



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACARELADO EM FARMÁCIA

PEDRO VICTOR RODRIGUES DA SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE  
AMIDOXIMAS AROMÁTICAS FRENTE À *Artemia salina* LEACH**

CUITÉ-PB

2021

PEDRO VICTOR RODRIGUES DA SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE  
AMIDOXIMAS AROMÁTICAS FRENTE À *Artemia salina* LEACH**

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

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de  
Freitas

CUITÉ-PB

2021

S586s Silva, Pedro Victor Rodrigues da.

Síntese, caracterização e avaliação toxicológica de amidoximas aromáticas frente à *Artemia salina* Leach. / Pedro Victor Rodrigues da Silva. - Cuité, 2021.

36 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2021.

"Orientação: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas; Coorientação: Me. Romário Jonas de Oliveira".

Referências.

1. Farmácia. 2. *Artemia salina* Leach. 3. *Artemia salina* Leach - toxicidade. 4. Amidoximas aromáticas. I. Freitas, Juliano Carlo Rufino de. II. Oliveira, Romário Jonas de. III. Título.

CDU 615(043)

**PEDRO VICTOR RODRIGUES DA SILVA**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE  
AMIDOXIMAS AROMÁTICAS FRENTE À *Artemia salina* LEACH**

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

Aprovado em 01/10/2021.

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Emília da Silva Menezes  
Examinador – UAS/UFCG

---

Me. Romário Jonas de Oliveira  
Examinador – DQ/UFRPE

*Aos meus pais Manoel Rodrigues da Silva e Rosangela Maria Silva Rodrigues; ao meu estimado avô Antônio Luiz da Silva (In Memoriam), que nunca deixaram faltar nada e sempre me apoiaram em minhas escolhas.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por reger minha vida tornando-me resiliente e crente cada vez mais em sua Misericórdia e por me permitir encerrar um dos ciclos mais importantes da minha vida. À Nossa Senhora Aparecida por ser minha intercessora nos momentos de aflição, por iluminar meus caminhos e por sempre me proteger com seu manto sagrado.

Aos meus pais Manoel Rodrigues e Rosangela Rodrigues por serem meus amigos, meu porto seguro, por investirem na minha educação dando o melhor que eles podem, por acreditarem em mim e me amarem. Amo-os infinitamente e serei eternamente grato por todo esforço e dedicação deles para comigo.

Aos meus avós maternos Antônio Luiz da Silva e Maria do Carmo Silva (*In Memoriam*) que participaram ativamente da minha criação me apresentando os bons princípios da educação para que eu me tornasse um cidadão de bem; que acreditavam no meu potencial de sempre poder ir mais além; que me chamavam de “doutor da família” mesmo eu ainda sendo uma criança; que me protegiam de tudo e de todos e que ficavam felizes com as minhas aprovações, conquistas e desempenhos. Guardo-os no coração com muito amor e respeito e sei que continuam cuidando de mim de onde estiverem.

Às minhas tias Maria da Paz Rodrigues, Maria Inêz Rodrigues e Maria Risocleide da Silva por me acompanharem em cada caminho que eu trilhe, por sempre torcerem fervorosamente para que eu consiga vencer e ser feliz em minhas escolhas, por me ajudarem no que eu precisar e por sempre serem suportes de amor e carinho.

Ao meu tio Carlos Antônio da Silva por sempre se orgulhar de mim, por me ajudar no que eu precisar, por acreditar no meu potencial de conquistar meus objetivos e por sempre ter tido um amor paterno por mim.

À minha madrinha Selma Soares que cuidou de mim desde quando eu era um bebê até meus oito anos de idade e que até hoje mantemos um vínculo de amor, carinho e respeito. Sou eternamente grato por sempre ter cuidado muito bem de mim, por ter participado da minha educação e por sempre torcer para que eu alcance o sucesso e a felicidade em minhas escolhas.

Às minhas vizinhas Maria Ferreira e Paula Francinete por todo amor, carinho e consideração para comigo e por sempre torcerem para que seja bem sucedido nos estudos e na carreira profissional.

Às minhas grandes amigas Líllian Andrade e Natália Teles por todo companheirismo, consideração e carinho; por se fazerem presentes no meu dia a dia e sempre vibrarem com minhas conquistas e realizações.

À minha grande amiga/irmã de vida Janine Nunes que a graduação me deu. Sou imensamente grato e feliz por tê-la em minha vida; por ter sido meu porto seguro, minha companheira de estudos, projetos e estágios; por todos os momentos felizes e tristes que compartilhamos juntos; por nunca ter soltado a minha mão e por sempre me encorajar com a sua cumplicidade.

À minha amiga Thayse Diniz por se mostrar sempre presente, preocupada e carinhosa comigo; por sempre me passar confiança e por acolher com amor as minhas preocupações.

Às minhas amigas Ana Beatriz Mascena, Anne Caroline Pinheiro, Flaviana Melo, Joyse Braga, Letícia Fernandes, Marília Barros e Monike Gomes por todos os momentos vividos e por todas as emoções compartilhadas durante a graduação. Sou imensamente grato por ter conhecido vocês.

À Silvéria Ribeiro, Maria das Vitórias e Celia Paulino por terem me acolhido em suas casas e terem cuidado do meu bem-estar durante a minha permanência em Cuité-PB e Campina Grande-PB. Serei eternamente grato por todo carinho e pelas boas relações que construímos.

Ao meu orientador Professor Juliano Freitas pela sua empatia para comigo e por sempre acreditar no meu potencial desde a iniciação científica. Sou infinitamente grato pela oportunidade que foi fazer parte do seu laboratório e extremamente honrado em tê-lo como orientador deste trabalho.

À Professora Maria Emília Menezes e ao Me. Romário de Oliveira por terem aceitado compor a banca avaliadora deste trabalho. Admiro, respeito e confio plenamente no trabalho de vocês. Estou imensamente feliz e honrado pelas vossas contribuições.

A todos que fazem parte do Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus Cuité-PB*, por todos os aprendizados que compartilhamos durante a Iniciação Científica.

Aos profissionais da farmácia e do laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC); a todos que compõem a farmácia de manipulação Vico Farma Recife por todos os conhecimentos adquiridos e compartilhados durante os estágios supervisionados.

À direção, Coordenação de Farmácia, aos professores, técnicos e colaboradores do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus Cuité-PB*, por terem contribuído com a minha formação profissional, pela acolhida no *Campus* e por sempre se mostrarem acessíveis aos estudantes.

Ao CNPq pela bolsa concedida no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI) no período de 2018 a 2019.

À Central Cnalítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pela colaboração na confecção dos espectros do presente trabalho.

Por fim, a todos os familiares, amigos e colegas que cruzaram meu caminho e que de alguma forma deixaram sua luz desejando a mim coisas boas, agradeço imensamente.



## RESUMO

As amidoximas são uma classe de compostos versáteis no ramo da química medicinal por atuarem como intermediários na síntese de moléculas heterocíclicas, como pró-drogas de amidinas e por se comportarem como bioisótero de ácidos carboxílicos, possibilitando o desenvolvimento de possíveis candidatos a medicamentos. Possuem algumas atividades farmacológicas descritas como, antimicrobiano, anti-inflamatório, anti-hipertensivo, como também, têm aplicações no setor tecnológico, como por exemplo, atuam na remoção e/ou recuperação de íons metálicos como, cromo, mercúrio, urânio e prata. O teste toxicológico com larvas de *Artemia salina* Leach é uma opção prática, de baixo custo e de alta sensibilidade para ser realizado como um bioindicador de valores de CL<sub>50</sub> para substâncias que têm potencial farmacológico promissor em organismos vivos. O presente estudo aborda a síntese dessas moléculas a partir da reação de diferentes arinitrilas com o cloridrato de hidroxilamina na presença do sal carbonato de sódio em meio hidroetanólico e irradiada por ultrassom para determinar os rendimentos e tempos reacionais de cada amidoxima aromática com o objetivo de caracterizá-las por meio de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e determinar a concentração letal necessária para matar 50% dos indivíduos vivos (CL<sub>50</sub>) através da avaliação toxicológica utilizando o micro crustáceo *Artemia salina* Leach. O composto que apresentou melhor rendimento em um tempo reacional considerado baixo foi a *p*-nitrobenzamidoxima. A benzamidoxima foi identificada e caracterizada nos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e a amidoxima mais tóxica foi a *p*-metilbenzamidoxima ressaltando a influência do grupo metila na posição *para* no anel aromático.

**Palavras-chaves:** Amidoximas; *Artemia salina* Leach; Teste toxicológico.

## ABSTRACT

Amidoximes are a versatile class of compounds in the field of medicinal chemistry as they act as intermediates in the synthesis of heterocyclic molecules, as amidine prodrugs and because they behave as a carboxylic acid bioisoster, enabling the development of drug candidates. They have some pharmacological activities described as antimicrobial, anti-inflammatory, antihypertensive, as well as having applications in the technological sector, for example, acting in the removal and/or recovery of metallic ions such as chromium, mercury, uranium and silver. The toxicological test with larvae of *Artemia salina* Leach is a practical, low-cost and high-sensitivity option to be performed as a bioindicator of LC<sub>50</sub> values for substances that have promising pharmacological potential in living organisms. The present study addresses the synthesis of these molecules from the reaction of different arinitriles with hydroxylamine hydrochloride in the presence of sodium carbonate salt in a hydroethanolic medium and irradiated by ultrasound to determine the yields and reaction times of each aromatic amidoxime in order to characterize them by means of Nuclear Magnetic Resonance of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C and to determine the lethal concentration necessary to kill 50% of the alive individuals (LC<sub>50</sub>) through the toxicological evaluation using the micro crustacean *Artemia salina* Leach. The compound that showed the best yield in a reaction time considered low was p-nitrobenzamidoxime. Benzamidoxime was identified and characterized in the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra and the most toxic amidoxime was p-methylbenzamidoxime, highlighting the influence of the methyl group in the para position in the aromatic ring.

**Keywords:** Amidoximes; *Artemia salina* Leach; Toxicological test.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01 - Estrutura geral das amidoximas. ....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 02- Exemplos de amidoximas com atividades biológicas/farmacológicas .....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 03- Síntese de diferentes arilamidoximas .....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 04- Espectro de RMN 1H (DMSO-d6, 300 MHz) da benzamidoxima .....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 05- Espectro de RMN 13C (DMSO-d6, 100 MHz) benzamidoxima .....</b>	<b>35</b>

## LISTA DE ESQUEMA

<b>Esquema 01 - Síntese do Benzamidoxima, Mandelamidoxima e Isuretin.....</b>	<b>25</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Preparação das arilamidoximas.....	30
Tabela 02 - Concentração letal (CL <sub>50</sub> ) das arilamidoximas frente às larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ADMET</b>	Absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade
<b>ALH</b>	Aceptores de ligação de hidrogênio
<b>CCD</b>	Cromatografia de camada delgada
<b>CLogP</b>	Coefficiente de partição n-octanol/água
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração letal média
<b>DLH</b>	Doadores de ligação de hidrogênio
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>g</b>	Gramas
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Água
<b>IV</b>	Infra-vermelho
<b>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></b>	Dicromato de potássio
<b>mmol</b>	Milimol
<b>mg</b>	Miligrama
<b>mL</b>	Mililitro
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonato de sódio
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sulfato de sódio anidro
<b>NH<sub>2</sub>O.HCL</b>	Cloridrato de hidroxilamina
<b>-NH<sub>2</sub></b>	Amina
<b>=NOH</b>	Grupo isonitroso
<b>P &amp; D</b>	Pesquisa e Desenvolvimento
<b>pH</b>	Potencial hidrogênionico

<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono- 13
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Prótons
<b>μL</b>	Microlitro
<b>μg</b>	Micrograma

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C    Grau Celsius

)))    Energia ultrassônica



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>19</b>
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Generalidades da Química Medicinal.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Estudos computacionais <i>in silico</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>3.3 Oximas .....</b>	<b>22</b>
<b>3.4 Amidoximas .....</b>	<b>23</b>
<b>3.5 Ensaio toxicológico.....</b>	<b>25</b>
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Local da Pesquisa.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Síntese de amidoximas.....</b>	<b>27</b>
<b>4.3 Caracterização de amidoximas .....</b>	<b>28</b>
<b>4.4 Eclosão dos ovos de <i>Artemia salina</i> Leach.....</b>	<b>28</b>
<b>4.5 Bioensaio toxicológico das arilamidoximas.....</b>	<b>28</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
<b>5.1 Tempos e rendimentos das arilamidoximas sintetizadas .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2 Valores de CL<sub>50</sub> das arilamidoximas frente às larvas de <i>Artemia salina</i> Leach .....</b>	<b>31</b>
<b>5.3 Caracterização espectroscópica das arilamidoximas .....</b>	<b>33</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

A Química Medicinal é um ramo do estudo responsável pelo desenvolvimento de fármacos, o qual colabora para obtenção de novas moléculas biologicamente ativas. A síntese orgânica é uma estratégia que auxilia este processo na preparação das moléculas propostas. Durante o desenvolvimento, as moléculas farmacologicamente ativas que precisam de algum melhoramento podem ter origem natural (animal ou vegetal), ser um produto proveniente de uma síntese química ou ser um protótipo molecular oriundo de um planejamento racional para obtenção de fármacos. Independentemente de sua origem, a maioria dos compostos com potencial terapêutico precisa passar por processos de melhoramento através de modificações químicas até que apresentem características e propriedades farmacológicas aceitáveis, tais como: maior potência e seletividade, e menor toxicidade (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2018).

O processo de síntese de moléculas químicas, frequentemente, está associado a algum tipo de propriedade físico-química indesejável, configurando um desafio para que estas moléculas cheguem a seus sítios biológicos apropriados. Os pró-fármacos são uma estratégia de síntese quando se torna impossível aperfeiçoar as indesejáveis propriedades físico-químicas que são incompatíveis com o desenvolvimento e, principalmente, com os alvos biológicos desejados (RAUTIO *et al.*, 2018).

A população sofre com doenças, muitas destas crônicas, as quais são controladas com o uso de medicamentos rotineiramente. Diante disso, os pesquisadores vêm estudando com muito esforço o comportamento das moléculas e possíveis novos sítios biológicos que elas poderiam atuar para que as doenças possam ser curadas ou tratadas. Os compostos heterocíclicos são uma das classes de moléculas mais importantes e mais explorada na área da Química Medicinal. São estruturas caracterizadas pela presença de heteroátomos como o nitrogênio, enxofre oxigênio, dentre outros. Estes heteroátomos são capazes de influenciar diretamente na reatividade, na atividade e/ou toxicologia, nas interações fármaco-receptor, como também na farmacocinética e metabolismo das moléculas (PATHANIA; NARANG; RAWAL, 2019; BOZOROV; ZHAO; AISA, 2019).

Ao longo dos últimos vinte anos com o avanço tecnológico, os métodos computacionais se tornaram estratégias bem estabelecidas na área das ciências biológicas. O estudo *in silico* é amplamente aplicado como uma ferramenta nos processos de triagem, identificação de locais

de ligação e estudo estrutural de enzimas e proteínas o qual é baseado em cálculos teóricos e na química computacional (SABRI *et al.*, 2019).

A utilização da simulação baseada em computadores por meio de um *software* em diferentes áreas da ciência vem se mostrando de baixo custo e cada vez mais disponível. O modelo computacional *in silico*, juntamente com outras ferramentas avançadas de simulação são alternativas que auxiliam no desenho racional de moléculas químicas com fins farmacêuticos, com o objetivo de facilitar o entendimento dos pesquisadores sobre os complexos mecanismos fisiológicos e interações que um medicamento apresenta após seu desenvolvimento (VULOVIC *et al.*, 2018).

Dentre os compostos promissores e que possuem uma gama de aplicações, estão as amidoximas. Este grupo de moléculas e seus derivados são utilizados nas diversas áreas do conhecimento, como na química orgânica, onde atuam como intermediários na síntese de compostos que são moduladores da atividade biológica (heterocíclicos) e como pró-drogas das amidinas. Uma das vantagens apresentadas pelas amidoximas é a facilidade, geralmente, em sintetizá-las e pela função amidoxímica, frequentemente, ser utilizada como bioisómero de ácidos carboxílicos, o que possibilita a criação de possíveis candidatos a medicamentos (AGUIAR; CUNHA, 2015; FREITAS FILHO *et al.*, 2015; SAHYOUN; ARRAULT; SCHNEIDER, 2019).

As amidoximas possuem uma variedade de atividades descritas pela literatura nas áreas tecnológica, biológica e farmacológica. No setor tecnológico atuam como quelante na recuperação e/ou remoção de distintos íons metálicos, uma vez que, complexam metais em soluções aquosas. Também promovem a catálise da reação de acoplamento do tipo *Suzuki* para a formação de novas ligações C-C, no armazenamento e adsorção de gás carbônico, dentre outras aplicações. Com relação às atividades biológicas e farmacológicas, as amidoximas podem apresentar atividade como agentes antioxidante, anti-hipertensivo, anti-helmíntico, entre outros. Além destas utilizações, na agricultura, já foram observadas atividades inseticida e fungicida destes compostos (FREITAS FILHO *et al.*, 2015; ANDRADE; FREITAS FILHO; FREITAS, 2016).

Desta forma, uma vez que, as amidoximas são potentes moléculas de interesse clínico por apresentarem inúmeras atividades biológicas e farmacológicas, é de grande relevância saber sobre seu grau de toxicidade quando estas substâncias entram em contato com organismos vivos. Um teste toxicológico que vem sendo abordado pelos pesquisadores para indicar o real nível de

toxicidade é o do bioindicador *Artemia salina* Leach, o qual apresenta vantagens, como baixo custo, alta sensibilidade a compostos tóxicos e resposta rápida, em comparação com outros métodos (BORBA *et al.*, 2019).

As artêmias são microcrustáceos de águas salgadas que podem ser utilizados para indicar a Concentração Letal para matar 50% da espécie viva (CL<sub>50</sub>) como forma de avaliar a atividade biológica da citotoxicidade. Embora o bioensaio toxicológico de amidoximas frente à *Artemia salina* Leach não seja muito explorado pela literatura, a toxicidade de um fármaco é um fator que implica diretamente na atividade e resposta terapêuticas. Visando a avaliação da toxicidade, o uso deste teste toxicológico vem a ser uma ferramenta para direcionar o planejamento de moléculas com níveis toxicológicos aceitáveis. Por apresentar alta sensibilidade, os resultados do teste utilizando a *Artemia salina* Leach são confiáveis e assemelham-se com testes em seres humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Desta forma, associando a praticidade de síntese de moléculas que possuam a função amidoxímica e a necessidade de novas descobertas de possíveis candidatos a fármacos que possuam atividades biológicas e perfis de segurança pré-estabelecidos pela literatura, o presente trabalho tem por objetivo sintetizar, caracterizar os compostos através de métodos espectroscópicos e avaliar o potencial toxicológico que essas substâncias podem causar em contato com o ambiente biológico da *Artemia salina* Leach.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- ✓ Sintetizar diferentes amidoximas aromáticas e avaliar sua toxicidade frente à *Artemia salina* LEACH.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Sintetizar diferentes amidoximas aromáticas;
- ✓ Caracterizar as amidoximas aromáticas por Ressonância Magnética Nuclear de Próton e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C);
- ✓ Realizar o bioensaio toxicológico das amidoximas aromáticas frente à larva da *Artemia salina* Leach;
- ✓ Determinar a CL<sub>50</sub> das amidoximas aromáticas.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Generalidades da Química Medicinal

Com o avanço da ciência e da tecnologia na indústria farmacêutica há um fomento pelo desenvolvimento de fármacos mais potentes e com poucos efeitos colaterais. Segundo dados estatísticos, o tempo médio de Pesquisa e Desenvolvimento (P & D) de um fármaco é de aproximadamente de 10 a 17 anos, sendo um tempo considerável e com um investimento elevado, porém as taxas cobradas na aprovação de moléculas inovadoras durante o processo de descoberta e desenvolvimento são inferiores a 10%. Uma novidade que surgiu nesse processo foi o uso de técnicas computacionais em projetos moleculares de medicamentos, os quais são assistidos por computadores e podem fornecer informações relevantes sobre o processo de descobertas de drogas, como também, aumentar a eficiência dos estudos e diminuir os custos (WANG *et al.*, 2019; TITTAL *et al.*, 2020; SUN *et al.*, 2020).

Estudos realizados durante as últimas décadas apontaram que a indústria farmacêutica global gastou aproximadamente 100 bilhões de reais com a descoberta de novos agentes terapêuticos para o tratamento de doenças em humanos. A identificação de moléculas que apresentem alguma atividade é um passo importante durante esse processo. No entanto, a descoberta de novos fármacos baseia-se em alvos terapêuticos e fenótipos, e isso, envolve primeiro realizar uma seleção de alvos biológicos para só depois descobrir moléculas ativas. Embora seja um processo demorado e caro, a descoberta de potentes agentes terapêuticos com base em alvos biológicos, vem se tornando uma metodologia padrão no meio científico. Uma vez o alvo selecionado, um ensaio bioquímico baseado em atividades experimentais é desenvolvido para rastrear um banco de dados de compostos, os quais são otimizados por meio de estratégias da química medicinal (DENG *et al.*, 2020).

A indústria farmacêutica apresenta um limitado número de alvos devido alguns destes não apresentarem ensaios de triagem bioquímica sensível, pois muitas proteínas que estão relacionadas com doenças humanas ainda são consideradas indecifráveis ou muito difíceis de serem atingidas parcialmente por agentes inibidores, retratando assim, a necessidade de realizar ensaios alternativos de triagem, uma vez que, faltam outras tecnologias mais eficientes. As abordagens baseadas em fenótipo vêm tendo uma atenção crescente como metodologia de triagem para muitas pesquisas, visto que, a descoberta de medicamentos baseada em perfis fenotípicos prover ensaios, nos quais é possível rastrear moléculas nos organismos, tecidos e células baseando-se em um modelo farmacológico. Esses ensaios têm a capacidade de preservar

o meio celular e de fornecer informações de que um composto gerará efeitos desejáveis quando for submetido a ensaios clínicos (HOU; LIU; XU, 2019; DENG *et al.*, 2020).

Após o estudo de pesquisa de novas moléculas, o processo de desenvolvimento de medicamentos começa com a identificação de compostos que consigam se ligar a um alvo terapêutico ou que apresentem alguma atividade biológica (*hits*) em testes de triagem. Compostos líderes são os que apresentam propriedades biofarmacêuticas como, baixa toxicidade, solubilidade adequada para administração por via oral, dentre outras propriedades farmacocinéticas. Normalmente, estas moléculas são encontradas por meio de uma triagem realizada com inúmeras destas, ou por um processo sintético de modificação estrutural. Por muitos anos, a utilização de metodologias experimentais vem sendo abordada durante a criação e desenvolvimento de medicamentos, no entanto, este processo pode ser acelerado por meio de técnicas computacionais, também chamadas de métodos *in silico*. Esta nova metodologia permite processar um grande número de informações da molécula, codificando-a com precisão, e auxiliando no entendimento dos mecanismos de ação e no melhoramento das propriedades dos medicamentos (SALDÍVAR-GONZÁLEZ; PRIETO-MARTÍNEZ; MEDINA-FRANCO, 2017).

### **3.2 Estudos computacionais *in silico***

Em meados da década de 1960, a bioinformática ou biologia computacional aflorou-se devido a fatores como, crescimento na disponibilidade de sequências de aminoácidos, macromoléculas capazes de carrear informações e desenvolvimento de computadores digitais mais rápidos. Em 1970 várias técnicas já tinham sido desenvolvidas para análise de estrutura, evolução e função molecular. Recentemente, o campo da bioinformática vem crescendo gradativamente com a aplicação de metodologias analíticas quantitativas à modelagem de sistemas com redes biológicas que foram desenvolvidos para uso de dados e/ou métodos computacionais. Desta forma, é possível investigar os efeitos de substâncias de interesse clínico (LEE *et al.*, 2018; SILVEIRA, 2018).

Para que um medicamento seja aprovado e devidamente comercializado, ele precisa estar de acordo com as fases que promovem a ação biológica efetiva, as quais são: farmacêutica, farmacocinética e farmacodinâmica. A fase farmacocinética é onde acontecem os estudos de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET), como também é a fase responsável por 30% dos erros que acontecem durante o processo de desenvolvimento de uma

molécula com potencial farmacológico. Os estudos *in silico* têm papel importante para traçar um bom perfil ADMET de um medicamento e apresentam parâmetros, como a “Regra dos 5 de Lipinski”. De acordo com essa regra, os seguintes fatores como: massa molecular inferior a 500 g/mol, número de aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) inferior ou igual a dez, número de doadores de ligação de hidrogênio (DLH) menor ou igual a cinco, cLogP (coeficiente de partição *n*- octanol/água) inferior ou igual a cinco identificam e caracterizam moléculas com potencial promissor. Os estudos *in silico* no que se refere à farmacocinética e toxicologia de moléculas têm sido bastante abordados, pois auxiliam no processo de descoberta de novas terapêuticas (BRITO, 2010; PEREIRA, 2019).

### 3.3 Oximas

São compostos químicos derivados da reação entre o cloridrato de hidroxilamina com cetonas, os quais são largamente utilizados por apresentarem inúmeras aplicações laboratoriais e industriais. Na síntese orgânica se destacam pela versatilidade e funcionam como precursoras de uma ampla gama de compostos. Particularmente, elas têm importância tanto para a área farmacêutica, como para a medicina, pois, são carreadores de substâncias ativas em medicamentos como Pralidoxima e Obidoxima, os quais são reativadores da enzima acetilcolinesterase. Os derivados de oximas também são conhecidos como modificadores de cadeias de aminoácidos (peptídeos) ou agentes herbicidas. Na indústria alimentícia, esses compostos são utilizados como adoçantes, os quais são até 2000 vezes mais doces que o açúcar tradicional, e na engenharia de materiais muitos derivados de oximas atuam como adsorventes de metais pesados e como modificadores de polímeros (ARAÚJO; GONSALVES, 2015; BOLOTIN *et al.*, 2017).

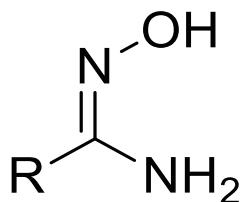
Os significativos avanços na química sintética proporcionam avanços em inovações terapêuticas, juntamente com a elucidação de mecanismos biológicos a nível molecular. As estratégias em biotecnologia têm sido fundamentais para fornecer informações úteis para a química medicinal, dentre elas, destacam-se o monitoramento de indicadores celulares e bioquímicos, os quais estão associados com as alterações fisiológicas e metabólicas que são induzidas por um estado patológico, como também, a avaliação dos efeitos de medicamentos sobre organismos vivos, o que permite a descoberta de novos tratamentos para as doenças (ANDRADE; KUMMERLE; GUIDO, 2018).



### 3.4 Amidoximas

As amidoximas são derivadas de carboxamidas o que as diferenciam das oximas convencionais. Constituem um bloco de moléculas de grande importância por apresentarem versatilidade de aplicação em várias áreas do conhecimento. Elas atuam como pró-drogas de amidinas e participam como compostos intermediários na síntese de moléculas heterocíclicas como, imidazóis, triazóis, oxadiazóis, entre outros. Em 1873, Lossen e Schifferdecher relataram a primeira síntese de amidoximas por meio da reação do ácido cianídrico com o cloridrato de hidroxilamina, no entanto, só em 1884 que estas moléculas ficaram conhecidas através da síntese da mandelamidoxima e benzomidoxima. Apresentam uma estrutura que contém uma amina (-NH<sub>2</sub>), um grupo isonitroso (=NOH) e R pode ser um grupo alquila ou arila (Figura 01), os quais podem fornecer a estas moléculas um caráter anfótero ou a possibilidade de existirem em duas formas tautoméricas (FREITAS FILHO *et al.*, 2015; BOLOTIN; BOKACH; KUKUSHKIN, 2016).

**Figura 01 - Estrutura geral das amidoximas.**

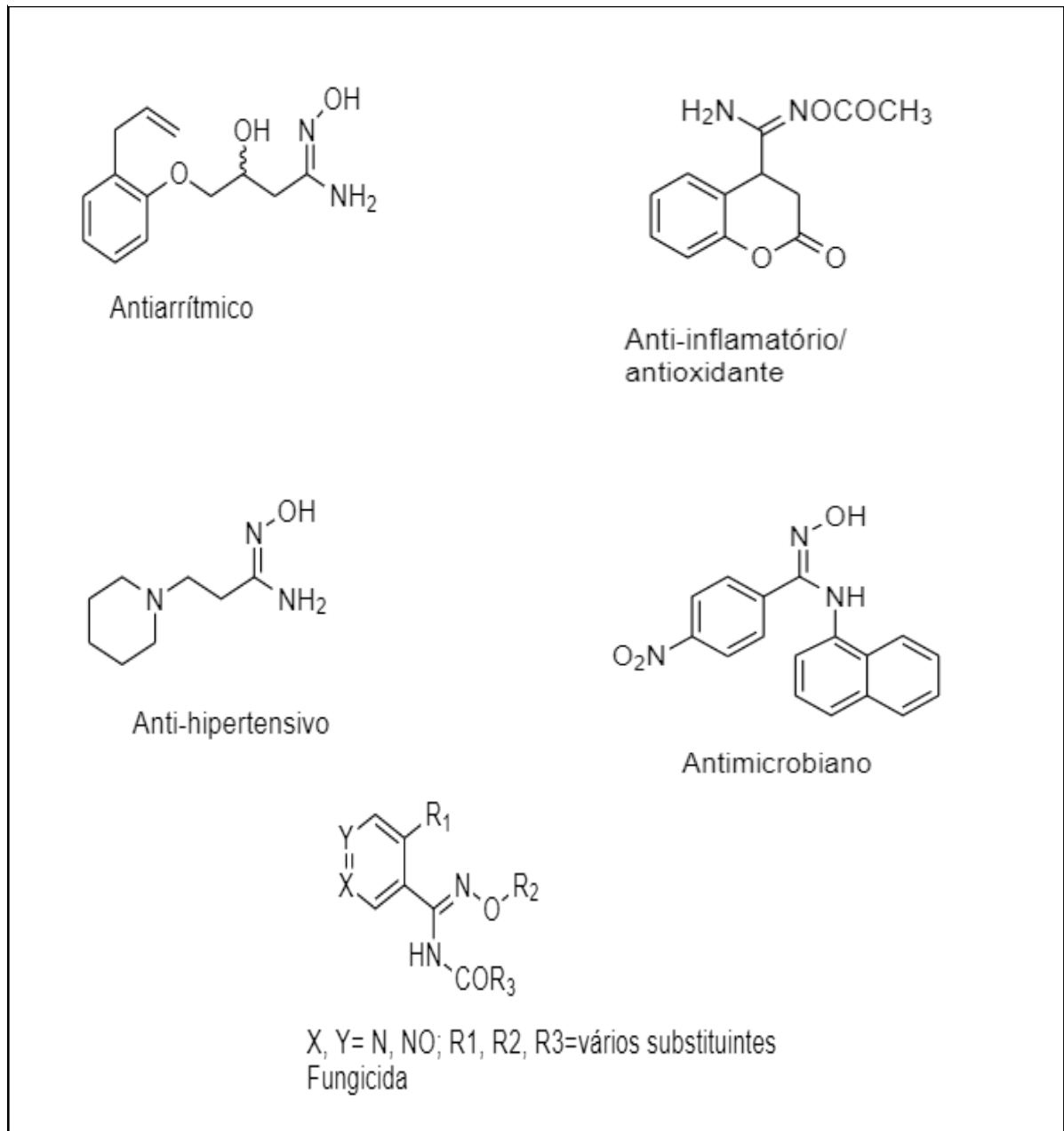


**Fonte: Autoria própria, 2021.**

Com relação às suas atividades biológicas e farmacológicas, as amidoximas podem ser empregadas como moléculas com potencial antimicrobiano, anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antioxidante, antiarrítmico, fungicida (Figura 02), dentre outras. No que diz respeito às aplicações no ramo tecnológico, as amidoximas podem atuar na catálise da reação de acoplamento do tipo *Suzuki*, na remoção e/ou recuperação de diferentes íons metálicos (urânio, mercúrio, cromo, prata, entre outros) em soluções aquosas e na construção de novas ligações C-C. Amidoximas são compostos que possuem uma alta capacidade como agentes quelantes se comparados a outros íons de metais pesados, como chumbo (Pb), cobre (Cu), cádmio (Cd) e níquel (Ni), promovendo aos pesquisadores ideias de confecção de microsferas, géis e resinas que contenham o grupo amidoxímico em suas composições (FREITAS FILHO

*et al.*, 2015; ANDRADE; FREITAS FILHO; FREITAS, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2018; PUSPITASARI *et al.*, 2018; TABELÉ *et al.*, 2018; BERGER *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2019)

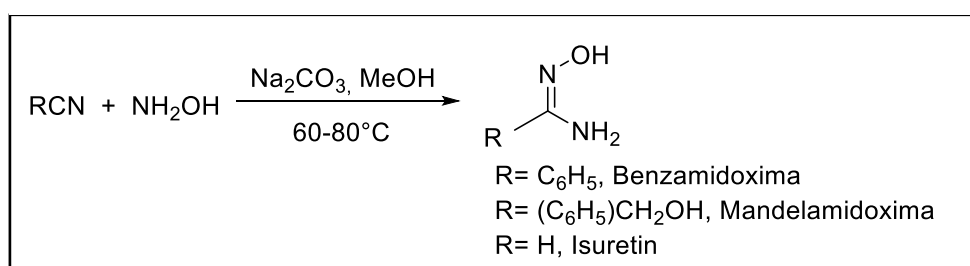
**Figura 02 - Exemplos de amidoximas com atividades biológicas/farmacológicas.**



**Fonte: Autoria própria, 2021.**

A literatura descreve mais de uma metodologia para síntese de amidoximas, sendo a mais convencional a que utiliza o cloridrato de hidroxilamina, numa condição de agitação sob temperatura ambiente ou aquecimento. Em 1873 quando Lossen e Schifferdecher sintetizaram essas moléculas pela primeira vez e utilizaram o ácido cianídrico e a hidroxilamina, o que resultou num produto denominado “*isuretin*” (Esquema 01) que hoje é conhecido como (Z)-*N*'-hidroxiformimidamida ou formamidoxima, o qual é um sólido cristalino solúvel em vários álcoois ou em água quente. Em 1884, Tiemann e colaboradores, a partir da reação entre diferentes nitrilas e cloridrato de hidroxilamina, descreveram a síntese, purificação e caracterização de amidoximas. Para que houvesse a liberação da hidroxilamina, utilizaram o etanol como solvente e adicionaram um sal básico no meio reacional (FREITAS FILHO *et al.*, 2015).

**Esquema 01 - Síntese do Benzamidoxima, Mandelamidoxima e Isuretin.**



**Fonte: Autoria própria, 2021.**

Avanços no campo científico por meio de estratégias tecnológicas, como por exemplo, estudos *in silico* e *in vitro* estão tendo crescente aplicação na área da toxicologia para monitoramento de vias moleculares subjacentes aos efeitos tóxicos. Isso mostra uma evolução na ciência, como também uma alternativa para substituir e/ou reduzir o uso de animais de laboratório, o que pode refletir em prazos mais curtos para tomada de decisões. Avanços de metodologias mais tecnológicas estão fornecendo aos pesquisadores toxicologistas subsídios para gerar, armazenar e analisar quantidades de dados complexos (DERTINGER *et al.*, 2019; PRIOR *et al.*, 2020).

### 3.5 Ensaio toxicológico

Células de organismos vivos ainda são amplamente e inevitavelmente utilizadas para direcionar as pesquisas farmacêuticas e experimentos de testes farmacológicos com a revelação de dados que são utilizados para projetar a eficácia e toxicidade de drogas. A utilização de

célula estática (*in vitro*) exige um menor custo para pesquisa, porém é uma estratégia que não se assemelha aos complexos microambientes fisiológicos. O teste padrão-ouro ainda é a utilização de animais para emissão de resultados pré-clínicos de drogas, mas estudos apontam que esse é um método limitado para prover com precisão eficácia e toxicidade de medicamentos, pois existe uma certa diferença filogenética entre humanos e animais (AI *et al.*, 2019).

A realização de ensaios toxicológicos é fundamental para detectar o perfil de toxicidade de uma substância. Dentre eles, vale destacar o bioensaio frente à *Artemia salina* Leach que foi proposto por Michael *et al.* (1959) e que vem sendo utilizado nos dias de hoje como organismo-modelo na investigação de efeitos farmacológicos e/ou toxicológicos de produtos naturais e compostos químicos inéditos. A *Artemia salina* Leach é um microcrustáceo cosmopolita de água salgada pertencente à família *Artemiidae*, o qual desempenha um papel importante na cadeia alimentar de seu hábitat natural. Vem sendo uma alternativa de escolha para realização de estudos toxicológicos que determinem a concentração letal (CL<sub>50</sub>), por apresentar baixo custo, não ser necessária aprovação em comitê de ética para fins de pesquisa, facilidade de reprodução, facilidade de cultura e grande sensibilidade. Além disso, a literatura aborda que o bioensaio com *Artemia salina* LEACH apresenta uma boa correlação com testes de citotoxicidade aguda *in vivo* (MERINO *et al.*, 2015; SHAALA *et al.*, 2015; RAJABI *et al.*, 2015; CANSIAN *et al.*, 2017; BEZERRA *et al.*, 2017; CRUZEIRO *et al.*, 2017; LAVTIZAR *et al.*, 2018; BORBA *et al.*, 2019).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Local da Pesquisa

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal do Centro de Educação e Saúde - CES da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, *Campus* de Cuité-PB, o qual dispõe de todos os equipamentos e reagentes necessários para a realização das reações de síntese de diferentes amidoximas. As análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, *Campus* de Recife-PE.

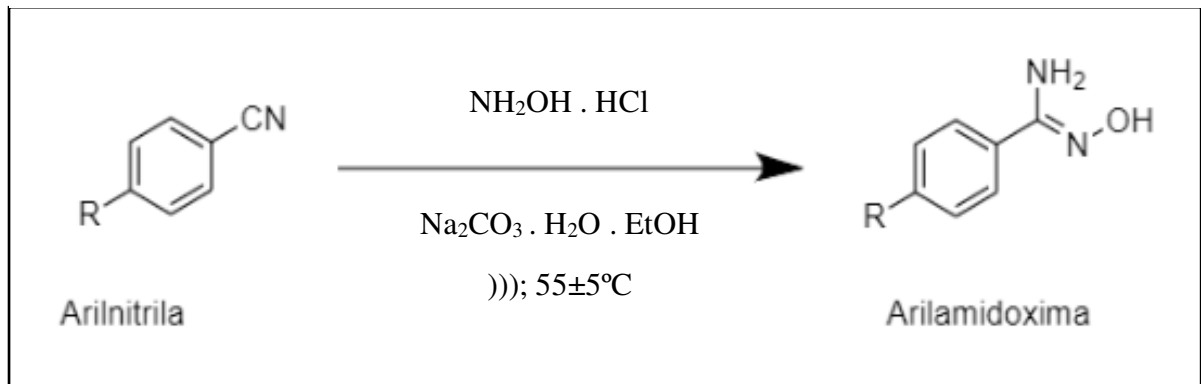
### 4.2 Síntese de amidoximas

A preparação das amidoximas foi baseada na metodologia descrita por (BARROS *et al.*, 2011) com algumas modificações visando melhorar o rendimento (Figura 03). Em um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL serão dissolvidos o cloridrato de hidroxilamina (2,08 g; 30 mmol) e carbonato de sódio (1,59 g; 15 mmol) em 40 mL de água destilada à temperatura ambiente, em seguida, foi adicionado 10,0 mmol da arilnitrila em 40 mL de etanol.

A mistura reacional foi encaminhada para um banho ultrassônico sob temperatura de  $55 \pm 5$  °C. O término da reação foi comprovado por Cromatografia de Camada Delgada (CCD) utilizando uma cuba cromatográfica contendo um sistema eluente hexano:acetato de etila na proporção de 6:4. Finalizada a reação, o etanol foi evaporado com auxílio de um evaporador rotativo, levando a formação de duas fases, a fase aquosa e a fase orgânica.

Os produtos obtidos em forma de óleo foram extraídos do meio aquoso utilizando o acetato de etila (3 x 25 mL). A fase orgânica foi separada e seca com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Posteriormente, a fase orgânica foi filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida lavando as amidoximas, as quais foram purificadas por cristalização utilizando o sistema de solventes clorofórmio:hexano, na proporção 95:5.

Figura 03 - Síntese de diferentes arilamidoximas.



Fonte: Autoria própria, 2021.

#### 4.3 Caracterização de amidoximas

Uma vez sintetizadas, as amidoximas foram caracterizadas por meio da análise de dados espectroscópicos de Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

#### 4.4 Eclosão dos ovos de *Artemia salina* Leach

Uma vez as estruturas dos produtos confirmadas, foram realizados os testes de toxicidade frente à *Artemia salina* Leach utilizando o procedimento de (MEYER *et al.*, 1982). Preparou-se uma solução salina com 38 g de sal marinho Marinex® em 1,0 L de água destilada. O pH da água salinizada foi ajustado para ficar entre 8 e 9 gotejando uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de hidróxido de sódio (NaOH) para evitar a morte dos microcrustáceos. Em seguida, os ovos de *Artemia salina* foram mergulhados na solução salina para eclodirem em uma cuba de vidro por um período de 48 horas sob iluminação artificial a temperatura ambiente de 25°C. Após a eclosão, transferiu-se para tubos de ensaio de 5 mL contendo os compostos e o controle cerca de dez larvas de *Artemia salina* para cada tubo com o auxílio de uma pipeta conta gotas.

#### 4.5 Bioensaio toxicológico das arilamidoximas

Preparou-se uma solução com 10 mg da amidoxima e 50 µL do solvente dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilizá-la, posteriormente, homogeneizou e o volume foi

completado para 5 mL com água salinizada. Desta solução foram retiradas alíquotas de 125, 250, 500, 750, 1000, 1125, 1250 e 1875 µL que foram transferidas para outros balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com água destilada, obtendo-se concentrações de 50, 100, 200, 300, 400, 450, 500 e 750 µg/mL para a solução da amostra. O teste foi acompanhado por controle positivo com dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) e solução salina e controle negativo com água salinizada e dimetilsulfóxido (DMSO). Os cistos de *Artemia salina* foram incubados sob iluminação artificial por 48 horas para que possa ocorrer a eclosão das larvas e estas serem separadas em dez grupos com dez artêmias cada. O primeiro e o segundo grupo receberão a solução controle positivo e controle negativo e as oito seguintes receberão a solução aquosa do composto em diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas. Após este período, foram contabilizadas as larvas vivas e mortas. O experimento ocorreu em triplicata para cada substância-teste.

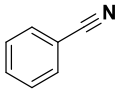
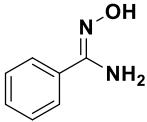
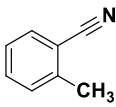
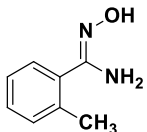
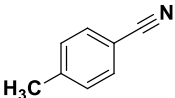
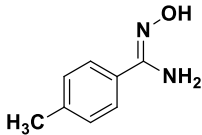
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa foi iniciada com a síntese de diferentes arilamidoximas. Essas arilamidoximas foram obtidas a partir da reação das seguintes arilnitrilas: benzonitrila, *o*-metilbenzonitrila, *p*-metilbenzonitrila e *p*-nitrobenzonitrila com o cloridrato de hidroxilamina ( $\text{NH}_2 \text{OH} \cdot \text{HCL}$ ) na presença do sal básico carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) em meio hidroetanólico irradiada por ultrassom, a qual é considerada pela literatura uma metodologia de síntese moderna.

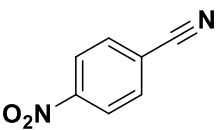
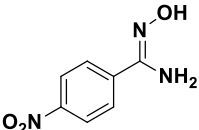
### 5.1 Tempos e rendimentos das arilamidoximas sintetizadas

De acordo com Freitas Filho *et al.* (2015) algumas reações, essa metodologia de síntese que emprega a energia de ultrassom tem a capacidade de reduzir o tempo reacional em aproximadamente até 290 vezes quando comparada com reações que ocorrem sob temperatura ambiente. A Tabela 01 apresenta os tempos e os rendimentos de cada arilamidoxima sintetizada.

Tabela 01 - Preparação das arilamidoximas.

Experimento	Nitrila	Amidoxima	Tempo (min.)	Rendimento (%)
1			30	73
2			45	55
3			20	82



4		40	91
			

Fonte: Autoria própria, 2021.

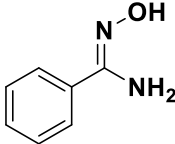
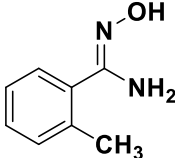
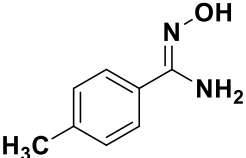
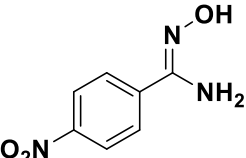
Como mostrado na Tabela 01, as arilamidoximas foram sintetizadas em tempos reacionais curtos de 20-45 minutos e rendimentos que variaram de 55 a 91% considerados de moderado a bom. A *o*-metilbenzoamidoxima (experimento 2) foi a que apresentou menor rendimento quando comparada com os demais compostos e isso pode estar relacionado com o fato de que o grupo metil (CH<sub>3</sub>) na posição *orto* causa um impedimento estérico na molécula dificultando o ataque nucleofílico ao carbono nitrílico, conseqüentemente, a reação acontece de forma mais lenta, o que resultou em um tempo reacional de 45 minutos, o maior dentre os demais. O *p*-metilbenzoamidoxima (experimento 3) apresentou o menor tempo reacional e um rendimento considerado bom. Neste caso, o grupo metil na posição *para* da benzonitrila causou um menor impedimento estérico na molécula. VIEIRA *et al.* (2020) apresentam em seus estudos que esse efeito de menor influência estérica aumenta a reatividade da molécula e isso está diretamente associado com um rendimento mais significativo do produto. O melhor rendimento foi visualizado com a utilização de uma nitrila com um grupo fortemente retirador de elétrons (O<sub>2</sub>N-) na posição *para* com 91%, o qual se deu num tempo de reação de 40 minutos (experimento 4). No experimento 1 com uma nitrila sem nenhum grupo ligado ao anel aromático, a reação ocorreu em um tempo considerado baixo, no entanto, o rendimento foi considerado moderado. Freitas Filho *et al.* (2015) abordam essa metodologia de síntese em seu estudo e apresenta esses mesmos produtos num tempo reacional que variou de 15 a 30 minutos com rendimentos de 40 até 88%. Comparando com os resultados deste trabalho, os maiores rendimentos se mostraram para os mesmos compostos da literatura que possuem um grupo R ligado ao anel aromático na posição *para*.

## 5.2 Valores de CL<sub>50</sub> das arilamidoximas frente às larvas de *Artemia salina* Leach

Em seguida, foi realizado o ensaio toxicológico das arilamidoximas sintetizadas frente às larvas de *Artemia salina* Leach. Esse bioindicador é capaz de formar cistos, os quais são utilizados em testes de toxicidade aguda, além de ser prático, barato e rápido, requer pouca quantidade da amostra para avaliação toxicológica pré-clínica e possui alta sensibilidade a

qualquer modificação do meio (CARVALHO *et al.*, 2009). A propriedade terapêutica de um fármaco está relacionada com suas propriedades físico-químicas e atividade biológica desenvolvida por essa substância (AVER, KREUTZ, SUYENAGA, 2015). A Tabela 02 apresenta os valores das concentrações letais (CL<sub>50</sub>) que levaram à morte de 50% das artêmias em um tempo pré-estabelecido. Os resultados foram fornecidos utilizando o *software* POLO-PC (Copyright LeOra *software* 1987).

**Tabela 02 - Concentração letal (CL<sub>50</sub>) das arilamidoximas frente às larvas de *Artemia salina* Leach.**

Bioensaio	Composto	CL <sub>50</sub> µg/mL	CL <sub>50</sub> µM
1		40,7	299,1
2		273,1	1818,7
3		35,5	230,1
4		79,8	440,5

Fonte: Autoria própria, 2021.

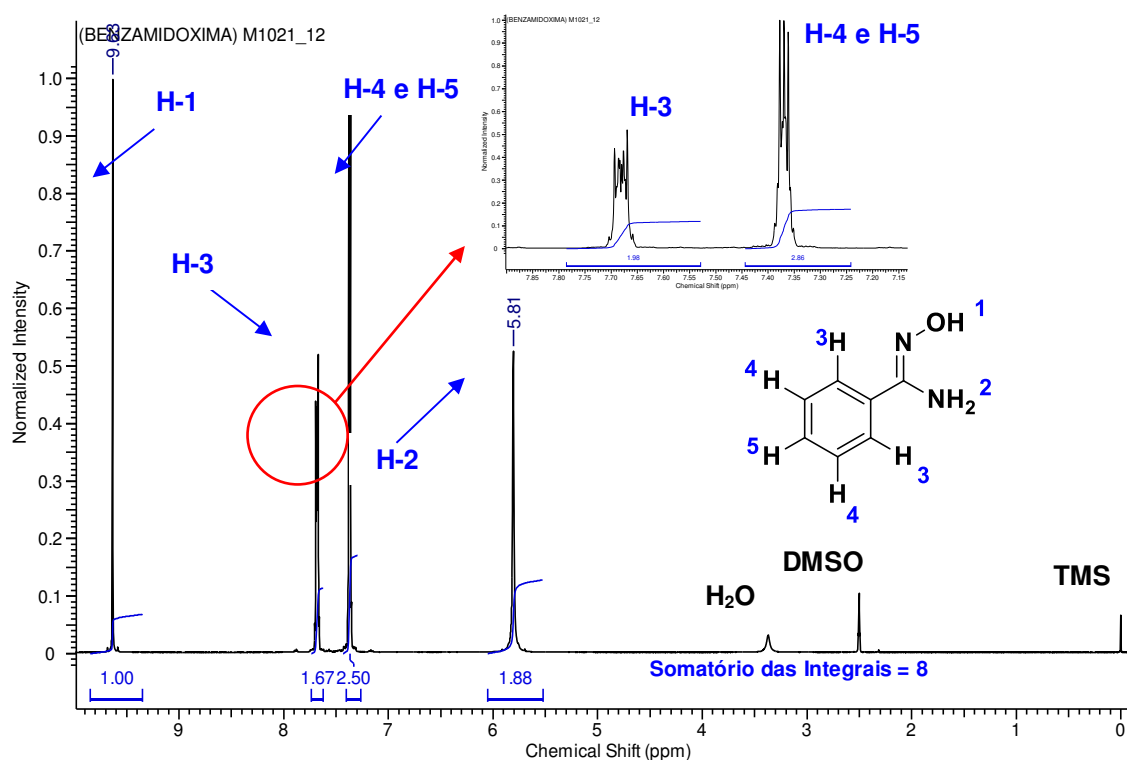
Os valores de CL<sub>50</sub> variaram de 35,5 até 273,1 µg/mL e de acordo com CARVALHO *et al.* (2009) a concentração letal pode ser definida a partir da redução linear dos organismos obtida da relação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração da amostra e quanto menor o valor dessa concentração, mais tóxica é a substância. Em um estudo de métodos de obtenção de fármacos sob a óptica da química medicinal realizado por AVER, KREUTZ, SUYENAGA, (2015) apontaram que a presença do grupo metila na estrutura atribui à molécula maior facilidade de absorção e de ligação às proteínas plasmáticas por deixá-la mais lipofílica. A introdução e/ou presença do CH<sub>3</sub> interfere na biotransformação da substância aumentando ou diminuindo a sua taxa de metabolização. É possível visualizar no

bioensaio 3 que a *p*-metilbenzamidoxima apresentou uma  $CL_{50}$  de 35,5  $\mu\text{g/mL}$ , o que a caracteriza como a mais tóxica e isso possivelmente se explica pela alta metabolização da substância no organismo da artêmia. A metila na posição *para* tem o potencial de aumentar a metabolização pelo fato da mesma sofrer oxidação. O composto do bioensaio 1, apesar de não apresentar nenhum grupo doador ou retirador de elétrons ligado ao anel aromático, apresenta-se como o segundo mais tóxico com  $CL_{50}$  de 40,7  $\mu\text{g/mL}$ . Já a *o*-metilbenzamidoxima (bioensaio 2) foi o composto menos tóxico com 273,1  $\mu\text{g/mL}$ . Neste caso, o grupamento metila na posição *orto* diminui a taxa de metabolização por possivelmente mascarar uma outra parte da molécula metabolicamente ativa, além dos efeitos estéricos e eletrônicos deste grupo ativante. De acordo com CARRASCO (2015), a lipossolubilidade de um composto é diretamente proporcional com a sua difusão pelas membranas biológicas, aumentando ou diminuindo a sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, sua eliminação. A presença de um radical hidrofílico ( $-\text{NO}_2$ ) no bioensaio 4 favorece a ionização do composto, o que dificulta a sua difusão pela membrana biológica da *Artemia salina* Leach, conseqüentemente, diminui sua biodisponibilidade e aumenta a sua excreção sendo o segundo composto menos tóxico com uma  $CL_{50}$  de 79,8  $\mu\text{g/mL}$ . A presença do anel aromático enrijece as moléculas e influencia na atividade biológica e potência de todas as arilamidoximas.

### 5.3 Caracterização espectroscópica das arilamidoximas

Analisando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da benzamidoxima (Figura 04) constatou-se a presença de quatro sinais de hidrogênios quimicamente diferentes na estrutura do composto, que quando somadas as integrais, resultam em um valor de oito hidrogênios, confirmando a quantidade dos mesmos na estrutura do composto.

**Figura 04 - Espectro de RMN 1H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 MHz) da benzamidoxima.**

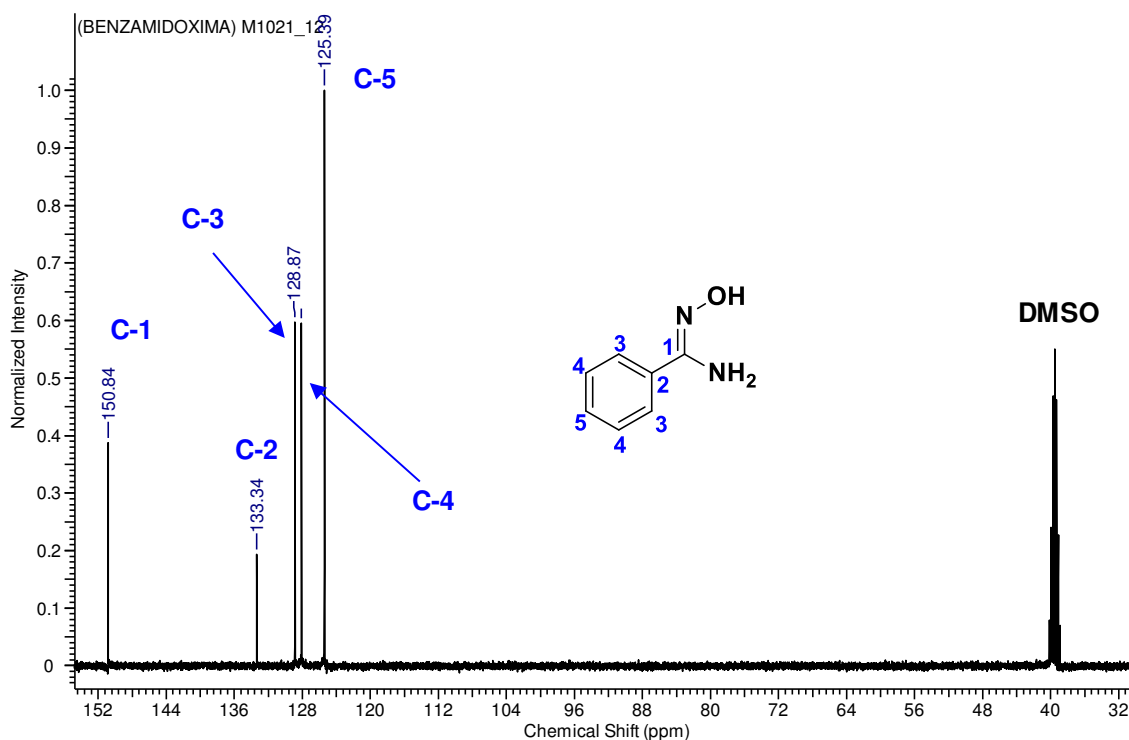


Fonte: Autoria própria, 2021.

Em 9,63 ppm foi observado a presença de um simpleto atribuído ao hidrogênio ácido (H-1) pertencente ao grupo isonitriso (NOH). Na região entre 7,70 a 7,60 ppm aparece um multiplete com dois hidrogênios e na região entre 7,40 a 7,30 ppm há outro multiplete com três hidrogênios. Esses multipletos referem-se aos hidrogênios da região aromática, ou seja, aos hidrogênios H-3 e aos hidrogênios H-4 e H-5 respectivamente. Cabe comentar que as regiões onde esses dois multipletos mencionados aparecem, são características de hidrogênios aromáticos (PAVIA *et al.*, 2015). Outro sinal que merece destaque é um simpleto que aparece em 5,81 ppm, atribuído aos hidrogênios H-2 do grupo NH<sub>2</sub>, que aparecem na forma de simpleto devido não realizarem acoplamento com nenhum outro hidrogênios presente na estrutura do composto.

Na Figura 05 foi observado no espectro de carbono da benzamidoxima, a presença de cinco sinais de carbonos quimicamente diferentes. O respectivo espectro foi obtido utilizando DMSO-*d*<sub>6</sub> como solvente, uma vez que a benzamidoxima apresenta baixa solubilidade em CDCl<sub>3</sub>.

**Figura 05 - Espectro de RMN 13C (DMSO-d6, 100 MHz) benzamidoxima.**



Fonte: Autoria própria, 2021.

Em 150,84 ppm observou-se a presença de um sinal em uma região típica onde aparecem carbonos quaternários e carbonílicos PAVIA *et al.* (2015), onde este sinal foi atribuído ao carbono C-1 que está diretamente ligado ao átomo de nitrogênio semelhante a um carbono carbonílico. Em 133,34 ppm o sinal foi atribuído ao carbono C-2 devido o mesmo sofrer desblindagem em virtude da proximidade da porção amidoxímica que retira densidade eletrônica e expõe o núcleo do tipo de carbono em questão. Em 128,87 e 128,08 ppm aparecem os sinais atribuídos aos carbonos C-3 e C-4 respectivamente. Por fim em 125,39 ppm podemos notar o sinal do carbono mais blindado da estrutura da benzamidoxima, ou seja, o carbono C-5 que sofre pouca influência de grupos ou átomos que possam causar desblindagem eletrônica.

## 6 CONCLUSÃO

Com as sínteses das diferentes arilamidoximas, os tempos e os rendimentos foram determinados e pôde-se concluir que a amidoxima que apresentou melhor rendimento em um tempo reacional de 40 minutos em banho ultrassônico foi a *p*-nitrobenzamidoxima com 91%. Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  determinaram a estrutura da benzamidoxima, onde todos os sinais foram identificados e caracterizados.

Após a avaliação do perfil de toxicidade de todas as arilamidoximas frente às larvas de *Artemia salina* Leach determinado pela  $\text{CL}_{50}$ , a *p*-metilbenzamidoxima se comportou como a substância mais tóxica dentre as demais com 35,5  $\mu\text{g/mL}$  de dose letal necessária para matar 50% dos organismos vivos.

O composto que apresentou menor toxicidade foi o *o*-metilbenzamidoxima com uma  $\text{CL}_{50}$  de 273,1  $\mu\text{g/mL}$ , porém, o mesmo apresentou um baixo rendimento de 55% após 45 minutos reação.

Diante destes resultados, ressalta-se o potencial promissor que estas moléculas possuem no campo biológico, químico e farmacológico, despertando o interesse em estudos de síntese com possíveis modificações estruturais e com aplicação de metodologias computacionais de estudos de toxicidade que objetivem elucidar compostos com valores de  $\text{CL}_{50}$  que sejam relacionados com a Regra dos Cinco de *Lipinski*, realizando o cálculo do seu coeficiente de partição (cLogP) para caracterizar o perfil físico-químico da molécula no que diz respeito à lipofilicidade e, conseqüentemente, a absorção do fármaco pelas membranas biológicas.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, C. R. M.; GONSALVES, A. A. Oximas: Propriedades químicas, métodos de preparação e aplicações na síntese de grupos funcionais nitrogenados. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1469-1495, 2015.
- AGUIAR, A. P.; CUNHA, F. S. Síntese e bioatividade de 1, 2, 4-oxadiazóis. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2509-2530, 2015.
- AVER, G. M.; KREUTZ, O. C.; SUYENAGA, E. S. Métodos de obtenção de fármacos sob a óptica da química medicinal. **Revista Conhecimento Online**, v. 2, p. 63-73, 2015.
- ANDRADE, D.; FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. C. R. Aplicação de amidoximas como catalisadores da reação de alilação por aliltrifluoroborato de potássio em meio bifásico. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1225-1235, 2016.
- ANDRADE, C. H.; KÜMMERLE, A. E.; GUIDO, R. VC. Perspectivas da química medicinal para o século XXI: desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 41, n. 4, p. 476-483, 2018.
- ALMEIDA, C. L. A.; SANTOS, J. A. M.; SANTOS, C. S.; SANTOS, F. A.; VICENTE, D. D. A.; LIESEN, A. P.; FREITAS, J. C. R. Benzamidoxime-Mediated Crotylation of Aldehydes using Potassium (Z) and (E)-Crotyltrifluoroborates. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 62, n. 1, 2018.
- AI, Y.; ZANG, F.; WANG, C.; XIE, R.; LIANG, Q. Recent progress in lab-on-a-chip for pharmaceutical analysis and pharmacological/toxicological test. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 117, p. 215-230, 2019.

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.

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

BOLOTIN, D. S.; BOKACH, N. A.; KUKUSHKIN, V. Y. Coordination chemistry and metal-involving reactions of amidoximes: Relevance to the chemistry of oximes and oxime ligands. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 313, p. 62-93, 2016.

BOLOTIN, D. S.; BOKACH, N. A.; DEMAKOVA, M. Y.; KUKUSHKIN, V. Y. Metal-involving synthesis and reactions of oximes. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 21, p. 13039-13122, 2017.

BEZERRA, J. W. A.; COSTA, A. R.; DA SILVA, M. A. P.; ROCHA, M. I.; BOLIGON, A. A.; DA ROCHA, J. B. T.; KAMDEM, J. P. Chemical composition and toxicological evaluation of *Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau (LAMIACEAE) in *Drosophila melanogaster* and *Artemia salina*. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 437-442, 2017.

BORBA, F. H.; LEICHTWEIS, J.; BUENO, F.; PELLEZ, L.; INTICHER, J. J.; SEIBERT, D. Pollutant removal and acute toxicity assessment (*Artemia salina*) of landfill leachate treated by photo-Fenton process mediated by oxalic acid. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 159-168, 2019.

BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1, 2, 3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2019.

BERGER, O.; ORTIAL, S.; WEIN, S.; DENOYELLE, F.; DURAND, T.; VO-HOANG, Y. Evaluation of amidoxime derivatives as prodrug candidates of potent



bis-cationic antimalarials. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 16, p. 2203-2207, 2019.

CARVALHO, C. A.; MATTA, S. L. P.; MELO, F. C. S. A.; ANDRADE, D. C. F.; DE CARVALHO, L. M.; DO NASCIMENTO, P. C.; DA SILVA, M. B.; DA ROSA, M. B. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers–Bignoniaceae): estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.

CARRASCO, O. V. Uso de fármacos en el embarazo. **Revista Médica La Paz**, v. 21, n. 2, p. 60-76, 2015.

CRUZEIRO, C.; AMARAL, S.; ROCHA, E.; ROCHA, M. J. Determination of 54 pesticides in waters of the Iberian Douro River estuary and risk assessment of environmentally relevant mixtures using theoretical approaches and *Artemia salina* and *Daphnia magna* bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 126-134, 2017.

CANSIAN, R. L.; VANIN, A. B.; ORLANDO, T.; PIAZZA, S. P.; PUTON, B. M. S.; CARDOSO, R. I.; OLIVEIRA, D. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 1, p. 155-161, 2017.

DERTINGER, S. D.; TOTSUKA, Y.; BIELAS, J. H.; DOHERTY, A. T.; KLEINJANS, J.; HONMA, M.; YAUK, C. L. High information content assays for genetic toxicology testing: A report of the International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 847, p. 403022, 2019.

DENG, H.; LEI, Q.; WU, Y.; LI, W. Activity-based protein profiling: Recent advances in medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, p. 112151, 2020.

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

HOU, W.; LIU, B.; XU, H. Triptolide: Medicinal chemistry, chemical biology and clinical progress. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 176, p. 378-392, 2019.

HUANG, M. R.; HSU, Y. L.; LIN, T. C.; CHENG, T. J.; LI, L. W.; TSENG, Y. W.; WONG, C. H. Structure-guided development of purine amide, hydroxamate, and amidoxime for the inhibition of non-small cell lung cancer. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 181, p. 111551, 2019.

LAVTIZAR, V.; KIMURA, D.; ASAOKA, S.; OKAMURA, H. The influence of seawater properties on toxicity of copper pyriithione and its degradation product to brine shrimp *Artemia salina*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 132-138, 2018.

LEE, C. J.; KANG, D.; LEE, S.; LEE, S.; KANG, J.; KIM, S. In silico experiment system for testing hypothesis on gene functions using three condition specific biological networks. **Methods**, v. 145, p. 10-15, 2018.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

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 Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 1031-1040, 2015.

MANSINHO, A.; BONI, V.; MIGUEL, M.; CALVO, E. New designs in early clinical drug development. **Annals of Oncology**, v. 30, n. 9, p. 1460-1465, 2019.

OLIVEIRA, R. J.; SANTOS, C. S.; FREITAS FILHO, J. R.; SANTOS, F. A.; MEDEIROS, H. I. R.; FREITAS, J. C. R. Synthesis and toxicological bioassay of arylamidoximes. **Periodico tche Quimica**, v. 16, n. 31, p. 281-300, 2019.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 5ª ed norteamericana, Cengage Learning: São Paulo, 2015.

PATHANIA, S.; NARANG, R. K.; RAWAL, R. K. Role of sulphur-heterocycles in medicinal chemistry: An update. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 180, p. 486-508, 2019.

PUSPITASARI, T.; KADJA, G. T. M.; RADIMAN, C. L.; DARWIS, D.; MUKTI, R. R. Two-step preparation of amidoxime-functionalized natural zeolites hybrids for the removal of Pb<sup>2+</sup> ions in aqueous environment. **Materials Chemistry and Physics**, v. 216, p. 197-205, 2018.

PEREIRA, A. L. D. C. Síntese, elucidação estrutural e estudos in silico de novos compostos 2-amino-tiofênicos imídicos candidatos a fármacos antifúngicos, antileishmanicida e antitumorais. 2019.

PRIOR, H.; BALDRICK, P.; BEKEN, S.; BOOLER, H.; BOWER, N.; BROOKER, P.; KIMBER, I. Opportunities for use of one species for longer-term toxicology testing during drug development: A cross-industry evaluation. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, p. 104624, 2020.

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

REIS, C.; PIMENTEL, V. P.; PIERONI, J. P.; MITIDIERI, T. L. **Panoramas setoriais 2030: indústria farmacêutica**. 2017.

RAUTIO, J.; MEANWELL, N. A.; DI, L.; HAGEMAN, M. J. The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 17, n. 8, p. 559, 2018.

SANTOS, V. L. D. A.; GONSALVES, A. D. A.; ARAÚJO, C. R. M. Didactic approach for the development of bioactive molecules: Lipinski's five-rule and preparation of 1, 3, 4-oxadiazol heterocyclic in domestic microwave oven. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 110-115, 2018.

SHAALA, N. M. A.; ZULKIFLI, S. Z.; ISMAIL, A.; AZMAI, M. N. A.; MOHAMAT-YUSUFF, F. Lethal concentration 50 (LC50) and effects of Diuron on morphology of brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca) Nauplii. **Procedia Environmental Sciences**, v. 30, p. 279-284, 2015.

SABRI, M. Z.; HAMID, A. A. A.; HITAM, S. M. S.; RAHIM, M. Z. A. In-Silico Selection of Aptamer: A Review on the Revolutionary Approach to Understand the Aptamer Design and Interaction Through Computational Chemistry. **Materials Today: Proceedings**, v. 19, p. 1572-1581, 2019.

SALDÍVAR-GONZÁLEZ, F.; PRIETO-MARTÍNEZ, F. D.; MEDINA-FRANCO, J. L. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. **Educación Química**, v. 28, n. 1, p. 51-58, 2017.

SAHYOUN, T.; ARRAULT, A.; SCHNEIDER, R. Amidoximes and Oximes: Synthesis, Structure, and Their Key Role as NO Donors. **Molecules**, v. 24, n. 13, p. 2470, 2019.

SILVEIRA, M. C. **Estudo *in silico* da diversidade entre enzimas responsáveis pela resistência bacteriana a diferentes classes de antimicrobianos com foco principal em beta-lactamases**. 2018. 172 f. Tese (Doutorado em Biologia

Computacional e Sistemas) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

SUN, D.; ZHAO, Y.; ZHANG, S.; ZHANG, L.; LIU, B.; OUYANG, L. Dual-target kinase drug design: Current strategies and future directions in cancer therapy. **European Journal of Medicinal Chemistry**, p. 112025, 2020.

TABÉLÉ, C.; FAIÕES, V. D. S.; GRIMAUD, F.; TORRES-SANTOS, E. C.; KHOUMERI, O.; CURTI, C.; VANELLE, P. Original antileishmanial hits: Variations around amidoximes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 148, p. 154-164, 2018.

TITTAL, R. K.; GHULE, V. D.; KUMAR, N.; KUMAR, L.; LAL, K.; KUMAR, A. Design, synthesis, biological activity, molecular docking and computational studies on novel 1, 4-disubstituted-1, 2, 3-Triazole-Thiosemicarbazone hybrid molecules. **Journal of Molecular Structure**, p. 127951, 2020.

VULOVIĆ, A.; SUSTERSIC, T.; CVIJIC, S.; IBRIC, S.; FILIPOVIC, N. Coupled in silico platform: Computational fluid dynamics (CFD) and physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modelling. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 113, p. 171-184, 2018.

VIEIRA, V. B.; SILVA, E. A. D.; CARVALHO, V. P.; LIMA NETO, B. S.; SÁ, J. L. Influência do impedimento estérico de ligantes ancilares em complexos a base de Ru aplicados em metáteses do álcool e acetato cinâmílicos. **Química Nova**, v. 43, p. 24-31, 2020.

WANG, L.; DING, J.; PAN, L.; CAO, D.; JIANG, H.; DING, X. Artificial intelligence facilitates drug design in the big data era. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, p. 103850, 2019.

