultos (PEREIRA et al., 2014). Tendo em vista os dados alarmantes de casos de dengue no País, torna-se assim, de suma importância a descoberta de novos métodos de erradicação ao seu vetor

### **3.4 *Artemia salina* Leach**

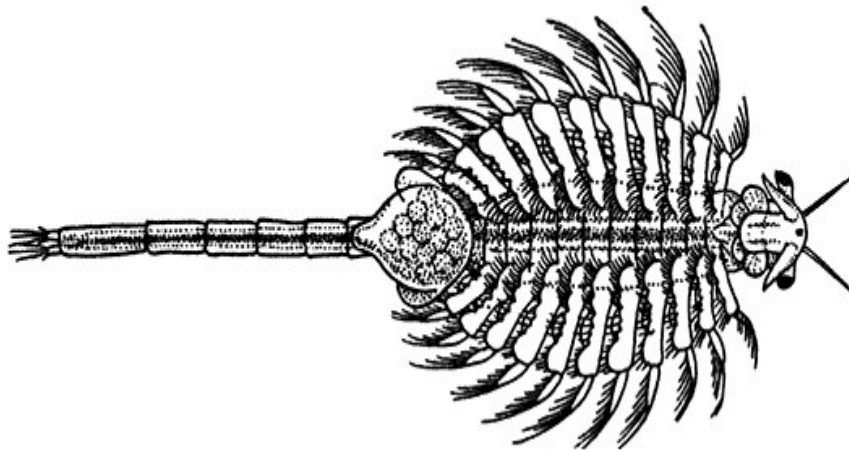
O bioensaio toxicológico serve como um teste precedente no estudo de substâncias que tenham uma potencial atividade biológica, uma vez que permite a avaliação e a descoberta da toxicidade geral. Um dos bioensaios *in vitro* que tem se destacado na comunidade científica, é o bioensaio toxicológico utilizando a *Artemia salina* Leach, um microcrustáceo zooplânctônico da ordem Anostraca e família *Artemiidae*, encontrado em ambientes marinhos (RAJABI et al., 2015).

A *Artemia salina* é uma espécie de crustáceo amplamente utilizada na avaliação prévia da toxicidade de substâncias de origem natural ou sintética (BELÉM et al., 2015). Esta espécie possui uma grande distribuição geográfica e uma alta adaptabilidade, além de ser bastante utilizada na aquicultura como alimento para peixes aquaristas e até mesmo de outros crustáceos

(SOUZA; OLIVEIRA, 2015). Estes crustáceos são seres filtradores que estão sempre em locomoção, e por causa disso, qualquer alteração em seu ambiente afeta sua população (BEDNARCZUK et al., 2010).

Os cistos (forma de resistência) deste microcrustáceo mantêm-se viáveis por anos em armazenamento adequado e podem ser facilmente adquiridos no comércio por um preço acessível (POMPILHO; MARCONDES & OLIVEIRA, 2014). A Figura (8) demonstra a fisionomia de uma artêmia.

**Figura 8. *Artemia salina* Leach.**



**Fonte: FEDONENKO et al., 2017.**

A simplicidade relacionada ao manuseio, a reprodutibilidade, a rapidez dos ensaios, a sensibilidade e o baixo custo, favorecem a utilização deste bioensaio em diversos estudos (MERINO et al., 2015; RAJABI et al., 2015). Além disto, este bioensaio não requer a utilização de equipamentos especiais, utiliza pouca quantidade da amostra e principalmente, não necessita de soro animal, portanto, pode substituir os experimentos empregado animais vertebrados, como é o caso dos testes envolvendo camundongos (RAJABI et al., 2015).

Este tipo de teste toxicológico acomoda facilmente um grande número de artêmias, amparando a validação estatística, garantindo a confiabilidade do método e, portanto, atendendo as principais necessidades rotineiras de triagem de toxicidade, requeridos pelo monitoramento industrial ou para fins regulatórios (RAJABI et al., 2015). No âmbito científico, este bioensaio é utilizado como indicador de toxicidade aguda, o que é fundamental nos estudos de compostos que tenham atividades biológicas, sendo constantemente aplicado na verificação



da segurança, facilitando o direcionamento de estudos na descoberta de novos fármacos (POMPILHO; MARCONDES & OLIVEIRA, 2014).

Adicionalmente, os resultados obtidos a partir deste bioensaio apresentaram uma boa correlação entre os de toxicidade utilizados para avaliação da atividade antitumoral, fazendo com que esse teste possa ser utilizado numa primeira análise do potencial citotóxico de novos compostos (MOREIRA, 2013). A literatura relata inúmeros trabalhos que demonstraram uma boa correlação entre os resultados dos ensaios de toxicidade frente as artêmias e outros tipos de ensaios que avaliaram distintas atividades biológicas, como por exemplo: atividade antitumoral (ALBUQUERQUE et al., 2014); antimicrobiana (APU et al., 2010); anticonvulsivante (BAGHERI et al., 2010); moluscicida (LOPES; SILVA; ECHEVARRIA, 2016); inseticida e larvicida (NISAR et al., 2015); fototóxica (OJALA et al., 1999) e antioxidante (SARAIVA et al., 2011).

Após uma busca nas principais plataformas de pesquisas, observou-se que o uso deste crustáceo se concentrou nas pesquisas envolvendo produtos naturais, tais como: na avaliação da toxicidade de extratos de plantas (FREITAS et al., 2018; CALAZANS et al., 2019); de óleos essenciais (ROSA et al., 2016; MORAES et al., 2019); de folhas (BITENCOURT, 2014); do pólen de plantas (ANDRADE, 2018), de corpos hídricos (DIAS et al., 2019); do veneno de abelhas (ABRANTES et al., 2017) e até mesmo da água (SIMOES, 2018).

Especificamente na área sintética e farmacológica, a literatura demonstra o uso desde bioensaio em: piriproxifeno (SANTOS et al., 2017b); diflubenzuron (SILVA, MACEDO, JONSSON, 2013); compostos derivados de metais (CHOHAN et al., 2010); parationa metílica (GUIMARAES et al., 2011); piridinas (PAIVA; RAMOS, 2017); dipirona sódica (GARCEZ et al., 2018); ibuprofeno (SAETAMA et al., 2018), amoxicilina (BRITO, 2016) e diclofenaco de sódio (LIMA; SOUZA, 2017).

Portanto, o bioensaio toxicológico frente a *Artemia salina* Leach é uma alternativa para a avaliação da toxicidade, uma vez que prevê os efeitos nocivos que possam acometer o sistema biológico e averigua a toxicidade relativa das substâncias, devido aos efeitos toxicológicos no corpo humano estarem praticamente nos mesmos limites que os observados nos animais de laboratório, sendo possível assim, determinar os prováveis riscos associados ao uso dos compostos alvo (BITENCOURT, 2014).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Locais da pesquisa

Os processos de análises por métodos *in silico*, a síntese e purificação de todos os compostos foram realizados no Laboratório Aplicado de Síntese Orgânica (LASO), e o bioensaio toxicológico frente a *Artemia salina* Leach foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia, ambos localizados no Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus Cuité*.

Contudo, o bioensaio larvicida frente as larvas do *Aedes aegypti*, bem como os espectros de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e carbono ( $^{13}\text{C}$ ) dos compostos sintetizados foram realizados na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco – *Campus Recife*.

### 4.2 Equipamentos e análise dos dados

Todas as análises *in silico* foram realizadas em um computador, especificamente com o sistema operacional *Windows 10* e processador *Intel® Core™ i3*. As análises de ressonância magnética nuclear foram realizadas em um espectrômetro *VARIAN®* modelo *Unity Plus-300* utilizando como solvente o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Este espectrômetro foi calibrado usando tetrametilsilano (TMS) (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e todas as constantes de acoplamento ( $J$ ) foram descritas em *hertz* (Hz).

O espectro de infravermelho foi registrado em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de *Fourier* no *Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer* modelo *Perkin Elmer*, sendo a amostra preparada com pastilhas de brometo de potássio (KBr). A rotação específica foi determinada em um polarímetro digital da marca *JASCO® P-2000* equipado com a luz de sódio em comprimento de onda 589 nm. A amostra foi preparada em concentração de 1 m/v % em metanol (MeOH) em uma cubeta de 1 mL.

O ponto de fusão foi realizado no *Electro-thermal* série *IA 9100 Digital Melting Point*. A chapa de agitação com aquecimento e a manta aquecedora foram da marca *Visaton* modelo 754A e 102E, respectivamente. O solvente foi removido utilizando um evaporador rotativo da *Büchi Rotavapor* modelo R-114 conectado a uma bomba de vácuo modelo *KNF Neuberger*, e o solvente remanescente foi removido utilizando uma bomba de alto vácuo da *Edwards* modelo

*RV3*. As estruturas dos candidatos foram geradas através do *software ChemDraw Ultra®* versão 12.0.

### 4.3 Materiais, solventes e reagentes

O acompanhamento das reações foi realizado através da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F254 da *Merck*. Para visualização, as placas foram colocadas em solução ácida contendo etanol e ácido sulfúrico (EtOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95:5) e solução de vanilina. A purificação através da cromatografia líquida em coluna foi realizada utilizando sílica-gel 60 (*Merck*, 70-230 *mesh*) como fase estacionária e sistemas hexano:acetato de etila como fase móvel numa coluna de vidro em diferentes proporções.

Os solventes comerciais foram purificados. O hexano e o acetato de etila foram destilados com coluna de *Vigreux*, o diclorometano foi destilado sob hidreto de cálcio e o metanol foi destilado sob magnésio metálico e iodo sublimado. Os reagentes: D-glicose, o álcool 2-propin-1-ol para fazer a reação de glicosilação e o óxido de manganês para concluir a reação de oxidação, foram adquiridos da empresa *Sigma Aldrich*.

### 4.4 Construção da arquitetura molecular

A arquitetura molecular dos compostos alvo foi feita através do *software ChemDraw Ultra 12.0*, a fim de obter suas estruturas químicas, para então serem submetidos a próxima etapa do projeto, as análises *in silico*.

### 4.5 Análises *in silico*

Diferentes análises foram feitas com os compostos alvo, a fim de realizar um levantamento teórico quanto a suas características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas. Para isso, foram utilizados três *softwares*: *Osiris Property Explorer*, *Molinspiration Property Calculator* e *ProTox-II*.

#### 4.5.1 *Osiris Property Explorer*

A avaliação do perfil farmacocinético foi realizada através do *software Osiris Property Explorer*, as quais foram calculados os valores teóricos para solubilidade, peso molecular, *drug-likeness* e *drug-score*. Adicionalmente, este *software* é capaz de prever o potencial toxicológico da molécula analisada, predição que é fundamentada na comparação entre os

fragmentos estruturais da molécula analisada com um conjunto de fragmentos do *Registry of Toxic Effects of Chemical Substances* (RTECS, traduzido para o português: Registro de Efeitos Tóxicos de Substâncias Químicas), do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, traduzido para o português: Centro de Controle e Prevenção de Doenças), um órgão norte-americano, e com mais de três mil fármacos comerciais (BRITO, 2010).

O *software* também expressa a probabilidade de a molécula apresentar mutagenicidade, tumorigenicidade, irritabilidade e interferência na reprodução humana através de cores, em que a cor vermelha indica alto risco, a cor amarela indica risco moderado e a cor verde sem risco.

#### 4.5.2 *Molinspiration Property Calculator*

O *software Molinspiration Property Calculator* possibilita o cálculo de importantes propriedades físico-químicas da molécula. Estes parâmetros foram utilizados para avaliar o padrão de biodisponibilidade teórica das moléculas alvo, baseando-se na “Regra dos Cinco” desenvolvida por Lipinski et al. (1997), uma vez que ele calcula o coeficiente de partição (Log P), a massa molecular em daltons, o número de doadores de ligação de Hidrogênio (nDLH) e o de aceptores (nALH), além de dar o valor da Topological Polar Surface Area (TPSA, traduzido para o português: Área da Superfície Polar Topológica), necessária para calcular o percentual de absorção oral teórico (%ABS), a partir da equação:  $\%ABS = 109 - (0.345 \times TPSA)$ .

Este *software* também é utilizado para avaliar a probabilidade deste composto atuar em diferentes alvos farmacológicos gerando uma noção de suas características farmacodinâmicas. Frente a isto, foi avaliada a probabilidade de as moléculas agirem como: ligante de G protein-coupled receptors (GPCR, traduzido para o português: receptores acoplados à proteína G), modulador de canal iônico, inibidor de quinase, ligante de receptor nuclear, inibidor de protease e inibidor enzimático.

#### 4.5.3 *ProTox - II*

O *ProTox-II* é um dos métodos *in silico* que prediz a toxicidade aguda oral de um composto diante de sua arquitetura molecular, utilizando a classificação de toxicidade do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e de Rotulagem de Produtos Químicos (GHS). Este *software* se baseia em 33 modelos de algoritmos para a previsão da toxicidade, avaliando cada átomo da arquitetura molecular do composto alvo para chegar em um valor conciso, diante disto, quando comparado com outros modelos, todos os modelos do *ProTox-II* tiveram um ótimo desempenho e em alguns casos, foi até melhor (BANERJEE et al., 2018).

Este *software* calcula a toxicidade aguda em roedores e nos dá o valor da dose letal necessária para matar 50% dos indivíduos ( $DL_{50}$ ) em mg/Kg, além disto, ele prevê a toxicidade nos órgãos (hepatotoxicidade) e parâmetros toxicológicos (como mutagenicidade, carcinotoxicidade, citotoxicidade e imunotoxicidade) (BANERJEE et al., 2018; SILVA, 2015b).

#### 4.6 Procedimento para a síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal

A síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal foi feita através de sucessivas modificações na molécula da D-glicose, utilizando o método desenvolvido por Shull, Wu e Koreeda (1996). A princípio, em um balão de fundo redondo com capacidade para 500 mL foi preparada uma suspensão de D-glicose (2,5 g; 13,9 mmol) em anidrido acético (9,3 g; 8,36 mL; 3,5 mmol equivalentes). Em seguida foi adicionada ao balão uma solução 31% HBr/AcOH (1,25 mL de HBr 48% em 5,0 mL de Ac<sub>2</sub>O) a temperatura ambiente sob forte agitação. Após a adição, o sistema foi mantido sob agitação por 1 hora.

Passado este tempo, mais solução 31% HBr/AcOH (7,50 mL de HBr 48% em 30 mL de Ac<sub>2</sub>O) foram adicionadas ao balão e o sistema mantido sob temperatura ambiente e sob forte agitação por mais 6 horas. O próximo passo foi a adição de acetato de sódio anidro (5 g; 60,95 mmol) ao sistema, permanecendo sob agitação por 30 minutos para que fosse neutralizado. Após a neutralização, foi adicionado ao sistema uma suspensão preparada em um segundo balão, composta de água (25 mL), acetato de sódio tri hidratado (23,625 g; 173,65 mmol), ácido acético (37,5 mL), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,7875g; 3,15 mmol) e zinco sólido (25 g; 382,5 mmol), sendo esta suspensão mantida sob agitação vigorosa a temperatura ambiente por 1,5 horas.

Posteriormente, o material sólido do balão foi removido por filtração a vácuo pela lavagem com acetato de etila e água. O filtrado foi transferido para um funil de separação, onde a fase orgânica foi lavada com água e solução saturada de bicarbonato de sódio até que houvesse a neutralização desta fase. Neutralizada, a fase orgânica foi então seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada para a retirada deste sal e rotaevaporada, sendo o produto final purificado por cromatografia em coluna usando o sistema de solventes hexano/acetato de etila.

#### 4.7 Procedimento para a síntese do prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo

A síntese do Prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo (*O*-glicosídeo 2,3-insaturado) foi realizada através do método proposto por

Toshima et al. (1995), com algumas modificações. Deste modo, em um balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL foram adicionados o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (0,27 g; 1 mmol), o álcool propargílico (2-propin-1-ol) e diclorometano seco (20 mL). Em seguida, o balão foi resfriado a 0°C e mantido sob agitação por 5 minutos.

Após este intervalo de tempo foi adicionado a montmorillonita K-10 (0,27 g; 100% M/M) e um sistema de refluxo foi acoplado ao balão. A mistura reacional foi mantida sob agitação e aquecimento ( $50 \pm 5^\circ\text{C}$ ) por cerca de 30 minutos. Após este intervalo de tempo o aquecimento foi interrompido e o término da reação verificado por cromatografia de camada delgada (CCD). Em seguida, a solução contida no balão foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida utilizando evaporador rotativo. O produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando inicialmente hexano e terminando com um sistema de hexano:acetato de etila na proporção de 9:1.

#### **4.8 Procedimento para a síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo**

O Prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo (*O*-glicosídeo hidrolisado) foi sintetizado a partir da hidrólise do *O*-glicosídeo 2,3-insaturado em meio básico, através do método proposto por Santos et al. (2017a), com algumas modificações. Desta forma, em um tubo de ensaio, o *O*-glicosídeo 2,3 insaturado (0,25 mmol) foi dissolvido em metanol (1,0 mL). A esta solução foi adicionado o sal básico carbonato de potássio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) (69,0 mg; 0,5 mmol) e então, a água (0,3 mL). O sistema reacional foi mantido sob agitação durante 5 minutos sob temperatura ambiente ( $28 \pm 2^\circ$ ).

Após o término da reação, a mistura reacional foi transferida para um balão e evaporado sob pressão reduzida, com um rotaevaporador. Na sequência, a mistura reacional foi seca com sulfato de sódio anidro e extraída com acetato de etila. Em seguida foi realizada uma filtração simples e o filtrado foi coletado em um segundo balão, o qual foi evaporado sob pressão reduzida, para retirada do solvente. O glicosídeo hidrolisado foi purificado em coluna cromatográfica utilizando inicialmente hexano e terminando com um sistema de hexano:acetato de etila na proporção de 6:4.

#### **4.9 Procedimento para a síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose**

O composto Prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (*O*-glicosídeo oxidado) foi sintetizado a partir da oxidação do glicosídeo hidrolisado, seguindo o método proposto por

Santos et al. (2017a), com algumas modificações. Em um balão de fundo redondo foi adicionado 1,0 mmol do *O*-glicosídeo hidrolisado, 10 mL de diclorometano e 25 mmol equivalentes do dióxido de manganês (MnO<sub>2</sub>). A reação foi realizada em temperatura ambiente e sob agitação contínua. O término da reação foi verificado por CCD.

Uma vez comprovada a total conversão do reagente, a mistura reacional foi filtrada em sílica para retirada do óxido de manganês e o produto foi concentrado sob pressão reduzida. O glicosídeo oxidado foi purificado em coluna cromatográfica utilizando inicialmente hexano e terminando com um sistema de hexano:acetato de etila na proporção de 7:3.

#### 4.10 Bioensaio frente a larvas de *Artemia salina* Leach

O bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Meyer et al. (1982). Os cistos do microcrustáceo foram incubados em água salina artificial (preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1 L de água destilada em pH entre 8 e 9), sob iluminação artificial por um período de 24 a 48 horas para que houvesse a eclosão das larvas. Após a eclosão, as larvas foram divididas em diferentes tubos de ensaio, especificamente em grupos de 10 para cada tubo, sendo estas expostas aos controles positivo, negativo e às soluções de concentrações do glicosídeo oxidado, sendo realizados inicialmente um total de quatro testes, todos em triplicata.

Os testes foram submetidos a iluminação artificial por um período de 24 horas, sendo posteriormente contabilizada a quantidade de indivíduos vivos e mortos para cada teste. Após sintetizado, purificado e caracterizado, o glicosídeo oxidado contendo em sua arquitetura molecular o grupamento farmacofórico aceptor de Michael foi solubilizado com um co-solvente, o dimetilsulfóxido e então foi utilizado para a obtenção de uma solução estoque utilizando como solvente a água salina artificial, o uso desta solução salina como solvente, é justificado pelo fato das artêmias viverem em ambientes marinhos.

Desta solução estoque, foram retiradas alíquotas para a realização de diluições obtendo-se inicialmente as concentrações de 10, 100, 500 e 1000 µg/mL. Diante dos resultados obtidos, foi feita então novas concentrações mais específicas, a citar: 400, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625 µg/mL. Simultaneamente, foram feitos o controle positivo e negativo, a fim de avaliar a resistência e viabilidade das artêmias.

Para isto, foi utilizado no controle positivo o dicromato de potássio, a fim de matar todas as artêmias, caso alguma sobreviva por exemplo, é considerada como artêmia resistente e estas influenciarão nos resultados, esta é a justificativa para tal controle. Já para o controle negativo,

foi utilizado o co-solvente que foi posto no glicosídeo oxidado para solubilizá-lo, ou seja, o dimetilsulfóxido, afim de saber sua toxicidade frente as artêmias para não acarretar em alterações nos resultados.

#### **4.11 Análise estatística do bioensaio frente a *Artemia salina* Leach**

Os valores da concentração letal para matar 50% dos indivíduos testados (CL<sub>50</sub>) foram descobertas através do *software* *POLO-PC* (Copyright *LeOra Software* 1987).

#### **4.12 Bioensaio frente a larvas do *Aedes aegypti***

As larvas utilizadas foram da colônia do *Aedes aegypti* *Linneaus* (cepa *Rockfeller*) do insetário do Laboratório de Ecologia e Química da UFPE. O insetário foi mantido à temperatura constante de 28°C, umidade relativa de 58% e fotoperíodo de 14D:10N. O ensaio seguiu o protocolo da World Health Organization (1970), com algumas modificações e a princípio, realizou-se um teste de solubilidade, afim de selecionar o co-solvente mais apropriado. Os co-solventes mais utilizados são: tween 80, etanol, DMSO, cetona, para a substância-teste para melhor solubilizá-las em água.

Posteriormente, preparou-se em um béquer, uma solução estoque de concentração igual a 100 µg/mL, dissolvendo 5,0 mg do composto a ser testado em um volume adequado em um co-solvente. A solução foi então transferida do béquer para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água destilada. Os testes larvicidas preliminares foram realizados em concentrações de 10, 50 e 100 µg/mL, objetivando-se conhecer a faixa de concentração onde o composto é mais ativo, já que sua toxicidade frente ao *Aedes aegypti* é desconhecida.

Os experimentos foram também realizados em triplicatas e, em cada réplica, foi utilizado 20 larvas no estágio L-4 e a atividade larvicida foi observada após 24 e 48 horas. Os controles negativos (solução contendo apenas o co-solvente e água destilada) serão realizados simultaneamente aos testes.

#### **4.13 Análise estatística do bioensaio frente a larvas do *Aedes aegypti***

Para a determinação da concentração letal para matar 50% das larvas (CL<sub>50</sub>), foi utilizado o *software* *Probit* com o programa estatístico *StartPlus Pro* 6.2.5.0 a um nível de 95% de confiança.

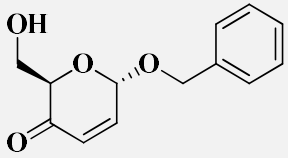
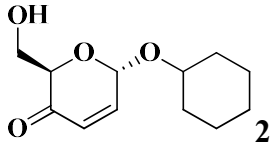
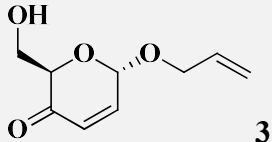
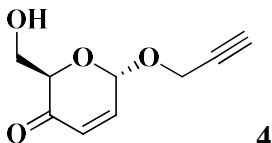


## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi avaliado o perfil farmacológico de quatro candidatos a fim de realizar um levantamento teórico quanto a suas características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas, para posterior síntese do candidato mais promissor. Para alcançar o exposto, foi esboçado, utilizando o *software Chem Draw Ultra 12.0*, quatro compostos contendo o grupamento farmacofórico aceptor de Michael e outras funcionalidades.

A Tabela (1) demonstra a arquitetura molecular dos compostos idealizados, bem como seus nomes químicos, a citar: o benzil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou candidato “1”; o ciclohexil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou candidato “2”; o prop-2-en-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou candidato “3” e o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou candidato “4”.

**Tabela 1. Arquitetura molecular e nomenclatura dos candidatos a fármacos.**

| Candidato  | Nomenclatura                                       |
|--|--|
|  <p style="text-align: right;"><b>1</b></p> | Benzil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose         |
|  <p style="text-align: right;"><b>2</b></p> | Ciclohexil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose     |
|  <p style="text-align: right;"><b>3</b></p> | Prop-2-en-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose |
|  <p style="text-align: right;"><b>4</b></p> | Prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose |

Fonte: Próprio autor, 2019.

A escolha das estruturas moleculares dos candidatos demonstrados na Tabela (1) pode ser justificada mediante a disponibilidade de materiais, reagentes e solventes disponíveis para a realização de suas sínteses, analisando em consonância, a metodologia de melhor viabilidade. Diante das estruturas selecionadas, é notório que os candidatos diferem entre si, apenas pelo grupo ligado ao sistema heterocíclico contendo o grupamento farmacofórico aceptor de Michael, grupos estes, originados de álcoois, especificamente na reação de glicosilação, uma das etapas reacionais necessária para suas sínteses.

Neste sentido, os candidatos “1” e “2” possuem o grupo benzil e ciclohexil, fruto da reação de glicosilação com o álcool benzílico e ciclohexanol, respectivamente. Já os candidatos “3” e “4” possuem o grupo prop-2-en-1-il e prop-2-in-1-il, frutos da reação de glicosilação com álcool alílico (prop-2-en-1-ol) e propargílico (2-propin-1-ol), dois dos vários isômeros do propenol.

Feito o esboço da arquitetura molecular dos candidatos a fármaco, o próximo passo consistiu em utilizar técnicas *in silico* para avaliar seus potenciais farmacológicos, e para isto, foram utilizados três diferentes *softwares*: *Osiris Property Explorer*, *Molinspiration Property Calculator* e *ProTox-II*. Especificamente, o *Osiris Property Explorer* foi utilizado para calcular o peso molecular, a área da superfície polar topológica (TPSA), necessária para calcular o percentual de absorção oral (ABS), o *drug likeness* (tradução: semelhança de fármacos) e *drug score* (tradução: pontuação de fármacos), bem como os riscos relacionados a mutagenicidade, tumorigenicidade, irritação e interferência na reprodução.

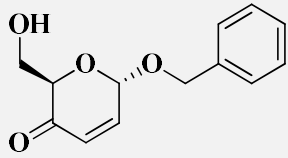
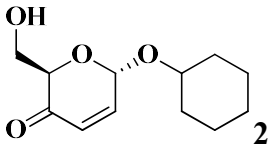
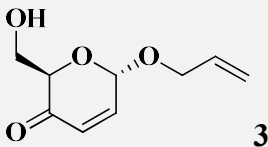
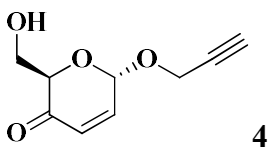
O *Molinspiration Property Calculator* foi utilizado para calcular a lipofilicidade (representado pelo coeficiente de partição log P), o número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, como também as prováveis propriedades farmacodinâmicas dos candidatos, avaliando se os mesmos atuarão em receptores acoplados à proteína G (GPCR), se atuarão como moduladores de canais iônicos, se serão inibidores de quinases, proteases ou enzimáticos, e se atuarão a nível nuclear, atuando em ligantes de receptores nucleares.

O *ProTox-II* foi utilizado afim de prevê os efeitos nocivos que os candidatos possam acarretar no sistema biológico, assim, ele foi utilizado para calcular a DL<sub>50</sub>, bem como a classe toxicológica em que os compostos se enquadraram e se os mesmos poderão apresentar imunotoxicidade, citotoxicidade, hepatotoxicidade e carcinogenicidade.

A Tabela (2) sumariza os resultados relacionados com as propriedades farmacocinéticas dos candidatos. A princípio, foi analisado o coeficiente de partição (log P), em que os valores encontrados são utilizados para avaliar a tendência de um composto distribuir-se no organismo, entre as estruturas lipídicas e as soluções aquosas. Sendo assim,

quanto menor for o valor do log P, mais hidrofílico será o composto e quanto maior for o valor, mais hidrofóbico será. Dito isto, todos os candidatos submetidos à análise, apresentaram valores de log P baixos, variando de 0,94 a -1,06, concluindo que ambos possuem caráter preferencialmente hidrofílico.

**Tabela 2. Resultado das propriedades farmacocinéticas dos candidatos.**

| Candidato   | Log P | TPSA  | ABS % | nDLH | nALH | P.M |
|---|-------|-------|-------|------|------|-----|
| <br><b>1</b>   | 0,76  | 55,75 | 89,76 | 1    | 4    | 234 |
| <br><b>2</b>  | 0,94  | 55,75 | 89,76 | 1    | 4    | 226 |
| <br><b>3</b> | -0,20 | 55,76 | 89,76 | 1    | 4    | 184 |
| <br><b>4</b> | -1,06 | 55,76 | 89,76 | 1    | 4    | 182 |

Legendas: Log P: coeficiente de partição; TPSA: área da superfície polar topológica; ABS %: percentagem de absorção oral; nDLH: doadores de ligação hidrogênio; nALH: aceptores de ligação hidrogênio; P.M: peso molecular.

**Fonte: Próprio autor, 2019.**

É de suma importância que os candidatos apresentem valores de log P não tão altos e nem tão baixos, pois substâncias muito hidrofílicas tendem a permanecer em solução aquosa, se dissolvendo rapidamente e não conseguindo atravessar as membranas biológicas, ricas em lipídios. Ao contrário de substâncias muito hidrofóbicas, que se dissolvem nas membranas e nelas se acumulam, acarretando em um efeito cumulativo e gerando toxicidade.

A *Topological Polar Surface Area* (TPSA, tradução: Área da Superfície Polar Topológica) é um parâmetro que descreve a absorção do fármaco, avaliando a absorção intestinal, a biodisponibilidade e a permeabilidade hematoencefálica (MOLINSPIRATION, 2018). O peso molecular e a área da superfície polar topológica (TPSA) influenciam na permeabilidade dos candidatos frente a membrana biológica, pois se os mesmos tiverem um peso molecular e TPSA altos, irá ocasionar em uma redução da sua permeabilidade pela membrana, já que pressupõe que será uma molécula grande e pesada, tornando difícil sua passagem pela membrana.

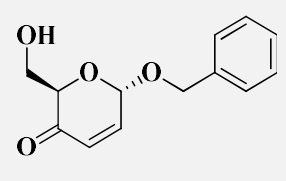
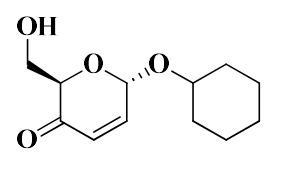
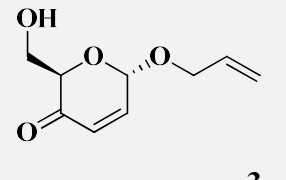
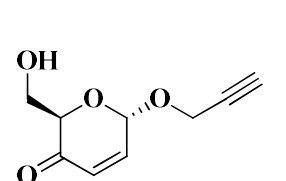
Já o peso molecular e TPSA baixos, aumentam a probabilidade de permeabilidade nas membranas biológicas (ULLAH et al., 2019). Além disso, a literatura também indica que candidatos com áreas de superfície polar topológica (TPSA) menor ou igual a 140 Å, apresentam melhor biodisponibilidade oral (RODRIGUES, 2019). Dito isto, o valor para a TPSA dos candidatos variou entre 55,75 e 55,76 Å e a partir desses valores, foi possível calcular o percentual de absorção oral teórico (%ABS), com auxílio da equação:  $\%ABS = 109 - (0.345 \times TPSA)$ .

Neste sentido, o percentual de absorção oral para todos os compostos alvo foi de 89,76%, constatando que em teoria, eles apresentariam uma ótima absorção pela via oral. Adicionalmente, foi utilizado a regra dos cinco de Lipinski a fim de prever a biodisponibilidade oral e o potencial biológico dos candidatos idealizados (1, 2, 3 e 4.). Para isso os candidatos devem atender os seguintes requisitos: o número de doadores de hidrogênio no ligante não deve ser maior que cinco, o número de aceptores de hidrogênio não deve ser maior do que dez, o log P não deve ser maior que cinco e o peso molecular não deve ultrapassar 500 g/mol (LIPINSKI, 2016).

Diante disto, foi analisado todos os requisitos propostos por esta regra e foi constatado que nenhum dos candidatos apresentou qualquer violação desta regra. Tanto o valor do número de doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) quanto o de aceptores (nALH), se enquadraram na regra de Lipinski, além disso, a massa molecular ficou dentro dos 500 dáltons, variando de 182 a 234 dáltons, e o log P de todos os compostos ficou abaixo de 5, confirmando que os candidatos apresentarão uma boa biodisponibilidade se ingeridos pela via oral.

Frente aos resultados das propriedades farmacocinéticas, a próxima etapa consistiu em analisar as propriedades farmacodinâmicas dos compostos. Assim, foi avaliado teoricamente a possibilidade de os candidatos atuarem como ligante de receptor acoplado a proteína G (GPCR); como moduladores de canal iônico; inibidores de quinases, proteases ou de enzimas e a nível nuclear, atuando em ligantes de receptores nucleares, como demonstra a Tabela (3).

Tabela 3. Resultados preditivos da bioatividade dos candidatos nos sistemas biológicos.

| Candidato   | Ligante GPCR | Modulador de canal iônico | Inibidor de quinase | Ligante de receptor nuclear | Inibidor de protease | Inibidor enzimático |
|---|--------------|---------------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------|
| <br><b>1</b>   | 0,15         | 0,13                      | -0,46               | 0,03                        | 0,06                 | 0,36                |
| <br><b>2</b>   | 0,06         | 0,11                      | -0,51               | 0,03                        | -0,08                | 0,34                |
| <br><b>3</b> | -0,45        | -0,11                     | -1,05               | -0,46                       | -0,60                | 0,05                |
| <br><b>4</b> | -0,36        | -0,14                     | -1,01               | -0,35                       | -0,56                | 0,10                |

Fonte: Próprio autor, 2019.

Diante dos resultados da Tabela (3), valores positivos (maior que 0,0) indica que a molécula terá uma boa probabilidade de apresentar bioatividade, já valores entre -5,00 e 0,00 indica que a mesma terá uma moderada probabilidade de apresentar bioatividade e valores abaixo de -5,00 indica probabilidade inexistente (SINGH, GUPTA, VERMA, 2013). Frente a estas considerações, todos os candidatos apresentaram valores que ficam entre uma boa e moderada bioatividade.

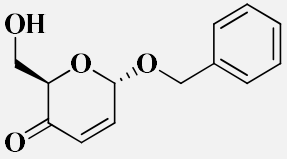
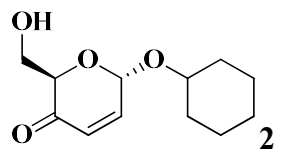
Sendo assim e analisando os valores obtidos, pode-se supor que todos os candidatos terão uma boa probabilidade de atuarem como inibidores enzimáticos, pois todos apresentaram

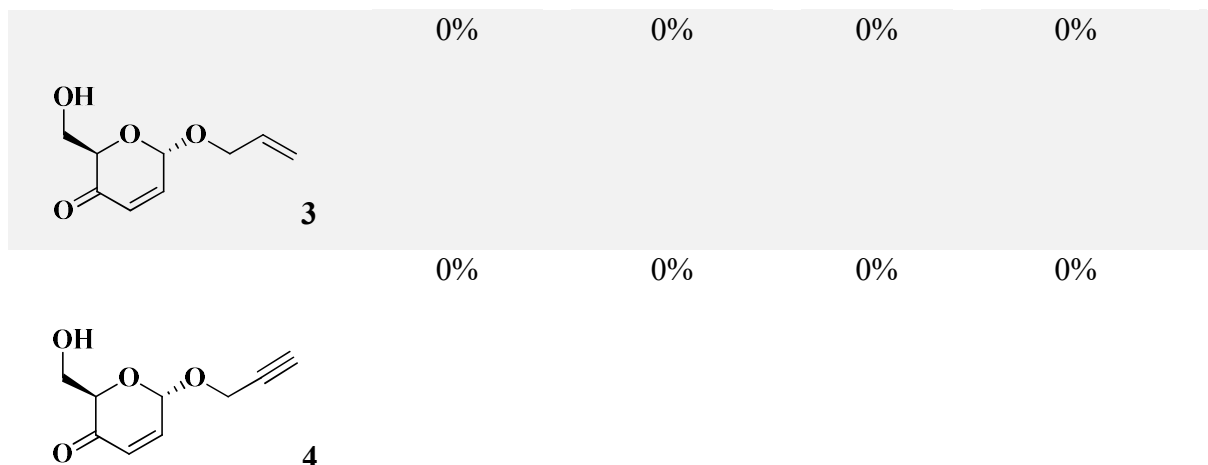
valores positivos, não descartando obviamente, as outras prováveis atuações, já que os mesmos apresentaram valores que indicam que há probabilidades de se comportarem também como ligante de receptor acoplado a proteína G, como modulador de canal iônico, como ligante de receptor nuclear ou como inibidor de quinase ou protease, entretanto, a atividade mais acentuada para os candidatos, é a de inibidor enzimático.

É importante salientar que diversas patologias estão relacionadas com mecanismos enzimáticos, o que aumenta ainda mais o interesse pelos compostos alvo, tendo em vista que diversos processos fisiológicos e patológicos envolvem a participação de enzimas, bem como o tratamento de inúmeras doenças crônicas e agudas. Fármacos que atuam como inibidores enzimáticos são utilizados no tratamento de diversas enfermidades, a citar: a doença de Alzheimer e a depressão, patologias que vem acometendo seriamente a população (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016; SOARES et al., 2019).

A Tabela (4) descreve o risco de toxicidade que os candidatos (a, b, c e d) possam ocasionar, a citar, mutagenicidade, tumorigenicidade, irritação ou até mesmo interferir na reprodução. Assim, os resultados listados na Tabela (4) indicam a ausência de fragmentos estruturais indicadores de risco nos candidatos, resultando em uma baixa probabilidade de os mesmos virem a apresentar efeitos tóxicos para os parâmetros avaliados.

**Tabela 4. Resultados da toxicidade dos candidatos.**

| <b>Candidato</b>  | <b>Mutagênico</b> | <b>Tumorigênico</b> | <b>Irritante</b> | <b>Interferência<br/>na<br/>reprodução</b> |
|---|-------------------|---------------------|------------------|--|
|  <p><b>1</b></p> | 0%                | 0%                  | 0%               | 0%   |
|  <p><b>2</b></p> | 0%                | 0%                  | 0%               | 0%   |



Fonte: Próprio autor, 2019.

Com isto, nenhum dos candidatos apresentaram potenciais mutagênicos, tumorigênicos, irritantes ou que venham a interferir na reprodução. Em consonância, foi avaliado também se eles apresentarão potenciais para serem imunotóxicos, citotóxicos, hepatotóxicos ou carcinogênicos e em nenhum desses casos, os candidatos apresentaram tais potenciais, corroborando com os resultados já citados. Os resultados obtidos para os compostos demonstram ainda mais o quão promissor são estas moléculas, destacando o grupamento farmacofórico aceptor de Michael, que particularmente, será o responsável pelas atividades e propriedades analisadas.

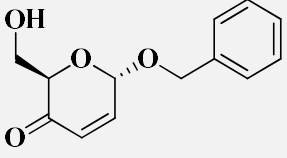
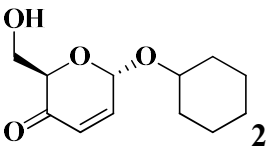
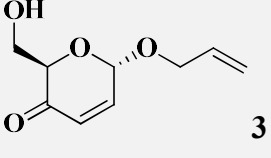
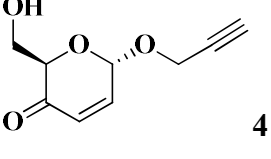
Visando complementar os resultados do risco de toxicidade, obtido através do *Osiris Property Explorer*, foi avaliado outros parâmetros de toxicidade, como a dose letal necessária para matar 50% dos indivíduos ( $DL_{50}$ ) e o nível toxicológico em que se enquadram os candidatos idealizados (a, b, c e d). Para isto, foi utilizado o *software ProTox-II*, o qual utiliza a classificação de toxicidade do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) (BANERJEE et al., 2018), que estabeleceram os seguintes critérios de classificação:

- ✓ Classe I: Letal ( $DL_{50} \leq 5$ )
- ✓ Classe II: Letal ( $5 < DL_{50} \leq 50$ )
- ✓ Classe III: Tóxico ( $50 < DL_{50} \leq 300$ )
- ✓ Classe IV: Nocivo ( $300 < DL_{50} \leq 2000$ )
- ✓ Classe V: Pode ser nocivo ( $2000 < DL_{50} \leq 5000$ )
- ✓ Classe VI: Não tóxico ( $DL_{50} > 5000$ )

Em consonância, foi avaliado o *drug likeness* e *drug score*, os quais avaliam a probabilidade de uma molécula vir a se tornar um fármaco, baseado em suas características físico-químicas e biológicas, bem como na sua semelhança com outras moléculas já em comercialização. Frente aos resultados sumarizados na Tabela (5), todos os candidatos apresentaram uma DL<sub>50</sub> de 500 mg/Kg, se enquadrando na classe IV de classificação, o que significa que esses compostos não são letais hipoteticamente, mas podem ser nocivos (BANERJEE et al., 2018).

Partindo agora para os últimos parâmetros de avaliação *in silico*, foi avaliado a probabilidade dos candidatos (a, b, c e d) virem a se tornar possíveis fármacos, por meio do *drug likeness* e *drug score*, aos quais os resultados estão também na Tabela (5).

**Tabela 5. Resultados da DL<sub>50</sub>, drug score e drug likeness dos candidatos.**

| Candidato  | DL <sub>50</sub> | Classe de Toxicidade | Drug Likeness | Drug Score |
|--|------------------|----------------------|---------------|------------|
|  <p>1</p> | 500<br>mg/Kg     | IV                   | -5,36         | 0,48       |
|  <p>2</p> | 500<br>mg/Kg     | IV                   | -3,71         | 0,49       |
|  <p>3</p> | 500<br>mg/Kg     | IV                   | -5,39         | 0,29       |
|  <p>4</p> | 500<br>mg/Kg     | IV                   | 1,21          | 0,87       |

Fonte: Próprio autor, 2019.



O *drug likeness* é demonstrado por meio de valores que indicam fragmentos de fármacos conhecidos, avaliando a semelhança do composto alvo frente a uma lista criada a partir da fragmentação de 3.300 fármacos comerciais e 15.000 substâncias químicas não medicamentosas presentes no catálogo *Fluka*®, resultando em uma lista completa com todos os fragmentos disponíveis (URSO et al., 2011; SILVA, 2015b; ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2018).

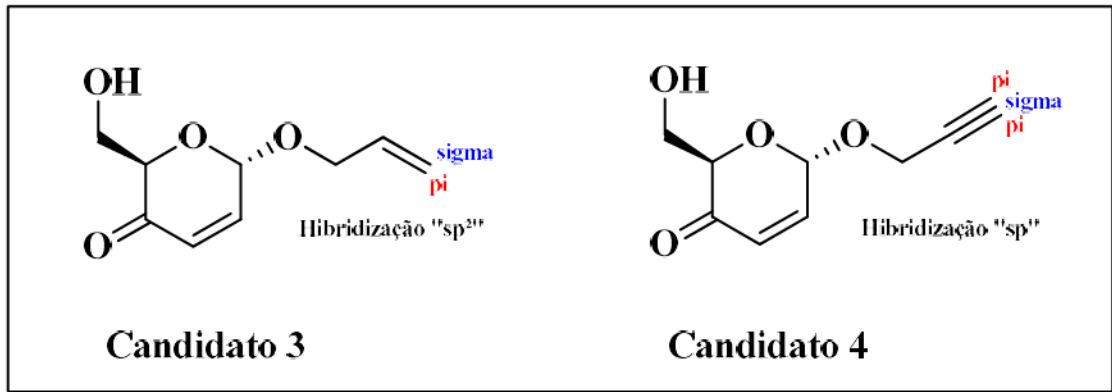
Já o *drug score* é um parâmetro utilizado para indicar se a molécula possui grupamentos farmacofóricos frequentemente encontrados nos medicamentos, qualificando o composto a ser fármaco. Este parâmetro é calculado combinando-se os resultados do *drug-likeness*, do coeficiente de partição (log P), da solubilidade e do risco de toxicidade, gerando um valor útil que pode ser usado para avaliar o potencial geral do composto para se tornar um medicamento (ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2018). Adicionalmente, foi estabelecido uma escala de 0 a 1, e quanto mais próximo de 1 for o resultado de *drug score*, maior é a probabilidade de o composto vir a se tornar um fármaco (SILVA, 2015b).

De acordo com a Tabela (5), os resultados encontrados para a *drug likeness* e *drug score* distinguiu completamente o composto alvo mais promissor e merecedor de síntese, ao contrário dos resultados anteriores (logP, TPSA, % ABS, nALH, nDLH, bioatividade, DL<sub>50</sub>, classe toxicológica, dentre outros) em que os valores foram similares uns aos outros. Assim, os candidatos “1, 2 e 3” apresentaram valores de *drug likeness* bastante negativos, variando de -3,71 a -5,39, concluindo que ambos não apresentam praticamente quaisquer semelhanças ou fragmentos similares aos dos medicamentos comerciais propostos.

Já em relação ao *drug score*, os candidatos “1, 2 e 3” apresentaram valores positivos, variando de 0,29 a 0,49, indicando a similaridade de seus grupamentos farmacofóricos com os já existentes e supondo que as chances de virem a se tornarem um medicamento são medianas, pois não ficaram tão próximas de 1. Ao contrário destes valores, o candidato “4” apresentou resultados superiores aos demais, com um *drug likeness* de 1,21 e *drug score* de 0,87, confirmado que o mesmo é qualitativo e tem grande potencial para vir a se tornar um fármaco de procedência.

É de suma importância destacar que os candidatos “3” e “4” possuem quase a mesma arquitetura molecular, sendo distinguidos apenas pelo tipo de hibridização do carbono e consequentemente, do tipo de ligação. No candidato “3”, é evidenciado uma hibridização do tipo “sp<sup>2</sup>”, estabelecido por uma ligação dupla, já no candidato “4”, é evidenciado uma hibridização do tipo “sp”, que é estabelecido pela ligação tripla, como demonstra a Figura (9).

Figura 9. Diferenças do tipo de ligação dos candidatos “c” e “d”.

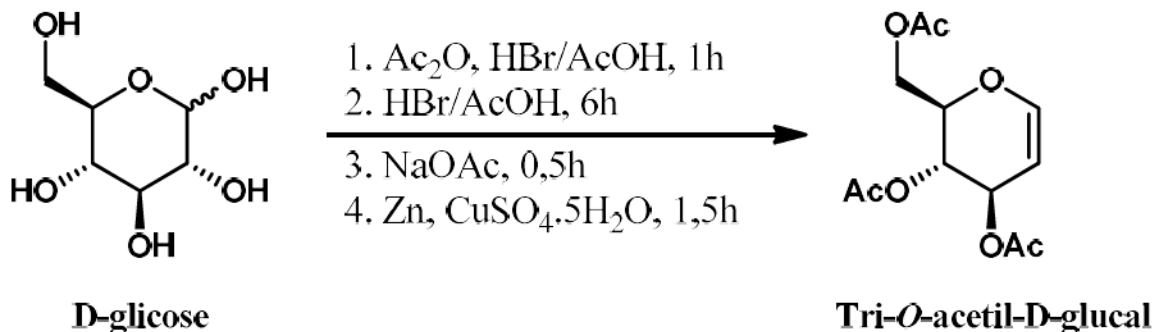


Fonte: Próprio autor, 2019.

Tal diferença estrutural implicou na probabilidade de o candidato “3” vir a se tornar um fármaco, fazendo jus a importância da “química” propriamente dita no árduo processo da descoberta de novos fármacos. Diante de todas estas análises e avaliações, foi concluído que o candidato mais promissor a futuro fármaco é o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou candidato “4”.

Frente aos resultados acima, partiu-se então, para a síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose. Para chegar a isto, foi inicialmente sintetizado o tri-*O*-acetil-D-glucal, a partir de sucessivas reações na molécula da glicose, seguindo a metodologia proposto por Shull, Wu, Koreeda (1996) (Figura 10).

Figura 10. Esquema da reação de síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal.



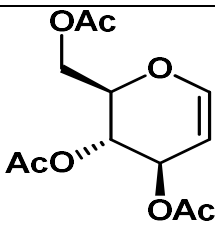
Legendas: Ac<sub>2</sub>O: anidrido acético; HBr: ácido bromídrico; AcOH: ácido acético; NaOAc: acetato de sódio; Zn: zinco; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O: sulfato de cobre pentahidratado.

Fonte: Próprio autor, 2019.

O tri-*O*-acetil-D-glucal foi purificado em cromatografia em coluna, utilizando sílica em gel. Após a purificação, o mesmo foi obtido na forma de um sólido branco amorfo, em ótimo

rendimento (91%). Este composto foi então caracterizado por diferentes técnicas espectroscópicas, a citar: ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e carbono ( $^{13}\text{C}$ ), bem como espectroscopia de infravermelho (IV). Os valores da rotação específica, do deslocamento químico e das bandas de vibração na região do infravermelho estão sumarizados na Tabela (6).

Tabela 6. Dados espectrométricos do tri-*O*-acetil-D-glucal.

| Composto   | $[\alpha]_D^{20}$  | P.F.<br>(°C) | RMN $^1\text{H}$<br>(300 MHz, $\text{CDCl}_3$ )   | RMN $^{13}\text{C}$<br>(75 MHz,<br>$\text{CDCl}_3$ )                                 |
|--|--|--------------|---|--|
|  | -10,4  | 55-56        | $\delta$ 6,45 ( <i>d</i> , 1H, H1, $J$ = 6,0 Hz), 5,32 ( <i>sl</i> , 1H, H2), 5,20 ( <i>t</i> , 1H, H3, $J$ = 5,7 Hz), 4,84-4,81 ( <i>m</i> , 1H, H5), 4,38 ( <i>dd</i> , 1H, H4, $J$ = 12,0 e 5,7 Hz), 4,25-4,16 ( <i>m</i> , 2H, H6 e H6'), 2,07 ( <i>s</i> , 3H, OAc), 2,06 ( <i>s</i> , 3H, OAc), 2,02 ( <i>s</i> , 3H, OAc). | $\delta$ 170,5; 170,4; 169,5; 145,6; 98,9; 73,8; 67,4; 67,1; 61,3; 20,9; 20,7; 20,7. |
|  | IV (pastilha de KBr)   |              |   |  |
|  | $\nu_{\text{max}}$ 2959; 1738; 1649; 1373; 1226; 1043 $\text{cm}^{-1}$ . |              |   |  |

Legenda:  $[\alpha]_D^{20}$ : rotação específica; P.F: ponto de fusão; RMN  $^1\text{H}$ : ressonância magnética nuclear de hidrogênio; RMN  $^{13}\text{C}$ : ressonância magnética nuclear de carbono 13; IV: infravermelho; MHz: mega-hertz; Hz: hertz;  $\text{CDCl}_3$ : clorofórmio deuterado;  $\delta$ : deslocamento químico; *d*: dupletto;  $J$ : constante de acoplamento; *dd*: dupletto de dupletto; *m*: multipletto; *s*: simpleto; *sl*: simpleto largo; *t*: tripleto; OAc: grupo acetoxi;  $\nu_{\text{max}}$ : número de ondas.

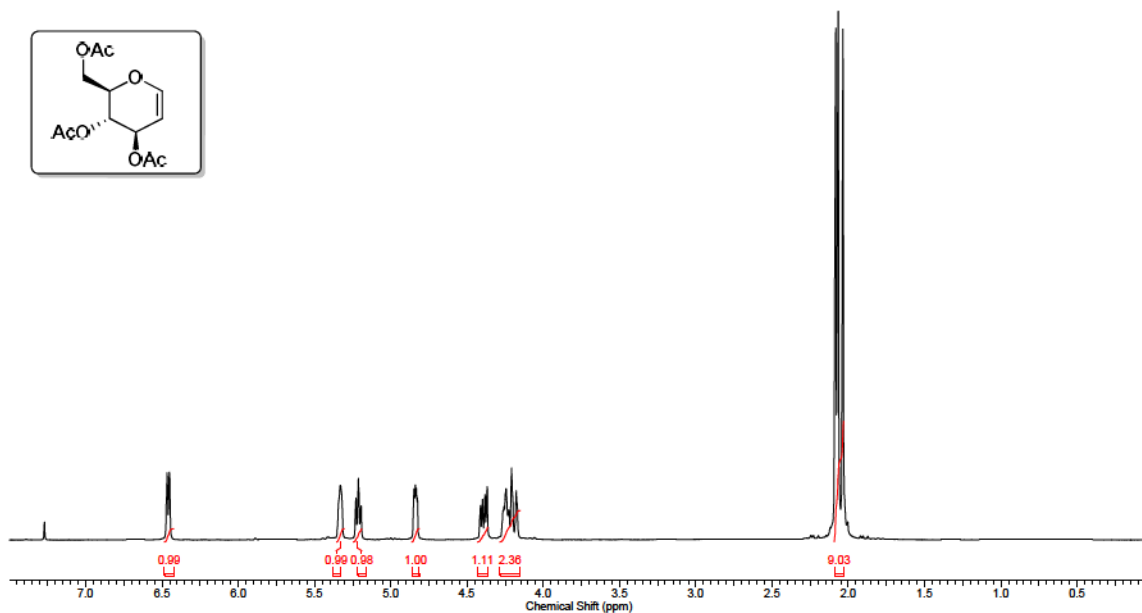
Fonte: Próprio autor, 2019.

De acordo com a Tabela (6), os dados espectroscópicos confirmam a estrutura do tri-*O*-acetil-D-glucal, comprovando a sua síntese, uma vez que no espectro de infravermelho foi observado as bandas de vibração referente as principais deformações axiais das ligações presentes neste composto, tais como:  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$  ( $2959 \text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{C=O}$  ( $1738 \text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{C=C}$  ( $1649 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $\text{C-O}$  ( $1043 \text{ cm}^{-1}$ ).

Com relação aos dados obtidos nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , foi constatado que os somatórios de todos os sinais de hidrogênios e carbonos são iguais aos contidos na molécula.

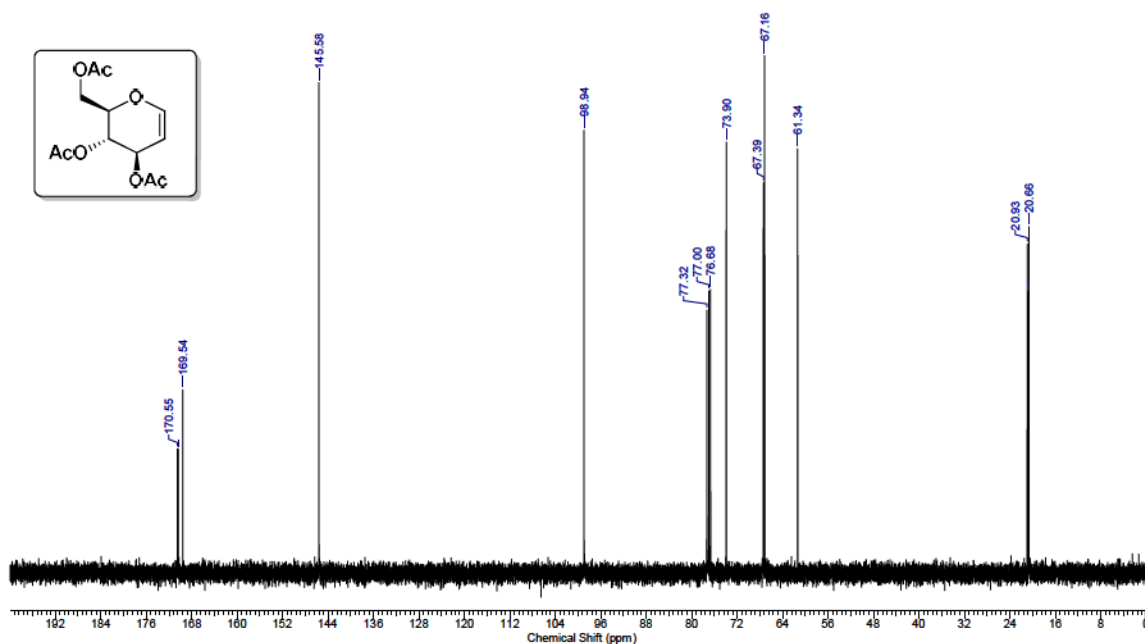
Adicionalmente, as imagens dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (Figura 11 e 12) indicam os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono presentes na estrutura do tri-*O*-acetil-D-glucal.

Figura 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do tri-*O*-acetil-D-glucal.



Fonte: Próprio autor, 2019.

Figura 12. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do tri-*O*-acetil-D-glucal.

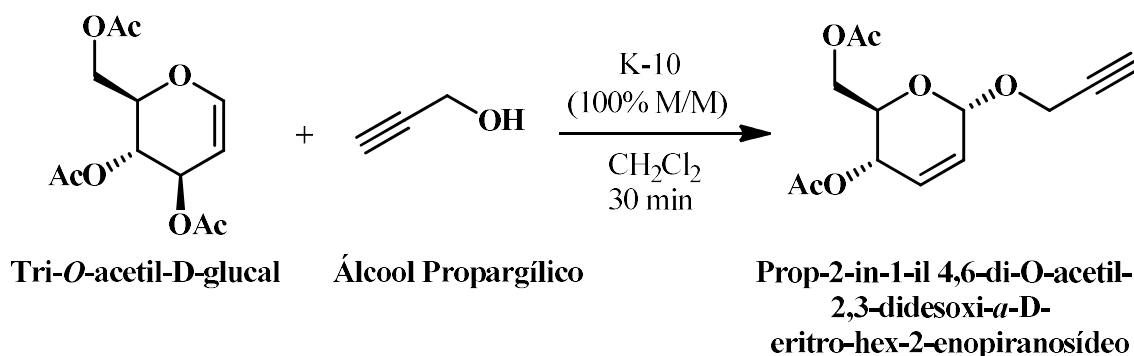


Fonte: Próprio autor, 2019.

Uma vez sintetizado e caracterizado o tri-*O*-acetil-*D*-glucal, partiu-se então para a síntese do prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -*D*-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, denominado agora de *O*-glicosídeo-2,3-insaturado (Figura 13). Para isto, foi utilizado a metodologia proposta por Toshima et al. (1995), com algumas modificações. Após sua síntese, fez-se então o processo de purificação, através de cromatografia em coluna, utilizando sílica em gel.

O glicosídeo obtido e que foi posteriormente purificado, apresentou uma aparência sólida de coloração branca. Adicionalmente, o composto citado foi obtido em ótimo rendimento, com 89%.

Figura 13: Esquema da reação de síntese do *O*-glicosídeo-2,3-insaturado.



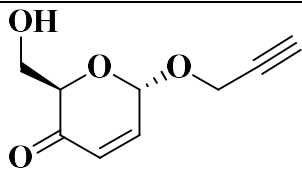
Legendas: K-10: catalisador montmorillonita K-10; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: diclorometano.

Fonte: Próprio autor, 2019.

A caracterização do *O*-glicosídeo-2,3-insaturado (prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -*D*-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo) foi realizada pelas técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (<sup>1</sup>H) e carbono (<sup>13</sup>C) e de infravermelho (IV), descritas na Tabela (7). Frente a Tabela (7) e analisando os valores das bandas de vibração, das integrais e deslocamento químicos, constatou-se que o *O*-glicosídeo-2,3-insaturado foi sintetizado com sucesso.

Tabela 7. Dados espectrométricos do *O*-glicosídeo-2,3-insaturado.

| Composto | $[\alpha]_D^{20}$ | RMN <sup>1</sup> H<br>(300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) | RMN<br><sup>13</sup> C (75) |
|----------|-------------------|---|-----------------------------|
|          |                   |   |                             |

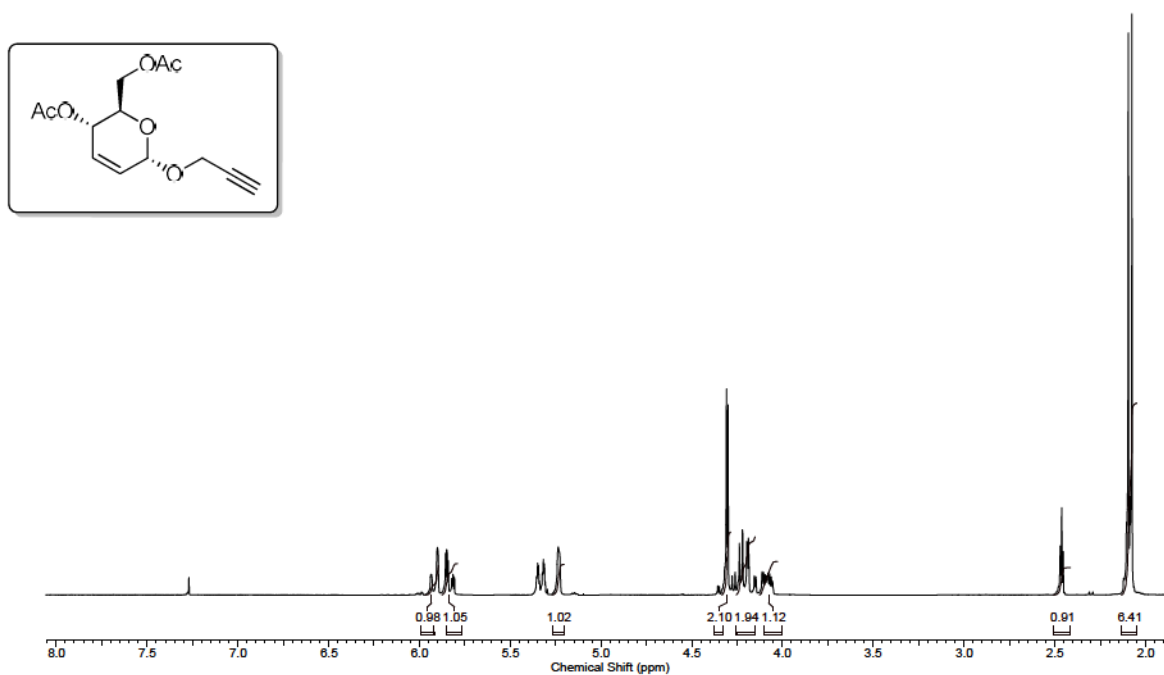
|   |   |   | MHz,<br>CDCl <sub>3</sub> )  |
|---|---|---|--|
|  | +137,7  | $\delta$ 5,90 ( <i>dl</i> , 1H, H3, $J$ = 10,2 Hz), 5,82 ( <i>dt</i> , 1H, H2, $J$ = 10,2 e 1,5 Hz), 5,33 ( <i>dd</i> , 1H, H4, $J$ = 9,6; 3,0 e 1,5 Hz), 5,22 ( <i>sl</i> , 1H, H1), 4,29 ( <i>d</i> , 2H, OCH <sub>2</sub> , $J$ = 2,4 Hz), 4,25 ( <i>dd</i> , 1H, H6, $J$ = 12,4 e 5,4 Hz), 4,16 ( <i>dd</i> , 1H, H6', $J$ 12,4 e 2,4 Hz), 4,07 ( <i>dd</i> , 1H, H5, $J$ = 9,6; 5,4 e 2,4 Hz), 2,07 ( <i>t</i> , 1H, C≡C-H, $J$ = 2,4 Hz), 2,09 ( <i>s</i> , 3H, OAc), 2,07 ( <i>s</i> , 3H, OAc). | $\delta$ 170,7; 170,2; 129,7; 127,1; 92,7; 78,9; 74,8; 67,1; 65,0; 62,7; 55,0; 20,9; 20,7. |
|   | IV (pastilha de KBr).   |   |  |
|   | $\nu_{\max}$ 3296, 3058, 2918, 2129, 1741, 1373, 1235, 1038, 966, 907, 737 cm <sup>-1</sup> . |   |  |

Legenda: [ $\alpha$ ]: rotação específica; P.F: ponto de fusão; RMN <sup>1</sup>H: ressonância magnética nuclear de hidrogênio; RMN <sup>13</sup>C: ressonância magnética nuclear de carbono 13; IV: infravermelho; MHz: mega-hertz; Hz: hertz; CDCl<sub>3</sub>: clorofórmio deuterado;  $\delta$ : deslocamento químico; *d*: duplete; *dd*: duplete de duplete; *dl*: duplete largo;  $J$ : constante de acoplamento; *dt*: duplete de triplete; *m*: multiplete; *s*: singlete; *sl*: singlete largo; OAc: grupo acetoxi;  $\nu_{\max}$ : número de ondas.

**Fonte: Próprio autor, 2019.**

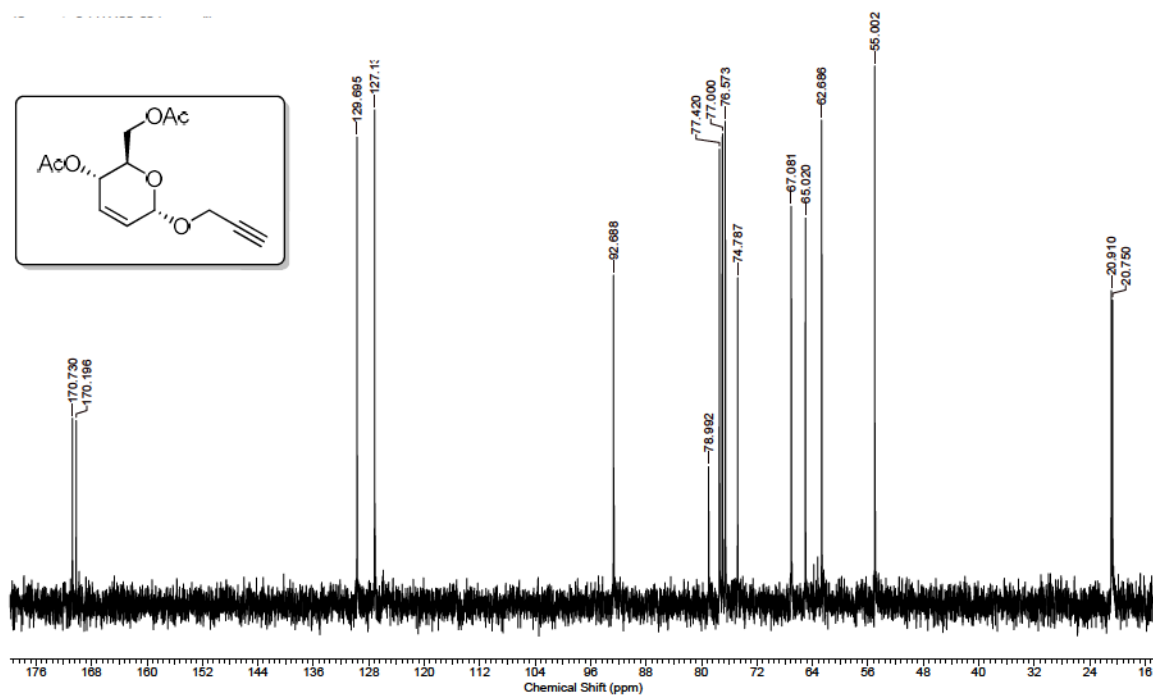
Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (Figura 14 e 15) indicam os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono presentes na estrutura do *O*-glicosídeo-2,3-insaturado. Analisando todos os deslocamentos químicos, as bandas e as somatórias das integrais, foi constatado a sua arquitetura molecular.

**Figura 14. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do *O*-glicosídeo-2,3-insaturado.**



Fonte: Próprio autor, 2019.

Figura 15. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do *O*-glicosídeo-2,3-insaturado.

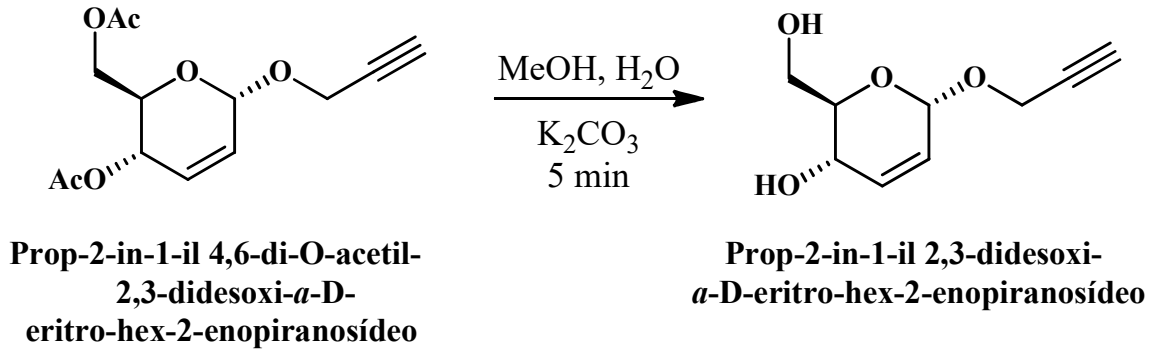


Fonte: Próprio autor, 2019.

Posteriormente, o *O*-glicosídeo-2,3-insaturado foi então submetido à reação de hidrólise, a fim de levar ao prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, denominado de glicosídeo hidrolisado, obtido seguindo a metodologia proposta por Santos et

al. (2017a). O tempo reacional da reação de hidrólise foi de 5 minutos (Figura 16). O glicosídeo hidrolisado, após a purificação em cromatografia em coluna, utilizando também sílica em gel, foi obtido na forma de um óleo incolor, com 85% de rendimento.

Figura 16. Esquema da reação de síntese do glicosídeo hidrolisado.



Legendas: MeOH: metanol; H<sub>2</sub>O: água; K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: carbonato de potássio.

Fonte: Próprio autor, 2019.

A caracterização do glicosídeo hidrolisado está sumarizada na Tabela (8), e após analisar os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (<sup>1</sup>H) (Figura 17) e carbono (<sup>13</sup>C) (Figura 18) e de infravermelho (IV), foi confirmando que o composto foi sintetizado com ênfase.

Tabela 8. Dados espectrométricos do glicosídeo hidrolisado.

| Composto | $[\alpha]_D^{20}$   | RMN <sup>1</sup> H<br>(400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )  | RMN <sup>13</sup> C<br>(100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )             |
|----------|---|--|--|
|          | +137,7  | $\delta$ 6,01 ( <i>dl</i> , 1H, H3, $J$ = 10,0 Hz), 5,75 ( <i>dl</i> , 1H, H2, $J$ = 10,0 Hz), 5,19 ( <i>sl</i> , 1H, H1), 4,30 ( <i>d</i> , 2H, OCH <sub>2</sub> , $J$ = 2,0 Hz), 4,23 ( <i>dl</i> , 1H, H4, $J$ = 9,2 Hz), 3,91-3,82 ( <i>m</i> , 2H, H6), 3,71 ( <i>dd</i> , 1H, H5, $J$ = 9,2; 4,0 e 3,6 Hz), 2,70 | $\delta$ 133,7; 125,3; 92,5; 79,0; 74,4; 71,4; 63,6; 62,1; 54,8. |
|          | IV (pastilha de KBr)  |  |  |
|          | $\nu_{\max}$ 3370, 2948, 2875, 1490, 1263, 1028, 759 cm <sup>-1</sup> |  |  |

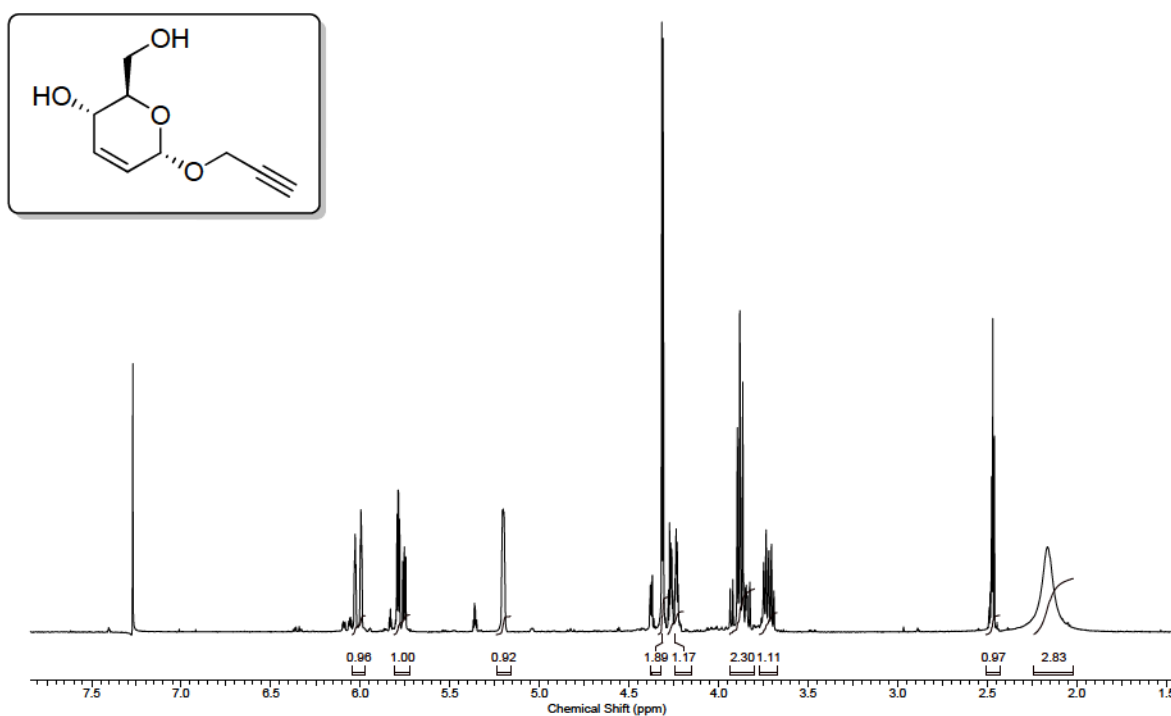


|  |  |   |  |
|--|--|---|--|
|  |  | ( <i>sl</i> , 2H, OH), 2,47 ( <i>t</i> , 1H, C≡CH, $J = 2,0$ Hz). |  |
|--|--|---|--|

Legenda: [ $\alpha$ ]: rotação específica; P.F: ponto de fusão; RMN  $^1\text{H}$ : ressonância magnética nuclear de hidrogênio; RMN  $^{13}\text{C}$ : ressonância magnética nuclear de carbono 13; IV: infravermelho; MHz: mega-hertz; Hz: hertz;  $\text{CDCl}_3$ : clorofórmio deuterado;  $\delta$ : deslocamento químico; *d*: duplete; *dl*: duplete largo;  $J$ : constante de acoplamento; *m*: multiplete; *s*: singleto; *sl*: singleto largo; OAc: grupo acetoxi;  $\nu_{\text{max}}$ : número de ondas.

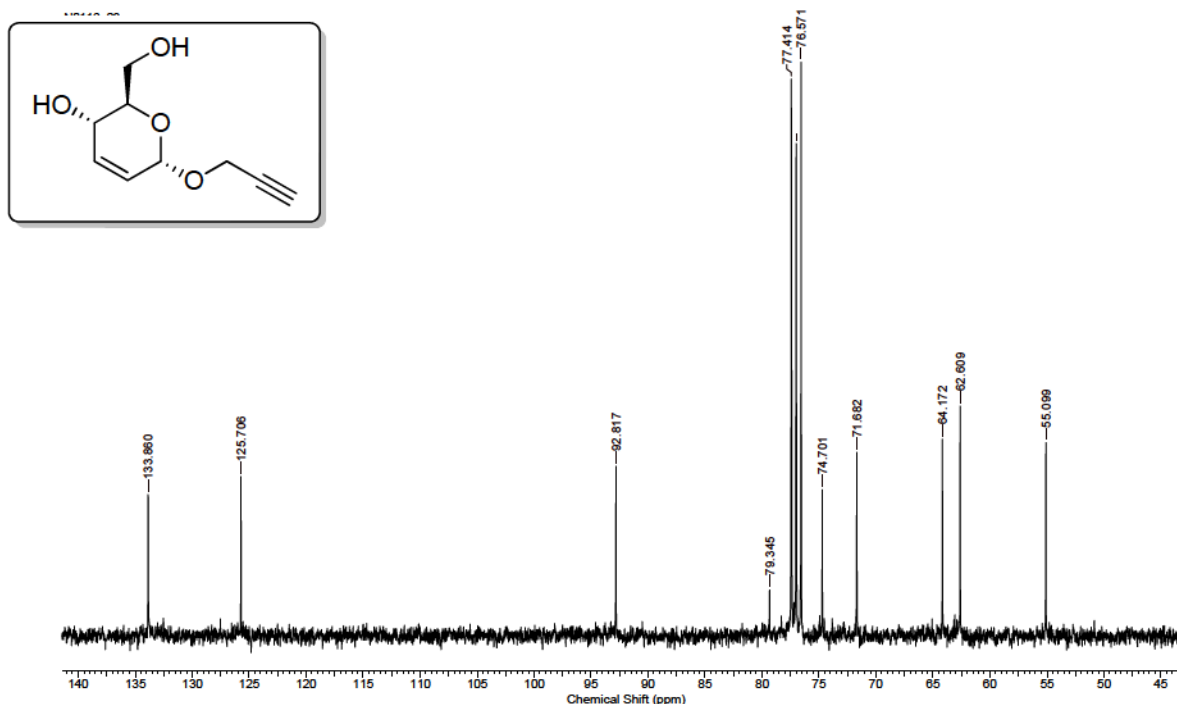
Fonte: Próprio autor.

Figura 17. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do glicosídeo hidrolisado.



Fonte: Próprio autor, 2019.

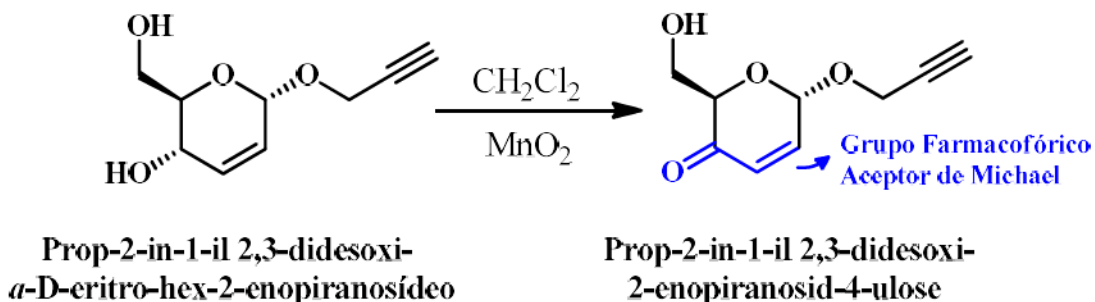
Figura 18. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do glicosídeo hidrolisado.



Fonte: Próprio autor, 2019.

Uma vez sintetizado o glicosídeo hidrolisado, partiu-se então para a última reação: a reação de oxidação, visando a síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (candidato “4”), denominado de glicosídeo oxidado, este por sua vez, conterá o grupamento farmacofórico aceptor de Michael. O glicosídeo oxidado foi sintetizado seguindo a metodologia proposta por Santos et al. (2017a), com algumas modificações (Figura 19).

Figura 19. Esquema da reação de síntese do prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose ou glicosídeo oxidado, contendo o grupamento farmacofórico aceptor de Michael.



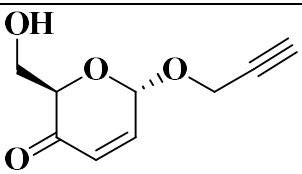
Legendas:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : diclorometano;  $\text{MnO}_2$ : dióxido de manganês.

Fonte: Próprio autor, 2019.

O prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando sílica em gel e foi obtido na forma de um sólido amorfo, de coloração

branca, com 87% de rendimento. Os dados espectroscópicos deste composto estão sumarizados na Tabela (9).

**Tabela 9. Dados espectrométricos do glicosídeo oxidado.**

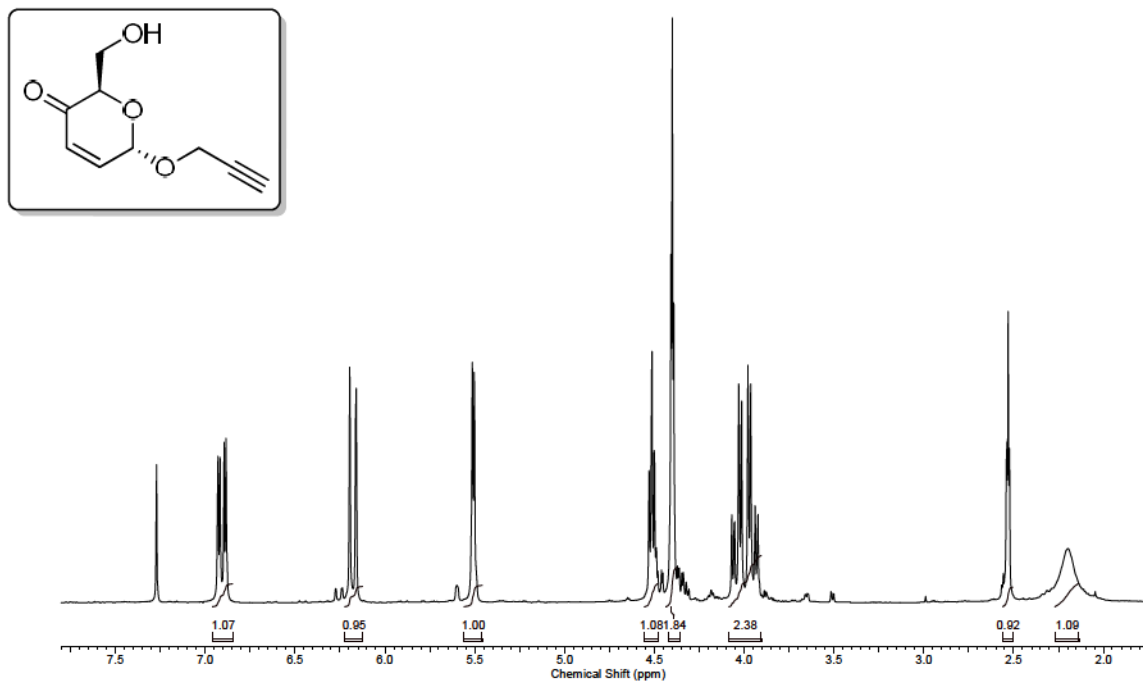
| Composto  | $[\alpha]_D^{20}$  | RMN $^1\text{H}$<br>(300 MHz, $\text{CDCl}_3$ )  | RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ )  |
|---|--|--|---|
|  | + 29,8   | $\delta$ 6,90 ( <i>dd</i> , 1H, $J_{2,1} = 3,3$ Hz, $J_{2,3} = 10,5$ Hz, H-2),<br>6,17 ( <i>d</i> , 1H, $J_{3,2} = 10,5$ Hz, H-3), 5,50 ( <i>d</i> , 1H, $J_{2,1} = 3,3$ Hz, H-1), 4,50 ( <i>t</i> , 1H, $J = 4,5$ Hz, H-5); 4,39 ( <i>t</i> , 2H, $J = 2,4$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 4,0 ( <i>dd</i> , 2H, $J_{6,5} = 4,5$ Hz, $J_{6,6'} = 12,0$ Hz), 2,52 ( <i>t</i> , 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$ ), 2,19 (1H, OH). | $\delta$ 195,3;<br>143,4;<br>128,2;<br>91,6;<br>78,6;<br>76,0;<br>75,5,<br>61,6;<br>55,9. |
|   | IV (pastilha de KBr)   |  |   |
|   | $\nu_{\text{max}}$ 3370 $\text{cm}^{-1}$ ( $\nu$ OH);<br>1701 $\text{cm}^{-1}$ ( $\nu$ C=O). |  |   |

Legenda:  $[\alpha]$ : rotação específica; P.F: ponto de fusão; RMN  $^1\text{H}$ : ressonância magnética nuclear de hidrogênio; RMN  $^{13}\text{C}$ : ressonância magnética nuclear de carbono 13; IV: infravermelho; MHz: mega-hertz; Hz: hertz;  $\text{CDCl}_3$ : clorofórmio deuterado;  $\delta$ : deslocamento químico; *d*: duplete; *J*: constante de acoplamento;  $\nu_{\text{max}}$ : número de ondas.

**Fonte: Próprio autor, 2019.**

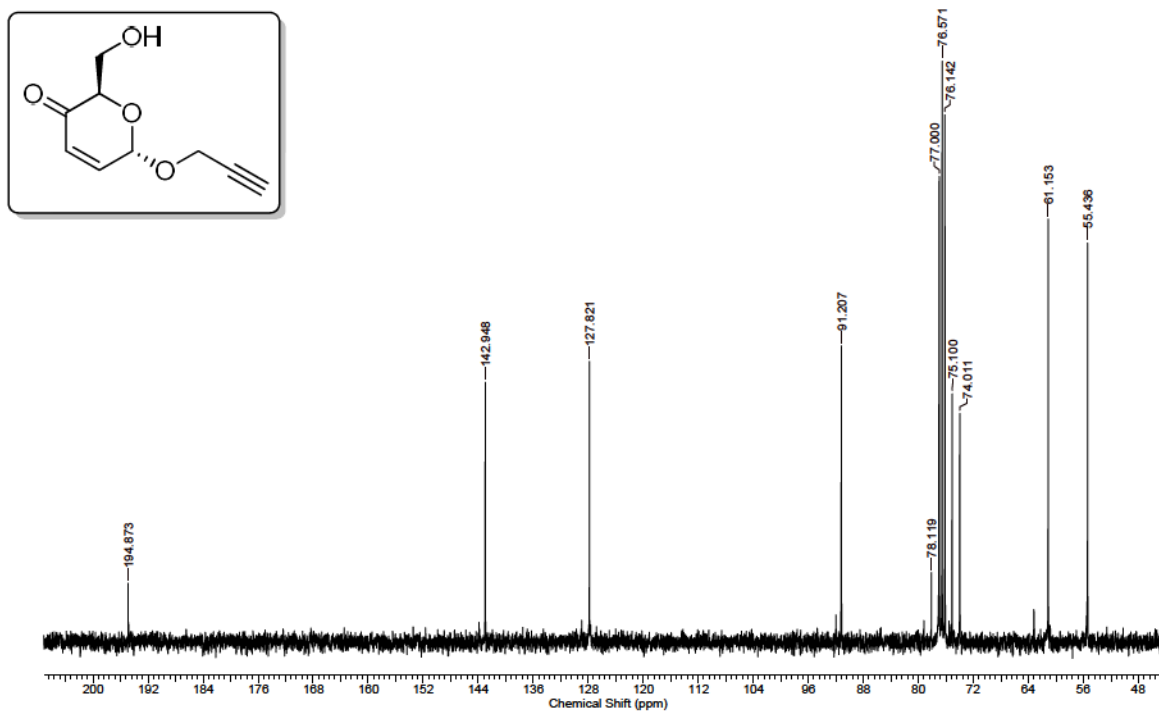
De acordo com a Tabela (9), os dados da caracterização do glicosídeo oxidado indicam que o mesmo foi obtido com sucesso, ou seja, a molécula contendo o grupamento farmacofórico aceptor de Michael foi sintetizada com eficácia, mediante quatro reações químicas em que os rendimentos variaram de 85% a 91%. Ainda, os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e carbono ( $^{13}\text{C}$ ) estão demonstrados na Figura (20 e 21).

**Figura 20. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do glicosídeo oxidado.**



Fonte: Próprio autor, 2019.

Figura 21. Espectro RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do glicosídeo oxidado.



Fonte: Próprio autor, 2019.

Diante de todos os resultados toxicológicos obtidos pelos métodos *in silico*, agora foi avaliado o perfil toxicológico por métodos *in vitro*. Neste sentido, a próxima etapa do trabalho consistiu em avaliar a toxicidade do composto sintetizado frente a larvas de *Artemia salina* Leach e larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

Para a avaliação da toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, o valor da taxa de mortalidade da solução variou entre 0 e 100%, visando determinar a concentração letal para matar 50% das larvas ( $CL_{50}$ ), conforme descrito na Tabela (10). De acordo com Merino e colaboradores (2015), amostras que apresentem  $CL_{50}$  inferior a 100  $\mu\text{g/mL}$ , são consideradas altamente tóxicas, valores entre 100 e 500  $\mu\text{g/mL}$  são moderadamente tóxicas, entre 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  são levemente tóxicas e acima de 1.000  $\mu\text{g/mL}$  possuem pouca toxicidade ou são atóxicas.

Com isto, foram feitas 15 concentrações para então obter a  $CL_{50}$ , ambas com 90 artêmias cada, ou seja, cada concentração foi feita em triplicata de triplicata, as quais estão listadas na Tabela (10), bem como a taxa de mortalidade de cada uma.

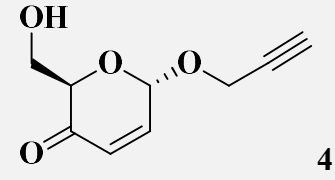
**Tabela 10. Concentrações utilizadas frente as artêmias para a obtenção da  $CL_{50}$ .**

| <b>Concentração</b>   | <b>Taxa de Mortalidade</b> |
|-----------------------|----------------------------|
| 10 $\mu\text{g/mL}$   | 0%                         |
| 50 $\mu\text{g/mL}$   | 0%                         |
| 75 $\mu\text{g/mL}$   | 0%                         |
| 100 $\mu\text{g/mL}$  | 0%                         |
| 450 $\mu\text{g/mL}$  | 2%                         |
| 500 $\mu\text{g/mL}$  | 10%                        |
| 525 $\mu\text{g/mL}$  | 16%                        |
| 550 $\mu\text{g/mL}$  | 23%                        |
| 575 $\mu\text{g/mL}$  | 35%                        |
| 600 $\mu\text{g/mL}$  | 46%                        |
| 625 $\mu\text{g/mL}$  | 63%                        |
| 650 $\mu\text{g/mL}$  | 78%                        |
| 675 $\mu\text{g/mL}$  | 95%                        |
| 700 $\mu\text{g/mL}$  | 100%                       |
| 1000 $\mu\text{g/mL}$ | 100%                       |

**Fonte: Próprio autor, 2019.**

A partir destes resultados, a  $CL_{50}$  encontrada através do *software POLO-PC*, com 95% de confiança, foi de 610,370  $\mu\text{g/mL}$  com intervalo de confiança nos limites 595,110 a 625,629  $\mu\text{g/mL}$ , como demonstra a Tabela (11).

**Tabela 11. Resultados da  $CL_{50}$  frente as artêmias.**

| Candidato   | $CL_{50}$                 |
|---|---------------------------|
|  | 610, 370 $\mu\text{g/mL}$ |

Fonte: Próprio autor, 2019.

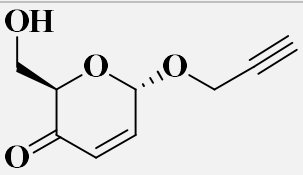
De acordo com Merino et al. (2015), o valor da  $CL_{50}$  igual a 610, 370  $\mu\text{g/mL}$  implica que o mesmo apresenta uma baixa toxicidade, fazendo jus a toxicidade encontrada pelos métodos *in silico*, em que a  $DL_{50}$  para os ratos foi de 500 mg/Kg, considerada uma toxicidade relativamente baixa, resultado bastante promissor. Brito (2016) relata em seu trabalho que o antibiótico amoxicilina não apresentou nenhuma toxicidade frente as artêmias. Ainda, Garcez et al. (2018) avaliaram a  $CL_{50}$  da dipirona sódica, utilizando também o bioensaio frente as artêmias, obtendo uma  $CL_{50}$  de 654,1  $\mu\text{g/mL}$ , valor este próximo ao encontrado para o composto em questão e que ambos, são considerados levemente tóxicos.

Em consonância, o controle positivo ocasionou a morte de todas as artêmias, comprovando que não houve a presença de artêmias consideradas resistentes, e o controle negativo não ocasionou a morte de nenhuma delas, comprovando que o co-solvente (dimetilsulfóxido) utilizado para solubilizar o composto, não foi tóxico para as artêmias, confirmando que a atividade correspondente foi apenas do candidato. Após analisado a toxicidade frente as artêmias, a próxima etapa foi avaliar também a toxicidade *in vitro* frente a larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

Menezes et al. (2015) descreveram a atividade larvicida de  $\delta$ -lactonas que apresentam em sua arquitetura molecular o grupo aceptor de Michael e postularam a hipótese de tal atividade está relacionada aos grupos farmacofóricos presentes nas suas estruturas. Assim, aumentou a expectativa da realização dos testes de atividade larvicida frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti* com o candidato “4”, devido às características estruturais das  $\delta$ -lactonas com o candidato sintetizado, pois ambos apresentam em sua estrutura molecular uma unidade aceptor de Michael.

Os bioensaios foram realizados com as larvas no estágio L-4, já que neste estágio elas começam a se alimentar principalmente da matéria orgânica. As larvas do mosquito *Aedes aegypti* neste estágio foram mantidas e examinadas por 24 e 48 horas em temperatura constante de 28°C, na solução do composto com concentração de 10, 50 e 100 µg/mL e na solução controle. Os resultados estão sumarizados na Tabela (12).

**Tabela 12. Resultados do teste toxicológico frente a larvas do mosquito *Aedes aegypti*.**

| Candidato  | Concentrações Preliminares |     |          |     |           |     |
|--|----------------------------|-----|----------|-----|-----------|-----|
|  | 10 µg/mL                   |     | 50 µg/mL |     | 100 µg/mL |     |
|  | 24H                        | 48H | 24H      | 48H | 24H       | 48H |
| <br><b>4</b> | 5%                         | 5%  | 10%      | 10% | 20%       | 20% |

Fonte: Próprio autor.

De acordo com a Tabela (12), o candidato “4” não apresentou toxicidade significativa frente às larvas. Segundo Menezes et al. (2015), compostos com atividade larvicida, interromperam a atividade de enzimas digestivas das larvas do mosquito *Aedes aegypti* no estágio L-4, uma vez que elas produzem enzimas semelhantes a tripsina, que são essenciais para o processo digestivo, nutricional e do desenvolvimento. Com isto, o candidato “d” contendo a unidade acceptora de Michael não inibiu as atividades da tripsina de todas as larvas, o que pode ser justificado pela grande resistência que estas larvas vêm apresentando aos agentes larvicidas.

A literatura cita que compostos só são considerados como agentes larvicidas ativos se apresentarem valores de CL<sub>50</sub> inferiores a 100 µg/mL e altamente ativos quando as CL<sub>50</sub> forem inferiores a 50 µg/mL (CHENG et al., 2003). Neste sentido, o candidato “4” foi classificado como inativo frente à atividade larvicida, já que a CL<sub>50</sub> do mesmo foi maior que 100 µg/mL. Adicionalmente, no teste controle não foi observado à mortalidade, o que demonstra que o solvente usado não interferiu nos resultados, assim a atividade corresponde apenas aos compostos testes.

Diante de todos os resultados *in silico* e *in vitro* apresentados para o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (candidato “4”), é notório que este composto tende a ser um candidato a fármaco bastante promissor e isto é justificado tanto pelas suas propriedades

farmacocinéticas quanto pelas propriedades farmacodinâmicas. Assim, os resultados obtidos servirão como motivação para futuros estudos de suas atividades biológicas e farmacológicas, além de estudos de modificações em sua estrutura molecular, de forma a melhorar seu potencial terapêutico e as interações frente a um determinado alvo biológico, contribuindo assim, na busca de um novo fármaco.



## 6 CONCLUSÃO

O presente trabalho avaliou a arquitetura molecular de quatro compostos alvo, ambos contendo o grupamento farmacofórico aceptor de Michael. Após diversas análises sobre suas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas, foi escolhido o composto mais promissor e merecedor de síntese. O prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (candidato “4”) foi obtido após quatro etapas reacionais e caracterizado por diferentes técnicas espectroscópicas, que confirmaram a sua estrutura química.

Após as etapas de síntese e purificações, o glicosídeo oxidado apresentou rendimentos que variaram entre 85% a 91%, valores excelentes, tendo em vista as várias etapas de sua síntese. Comprovado sua síntese e estrutura química, o composto foi submetido a análises toxicológicas frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach e a larvas do mosquito *Aedes aegypti*. O prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose apresentou uma  $CL_{50}$  de 544,670  $\mu\text{g/mL}$  frente as artêmias. Já no bioensaio contra as larvas do mosquito *Aedes aegypti* no estágio L4, foi constatado que o composto não apresentou toxicidade significativa, devido o mesmo possuir uma  $CL_{50}$  superior a 100  $\mu\text{g/mL}$  e por causa disso, não inibiu as atividades das enzimas digestivas de todas as larvas.

Entretanto, a atividade larvicida do presente composto poderá ser maximizada através de modificações em sua estrutura, associando características de determinados grupamentos químicos para conferir aumento da atividade larvicida. Assim, o prop-2-in-1-il 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose demonstrou ser um promissor candidato a fármaco, uma vez que apresentou potenciais farmacológicos, biológicos e toxicológicos, que servirão de motivos para fomentar estudos mais detalhados e que proporcionarão sua aplicação para os mais diversos fins farmacêuticos.

## REFERÊNCIAS

- ABRANTES, A. F.; ROCHA, T. C.; LIMA, A. B. S.; CAVALCANTI, M. T. Veneno de abelha: influência da coleta em qualidade e citotoxicidade. **Ciência Rural**, v. 47, n. 10, p. 1-4, 2017.
- AGIRRE, J.; DAVIES, G. J.; WILSON, K. S.; COWTAN, K. D. Carbohydrate structure: the rocky road to automation. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 47, n.1, p. 39-47, 2017.
- ALBUQUERQUE, L. P.; PONTUAL, E. V.; SANTANA, G. M. S.; SILVA, L. R. S.; AGUIAR, J. S.; COELHO, L. C. B. B.; REGO, M. J. B. M.; PITTA, M. G. R.; SILVA, T. G. MELO, A. M. M. A.; NAPOLEAO, T. H.; PAIVA, P. M. G. Efeitos tóxicos da lectina do rizoma de *Microgramma vacciniifolia* na *Artemia salina*, células humanas e no vetor da esquistossomose *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 138, n. 1, p. 23-27, 2014.
- ALMEIDA, C. L. A. **Planejamento sintético e avaliação antitumoral de carboidratos enônicos**. 2015. 64 f. Monografia (Licenciatura em Química). Centro de Educação e Saúde - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité-PB. 2015.
- ANDRADE, A. B. A. **Potencial toxicológico in vitro do pólen de plantas apícolas da caatinga**. 2018. 42 f. Dissertação de Mestrado (Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-PB, 2018.
- APU, A. S.; MUHIT, M. A.; PATHAN, A. H.; JAMALUDDIN, A.T. M.; AHMED, M. Bioensaio de atividade antimicrobiana e letalidade de camarão salgado do extrato de folhas de *Dillenia indica* Linn. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, n. 1, p. 50-53, 2010.
- ARAUJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase - AChE: uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, 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**, v. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.
- BANDERA, D.; SAPKOTA, J.; JOSSET, S.; WEDER, C.; TINGAUT, P.; GAO, X.; FOSTER, E. J.; ZIMMERMANN, T. Influence of mechanical treatments on the properties of

cellulose nanofibers isolated from microcrystalline cellulose. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, n.1, p. 134, 2014.

BANERJEE, P.; ECKERT, A. O.; SCHREY, A. K.; PREISSNER, R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 1, p. 257-263, 2018.

BARBOSA, S. F. **Nanocristais de furosemida: preparação, caracterização físico-química e avaliação *in silico* de absorção oral e pulmonar**. 2014. 172 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2014.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**: 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BARROS, M. E. S. B. **Estudos de docking molecular e atividade biológica de análogos de (-)- massoialactona e da combretastatina A-4**. 2015. 128 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2015.

BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O.G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 44, 2010.

BELEM, 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**, v. 13, n. 2, p. 51-59, 2015.

BERA, S.; MONDAL, D.; MARTIN, J. T.; SINGH, M. Potential effect of ultrasound on carbohydrates. **Carbohydrate Research**, v. 410, n. 4, p. 15, 2015.

BITENCOURT, A. P. R. Estudo fitoquímico, toxicológico e microbiológico das folhas de . **Biota Amazônia**, v. 4, n. 4, p. 75-79, 2014.

BONDUELLE, C.; LECOMMANDOUX, S. Synthetic Glycopolypeptides as Biomimetic Analogues of Natural Glycoproteins. **Biomacromolecules**, v. 14, n.9, p. 2973-2983, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 34. **Boletim Epidemiológico**, Brasília (DF), v. 50, n. 22, p.1-11, 2019a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Combate ao *aedes aegypti*: prevenção e controle da dengue, chikungunya e zika. 2019b. Disponível em: < <https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/combate-ao-aedes>>. Acesso em 30 de set. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Ministério da Saúde lança campanha de combate ao *Aedes aegypti*. 2019c. Disponível em: < <http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45788-ministerio-da-saude-lanca-campanha-de-combate-ao-aedes-aegypti-12-09-2019>>. Acesso em 30 de set. de 2019.

BRITO, L. B. **Avaliação ecotoxicológica do antibiótico amoxicilina considerando sua presença no ambiente aquático**. 2016. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2016.

BRITO, M. A. Avaliação de propriedades farmacológicas de fármacos *in silico* no curso experimental de química medicinal. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 17, n. 4, p. 22-29, 2010.

BRITO, T. B. **Estudos de síntese, toxicidade e relação estrutura-atividade de derivados indólicos 3-substituídos em *aedes aegypti* (diptera: culicidae) e *artemia sp.* (artemidae)**. 2018. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão - SE, 2018.

CALAZANS, R. S. P.; BULIAN, A. L. S.; ALVES, L. O.; COSTA, K. A.; SALVI, J. O. Estudo fitoquímico e avaliação da citotoxicidade aguda frente à *artemia salina* (leach) de plantas comercializadas em feira-livre. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2019.

CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p. 99-102, 2003.

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**, v. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010.

COSTA, M. M. R.; COSTA, E. S. C.; VILAÇA, D. H. V. V.; ARAUJO, I. M. F.; RUFINO, I. E. M.; CAVALCANTE, I. C. G. M.; GONÇALVES, V. L.; MARTINS, A. G. S.; CAVALCANTE, A. S.; SEABRA, C. A. M.; ROLIM, N. R. F.; SARMENTO, T. B.; LIMA, M. C.; MASCENA, L. Q.; LIMA, C. A. L. O.; DINIZ, A. L. A.; RAMOS, W. A.; GONÇALVES, P. P.; ANDRADE, P. A. S.; ANDRADE, T. A.; LEMOS, A. C. A.; MENDONÇA, K. L. S.; ALBUQUERQUE, M. C. C. A.; SILVA, E. V. C. C. Dengue: aspectos epidemiológicos no município de Salgueiro do Sertão Pernambucano, Brasil.

**Brazilian Journal of Health Review**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2018.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural Products: A continuing source of novel drug leads.

**Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

DELBIANCO, M.; BHARATE, P.; VARELA-ARAMBURU, S.; SEEBERGER, P. H.

Carbohydrates in Supramolecular Chemistry. **Chemical Review**. v. 116, n. 4, p. 1693, 2016.

DIAS, E. C.; FERRARI, A. L. S.; SILVA, F.; SCHMIDT, R. B.; SALVI, J. S.; SALVI, J. O.

Qualidade físico-química, microbiológica e a toxicidade de corpos hídricos do parque tecnológico vandeci rack em ji-paraná, rondônia. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 6, n. 1, p. 282-296, 2019.

ENGDAHL, C.; KNUTSSON, S.; FREDRIKSSON, S. A.; LINUSSON, A.; BUCHT, G.;

EKSTROM, F. Acetylcholinesterases from the disease vectors *aedes aegypti* and *anopheles gambiae*: functional characterization and comparisons with vertebrate orthologues. **PloS One**, v. 10, n. 10, p. 1-9, 2015.

FERREIRA, L. G.; SANTOS, R. N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Molecular

docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13384-13421, 2015.

FIGUEREDO, A. S. **Síntese e avaliação biológica de glycoclusters com potencial aplicação para o tratamento de diabetes e doença de Chagas**. 2018. 171 f. Tese (Doutorado) -

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP, 2018.

FONTAN, J. S; AMADIO, M. B. O uso do carboidrato antes da atividade física como recurso

ergogênico: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 21, n. 2, p. 1-5, 2015.

FOWLER, S.; MORCOS, P. N.; CLEARY, Y.; MARTIN-FACKLAM, M.; PARROTT, N.; GERTZ, M.; YU, L. Progress in Prediction and Interpretation of Clinically Relevant Metabolic Drug-Drug Interactions: a Minireview Illustrating Recent Developments and Current Opportunities. **Current Pharmacology Reports**, v. 3, n. 1, p. 36-49, 2017.

FREITAS, R. F.; LIMA, P. R. A.; PIMENTEL, M. A.; QUEIROZ, P. R. Perfil fitoquímico, ensaio microbiológico e toxicidade frente a *Artemia salina* do extrato da entrecasca da myracrodruon urundeuva A. **Biota Amazonia**, v. 8, n.3, p. 1-4, 2018

GARCEZ, B. B. D.; CARREIRO, E.; NOGUEIRA, M. C.; MACEDO, N. S.; NASCIMENTO, S. L. S.; SILVA, J. N.; MARQUES, R. B. Toxicidade aguda da dipirona sódica in vitro utilizando o bioindicador de toxicidade *Artemia salina* Leach. **Revinter**, v. 11, n. 2, p. 114-119, 2018.

GOMES, J. N. S. **Estudo *in silico* de derivados acridínicos com potencial atividade antitumoral**. 2019. 108 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB, 2019.

GUERRA, T. M. **Estudos de docking molecular de derivados da tiazolidina como potenciais inibidores da enzima cruzaina de trypanosoma cruzi**. 2019. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada-PE, 2019.

GUIMARAES, M.; PELEGRINI, M. D.; VERONICA, J. P.; JONSSON, C. M.; CASTRO, V. L. Efeito de inseticidas usados na aquicultura sobre organismos bioindicadores zooplanctonicos e fitoplanctonicos. *In*: Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, 5, 2011, Campinas. [Anais...] Campinas: EMBRAPA, 2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/916982/efeito-de-inseticidas-usados-na-aquicultura-sobre-organismos-bioindicadores-zooplactonicos-e-fitoplanctonicos>>. Acesso em 15 de set. de 2019.

GÚZMAN, M. G.; GARCÍA, G.; KOURÍ, G. El dengue y el dengue hemorrágico: prioridades de investigación. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 19, n. 3, p. 1-12, 2006.

JOOSTEN, R. P.; LUTTEKE, T. Carbohydrate 3D structure validation. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 44, n. 9, p. 9–17, 2017.

LEODIDO, A. C. M.; ALVARENGA, E. M.; ARAUJO, T. S. L.; SOUSA, N. A.; SOUZA, L. K. M.; COSTA, D. S.; SOUZA, F. M. Prospecção tecnológica de polissacarídeos com atividade antidiarreica. **Revista Gestão, Inovação e Tecnologias**, v.7, n.1, p. 3655-3668, 2017.

LIMA, L. S.; SOUZA, D. R. Ensaio de toxicidade utilizando artemias salinas para estimativa de dose letal (dl50) de diclofenaco de sódio. **Pesquisare**, v. 1, n. 1, p. 1-1, 2017.

LIPINSKI, C. A. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. **Elsevier**, v. 101, n.1, p. 8, 2016.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n.3, p. 4-25, 1997.

LOPES, G.; SILVA, T. M. S.; ECHEVARRIA, A. Atividade tóxica frente à *artemia salina* e *biomphalaria glabrata* de extratos brutos e frações glicocalcoidais de *solanum* spp. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 141-156, 2016.

MAFUD, A. C.; FERREIRA, L. G.; MASCARENHAS, Y. P.; ANDRICOPULO, A. D.; MORAES, J. Discovery of novel antischistosomal agents by molecular modeling approaches. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 11, p. 874-886, 2016.

MASCARENHAS, R. M. G.; LIMA, C. A.; RODRIGUES, R. P.; KITAGAWA, R. R.; FARAONI, A. S.; OLIVEIRA, T. B.; KITAGAWA, R. R.; FARAONI, A. S.; OLIVEIRA, T. B.V. Avaliação de toxicidade geral em constituintes alimentares utilizando ferramentas in silico. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 2, p. 543-553, 2019.

MENEZES, P. H.; BARROS, M. E. S. B.; FREITAS, J. C. R.; SANTOS, G. K. N.; SILVA, R. C. S.; PONTUAL, E. V.; PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; NAVARRO, D. M. A. F. Effects of  $\alpha,\beta$ -unsaturated Lactones on Larval Survival and Gut Trypsinas Well as Oviposition Response of *Aedes aegypti*. **Experimental Parasitology**, v. 156, n. 1, p. 37-41, 2015.

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**, v. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MOLINSPIRATION. Molinspiration Molecule Viewer: Chem informatics on the Web. 2018. Disponível em: < <http://www.molinspiration.com>>. Acesso em 27 de set. de 2019.

MORAES, R. P.; CORREA, I. C.; VANIN, A. B.; OLIVEIRA, D. L. Potencial tóxico dos óleos essenciais de endro (*anethum graveolens*) e nim (*azadirachta indica A. juss*) frente artemia salina. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 5, p. 3834-3838, 2019.

MOREIRA, L. A. O. **Avaliação da atividade tóxica em artemia salina leach. De extratos de duas espécies da família melastomataceae.** 2013. 52 f. Monografia (Licenciatura em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia De Goiás, Anápolis - GO, 2013.

MOURA, A. L.; GUIMARÃES, B. M.; LIMA, J. A. C.; MATA, M. M. S.; SIVA, J. F.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS, J. C. R.; FILHO, J. R. F. Avanços recentes na química dos aminoaçúcares: ocorrência, biossíntese, síntese e aplicação. **Química Nova**, v. 42, n.6, p. 642-660, 2019.

MOURA, A. L.; LIMA, L. M. A.; BEZERRA, G. B.; DE FREITAS, J. J. R.; BELAIN, M. F.; RAMOS, C. S.; AVELINO, R. A.; FREITAS FILHO, J. R. O-Glicosídeos 2,3-insaturados: aplicações, rearranjo de ferrier e reações. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 550-566, 2018.

MUSTAFA, M. S.; RASOTGI, V.; JAIN, S.; GUPTA, V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): a new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 71, n. 1, p. 67-70, 2015.

NASCIMENTO-JUNIOR, N. M. A relação entre fragmentos estruturais oriundos de produtos naturais e compostos bioativos. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, p. 697-712, 2015.

NIGUDKAR, S. S.; DEMCHENKO, A. V. Stereocontrolled 1,2-cis glycosylation as the driving force of progress in synthetic carbohydrate chemistry. **Chemical Science**, v. 6, n.1, p. 2687-2704, 2015.

NISAR, M.; SHAH, S. M. M.; KHAN, I.; SHEEMA, A.; SADIQ, A.; KHAN, S.; SHAH, S. M. H. Larvicidal, insecticidal, brine shrimp cytotoxicity and anti-oxidant activities of



Diospyros kaki (L.) reported from Pakistan. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 4, p. 1239-1243, 2015.

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

OLIVEIRA, V. F.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; MEDEIROS, C. I. S.; FILHO, A. A. O.; REGO, T. G. Análise farmacológica e toxicológica in silico do flavonoide 5- hidroxí-4', 7- dimetoxiflavona. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v. 3, n. 1, p. 913-921, 2018.

ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. Molecular Property Explorer – DrugScore. 2018.

Disponível em: <<https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html>>. Acesso em 28 de set. de 2019.

PAIVA, R. K. C.; RAMOS, L. M. Investigação Química e avaliação biológica de derivados Tiazolo [3,4d] piridinas frente à *Artemia salina* Leach. In: Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG, 4, 2017, Anápolis. [Anais...] Pirenópolis: CEPE, 2017. Disponível em: <<https://www.anais.ueg.br/index.php/cepe/article/view/10202/7580>>. Acesso em 20 de set. de 2019.

PESQUISA MENSAL DO COMERCIO. Canoinhas registra o segundo foco do mosquito *aedes aegypti* na área urbana. 2018. Disponível em: <<https://www.pmc.sc.gov.br/noticias/index/ver/codMapaItem/18101/codNoticia/528285>>. Acesso em 05 de out. de 2019.

POMPILHO, W. M.; MARCONDES, H. C.; OLIVEIRA, T. T. Bioatividade de três espécies vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 473-480, 2014.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJIDARU, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1-20, 2015.

RIVERA, A. H.; RODRÍGUEZ, A. P. Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. **Revista Cubana de Salud Pública**, v. 36, n.1, p. 1-36, 2010.

RODRIGUES, E. A. S.; COSTA, I. M.; LIMA, S. C. Epidemiologia da dengue, zika e chikungunya, entre 2014 a 2016, em Uberlândia (MG). **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 14, n. 30, p. 62-81, 2018.

RODRIGUES, L.M.S. **Estudos de Docking molecular de derivados tiazóis com a BSA e como potenciais intercaladores de DNA e inibidores da topoisomerase II**. 2019. 61 f. Monografia (Licenciatura em Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada-PE, 2019.

ROSA, C. S.; VERAS, K. S.; SILVA, P. R.; NETO, J. J. L.; CARDOSO, H. L. M.; ALVES, L. P. L.; BRITO, M. C. A.; AMARAL, F. M. M.; MAIA, J. G. S.; MONTEIRO, O. S.; MORAES, D. F. C. Composição química e toxicidade frente *aedes aegypti* L. e *artemia salina* leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Medicas**, v. 18, n. 1, p. 19-26, 2016.

SACHETT, L. G.; VERLI, H.: O papel de carboidratos na função proteica: o caso das PGHS. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 4, p. 275-285, 2011.

SAETAMA, V.; VERA, L.; VANEGAS, M. E.; CRUZAT, C.; BRAZALES, D. Evaluación toxicológica de soluciones acuosas de ibuprofeno mediante bioensayos con *artemia salina*, *allium schoenoprasum* l y *lactuca sativa*. **Revista de Toxicología**, v. 35, n. 2, p. 112-118, 2018.

SANTOS, C. E. M. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 1, p. 47-63, 2011.

SANTOS, J. A. M.; SANTO, C. S.; ALMEIDA, C. L. A.; SILVA, T. D. S.; FILHO, J. R. F.; MILITAO, G. C. G.; SILVA, T. G.; CRUZ, C. H. B.; FREITAS, J. C. R.; MENEZES, P. H. Structure-based design, synthesis and antitumoral evaluation of enulosides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 192-201, 2017a.

SANTOS, V. S. V.; CAIXETA, E. S.; JÚNIOR, E. O. C.; PEREIRA, B. B. Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of pyriproxyfen. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v. 80, n. 3, p. 155–160, 2017b.

SARAIVA, A. M.; CASTRO, R. H. A.; CORDEIRO, R. P.; SOBRINHO, T. J. S. P.; 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**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Vetores. SUCEN - Superintendência de Controle de Endemias. 2019. Disponível em: <<http://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/programas/arboviroses/vetores>>. Acesso em 14 de ago. de 2019.

SEMPREBON, S. C.; MARQUES, L. A.; D'EPIRO, G. F. R.; CAMARGO, E. A.; DA SILVA, G. N.; NIWA, A. M.; MACEDO JUNIOR, F.; MANTOVANI, M. S. Antiproliferative activity of goniothalamin enantiomers involves DNA damage, cell cycle arrest and apoptosis induction in MCF-7 and HB4a cells. **Toxicology In Vitro**, v. 30, n. 1, p. 250, 2015.

SHULL, B.; WU, Z.; KOREEDA, M. A. Convenient, Highly Efficient one-pot Preparation of Peracetylated Glycals from Reducing Sugars. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 15, n. 8, p. 955- 964, 1996.

SILVA, M. S. G. M.; MACEDO, V. S.; JONSSON, C. M. Uso potencial da brita e argila na redução da toxicidade de efluentes da aquicultura contendo diflubenzuron. *In*: Simpósio Internacional Sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais, 3, 2013, São Pedro. [Anais...] São Pedro: EMBRAPA, 2013. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/963252>>. Acesso em 02 de set. de 2019.

SILVA, T. C. **Estudo químico e avaliação do potencial biológico das folhas de *Cassia bakeriana* Craib**. 2019. 184 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2019.

SILVA, M. T. **Síntese de derivados de glicero-carboidratos e amino-1,2,3-Trizóis**. 2015. 93 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, 2015a.

SILVA, V. S. **Avaliação in silico de novos compostos bioativos para o tratamento da síndrome de imunodeficiência adquirida humana (AIDS): Potenciais inibidores da transcriptase reversa (tr) do HIV-1**. 2015. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro-RJ, 2015b.

SIMOES, L. K. R. **Avaliação da qualidade de água do córrego coromandel, na mesorregião do triângulo mineiro e alto paranaíba, minas gerais**. 2018. 19 f. Trabalho de

Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Fundação Carmelitana Mário Palmério, Faculdade de Ciências Humanas e Sociais, Monte Carmelo-MG, 2018.

SINGH, S.; GUPTA, A. K.; VERMA, A. Molecular properties and bioactivity score of *Aloe vera* antioxidant compounds-in order to lead finding. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 876-881, 2013.

SOARES, S. B.; MUNIZ, S. D. B.; ALBUQUERQUE, F. G. F.; MALAQUIAS, I. S.; LEITE, F.C. Avaliação de uso de antidepressivos em uma farmácia privada na cidade de Cajazeiras – pb. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 15, n. 3, p. 1-13, 2019.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE BENEFICÊNCIA DE SANTOS. Chikungunya, Dengue, Febre Amarela e Zika. 2018. Disponível em: <<http://www.spb.org.br/chikungunya-dengue-febre-amarela-e-zika/>>. Acesso em 30 de jul. de 2019.

SOUZA, I. S.; OLIVEIRA, P. H. L. Utilização da Cianobactéria *SpirulinaMaximae* da levedura *Saccharomyces Cerevisiae* como dietas complementares no cultivo de *Artemia Franciscana*. **HOLOS**, v. 3, n. 31, p. 1-11, 2015.

SRINIVAS, N.; SANDEEP, K. S.; ANUSHA, Y.; DEVENDRA, B. N. In vitro cytotoxic evaluation and detoxification of monocrotaline (Mct) alkaloid: an in silico approach. **International Invention Journal Biochemistry Bioinformatics**, v. 2, n. 3, p. 20-29, 2014.

SU, Y.; XIE, J.; WANG, Y.; HU, X.; LIN, X. Synthesis and antitumor activity of new shikonin glycosides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2713, 2010.

TORES, S. M.; CRUZ, N. L. N.; ROLIM, V. P. M.; CAVALCANTI, M. I. A.; ALVES, L. C.; SILVA JÚNIOR, V. A. Mortalidade Acumulativa de larvas de *aedes aegypti* tratadas com Compostos. **Revista Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p. 445-450, 2014.

TOROPOVA, M. A. Drug metabolism as an object of computational analysis by the Monte Carlo method. **Current Drug Metabolism**, v. 18, n. 12, p. 1123-1131, 2017.

TOSHIMA, K.; ISHIZUKA, T.; MATSUO, G.; NAKATA, M. Practical glycosidation method of glycals Montmorillonite K-10 as an environmentally acceptable and inexpensive industrial catalyst. **Chemical Review**. v. 1995, n. 4, p. 306-308, 1995.

ULLAH, A.; PROTTOY, N. I.; ARAF, Y.; HOSSAIN, S.; SARKAR, B.; SAHA, A.

Molecular Docking and pharmacological property analysis of phytochemicals from *clitoria ternatea* as potent inhibitors of cell cycle checkpoint proteins in the cyclin/cdk pathway in cancer cells. **Scientific Research Publishing**, v. 9, n. 3, p. 1-14, 2019.

URSO, O.; RAYAN, A.; GOLDBLUM, A.; OPREA, T. I. Understanding drug-likeness. **Wiley Interdisciplinary Reviews**, v. 1, n. 5, p. 760-781, 2011.

WANG, J.; SHEN, W.; YUAN, Z.; LAN, L.; XU, J.; WANG, C.; MA, G.; SHI, W.; HAN, L.; ZHANG, Z.; HOU, L.; SHEN, L.; JIANG, Z.; HE, H.; XIAO, W.; WANG, Z.; GUO, Q.; LI, J.; CHEN, S. Michael acceptor in gambogic acid—Its role and application for potent antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 14, p. 2844-2848, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Insecticide resistance and vector control. **World Health Organization Technical Reports Series**, v. 1, n. 443, p. 53, 1970.

WU, J.; KWON, B.; LIU, W.; ANSLYN, E. V.; WANG, P.; KIM, J. S.

Chromogenic/Fluorogenic Ensemble Chemosensing Systems. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 15, p. 7893, 2015.

XAVIER, N. M.; RAUTER, A. P. Environmentally friendly approaches to the synthesis of new antibiotics from sugars. **Pure Applied Chemistry**, v. 84, n. 3, p. 803-816, 2012.

ZENG, X.; ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, M. D.; SUN, X. L. Carbohydrate–protein interactions and their biosensing applications. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, n. 10, p. 3161-3176, 2012.