



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

JOSEFA RAYLANE BEZERRA SOUSA

**SÍNTESE E ATIVIDADE TOXICOLÓGICA DE (3-FENIL-1,2,4-
OXADIAZOL-5-IL) METANOL**

CUITÉ - PB

2024

JOSEFA RAYLANE BEZERRA SOUSA

**SÍNTESE E ATIVIDADE TOXICOLÓGICA DE (3-FENIL-1,2,4-
OXADIAZOL-5-IL) METANOL**

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

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de
Freitas

Co-orientadora: Maria Verônica de Sales Barbosa

CUITÉ - PB

2024

S725s Sousa, Josefa Raylane Bezerra.

Síntese e atividade toxicológica de (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol. / Josefa Raylane Bezerra Sousa. - Cuité, 2024.
51 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2024.

"Orientação: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas; Maria Verônica de Sales Barbosa".

Referências.

1. Química orgânica. 2. Heterocíclicos. 3. Reações orgânicas. 4. Bioensaio toxicológico. 5. Agentes patogênicos. 6. Medicamentos – atividade biológica. 7. Benzamidoxima. 8. Benzonitrila. 9. Ácido glicólico. 10. Etanol. 11. *Artemia salina*. 12. Centro de Educação e Saúde. I. Freitas, Juliano Carlo Rufino de. II. Barbosa, Maria Verônica de Sales. III. Título.

CDU 547(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE - CES
Sítio Olho D'água da Bica, - Bairro Zona Rural, Cuité/PB, CEP 58175-000
Telefone: (83) 3372-1900 - Email: uas.ces@setor.ufcg.edu.br

REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

FOLHA DE ASSINATURA PARA TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

JOSEFA RAYLANE BEZERRA SOUSA

"SÍNTESE E ATIVIDADE TOXICOLÓGICA DE (3-FENIL-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL)
METANOL"

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 30/04/2024

BANCA EXAMINADORA

JULIANO CARLO RUFINO DE FREITAS, Dr., UFCG, Orientador

MARIA VERÔNICA DE SALES BARBOSA, Ma., UFRPE, Co-orientadora

MARIA EMÍLIA DA SILVA MENEZES, Dra., UFCG, Avaliadora Interna - Titular

JAQUELINE FERREIRA RAMOS, Ma., UFRPE, Avaliador Externo - Titular



Documento assinado eletronicamente por **MARIA EMILIA DA SILVA MENEZES, PROFESSOR 3 GRAU**, em 06/05/2024, às 10:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Verônica de Sales Barbosa, Usuário Externo**, em 06/05/2024, às 13:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **JULIANO CARLO RUFINO DE FREITAS, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 06/05/2024, às 16:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jaqueline Ferreira Ramos, Usuário Externo**, em 06/05/2024, às 18:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **4405357** e o código CRC **ACBC306D**.

AGRADECIMENTOS

Gratidão Deus, eu consegui. Neste momento passa um filme pela minha cabeça... aquela adolescente de 14 anos que saiu de casa em busca de um ensino melhor para ingressar em uma universidade, conseguiu. Primeiramente, agradeço a Deus pela dádiva da vida e por ter sido e ser minha âncora durante toda minha caminhada, não foi fácil, mas Ele sempre me guiou, iluminou e abençoou. Sempre se mostrou presente em todos os detalhes, todas as pessoas que permitiu entrar na minha vida, toda coragem, perseverança, garra e determinação me concedida, obrigada paizinho. Toda honra e glória a ti, senhor.

Agradeço aos meus pais, Joaquim Rogério Ribeiro de Sousa e Maria Anália Bezerra por nunca medirem esforços para que eu pudesse realizar meus sonhos, por acreditarem e confiarem em mim, por sempre estarem ao meu lado e me apoiarem em todas as fases da minha vida, eu amo muito vocês, obrigada por tudo e tanto. Esse sonho é nosso! Aos meus irmãos Márcio Rangel Bezerra Sousa e Marcos Riquelme Bezerra Sousa, por toda cumplicidade e apoio. A minha amada sobrinha Maria Lívia por todo amor, carinho.

Agradeço tanto a Deus por sempre colocar pessoas incríveis em minha vida, em especial, Alice Alide, Beatriz Libânio, Beatriz Maria, Emanuel Pereira, Gessymara Cainã, Julihermes Macêdo e Lívia Gouveia, meu UDC, vocês são verdadeiros presentes de Deus. Gratidão por todos os momentos compartilhados, todas as risadas, perrengues, noites de estudos, todos os desabafos, desavenças, vivenciamos momentos memoráveis e inesquecíveis, e que jamais serão esquecidos, levo cada um no coração. Vocês foram essenciais nessa caminhada, deixaram tudo mais leve, minha família fora de casa.

Ao meu eterno Ap 03, minha eterna gratidão. Minhas meninas, Alice Alide e Lívia Gouveia como sou grata pela nossa amizade e convivência, como aprendi e evolui com vocês, foram tantas conversas, tantos medos e inseguranças compartilhados, risadas, criações... como a gente sempre fala “ahhh se o Ap 03 falasse, kkkkkkkk”. Muito obrigada por todo cuidado, zelo, amor, vivências e experiências.

Agradeço a todas as pessoas que entraram e permaneceram em minha vida, em especial, Ingrid Andressa, Vitória Maria e Rosa Bruna, Deus me presenteou com elas em 2016, e desde então nunca desgradamos, gratidão por todos os momentos,

conselhos, colo, afago, por torcerem e vibrarem por mim, saibam que tudo é muito recíproco. Aos meus amigos adquiridos ao longo dessa caminhada, José Wylke, Agostinho Moraes, a todos que passaram e contribuíram nesse processo.

Agradeço a minha família por sempre se fazerem presentes em minha vida e torcerem por mim, especialmente, Joana Darck, Cristiane Bezerra, Mara Bezerra, Laiane Bezerra, Rafaela da Silva, Valdinéia da Conceição, por todo companheirismo e diversão nas férias.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LASOQUIM) em especial, a Verônica Sales, Jaqueline Ramos, Rayane Oliveira, Yasmim Alves, Tatiana Almeida, Lívia Gouveia, Vitória Dutra, Vivia Dutra, Arthur Gabriel, Joyce Nicolly, Parízia Raiane, por todo conhecimento compartilhado, descontração, tudo ficou mais leve.

Agradeço ao professor Dr. Juliano Carlo Rufino Freitas com quem tive a honra de trabalhar na sua iniciação científica e ser orientada neste trabalho. Obrigada por todas as orientações, ajuda, palavras, por acreditar em mim, sua paciência, calma, prestatividade são admiráveis. Tenho uma imensa admiração pelo profissional competente que és.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha vida. Todos vocês foram indispensáveis para que essa etapa esteja sendo concluída. Gratidão pelos conhecimentos transmitidos, foram fundamentais. Em especial, a minha banca examinadora, a professora MSc. Jaqueline Ferreira Ramos e a Professora Dr. Maria Emília da Silva Menezes, muita admiração por vocês.

A Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Educação e Saúde (CES), por toda a estrutura disponibilizada.

**“Tudo tem o seu tempo determinado, e há
tempo para todo propósito debaixo do céu”**

(Eclesiastes 3:1)

RESUMO

O (re)surgimento de novos agentes patogênicos, ao longo das décadas, vem impulsionando a Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P,D&I) de fármacos. Dentre as inúmeras classes de moléculas orgânicas, os 1,2,4-oxadiazóis merecem destaque especial, em parte, devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas e sua presença em diversos medicamentos disponíveis no mercado. Adicionalmente, os 1,2,4-oxadiazóis vêm sendo explorados como pesticida, larvicida e materiais tecnológicos (telas de OLED). Diante disso, o objetivo do trabalho foi sintetizar a benzamidoxima, o glicolato de etila e o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, bem como avaliar a toxicidade do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol. A benzamidoxima foi preparada a partir da reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico em meio básico, enquanto que o glicolato de etila através da reação de esterificação em meio ácido do ácido glicólico e etanol. O (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi sintetizado a partir da reação entre a benzamidoxima e o glicolato de etila utilizando um meio super básico (DMSO+NaOH). A caracterização da benzamidoxima, do glicolato de etila e do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi realizada através de técnicas espectroscópicas. O biensaio toxicológico do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi realizado utilizando as larvas de *Artemia salina*. Como resultados a benzamidoxima e o glicolato de etila foram obtidos com rendimentos de 72% e 74%, respectivamente, enquanto que o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi obtido com rendimento de 56%. A benzamidoxima, o glicolato de etila e o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foram caracterizados por IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , em que os números de ondas e os deslocamentos químicos obtidos comprovam a obtenção dos mesmos. Por fim, os bioensaios toxicológicos em *Artemia salina* resultou em um CL_{50} de 172,23 $\mu\text{g/mL}$ para o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, indicando que esse composto apresenta uma moderada toxicidade. Em suma, esses resultados estimulam futuras pesquisas envolvendo o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, especialmente no tocante a seu mecanismo de ação.

Palavras-chave: Heterocíclicos, Reações Orgânicas, Bioensaio toxicológico.

ABSTRACT

The (re)emergence of new pathogenic agents, over the decades, has been boosting the Research, Development and Innovation (R,D&I) of pharmaceuticals. Among the numerous classes of organic molecules, 1,2,4-oxadiazoles deserve special attention, in part, due to their broad spectrum of biological activities and their presence in several medications available on the market. Additionally, 1,2,4-oxadiazoles have been explored as pesticides, larvicides and technological materials (OLED screens). Therefore, the objective of the work was to synthesize benzamidoxime, ethyl glycolate and (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol, as well as evaluate the toxicity of (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol. Benzamidoxime was prepared from the reaction between benzonitrile and hydroxylamine hydrochloride in a hydroethanolic medium in a basic medium, while ethyl glycolate through the esterification reaction in an acidic medium of glycolic acid and ethanol. (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol was synthesized from the reaction between benzamidoxime and ethyl glycolate using a super basic medium (DMSO+NaOH). The characterization of benzamidoxime, ethyl glycolate and (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol was carried out using spectroscopic techniques. The toxicological biassay of (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol was carried out using *Artemia salina* larvae. As results, benzamidoxime and ethyl glycolate were obtained in yields of 72% and 74%, respectively, while (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol was obtained in 56% yield. Benzamidoxime, ethyl glycolate and (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol were characterized by IR, ^1H NMR and ^{13}C NMR, in which the wave numbers and chemical shifts obtained prove that they have been obtained. Finally, toxicological bioassays on *Artemia salina* resulted in an LC_{50} of 172.23 $\mu\text{g/mL}$ for (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol, indicating that this compound has moderate toxicity. In short, these results encourage future research involving (3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-yl) methanol, especially regarding its mechanism of action.

Keywords: Heterocyclics, Organic Reactions, Toxicological bioassay.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura da (+) - tubocurarina.....	19
Figura 2 - Estruturas das moléculas de vimblastina e vincristina	19
Figura 3 - Estruturas das moléculas salicilina e saligelina.	20
Figura 4 - Estrutura do ácido glicólico.....	21
Figura 5 - Estrutura dos isômeros dos oxadiazóis.	22
Figura 6 - Estrutura dos fármacos 1,2,4-oxadiazólicos comercializados.....	23
Figura 7 - Composto oxadiazólico isolado do molusco <i>Phidiana militaris</i>	23
Figura 8 - Larva náuplio livre de artêmia.....	25
Figura 9 - Espectro de infravermelho (IV) (Pastilha KBr) da benzamidoxima... 32	
Figura 10 - Espectro de RMN 1H (CDCl ₃ , 400 MHz) da benzamidoxima.....	33
Figura 11 - Espectro RMN 13C (100 MHz, CDCl ₃) da benzamidoxima.....	34
Figura 12 - Espectro de IV do glicolato de etila.....	35
Figura 13 - Espectro de RMN 1H (CDCl ₃ , 400 MHz) do glicolato de etila.	36
Figura 14 - Espectro de RMN 13C (CDCl ₃ , 400 MHz) do glicolato de etila.	37
Figura 15 - Espectro de IV do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.	39
Figura 16 - Espectro de RMN de 1H do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol... 40	
Figura 17 - Espectro de RMN de 13C do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol. 41	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Influência de parâmetros na síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.	38
Tabela 2 - Contagem das artêmias	42

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Reação de síntese da benzamidoxima.....	31
Esquema 2 - Reação de síntese do glicolato de etila.....	34
Esquema 3 - Reação de síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol com diferentes condições reacionais.....	37

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Resultado do bioensaio toxicológico com *Artemia salina*. 43

LISTA DE SIGLAS

AHA	Alfa-hidroxiácido
C	Carbono
C₂H₄O₃	Ácido Glicólico
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCL₃	Clorofórmio Deuterado
CES	Centro de Educação e Saúde
CL₅₀	Concentração Letal para matar 50% dos indivíduos
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DQF	Departamento de Química Fundamental
EtOH	Etanol
<i>F. goudotiana</i>	<i>Ferdinandusa goudotiana</i>
<i>F. hirsuta</i>	<i>Ferdinandusa hirsuta</i>
<i>F. paraensis</i>	<i>Ferdinandusa paraensis</i>
H	Hidrogênio
H₂O	Água
II	Pi
IV	Infravermelho
K₂CO₃	Carbonato de Potássio
KBr	Brometo de Potássio
LAPEQ	Laboratório de Pesquisa em Ensino em Química
LASOQUIM	Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal
Na₂SO₄	Sulfato de Sódio Anidro
NaOH	Hidróxido de Sódio
NH₂	Amino
NH₂OH . HCL	Cloridrato de Hidroxilamina

NOH	Isonitroso
P, D & I	Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de fármacos
pH	Potencial hidrogênico
Ppm	Partes por milhão
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPE	Universidade Federal do Pernambuco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Produtos Naturais	18
3.2 Plantas Medicinais	18
3.3 Ácido Glicólico	21
3.5 Isômero 1,2,4-oxadiazol.....	23
3.5 <i>Artemia salina</i>	24
4. METODOLOGIA	27
4.1 Local de pesquisa	27
4.2 Materiais utilizados e Equipamentos	27
4.3 Procedimento de síntese da benzamidoxima.....	27
4.4 Procedimento de síntese do glicolato de etila	28
4.5 Procedimento de síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.....	29
4.6 Bioensaio toxicológico frente às larvas de <i>Artemia salina</i> Leach.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

A Química Medicinal possui grande relevância na Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de fármacos (P, D&I), devido ao seu caráter multidisciplinar, envolvendo diversas especialidades, como a farmacologia, química e biologia (Mikovski *et al.*, 2018). Esta área possui como objetivo a invenção, a descoberta, o planejamento, a identificação, a preparação e a interpretação de moléculas biologicamente ativas, como também as relações entre a estrutura química do candidato e sua atividade (Souza, 2016).

Sabendo disso, o surgimento de patologias emergentes e negligenciadas, como a dengue, malária, zika, chikungunya e a crescente resistência bacteriana aos antibióticos, intensificam e estimulam a P, D&I (Homma; Freire; Possas, 2020). Diante disso, os compostos heterocíclicos são uma classe de grande importância, tendo em vista que cerca de 75% dos medicamentos produzidos apresentam anéis heterocíclicos em sua estrutura, a citar, a indometacina, dipirona, clonazepam (Shchekotikhin, 2020), além da sua grande aplicabilidade na indústria farmacêutica, devido ao seu amplo espectro de atividades farmacológicas e, por esse motivo, continuam gerando novos agentes terapêuticos. Os heterocíclicos são compostos os quais apresentam em sua composição pelo menos um heteroátomo em sua estrutura, sendo eles os átomos de nitrogênio, oxigênio e enxofre (Dauek, 2015).

Logo, a necessidade de desenvolvimento de fármacos para tratamento de doenças, a descoberta de moléculas com propriedades antibacterianas mais eficientes, entre outros fatores, tem alavancado as pesquisas envolvendo a síntese e avaliação de derivados heterocíclicos, como os oxadiazóis (Cunha; Nogueira; Aguiar, 2018). Os oxadiazóis possuem cinco membros, sendo um átomo de oxigênio, dois de nitrogênio e dois carbonos. Ademais, possui quatro isômeros diferentes: 1,2,3-oxadiazol, 1,2,4-oxadiazol, 1,2,5-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazol, a depender da posição dos átomos de nitrogênio. Desses isômeros, os mais estudados e os que apresentaram maior atividade biológica foram o 1,2,4-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazóis destacam-se devido suas estabilidades e amplas atividades biológicas (Biernacki *et al.*, 2020).

Durante muito tempo, os anéis oxadiazólicos só eram obtidos por meio de rotas sintéticas. A cicloadição 1,3-dipolar de óxidos nitrílicos ao grupo funcional nitrílico e a ciclização de derivados de amidoxima são os métodos clássicos de síntese mais

utilizados, sendo a ciclização de derivados de amidoxima o mais comum (Cunha; Nogueira; Aguiar, 2018). Porém, os oxadiazóis não são obtidos somente de forma sintética, em 2011, encontrou-se dois 1,2,4-oxadiazóis de origem natural, as fidianidinas A e B, as quais foram extraídas das *Phidiana militaris*. Essas moléculas de origem natural, demonstraram citotoxicidade potente e seletiva frente linhagens celulares tumorais e não tumorais, propriedades de ligação seletiva a sítios do sistema nervoso central, como o receptor μ -opióide e o transportador de dopamina (Silva, 2020). Outrossim, já é relatada atividades antimicrobiana (Zhu *et al.*, 2020), antitumoral (Oliveira *et al.*, 2018), antioxidante, anti-inflamatória (Gobec *et al.*, 2015), antiviral (Egorova *et al.*, 2020), em moléculas que apresentem o anel oxadiazol.

Diante das propriedades biológicas mencionadas, é indispensável a realização de testes de toxicidade, uma vez que permite avaliar ou prever efeitos tóxicos nos sistemas biológicos. Os testes *in vitro* com o microcrustáceo de água salgada *Artemia salina* vem ganhando notoriedade, devido a simplicidade de manuseio, baixo custo. Além disso, esses microcrustáceos são bem sensíveis a alterações externas, possibilitando resultados confiáveis a variações do ambiente (Lima *et al.*, 2019). Esse bioensaio é uma das técnicas mais utilizadas na determinação de toxicidade, pois faz uso apenas de um parâmetro, morte ou sobrevivência do microcrustáceo, possibilitando um estudo prévio de substâncias com atividades promissoras (Merino *et al.*, 2015).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como finalidade a realização de um estudo das melhores condições reacionais para obtenção do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, caracterizá-lo por meio de técnicas espectrométricas e avaliar sua toxicidade frente a *Artemia salina*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos geral

Realizar um estudo das condições reacionais para obtenção do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol e avaliar sua toxicidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a síntese da benzamidoxima a partir da benzonitrila;
- realizar a síntese do éster glicolato de etila;
- caracterizar o glicolato de etila a partir das técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C ;
- caracterizar a benzamidoxima a partir de técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C ;
- estudar a influência de diferentes parâmetros (quantidade e tipo de solvente utilizado, espécie básica e a quantidade de reagentes) na obtenção do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol;
- caracterizar o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol a partir de técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C ; e
- avaliar a toxicidade do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol frente a *Artemia salina*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Produtos Naturais

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais, esses podem ser de origem mineral, vegetal e animal. De modo geral, a produção de substâncias orgânicas conhecidas é feita pela natureza, todavia, é o reino vegetal responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura (Júnior; Bolzani; Barreiro, 2006).

A utilização de produtos naturais é verificada em todas as civilizações e foram as primeiras manifestações terapêuticas usadas pelo homem, a história é marcada por diversos relatos históricos sobre plantas medicinais. O “Pai da Medicina”, Hipócrates (460-377 a.C.), na Grécia antiga, relatou o uso de vegetais, vinhos e bolores para tratamento e cura de doenças genitais. Galeno (129-199 a.C.), considerado o fundador da farmácia, prescrevia produtos de origem natural para dores de cabeça, epilepsia, asma, cólicas, febre e até mesmo para estados melancólicos (Moreira, 2013).

O homem primitivo por meio de observações, tentativas e casualidades utilizavam fundamentalmente da natureza para se manterem e sobreviverem. Faziam uso de plantas medicinais para o alívio de dores, tratar e curar doenças, mas também observaram que diferentes vegetais apresentavam diferentes efeitos, muitas vezes curavam, matavam ou produziam efeitos colaterais severos (Almeida, 2011).

Através das observações dos povos primitivos e a convivência, interação com os diferentes grupos étnicos, pode-se adquirir um grande conhecimento do arsenal químico da natureza, que foi de grande valia para o desenvolvimento de pesquisas em produtos naturais, o descobrimento de substâncias com atividade biológica, tóxica, bem como a relação entre estrutura química de uma substância e suas propriedades biológicas (Júnior; Bolzani; Barreiro, 2006).

Sendo assim, a natureza foi fonte de muitos modelos moleculares que fundamentam estudos de relação estrutura-atividade (SAR) e inspiraram o desenvolvimento da síntese orgânica (Oliveira, 2020).

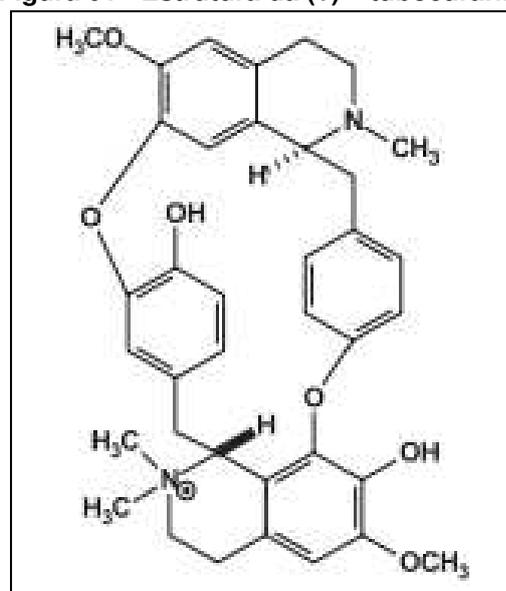
3.2 Plantas Medicinais

As plantas, diferente dos animais, não possuem mobilidade para se defenderem de insetos e nem sistema imunológico para se protegerem quando acometidas por fungos e bactérias. Porém, a evolução dessas permitiu o desenvolvimento de estratégias para sua sobrevivência, incluindo a produção de substâncias químicas, os metabólitos (Borges; Amorim, 2020).

Os metabólitos são divididos em primário e secundário. Os metabólitos primários são compostos que estão presentes em todas as plantas e desempenham função essencial para manutenção e sobrevivência dos vegetais, tais como fotossíntese, a respiração e transporte de solutos, já os metabólitos secundários são bastante específicos e atuam na interação das plantas com o meio ambiente. Além disso, são usados como fontes terapêuticas no tratamento de diversas doenças (Meyer *et al.*, 2013).

Há inúmeros relatos que ilustram e caracterizam a descoberta e uso das plantas medicinais como exemplo, os curares que eram drogas obtidas de diversas espécies de *Strychnos* e *Chondrodendron* americanas e africanas, bastante usadas pelos índios para confeccionar flechas envenenadas utilizadas na caça e pesca. A partir dessa droga, Boehm no século XIX isolou o principal componente ativo do curare americano (*Chondrodendron tomentosum*), o metabólito secundário, (+) - tubocurarina, figura 01 (Júnior; Bolzani; Barreiro, 2006).

Figura 01 - Estrutura da (+) - tubocurarina.

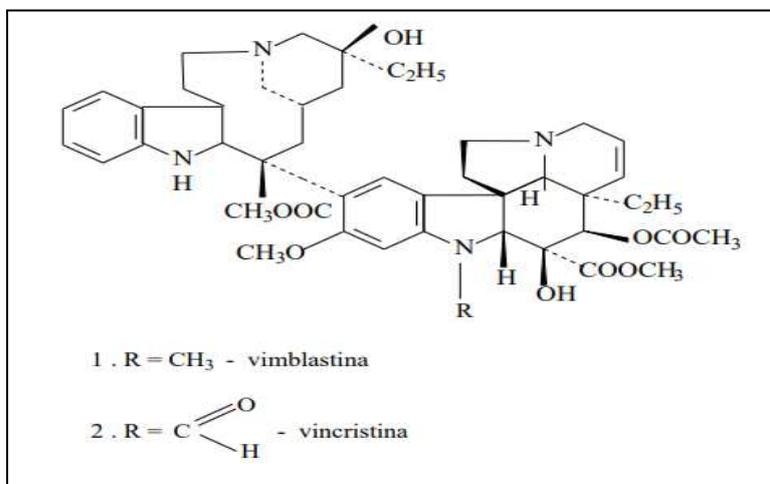


Fonte: Júnior; Bolzani; Barreiro, 2006.

Diversos metabólitos secundários são utilizados na terapêutica, como a vimblastina e a vincristina (figura 02) extraídos da *Catharanthus roseus* usados no

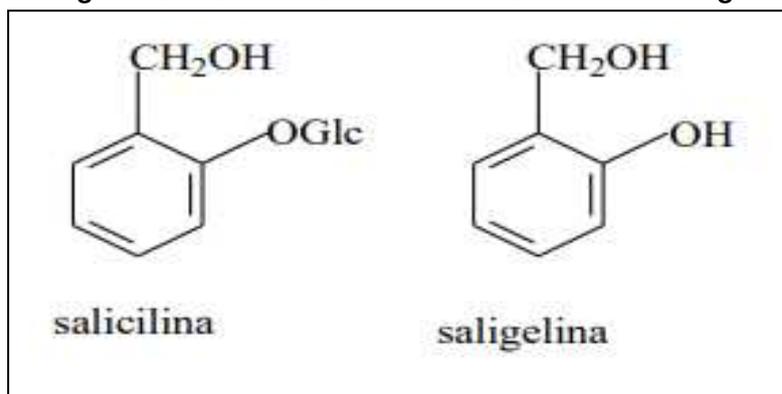
tratamento de leucemia, a saligenina e a salicilina (figura 03) isoladas da *Filipendula ulmaria* e *Salix alba*, respectivamente. Estas substâncias apresentam propriedades anti-inflamatórias e analgésicas reconhecidas, o que levou à descoberta da aspirina (Moreira, 2013).

Figura 02 - Estruturas das moléculas de vimblastina e vincristina.



Fonte: Moreira, 2013.

Figura 03 - Estruturas das moléculas salicilina e saligelina.



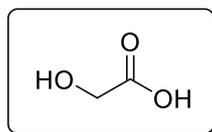
Fonte: Moreira, 2013.

Logo, a natureza por meio das plantas representa um verdadeiro arsenal de substâncias que contribuíram e contribuem constantemente na descoberta de novas drogas capazes de tratar e curar doenças. A crise econômica, a falta de acesso adequado à assistência médica e farmacêutica, o alto custo dos medicamentos industrializados, impulsiona os indivíduos a buscarem alternativas naturais. A área cosmética segue esse mesmo princípio, a busca por ativos naturais e que apresentem eficácia, segurança e baixa toxicidade, a exemplo, temos o ácido glicólico (Machado; Moreno, 2020).

3.3 Ácido Glicólico

O ácido glicólico é um alfa-hidroxiácido (AHA) encontrado em produtos naturais, como a cana-de-açúcar, beterraba, uva e abacaxi (Chávez; Dorea; Pinheiro, 2019). É a substância de menor peso molecular (76,05 g/mol) entre os representantes dessa categoria, possui fórmula química $C_2H_4O_3$. O ácido glicólico (figura 04) apresenta uma estrutura química denominada Ácido 2-hidroxiacético (Cunha, 2016).

Figura 04 - Estrutura do ácido glicólico.



Fonte: autoria própria, 2024.

O AHA é utilizado em diversos setores da tecnologia, a exemplo, na limpeza de metais, produção de adesivos, em polímeros biodegradáveis e na área cosmetológica. Ademais, é presente também em fluídos biológicos sendo utilizado como diagnóstico diferencial para síndrome de hiperoxalúria - predispõe a formação de cálculo renal -. Essa síndrome apresenta dois tipos, I e II. No tipo I, há um aumento de excreção urinária com concentrações maiores de ácido oxálico e glicólico (Gigante; Pezza; Pezza, 2002).

Devido ao seu baixo peso molecular, o ácido glicólico apresenta grandes chances de penetração na pele, possui alta solubilidade em água e etanol, é o AHA mais usado nas formulações dermocosméticas tendo em vista que suas propriedades nas práticas dermatológicas já são bem estabelecidas (Centurião *et al.*, 2021).

O ácido glicólico é bastante usado na área cosmética devido suas propriedades de penetração, ele apresenta boa absorção nas diferentes camadas da pele. É uma substância usada em *peeling* químico que tem como objetivo a redução do estrato córneo, camada onde ficam alojadas as células mortas, e é responsável pela renovação da epiderme e atua diminuindo as linhas de expressão (Cunha, 2016).

Quanto às aplicações clínicas do *peeling* químico, vale destacar a renovação da pele, o tratamento de melasma, acne e verrugas. É utilizado também como um agente clareador hidrofílico, aumentando a hidratação, elasticidade, estimulando a produção de colágeno, elastina e mucopolissacarídeos, atua diminuindo o aspecto de manchas hiperocrômicas, no geral, melhora a textura da pele (Henriques *et al.*, 2007).

Frente a todos os benefícios desse composto, é necessário ter cuidados com cosméticos que possuem essa substância em sua formulação, em especial indivíduos com pele sensível. O ácido pode causar inchaço, eritema, coceira, queimação, descoloração da pele (Centurião *et al.*, 2021).

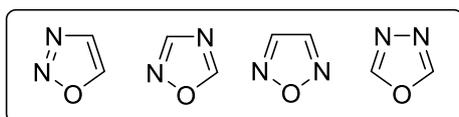
3.4 Aspectos Gerais dos Oxadiazóis

Os compostos heterocíclicos são substâncias orgânicas cíclicas que apresentam em sua estrutura pelo menos um heteroátomo, e é um dos ramos mais estudados da química medicinal. Em geral, os heteroátomos mais comuns são nitrogênio, oxigênio e enxofre (Barbosa; Aguiar, 2020). Os heteroátomos influenciam diretamente na reatividade, interações entre os medicamentos e seu alvo, perfil toxicológico, influência no metabolismo e farmacocinética (Bozorov; Zhao; Aisa, 2019).

Dentre as diversas estruturas que contém anéis heterocíclicos, a classe dos azóis se destacam, são heterociclos que contém dois heteroátomos de nitrogênio no anel, fornecendo importante efeito nas modificações estruturais e nas interações biológicas (Bozorov; Zhao; Aisa, 2019). Dentro dessa classe, destacam-se os oxadiazóis. Os oxadiazóis são heterociclos de cinco membros, sendo eles dois átomos de nitrogênio, dois átomos de carbono e um de oxigênio. Apesar de apresentarem duplas ligações, estes compostos possuem baixo grau de aromaticidade, sendo classificados como sistemas conjugados (Freitas *et al.*, 2012).

Os oxadiazóis são organizados na forma de isômeros constitucionais de acordo com a posição dos átomos de nitrogênio que são eles 1,2,3-oxadiazol, 1,2,4-oxadiazol, 1,2,5-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazol, conforme esboçado na figura 05 (Costa; Freitas; Freitas, 2018).

Figura 05 - Estrutura dos isômeros dos oxadiazóis.



Fonte: autoria própria, 2024.

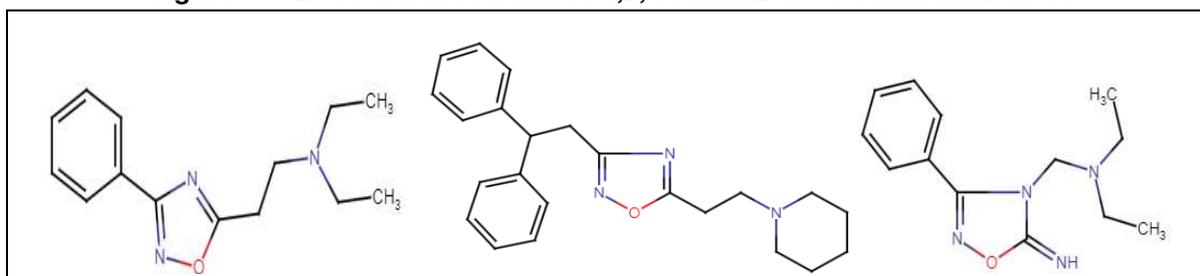
Os 1,3,4-oxadiazóis apresentam uma grande aplicação em inúmeras áreas, como por exemplo, na descoberta de medicamentos, indústria farmacêutica, materiais

cintilantes, somando a isso, apresentam também atividade biológica, como antifúngica, antibacteriana, antiinflamatória, antiparasitária. Quanto aos derivados de 1,2,5-oxadiazol, eles possuem propriedades citotóxicas e são utilizados em materiais de alta densidade de energia. Devido a instabilidade do 1,2,3-oxadiazol, este é o isômero menos estudado (Biernacki *et al.*, 2020).

3.5 Isômero 1,2,4-oxadiazol

O isômero 1,2,4-oxadiazol foi sintetizado pela primeira vez por Tiemann e Krüger (1884), e devido a sua semelhança com o anel furânico foi nomeado como furodiazol. No entanto, o interesse por esse composto surgiu somente na década de 60, devido a sua capacidade de sofrer rearranjos moleculares e da descoberta e comercialização de fármacos que possuem esse isômero em sua estrutura, a citar, oxolamina, libexina e irrigor, figura 06. A libexina e a oxolamina atuam como antitussígeno e o irrigor como anestésico local e vasodilatador (Costa; Freitas; Freitas, 2018).

Figura 06 - Estrutura dos fármacos 1,2,4-oxadiazólicos comercializados.



Fonte: autoria própria, 2024.

Quanto à obtenção do 1,2,4-oxadiazol, acreditava-se que somente por rotas sintéticas era possível obter esse isômero, porém, Carbone e colaboradores (2011) isolaram do molusco *Phidiana militaris* as fidianidinas A e B, substância com o núcleo 1,2,4-oxadiazol, figura 07, no qual apresentou elevada citotoxicidade *in vitro* contra linhagens de células tumorais e não tumorais em mamíferos, desmistificando a ideia de que sua obtenção era apenas por meio de síntese.

Figura 07 - Composto oxadiazólico isolado do molusco *Phidiana militaris*.



Fonte: Costa; Freitas; Freitas, 2018.

Com a descoberta que o 1,2,4-oxadiazol é obtido também de origem natural, houve a necessidade de desenvolvimento de novas rotas sintéticas com a finalidade de obter esse composto em altos rendimentos e em menor tempo reacional, estimulando também pesquisas sobre suas aplicações (Freitas *et al.*, 2012). Os 1,2,4-oxadiazóis podem ser preparados por diferentes métodos, dentre eles o aquecimento convencional, a irradiação de micro-ondas e ultrassom (Regueira; Freitas; Filho, 2016).

Quanto às rotas de sínteses, as mais comuns para obter núcleos de 1,2,4-oxadiazóis são a cicloadição 1,3-dipolar de nitrilas a óxidos de nitrila e reações de amidoximas com compostos carbonílicos como ácidos carboxílico, cloretos ácidos, aldeídos, 2-cloro-2-oxoacetato ou ésteres (Galave *et al.*, 2023).

A síntese de 1,2,4-oxadiazóis atraiu a atenção de cientistas devido às suas propriedades, atividades e características. Eles apresentam uma ampla diversidade de bioatividades, a citar antimicrobiana, antifúngica, antimalárica, anticâncer, antiviral e antiparasitário (Galave *et al.*, 2023). Somando a isso, possuem atividade na química de materiais, apresentando propriedades fotoluminescentes (Regueira; Freitas; Filho, 2016).

3.5 Artemia salina

Os estudos toxicológicos avaliam o efeito de substâncias em organismos vivos, logo, os testes de toxicidade possuem como objetivo analisar e determinar a potência de novos produtos e substâncias tóxicas nos sistemas biológicos e averiguar a sua toxicidade. Esses testes são realizados para mensurar a toxicidade e categorizar as substâncias de acordo com seu potencial de toxicidade e letalidade, porém, para determinar isso é bastante relativo, tendo em vista que depende de fatores como dosagem e individualidades de cada indivíduo (Bueno; Piovezan, 2015).

No desenvolvimento de fármacos é indispensável a realização de estudos toxicológicos não-clínicos, visto que antecipam riscos, reduzindo efeitos adversos e severos ao ser humano. Esses estudos podem ser realizados através de testes *in vitro* e *in vivo*. Com o emprego de novas tecnologias no campo científico, os testes *in vitro* têm ganhado bastante atenção em decorrência da redução do número de animais utilizados na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos (Silva *et al.*,

2021). Apesar disso, são os testes *in vivo* que fornecem informações mais precisas sobre a segurança e eficácia dos novos fármacos (Bednarczuk *et al.*, 2010).

Sabendo disso, um dos métodos alternativos *in vitro* usado para realizar a triagem toxicológica de substâncias é o método que utiliza o microcrustáceo *Artemia salina*. A *Artemia salina* é um microcrustáceo da ordem Anostraca, vive em águas salgadas e é utilizado na alimentação de peixes e camarões devido ao seu valor nutritivo (Bednarczuk *et al.*, 2010).

O início do ciclo da *Artemia salina* é marcado pela eclosão de cistos dormentes, que são embriões encapsulados inativos, esses cistos podem ficar por muito tempo em local seco. A eclosão dos cistos das artêmias acontecem em um ambiente de água salina, após a hidratação e com algumas horas, o embrião presente no interior do cisto rompe a membrana e nasce uma larva náuplio livre nadante, figura 08, utilizada nos ensaios de toxicidade de muitos compostos bioativos (Mayorga *et al.*, 2010).

Figura 08 - Larva náuplio livre de artêmia.



Fonte: autoria própria, 2024.

Sendo assim, os náuplios de artêmia são bastante utilizados nos testes de toxicidade aguda, devido sua sensibilidade quando comparado com artêmias adultas (Trompeta *et al.*, 2019). Além disso, esse microcrustáceo é utilizado em estudos toxicológicos preliminares devido ao seu baixo custo, simplicidade de manuseio e sensibilidade (Monteiro, 2021). É utilizado nos ensaios de letalidade com a finalidade de estimar a concentração média letal (CL₅₀) (Okumu *et al.*, 2021). A letalidade deste microcrustáceo tem sido utilizada para identificação de resposta biológica, tendo em vista que faz uso apenas do parâmetro morte ou vida (Meyer *et al.*, 1982).

Logo, a *Artemia salina* tem sido utilizada em diferentes bioensaios de toxicidade aguda, a exemplo, fármacos sintéticos (Saetama *et al.*, 2018); compostos heterocíclicos (Ahmed *et al.*, 2016), nanopartículas (Zhu *et al.*, 2018); extratos naturais e complexos metálicos (Carvalho *et al.*, 2017).

O curto ciclo de vida, a facilidade de cultivo, a disponibilidade comercial dos cistos, baixo custo, segurança, não há necessidade de alimentação durante o ensaio, o emprego de uma pequena quantidade do agente testado, todos esses benefícios fazem da *Artemia salina* um organismo modelo popular nos testes toxicológicos preliminares (Banti; Hadjikakou, 2021).

4 METODOLOGIA

4.1 Local de pesquisa

A síntese e purificação do composto foram realizadas no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LASOQUIM), e os bioensaios toxicológicos frente às larvas de artêmias foram realizadas no Laboratório de Pesquisas em Educação Química (LAPEQ), ambos localizados no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (CES-UFCG), campus Cuité-PB. No Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (DQF-UFPE), foram realizadas as análises espectroscópicas, caracterização do composto.

4.2 Materiais utilizados e Equipamentos

No desenvolvimento da pesquisa foram utilizados reagentes e solventes adquiridos dos fornecedores, Aldrich, Neon, Dinâmica, Cinética e Vetec. Os solventes hexano e acetato de etila passaram por uma destilação adicional, para garantir a retirada de qualquer impureza.

O processo de purificação do composto foi realizado em uma coluna da marca Vigreux. As reações foram acompanhadas por meio da cromatografia em camada delgada (CCD), empregando placas de sílica-gel que apresentam indicador fluorescente F254 e sucessivamente revelados sob a luz ultravioleta.

Ademais, foi utilizado uma balança analítica Fineo, o banho ultrassônico da marca SotidSteel, o banho ultratermostático da Solab modelo SL 152 e a chapa de agitação Fisatom modelo 754A. Após o término das reações, os solventes serão removidos através de um rotaevaporador da Büchi Rotavapor modelo R-114 conectado a uma bomba de vácuo modelo KNF Neuberger, e o solvente residual removido por meio de uma bomba de alto vácuo da Edwards modelo RV3. Quanto aos materiais, foram usados béquer, espátulas, erlenmeyer, agitador magnético, balão de fundo redondo, vidro de penicilina, pinça, seringa, sistema revelador.

4.3 Procedimento de síntese da benzamidoxima

A síntese das benzamidoxima foi baseada na metodologia desenvolvida por Barros e colaboradores (2011), com algumas alterações. Inicialmente, com ajuda de uma seringa, pesou-se a benzonitrila (515,2 mg; 5,0 mmol), esse reagente foi adicionado a um balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL e adicionou 12,5 mL de etanol a 98% para dissolver a nitrila.

Em seguida, pesou o cloridrato de hidroxilamina (1042,5 mg; 15 mmol), carbonato de potássio (1036,5 mg; 7,5 mmol) e foram dissolvidos em 12,5 mL de água destilada à temperatura ambiente, essa mistura foi transferida para o balão que continha a nitrila. Essa mistura reacional foi colocada em banho ultrassônico por ± 60 min e temperatura de $55 \pm 5^\circ\text{C}$.

A reação foi acompanhada e seu término comprovado por cromatografia de camada delgada (CCD), utilizando o sistema de eluição acetato de etila:hexano nas proporções 60:40, respectivamente, até o consumo total da benzonitrila. Após o término da reação, a mistura reacional foi concentrada por evaporação rotativa sob pressão reduzida, onde formará um sistema bifásico. A benzamidoxima obtida foi extraída do meio aquoso com acetato de etila (3 x 10 mL), a fase orgânica separada e seca com Na_2SO_4 , agente secante. Sequencialmente, a fase orgânica foi filtrada, o solvente removido sob pressão reduzida e a cristalização utilizando clorofórmio:hexano (90:10), respectivamente.

4.4 Procedimento de síntese do glicolato de etila

Adicionou-se 25 mL de etanol em um balão de fundo redondo com duas bocas com capacidade de 30 mL, em seguida, colocou 0,9 mL de ácido glicólico e 0,3 mL de ácido sulfúrico. Essa mistura reacional foi colocada em banho ultratermostático a 78°C , por aproximadamente 60 minutos. A reação foi acompanhada por cromatografia de camada delgada, utilizando acetato de etila como sistema eluente e permanganato de potássio como sistema revelador, tendo em vista que o éster não é visível na câmara de ultravioleta.

Após reagir, a mistura reacional foi concentrada por evaporação rotativa sob pressão reduzida e feito extração. O éster será extraído do meio aquoso com acetato de etila (4 x 10 mL), a fase orgânica separada e seca com sulfato de sódio anidro. Posteriormente foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida.

4.5 Procedimento de síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se a benzamidoxima (4,0 mmol), 4,0 mmol de hidróxido de sódio (NaOH), 3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 2,0 mmol de glicolato de etila. Essa mistura reacional foi submetida à agitação magnética em temperatura ambiente durante 5 minutos. A reação foi acompanhada e seu término comprovado por cromatografia de camada delgada (CCD) em sistema de eluição acetato de etila:hexano (6:4), respectivamente, até o consumo total do glicolato de etila.

Em seguida, realizou-se a extração com acetato de etila (4 x 10 mL), a fase orgânica separada e seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), agente secante. Posteriormente, a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida.

O resíduo da evaporação foi purificado através da coluna cromatográfica líquida em sílica, utilizando como fase estacionária a sílica e fase móvel sistemas hexano:acetato de etila em diferentes proporções. Seguidamente foi levado ao rotaevaporador para retirada do solvente e obtenção do produto puro, (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.

4.6 Bioensaio toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* Leach

O bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach foi realizado baseado na metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982). Inicialmente, foi necessário preparar uma solução salina a partir de 19 g de sal marinho em 500 mL de água destilada em pH entre 8 e 9, essa solução é necessária para que as larvas eclodam.

Em um recipiente de vidro retangular com uma divisória contendo furos, formando assim dois lados, adicionou-se a solução salina. Em um dos lados do recipiente foi colocado os cistos de artêmia, em seguida cobertos, e submetido a iluminação artificial por um período de 24 horas, com o objetivo de os cistos eclodirem. Após eclodirem, os náuplios são atraídos pela luz devido ao efeito de fototropismo e atravessam a divisória, facilitando a coleta e transferência para os tubos de ensaio. A transferência foi realizada com auxílio de uma pipeta de *Pasteur*, sendo 10 artêmias para cada tubo.

Para iniciar os testes, foi necessário realizar o teste de solubilidade com uma pequena quantidade do composto, 0,1 g da substância para 0,1 mL do solvente, essa quantidade foi adicionada a um eppendorf com 0,1 mL de solução salina. O primeiro teste será realizado com o dimetilsulfóxido (DMSO).

As artêmias foram submetidas a controle positivo e negativo. No controle positivo, foi utilizado uma solução de benzamidoxima com 100 µg/mL de concentração, visando matar todas as larvas. Para o controle negativo, foi usado uma solução com 0,1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), a fim de obter resultados sobre sua toxicidade.

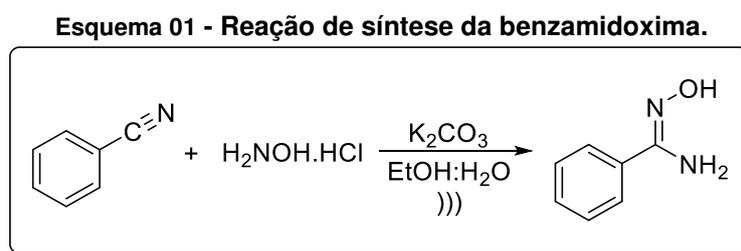
Após 24 horas de incubação, os cistos eclodirem, as larvas foram transferidas e agrupadas 10 em cada tubo, incluindo o controle. Todos os testes foram realizados em triplicata. Inicialmente, foi preparada uma solução estoque de concentração 2000 µg/mL, obtida a partir da dissolução de 20 mg do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol em 10 mL de solução salina, com adição de 0,1 mL do co-solvente dimetilsulfóxido (DMSO). Os náuplios foram expostos inicialmente as seguintes concentrações, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, após adicionar essas concentrações, adicionou-se solução salina até completar um volume de 2,5 mL.

Posterior às 24 horas, foi realizada a contagem das artêmias vivas e mortas, com o intuito de obter concentrações capazes de matar 5% e 95% dos indivíduos testados, além de determinar novas concentrações situadas entre estes dois pontos.

Após a realização de todos os testes, realizou-se a análise estatística para obtenção dos valores estimados da concentração letal para matar 50% das larvas (CL50), na qual será utilizado o software POLO-PC (*Copyright LeOra Software 1987*).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi realizado a síntese da benzamidoxima utilizando o método descrito por Barros *et al.*, (2011) com algumas modificações. Esse método foi escolhido devido a sua eficiência e rapidez, uma vez que a benzonitrila reage com o cloridrato de hidroxilamina em meio básico (carbonato de potássio) e hidroetanólico (H₂O:EtOH) sob irradiação de ultrassom, conforme descrito no esquema 01. O carbonato de potássio adicionado aos reagentes dissolvidos no meio hidroetanólico, proporciona a liberação da hidroxilamina, a qual atua como nucleófilo, permitindo que o átomo de nitrogênio da hidroxilamina ataque o carbono da nitrila, formando a benzamidoxima.

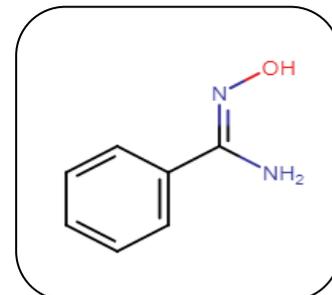
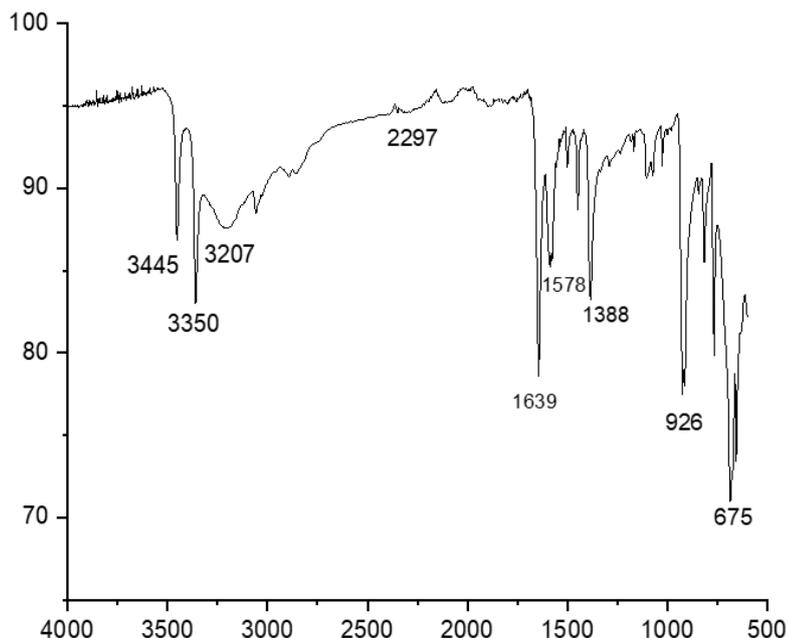


Fonte: autoria própria, 2024.

A benzamidoxima foi obtida na forma de um sólido cristalino com um rendimento de 72%, com ponto de fusão entre 78-79 °C, valor esse, próximo ao relatado por Andrade, Freitas Filho e Freitas (2016), que sintetizou uma série de amidoximas utilizando a metodologia de ultrassom com rendimento entre 40 e 93% de rendimento.

A benzamidoxima foi caracterizada por técnicas espectroscópicas, a saber, IV e RMN de ¹H e RMN ¹³C. Através da análise do espectro de IV, realizado em pastilha KBr (figura 09) foi possível observar banda em 3445 cm⁻¹ referente a ligação (νN-H); 3350 cm⁻¹ (νN-H); 3207 cm⁻¹ (νO-H) 1639 cm⁻¹ (νC=N); 1578 cm⁻¹ (νC=C). Essas bandas indicam a formação do produto desejado, adicionalmente não foi observado a presença da banda de estiramento da ligação C≡N na faixa de 2.150 a 2.250 cm⁻¹, o que comprova que a benzonitrila, reagente de partida, foi todo transformado em benzamidoxima.

Figura 09 - Espectro de infravermelho (IV) (Pastilha KBr) da benzamidoxima.

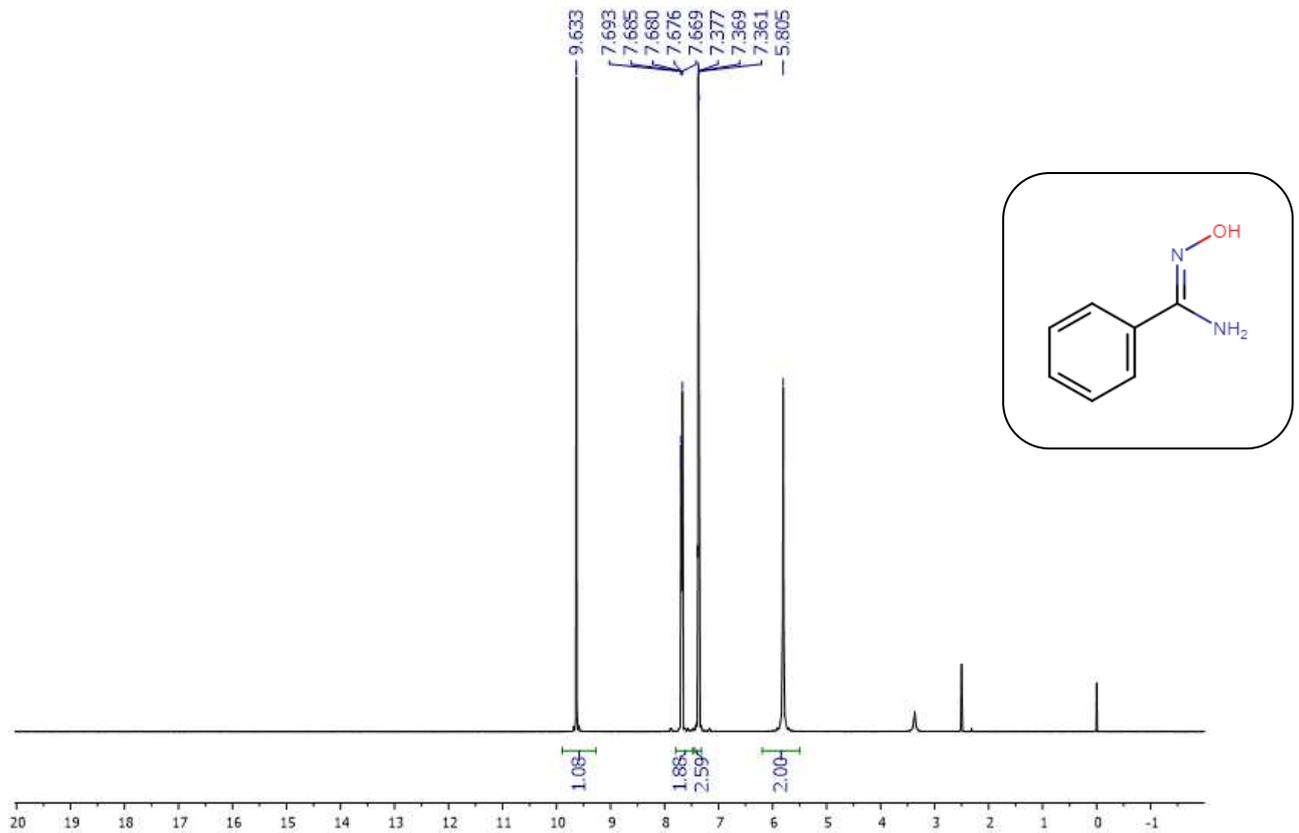


Fonte: autoria própria, 2024.

A benzamidoxima também foi caracterizada por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN de ^{13}C). Nessa perspectiva, no espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), da benzamidoxima esboçado na figura 10, observa-se a presença de quatro sinais que condiz com a quantidade de hidrogênios quimicamente diferentes na estrutura do composto. Somando a isso, revela que o somatório das integrais sobre cada sinal foi igual a oito, valor esse correspondente ao número total de hidrogênio que a substância possui.

O sinal em 9,63 ppm é um simpleto referente ao hidrogênio ácido (H-1) do grupo isonitroso (NOH). Os sinais entre 7,69 e 7,66 ppm, revela um multiplete com integral igual a dois e os sinais entre 7,37 e 7,36 ppm também é um multiplete com integral igual a 3, esses sinais correspondem aos hidrogênios do anel aromático, e sofrem o efeito anisotrópico do sistema π (pi). Outro sinal que merece destaque é o simpleto que aparece em 5,80 ppm, atribuído aos hidrogênios (H-2) do grupo (NH_2).

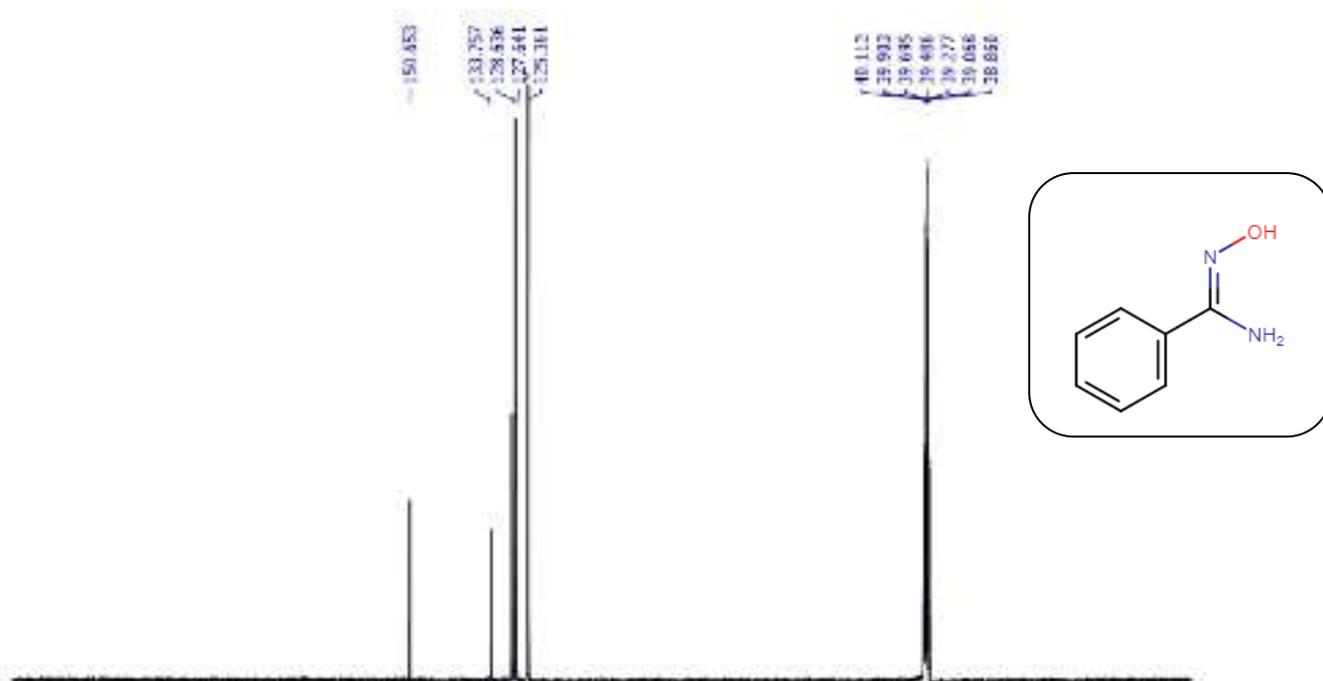
Figura 30 - Espectro de RMN 1H (CDCl3, 400 MHz) da benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

Analisando o espectro de RMN ^{13}C da benzamidoxima (figura 11), constatou-se a presença de cinco sinais, valor esse correspondente ao mesmo número de carbonos quimicamente diferentes que a substância possui. O sinal 150,6 ppm ao carbono C-1, por estar diretamente ligado a dois átomos de nitrogênio que o desblindam e desloca seu sinal para uma região de campo baixo. O sinal em 133,7 ppm é referente ao C-2. Os sinais em 128,6, 127,6 e 125,3 ppm foram atribuídos aos C-5, C-4 e C-3, respectivamente, são carbonos aromáticos que sofrem o efeito anisotrópico do sistema π (π). Os sinais de C-3 e C4 é gerado por dois carbonos quimicamente equivalentes, que aumentam a intensidade do sinal.

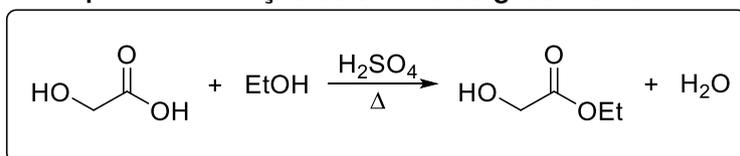
Figura 11 - Espectro RMN 13C (100 MHz, CDCl3) da benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

Posteriormente à síntese da benzamidoxima, sintetizou-se o éster glicolato de etila. A obtenção desse composto se dá pela reação de esterificação do ácido glicólico. O catalisador utilizado foi o ácido sulfúrico concentrado, objetivando deslocar o equilíbrio no sentido dos produtos, diminuindo o tempo reacional. O etanol foi utilizado como nucleófilo, devido seu baixo custo, baixa toxicidade e fácil aquisição (Cardoso, 2015) conforme descrito no esquema 02.

Esquema 02 - Reação de síntese do glicolato de etila.

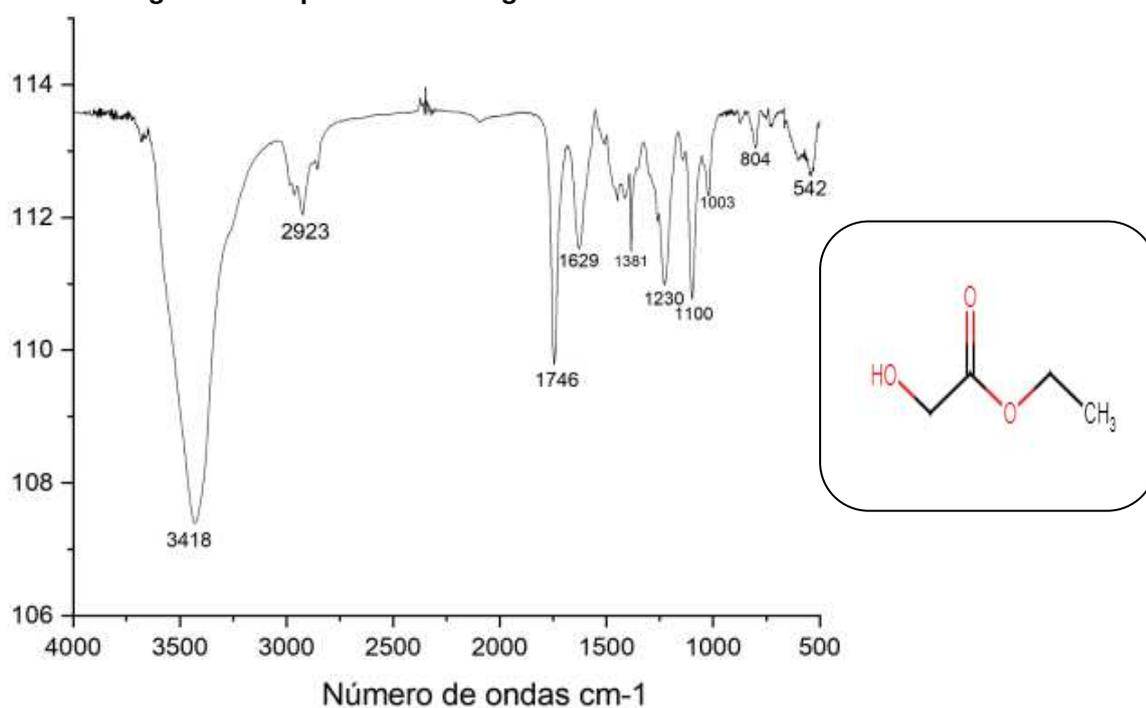


Fonte: autoria própria, 2024.

O glicolato de etila foi obtido na forma de um líquido amarelado com um rendimento de 74%, após 60 minutos sob o banho ultratermostático com temperatura entre 78 e 80°C.

Após a síntese do composto, o mesmo foi caracterizado pelas técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Por meio do espectro de IV (figura 12), pode-se observar a banda em 3.418 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação O-H, em contrapartida, há a ausência da banda larga entre 3.400 e 2.400 cm^{-1} da ligação O-H referente ao grupo ácido carboxílico, comprovando que a reação de esterificação ocorreu. Ademais, as bandas em 1.746 e 1.230 cm^{-1} são referentes as deformações axial e angular, respectivamente, da carbonila (C=O). Outra banda que merece destaque, é a em 1.100 cm^{-1} que é referente a deformação axial da ligação C-O, confirmando a conversão da função ácido carboxílico para função éster.

Figura 12 - Espectro de IV do glicolato de etila.

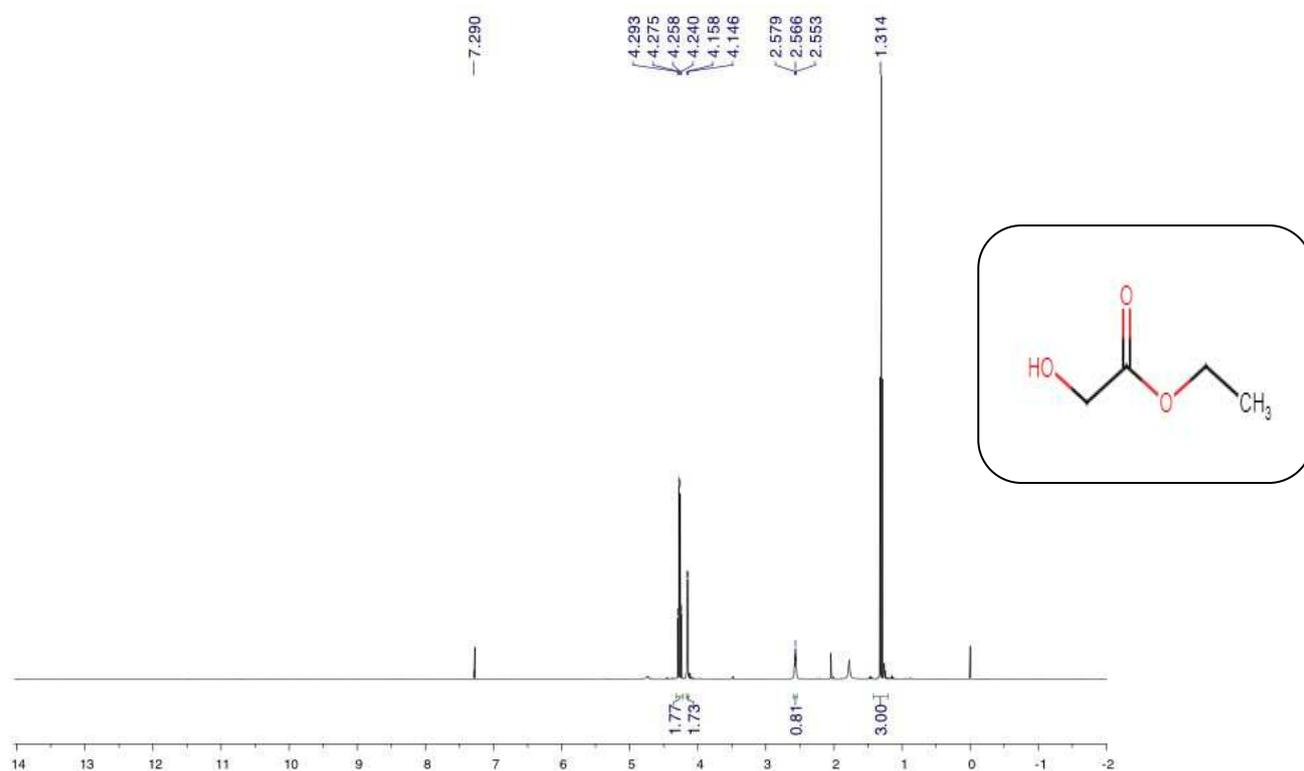


Fonte: autoria própria, 2024.

Quanto ao espectro de RMN ^1H do glicolato de etila (Figura 13), pode-se observar a presença de quatro sinais, os quais correspondem ao número de hidrogênios quimicamente diferentes presente no composto. Revela também que o somatório das integrais é igual a oito, valor esse correspondente ao número total de hidrogênio que a substância possui. O sinal em 4,29 ppm, com multiplicidade do tipo quarteto, foi atribuído ao hidrogênio H-3, esse sinal revela que a reação de esterificação aconteceu. O sinal em 4,15 é do tipo duplete é referente ao H-2. O sinal

em 2,56 é do tipo tripleto e é referente ao hidrogênio da hidroxila. O sinal em 1,31 ppm, do tipo tripleto, foi atribuído ao H-4, que confirma a entrada do grupo etila.

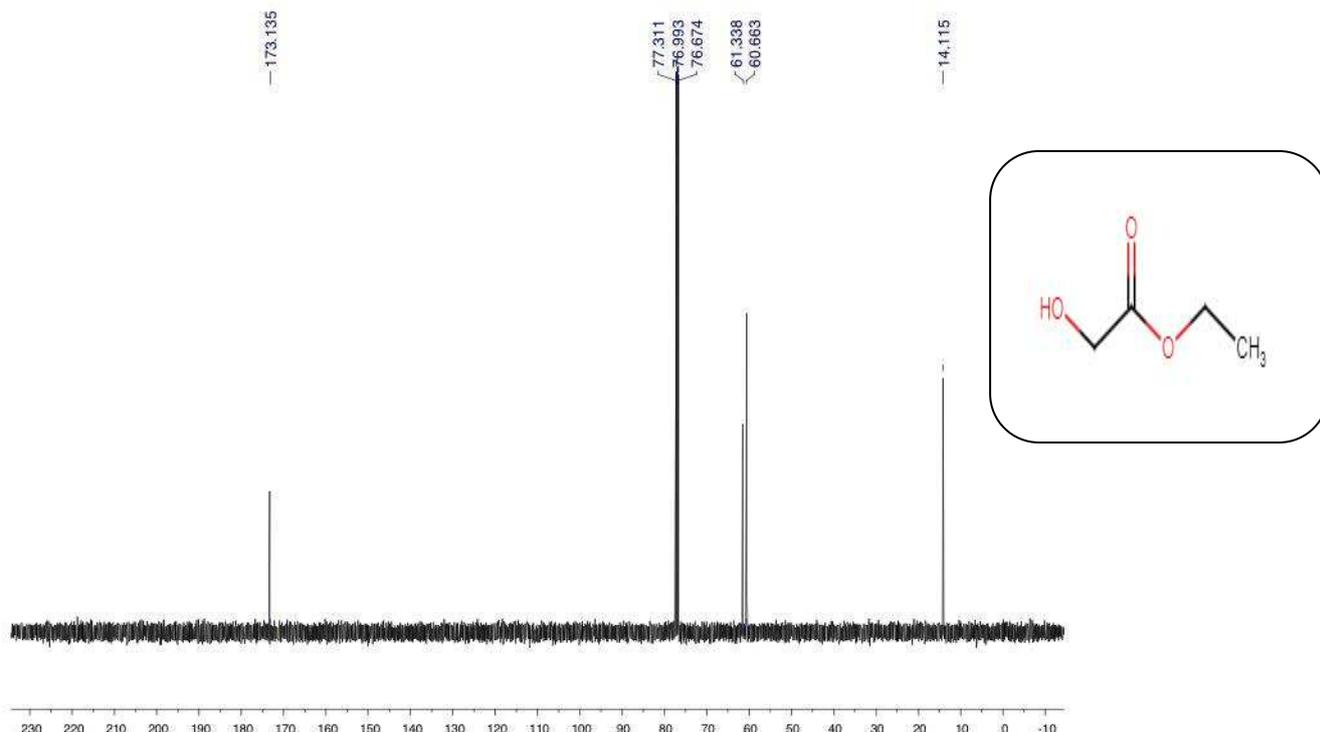
Figura 13 - Espectro de RMN 1H (CDCl3, 400 MHz) do glicolato de etila.



Fonte: autoria própria, 2024.

Analisando o espectro de RMN ^{13}C do glicolato de etila (Figura 14), constatou-se que há quatro sinais, os quais remetem os quatro carbonos quimicamente diferentes presentes na estrutura. O sinal em 173,1 ppm é referente ao carbono carbonílico (C=O), devido ele está ligado diretamente ao átomo eletronegativo, sofrer efeito anisotrópico da ligação dupla e ter hibridização sp^2 , por esses motivos, ele apresenta alta frequência. Os sinais em 61,3 e 60,6 ppm foram atribuídos aos carbonos C-1 e C-3, respectivamente. O sinal em 14,1 ppm é referente ao C-4 que é o carbono mais blindado e por isso apresenta baixa frequência.

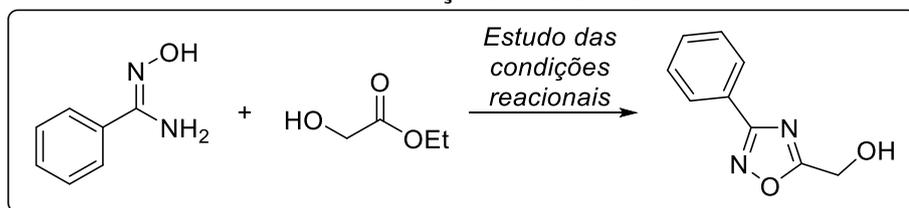
Figura 14 - Espectro de RMN 13C (CDCl3, 400 MHz) do glicolato de etila.



Fonte: autoria própria, 2024.

Nesse sentido, após a síntese e caracterização dos reagentes de partida, a benzamidoxima e o glicolato de etila, partiu-se para o estudo das condições reacionais para a obtenção do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, no qual foram avaliadas as seguintes condições reacionais: tipo e quantidade de solvente, espécie básica e quantidade de reagentes, conforme o esquema 03.

Esquema 03 - Reação de síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol com diferentes condições reacionais.



Fonte: autoria própria, 2024.

Diante disso, o primeiro parâmetro estudado foi a quantidade e tipo de espécie básica empregada na síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, onde foram avaliados o carbonato de potássio (K₂CO₃) e o hidróxido de sódio (NaOH). A partir disso, os resultados encontram-se na tabela 01.

Tabela 01 - Influência de parâmetros na síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.

Experimentos	Base	Solvente	Quantidade Base	Quantidade solvente	Quantidade Éster	Tempo
1	K ₂ CO ₃	DMF	0,6 mg	1,0 mL	0,6 mg	-
2	Na ₂ CO ₃	DMF	0,9 mg	2,0 mL	0,6 mg	-
3	K ₂ CO ₃	DMSO	0,9 mg	2,0 mL	0,9 mg	-
4	NaOH	DMF	0,6 mg	1,0 mL	0,6 mg	-
5	NaOH	DMF	0,9 mg	2,0 mL	0,6 mg	-
6	NaOH	DMF	0,9 mg	2,0 mL	0,9 mg	-
7	NaOH	DMSO	0,9 mg	2,0 mL	0,6 mg	17 min
8	NaOH	DMSO	0,9 mg	2,0 mL	0,9 mg	5 min

Fonte: autoria própria, 2024.

De acordo com a tabela 01, pode-se observar que a utilização de espécies básicas com menores valores de pH, o carbonato de potássio sódio, não levaram a formação do produto desejado.

Em contrapartida, a utilização de uma espécie básica com um valor maior de pH, o hidróxido de sódio, levou a formação do produto de interesse. Logo, foi a espécie básica escolhida na síntese do composto de interesse.

Testou-se os solventes dimetilsulfóxido e dimetilformamida para analisar qual melhor conduziria a reação, a utilização do DMF não levou a formação do composto. Sendo assim, o solvente de escolha foi o DMSO.

Após a descoberta da espécie básica e do solvente que melhores conduziram a reação, testou-se quantidades da espécie básica, solvente e reagente, sendo as maiores quantidades as melhores. Frente aos resultados obtidos na tabela 01, as melhores condições foram o hidróxido de sódio como base, DMSO como solvente e 0,9 mg de base, 2 mL de solvente e 0,9 mg do éster.

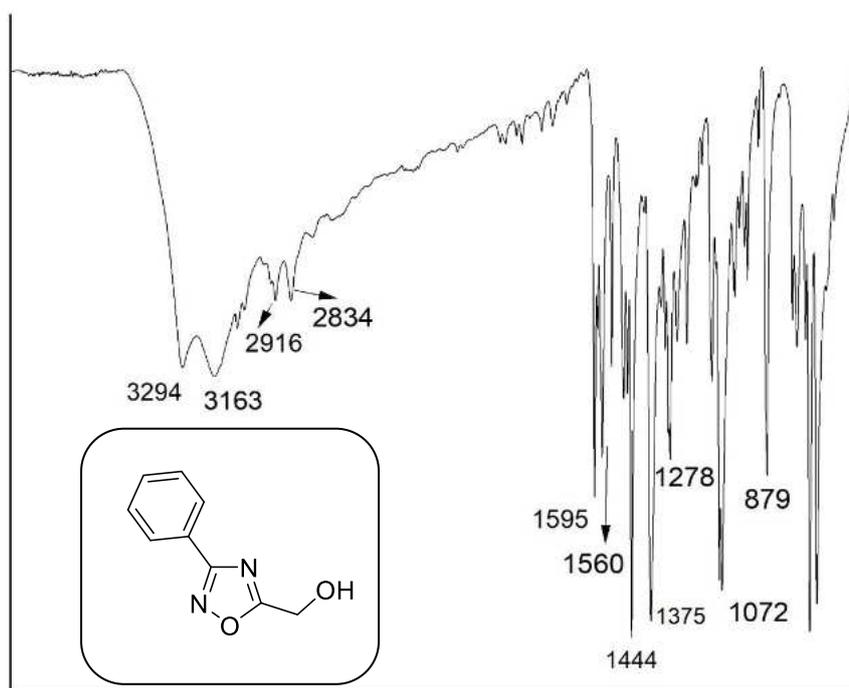
Posterior os testes de melhores condições sintéticas, o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi sintetizado e obtido na forma de um sólido cristalino com rendimento de 56%. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Freitas *et al.*, (2021), que sintetizou uma série de 1,2,4-oxadiazóis e encontrou rendimentos entre 50 e 70%.

Em seguida, após a realização do estudo das condições reacionais, foi realizada a purificação do composto (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol. A purificação desse composto foi realizada em coluna cromatográfica, no qual foi utilizado sílica como fase estacionária e foi feito um sistema de solventes (hexano:acetato de etila) para ser utilizado como fase móvel.

Inicialmente foi feito um sistema 49:1, sendo a maior proporção de hexano e a menor de acetato de etila. Em seguida, foi aumento a polaridade dos sistemas, logo, foram passados os seguintes sistemas: 47:3; 45:5; 42,5:7,5; 41:9. A passagem desses sistemas foram acompanhadas por cromatografia de camada delgada. O produto de interesse saiu na proporção 41:9. A amostra foi colocada sob pressão reduzida para retirada do solvente, deixando apenas o produto puro, (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.

Uma vez sintetizado e purificado, o composto (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi caracterizado e sua estrutura confirmada pelas técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ^1H e ^{13}C . No infravermelho (Pastilha de KBr), (figura 15), principais bandas de vibração 3294; 3163; 2916; 2834; 1595; 1560; 1444; 1375; 1278; 1072; 879 cm^{-1} .

Figura 15 - Espectro de IV do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.

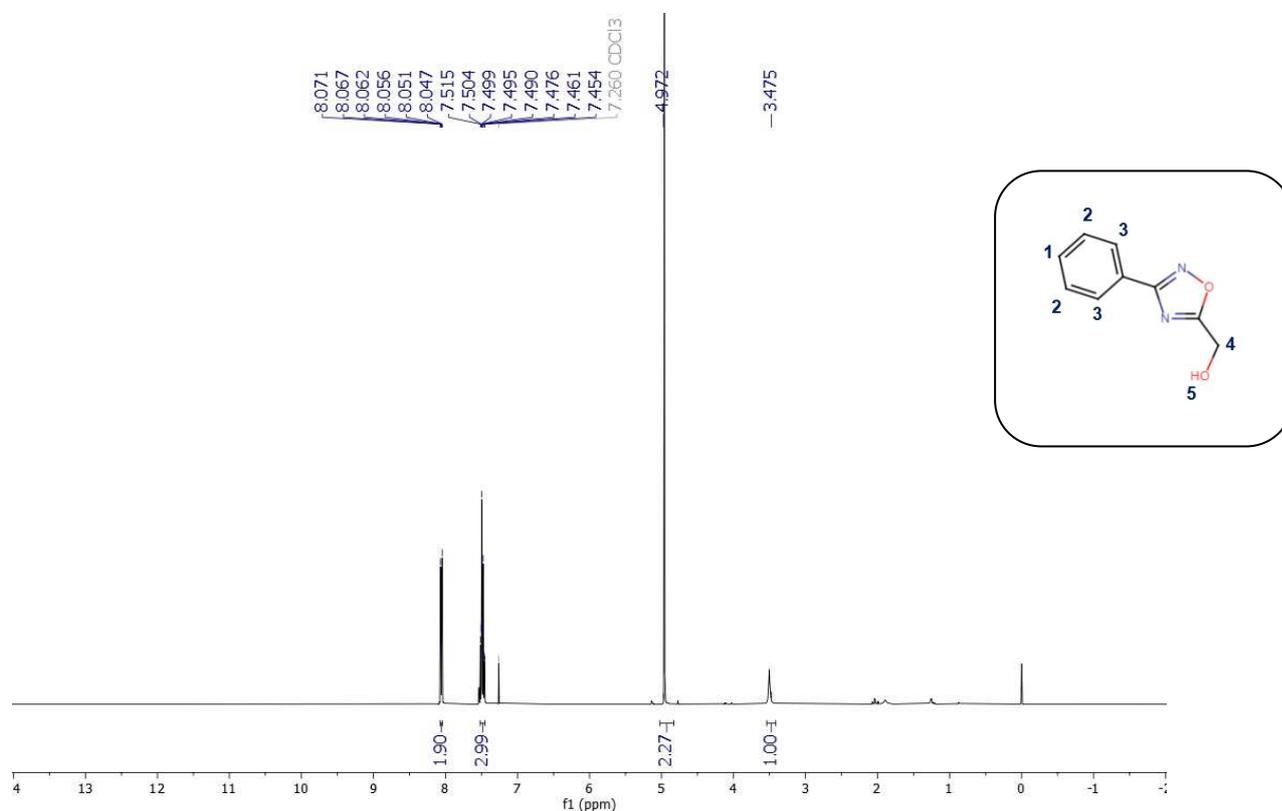


Fonte: autoria própria, 2024.

Analisando o espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, figura 16, podemos observar que o somatório das integrais é igual a oito, que corresponde ao número de hidrogênios presente na molécula. Apresenta também cinco picos, que corresponde ao número de hidrogênios quimicamente diferentes. Os sinais entre 8,071 e 7,454 possuem integral igual a 5,

esses sinais correspondem aos hidrogênios do anel aromático, e sofrem efeito anisotrópico do sistema π (π). O sinal em 4,97 corresponde ao (H-4) e o sinal em 3,47 é atribuído ao hidrogênio da hidroxila (H-5).

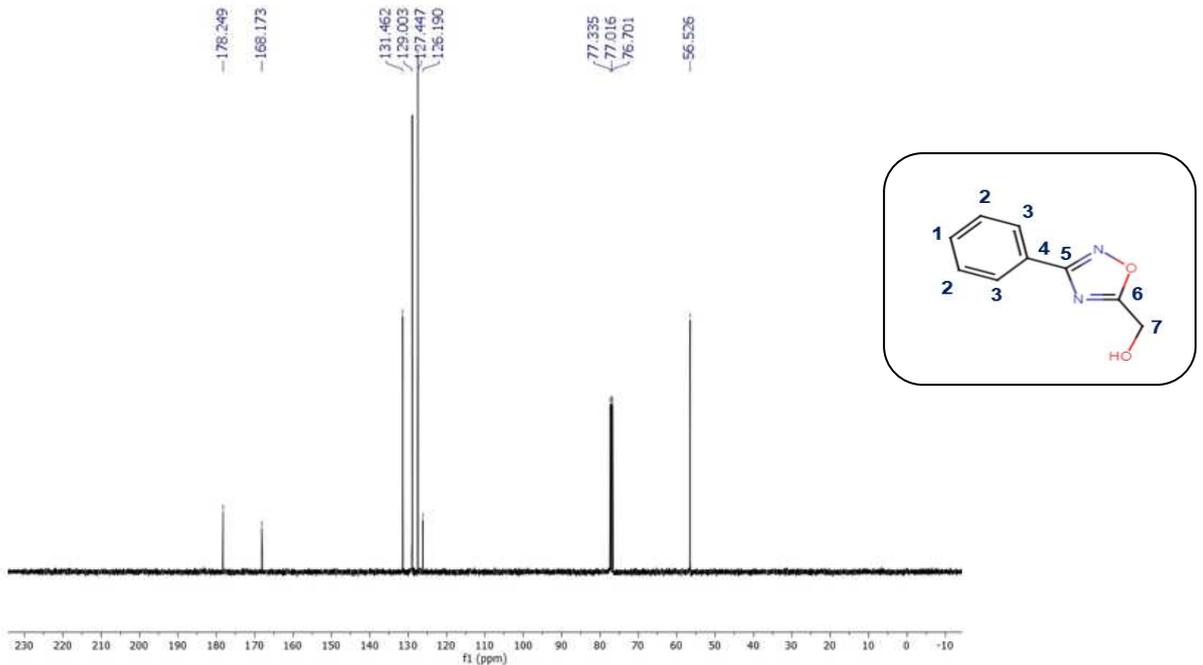
Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.



Fonte: autoria própria, 2024.

Observando o espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol (figura 17), constatou-se a presença de sete sinais, valor esse correspondente ao mesmo número de carbonos quimicamente diferentes que a substância possui. O sinal em 178,2 ppm corresponde ao carbono C-5, por estar diretamente ligado a dois átomos de nitrogênio que o desblindam e desloca seu sinal para uma região de campo baixo. O sinal em 168,1 ppm é referente ao C-6 que também é bem desblindado por estar diretamente ligado aos átomos de nitrogênio e oxigênio. Os sinais em 131,4; 129,0; 127,4 e 126,1 ppm foram atribuídos aos C-1, C-2, C-3 e C-4, respectivamente, são carbonos aromáticos que sofrem o efeito anisotrópico do sistema π (π). O sinal em 56,52 foi atribuído ao C-7.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.



Fonte: autoria própria, 2024.

Depois de caracterizado, o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi submetido ao bioensaio toxicológico com *Artemia salina*, objetivando avaliar sua toxicidade. Os testes foram realizados com concentrações entre 100 e 1000 ppm, conforme tabela 2.

Para realização dos testes, os cistos de artêmia foram incubados em um recipiente de vidro retangular com uma divisória com furos sob iluminação sintética, onde foi adicionado uma solução salina que continha 19 gramas de sal marinho dissolvida em 500 mL de água destilada durante 24 horas. Após esse tempo, os cistos eclodiram. Em seguida, preparou-se uma solução estoque de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, seguindo a metodologia de Meyer *et al.*, (1982), no qual utilizou 20 mg do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol, dissolveu em 0,1 mL de DMSO e aproximadamente 10 mL de solução salina. Realizou a transferência de 10 artérias para cada tubo e adicionou as concentrações.

É importante ressaltar que foram realizados teste de controle positivo, no qual a solução de 100 ppm contendo benzamidoxima foi capaz de matar todas as artêmias, comprovando que não foram utilizadas artêmias resistentes, quanto ao controle negativo, foi utilizado uma solução contendo o solvente DMSO (0,1 mL), não resultou em morte de nenhuma delas, comprovando que o solvente utilizado para solubilizar o

composto não apresenta toxicidade, logo, todos os resultados obtidos é referente ao (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.

Tabela 02 - Contagem das artêmias

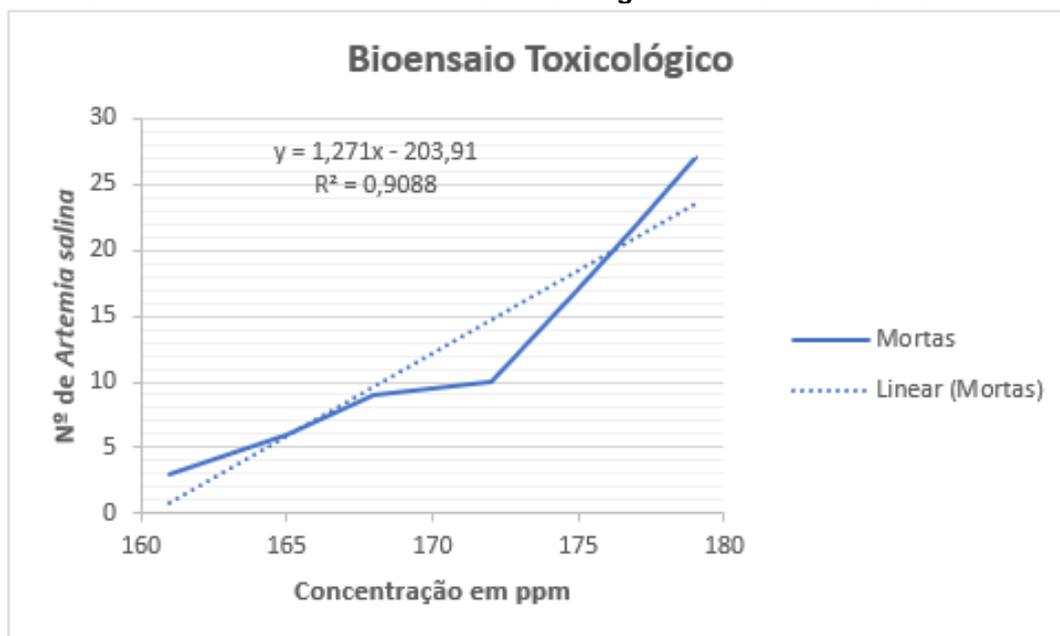
Concentração da substância testada (ppm)	Artêmias vivas	% de artêmias mortas
1000	0	100%
500	0	100%
250	0	100%
230	0	100%
220	0	100%
200	0	100%
180	2	93%
179	3	90%
177	8	73%
175	13	57%
172	18	40%
170	20	33%
168	21	30%
165	22	27%
161	23	23%
160	24	20%
158	25	17%
155	26	13%
150	27	10%
125	28	7%
100	29	4%

Fonte: autoria própria, 2024.

A partir dos dados obtidos na tabela 02, foi possível montar o gráfico 01. Através do programa POLO-PC (*Copyright Le Ora Software 1987*) foi possível determinar a concentração letal para matar 50% dos indivíduos (CL_{50}). Sendo assim, a CL_{50} do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi de 172,23 $\mu\text{g/mL}$ com desvio padrão de $\pm 1,19 \mu\text{g/mL}$, limite inferior de 171,04 $\mu\text{g/mL}$ e superior 173,42 $\mu\text{g/mL}$, tendo como intervalo de confiança de 95%.

Segundo Merino *et al.*, (2015), as amostras com CL_{50} maiores de 1000 $\mu\text{g/mL}$ apresentam baixa toxicidade, concentrações entre 500 e 100 $\mu\text{g/mL}$ são consideradas moderadamente tóxicas e inferiores a 100 $\mu\text{g/mL}$ são altamente tóxicas. Diante do exposto, o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol possui toxicidade moderada frente ao bioensaio de toxicidade realizado com *Artemia salina* Leach, tendo em vista que apresentou CL_{50} de 172,23 $\mu\text{g/mL}$, apresentando potencial para atividade biológica.

Gráfico 01 - Resultado do bioensaio toxicológico com *Artemia salina*.



Fonte: autoria própria, 2024.

Outrossim, os autores Freitas *et al.*, (2021) relatam que compostos que apresentam toxicidade frente à *Artemia salina* possuem correlação com atividades citotóxicas contra tumores humanos. Tendo em vista que em (1998) McLaughlin, Roger e Anderson evidenciaram que este bioensaio levou a descoberta de uma nova classe de agentes antitumorais ativos (*Annonaceous acetogenins*). Este bioensaio levou a descoberta de atividade contra o protozoário causador da doença de chagas, *Trypanosoma cruzi*, além de atividade antifúngica, virucida e antimicrobiana.

Somando a isso, um estudo realizado por Mesquita *et al.*, (2015) testou extratos para avaliar a atividade citotóxica frente os microcrustáceos de artêmia e os resultados obtidos indicam que o gênero *Ferdinandusa* apresenta grande potencial de toxicidade. Sabendo disso, realizou-se um comparativo das CL_{50} dos extratos desse gênero e pode-se observar um grande potencial de toxicidade no extrato metanólico de *F. goudotiana* com ($CL_{50} = 5 \mu\text{g mL}^{-1}$), seguido do extrato metanólico de *F. hirsuta* ($CL_{50} = 67,91 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os extratos diclorometânicos de *F. goudotiana* ($CL_{50} = 376,11 \mu\text{g mL}^{-1}$), *F. hirsuta* ($CL_{50} = 174,17 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *F. paraensis* ($CL_{50} = 158,61 \mu\text{g mL}^{-1}$) apresentaram atividade moderada.

Diante desses resultados Mesquita *et al.*, (2015) ressalta que o bioensaio de *Artemia salina* é o primeiro teste em busca de substâncias com atividade antitumoral

e a necessidade da realização de outros ensaios para avaliar esse potencial, além de ensaios pré-clínicos em animais.

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, foi realizado a síntese e caracterização dos reagentes necessários para síntese do composto de interesse, a benzamidoxima e o glicolato de etila, que foram obtidos com os rendimentos de 72 e 74%, respectivamente. A partir desses reagentes, foi possível a síntese do (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol.

Somando a isso, realizou-se testes para avaliar as melhores condições reacionais na síntese do composto, no qual a melhor espécie básica foi o hidróxido de sódio, o DMSO o solvente e quantidades de 0,9 mg da base, 2 mL do solvente e 0,9 mg do éster. Após a síntese e purificação, o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol foi obtido com um rendimento de 56% na forma de um sólido cristalino, além disso, pode-se confirmar que o composto desejado foi obtido através das análises espectroscópicas.

O ensaio de toxicidade utilizando a *Artemia salina* demonstrou que o (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) metanol apresentou CL_{50} igual a 172,23 $\mu\text{g/mL}$ com intervalo de confiança de 95%, apontando que o composto apresenta toxicidade moderada. Sendo assim, esse bioensaio toxicológico foi um estudo preliminar de toxicidade do composto sintetizado.

Logo, é de suma importância o aprofundamento de estudos acerca desse composto, tendo em vista a quantidade de estudos que relatam as atividades dos 1,2,4-oxadiazóis e seu potencial frente a diversos problemas de saúde.

REFERÊNCIAS

AHMED, M. N.; YASIN, K. A.; AYUB, K.; MAHMOOD, T.; TAHIR, M. N.; KHAN, B. A.; HAFEEZ, M.; AHMED, M.; UL-HAQ, I. Click one pot synthesis, spectral analyses, crystal structures, DFT studies and brine shrimp cytotoxicity assay of two newly synthesized 1, 4, 5-trisubstituted 1, 2, 3-triazoles. **Journal of Molecular Structure**, v. 1106, p. 430-439, 2016.

ALMEIDA, M. Z. Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea. In: **Plantas Mediciniais**. 3rd ed. Salvador: EDUFBA, pp. 34-66, 2011.

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, p. 1225-1235, 2016.

BANTI, C. N.; HADJIKAKOU, S. K. Evaluation of toxicity with brine *shrimp* assay. **Bio-protocol**, v. 11, n. 2, p. e3895-e3895, 2021.

BARBOSA, G. G.; AGUIAR, A. P. Derivados 1, 2, 3-triazol. **Revista Militar de Ciência e Tecnologia**, v. 37, n. 4, p. 38-57, 2020.

BARROS, C. J. P.; DE 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**. vol.56, n.2, p 721-722, 2011.

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, 2010.

BIERNACKI, K.; DASKO, M.; CIUPAK, O.; KUBINSKI, K.; RACHON, J.; DEMKOWICZ, S. Novel 1, 2, 4-oxadiazole derivatives in drug discovery. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 111, 2020.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1, 2, 3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 16, p. 3511-3531, 2019.

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

CARBONE, M.; LI, Y.; IRACE, C.; MOLLO, E.; CASTELLUCCIO, F.; PASCALE, A.; CIMINO, G.; MARIA, R. S.; 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**, v. 13, n. 10, p. 2516-2519, 2011.

CARVALHO, J. M. S.; BATISTA, A. H. M.; NOGUEIRA, N. A. P.; HOLANDA, A. K. M.; SOUSA, J. R.; ZAMPIERI, D.; BEZERRA, M. J. B.; BARRETO, F. S.; MORAES, M. O.; BATISTA, A. A.; GONDIM, A. C. S.; PAULO, T. F.; LOPES, L. G. F.; SOUSA, E. H. S. A biphosphinic ruthenium complex with potent anti-bacterial and anti-cancer activity. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 21, p. 13085-13095, 2017.

CARDOSO, V. M. **Estudo da absorção do vapor de etanol, carregado por gás carbônico, em diferentes solventes**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Exatas e de Tecnológicas, 2015.

CENTURIÃO, P. O.; SANTOS, P. E.; ROSA, A. M.; KASSAB, N. M. Avaliação da qualidade de produtos cosméticos contendo ácido glicólico. **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, v. 50, n. 1, p. 158-173, 2021.

CHÁVEZ, C. X. B.; DOREA, J. S.; PINHEIRO, R. C. S. P. Utilização do peeling químico no tratamento de hiperchromias ou hiperpigmentação facial. **Journal of Specialist**, v. 1, n. 4, 2019.

COSTA, E. C. S.; FREITAS, J. 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, p. 713-718, 2018.

CUNHA, F. S.; NOGUEIRA, J. M. R.; AGUIAR, A. P. Synthesis and antibacterial evaluation of 3, 5-diaryl-1, 2, 4-oxadiazole derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 2405-2416, 2018.

CUNHA, V. M. **Comparação dos efeitos do peeling de ácido pirúvico e peeling de ácido glicólico em pele envelhecida**. 2016. Relatório de Trabalho (Curso Superior de Tecnologia em Estética e Cosmética) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2016.

DAUEK, L. A. **Síntese de O, N-heterociclos via reações de ciclização de amidas propargílicas**. 2015. Monografia (Graduação em Química) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2015.

EGOROVA, A.; KAZAKOVA, E.; JAHN, B.; EKINS, S.; MAKAROV, V.; SCHMIDTKE, M. Novel pleconaril derivatives: Influence of substituents in the isoxazole and phenyl

rings on the antiviral activity against enteroviruses. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 188, p. 112007, 2020.

FREITAS, J. C. R.; MATA, M. M. S.; BARBOSA, M. V. S.; FREITAS, J. R.; ACIOLI, B. M. M. G.; BEZERRA, G. B.; FILHO, M. C.; FREITAS, J. J. R.; FILHO, J. R. F. Síntese, caracterização, avaliação citotóxica e antimicrobiana de 2-(3-Aril-1, 2, 4-oxadiazol-5-il)-etanotiol. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 6, p. 1330-1337, 2021.

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

GALAVE, S. A.; KADAM, K. S.; SONAWANE, A. D.; PANSARE, V. R.; GARUD, D. R. A metal-free isoamyl nitrite mediated efficient synthesis of 1, 2, 4-oxadiazoles. **Tetrahedron Letters**, p. 154616, 2023.

GIGANTE, A. C.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R. Determinação espectrofotométrica de ácido glicólico com ácido cromotrópico assistida por forno de microondas. **Eclética Química**, v. 27, 2002.

GOBEC, M.; TOMASIC, T.; MARKOVIC, T.; MLINARIC-RASCAN, I.; DOLENC, M. S.; JAKOPIN, Z. Antioxidant and anti-inflammatory properties of 1,2,4-oxadiazole analogs of resveratrol. **Chemico-Biological Interactions**, v. 240, p.200-207, 2015.

HENRIQUES, B. G.; SOUSA, V. P.; VOLPATO, N. M.; GARCIA, S. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação do teor de ácido glicólico na matéria-prima e em formulações dermocosméticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 39-45, 2007.

HOMMA, A.; FREIRE, M. S.; POSSAS, C. Vacinas para doenças negligenciadas e emergentes no Brasil até 2030: o “vale da morte” e oportunidades para PD&I na Vacinologia 4.0. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, 2020.

JÚNIOR, C. V.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

LIMA, M. F. F.; SILVA, J. W. S. A.; SILVA, J. K.; MOURA, A. H. N.; LOPES, R. L. F.; CORDEIRO, B. A.; CORDEIRO, R. P.; MELO, A. F. M. Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach de espécimes vegetais pertencentes à caatinga. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 5950-5963, 2019.

MACHADO, R.; MORENO, P. R. H. Avaliação da aplicação de produtos naturais como conservantes em produtos cosméticos. **8º Workshop do Mestrado**

Profissional Instituto de Química Universidade de São Paulo. São Paulo: Instituto de Química. 2020.

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.

MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. **Drug Information Journal**, v.32, p.513, 1998.

MESQUITA, D. W. O. MESQUITA, A. S. S.; CURSINO, L. M. C.; SOUZA, E.S.; OLIVEIRA, A.C.; PINHEIRO, C. C. S.; NOVAES, J. A. A.; NUNEZ, C. V. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 604-613, 2015.

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

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

MEYER, J. M.; REZENDE, F. M.; SOARES, S. A.; TOMBA, A. C. B. Metabolismo secundário. In: RIGHI, A. A.; MATIZ, A.; NUNES, A. S.; TOMBA, A. C. B.; SILVA, B. N. T.; LOEUILLE, B. F. P.; PIMENTEL, B. S.; LIRA, B. S.; PALACIOS, C.; AZEVEDO, C. A. A.; KLEINGESINDS, C. K.; IHA, C.; SERRA, D.; GALDEANO, D. M.; OCHOA, E. A. C.; COSTA, E. S.; FIRETTI-LEGGIERI, F.; NAUER, F.; SENA, F.; PIKART, F. C.; KATON, G. F.; MEYER, J. M.; SANTOS, J. P.; LOPES, J. C.; FILHO, J. H. L.; BRASILEIRO, J. C. B.; OTTRA, J. E.; LOVO, J.; GAGLIARDI, K. B.; RODRIGUES, K.; HAMACHI, L.; FÉLIX, L. M.; SAITO, L. C.; FONSECA, L. H. M.; MAYWORM, M. A. S.; DEVECCHI, M. F.; BAENA, M. S.; MARABESI, M. A.; TOWATA, N.; RAVANELLI, N.; PEREIRA, P. N.; MIOTO, P. T.; OLIVEIRA, P. M. R.; TORRES, P.; CRUZ, R.; BIANCHETTI, R. E.; SOARES, S. A.; GAMA, T. S. S. (org.). **Botânica no Inverno**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, p. 34-40 2013.

MIKOVSKI, D.; BASSO, J.; SILVA, P.; RIBAS, J. L. C. Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 13, p. 29-43, 2018.

MONTEIRO, C. M. O. **Síntese, caracterização e avaliação da toxicidade do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1, 2, 4-oxadiazol através do bioensaio com *artemia salina* Leach.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2021.

MOREIRA, L. A. O. **Avaliação da atividade tóxica em *artemia salina* Leach. de extratos de duas espécies da família *melastomataceae*.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Anápolis, 2013.

OKUMU, M. O.; MBARIA, J. M.; GIKUNJU, J. K.; MBUTHIA, P. G.; MADADI, V. O.; OCHOLA, F. O.; JEPKORIR, M. S. *Artemia salina* as an animal model for the preliminary evaluation of snake venom-induced toxicity. **Toxicon: X**, v. 12, p. 100082, 2021.

OLIVEIRA, A. V. T. **Síntese para obtenção do 3, 7-dimetóxikaempferol visando à atividade leishmanicida.** 2020. Monografia (Licenciatura em Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.

OLIVEIRA, V. N. M.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, V. P. G.; ARAUJO, H. M.; PESSOA, C. O.; NICOLETE, R.; OLIVEIRA, R. N. Focused microwave irradiation-assisted synthesis of N-cyclohexyl-1, 2, 4-oxadiazole derivatives with antitumor activity. **Synthetic Communications**, v. 48, n. 19, p. 2522-2532, 2018.

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

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

SHCHEKOTIKHIN, A. Thematic issue “heterocyclic compounds in medicinal chemistry”. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 56, n. 6, p. 625, 2020.

SILVA, M. C. A. M. **1, 2, 4-oxadiazol como scaffold no desenvolvimento de agentes antineoplásicos: uma revisão.** 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2020.

SILVA, M. G.; FURTADO, M. M.; OSÓRIO, A. T.; MORAIS, I. C. P. S.; AMARAL, M. P. M.; COELHO, A. G.; ARCANJO, D. D. R. A importância dos ensaios de toxicidade

para o desenvolvimento e o registro de fitoterápicos no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e538101220137-e538101220137, 2021.

SOUZA, M. I. F. **Avaliação das atividades biológicas de novos derivados da nitrofurantoína como potenciais candidatos a fármacos**. 2016. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

TIEMANN, F.; KRÜGER, P. Ueber amidoxime und azoxime. **Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 17, n. 2, p. 1685-1698, 1884.

TROMPETA, F. A.; PREISS, I.; AMI, F. B.; BENAYAHU, Y.; CHARITIDIS, C. A. Toxicity testing of MWCNTs to aquatic organisms. **RSC Advances**, v. 9, n. 63, p. 36707-36716, 2019.

ZHU, B.; ZHU, C.; LI, J.; HUI, X.; WANG, G. X. The developmental toxicity, bioaccumulation and distribution of oxidized single walled carbon nanotubes in *Artemia salina*. **Toxicology Research**, v. 7, n. 5, p. 897-906, 2018.

ZHU, L.; ZENG, H.; LIU, D.; FU, Y.; WU, Q.; SONG, B.; GAN, X. Design, synthesis, and biological activity of novel 1,2,4-oxadiazole derivatives. **BMC Chemistry**, v. 14, n. 1, 2020.