



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO 3-(ARIL)-5-(HEPTADECIL)-1,2,4-OXADIAZOL ATRAVÉS DO BIOENSAIO COM *Artemia salina* LEACH

CAMILA MACENA DE OLIVEIRA MONTEIRO

CUITÉ – PB

2021

CAMILA MACENA DE OLIVEIRA MONTEIRO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO 3-(ARIL)-5-(HEPTADECIL)-1,2,4-OXADIAZOL ATRAVÉS DO BIOENSAIO COM *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

M775s Monteiro, Camila Macena de Oliveira.

Síntese, caracterização e avaliação da toxicidade do 3- (aril)-5- (heptadecil)-1,2,4-oxadiazol através do bioensaio com artemia salina leach. / Camila Macena de Oliveira Monteiro. - Cuité, 2021.

47 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".

Referências.

1. Farmácia. 2. *Artemia salina* Leach. 3. *Artemia salina* Leach - toxicidade. I. Freitas, Juliano Carlo Rufino de. II. Título.

CDU 615(043)

CAMILA MACENA DE OLIVEIRA MONTEIRO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO 3-(ARIL)-5-(HEPTADECIL)-1,2,4-OXADIAZOL ATRAVÉS DO BIOENSAIO COM *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: 04/10/2021

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas
(Orientador) – UFCG

Prof.^a Dr.^a Maria Emília Silva Menezes
(Examinadora 1) – UFCG

Prof. Me. Rodrigo Ribeiro Alves Caiana
(Examinador 2) – UFPE

Dedico este trabalho a minha mãe e toda minha família biológica e do coração, por todo apoio, carinho, dedicação, por sempre me encorajarem e me fazer acreditar que sou capaz. Tornando possível a realização desse sonho. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus, por ter me dado força, ânimo e coragem para não desistir e continuar lutando por este sonho, estou ciente de que sem Ele nada disso seria possível, porque dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas (Romanos 11:36).

A toda minha família, em especial minha mãe Mercês Macena por permanecer e não desistir de mim, por todo esforço, carinho, dedicação e cuidado que me deu não só durante este período mas por toda a minha existência.

Ao meu pai Júnior Soares, meu irmão Nathã Soares, meus tios Adroilzo Júnior, Laercio Ferreira, tias Luana Carla, Josefa Felix, Flaviana Pontes, Cícera Maria, Marenilda Macena, Fabiana Ferreira, Edjane Dantas, Priscila Oliveira, vó Fátima Pontes, primos Ana Raquel, Carlos Eduardo, Guilherme Oliveira, Dauane Pontes, Darlene Pontes, Ester Oliveira, Stefany Oliveira, Jaiana Pontes, meus sogros Girlane Fonsêca e Isaías Silva, minha cunhada Dayane Fonsêca. Obrigada, gente, por todo amor, carinho e incentivo. Meus pequenos Moisés Macêdo, Ana Carolina, Ariston Neto que me deram e dão força para continuar.

Ao meu namorado Diego Rafael, por me emprestar o *notebook* por mais de seis meses para poder escrever este trabalho (risos), pelos conselhos, apoio, incentivo, amizade, companheirismo, por cada sorriso e alegria compartilhada durante esse tempo. Obrigada por tornar esta caminhada mais fácil. Te amo!

A minha melhor amiga, Natália Lima, sempre presente com uma palavra de ânimo e incentivo, que me ouviu e me ouve sempre que preciso, além de me socorrer em todo tempo. Obrigada por exatamente tudo.

Aos amigos que a UFCG me presenteou, Cíntia Letícia, Anne Caroline, Ennaly Monteiro, Giulia Belarmino, Fernanda Lamonier, Francisco Pinto, minha irmã Milena de Cássia, as gêmeas do meu coração Andreia Casado, Andresa Casado, pela amizade, companheirismo e ajuda durante o curso. Vocês são muito especiais e jamais serão esquecidos. Gerusa Monteiro, Severino Trigueiro, gratidão por ter conhecido vocês.

Ao amigo Paulo Rogério, por me aturar desde o ensino médio até a graduação, por toda parceria, amizade e paciência.

A Ana Clara, Jéssica Daiane por todo carinho e cuidado. A todos os meus amigos e irmãos em Cristo que fazem parte da família IEN, meus pastores, por todo carinho, encorajamento e orações.

Aos amigos Carlos Alexandre e Sandrielly Farias que me auxiliaram durante a pesquisa, por toda paciência e disposição.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje posso contemplar. Todos os meus professores que me ajudaram até aqui, por todo o conhecimento compartilhado.

Ao meu professor, orientador, amigo e irmão em Cristo, Juliano Carlo, por todo o tempo que dedicou em me ajudar, por cada palavra de apoio e incentivo, pela confiança e extrema paciência. A minha banca professora Maria Emília e Rodrigo Ribeiro pelo interesse e pela disponibilidade.

Ao pessoal do Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande e do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram e estão fazendo parte da minha formação, o meu muito obrigada!

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”
(Provérbios, 16:3).

RESUMO

Os 1,2,4-oxadiazóis são heterocíclicos compostos de cinco membros, com dois átomos de nitrogênio e um de oxigênio, que ganharam grande destaque na década de 60 devido sofrerem rearranjos moleculares e por serem comercializados como fármacos atuando como antitussígeno, vaso dilatador e anestésico local. Além disso, apresentam baixo grau de aromaticidade, sendo melhor descritos como sistemas conjugados que exibem grande variedade de atividade biológicas, a citar antimicrobiano, antiinflamatório, antitumoral, antiasmática, antioxidante. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho consistiu na síntese do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol e avaliação da toxicidade através do bioensaio com *Artemia salina* Leach. Este composto foi obtido em 86,48% de rendimento após 18 minutos de reação em irradiação de micro-ondas seguido de coluna cromatográfica de vidro em sílica a fim de purificar este composto, sendo posteriormente caracterizado através da espectroscopia de infravermelho em que os dados observados no espectro de infravermelho confirmaram sua estrutura. A avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* foi realizada e com os resultados obtidos foi possível construir um gráfico e através deste, calcular o valor estimado da concentração letal para matar 50% das artêmias. Diante disso, o valor estimado foi igual a 87,84 µg/ml, logo, abaixo de 100 µg/ml, sendo classificada como uma substância de alta toxicidade, mas que pode ser utilizado com diferentes atividades biológicas. Dessa forma, torna-se possível a realização de estudos mais aprofundados que tenham como objetivo explorar as atividades que esta molécula e derivados apresentam.

Palavras-chave: Heterocíclicos; 1,2,4-oxadiazóis; Espectroscopia de infravermelho; Toxicidade; *Artemia salina* Leach.

ABSTRAT

The 1,2,4-oxadiazoles are heterocyclic compounds of five members, with two nitrogen and one oxygen atoms, which gained great prominence in the 60s due to their molecular rearrangements and because they are marketed as drugs acting as cough suppressants, vasodilators and local anesthetic. In addition, they have a low degree of aromaticity, being best described as conjugated systems that exhibit a wide range of biological activities, including antimicrobial, anti-inflammatory, antitumor, anti-asthmatic, antioxidant. Given the above, the aim of the present work consisted of the synthesis of 3-(aryl)-5-(heptadecyl)-1,2,4-oxadiazole and evaluation of its toxicity through the bioassay with *Artemia salina* Leach. This compound was obtained in 86.48% of yield after 18 minutes of reaction in microwave irradiation followed by chromatographic column of glass on silica in order to purify this compound, being further characterized through infrared spectroscopy in which the observed data in the infrared spectrum confirmed its structure. The evaluation of toxicity against brine shrimp was performed and with the results obtained it was possible to build a graph and through it, calculate the estimated value of the lethal concentration to kill 50% of the brine shrimp. Therefore, the estimated value was equal to 87.84 $\mu\text{g/ml}$, therefore, below 100 $\mu\text{g/ml}$, being classified as a substance of high toxicity, but which can be used with different biological activities. Thus, it becomes possible to carry out more in-depth studies that aim to explore the activities that this molecule and derivatives have.

Keywords: Heterocyclic; 1,2,4-oxadiazoles; Infrared spectroscopy; Toxicity; Leach saline brine shrimp.

LISTA DE IMAGENS

Figura 1 - Estrutura molecular do ácido graxo esteárico.....	18
Figura 2 - Estrutura molecular do ácido graxo oleico	19
Figura 3 - Estrutura molecular dos ácidos graxos essenciais alfa-linolênico e ácido linoleico, respectivamente.....	19
Figura 4 - Isômeros do oxadiazol.....	21
Figura 5 - Estrutura molecular da oxalamina, libexina, e irrigor.....	21
Figura 6 - Eclosão dos cistos de artêmias.....	28
Figura 7 - Sal marinho Ocean Tech Ref Active®.....	30
Figura 8 - Fórmula usada para calcular a solução estoque.....	31
Figura 9 - Bioensaio realizado em triplicata	32
Figura 10 - Esquema reacional do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-12,4-oxadiazol..	33
Figura 11 - Mecanismo reacional do 3-(aril)-5-(heptadecil)-12,4-oxadiazol.....	33
Figura 12 - CCD da reação.....	34
Figura 13 - Rotaevaporador.....	35
Figura 14 - Produto puro do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-12,4-oxadiazol.....	35
Figura 15 - Espectro de IV para o composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-12,4-oxadiazol	36
Figura 16 - Incubação dos cistos de <i>Artemia salina</i> Leach	37
Figura 17 - Bioensaio realizado em quadruplicata.....	39
Figura 18 - Resultado do bioensaio toxicológico com <i>Artemia salina</i> Leach.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Exemplos de ácidos graxos saturados, suas estruturas e nomenclaturas, bem como seus respectivos esqueletos de carbono.....	17
Quadro 2 - Oxadiazóis sintetizados por Zhao e Liu.....	25
Quadro 3 - Contagem de artêmias	37
Quadro 4 - Contagem de artêmias	38

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL ₅₀	Concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	cido desoxirribonucleico
EtO ⁻	Etxido
FDA	Food and drugs administration
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IV	Infravermelho
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MO	Micro-ondas
-NH ₂	Grupo amina
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Aspectos Gerais dos Ácidos Graxos	17
3.2 Aspectos Gerais dos Oxadiazóis	20
3.2.1 Importância Farmacológica dos 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos	22
3.2.2 Atividade Antiasmática	23
3.2.3 Atividade Antimicrobiana	24
3.2.4 Atividade Antitumoral	24
3.2.5 Atividade Antioxidante	25
3.3 Bioensaio Toxicológico Utilizando <i>Artemia salina</i>	27
4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	29
4.1 Local de Pesquisa	29
4.2 Materias e Equipamentos	29
4.3 Procedimento Para a Síntese do Composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-Oxadiazol	29
4.4 Caracterização	30
4.5 Procedimento Geral Para o Bioensaio Toxicológico Frente a Larvas de <i>Artemia salina</i> Leach	30
4.6 Análise Estatística	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos são compostos orgânicos que possuem longas cadeias carbônicas ligadas a uma função carboxila. Estas longas cadeias carbônicas podem apresentar ou não insaturação. As cadeias saturadas possuem apenas ligações sigmas ou simples, enquanto que as cadeias insaturadas possuem uma ou mais ligações π ou duplas entre os carbonos (BRAGA, 2017).

Os ácidos graxos insaturados são absorvidos através da alimentação, uma vez que não podem ser sintetizados pelo organismo humano em quantidades suficientes, pois são biomoléculas extremamente calóricas que atuam como combustível celular (PATEL *et al.*, 2020).

De acordo com a literatura (DESBOIS; SMITH, 2010), os ácidos graxos possuem várias atividades biológicas, por exemplo, antimicrobiana, citotóxica e antioxidante, o que justifica, em parte, o elevado número de artigos publicado entre os anos 2011 a 2021, conforme pesquisa na plataforma de periódicos *Web of Science*, utilizando a palavra-chave “*fatty acid*”.

Especificamente, os ácidos graxos e seus derivados demonstraram promissora atividade antifúngica e antibacteriana, e podem auxiliar no tratamento de infecções promovido por microrganismos resistentes (DA COSTA; SILVA JÚNIOR, 2017).

Estas características têm motivado a aplicação de diferentes ácidos graxos em estratégias de modificação estrutural que visam a obtenção de novos protótipos com diferentes atividades biológicas. Especificamente, os compostos heterocíclicos colaboram significativamente na busca por novos fármacos que atuem como antimicrobianos, uma vez que podem facilmente serem modificados (FÜRMEIER; METZGER, 2003; HOTE; BHOYAR, 2014).

Dentre os diversos compostos heterocíclicos, os 1,2,4-oxadiazóis se destacam por serem aplicados tanto na indústria de materiais na produção de polímeros quanto na química medicinal. Isso se deve à biocompatibilidade e atividades terapêuticas desse núcleo, como a atividade antifúngica, que é aumentada por essa molécula (KRISHNA *et al.*, 2015). Além disso, esses compostos apresentam diversas atividades farmacológicas como antiasmática, antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, entre outras (PACE; PIERRO, 2009).

Associado ao exposto, durante o desenvolvimento de um fármaco faz-se necessário a realização de diferentes estudos, a citar o bioensaio toxicológico, com a

finalidade de validar a biocompatibilidade dos futuros fármacos, eficácia e segurança (FERREIRA *et al.*, 2009).

Dentre os diversos testes toxicológicos o bioensaio com *Artemia salina* se destaca, por apresentar rapidez, sensibilidade, fácil manuseio, baixo custo, além de apresentar resultados satisfatórios e coerentes (VICTAL *et al.*, 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, antimicrobiana, anticonvulsivante, moluscicida, inseticida e larvicida, fototóxica e antioxidante (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; LOPES, SILVA, ECHEVARRIA, 2016).

O bioensaio com *Artemia salina* se destaca, por apresentar rapidez, sensibilidade, fácil manuseio, baixo custo, além de apresentar resultados satisfatórios e coerentes (VICTAL *et al.*, 2014).

Diante desses pressupostos, o projeto de pesquisa visa a síntese, caracterização e avaliação da toxicidade do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol através do bioensaio com *Artemia salina* Leach.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar a toxicidade do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol através do bioensaio com *Artemia salina* Leach.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Realizar a síntese do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol;
- ✓ Caracterizar o composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol através da técnica espectroscópica de IV;
- ✓ Realizar a avaliação toxicológica do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol;
- ✓ Determinar a concentração letal para matar 50% das artêmias.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos Gerais dos Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são denominados compostos orgânicos, geralmente, monocarboxilados, que apresentam fórmula geral RCOOH, sendo R uma cadeia longa, geralmente linear com número par de carbonos, podendo conter ou não, duplas ligações, além de desempenhar um papel importante no metabolismo celular, como reserva e também fornecimento de energia ao organismo, quando necessário. Além de desempenhar várias atividades biológicas, incluindo antimicrobiana e citotóxica (DESBOIS; SMITH, 2010).

Os ácidos graxos são classificados segundo o comprimento da cadeia de carbonos, número e presença de ligações duplas, assim como as configurações das duplas ligações. No tocante a presença de ligações são classificados em saturados e insaturados. Onde os saturados possuem apenas ligações simples e os insaturados ligações duplas entre carbonos (VAZ *et al.*, 2006).

Quanto ao comprimento da cadeia carbônica os ácidos graxos podem ser divididos em três grupos: cadeia curta (4 a 8 átomos de carbono), cadeia média (entre 8 e 12 átomos de carbono na cadeia) e cadeia longa (acima de 14 átomos de carbono) (RAPOSO, 2010). Complementarmente, alguns exemplos são apresentados na tabela 1.

Quadro 1 - Exemplos de ácidos graxos saturados, suas estruturas e nomenclaturas, bem como seus respectivos esqueletos de carbono.

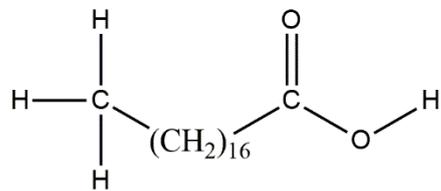
Esqueleto do carbono	Estrutura	Nome sistemático	Nome Comum
12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Ácido <i>n</i> -dodecanoico	Ácido láurico (do latim, <i>laurus</i> , “árvore de louro”)
14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Ácido <i>n</i> -tetradecanoico	Ácido mirístico (do latim, <i>Myristica</i> , gênero da noz-moscada)
16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	Ácido palmítico (do latim, <i>palma</i> , “palmeira”)
18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Ácido <i>n</i> -octadecanoico	Ácido esteárico (do grego, <i>stear</i> , “gordura dura”)

Fonte: LEHNINGER; NELSON; COX, 2014.

Os ácidos graxos saturados são encontrados em fontes vegetais, porém são mais presentes em fontes animais e tendem a diminuir o HDL e aumentar o LDL pois inibem os receptores do LDL hepático, por isso, o consumo destes devem ser criteriosos, pois podem gerar graves problemas a saúde (NASCIUTTI *et al.*, 2015).

Estes ácidos graxos são encontrados na forma sólida quando em temperatura ambiente e possuem elevado ponto de fusão, o qual tende a aumentar com o número de carbonos. De maneira geral, a gordura saturada eleva a concentração plasmática de colesterol, em especial os ácidos graxos saturados com menos de 12 átomos de carbono como ácido láurico (C12: 0), ácido mirístico (C14: 0) e ácido palmítico (C16: 0), enquanto o ácido esteárico (Figura 1) é neutro em seus efeitos sobre o colesterol, pois não apresenta alterações significativas nos níveis de LDL, devido sua facilidade em sofrer dessaturação quando metabolizado, sendo convertido rapidamente em ácido oleico (SANTOS *et al.*, 2013).

Figura 1- Estrutura molecular do ácido Graxo Esteárico.

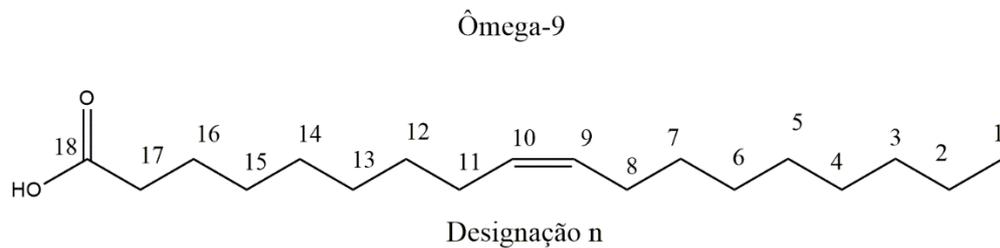


Fonte: Adaptada de MURZIN *et al.*, 2019.

Os ácidos graxos insaturados são assim denominados por possuírem uma ou mais ligações duplas. Quando o mesmo apresentar apenas uma dupla ligação entre carbonos, é chamado monoinsaturado, bem como os que apresentam mais de uma dupla ligação que são designados poli-insaturados (MOURA *et al.*, 2015).

Dentre os ácidos graxos monoinsaturados, o principal representante é o ácido oleico (ômega-9), assim chamado por possuir apenas uma dupla ligação entre o carbono nove e dez (Figura 2). Este ácido graxo pode ser encontrado tanto em gorduras vegetais como animais, porém sua maioria está presente em gorduras animais, incluindo aves, bovinos e ovinos bem como alguns óleos vegetais como oliva e canola (SILVEIRA *et al.*, 2014).

Figura 2 - Estrutura molecular do ácido graxo oleico.



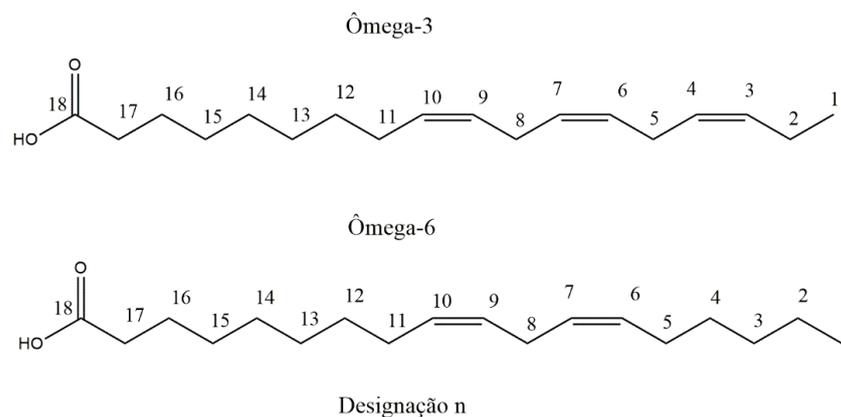
Fonte: Adaptada de SANTOS *et al.*, 2013.

Os ácidos graxos podem ser enumerados de acordo com a designação delta, a partir do grupo carboxila, quando envolvem estudo de reações químicas entre eles, ou pela designação *n* sendo mais simplificada, porém, utilizada quando se refere aos aspectos nutricionais dos mesmos (MARTIN *et al.*, 2006).

Os ácidos graxos poli-insaturados não podem ser sintetizados em quantidades suficientes pelo organismo humano, sendo necessária sua ingestão através da dieta. Esta ação é tida como essencial, uma vez que estes componentes desempenham funções importantes no corpo humano, a citar a síntese de eicosanoides, evento que está diretamente relacionado ao sistema imune e suas respostas inflamatórias, sendo um fator considerável para prevenir o surgimento de doenças e auxiliar na melhoria de muitas (PATEL *et al.*, 2020).

Dentre os ácidos graxos essenciais se destacam os de configuração ômega-3 e ômega-6, que apresentam a primeira insaturação entre os carbonos três e quatro, e entre seis e sete, respectivamente (Figura 3) (YONGGANG; LYNDSEY; HALADE, 2012).

Figura 3 - Estrutura molecular dos ácidos graxos essenciais alfa-linolênico e ácido linoleico, respectivamente.



Fonte: Adaptada de MARTIN *et al.*, 2006.

Dessa forma, a ingestão diária de alimentos fonte de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 assume grande importância na nutrição humana, o que pode favorecer a patogênese de muitas doenças, incluindo as autoimunes, cardiovasculares, inflamatórias e câncer (VELHO; VERBER; LONGHI, 2017).

Na espécie humana o fígado, as gônadas, e em menor escala, o cérebro e o tecido adiposo tem a capacidade de biosintetizar diferentes tipos de eicosanoides, isso a partir do precursor ácido linoleico e alfa linolênico, pela ação das enzimas dessaturase e alongase (VAZ *et al.*, 2014; MOURA *et al.*, 2015).

As enzimas dessaturase atuam oxidando dois carbonos da cadeia, gerando uma dupla ligação com a configuração *cis*. As *alongase* agem acrescentando dois átomos de carbono no início da cadeia. O metabolismo de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 diferem pelos tipos de eicosanoides produzidos. Pela atividade da desaturase e alongasse, o ácido linoleico é precursor do ácido araquidônico, o que dá origem a três eicosanoides: as prostaglandinas da série 2 e os tromboxanos e leucotrienos da série 4. Pelas mesmas enzimas o ácido alfa linolênico gera o eicosapentaenoico que produzirá prostaglandina da série 3 e leucotrienos da série 5 (BORGES *et al.*, 2014).

3.2 Aspectos Gerais dos Oxadiazóis

Dentre os diversos compostos heterocíclicos, uma das classes que mais se destaca é o 1,2,4-oxadiazóis que são formados por um anel de cinco membros, contendo dois átomos de carbono, dois átomos de nitrogênio e um átomo de oxigênio. Embora apresentem duas ligações duplas, estes compostos possuem baixo grau de aromaticidade, sendo melhor classificados como sistemas conjugados (REGUEIRA; DE FREITAS; FREITAS FILHO, 2016).

Os oxadiazóis são uma classe de compostos químicos aromáticos heterocíclicos organizada na forma de isômeros constitucionais de acordo com a posição dos heteroátomos, sendo eles 1,2,3-oxadiazol, 1,2,4-oxadiazol, 1,2,5-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazol, conforme figura 4 (COSTA; DE FREITAS; FREITAS, 2018).

o objetivo de aperfeiçoar tratamentos de doenças, assim como desenvolvimento de moléculas mais seguras e redução dos efeitos adversos (BIERNACKI *et al.*, 2020).

Os 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos, são utilizados como bioisómeros das moléculas orgânicas, a citar as amidas e os ésteres, com o objetivo de melhorar sua seletividade e potência (PITASSE-SANTOS; SUET-SANTIAGO; LIMA, 2018).

Cunha e Aguiar (2015), afirmaram que os 1,2, 4-oxadiazóis são aplicados como parte indispensável do grupo farmacofórico e contribuem de maneira excepcional na interação da molécula com o sítio ativo biológico. Ainda orientam a posição adequada de determinados substituintes da molécula, além de atuar como modulador das propriedades biológicas quando posicionado nas extremidades das moléculas.

3.2.1 Importância Farmacológica dos 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos

As biotecnológicas modernas em medicamentos visam a ação terapêutica do fármaco, ou seja, atuam na diminuição de efeitos adversos e de toxicidade, entre outras características que gerem vantagens à saúde. Dessa forma, a inovação tecnológica supri os efeitos adversos, a toxicidade, a baixa potência de ação de fármacos, dando origem a novas moléculas que atendam a essas limitações (WARD *et al.*, 2014).

Assim, os 1,2,4-oxadiazóis junto as biotecnologias modernas em medicamentos contribuem sobremaneira, pois podem ser preparados por diferentes métodos, a citar o aquecimento convencional, a irradiação de micro-ondas, ultrassom entre outros (REGUEIRA; DE FREITAS; FREITAS FILHO, 2016).

Além disso, o núcleo oxadiazólico apresenta largo espectro de atividade farmacológica, o que contribui para o desenvolvimento e aprimoramento de novas metodologias empregadas ao aperfeiçoamento do tratamento de determinadas doenças e ampliação de bioisómeros eficientes (VAIDYA, 2021).

A literatura descreve que os compostos 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos apresentam diferentes e abundantes atividades farmacológicas, como por exemplo: antiasmática, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, entre outras (AGUIAR *et al.*, 2018). Adicionalmente, nas próximas sessões serão abordadas algumas dessas aplicações, com o objetivo de enaltecer ainda mais esta classe de heterocíclicos e justificar a avaliação da toxicidade de um derivado desta natureza.

3.2.2 Atividade Antiasmática

Uma atividade que merece destaque é a atividade antiasmática, uma vez que a asma acomete, em quase 50% dos casos, crianças abaixo dos 10 anos de idade e, na maioria delas, os sintomas aparecem antes dos dois anos de idade. Durante a adolescência a incidência da asma diminui mas aumenta durante a idade adulta. O diagnóstico é estabelecido após os 40 anos em menos de 25% das pessoas, porém, em alguns casos é possível identificar uma sintomatologia respiratória prévia. Muitos desses indivíduos são rotulados como portadores de "bronquite crônica" antes de serem categorizados como asmáticos (BARNES, 2017).

A asma é uma doença complexa que está associada a vários fatores como os genéticos e os ambientais. Estes fatores se dividem em primários e secundários. Nos fatores primários estão envolvidos: os determinantes genéticos, sexo, raça e etnia e os fatores casuais: ácaros, pólen e anti-inflamatórios não esteroidais. Nos fatores secundários são envolvidos: infecções do trato respiratório, dieta, fumante ativo e passivo, poluição, dióxido de enxofre, exercício físico intenso com hiperventilação, condições meteorológicas, dentre outros (RUBIN *et al.*, 2012).

O mecanismo geral da asma consiste em estímulos ao sistema imunológico ocasionando a ativação de determinadas células: mastócitos, macrófagos alveolares, células epiteliais e outros alvos celulares que liberam substâncias capazes de causar a broncoconstrição, a vasodilatação ou a hipersecreção de muco (exemplos: leucotrienos, prostaglandinas, fator de ativação de plaquetas, histamina, entre outros). Essas células, por sua vez, geram novos mediadores, como tromboxanos e eosinófilos, responsáveis por alterações estruturais na parede da árvore brônquica (edema, descamação epitelial, aumento da secreção de muco). O epitélio das vias aéreas danificado sintetiza outros mediadores, que atuam como agentes quimiotáticos potentes, recrutando elementos celulares adicionais aumentando assim a resposta inflamatória (LAMBRECHT; HAMMAD, 2015).

A aplicação do 1,2,4-oxadiazol-3,5-dissubstituído relacionada a sua atividade antiasmática é pouco relatado na literatura. Palmer *et al.*, (2006), através de seus estudos verificaram que os derivados desse heterocíclico atuam como inibidores da enzima triptase, que está associada aos sinais e sintomas da asma brônquica.

3.2.3 Atividade Antimicrobiana

Nos últimos anos, a existência de infecções fúngicas se destaca devido ao crescente aumento de morbidade e mortalidade, principalmente pelo elevado número de imunodeprimidos e pacientes em tratamento prolongado com antibióticos, que em consequência desse uso, na maioria dos casos, de forma indiscriminada e incorreta, desenvolveram uma rápida resistência a vários medicamentos, caracterizando um sério problema sanitário mundial (BRITO; CORDEIRO, 2012).

Dessa forma, o aumento da resistência microbiana preocupa os órgãos regulares da saúde pública, estimulam o desenvolvimento e a busca por novas substâncias com potencial antifúngico (KAHRSTROM, 2015).

Assim, novas estratégias terapêuticas tem sido aplicadas a partir de produtos de origem natural e sintética, tendo em vista melhores resultados farmacológicos, toxicidade seletiva e menos efeitos colaterais. Deste modo, a literatura descreve vários estudos utilizando compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazólico os quais exibiram acentuada ação contra diferentes cepas de fungos e bactérias (CUNHA; AGUIAR, 2015).

Krishna *et al.*, (2015), descreveram ação antifúngica de diferentes 1,2, 4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos, ao quais apresentaram Concentração Inibitória Mínima (CIM) que variou de 100 a 200 µg/mL contra cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus terreus* e *Rhizoctonia solani*, se mostrando como um bom protótipo no desenvolvimento novos agentes antimicrobianos, podendo-se realizar modificações estruturais a fim de amplificar sua ação.

3.2.4 Atividade Antitumoral

O câncer é uma doença causada pelo crescimento desordenado das células, que pode se estender por todo o corpo, invadindo tecidos adjacentes ou órgãos à distância. Alguns fatores favorecem o desenvolvimento do câncer, a citar predisposição genética, hábitos alimentares, estilo de vida, ansiedade, estresse, imunidade e hormônios, sendo 90% dos casos devido agentes externos como substâncias químicas, irradiação, vírus e fatores comportamentais, ou seja, estão associados a fatores ambientais (ALVES; MAGALHÃES; COELHO, 2014).

O tratamento do câncer pode ser feito de várias formas de acordo com o tipo e a gravidade da doença. Uma alternativa muito eficaz para cânceres localizados, sem metástases é a remoção cirúrgica de um tumor. Geralmente é utilizada a radioterapia junto com a cirurgia e, apesar de ter alta eficácia, apresenta muitas limitações. No câncer, utiliza-se também a quimioterapia que consiste em um tratamento à base de fármacos, que interferem em diferentes processos tais como disseminação, crescimento, desenvolvimento e invasão de células cancerígenas. Na quimioterapia pode ser feita mono e poliquimioterapia, porém esta última é mais eficaz pelo fato de reduzir os riscos de resistência do paciente e dispor de respostas mais satisfatória. Além disso, é fundamental que o medicamento de escolha para o tratamento quimioterápico que possua toxicidade seletiva, que causa a morte rápida e eficaz de células cancerosas acarretando pouca ou nenhuma morte de células normais (VANNEMAN; DRANOFF, 2012; LOTTI *et al.*, 2018).

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), no ano de 2018 ocorreram 18 milhões de novos casos de câncer e 9,6 milhões de óbitos, caracterizando o câncer como o principal problema de saúde pública do mundo, demonstrando a necessidade de esforços ininterruptos em busca do desenvolvimento de novos medicamentos ou tratamentos para o controle dessa doença (BRASIL, 2020).

Na literatura são encontradas várias obras relacionadas a atividade anticâncer, nas quais se descreve que até então os compostos derivados do 1,2,4-oxadiazol possui efeito farmacológico no tratamento do câncer de mama e próstata (ZHANG *et al.*, 2013).

Dessa forma, Kumar *et al.*, (2015), referiram-se a síntese de equivalentes 1,2,4-oxadiazol com atividade antitumoral, as quais os compostos sintetizados tem sua atividade aumentada devido a presença de grupos lipofílicos e alcoxi assim como anel arila, na posição C-5 e C-3 respectivamente do anel 1,2,4-oxadiazol.

3.2.5 Atividade Antioxidante

Os radicais livres são moléculas instáveis, que apresentam um elétron desemparelhado o que caracteriza os radicais como altamente reativos. Por este motivo os radicais livres atacam as outras moléculas, roubando ou cedendo elétrons para se tornarem estáveis, podendo reduzir os seus elétrons. Dessa forma, o excesso dessas moléculas pode causar o estresse oxidativo, se tornando tóxicas aos

organismos e contribuindo com alguns problemas de saúde como, o envelhecimento precoce, doenças crônicas entre outras. Por isso os antioxidantes visam interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre seus alvos celulares (CUNHA *et al.*, 2016).

Com o intuito de mostrar a propriedade antioxidante do heterocíclico, comparar a capacidade de proteger o DNA contra a oxidação de radicais livres e eliminar os mesmos, Zhao e Liu (2013), sintetizaram derivados do 1,2,4-oxadiazol 3, 5-dissubstituído, que apresentavam grupos arila como substituintes, mostrados na tabela 2.

Quadro 2 - Oxadiazóis sintetizados por Zhao e Liu.

Composto	R ₁	R ₂	R ₃	X	Inibição de radicais livres (%)
1	H	OCH ₃	OH	C	30,3
2	H	H	H	C	12,4
3	OH	H	H	C	33
4	Cl	H	H	C	42,7
5	H	OH	H	C	38,5
6	H	-	H	N	28,5

Fonte: Adaptada de ZHAO; LIU, 2013.

Dentre os oxadiazóis sintetizados um apresentou maior inibição de radicais livres, obtendo a porcentagem de 42,7%. Os autores concluíram que alguns grupos hidroxila podem aumentar significativamente a atividade do antioxidante, dependendo do tipo de núcleo ramificado, o que pode ser uma nova característica estrutural no desenvolvimento de antioxidantes (ZHAO; LIU, 2013).

3.3 Bioensaio Toxicológico Utilizando *Artemia salina*

Segundo os princípios da Toxicologia, toda e qualquer substância pode ser considerada toxicante, quando esta é capaz de causar dano a um sistema biológico, seja por alteração em alguma função ou até mesmo a morte. Dessa forma, pode-se citar algumas condições de exposição as quais se destacam dose, frequência, tempo de exposição e via de administração (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014; BUENO; PIOVEZAN, 2015).

Os testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de determinar a potencialidade de novas substâncias e produtos que causem danos à saúde humana. Os testes que mensuram a toxicidade aguda sistêmica são utilizados para categorizar substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pela legislação (VALADARES, 2006).

Em 1927, o teste da dose letal 50 (DL₅₀) foi realizado pela primeira vez por Trevan para avaliar o que seria utilizado por seres humanos (digitallis e a insulina). A partir da década de 70, este teste que tinha como objetivo constatar a DL₅₀ nos animais do grupo teste, tendo como indicador a concentração necessária para matar 50% dos indivíduos. Este teste começou a ser empregado amplamente como base de comparação e classificação da toxicidade de substâncias. Aos poucos tornou-se pré-requisito para várias agências reguladoras, como a *Food and Drugs Administration (FDA)*, responsável pela aprovação de novos fármacos, aditivos alimentares, químicos industriais, pesticidas ingredientes cosméticos e produtos domésticos (MERINO *et al.*, 2015).

Para avaliação toxicológica *in vitro* existem diversos métodos que podem ser aplicados dentre eles, o estudo de toxicidade aguda pelo bioensaio com *Artemia salina* se destaca, uma vez que apresenta como vantagem a simplicidade, rapidez e sensibilidade, possuindo uma grande distribuição geográfica e alta adaptabilidade, além de um baixo custo visto que seus cistos são facilmente encontrados no comércio e permanecerem viáveis por anos no estado seco (BUENO; PIOVEZAN, 2015).

A *Artemia salina* Leach é um microcrustáceo da ordem Anostraca, de fácil cultura e manuseio, possuindo alta capacidade de viver em ambientes salinos e com pouca concentração de oxigênio, ou seja, nas águas salinas ou salobras (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Ainda, as artêmias são utilizadas em diferentes bioensaios de toxicidade com diferentes substâncias, a citar, os fármacos sintéticos, compostos heterocíclicos, entre outros. Além disso, se trata de um método alternativo, por não utilizar análises, como o soro, por exemplo, o que pode substituir e diminuir o uso de animais em pesquisas e teste de potencial toxicológico, sendo utilizado como teste de triagem para substâncias (RAJABI *et al.*, 2015; SILVEIRA *et al.*, 2018).

O ciclo de vida da *Artemia salina* tem início com a eclosão de cistos dormentes, que são embriões encapsulados inativos. Estes cistos podem ficar dessa forma por muito tempo se estiverem em um ambiente seco. Quando são hidratados o embrião presente em seu interior, é ativado e após algumas horas as membranas rompem-se e nasce uma larva náuplio livre natante, a qual neste estágio do ciclo de vida é utilizada nos ensaios toxicológicos (Figura 6) (MAYORGA *et al.*, 2010; BEZERRA *et al.*, 2017).

Figura 6 - Eclosão de cistos das artêmias



Fonte: MAYORGA *et al.*, 2010.

Assim, para testes de letalidade, as artêmias são colocadas em uma solução salina simulando o ambiente natural delas, a partir daí, após 24 horas ocorre a eclosão das mesmas, onde a substância a ser testada é colocada em diferentes concentrações, comumente realizado em triplicata, em seguida é feito a contagem das larvas vivas e mortas com o intuito do teste ser realizado em sua totalidade, através de análises estatísticas e comparativas (MOREIRA *et al.*, 2002; MERINO *et al.*, 2015).

4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1 Local de pesquisa

A síntese e purificação do composto foram realizadas no Laboratório de Síntese Orgânica, localizado no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (CES-UFCG). No Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (DQF-UFPE), foi realizada a caracterização. A análise da toxicologia do composto frente à *Artemia salina* Leach foi realizada no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia do CES-UFCG.

4.2 Materias e equipamentos

Foram utilizados béquer, Erlenmeyer, vidro de penicilina, balão de fundo redondo, espátulas, tubo de ensaio, placa para cromatografia em camada delgada (CCD), béquer de 100 mL, pinça, seringa de 1 mL, câmara com lâmpada ultravioleta (UV), forno de micro-ondas doméstico Panasonic, balança analítica, pipeta automática e coluna de vidro. Os reagentes necessários à síntese foram o estearato de etila, carbonato de potássio, benzamidoxima. Os solventes utilizados foram hexano, dimetil (DMF) e acetato de etila. A caracterização do composto foi realizada por espectrometria de infravermelho.

No bioensaio toxicológico frente *Artemia salina* Leach foi utilizada a balança analítica, uma cuba dividida ao meio por uma barreira permeável, além de tubos de ensaio, solução salina, ovos de artêmia e uma lâmpada. Para a avaliação do pH foi utilizado o pHmetro.

4.3 Procedimento para a síntese do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol

Em um vidro de penicilina foi adicionado a benzamidoxima (0,0000259 mols), o éster esteárico (0,000302 mols), o carbonato de potássio (0,005 mols) e Dimetilformamida (6 gotas). Em seguida, o conteúdo foi exposto a irradiação de micro-

ondas por 18 minutos, sendo comprovado o término da reação através da CCD utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F254. A purificação foi realizada através da cromatografia líquida de coluna de vidro em sílica, utilizando como fase estacionária o hexano que foi gradativamente substituído por sistemas hexano: acetato de etila em diferentes proporções como fase móvel. Posteriormente levado ao rotaevaporador a fim de separar o solvente do produto puro.

4.4 Caracterização

O espectro de infravermelho (IV) foi registrado em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier no *Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer* modelo PerkinElmer, sendo a amostra preparada como pastilhas de KBr, com número de *scans* de 16, resolução 4 e número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.5 Procedimento Geral para o bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach

O bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach foi realizado seguindo o protocolo descrito por Meyer *et al.* (1982).

Dessa forma, os cistos de *Artemia salina*, foram encubados em meio salino, por solução artificial preparada a partir de 14 g de sal marinho Ocean Tech Reef Active® (Figura 7), em 500 mL de água destilada em pH entre 8 e 9.

Figura 7 - Sal marinho Ocean Tech Reef Active®



Fonte: De autoria própria, 2021.

Este foi submetido à iluminação artificial por um período de 24 horas, visando a eclosão dos metanúplios (larvas). Este processo aconteceu em uma incubadora, que compreende a um recipiente de vidro retangular com uma divisória contendo furos distribuídos uniformemente, formando dois lados.

Os cistos foram colocados em um dos lados de recipiente, em seguida cobertos, para que os náuplios, após a eclosão dos cistos, fossem atraídos pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória, facilitando sua coleta e transferência para os tubos de ensaio. Logo após, com auxílio de uma pipeta de *Pasteur*, os náuplios foram recolhidos e inseridos em tubos de ensaio, sendo 10 artêmias para cada tubo.

Estas foram submetidas a controles positivo e negativo. Para o controle positivo foi utilizada a benzamidoxima, a fim de matar todas as artêmias, caso alguma sobreviva por exemplo, é considerada como artêmia resistente e estas influenciarão nos resultados. Para o controle negativo foi utilizado o co-solvente dimetilsulfóxido, a fim de saber sua toxicidade frente as artêmias para não acarretar em alterações nos resultados.

Após 24 horas de incubação, os cistos das artêmias eclodiram e as larvas foram separadas e agrupadas no número de 10 em cada tubo, incluindo o controle. Esse número de 10 indivíduos é o ideal devido ao pequeno tamanho desse microcrustáceo, além disso, a adição de mais larvas por tubo dificulta a visualização e contagem.

Em seguida, foi preparada a solução estoque contendo o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol, para isto realizou-se o cálculo a partir da fórmula expressa na figura 8. O valor da concentração estoque foi fixada em 2000 µg/mL, obtida a partir da dissolução de 20 mg do desse composto em aproximadamente 10 mL de solução salina, com adição de 1% do co-solvente dimetilsulfóxido (DMSO).

Figura 8 - Fórmula usada para calcular solução estoque.

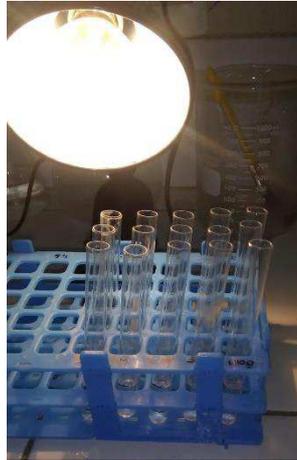
$$X = \frac{m}{V} \times 10^{-6}$$

Fonte: Meyer *et al.*, 1982.

Com as artêmias agrupadas nos tubos de ensaio, foram expostas a cinco concentrações, sendo elas, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL e 50

$\mu\text{g/mL}$, como mostra a figura 9. Adicionalmente, os testes foram realizados em triplicata e depois em quadruplicata .

Figura 9 - Bioensaio realizado em triplicata.



Fonte: De autoria própria, 2021.

Depois de adicionar as referidas concentrações, os tubos foram preenchidos com solução salina até alcançar o volume 2,5 mL. Após 24 horas foi realizada a contagem do número de artêmias vivas e mortas em cada tubo.

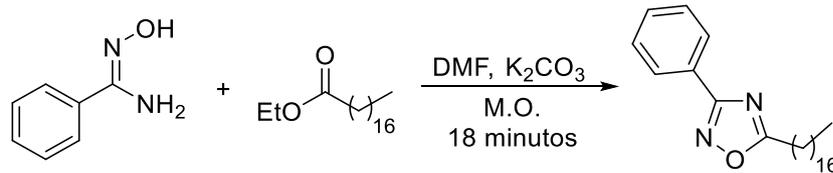
4.6 Análise estatística

Para obtenção dos valores estimados da concentração letal para matar 50% das larvas (CL50), foi utilizada a análise através do software POLO-PC (Copyright LeOra Software 1987).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em parceria com o aluno de graduação em farmácia Antônio Carlos Alexandre da Silva, foi sintetizado o composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol, partindo da reação entre a benzamidoxima e o estearato de etila em meio básico. O esquema dessa reação está esboçado na figura 10.

Figura 10 - Esquema reacional do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol.

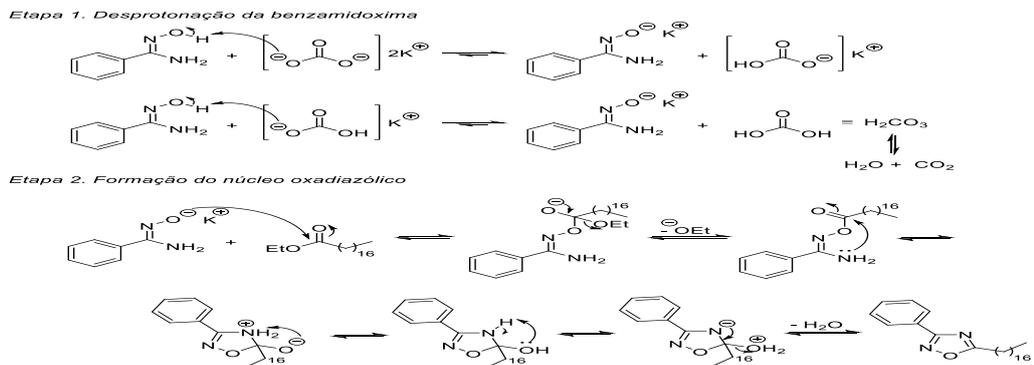


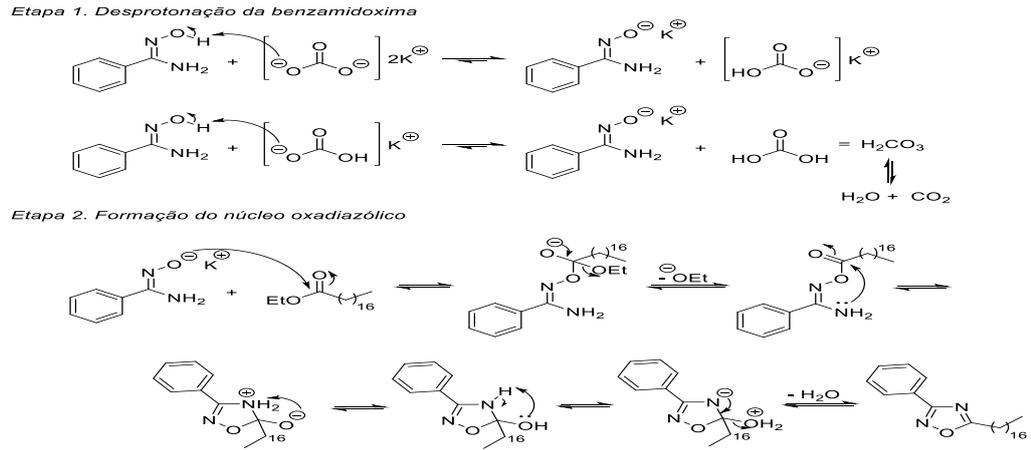
Legenda: M.O. = micro-ondas

Fonte: De autoria própria, 2021.

De acordo com a figura 11 cabe destacar que o carbonato de potássio foi utilizado como sal básico para promover a desprotonação do hidrogênio do grupo isonitroso da amidoxima, após isso a amidoxima irá atuar como nucleófilo atacando o carbono carbonílico do estearato de etila. Este ataque irá levar a formação do intermediário tetraédrico, o qual é instável e sofre eliminação do grupo etóxido (EtO^-), levando a restauração da carbonila. Um vez a carbonila restaurada, irá sofrer o ataque nucleofílico do par de elétrons não ligantes do grupo amina (NH_2), levando a formação de uma estrutura cíclica de cinco membros, esta estrutura cíclica de cinco membros irá sofrer um rearranjo intramolecular seguido da eliminação de uma molécula de água.

Figura 11 - Mecanismo reacional do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol 1,2,4-oxadiazol.





Fonte: De autoria própria, 2021.

Para a reação acontecer foi necessário aquecer os reagentes, assim os mesmos foram expostos à energia de irradiação com micro-ondas, uma vez que este método não afeta a estrutura molecular, nem induz a quebra de ligações químicas, pois a energia fornecida é de aproximadamente 0,037 Kcal/mol, valor inferior ao necessário para esta quebra (DUARTE; SANGI; CORRÊA, 2010).

Foram necessários 18 minutos para que a reação estivesse completa. Cabe ressaltar que o término da reação foi comprovado através da placa de sílica-gel contendo indicador fluorescente F₂₅₄, em sistema eluente acetato de etila: hexano na proporção 6:4, para verificação das informações provenientes da CCD foi utilizada à câmera de ultravioleta. Foi observada a formação do produto, porém com subprodutos, podendo ser compreendido na figura 12.

Figura 12 - CCD da reação.



Legenda: Reação, mistura e referência, respectivamente.

Fonte: De autoria própria, 2021.

Dessa forma, foi essencial aplicar o método de cromatografia de coluna de vidro em sílica, então o composto foi colocado na coluna, a qual o solvente de eluição utilizado como fase estacionária foi o hexano, aos poucos esse solvente foi substituído pelo sistema hexano/acetato de etila nas proporção de 2:48, 4:46, 5:45, como fase móvel. Observou-se que com o aumento da quantidade do acetato de etila, que é um solvente mais polar, o produto começou a sair na proporção 5:45, e depois completamente na mesma proporção.

Assim, com o objetivo de separar o solvente presente na amostra, foi utilizado o rotaevaporador (Figura 13), no qual a amostra foi aquecida, submetida a vácuo e banho maria, evaporando o solvente, deixando apenas o produto puro.

Figura 13 - Rotaevaporador.



Fonte: De autoria própria, 2021.

Através deste método o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol foi obtido na forma de um óleo amarelado, com rendimento reacional igual a 87,84% (Figura 14).

Figura 14 - Produto puro do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol.

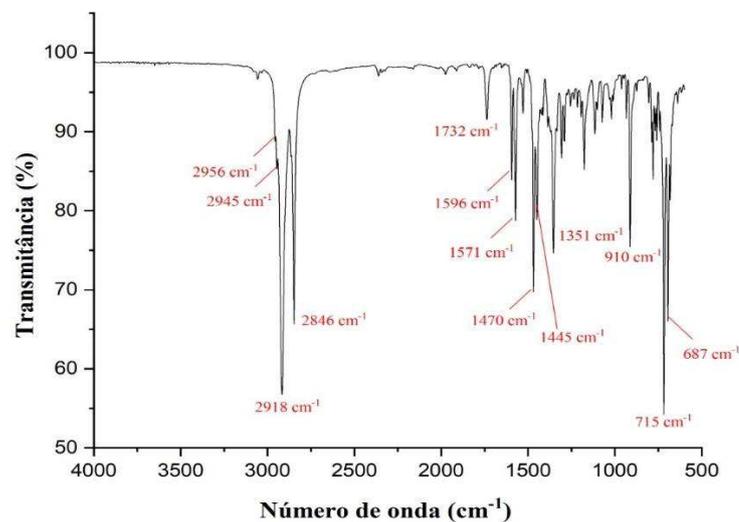


Fonte - De autoria própria, 2021.

Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Bezerra (2017), que sintetizou oxadiazóis derivados do ácido esteárico utilizando o método de irradiação de micro-ondas, que obteve ótimo rendimento dos seus compostos, apresentando de 68 a 78%.

Uma vez sintetizado e purificado o composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol, o mesmo foi submetido a caracterização espectroscópica. A caracterização realizada para confirmar a estrutura desse composto foi a espectroscopia na região do infravermelho médio em número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} , conforme figura 15, onde constatou-se que o produto de interesse foi obtido.

Figura 15 - Espectro de infravermelho para o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol.



Fonte: De autoria própria, 2021.

De acordo com o espectro de infravermelho do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol, constatou-se que o produto de interesse foi obtido, uma vez que o espectro contém as seguintes bandas de absorção, em 3000 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$ do anel aromático, as deformações axiais simétricas e assimétricas (2956, 2945, 2918 e 2846 cm^{-1}) dos grupos CH_2 e CH_3 da unidade alifática, as deformações axiais em 1596 e 1571 cm^{-1} da ligação C=N , e as 715 e 687 cm^{-1} que indicam anel aromático monossustituídos.

Depois de caracterizado, o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol foi submetido ao bioensaio com *Artemia salina* Leach, a fim de avaliar sua toxicidade. Este teste foi

escolhido devido à rapidez, simplicidade e por ser um método confiável (HYACIENTH; ALMEIDA, 2015).

Dessa forma, o primeiro passo foi realizar o teste de solubilidade com uma pequena quantidade do composto, para 0,1mL dos solventes dimetilsulfóxido (DMSO), DMF, etanol e cetona, que foram separadamente adicionados em eppendorfs com 0,1 mL de solução salina, fim de encontrar o melhor solvente para o composto, junto ao teste com as artêmias. Dentre estes, o que se mostrou mais solúvel foi o DMSO. Para eclosão, os cistos da *Artemia salina* foram incubados, usando uma solução salina preparada com 14 gramas de sal marinho em meio litro de água destilada.

A incubadora utilizada neste processo se trata de um recipiente de vidro retangular com uma divisória contendo furos distribuídos uniformemente, formando dois lados distintos (Figura 16), na qual os cistos foram depositados no lado coberto para que após a eclosão, as artêmias passassem para o lado aberto devido ao efeito de fototropismo. O pH da solução foi verificado através de um pHmetro ficando em torno de 8,5.

Figura 16 - Incubação dos cistos de *Artemia salina* Leach.



Fonte: De autoria própria, 2021.

Após 24 horas, as artêmias eclodiram e foram adicionadas cerca de 10 indivíduos em diferentes tubos. A próxima etapa foi preparar a solução estoque, e para isto foi necessário calcular a quantidade de composto que seria utilizada. Isto foi possível a partir da fórmula descrita por Meyer *et al.*, 1982, resultando na aplicação de 20 mg do composto 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol junto ao co-solvente DMSO e aproximadamente 10 mL se solução salina, vale ressaltar que este número é equivalente ao volume do balão usado para preparação da solução estoque.

Após 24 horas, foi realizada a contagem das artêmias vivas e mortas, as quais no quadro 3 pode-se observar os resultados obtidos.

Quadro 3 - Contagem das artêmias

Concentração da substância testada (mg/mL)	Artêmias Vivas			% de artêmias Mortas
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	
1000	0	0	0	100%
500	0	0	0	100%
250	0	0	0	100%
100	2	1	1	80%
50	8	8	1	20%

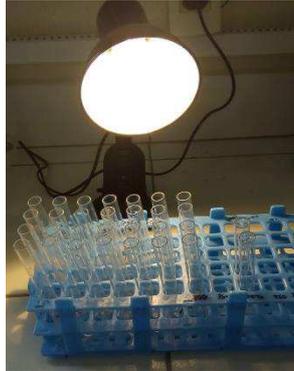
Fonte: De autoria própria, 2021.

De acordo com o quadro 3, a concentração de 1000 µg/mL foi altamente tóxico para *Artemia salina*. Também quando a concentração foi reduzida à metade 500 µg/mL, observou-se que a letalidade ainda estava alta. Diante destes dois resultados, a concentração foi reduzida para 250 µg/mL, ainda assim, a concentração se mostrou letal. Este cenário foi modificado quando a concentração foi reduzida em dez vezes, ou seja, de 1000 µg/mL, para 100 µg/mL, em que observou-se que os três tubos resultaram na sobrevivência de uma a duas *Artemia salina*, apresentando assim uma concentração ainda tóxica, porém com um indicativo possível de ser determinado. Cabe ressaltar que na concentração de 50 µg/mL, sobreviveram cerca de 8 artêmias por tubo.

Uma vez, sabendo o intervalo, a próxima etapa foi estreitar ainda mais, com a finalidade de obter concentrações capazes de matar 5% e 95% dos indivíduos testados.

Desta vez, a solução estoque foi preparada com uma concentração de 1000 µg/mL. Em seguida, as larvas foram expostas a diferentes concentrações com intervalos menores, sendo estes 100 µg/mL, 95 µg/mL, 90 µg/mL, 80 µg/mL, 70 µg/mL, 60 µg/mL e 55 µg/mL, cabe ressaltar que o teste foi realizado em quadruplicata, conforme demonstrado na figura 17.

Figura 17 - Bioensaio realizado em quadruplicata.



Fonte: De autoria própria, 2021.

Conforme descrito no quadro 4, observa-se que em 100 $\mu\text{g/mL}$ a concentração permanece tóxica, em 95 $\mu\text{g/mL}$, nota-se uma diminuição na toxicidade, porém ainda considerado tóxico. Em 90 $\mu\text{g/mL}$, permaneceram vivas apenas 5 indivíduos em cada tubo. Em 80 $\mu\text{g/mL}$ cerca de seis a sete artêmias permaneceram vivas. Ainda, em 70 $\mu\text{g/mL}$ verificou-se a presença de oito artêmias vivas, por fim, em 60 $\mu\text{g/mL}$ e 55 $\mu\text{g/mL}$ de oito e dez artêmias mantiveram-se vivas.

Quadro 4 - Contagem das Artêmias

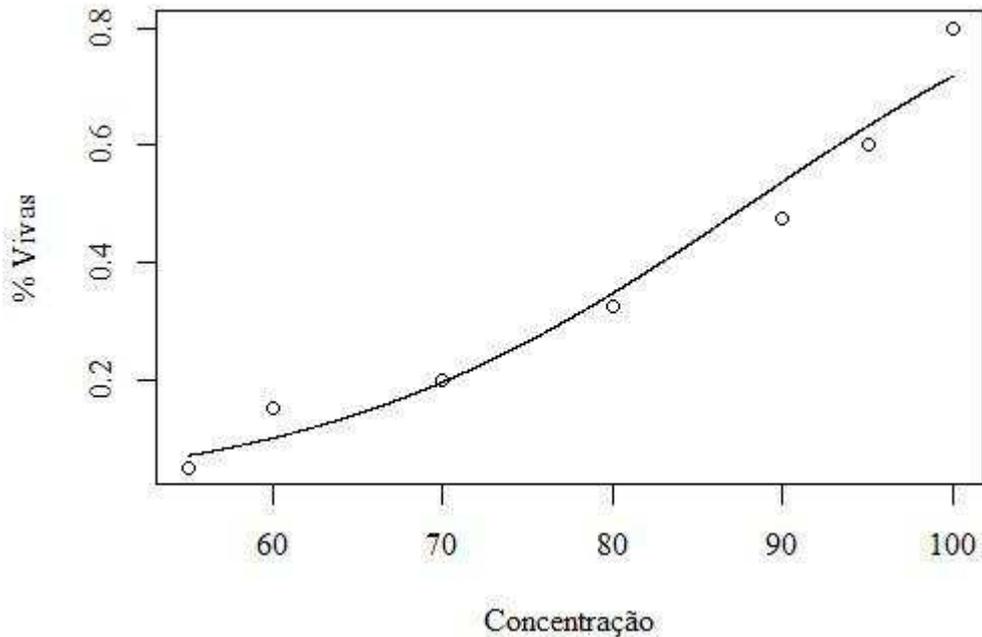
Concentração da substância testada (mg/mL)	Artêmias Vivas				% de artêmias Mortas
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	
100	2	2	2	2	80%
95	4	4	4	4	60%
90	6	5	5	5	50%
80	7	6	7	7	30%
70	8	8	8	8	20%
60	8	9	8	9	10%
55	10	9	10	9	95%

Fonte: De autoria própria, 2021.

De acordo com esta tabela, foi possível montar um gráfico através do programa POLO-PC (Copyright Le Ora Software 1987), a fim de calcular o valor estimado da CL_{50} . Dessa forma, o valor estimado da concentração letal para matar 50% das

artêmias é 87,84 $\mu\text{g/mL}$, com limite inferior de 84,01 $\mu\text{g/mL}$ e superior 91,67 $\mu\text{g/mL}$, tendo base nível de confiabilidade de 95%, como mostrado na figura 18.

Figura 18 - Resultado do bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach.



Fonte - De autoria própria, 2021.

Segundo Merino *et al.*, (2015), as amostras com valores de CL_{50} acima de 1000 mg/mL possuem baixa toxicidade, valores entre 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ são consideradas levemente tóxicas, valores entre 100 e 500 $\mu\text{g/mL}$ são consideradas moderadamente tóxicas, inferiores a 100 $\mu\text{g/mL}$ são considerados altamente tóxicas. Diante disso, o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol possui elevada toxicidade frente ao bioensaio utilizando a *Artemia salina* Leach, uma vez que apresenta CL_{50} abaixo de 100 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, estudos realizados demonstraram que estes compostos que apresentam alta toxicidade podem ser utilizados com diferentes atividades biológicas tais como: antimicrobiana e antitumoral (MOREIRA, 2013).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, foi sintetizado o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol utilizando a irradiação de micro-ondas, o qual foi obtido na forma de um óleo amarelado com um rendimento de 86,48%. A caracterização desse composto foi realizada através da espectroscopia de infravermelho na região entre 4000 a 400 cm^{-1} , indicando que o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol foi obtido.

O ensaio de toxicidade *in vitro* pelo bioensaio com *Artemia salina* Leach apontou que o 3-(aril)-5-(heptadecil)-1,2,4-oxadiazol apresentou uma CL_{50} igual a 87,84mg/mL, que demonstra que este composto possui elevada toxicidade, mas que podem ser utilizados com diferentes atividades biológicas, a citar antimicrobiana e antitumoral.

Dessa forma, a partir dos resultados obtidos, o bioensaio frente a *Artemia salina* Leach se mostrou um método viável, prático e econômico além de ser uma ferramenta preliminar no ensaio de toxicidade.

Sendo assim, torna-se possível a realização de estudos mais aprofundados que tenham como objetivo explorar as atividades que esta molécula e seus derivados possam expressar, buscando identificá-las, entende-las e molda-las, cooperando para o processo de desenvolvimento de novos protótipos, assim como, origem a novas moléculas que possam auxiliar no tratamento das enfermidades e que estas novas moléculas apresentem segurança e eficácia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, C. E. R.; ARAÚJO, T. DE ALENCAR.; SOUSA, P. G. S.; OLIVEIRA, N. F. DE SOUSA.; FREIRE, J. C. R. O estado da arte do 1,2,4-oxadiazol na farmacologia. In: III COMBRACIS, 2018, Campina Grande-PB. **Anais de Evento**. Campina Grande: Realize Editora, p. 1-12, 2018.
- 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.
- ALVES, M. O.; MAGALHÃES, S. C. M.; COELHO, B. A. Contribuições da geografia médica para o estudo do câncer de mama. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 10, n. 19, p. 86 - 96, 2014.
- BARNES, P. J. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD. **Clinical Science**, v. 131, n. 13, p. 1541–1558, 2017.
- 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. 43-50, 2010.
- BEZERRA, J. W. A.; DA COSTA, A. R.; DA SILVA, M. A. P.; ROCHA, M. I.; BOLIGON, A. A.; DA ROCHA, J. B. T.; BARROS, L. M.; 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.
- BIERNACKI, K.; DÁSKO, M.; CIUPAK, O.; KUBINSK, K. RACHON, J.; DEMKOWICZ, S. Novel 1,2,4-Oxadiazole Derivatives in Drug Discovery. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 1-45, 2020.
- BORGES, C. M.; SANTOS, F. DE MIRANDA. M.; TELLESC, R. W.; CORREIA, M. I. T. D.; LANNAE, C. C. D. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos? **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 54 n. 6, p. 459-466, 2014.
- BRAGA, M. R. D. **Efeitos dos ácidos graxos na função de macrófagos de camundongos com diabetes tipo I induzido**. 2017. 119 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fisiologia Humana, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.
- BRASIL. Instituto nacional de câncer. **Abordagens básicas para o controle do câncer**. 6ª edição, p. 13-14, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <

<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-5-edicao.pdf> > Acesso em: 28 jun. 2021.

BRITO, M. A.; CORDEIRO, B. C. Necessidade de novos antibióticos. **Jornal Brasileiro Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 4, p. 247-249, 2012.

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

<http://docente.ifsc.edu.br/michael.nunes/MaterialDidatico/Analises%20Quimicas/TCC%20II/TCC%202015%202/Ariele.pdf>> Acesso em: 24 jun, 2021.

CARBONE, M.; LI, Y.; IRACE, C.; MOLLO, E.; CASTELLUCCIO, F.; DI PASCAL, A.; CIMINO, G. SANTAMARIA, R.; GUO, Y.-W.; GAVAGNIN, M. Structure and cytotoxicity of phidianidines A and B: first finding of 1,2,4-oxadiazole system in a marine natural product. **Organic Letters**, vol. 13, p. 2516-2519, 2011.

COSTA, E. C. S.; DE FREITAS, J. R.; FREITAS, J. C. R. Inovação e propriedade intelectual dos 1,2,4-oxadiazóis: uma prospecção tecnológica fundamentada em base de dados de patentes e periódicos. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 713-718, 2018.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; DOS SANTOS, A. F. Fundamentos químicos da ação dos radicais no organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 1, p. 8-13, jan./abr., 2016.

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

DA COSTA, A. L. P.; SILVA; SOUZA JÚNIOR, A. C. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DESBOIS, A. P., SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 6, n. 85, p. 1629–1642, 2010.

DUARTE, P. D.; SANGI, D. D.; CORRÊA, A. G. Síntese de compostos N-heterociclos empregando micro-ondas. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 3, p. 204-213, 2010.

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

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

FREITAS, J. J. R.; SILVA, E. E.; REGUEIRA, J. L. L. F.; DE ANDRADE, S. A.; CALVALCANTE, P. M. M.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS FILHO, J. R. 1, 2, 4-Oxadiazóis: Síntese e aplicação. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 670-691, 2012.

FÜRMEIER, Sandra; METZGER, Jürgen O.. Synthesis of New Heterocyclic Fatty Compounds. **European Journal Of Organic Chemistry**, p. 885-893, mar. 2003.

Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/227678127_Synthesis_of_New_Heterocyclic_Fatty_Compounds. Acesso em: 24 jun. 2021

HYACIENTH, D. C.; ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* Maas. 36 **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 5, n. 4, p. 4-7, 2015.

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

KRISHNA, C.; BHARGAVI, M. V.; RAO, C. P.; KRUPADANAM, G. L. D. Synthesis and antimicrobial evaluation of new coumarins with 1,2,4-oxadiazole. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 10, p. 3743-3751, 2015.

KUMAR, D.; PATEL, G.; CHAVERS, A. K.; CHANG, K. H.; SHAH, KAVITA. Synthesis of novel 1, 2, 4-oxadiazoles and analogues as potential anticancer agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 7, p. 3085-3092, 2011.

LAMBRECHT, B. N.; HAMMAD, H. The immunology of asthma. **Natural Immunology**. v. 16, p. 45-56, 2015.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6ª Edição, Ed. Artmed, 2014.

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

LOTTI, R. C. B.; BARRA, A. DE ALMEIDA.; DIAS, R. C.; MAKLUF, A. S. D. Impacto do câncer de mama na qualidade de vida. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 57, n. 4, p. 367-371, 2018.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA. V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, N.; DE SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**. v. 19, n. 6, p. 761-770, nov./dez, 2006.

MAYORGA, P.; PÉREZ, K. R; CRUZ, S. M.; CÁCERES, A. Comparison of bioassays using the anostracan crustacean *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 897-903, 2010.

MERINO, F.; OLIVEIRA, V.; PAULA, C.; CANSIAN, F.; SOUZA, A.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.; DUARTE, A.; KULIK, J.; MIGUEL, M.; MIGUEL, O. 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, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MOREIRA, F. P. M.; MADHUSUDAN, A. B. P.; CARO, M. S. B.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Flavonoides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* – bioatividade sobre *Artemia salina*. **Química Nova**. v. 26, n. 3, p. 309-311, 2002.

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, G. DE SOUZA.; DONZEE, J. L. T.; LANNA, S. K. A. DOS SANTOS.; PEDREIRA, M. M.; ALMEIDA, M. DA SILVA.; MARTINS, M. G. Relação ácido araquidônico: ácido docosaenoico na composição corporal de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo a microalga *Schizochytrium sp.* In: III Simpósio Mineiro de Produção de Animal e X semana de Zootecnia, 2018, Diamantina – MG. **Anais de Congresso**. Diamantina: UFVJM, p. 140-142, 2015.

MURZIN, D. Y.; BERNAS, A.; WÄRNA, J.; MYLLYOJA, J.; SALMI, T. Ketonization kinetics of stearic acids. Cinética de reação, mecanismos e catálise. **Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis**, v. 126, p. 601-610, 2019.

NASCIUTTI, P. R.; COSTA, A. P. A.; DOS SANTOS JÚNIOR, M. B.; DE MELO, N. G.; CARVALHO, R. O. A. Ácidos graxos e o sistema cardiovascular. **Enciclopédia biosfera**. V. 11, n. 22, p. 11-29, 2015.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. Atheneu Editora, São Paulo-SP, p. 704, 2014.

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

PALMER, J. T; Rydzewski, M. R; Mendonca, V. R; Sperandio, D; Spencer R. J; Hirschbein L., Bernard; Beltman Lohman, Jeri; Nguyen, Margaret and Liang, Li. Design and synthesis of selective keto-1,2,4-oxadiazole-based tryptase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S.L], vol.16, p. 3434–3439, n.13, 2006.

PATEL, A.; ROVA, U.; CHRISTAKOPOULOS, P.; MATSAKAS, L. Evaluation of the fatty acid profile and production of omega-3 polyunsaturated fatty acids by marine oilseed *Thraustochytrid aurantiochytrium* sp. T66 grown in volatile fatty acids. **Biomoleculare**, v. 10, n. 5, p.694, 2020.

PITASSE- SANTOS, P.; SUETH- SANTIAGO, V.; LIMA, M. E. F. 1,2,4- and 1,3,4-oxadiazoles as scaffolds in the development of antiparasitic agents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 3, p. 435-456, 2018.

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. 20, p. 2-6, 2015.

RAPOSO, H. F. Efeito dos ácidos graxos n-3 e n-6 na expressão de genes do metabolismo de lipídeos e risco de aterosclerose. **Revista de Nutrição**, n. 23, n. 5, p. 871-879, 2010.

REGUEIRA, J. L. L. F.; DE FREITAS, J. J. R.; FREITAS FILHO, J. R. Preparação de 1,2,4-oxadiazol: sequência didática aplicada em disciplina de síntese orgânica na graduação. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 1019-1025, 2016.

RUBIN, A. S.; SANTANA, A. N. DA CRUZ.; COSTA, A. N.; BALDI, B. G.; PEREIRA, C. A. DE CASTRO.; CARVALHO, C. R. R.; ALGRANT, E.; DE CAPITANI, E.; BETHLEM, E. P.; COLETTA, E. N. A. M.; ARAKAKI, J. S. O.; MARTINEZ, J. A. B.; DE CARVALHO, J. F.; STEIDLE, L. J. M.; ROCHA, M. J. J.; LIMA, M. S.; SOARES, M. R.; CARAMORI, M. L.; AIDÉ, M. A.; FERREIRA, R. G.; KAIRALLA, R. A.; DE OLIVEIRA, R. K. F.; JEZLER, S.; RODRIGUES, S. C. S.; PIMENTA, S. P. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes de Doenças Pulmonares Intersticiais da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 38, p. 1-133, 2012.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; MAGNONI, C. D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A. M.; CASELLA FILHO, A.; ARAÚJO, D. B.; CESENA, F. Y.; ALVES, R. J.; FENELON, G.; NISHIOKA, S. A. D.; FALUDI, A. A.; GELONEZE, B.; SCHERR, C.; KOVACS, C.; TOMAZZELA, C.; CARLA, C.; BARRERA, A. D.; CINTRA, D.; QUINTÃO, E.; NAKANDAKARE, E. R.; FONSECA, F. A. H.; PIMENTEL, I.; SANTOS, J. E.; BERTOLAMI, M. C.; ROGERO, M.; IZAR, M. C.; NAKASATO, M.; DAMASCENO, N. R. T.; MARANHÃO, R.; CASSANI, R. S. L.; PERIM, R. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, p. 1-40, 2013.

SILVEIRA, B. M.; NOVACK, K. M.; MARCONDES, H. C.; DOS SANTOS, R. V. M. Preparation, characterization, and biological activity against *Artemia salina* of new copolymer PMMA-g-PEG derivatives incorporated with fluconazole. **Macromolecular Symposia**, v. 378, p. 2-7, 2018.

SILVEIRA, M. L. R.; SANTOS, C. O.; CREMONESE, J. M.; FORTES, J. P.; SAUTTER, C. K.; PENNA, N. G. Estudo comparativo do perfil de ácidos graxos presentes no óleo extraído das sementes de goiaba (*Psidium guajava* L.) In: XX

Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis-SC. **Anais de Congresso**. Florianópolis: COBEQ, v. 1, n. 2, p. 1-8, 2014.

VAIDYA, A. Discovery of novel 1,2,4-oxadiazole derivatives as potent caspase-3 activator for cancer treatment. **Chemistry**, v. 3, p. 373-381, 2021.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste DL₅₀”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 93-98, 2006.

VANNEMAN, M.; DRANOFF, G. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, p. 237-251, 2012. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1038/nrc3237> > Acesso em: 08 set, 2021.

VAZ, D. S. S.; GUERRA, F. M. R. M.; GOMES, C. F.; SIMÃO, A. N. C.; MARTINS JÚNIOR, J. A importância do ômega 3 para a saúde humana: um estudo de revisão. **Revista Unibbbngá Review**, v. 20, n. 2, p. 48-54, 2014.

VAZ, J. DOS SANTOS.; DEBONI, F.; DE AZEVEDO, M. J.; GROSS, J. L.; ZELMANOVITZ, T. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 489-500, jul./ago, 2006.

VELHO, I.; VERBER, J.; LONGHI, R. Efeito do ácido graxo poli-insaturado ômega 3 (Ω-3) em praticantes de atividade física: Uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 11, n. 61, p. 3-9, 2017.

VICTAL, J. C.; VALÉRIO, L. B.; OSHIRO, M. C.; BAPTISTA, S. C.; PINHEIRO, F. Métodos alternativos in vitro e in silico: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal, **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, 2014.

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

YONGGANG, M. A.; LYNDSEY, M. L.; HALADE G. V. DHA derivatives of fish oil as dietary supplements: a nutrition-based drug discovery approach for therapies to prevent metabolic cardiotoxicity. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 7, n. 8, p. 711-721, 2012. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1517/17460441.2012.694862> > Acesso em: 08 set, 2021.

ZHANG, P.; CHEN, J. H.; DONG, X.; TANG, M. T.; GAO, L. Y.; ZHAO, G. S.; YU, L. G.; GUO, X. L. 6r, a novel oxadiazole analogue of ethacrynic acid, exhibits antitumor activity both in vitro and in vivo by induction of cell apoptosis and S-phase arrest. **Biomed and Pharmacother**, v. 67, n. 1, p. 58-65, 2013.

ZHAO, C.; LIU, Z. Q. Diaryl-1,2,4-oxadiazole antioxidants: synthesis and properties of inhibiting the oxidation of DNA and scavenging radicals. **Biochemie**, v. 95, p. 842-849, 2013.