



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

LÍVIA GOUVEIA DE FARIAS

ESTUDO DAS CONDIÇÕES REACIONAIS PARA SÍNTESE DO 1-(5-FENIL-1,2,4-OXADIAZOL-3-IL)PROPAN-2-ONA E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA

CUITÉ – PB

2024

LÍVIA GOUVEIA DE FARIAS

ESTUDO DAS CONDIÇÕES REACIONAIS PARA SÍNTESE DO 1-(5-FENIL-1,2,4-OXADIAZOL-3-IL)PROPAN-2-ONA E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA

Monografia apresentada 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
Coorientadora: Prof^a. Ma. Jaqueline Ferreira Ramos

CUITÉ-PB

2024

F224e Farias, Livia Gouveia de.

Estudo das condições reacionais para síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3il) propan-2-ona e avaliação toxicológica. / Livia Gouveia de Farias. - Cuité, 2024.
63 f. : il. color.

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

"Orientação: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas; Profa. Ma. Jaqueline Ferreira Ramos".

Referências.

1. Heterocíclicos. 2. 1,2,4-oxadiazol. 3. Micro-ondas. 4. *Artemia salina*. 5. Bioensaio toxicológico. 6. Centro de Educação e Saúde. I. Freitas, Juliano Carlo Rufino de. II. Ramos, Jaqueline Ferreira. III. Título.

CDU 615(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

FOLHA DE ASSINATURA PARA TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LÍVIA GOUVEIA DE FARIAS

" ESTUDO DAS CONDIÇÕES REACIONAIS PARA SÍNTESE DO 1-(5-FENIL-1,2,4-OXADIAZOL-3-IL)PROPAN-2-ONA E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA "

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: 02/05/2024

BANCA EXAMINADORA

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

JAQUELINE FERREIRA RAMOS, Ma., UFRPE, Co-orientadora

EGBERTO CARMO SANTOS, Dr., UFCG, Avaliador Interno - Titular

MARIA VERÔNICA DE SALES BARBOSA, Ma., UFRPE, Avaliador Externo - Titular



Documento assinado eletronicamente por **EGBERTO SANTOS CARMO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 08/05/2024, às 09:06, 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 08/05/2024, às 15:04, 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 08/05/2024, às 17:58, 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 09/05/2024, às 08:54, 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 **4407653** e o código CRC **ABCBC558**.

Dedico este trabalho e a conclusão deste curso aos meus pais Maglia Gouveia Farias e Genivaldo de Souza Farias, aos meus irmãos Micaell Gouveia de Farias e Breno Gouveia de Farias e à minha avó Gessy Gouveia Falcão. Os meus maiores apoiadores e incentivadores diários. A eterna e amada tia Geralda Gouveia (in memoriam) por toda colaboração em minha formação pessoal e educacional, e por sempre ressaltar a importância do estudo. Obrigada, tia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por seu imenso amor e presença constante em toda minha vida, principalmente durante a trajetória acadêmica, em que foi amparo, esperança e sustento nas horas difíceis, acompanhando-me nos mínimos detalhes do cotidiano e fazendo com que eu vivesse os Seus planos e sonhos para mim. Também sou profundamente grata a Nossa Senhora, minha Mãezinha do Céu, por proteger, iluminar e guiar os meus passos até aqui, regando a caminhada com lições, aprendizados e amor.

Gratidão imensurável aos meus queridos e amados pais Maglia Gouveia Farias e Genivaldo de Souza Farias, pelos incansáveis esforços para que este sonho fosse concretizado. Obrigada pela dedicação em me oferecer a melhor educação possível, mostrando sempre que este é o melhor caminho, e o mais seguro, a ser seguido. Agradeço por preparar esta jornada, por apoiar minhas decisões e tornar tudo isso possível. Eu não teria conseguido sem vocês. Tenham certeza de que esta vitória não é apenas minha, mas nossa, e desejo que através dela eu seja capaz de retribuir um pouco de todo amor que vocês dedicaram e dedicam a mim todos os dias.

Sou profundamente grata aos meus amados irmãos Micaell Gouveia de Farias e Breno Gouveia de Farias, meus príncipes, por todo apoio, incentivo, amor, companheirismo e amizade demonstrados no cotidiano, sendo assim o meu refúgio, fonte de força, coragem e alegria nos momentos de cansaço. Vocês são meu referencial de inteligência e esforço, minha inspiração e umas das razões pelas quais tento ser melhor a cada dia.

Gratidão aos meus queridos avós Rosalba Maria de Souza Farias e José Genival de Farias pela presença, orações, preocupações, amor, palavras de incentivo e todos esforços em prol da minha caminhada educacional. Agradeço, em especial, a Gessy Gouveia Falcão, que além de avó é minha segunda mãe e participante ativa de todo o processo até chegar aqui. Obrigada pelo cuidado e nítido amor em cada alimento preparado, roupa lavada, preces diárias e incontáveis ações rotineiras. A senhora foi e é uma peça chave para que este sonho se tornasse real.

Aos meus padrinhos, tios, primos e demais familiares representados nas pessoas de Genialba Farias, Fábio Magalhães, Gerlane Farias, Franklin Falcão, Elione Vieira, Geralda Gouveia (*in memorian*), Fátima Gouveia e Luzanete Gouveia por todo apoio direto e indiretamente a minha formação acadêmica e toda minha trajetória pessoal e educacional.

Ao meu querido UDC composto por aqueles que se tornaram meus verdadeiros irmãos e minha família fora de casa: Alice Fernandes, Beatriz Maria, Emanuel Pereira, Gessymara

Cainã, Julihermes Macêdo, Raylane Bezerra e Naedja Beatriz. Gratidão pelos momentos de estudo, diversão, comemoração, estresse, desabafos, aconselhamentos, pela presença essencialmente rotineira e por dividir com leveza, irmandade e companheirismo esta jornada, por vezes árdua e penosa, mas gratificante. Vocês são uma das partes mais lindas da graduação e certamente uma das memórias mais preciosas.

Às amizades construídas em Cuité: Bianca Taveira, Gleddyson César, Hellen Mayara, José Wyllkeee, Andry Lohaynny, Agostinho Morais, Jeyse Rani, Marta Emanuely, Maria Alexandra Martins e demais amigos conquistados ao longo do curso por todo carinho e momentos compartilhados.

Aos amigos da família pensio que me acolheram, abriram as portas de Cuité para mim e foram minha companhia durante boa parte do curso: Patrícia Araújo, Helen Honório, Pablo Câmara, Erick Emanuel, Pedro Lucas, Pablo Mateus, Yasmin Alves, Mabel Brasil e Carol Pinheiro. Agradeço, em especial a Patrícia, minha irmã mais velha de Cuité, por todos os conselhos e por todo o apoio nos momentos de desespero, descobertas e incertezas.

Gratidão à toda a equipe do Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LASOQUIM) em especial, a Verônica Sales, Jaqueline Ramos, Rayane Oliveira, Tatiana Almeida, Danilo Dantas, Alécia Regina, Yasmim Alves, Raylane Bezerra, Vívica Dutra, Vitória Dutra, Joyce Nicolly, Arthur Gabriel e Ingridy Lorrany por toda a ajuda, conhecimentos e momentos de alegria compartilhados dentro do laboratório.

Agradeço ao meu estimado orientador Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas com quem tive o prazer de aprofundar meus conhecimentos na química orgânica e reafirmar minha admiração e encanto pela docência. Gratidão pelas oportunidades e confiança depositada, além da prestatividade e tranquilidade, características de sua personalidade, e inestimáveis contribuições em minha trajetória acadêmica contribuindo não só com o meu crescimento profissional, mas também com meu desenvolvimento pessoal.

À todos os meus professores e demais contribuintes na concretização deste sonho, representados pela minha banca examinadora composta pelo Prof. Dr. Egberto Carmo Santos, pela Prof^a Dr^a Maria Verônica de Sales Barbosa e pela minha co-orientadora Ma. Jaqueline Ferreira Ramos por todo conhecimento e ensinamentos compartilhados durante essa caminhada os quais foram fundamentais para minha formação.

Por fim, à Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), ao Centro de Educação e Saúde (CES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Programa Institucional Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC) e a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade para realização deste trabalho.

*“No caminho da vida, como em todos os
caminhos, aquilo que verdadeiramente conta é
não perder de vista a meta”
- Papa Francisco*

RESUMO

As pesquisas envolvendo moléculas contendo anéis heterocíclicos vêm crescendo ao longo dos últimos anos, em especial, devido a sua estabilidade, sítios reacionais, aumento da solubilidade e aplicações na química medicinal, tecnológica e agroquímica. Dentre os vários anéis heterocíclicos, um que merece destaque são os 1,2,4-oxadiazóis, um composto de origem natural, mas que facilmente pode ser obtido de forma sintética. Adicionalmente, a busca por novos fármacos requer a realização de estudos toxicológicos a fim de verificar o efeito destas substâncias nos sistemas biológicos. Desta forma, o presente estudo objetivou analisar as condições reacionais para a obtenção e caracterização do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona, além da avaliação de sua toxicidade frente a *Artemia salina*. Inicialmente, sintetizou-se a benzamidoxima a partir da reação entre a benzonitrila, cloridrato de hidroxilamina e carbonato de potássio em meio hidroalcolico, a qual foi obtida com rendimento de 82,7%. Posteriormente, ocorreu a calibração do forno de micro-ondas doméstico, seguida da síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona utilizando benzamidoxima, carbonato de potássio, acetoacetato de etila e dimetilformamida sob irradiação de micro-ondas em potências de 80, 90 e 100%, o que levou a obtenção do composto desejado em rendimentos de 71, 64 e 61% respectivamente. A benzamidoxima e o 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona foram caracterizadas por técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN H¹ e C¹³) confirmando suas estruturas. Por fim, avaliou-se a toxicidade do oxadiazol estudado e do éster acetoacetato de etila frente às larvas de *Artemia Salina*, em que os valores de CL₅₀ foram de 56,4 µg/mL e 2028,64 µg/mL, respectivamente, evidenciando a alta toxicidade do oxadiazol e o potencial fracamente tóxico do éster frente ao organismo testado. Assim, diante dos resultados obtidos, conclui-se que a potência de 80% representou a melhor estratégia para síntese do oxadiazol, além do bioensaio toxicológico reforçar a necessidade de novos estudos biológicos planejados para o oxadiazol sintetizado a fim de aprofundar as análises deste grupo farmacofórico e potencialmente para solucionar variados problemas de saúde.

Palavras-chave: heterocíclicos; 1,2,4-oxadiazol; micro-ondas; *Artemia salina*; bioensaio toxicológico.

ABSTRACT

Research involving molecules containing heterocyclic rings has been increasing over recent years, especially due to their stability, reactive sites, enhanced solubility, and applications in medicinal, technological, and agrochemical chemistry. Among the various heterocyclic rings, 1,2,4-oxadiazoles stand out, a compound of natural origin that can be easily synthesized. Additionally, the search for new drugs requires toxicological studies to verify the effect of these substances on biological systems. Thus, the present study aimed to analyze the reaction conditions for the synthesis and characterization of 1-(5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-propan-2-one, as well as to evaluate its toxicity against *Artemia salina*. Initially, benzamidoxime was synthesized from the reaction between benzonitrile, hydroxylamine hydrochloride, and potassium carbonate in a hydroalcoholic medium, yielding 82.7%. Subsequently, a domestic microwave oven was calibrated, followed by the synthesis of 1-(5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-propan-2-one using benzamidoxime, potassium carbonate, ethyl acetoacetate, and dimethylformamide under microwave irradiation at 80%, 90%, and 100% power, yielding the desired compound at 71%, 64%, and 61% respectively. Benzamidoxime and 1-(5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-propan-2-one were characterized by infrared (IR) spectroscopy and proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance (¹H and ¹³C NMR) techniques, confirming their structures. Finally, the toxicity of the studied oxadiazole and ethyl acetoacetate ester was evaluated against *Artemia salina* larvae, with LC₅₀ values of 56.4 µg/mL and 2028.64 µg/mL, respectively, demonstrating the high toxicity of the oxadiazole and the weak toxicity potential of the ester towards the tested organism. Therefore, based on the results obtained, it is concluded that 80% power represented the best strategy for oxadiazole synthesis, and the toxicological bioassay reinforced the need for new biological studies planned for the synthesized oxadiazole to further analyze this pharmacophore group and potentially solve various health problems.

Keywords: heterocyclics; 1,2,4-oxadiazole; microwave; *Artemia salina*; toxicological bioassay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Similaridades entre as amidoximas e outras funções químicas.....	20
Figura 2: Formas tautoméricas das amidoximas.....	21
Figura 3: Estruturas químicas dos oxadiazóis, triazóis e quinazolinas.....	23
Figura 4: Conformações isoméricas do oxadiazol com rotatividade dos heteroátomos nitrogênio e oxigênio.....	24
Figura 5: Estruturas químicas das fidianidinas A e B.	25
Figura 6: Estrutura química do ácido quisqualico.....	25
Figura 7: Estrutura química dos 1,2,4-oxadiazóis isolados do tubérculo Neowerdermannia vorwerkii.....	26
Figura 8: Estruturas químicas dos medicamentos Oxolamina, Prenoxdiazina e Fasiplon.	27
Figura 9: Estrutura química do Atalureno (Translarna®)	28
Figura 10: Imagem de microscopia da Artemia salina	30
Figura 11. Metodologia de síntese da benzamidoxima.....	33
Figura 12. Metodologia de síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.....	34
Figura 13. Metodologia para a calibração do micro-ondas.	35
Figura 14. Metodologia do bioensaio toxicológico em Artemia salina do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.	36
Figura 15. Síntese da benzamidoxima pelo método de agitação sob temperatura ambiente.	38
Figura 16. Benzamidoxima pura.....	40
Figura 17. Imagem da CCD da reação de formação da benzamidoxima.....	40
Figura 18. Espectro de infravermelho (IV) para a benzamidoxima.	42
Figura 19. Espectro o de RMN 1H (400 MHz, CDCl ₃) da benzamidoxima.	43
Figura 20. Espectro de RMN de 13C (DMSO-d ₆ , 100 MHz) da benzamidoxima.....	44
Figura 21. Mistura reacional submetida a irradiação de micro-ondas para formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.	45
Figura 22. Imagem da CCD da reação de formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona.....	47
Figura 23. Amostras do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona puro na forma de um líquido transparente.....	48
Figura 24. Espectro de infravermelho do composto 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.	49
Figura 25. Cistos de Artemia salina submetidos à solução salina e iluminação artificial.	50
Figura 26. Larvas náuplios após eclosão dos cistos de Artemia salina no período de 24 horas.....	50
Fonte: autoria própria, 2024.....	50
Figura 27. Submissão dos náuplios a concentrações variáveis 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona e contabilização das artêmias vivas e mortas.	53

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Mecânica de formação das amidoximas proposto por Freitas Filho et al. (2015).....	22
Esquema 2. Síntese do 1,2,4- oxadiazol de acordo com o método de Tiemann.....	29
Esquema 3. Mecanismo de síntese da benzamidoxima.	39
Esquema 4. Mecanismo de reação para formação do 1,2,4-oxadiazol.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Determinação da potência real do forno micro-ondas doméstico.....	44
Tabela 2: Tempo reacional e rendimento pós extração das reação de síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona em irradiação micro-ondas com potência variável de 80 a 90%.	47
Tabela 3: Contagem das artêmias do bioensaio de Artemia salina com 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.Fonte: autoria própria, 2024.....	51
Tabela 4: Contagem das artêmias do bioensaio de Artemia salina com acetoacetato de etila.....	54

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Perfil de toxicidade do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.....	52
Gráfico 2. Perfil de toxicidade do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Cal	Calorias
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDC13	Clorofórmio Deuterado
CES	Centro de Educação e Saúde
CL50	Concentração Letal para matar 50% da população de artêmias
DMD	Distrofia Muscular de Duchenne
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQF	Departamento de Química Fundamental
EtOH	Etanol
FMO	Forno Micro-ondas
g	Gramas
μg	Micrograma
IV	Infravermelho
J	Joule
K₂CO₃	Carbonato de Potássio
L	Litro
μL	Microlitro
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
ml	Mililitro
Na₂CO₃	Carbonato de Sódio
Na₂SO₄	Sulfato de Sódio Anidro
NH₂OH·HCl	Cloridrato de Hidroxilamina
NH₂OH	Hidroxilamina
NH₄Cl	Cloreto de Amônio
P, D & I	Planejamento, Desenvolvimento & Inovação
pH	Potencial hidrogeniônico
Ppm	Partes por milhão
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s	Segundos
SUS	Sistema Único de Saúde
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
V	Volt
W	Watts
°C	Grau Celsius
α	Alfa
δ	Dobramento ou Deformação Angular
ν	Estiramento ou Deformação Axial
Δ	Aquecimento

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
3.1 Aspectos gerais das amidoximas	20
3.2 Aspectos gerais dos oxadiazóis	23
3.3 Estratégias de síntese para os 1,2,4-oxadiazóis	28
3.4 Bioensaio Toxicológico - Artemia salina Leach	29
4. METODOLOGIA.....	32
4.1 Locais de pesquisa	32
4.2 Material utilizado e Equipamentos	32
4.3 Síntese da benzamidoxima	32
4.4 Síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona	33
4.5 A determinação da potência real e calibração do micro-ondas.....	34
4.6 Teste toxicológico do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona frente a larvas de Artemia salina Leach.....	35
4.7 Teste toxicológico do acetoacetato de etila a larvas de Artemia salina Leach.	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1 Síntese da benzamidoxima	38
5.2 Caracterização espectroscópica da benzamidoxima	41
5.3 A determinação da potência real e calibração do micro-ondas.....	44
5.4 Síntese e verificação a influência da potência do micro-ondas na obtenção do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona	45
5.5 Caracterização espectroscópica do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona	49
5.6 Teste toxicológico do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona frente a larvas de Artemia salina Leach.....	49
5.7 Teste toxicológico do acetoacetato de etila a larvas de Artemia salina Leach	54
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
7. REFERÊNCIAS.....	57

1. INTRODUÇÃO

A Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P,D&I) consiste na tríade do uso do conhecimento técnico-científico para criação e aperfeiçoamento de produtos, materiais, equipamentos, serviços e processos associados a diferentes setores econômicos. Paralelamente, a pesquisa em torno da obtenção de substâncias biologicamente ativas e suas melhores rotas de síntese, é impulsionada pelo surgimento de doenças a citar, COVID-19; resistência de patógenos aos diversos fármacos empregados na terapêutica; reincidência de doenças negligenciadas como ebola e zika, além do aprimoramento de terapias atuais e o descobrimento de estratégias mais seguras e eficazes de tratamento (Carvalho, 2016).

Diante deste cenário, as pesquisas envolvendo moléculas heterocíclicas têm sido crescentes no advento de novos fármacos, tendo em vista que mais de 85% das substâncias biologicamente ativas apresentam em sua estrutura um ou mais anéis heterociclos, como é o exemplo do cabozantinibe, cloroquina, lixebina e pleconaril (Romero *et al.*, 2018; Jampilek, 2019; Hendawy, 2022). Adicionalmente, é possível constatar que os anéis heterocíclicos agem contribuindo para a lipofilicidade, polaridade, solubilidade e capacidade de ligação de hidrogênio da molécula, assim otimizando suas propriedades farmacocinéticas (Caiana *et al.*, 2018; Jampilek, 2019).

Logo, dentre os heterociclos contendo os átomos de nitrogênio e oxigênio em sua estrutura, podem ser citados os 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos, que apresentam uma posição de destaque em razão de sua estabilidade e gama de ações biológicas (Mukesh; Vandana, 2011; Viana, 2019; Mayer, 2021; Hendawy, 2022). Uma possível justificativa para sua eficiência biológica, é devido os 1,2,4-oxadiazóis interagirem com diversos receptores de organismos vivos (agonistas do receptor muscarínico M4, moduladores de receptor S1P1, antagonistas SSTR5) e diversas enzimas como a DNA girase e a topoisomerase IV presentes em algumas bactérias. Assim, dentre os fármacos comercializados, pertencentes a esta classe, cabe destacar o Prenoxdiazina e Oxolamina (antitussígenos), e o Fasiplon (ansiolítico) (Carbone *et al.*, 2011; Viana, 2019; Freitas *et al.*, 2021). Além disso, este anel apresenta um vasto emprego na química medicinal, na agricultura e nas indústrias de matérias (Jakopin *et al.*, 2017; Mayer, 2021; Hassan *et al.*, 2022).

Os 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos apresentam origem natural e são encontrados em compostos isolados do molusco marinho *Phidiana militaris*, como é o caso das fidianidinas A e B (Carbone *et al.*, 2011; Mayer, 2021; Hendawy, 2022). Ademais, existem diversas estratégias para síntese desses heterociclos, sendo a cicloadição uma metodologia de grande relevância em virtude da permissão do uso de diferentes compostos carbonilados e amidoximas.

Outrossim, a incidência de irradiação de micro-ondas contribui com o processo diminuindo o tempo reacional e representando um método limpo (Barbosa *et al.*, 2017; Freitas *et al.*, 2021).

Tendo em vista a grande variedade de ações, aplicações e rotas de síntese dos oxadiazóis faz-se necessário realização de estudos toxicológicos a fim de verificar o efeito destas substâncias nos sistemas biológicos e sua influência em organismos vivos. Partindo disso, o teste de toxicidade envolvendo *Artemia salina* destaca-se em virtude de sua sensibilidade, facilidade de manuseio, rapidez do processo, baixo custo e confiabilidade de resultados (Rajabi *et al.*, 2015; Monteiro, 2021). Logo, através da análise apenas do parâmetro de morte ou sobrevivência deste microcrustáceo é possível realizar uma avaliação preliminar da toxicidade de substâncias, evitando a utilização de outros animais como coelhos, ratos e camundongos.

Cientes das propriedades e da aplicabilidade terapêutica dos 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos, o presente projeto consiste na análise das condições reacionais para a obtenção e caracterização do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona, além da avaliação da sua toxicidade frente a *Artemia salina*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Otimizar as condições reacionais para a obtenção 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona e realizar a avaliação de sua toxicidade frente a *Artemia salina*.

2.2 Objetivos específicos

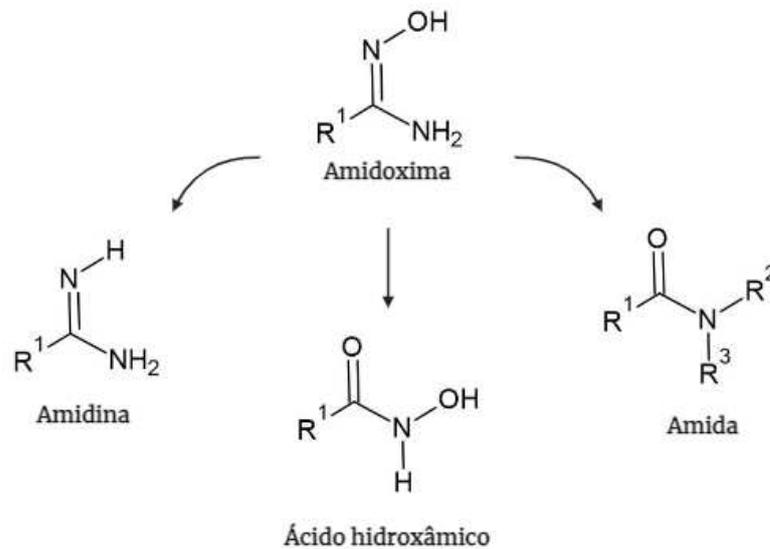
- Sintetizar a benzamidoxima a partir da benzonitrila;
- Caracterizar a benzamidoxima a partir de técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN H¹ e C¹³);
- Realizar a calibração do forno de micro-ondas domésticos;
- Verificar a influência da potência do micro-ondas na obtenção do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona;
- Sintetizar e caracterizar o 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona a partir de técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN H¹ e C¹³);
- Avaliar a toxicidade do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona frente a *Artemia salina*.
- Avaliar a toxicidade do acetoacetato de etila frente a *Artemia salina*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos gerais das amidoximas

As amidoximas são compostos provenientes dos ácidos carboxílicos caracterizadas pela associação das funções amina (-NH₂) e oxima (RR'C=NOH) culminando da fórmula geral RC(NH₂)=NOH (Baykov, *et al.*, 2020). Desta forma, Eloy e Lenaers (1962) afirmam que as amidoximas assemelham-se tanto com as amidas, em virtude da substituição do átomo de oxigênio da carbonila (-C=O) pelo grupo isonitroso (=NOH), como com as amidinas, em consequência da modificação do hidrogênio do grupo imido (-C=NH) pelo radical hidróxi (-OH), além de apresentar semelhança com os ácidos hidroxâmicos (figura 1).

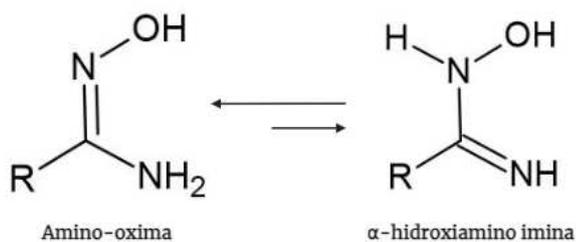
Figura 1: Similaridades entre as amidoximas e outras funções químicas.



Fonte: autoria própria, 2024.

Assim, com a presença dos grupos isonitroso e amina em sua estrutura, as amidoximas passam a apresentar um caráter anfótero, ou seja, capaz de reagir com espécies ácidas ou básicas. Somado a isso, a conformação desta função orgânica sugere a possibilidade de dois sistemas tautoméricos: amino-oxima e α -hidroxiamino imina, sendo o primeiro isômero mais estável como demonstrado na figura 2 (Nicolaidis; Varella, 1992).

Figura 2: Formas tautoméricas das amidoximas.

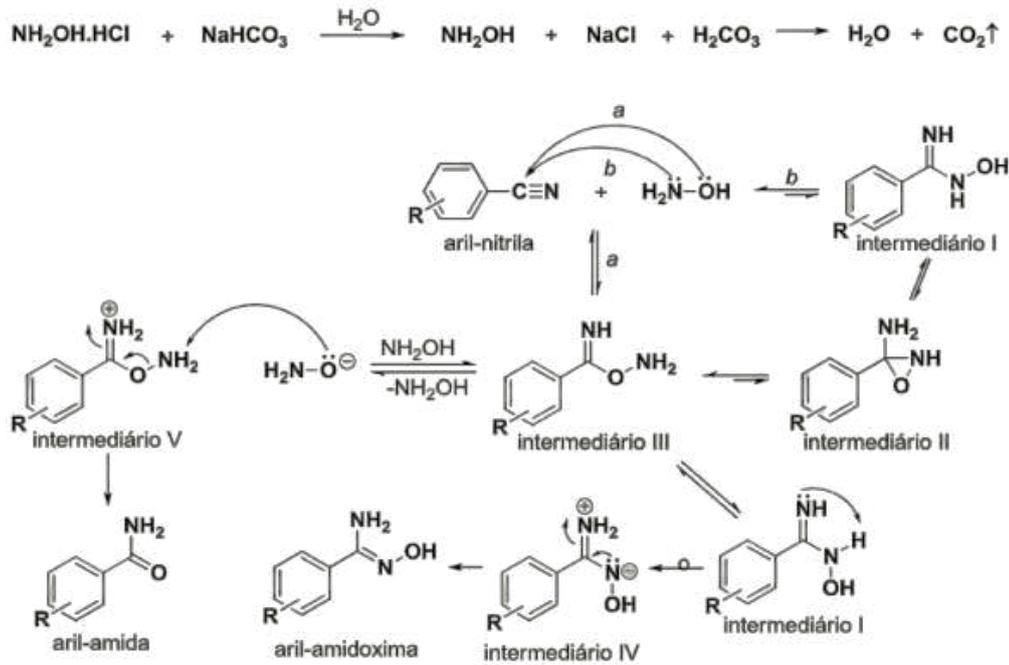


Fonte: autoria própria, 2024.

Diante do exposto, diversas estratégias são utilizadas para a síntese das amidoximas, no entanto, o método clássico de Tiemann destaca-se em decorrência de sua eficácia e simplicidade (Freitas Filho *et al.*, 2015; Baykov *et al.*, 2020). Logo, a metodologia amplamente empregada há cerca de 15 décadas neste processo, consiste na reação entre nitrilas e cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) na presença de carbonato de sódio (Na_2CO_3) em uma solução hidroalcoólica (Bolotin; Bokach; Kukushkin, 2016).

Desta maneira, a mecanística de formação das amidoximas por esta abordagem baseia-se no ataque nucleofílico da hidroxilamina sob a nitrila, promovido pelos átomos de oxigênio ou nitrogênio, resultando em uma série de intermediários os quais sofrem rearranjos intramoleculares resultando em um produto final desejado (aril-amidoxima) ou um subproduto indesejado (aril-amida), associado a quantidade de hidroxilamina presente na mistura reacional capaz de interferir na estabilidade das moléculas intermediárias (Esquema 1) (Freitas Filho *et al.*, 2015).

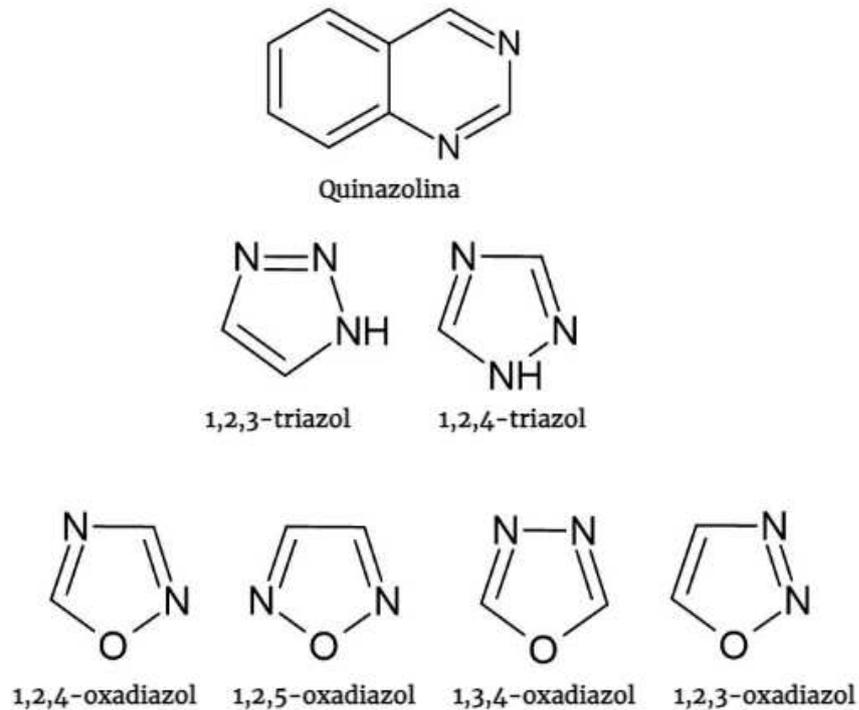
Esquema 1: Mecânica de formação das amidoximas proposto por Freitas Filho *et al.* (2015).



Fonte: Freitas Filho *et al.* (2015).

Isto posto, a vasta aplicação das amidoximas na química orgânica é decorrente da sua facilidade e disponibilidade sintética e do seu potencial reativo. Portanto, estas espécies químicas comumente apresentam-se como intermediários para síntese de diversos compostos heterocíclicos como os oxadiazóis, triazóis, quinazolininas e outros (figura 3), além de atuarem como pró-fármacos das amidinas no campo da farmacologia e biologia (Medeiros *et al.*, 2020).

Figura 3: Estruturas químicas dos oxadiazóis, triazóis e quinazolinas.



Fonte: autoria própria, 2024.

Outrossim, as amidoximas apresentam diversas aplicações biológicas, farmacológicas e tecnológicas. Assim, atuam na área da agricultura por meio de sua atividade pesticida, inseticida e fungicida. Verifica-se, também, no campo farmacológico, que estas moléculas exibem ações antimicrobiana, anti-inflamatórios e antioxidante, antitumoral, ansiolítico e antidepressivo, antitumoral, anti-histamínico, entre outras, cabendo enfatizar as atividades antitripanossomicidas, tuberculostáticas e hipotensivas da benzamidoxima. Por fim, no âmbito da tecnologia, as amidoximas podem atuar como agentes quelantes quando incorporados na forma de microesferas, géis, resinas, membranas ou fibras, sendo eficazes na remoção e recuperação de íons metálicos como prata, ouro e mercúrio em soluções aquosas (Lopes *et al.*, 2005; Freitas Filho *et al.*, 2015; Baykov, *et al.*, 2020).

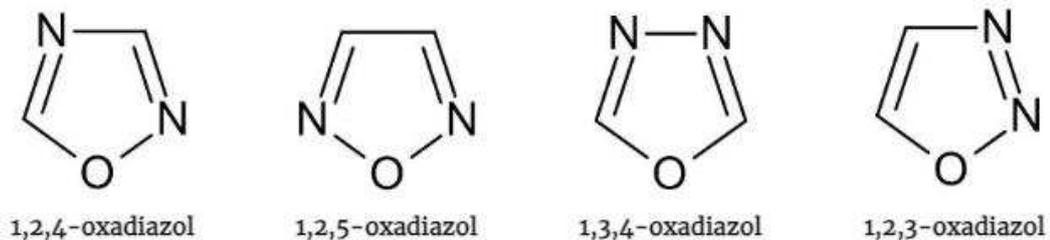
3.2 Aspectos gerais dos oxadiazóis

Os oxadiazóis são uma classe de compostos heterocíclicos, caracterizada pela presença de um anel de cinco membros apresentando dois átomos de nitrogênio e um átomo de oxigênio. Deste modo, a depender da posição a que os heteroátomos estão dispostos, é possível obter quatro isômeros constitucionais distintos: 1,2,4-oxadiazol, 1,2,5-oxadiazol, 1,3,4-oxadiazol e 1,2,3-oxadiazol (figura 4). Além disso, apesar da presença de ligações duplas em sua estrutura,

o anel oxadiazólico possui baixo grau de aromaticidade e é classificado como um sistema conjugado (Regueira; Freitas; Freitas Filho, 2016; Monteiro, 2021).

De acordo com a plataforma de busca de periódicos *Web of Science*, a demanda de estudos envolvendo a síntese e atividade farmacológica dos 1,2,4-oxadiazóis tem aumentado significativamente nas últimas décadas. Esta procura crescente, é justificada por sua capacidade de sofrer rearranjos moleculares e por apresentar uma gama de atuações biológicas, desta forma, evidenciando um alto potencial para as indústrias de matérias e farmacêutica, e impulsionando as pesquisas e os investimentos em torno das metodologias de obtenção e de atividade farmacológica destes compostos (Viana, 2019; Freitas *et al.*, 2021).

Figura 4: Conformações isoméricas do oxadiazol com rotatividade dos heteroátomos nitrogênio e oxigênio.



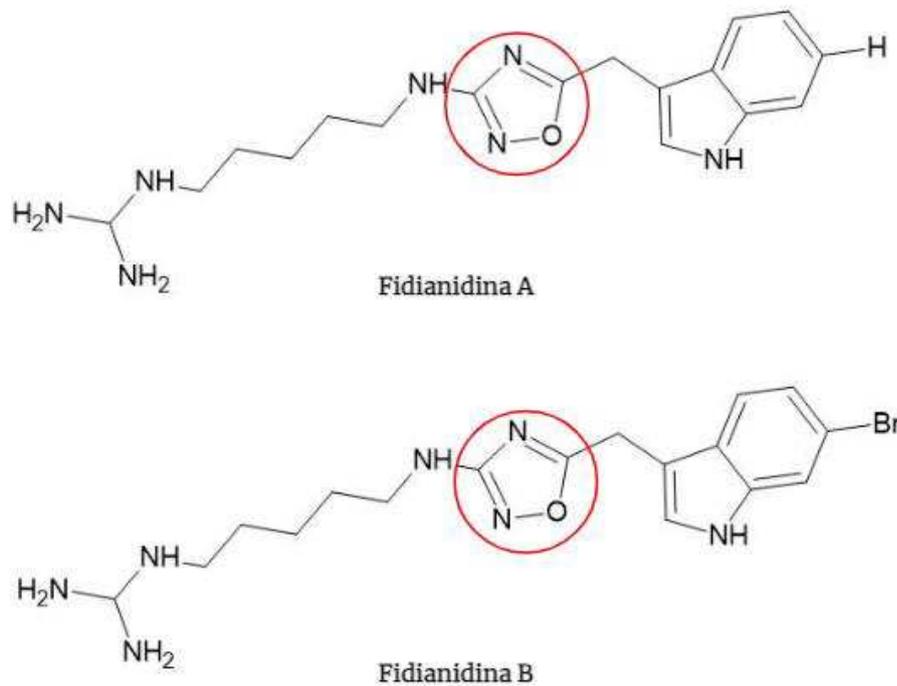
Fonte: autoria própria, 2024.

Baseado no vasto interesse pelos 1,2,4-oxadiazóis, ampliaram-se as pesquisas acerca de métodos e de técnicas de síntese visando a diminuição do tempo reacional e o aumento do rendimento. Assim, diversas estratégias para a obtenção desses heterociclos foram desenvolvidas com a finalidade de aprimorar terapias existentes, bem como elaborar compostos mais confiáveis e seguros, minimizando as consequências indesejadas e os efeitos adversos (Biernacki *et al.*, 2020). Ademais, embora o interesse científico e industrial por esta classe de moléculas orgânicas seja recente, o ano de 1884 marcou a pioneira síntese dos 1,2,4-oxadiazóis desenvolvida pelos pesquisadores Tiemann e Krüger, os quais nomearam os compostos e despertaram a relevância do seu estudo (Pace; Pierro, 2009).

Apesar das iniciativas, para o desenvolvimento de métodos de obtenção destes heterociclos e da crença inicial da existência dos 1,2,4-oxadiazol apenas pela via sintética, Carbone *et al.* (2011) constatou a presença do núcleo 1,2,4-oxadiazol em moléculas bioativas derivadas do metabolismo do molusco *Phidiana militaris*. A estas moléculas atribui-se os nomes de fidianidinas A e B (figura 5), as quais apresentaram grau de citotóxico elevado contra linhagens celulares tumorais e não tumorais de mamíferos. Somado a isso, também de maneira

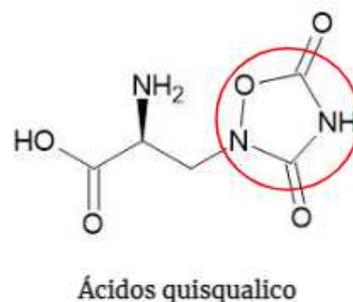
natural, verificou-se na estrutura dos ácidos quisqualicos (figura 6) retirados das sementes de *Quisqualis indica* e *Quisqualis fructus* configurações semelhantes ao 1,2,4-oxadiazólico (Takemoto *et al.*, 1975).

Figura 5: Estruturas químicas das fidianidinas A e B.



Fonte: autoria própria, 2024.

Figura 6: Estrutura química do ácido quisqualico.

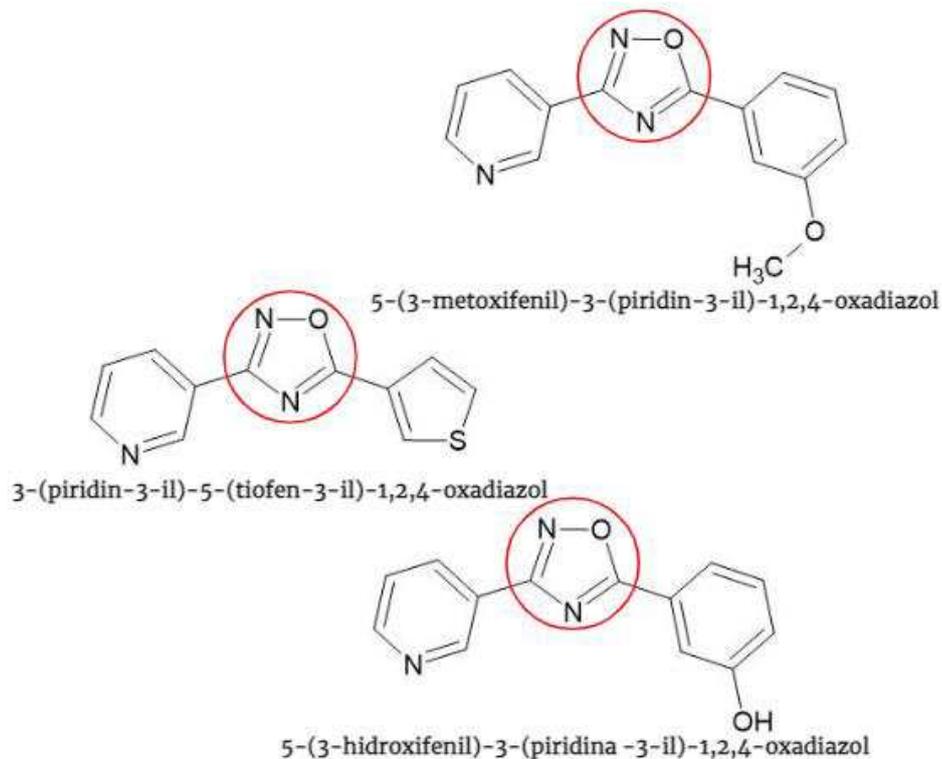


Fonte: autoria própria, 2024.

Outro achado recente associado ao núcleo 1,2,4-oxadiazol diz respeito a fonte natural isolada de tubérculos de *Neowerdermannia vorwerkii* em que Ticona *et al.* (2022) identificaram dois 1,2,4-oxadiazol desconhecidos (3-(piridin-3-il)-5-(tiofen-3-il)-1,2,4-oxadiazol e 5-(3-hidroxifenil)-3-(piridina-3-il)-1,2,4-oxadiazol) e um conhecido (5-(3-metoxifenil)-3-(piridin-3-

il)-1,2,4-oxadiazol) (figura 7). Suas estruturas químicas foram elucidadas através de análises espectroscópicas de RMN além de ser constatada a capacidade apoptótica das moléculas descobertas contra uma série de células tumorais.

Figura 7: Estrutura química dos 1,2,4-oxadiazóis isolados do tubérculo *Neowerdermannia vorwerkii*



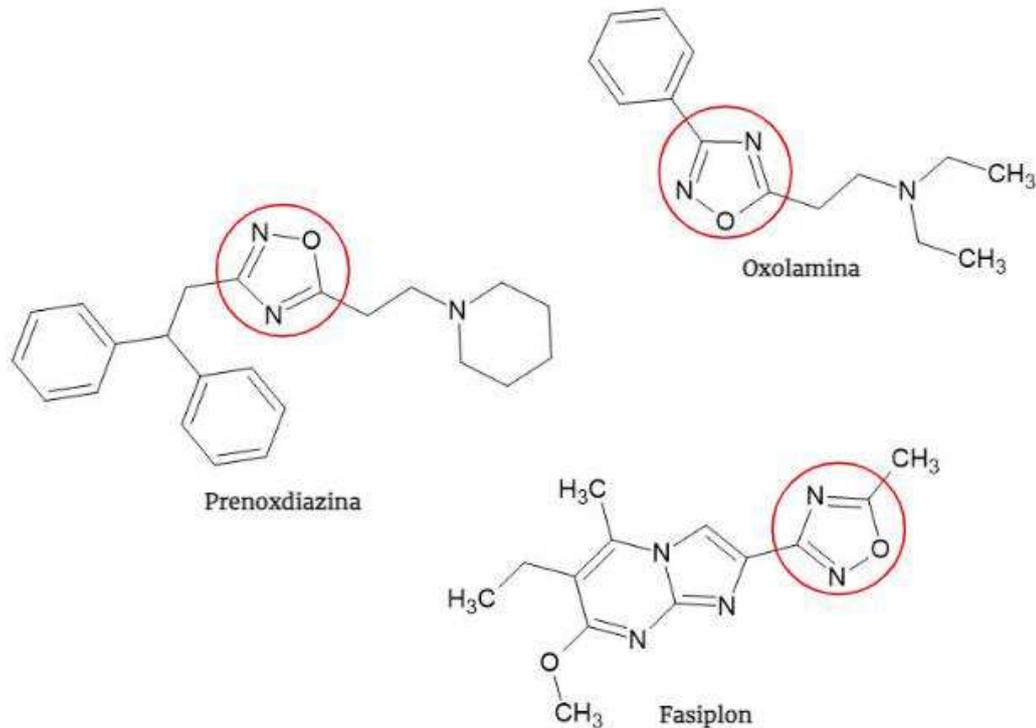
Fonte: autoria própria, 2024.

Portanto, os 1,2,4-oxadiazóis despertaram o interesse da indústria farmacêutica em virtude do conjunto de elétrons livres presente em sua estrutura, capaz de favorecer interações com sítios ativos e outras moléculas, além de sua seletividade, estabilidade em água, resistência à degradação enzimática e demais atributos desejados pela química medicinal (Pitasse-Santos, Sueth-Santiago; Lima, 2018; Medeiros, 2019). Logo, são empregados na interação direta da molécula com o seu sítio ativo biológico atuando, assim, como grupo farmacofórico, ou na modulação de propriedades biológicas, posicionando-se nas extremidades das moléculas e se comportando como ligante (Aguiar; Cunha, 2015; Monteiro, 2021).

Com isso, estes heterociclos potencialmente apresentam uma série de aplicabilidades e ações como antibiótica, antifúngica, anticancerígena, antioxidante, analgésica, antiinflamatória, antiviral, fungicida, anti-helmíntica, entre outras. Deste modo, são utilizados na terapêutica a partir de medicamentos presentes no mercado farmacêutico como os antitussígenos Oxolamina

(N,N-dietil-2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etanamina) e Prenoxdiazina (3-(2,2-difeniletil)-5-(2-piperidin-1-iletil)-1,2,4-oxadiazol), e o ansiolítico Fasiplon (3-(6-etil-7-metoxi-5-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-2-il)-5-metil-1,2,4-oxadiazol) estruturalmente visualizado na figura 8 (Aguiar; Cunha, 2015; Freitas *et al.*, 2012; Freitas *et al.*, 2021).

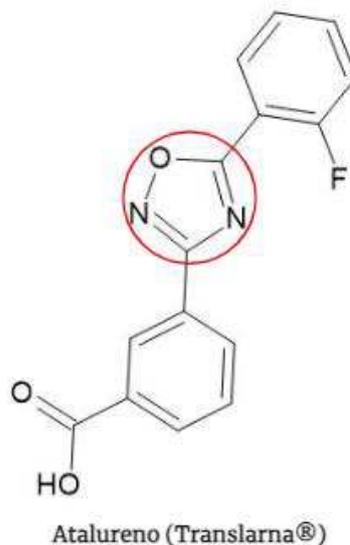
Figura 8: Estruturas químicas dos medicamentos Oxolamina, Prenoxdiazina e Fasiplon.



Fonte: autoria própria, 2024.

Por fim, o Atalureno, também conhecido como PTC124 ou Translarna® (figura 9), é um medicamento de destaque no cenário de comércio farmacêutico tendo em vista seu pioneirismo na terapia de mutações sem sentido, majoritariamente doenças hereditárias, incluindo a distrofia muscular de Duchenne (DMD) e a fibrose cística. Nesta perspectiva, vale destacar a presença do anel 1,2,4-oxadiazol na estrutura química do Translarna®, além de sua recente incorporação no catálogo do Sistema Único de Saúde (SUS) contribuindo expressivamente com o tratamento dos pacientes acometidos por este distúrbio degenerativo, progressivo e irreversível (Ryan, 2014; Campofelice *et al.*, 2019).

Figura 9: Estrutura química do Atalureno (Translarna®)



Fonte: autoria própria, 2024.

3.3 Estratégias de síntese para os 1,2,4-oxadiazóis

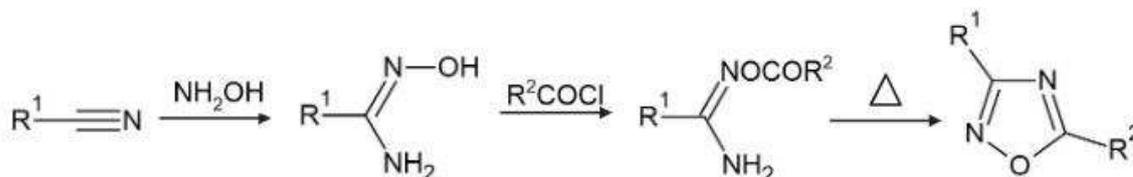
A literatura descreve diversas metodologias para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis as quais resumem-se em duas estratégias principais denominadas de cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrila à nitrilas e ciclização de derivados de amidoxima. Entretanto, a rota majoritariamente empregada nesta síntese, envolve a reação entre amidoximas e derivados carbonílicos, como ácidos carboxílicos e ésteres. Assim, a conhecida rota da amidoxima associada a incidência de diferentes fontes de energia, como irradiação de micro-ondas ou ultrassom, apresenta variações em tempo reacional, custo e rendimento, tendo se difundido e adquirido popularidade entre os membros da comunidade científica (Freitas *et al.*, 2012; Aguiar; Cunha, 2015).

Desta forma, a rota da amidoxima envolve a interação entre diversas nitrilas e hidroxilamina, e sequencialmente o tratamento com ácidos carboxílicos ou com seus derivados (ésteres, cloretos de ácido, anidridos). Assim, a estratégia de cicloadição apresenta grande relevância em virtude de sua complementaridade e permissão do uso de diferentes nitrilas, compostos carbonilados e amidoximas (Srivastava *et al.*, 2009; Viana, 2019).

Logo, o método de Tiemann para a formação dos 1,2,4-oxadiazóis, baseado na O-acilação de amidoximas seguida da condensação intramolecular com eliminação de água, consiste inicialmente na reação entre nitrilas e hidroxilamina, formando amidoximas. Em sequência, estas moléculas sofrerão acilação, transformando-se em O-acilamidoximas e,

posteriormente, serão desidratadas através do aquecimento e, por fim, configurando-se estruturalmente no oxadiazol de interesse (Esquema 2) (Freitas *et al.*, 2012).

Esquema 2. Síntese do 1,2,4- oxadiazol de acordo com o método de Tiemann.



Fonte: autoria própria, 2024.

Além disso, a associação da irradiação de micro-ondas e da O-acilação de amidoximas favorece a ciclocondensação de amidoxima e ésteres sob condições livres de solvente. Logo, as maiores taxas de aquecimento facilitam a transferência de energia direta para a amostra, aumentando a seletividade dos reagentes e a velocidade da reação, culminando em melhores rendimentos e maior aproveitamento do processo de síntese (Aguiar; Cunha, 2015; Viana, 2019). Assim, Freitas *et al.* (2007) demonstraram experimentalmente a partir da síntese de uma série de 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-butan-2-onas que a reação sintética, sem solvente e sob irradiação de micro-ondas, foi mais rápida e eficiente, obtendo rendimento de 90% e reduzindo o tempo reacional de 18 horas para 10 minutos.

Portanto, dentre as diversas estratégias para síntese dos 1,2,4-oxadiazóis a cicloadição somada a incidência de irradiação de micro-ondas, apresenta-se como uma metodologia promissora em virtude da versatilidade de reagentes possíveis, permitindo a utilização de diversos compostos carbonilados e amidoximas, além de contribuir para a diminuição do tempo reacional, facilidade do isolamento, aumento do rendimento e representação um método limpo livre de solventes obedecendo os princípios da química verde (Srivastava *et al.*, 2009; Viana, 2019).

3.4 Bioensaio Toxicológico - *Artemia salina* Leach

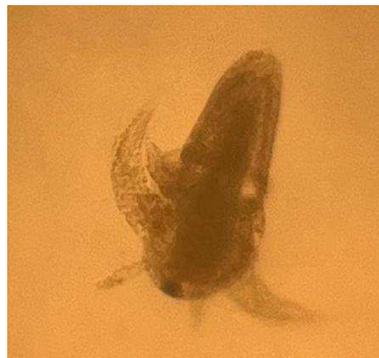
O desenvolvimento de novos fármacos é um processo complexo e rigoroso, o qual dispõe de uma série de etapas. Inicialmente, ocorre uma extensa pesquisa exploratória para que haja a identificação de moléculas candidatas com potencial terapêutico, e sequencialmente acontecem os ensaios pré-clínicos *in-vitro* e *in-vivo*, seguidos dos testes clínicos de fase I, II, III e IV. Logo, a partir desta extensa metodologia, a indústria farmacêutica busca avaliar primordialmente, a toxicidade, segurança e eficácia de substâncias potenciais em uma

diversidade de organismos e populações heterogêneas, na tentativa de garantir a efetividade do fármaco com o mínimo de efeitos indesejados possíveis (Souza *et al.*, 2022).

A fase pré-clínica desempenha um papel fundamental, tendo em vista que, nesta etapa os candidatos a medicamentos são avaliados quanto à sua eficiência e potencial tóxico. Assim, a pesquisa clínica baseia-se no uso de animais, microrganismo, microcrustáceos, cultura de células, vias bioquímicas e outras estratégias para a realização dos testes pertinentes, demandando uma análise minuciosa dos dados obtidos, a fim de garantir a seleção coerente dos compostos e, a partir disso, avançar para os ensaios clínicos em humanos reduzindo os eventos adversos e deletérios a saúde humana (Medeiros *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021; Mishra *et al.*, 2023).

Nesta perspectiva, o bioensaio utilizando *Artemia salina* (figura 10), destaca-se no cenário dos estudos pré-clínicos, em caráter preliminar, por sua sensibilidade, rapidez, baixo custo e confiabilidade, além de possibilitar a redução da utilização de animais de médio e de grande porte, diminuindo a dor e o sofrimento desses, configurando-se, assim, como uma metodologia alternativa. Entretanto, são os ensaios *in vivo* que fornecem com precisão informações detalhadas acerca da segurança e da eficácia dos candidatos a medicamentos (Victal, 2014; Dantas, 2023).

Figura 10: Imagem de microscopia da *Artemia salina*



Fonte: autoria própria, 2024.

A *Artemia salina*, também conhecida como camarão de salmoura, é um microcrustáceo da ordem Anostraca que apresenta o início do seu ciclo de vida a partir da eclosão dos cistos dormentes através do contato com água salina, logo, propiciando o nascimento da larva náuplio livre nadante. Os cistos apresentam os embriões encapsulados inativos, os quais são ativados quando hidratados com solução salina, promovendo o rompimento e a eclosão das membranas em um período de 24-48 horas (Monteiro, 2021; Okumu *et al.*, 2021).

Desta forma, as larvas náuplios de artêmia são o principal estágio de vida deste microcrustáceo utilizado em teste de toxicidade aguda para a determinação da concentração média letal estimada. Esses organismos são amplamente utilizados na testagem do potencial tóxico de substâncias em virtude de sua maior sensibilidade a agentes tóxicos quando comparado com a artêmia adulta. Além disso, o padrão de movimentação dos náuplios após contato com a amostra em um período de 24 horas facilita a determinação e diferenciação das larvas vivas e das não vivas (Mayorga *et al.*, 2010; Trompeta *et al.*, 2019).

Em suma, o bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina* consiste na submissão dos cistos em uma solução salina simulando seu ambiente natural e promovendo sua eclosão em cerca de 24 horas. Logo após, os náuplios são submetidos a diferentes concentrações da substância estudada e, por fim, realiza-se a contagem das larvas vivas e mortas, observando seu padrão de movimento, com a finalidade de obter dados para análises estatísticas e comparativas (Merino *et al.*, 2015).

Com isso, o teste toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* configura-se como uma metodologia promissora, efetiva e vantajosa para triagem de compostos. Desta forma, o baixo custo e disponibilidade comercial de seus cistos, curto ciclo de vida da artêmia, a facilidade de cultivo, a pequena quantidade da amostra empregada e a segurança do método são alguns dos aspectos que tornam o bioensaio útil e proveitoso como um estudo pré-clínico de caráter preliminar para o desenvolvimento de fármacos (Caiana *et al.*, 2020; Dantas, 2023).

4. METODOLOGIA

4.1 Locais de pesquisa

A síntese e purificação da benzamidoxima e do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona, além dos testes toxicológicos deste oxadiazol em *Artemia salina* foram realizados no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal, localizado no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande campus Cuité (CES-UFCG). Ao passo que a caracterização espectroscópica dos compostos pelas técnicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de carbono e hidrogênio foram processados em parceria com o Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (DQF-UFPE).

4.2 Material utilizado e Equipamentos

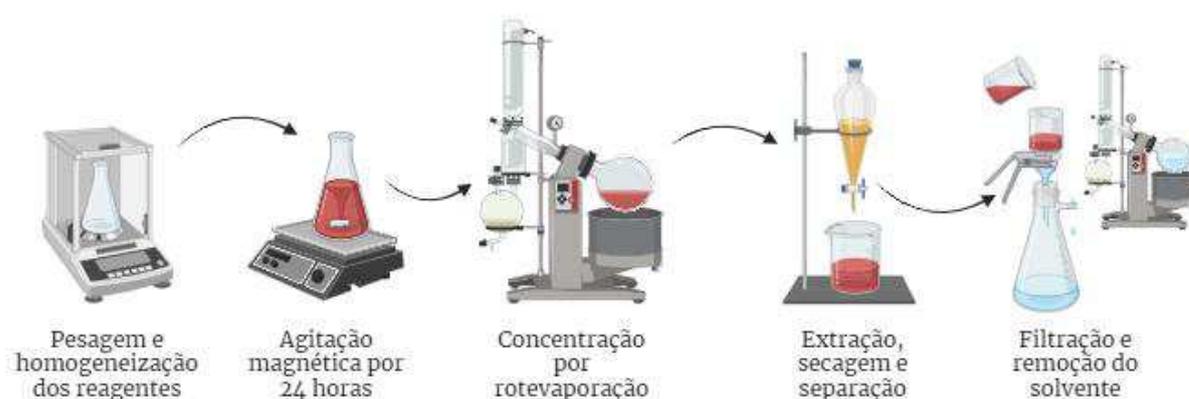
Utilizou-se uma chapa de agitação da marca Fisaton modelo 754A e um forno micro-ondas doméstico da marca Panasonic, 220 V, 20L, potência máxima de 700 W operando sob uma frequência de 2450 MHz para as sínteses da benzamidoxima e do oxadiazol, respectivamente. Além disso, os solventes e reagentes utilizados na pesquisa serão adquiridos dos fornecedores: Vetec, Neon, Aldrich, Dinâmica e Cinética. As reações foram acompanhadas por meio da cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de sílica-gel com indicador fluorescente F254 revelados sob a luz ultravioleta. A coluna cromatográfica disponível para o uso é da marca Vigreux. Os solventes foram removidos por meio de um rotaevaporador da Büchi Rotavapor modelo R-114 acoplado a uma bomba de vácuo modelo KNF Neuberger, de modo que a remoção do solvente residual foi elaborada com o auxílio de bomba de alto vácuo da Edwards modelo RV3. Por fim, as análises de ressonância magnética nuclear (RMN) e o espectro de infravermelho (IV) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN® modelo Unity Plus-300 utilizando como solvente o clorofórmio deuterado (CDCl₃) e um espectrofotômetro de infravermelho Fourier no Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer modelo PerkinElmer, respectivamente.

4.3 Síntese da benzamidoxima

Baseado na metodologia de Barros e colaboradores (2011), com algumas modificações, a síntese da benzamidoxima procedeu através da dissolução do cloridrato de hidroxilamina (4,046g; 20 mmol; 3eq) e carbonato de potássio (4,027g; 19mmol; 1,5eq) em 50 mL de água destilada à temperatura ambiente em um balão de fundo redondo com capacidade de 500 mL.

Paralelamente, 19 mmol da benzonitrila dissolvida em etanol 98% (50 mL) foram adicionados à mistura reacional e submetida a agitação magnética por cerca de 24 horas, sob temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por meio de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel e um sistema eluição acetato de etila:hexano (na proporção 60:40, respectivamente), de modo contatou-se o final do processo através do consumo total da benzonitrila visualizado mediante uma câmara escura com luz ultravioleta. Com isso, procedeu a concentração da mistura reacional mediante evaporação rotativa por pressão reduzida, com o auxílio de um rota- evaporador, formando um sistema bifásico (a fase aquosa e o produto insolúvel em água). Logo, a extração da benzamidoxima do meio aquoso foi realizada por meio de 3 lavagens do sistema com 15 mL de acetato de etila. Posteriormente, sucedeu a secagem e separação da fase orgânica com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e, em seguida, filtração. A partir disso, o solvente foi removido sob pressão reduzida e a benzamidoxima foi obtida por cristalização em clorofórmio:hexano na proporção de 90:10, respectivamente (figura 11).

Figura 11. Metodologia de síntese da benzamidoxima.



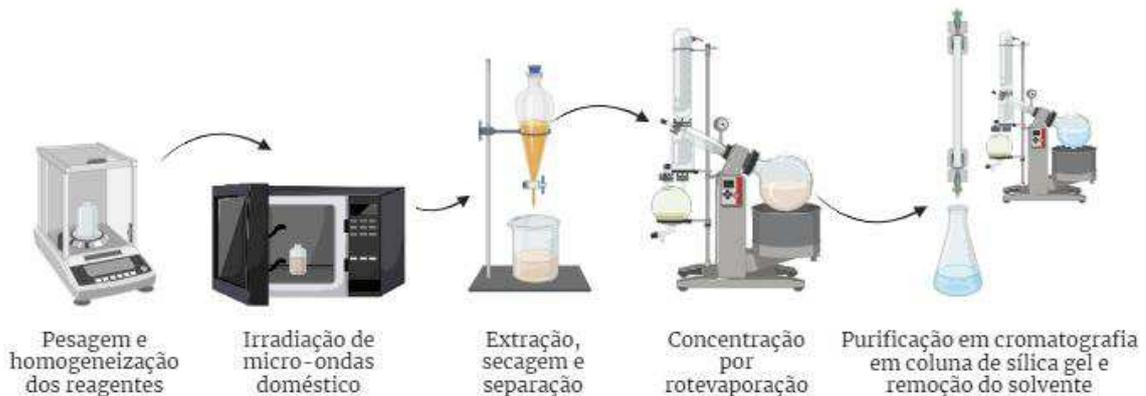
Fonte: autoria própria, 2024.

4.4 Síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona

Tomando a metodologia de Barros *et al.* (2014) como base, a benzamidoxima obtida foi empregada na síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona. Logo, em um vidro de penicilina adicionou-se a benzamidoxima (0,204g, 1,5mmol, 1,5eq), o K_2CO_3 (0,069g, 0,5mmol, 0,5eq), o éster acetoacetato de etila (0,130g, 1mmol, 1eq), três gotas do solvente dimetilformamida (DMF) e sucedeu a homogeneização dos componentes. A mistura foi submetida à irradiação de micro-ondas doméstico sendo aquecida sob potência variável, e tomando a posição central do aparelho em que há a maior incidência de irradiação. Vale

ressaltar a disposição de um erlenmeyer contendo água no interior do micro-ondas visando evitar o superaquecimento da reação. A mistura reacional foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando uma solução de vanilina como sistema de revelação para o acetoacetato de etila o qual não é visível por luz UV. Sequencialmente a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, extraída e lavada com acetato de etila (3x 10mL) em uma solução saturada de cloreto de amônio NH_4Cl (20mL), respectivamente. Com isso, procedeu a secagem da a fase orgânica com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e concentração do sistema sob pressão reduzida no rota-evaporador. Por conseguinte, realizou-se a purificação do produto através da cromatografia em coluna de sílica gel utilizando um sistema hexano-acetato de etila em diferentes concentrações como fase móvel. Finalmente, o 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona foi separado do solvente por meio do rota-evaporador e obtido na sua forma pura (figura 12).

Figura 12. Metodologia de síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.



Fonte: autoria própria, 2024.

4.5 A determinação da potência real e calibração do micro-ondas

Fundamentando-se na metodologia de Souza, Nogueira e Rassini (2002) com modificações, a calibração e determinação da potência real de trabalho do forno micro-ondas (FMO) doméstico da marca Panasonic, 220 V, 20L, potência máxima de 700 W operando sob uma frequência de 2450 MHz foi realizada pela medida indireta da elevação da temperatura de 110 ml de água disposta em béquer de vidro com capacidade para 200ml por 60 segundos, nas potências programadas de 100, 90 e 80%. O cálculo da potência real de trabalho do FMO foi realizado conforme equação 1.

$$P = \frac{K \cdot Cp \cdot m(\Delta T)}{t} \text{ (Equação 1)}$$

No qual: P - Potência real de trabalho (W- J.s-1); K- fator de conversão: cal/s → W (4,184 W. s. cal-1) s. cal-1); Cp - capacidade calorífica da água (cal. g-1 °C-1); m - massa da amostra de água (g); ΔT- variação de temperatura observada, (°C); t- tempo de irradiação (s) (figura 13).

Figura 13. Metodologia para a calibração do micro-ondas.



Fonte: autoria própria, 2024.

4.6 Teste toxicológico do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona frente a larvas de *Artemia salina* Leach

A partir da metodologia de Meyer *et al.* (1982) o bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach procedeu, inicialmente, por meio da incubação dos cistos deste microcrustáceo em uma incubadora, compreendida como um recipiente de vidro retangular com um anteparo apresentando furos distribuídos uniformemente, dividindo o receptáculo em duas partes. Assim, estes cistos foram dispostos em um dos lados do recipiente, o qual foi coberto, e submergidos em solução salina artificialmente preparada através da dissolução de 19 g de sal marinho da marca Marinex em 500 mL de água destilada em pH 8,5. O sistema foi submetido a uma iluminação artificial por um período de 24 horas, facilitando a eclosão dos crustáceos que são atraídos pela luz evidenciada do outro lado do receptáculo, forçando-os a atravessar a divisória e facilitando sua coleta. Assim, as artêmias foram separadas e agrupadas com o auxílio de uma pipeta de *Pasteur*, de modo que cada tubo de ensaio contivesse grupos de 10 indivíduos.

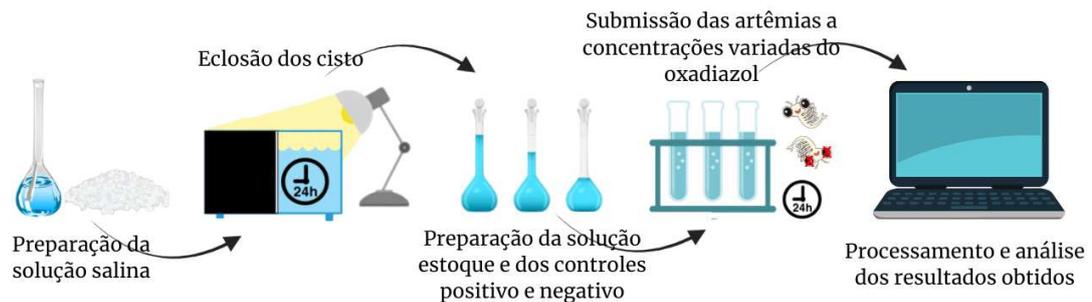
Paralelamente, uma solução estoque de concentração 2000 µg/mL utilizando 20 mg do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona, 0,25 mL do co-solvente dimetilsulfóxido (DMSO) e 0,25 mL do surfactante não iônico Tween 20 dissolvidos e homogeneizados em solução salina suficiente para 10mL de volume total foi preparada a fim de realizar uma triagem inicial. Desta solução foram retiradas alíquotas de volumes variáveis e acrescentadas quantidades de solução salina suficiente para completar 2500 µL, objetivando alcançar

concentrações específicas e necessárias de oxadiazol em solução salina relevantes para a realização do estudo. Logo, a partir dos resultados obtidos nesta triagem inicial, realizou-se testes subsequentes de maneira análoga visando investigar o comportamento do microcrustáceo à variação das concentrações.

Os testes foram realizados em triplicata e acompanhados por controles positivo e negativo. Desse modo, o controle positivo, objetivou a morte de todas as artêmias a fim de verificar o perfil de resistência dos indivíduos testados, consistindo na disposição de 10 indivíduos a uma solução de benzamidoxima com 100 $\mu\text{g/mL}$ de concentração. O controle negativo, por sua vez, compreendeu uma solução contendo o co-solvente dimetilsulfóxido e o surfactante não iônico Tween 20 dissolvidos solução salina, o qual certificou a toxicidade e influência destes sobre os microcrustáceos em estudo.

Por fim, após a submissão de 24 horas de iluminação artificial, contabilizou-se a quantidade de indivíduos vivos e mortos em cada tubo de ensaio e procederam as análises estatísticas dos dados através do *software* POLO-PC (*Copyright LeOra Software 1987*) para obtenção do valor da concentração letal para matar 50% dos indivíduos (CL_{50}) (figura14).

Figura 14. Metodologia do bioensaio toxicológico em *Artemia salina* do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.



Fonte: autoria própria, 2024.

4.7 Teste toxicológico do acetoacetato de etila a larvas de *Artemia salina* Leach.

Semelhantemente ao processo adotado para a realização do bioensaio toxicológico em *Artemia salina* do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona, a metodologia de Meyer *et al.* (1982) também embasou o experimento envolvendo o éster acetoacetato de etila. Assim, de maneira análoga, os cistos do microcrustáceo foram submersos em solução salina, incubados por 24 horas e agrupados em populações de 10 indivíduos.

A partir disso, inicialmente foi preparada uma solução estoque de concentração 2000

$\mu\text{g/mL}$ utilizando 20 mg do acetoacetato de etila dissolvido e homogeneizado no co-solvente dimetilsulfóxido (DMSO) e solução salina. Sequencialmente foram retiradas alíquotas de volumes variáveis dissolvidas em solução salina a fim de alcançar as concentrações pertinentes para a realização do estudo.

Logo, as artêmias foram submetidas às diferentes concentrações do éster estudado pelo período de 24 horas, acompanhadas por um controle positivo composto por uma solução de 100 $\mu\text{g/mL}$ de benzamidoxima e um controle negativo compreendendo uma solução contendo apenas o co-solvente dimetilsulfóxido dissolvido em solução salina. Desta maneira, o teste foi realizado em triplicata de modo que, ao final do tempo de incubação, os microcrustáceos foram contabilizados como vivos ou mortos e submetidos à análise estatística por meio do *software* POLO-PC (*Copyright LeOra Software 1987*) a fim de determinar a CL_{50} do acetoacetato de etila.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese da benzamidoxima

De acordo com a literatura, as amidoximas podem ser obtidas a partir de três abordagens: ultrassom, agitação magnética ou sob refluxo. Dependendo da abordagem sintética escolhida, o rendimento e o tempo de síntese da amidoxima podem variar drasticamente (Viana, 2019). Sabendo disso, optou-se pelo emprego da agitação magnética em que o sistema reacional é submetido a uma agitação constante sob temperatura ambiente por um espaço de tempo específico. Logo, apesar de ser um processo relativamente lento e com tempo reacional maior que as demais metodologias, seu rendimento demonstra-se satisfatório.

Inicialmente foi realizada a síntese da benzamidoxima, utilizando como estratégia sintética o método convencional, em que a benzonitrila reage com o cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) na presença de carbonato de potássio (K_2CO_3) em meio hidroetanólico (Figura 15). Esta foi uma das primeiras metodologias empregadas para a obtenção das amidoximas, em meados de 1873 (Freitas Filho *et al.*, 2015).

Figura 15. Síntese da benzamidoxima pelo método de agitação sob temperatura ambiente.

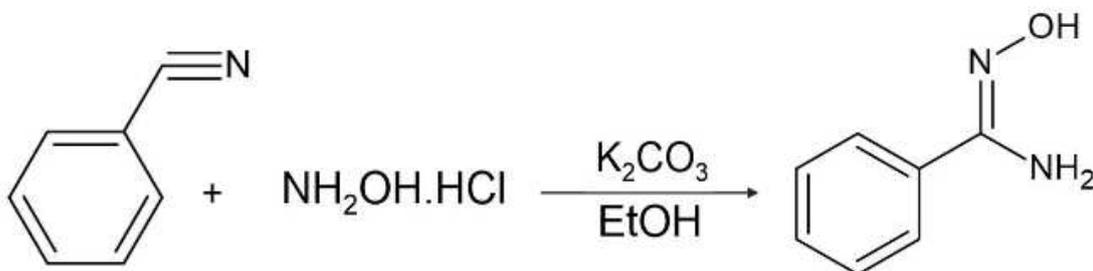


Fonte: autoria própria, 2024.

Nesta reação, o carbonato de potássio (K_2CO_3) reage com o cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$), levando a formação *in situ* da hidroxilamina (NH_2OH). A hidroxilamina, por sua vez, atua como nucleófilo de modo que os átomos de nitrogênio ou oxigênio pertencentes

a sua estrutura atacam o átomo de carbono da nitrila culminando na formação da amidoxima de interesse (Esquema 3) (Freitas Filho *et al.*, 2015; Barbosa *et al.*, 2017).

Esquema 3. Mecanismo de síntese da benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

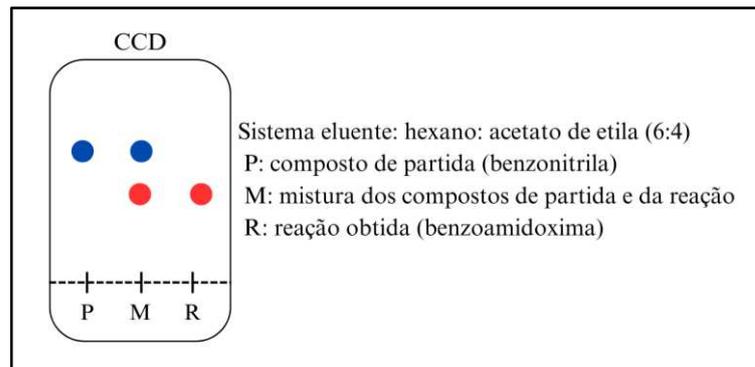
Assim, a síntese da benzamidoxima por meio do método de agitação magnética à temperatura ambiente obteve um rendimento de 82,7%, com tempo reacional de 24 horas sob agitação constante, culminando na formação de um cristal sólido branco (Figura 16). Isto posto, o término da reação foi constatado por meio do consumo total da benzonitrila (reagente limitante) observado a partir de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel e sistema eluição acetato de etila: hexano na proporção 60: 40, respectivamente (Figura 17).

Figura 16. Benzamidoxima pura.



Fonte: autoria própria, 2024.

Figura 17. Imagem da CCD da reação de formação da benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

Deste modo, considerando erros analíticos, equipamentos e as condições do laboratório, o resultado alcançado está em consonância com os achados de Dantas (2019) e Viana (2019) que constataram rendimentos de 72% e 79,02%, respectivamente, em reações de síntese de benzamidoximas em condições reacionais semelhantes. Portanto, é possível afirmar que a facilidade de processamento e o bom aproveitamento da reação são algumas das vantagens inerentes a esta metodologia, embora o tempo de reação seja mais expressivo.

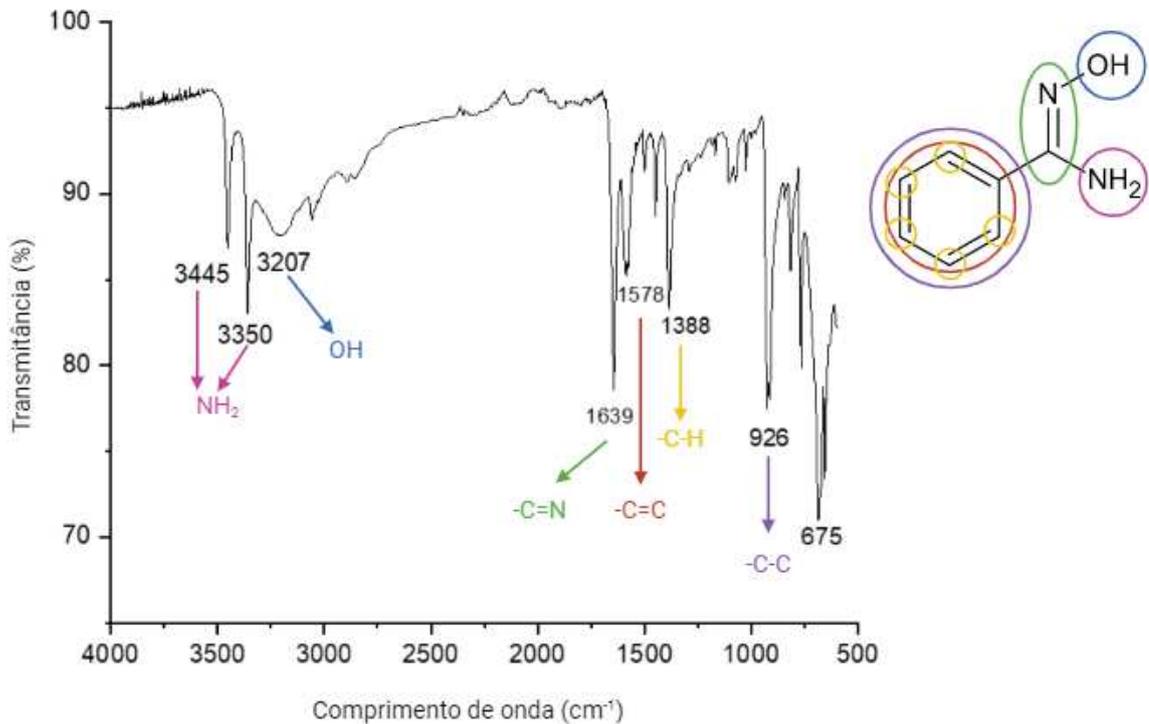
Adicionalmente, o banho ultrassônico e a submissão da mistura reacional a um sistema de refluxo apresentam-se como abordagens igualmente vantajosas para obtenção de

amidoximas. Neste sentido, autores como Medeiros *et al.* (2020), Andrade, Freitas Filho e Freitas (2016) relatam a síntese da benzamidoxima utilizando o ultrassom atingindo rendimentos de 82% e 80% em tempo reacional de aproximadamente 20 minutos a temperatura de cerca de 50 °C. Utilizando a mesma abordagem, Viana (2019) obteve 96,04% de rendimento em 60 minutos de reação, logo ratificando a eficiência da metodologia, apesar de algumas desvantagens como aquecimento lento, ineficiente e não uniforme. Por fim, Viana (2019) também demonstrou a eficácia da síntese de amidoximas sob refluxo em tempos reacionais de 120 e 180 minutos sob temperaturas de 70°C e 50°C atingindo rendimentos de 96,08% e 95,03%, respectivamente.

5.2 Caracterização espectroscópica da benzamidoxima

Nessa perspectiva, após a obtenção da benzamidoxima, realizou-se a caracterização por meio de técnicas espectrométricas na Universidade Federal Rural de Pernambuco a fim de confirmar a estrutura da molécula em foco, assim, dispondo de espectros de infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e de carbono-13 (RMN ¹³C). Desta forma, no espectro de infravermelho dispôs as principais bandas de absorção foram de 3445, 3350, 3207, 1639, 1578, 1388, 926, 675 cm⁻¹. Portanto, as bandas em 3445 e 3350 cm⁻¹ representam os estiramentos das ligações de hidrogênio entre nitrogênio e hidrogênio, ao passo que o pico em 3207 cm⁻¹ demonstra a interação entre o oxigênio e o hidrogênio do grupo hidroxila. As bandas de absorção em 1639 e 1578 cm⁻¹ expressam as ligações duplas entre carbono e nitrogênio, e carbonos respectivamente (-C=N, -C=C). Além disso, em 1338 e 926 cm⁻¹ nota-se picos referentes aos dobramentos das ligações simples entre carbono e hidrogênio e entre os carbonos do anel aromático monossustituído. Por fim, cabe ressaltar que a ausência de bandas de absorção entre 2000 e 2500 cm⁻¹ confirmam o consumo total da benzonitrila, tendo em vista que esta região é caracterizada pela presença de picos referentes à ligação tripla entre carbono e nitrogênio determinante da função nitrila (Figura 18).

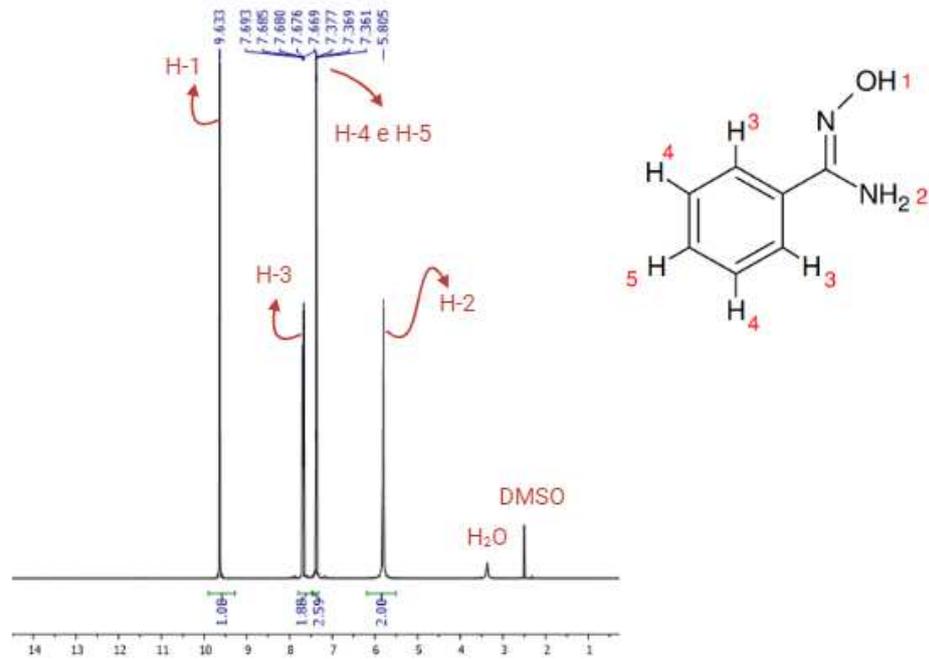
Figura 18. Espectro de infravermelho (IV) para a benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

Somado a isso, a benzamidoxima também foi caracterizada por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C). Neste sentido, o espectro de RMN ^1H apresenta o somatório das integrais aproximado de um total de oito hidrogênios, que condizem com a quantidade de hidrogênios da estrutura analisada, além de esboçar quatro sinais de hidrogênios correspondente aos hidrogênios quimicamente diferentes presentes na estrutura. Em 9,633 ppm observa-se um simpleto referente ao hidrogênio (H-1) relativo ao grupo isonitroso (NOH). Constata-se, também, picos do tipo multiplete entre 7,693 a 7,669 ppm com integral de aproximadamente dois, equivalente aos hidrogênios (H-3). Identificou-se outro multiplete, com integral, aproximando-se a três, na região ampliada entre 7,377 a 7,361 ppm, os quais são respectivos aos hidrogênios H-4 e H-5. Finalmente, o pico na forma de um simpleto presente em 5,805 ppm refere-se aos hidrogênios H-2 do grupo amino NH_2 (Figura 19).

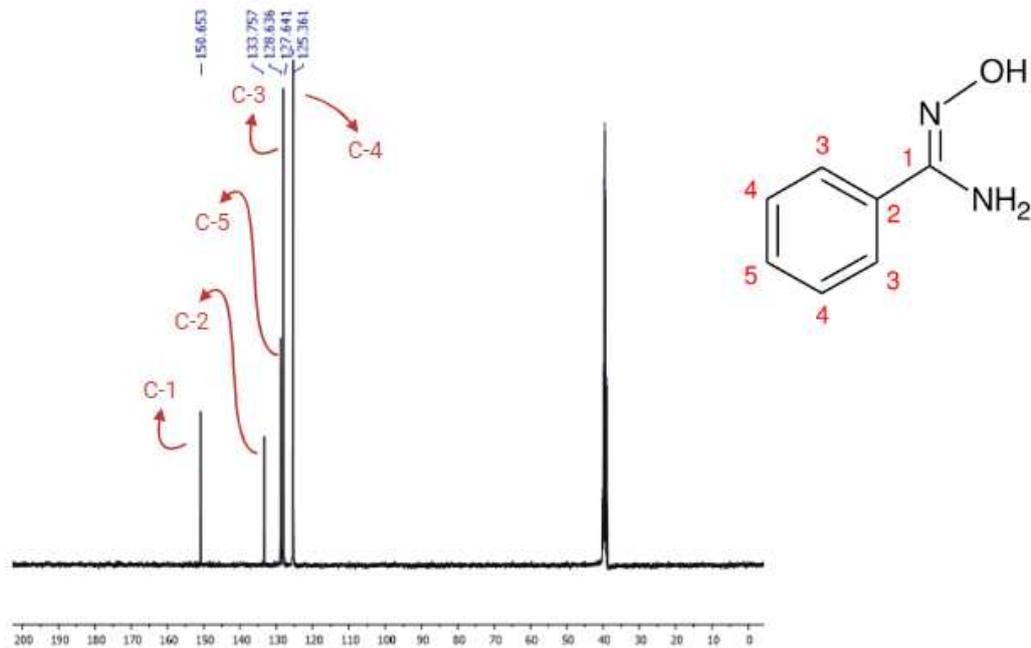
Figura 19. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

O de RMN de ^{13}C apresentou cinco sinais de carbonos quimicamente diferentes. O carbono C-1, desblindado por estar diretamente ligado a dois átomos de nitrogênio, é identificado em 150,653 ppm. O pico de menor intensidade em 133,757 ppm refere-se ao carbono quaternário C-2 desblindado pela sua proximidade com a porção amidoxímica que retira densidade eletrônica. Em 127,641 ppm e 125,361 ppm observa-se sinais mais intensos, condizente com carbonos C-3 e C-4, respectivamente, que apresentam dois carbonos quimicamente equivalentes. Por fim, o sinal em 128,636 ppm corresponde ao C-5 (Figura 20).

Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) da benzamidoxima.



Fonte: autoria própria, 2024.

5.3 A determinação da potência real e calibração do micro-ondas

Para verificar a influência da potência do micro-ondas na obtenção do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona inicialmente realizou-se a calibração do forno micro-ondas (FMO) da marca Panasonic, 220 V, 20L, potência máxima de 600 W operando sob uma frequência de 2450 MHz a partir da metodologia de Souza, Nogueira e Rassini (2002). Os valores encontrados para a potência real foram descritos na tabela 1, determinados por meio da equação 1 (descrito no item 5.5).

Tabela 1: Determinação da potência real do forno micro-ondas doméstico.

Potência utilizada (%)	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Potência teórica (watts)	Potência real (watts)
100 %	25,3 °C	79,1 °C	600 W	414,26 W
90 %	25,8 °C	76,8 °C	540 W	392,70 W
80 %	26,6 °C	73,3 °C	480 W	359,59 W

Fonte: autoria própria, 2024.

Nesta perspectiva, Oliveira *et al.* (2015), Barbosa *et al.* (2017) e Barboza *et al.* (2001), similarmente, constataram divergências entre a potência real de trabalho e a potência descrita

pelo fabricante destacando a discrepância entre os valores reais e teóricos. Desta forma, observa-se a ratificação dos resultados obtidos, os quais apresentam concordância com a literatura demonstrando a incompatibilidade entre os achados experimentais e a potência descrita teoricamente.

5.4 Síntese e verificação a influência da potência do micro-ondas na obtenção do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona

Uma vez obtida a benzamidoxima e realizada a calibração do forno micro-ondas doméstico, partiu-se para a síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona baseando-se na técnica de Barros e colaboradores (2014) com algumas modificações. Desta forma, os 1,2,4-oxadiazóis são potencialmente obtidos através de diferentes perspectivas como aquecimento, a irradiação de micro-ondas e ultrassom. Dentre estas abordagens, vale salientar a posição de destaque ocupada pela irradiação de micro-ondas, tendo em vista a redução do tempo reacional para minutos, a eliminação do uso de solventes e a contemplação de princípios da química verde. Assim, o emprego da cicloadição como estratégia para síntese desses heterociclos associada a incidência de micro-ondas apresenta-se como uma metodologia de grande relevância em virtude da permissão do uso de diferentes compostos carbonilados e amidoximas (Regueira; Freitas; Freitas Filho, 2016; Barbosa *et al.*, 2017).

Figura 21. Mistura reacional submetida a irradiação de micro-ondas para formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.

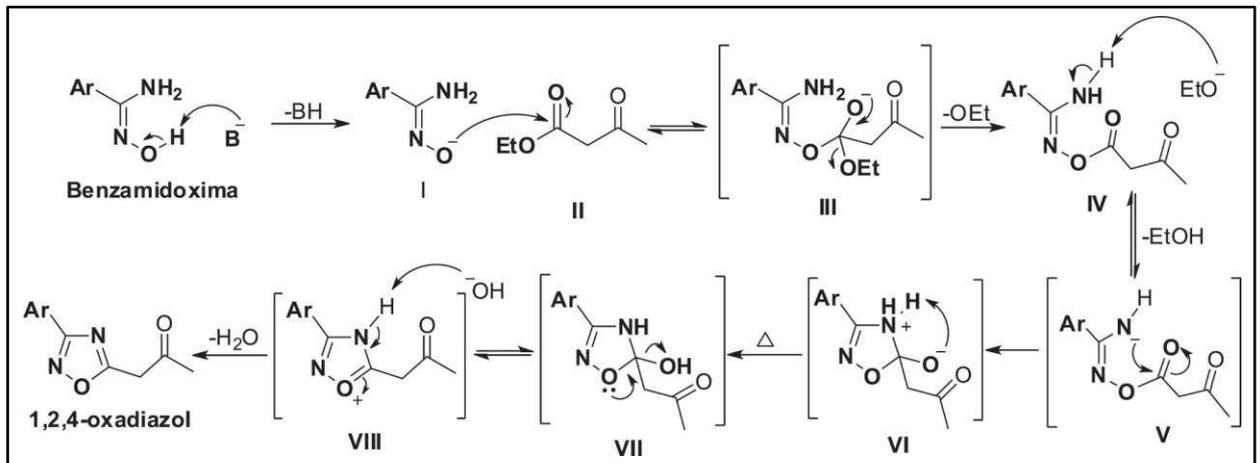


Fonte: autoria própria, 2024.

Logo, um provável mecanismo de formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona ocorre inicialmente através da desprotonação do hidrogênio do grupo isonitroso da

amidoxima provocada pelo sal básico carbonato de potássio (K_2CO_3), favorecendo a formação de um ânion em seu átomo de oxigênio. Com isso, a amidoxima passa a atuar como grupo nucleófilo atacando o carbono carbonílico do acetoacetato de etila favorecendo a formação de um intermediário instável tetraédrico com subsequente perda de etanol (EtOH) e rearranjo para uma segunda espécie intermediária. Assim, a partir da quebra da ligação N-H, migração do par de elétrons para o átomo de nitrogênio e abstração de seu próton, este segundo intermediário reconfigura-se em uma terceira espécie. Por fim, o terceiro intermediário passa por uma ciclização, reestruturação intramolecular e eliminação de água por aquecimento produzindo o 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona (Regueira; Freitas; Freitas Filho, 2016; Barbosa *et al.*, 2017; Monteiro, 2021).

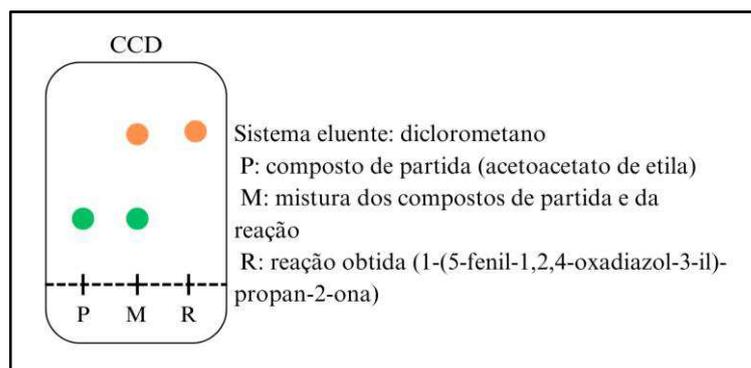
Esquema 4. Mecanismo de reação para formação do 1,2,4-oxadiazol.



Fonte: Regueira, Freitas, Freitas Filho (2016).

Isto posto, para síntese e verificação da influência da potência do micro-ondas na obtenção do oxadiazol em estudo, os reagentes benzamidoxima, acetoacetato de etila, carbonato de potássio (K_2CO_3) e dimetilformamida (DMF) foram submetidos à energia de irradiação com micro-ondas doméstico sob potência variável de 80 a 100%, a fim de analisar seus respectivos tempos reacionais e rendimentos. Deste modo, o término das reações foi constatado pelo consumo total do éster acetoacetato de etila (reagente limitante) observado a partir de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel e sistema eluição composto por diclorometano e visualizado por meio de uma solução de vanilina (Figura 22).

Figura 22. Imagem da CCD da reação de formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona.



Fonte: autoria própria, 2024.

Portanto, sob a potência de 80% obteve-se um tempo reacional de 6 minutos e 30 segundos e rendimento pós extração com acetato de etila em solução saturada de cloreto de amônio (NH_4Cl) de 71%. No entanto, quando o sistema foi submetido a irradiação micro-ondas na potência de 90%, foram necessários 2 minutos e 10 segundos para o consumo total do reagente limitante (acetoacetato de etila), alcançando rendimento de 64%. Por fim, com a potência de 100% a reação finalizou-se após decorridos cerca de 1 minuto e 30 segundos e obteve-se rendimento pós extração de 61% como descrito na tabela 2.

Tabela 2: Tempo reacional e rendimento pós extração das reação de síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona em irradiação micro-ondas com potência variável de 80 a 90%.

Potência do micro-ondas	Tempo reacional	Rendimento pós extração
Potência de 80%	6 minutos e 30 segundos	71% de rendimento
Potência de 90%	2 minutos e 10 segundos	64% de rendimento
Potência de 100%	1 minuto e 30 segundos	61% de rendimento

Fonte: autoria própria, 2024.

De acordo com os resultados apresentados, nota-se uma relação inversamente proporcional entre a potência do micro-ondas, o tempo reacional e o rendimento pós extração. Desta maneira, o aumento da potência provoca a redução do tempo reacional ao passo que diminui o rendimento final do processo. Logo, apesar de exibir o maior tempo reacional no estudo em questão, a submissão dos reagentes à energia de irradiação de micro-ondas sob

potência de 80% apresentou-se como a melhor metodologia para síntese do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona em virtude do rendimento de 71%.

Após a síntese, o produto foi purificado mediante cromatografia de coluna de vidro em sílica gel, tendo como fase móvel o sistema hexano/acetato de etila nas proporções variáveis a fim de ampliar a polaridade. Desta forma, o aumento gradativo da concentração de acetato de etila no sistema provocou a saída do oxadiazol na proporção de 7% de acetato de etila em hexano. Assim, ao final do processo, a amostra foi submetida a rotaevaporação sob pressão reduzida, com o objetivo de separar o sistema de solventes e o produto, culminando na formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona na forma de um líquido incolor, esboçado na figura 23, com rendimento reacional após purificação em cromatografia de coluna de vidro em sílica gel de 74,38%.

Figura 23. Amostras do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona puro na forma de um líquido transparente.



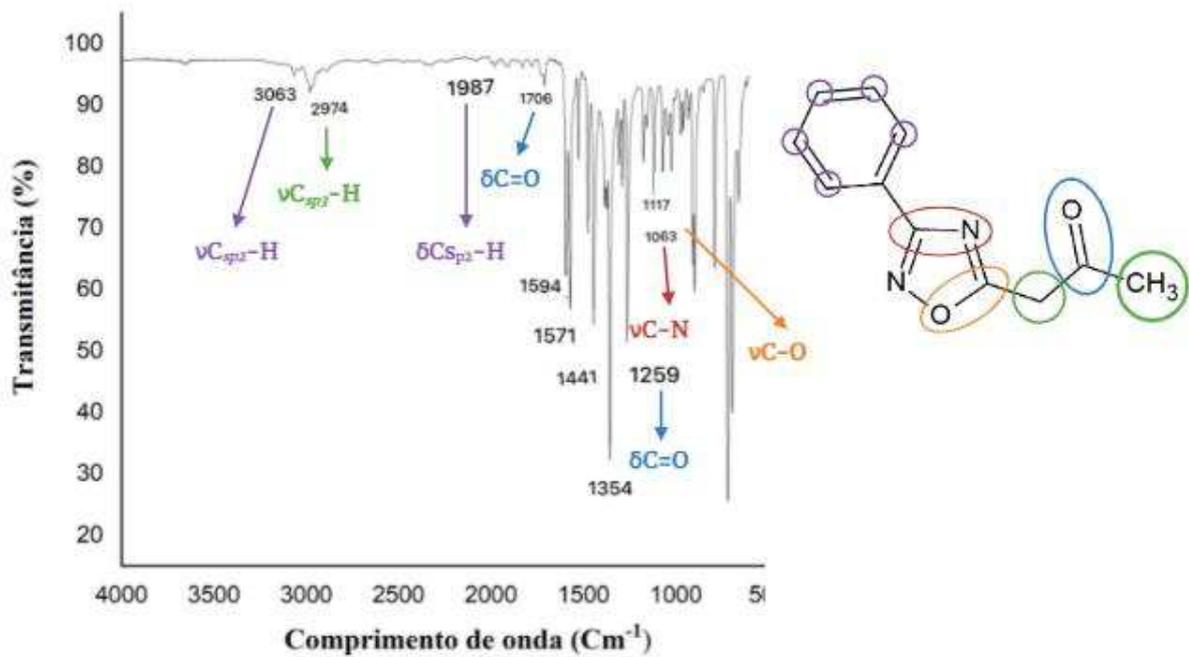
Fonte: autoria própria, 2024.

Os resultados apresentados ratificam as vantagens do uso da irradiação de micro-ondas, enfatizando redução do tempo reacional e mantendo um bom rendimento final, sendo assim, respaldados pelos estudos de Freitas e colaboradores (2007), que sintetizaram uma série 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-butan-2-onas sob irradiação de micro-ondas e obtiveram uma diminuição do tempo reacional de 18 horas no método convencional para 10 minutos.

5.5 Caracterização espectroscópica do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona

O 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona foi caracterizado por espectroscopia na região de infravermelho médio (Figura 24). No espectro de infravermelho do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona foi constatado a ausência da banda larga do estiramento das ligações O-H e NH₂, na região entre 3.400 a 3.200 cm⁻¹, e a banda intensa do estiramento da ligação C=O de ésteres, na região de 1730 cm⁻¹, o que indica os reagentes benzamidoxima e oxacetato de etila foram consumidos totalmente. Em contrapartida, as bandas em 3.063 cm⁻¹, 1.706 cm⁻¹, 1.259 cm⁻¹, 1.117 cm⁻¹ e 1.063 cm⁻¹ são referentes as vibrações das ligações νC_{sp2}-H, νC=O, δC=O, νC-O e νC-N, respectivamente, o que confirmar a formação do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona. Além dessas bandas, constatamos a presença das bandas 2.974 cm⁻¹ e 1.987 cm⁻¹, as quais são relativas ao estiramento da ligação C_{sp3}-H e a harmônica do dobramento da ligação C_{sp2}-H.

Figura 24. Espectro de infravermelho do composto 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.



Fonte: autoria própria, 2024.

5.6 Teste toxicológico do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona frente a larvas de *Artemia salina* Leach

Após o estudo das condições reacionais de síntese e caracterização do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona, por técnicas espectroscópicas, o composto foi submetido ao teste toxicológico em *Artemia salina* Leach, visando a análise do seu perfil de toxicidade e influência

frente aos microcrustáceos. Este bioensaio viabiliza a avaliação da toxicidade geral da substância, sendo considerado um ensaio preliminar e possibilitando a obtenção de concentração letal mediana (CL_{50}), ou seja, a concentração necessária para provocar a morte de 50% dos crustáceos nas amostras analisadas (Merino *et al.*, 2015; Bednarczuk *et al.*, 2010).

Figura 25. Cistos de *Artemia salina* submetidos à solução salina e iluminação artificial.



Fonte: autoria própria, 2024.

Figura 26. Larvas náuplios após eclosão dos cistos de *Artemia salina* no período de 24 horas.



Fonte: autoria própria, 2024.

O teste toxicológico procedeu através da incubação dos cistos de *A. salina* em um ambiente ideal composto por uma solução salina artificialmente preparada e iluminação artificial pelo período de 24 horas facilitando sua eclosão (Figuras 25 e 26). O estudo foi realizado em triplicada de forma que cada concentração estudada compreendesse o conjunto de 3 tubos de ensaio contendo 10 artêmias cada um. Assim, utilizou-se 360 artêmias ao total distribuídas em 36 tubos de ensaio com concentrações variando de 1000 a 10 $\mu\text{g/mL}$ da solução composta pelo 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona, conforme exposto na tabela 3.

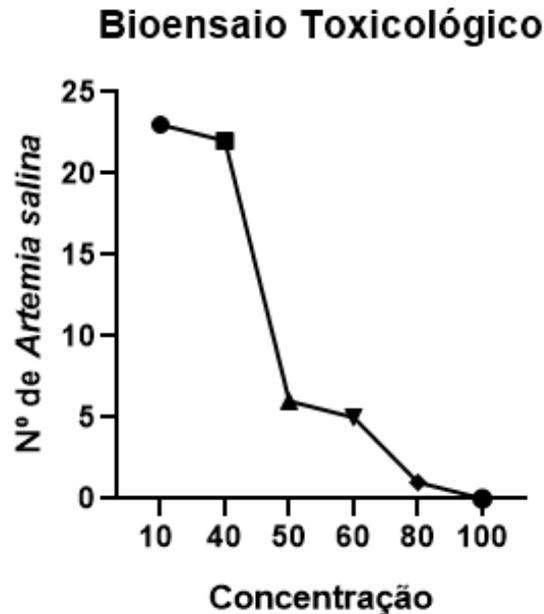
Tabela 3: Contagem das artêmias do bioensaio de *Artemia salina* com 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona. Fonte: autoria própria, 2024.

Concentração da substância testada ($\mu\text{g/mL}$)	Artêmias Vivas	Porcentagem de artêmias mortas (%)
1000	0	100%
500	0	100%
250	0	100%
160	0	100%
140	0	100%
120	0	100%
100	0	100%
80	1	96,67%
60	5	80%
50	6	83,34%
40	22	26,67%
10	23	23,34%

Fonte: autoria própria, 2024.

Baseado nos dados apresentados na tabela 3 e utilizando o *software* POLO-PC (Copyright Le Ora Software 1987) foi possível determinar o valor estimado da CL_{50} do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona e elaborar um gráfico correlacionando as concentrações utilizadas com o número de artêmias vivas (Gráfico 1). Desta maneira, a concentração letal para matar 50% dos indivíduos (CL_{50}) foi de 56,4 $\mu\text{g/mL}$ com desvio padrão de $\pm 1,7 \mu\text{g/mL}$, logo com 58,1 $\mu\text{g/mL}$ de limite superior, 54,7 $\mu\text{g/mL}$ de limite inferior e intervalo de confiança de 95%.

Gráfico 1. Perfil de toxicidade do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.



Fonte: autoria própria, 2024.

De acordo com Merino *et al.* (2015) são considerados altamente tóxicas as substâncias com valores de CL_{50} inferiores a $100 \mu\text{g/mL}$, ao passo que concentrações letais para matar 50% dos indivíduos entre 100 e $500 \mu\text{g/mL}$ são interpretadas como moderadamente tóxicas, compostos com valores CL_{50} entre 500 e $1000 \mu\text{g/mL}$ são suavemente tóxicas e CL_{50} superior a $1000 \mu\text{g/mL}$ possuem baixa toxicidade. Logo o 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona apresentou-se como um substância altamente tóxica em *Artemia salina*, tendo em vista que exibe CL_{50} abaixo de $100 \mu\text{g/mL}$, correspondendo a $56,4 \mu\text{g/mL}$.

Além disso, para validar o bioensaio toxicológico realizou-se o controle negativo, referente à solução contendo apenas os solventes utilizados para dissolver o 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona (ou seja, *Tween 20* e *DMSO*). Realizando a leitura do controle negativo, constatou-se que a solução dos solventes não foi capaz de interferir no ciclo de vida das artêmias utilizadas, comprovando que esses solventes empregados para solubilizar o oxadiazol não foram tóxicos para as artêmias. Por fim, realizou-se o controle positivo compreendendo uma solução de benzamidoxima a $100 \mu\text{g/mL}$ a qual provocou a morte de 100% artêmias, atestando o perfil não resistente da artêmias utilizadas.

O resultado alcançado está em concordância com os estudos de Machado *et al.* (2005) e Mata *et al.* (2021) os quais, separadamente, testaram o caráter tóxico frente a *Artemia salina* dos oxadiazóis 3,5-bis-(fenil)-1,2,4-oxadiazol e 3-(4-clorofenil)-5-(fenil)-1,2,4-oxadiazol, e 2-(3-aril-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol, obtendo CL_{50} nos valores de $2,13 \mu\text{g/mL}$, $4,57 \mu\text{g/mL}$ e

24,38 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Desta forma, percebe-se um perfil de CL_{50} semelhantemente baixo dos oxadiazóis estudados, destacando sua toxicidade significativa frente a este microcrustáceo.

Com isso, Harada (2009) demonstrou a correlação positiva entre os ensaios de citotoxicidade em *A. salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para substâncias de origem natural pertencentes a diferentes classes de produtos naturais como alcalóides, flavonóides e quinolonas. Neste sentido, as substâncias β -lapachona, emodina, duguetina e lapachol apresentaram tanto atividade para *A. salina* quanto as mais baixas CL_{50} dentre as estudadas sobre as linhagens de células tumorais utilizadas, logo sendo consideradas como indicativas para atividade antitumoral.

Em conformidade, Freitas *et al.* (2021) apresenta uma relação inversamente proporcional entre o valor da CL_{50} e a potencialidade de atividade citotóxica. Assim, quanto menor a CL_{50} , mais tóxica é a substância frente o organismo testado e maior é a possibilidade de atividade antitumoral. Desta forma, o valor numérico da CL_{50} do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona obtido por meio do teste toxicológico em *Artemia salina* demonstra seu potencial farmacológico e motiva a utilização do composto em outros bioensaios específicos visando a verificação de suas atividades biológicas.

Figura 27. Submissão dos náuplios a concentrações variáveis 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-propan-2-ona e contabilização das artêmias vivas e mortas.



Fonte: autoria própria, 2024.

5.7 Teste toxicológico do acetoacetato de etila a larvas de *Artemia salina* Leach

Analogamente, o teste toxicológico foi realizado também em triplicada com o acetoacetato de etila abrangendo 3 tubos de ensaio contendo 10 artêmias cada um para as concentrações estudadas (Figura 27). Desta forma, foram utilizadas 540 artêmias ao total distribuídas em 54 tubos de ensaio com concentrações variando de 3000 a 100 µg/mL da solução contendo o acetoacetato de etila, como disposto na tabela 4.

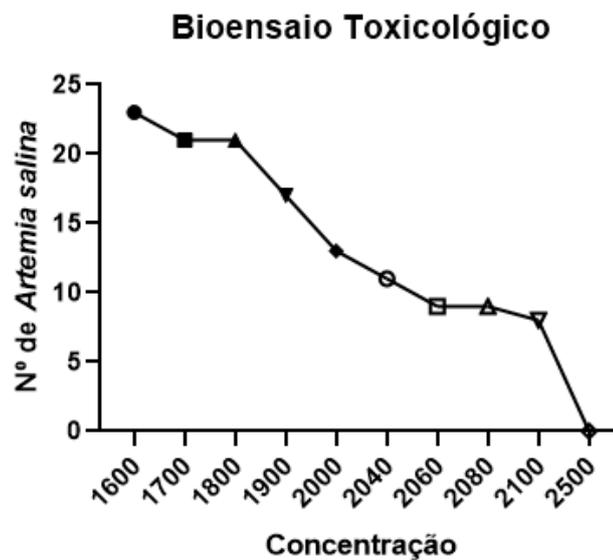
Tabela 4: Contagem das artêmias do bioensaio de *Artemia salina* com acetoacetato de etila.

Concentração da substância testada (µg/mL)	Artêmias Vivas	Porcentagem de artêmias mortas (%)
3000	0	100%
2500	0	100%
2100	8	73,34%
2080	9	70%
2060	9	70%
2040	11	63,34%
2020	14	53,34%
2000	13	56,67%
1900	17	43,34%
1800	21	30%
1700	21	30%
1600	23	23,34%
1500	23	23,34%
1200	24	20%
1000	22	26,67%
500	23	23,34%
250	24	20%
100	26	13,34%

Fonte: autoria própria, 2024.

Os dados obtidos foram processados pelo *software* POLO-PC (*Copyright Le Ora Software 1987*) estimando o valor da CL_{50} do éster acetoacetato de etila de 2023,78 $\mu\text{g/mL}$ com desvio padrão de $\pm 4,86 \mu\text{g/mL}$, limite superior 2028,64 $\mu\text{g/mL}$, limite inferior de 2018,92 $\mu\text{g/mL}$ e intervalo de confiança de 95%, como demonstrado no gráfico 2. Deste modo, baseado em Merino e colaboradores (2015) o éster apresenta-se como atóxico tendo em vista que o valor da sua CL_{50} é superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Gráfico 2. Perfil de toxicidade do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona.



Fonte: autoria própria, 2024.

Este resultado obtido apresenta similaridade com os achados de Batalini, Araujo e Marques Junior (2020), e de Ijiri *et al.* (2024), os quais verificaram a toxicidade de ésteres derivados do ácido benzóico e do ácido *para*-nitrobenzóico, e ésteres aromáticos mono, bi e tridentados alcançando resultados de CL_{50} entre 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ ou superiores a 1000 $\mu\text{g/mL}$ o que indicou que esses compostos exibiram moderada ou baixa toxicidade.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

À vista dos achados na literatura e dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se constatar que a metodologia de agitação magnética apresentou condições satisfatórias para a síntese da benzamidoxima, obtendo rendimento de 82,7%, com tempo reacional de 24 horas sob agitação constante. Além disso, com a calibração do forno micro-ondas (FMO) da marca Panasonic verificou-se divergências entre a potência real de trabalho e a potência descrita pelo fabricante, de modo que, em todos os testes, a potência real mostrou-se inferior à potência teórica.

Ademais, por meio da análise da influência da potência do micro-ondas na obtenção do oxadiazol, constatou-se que a potência de 80% representou a melhor estratégia de síntese, apesar de apresentar o maior tempo reacional de 6 minutos 30 segundos, porém a maior porcentagem de aproveitamento dentre as demais condições estudadas, assim, demonstrando rendimento de 71%.

Somado a isso, o bioensaio frente a *Artemia salina* Leach comprovou a viabilidade, economia e praticidade do método contribuindo como avaliação preliminar da toxicidade de substâncias, evitando a utilização de outros animais. Desse modo, através do teste toxicológico em *Artemia salina*, observou-se um alto índice de toxicidade do 1-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona frente o microcrustáceo analisado baseado na concentração letal para matar 50% dos indivíduos (CL_{50}), experimentalmente obtida, de 56,4 $\mu\text{g/mL}$. Em contrapartida, o éster acetoacetato de etila utilizado na síntese do oxadiazol estudado exibiu CL_{50} de 2023,78 $\mu\text{g/mL}$, sendo considerado como atóxico.

Por fim, os resultados encontrados motivam o aprofundamento do estudo da molécula e sua utilização em outros testes biológicos visando a verificação de atividades biológicas e contribuindo para o desenvolvimento e origem de protótipos capazes de favorecer o tratamento de diversas doenças.

7. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. P. de; CUNHA, F. S. Síntese e bioatividade de 1, 2, 4-oxadiazóis. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2509-2530, 2015.
- AL-MULLA, A. A review: biological importance of heterocyclic compounds. **Der Pharma Chemica**, v. 9, n. 13, p. 141-147, 2017.
- ANDRADE, D. de.; FREITAS FILHO, J. R. de.; FREITAS, J. C. R. Aplicação de amidoximas como catalisadores da reação de alilação por alitrifluoroborato de potássio em meio bifásico. **Química nova**, v. 39, p. 1225-1235, 2016.
- BARBOSA, M. V. S.; SILVA, E. R.; LIMA, J. A. C.; SILVA, J. F.; CAMPOS, A. R. N.; FREITAS, J. C. R. síntese e caracterização do 2-(3-fenil-1, 2, 4-oxadiazol-5-il) fenol mediado por forno de micro-ondas doméstico. **Educação, Ciência e Saúde**, v. 3, n. 2, p. 17, 2017.
- BARBOZA, A. C. R. N.; CRUZ, C. V. M. S.; GRAZIANI, M. B.; LORENZETTI, M. C. F.; SABADINI, E. Aquecimento em forno de microondas / desenvolvimento de alguns conceitos fundamentais. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 901-904, 2001.
- BARROS, C. J. P.; FREITAS, J. J. R.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS FILHO, J. R. Synthesis of amidoximes using an efficient and rapid ultrasound method. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 56, n. 2, p. 721-722, 2011.
- BARROS, C. J. P.; SOUZA, Z. C.; FREITAS, J. J. R.; SILVA, P. B. N.; MILITÃO, G. C. G.; SILVA, T. G.; FREITAS, J. C. R.; FILHO, J. R. F. A convenient synthesis and cytotoxic activity of 3-aryl-5-pentyl-1, 2, 4-oxadiazoles from carboxylic acid esters and arylamidoximes under solvent-free conditions. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 59, n. 1, p. 2359-2362, 2014.
- BATALINI, C.; ARAUJO, A. T.; MARQUES JUNIOR, J. Síntesis de ésteres derivados del ácido benzoico y del ácido para-nitrobenzoico y evaluación del potencial tóxico. **Revista Panorâmica online**, v. 3, 2020.
- BAYKOV, S.; SEMENOV, A.; TARASENKO, M.; BOYARSKIY, V. P. Application of amidoximes for the heterocycles synthesis. **Tetrahedron Letters**, v. 61, n. 42, p. 152403, 2020.
- BEDNARCZUK, V.O.; VERDAM, M.C.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v.11, n.2, p.44, 2010.
- BIERNACKI, K.; DAŠKO, M.; CIUPAK, O.; KUBIŃSKI, K.; RACHON, J.; DEMKOWICZ, S. Novel 1, 2, 4-oxadiazole derivatives in drug discovery. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 111, 2020.
- BOLOTIN, Dmitrii S.; BOKACH, Nadezhda A.; KUKUSHKIN, Vadim Yu. Coordination chemistry and metal-involving reactions of amidoximes: Relevance to the chemistry of oximes and oxime ligands. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 313, p. 62-93, 2016.

CAIANA, R. R. A.; MEDEIROS, H. I. R.; OLIVEIRA, R. J.; FREITAS, J. C. R. **Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana do 4-(3-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona**. Anais III CONBRACIS. Campina Grande: Realize Editora, 2018.

CAIANA, R. R. A.; MEDEIROS, H. I. R.; OLIVEIRA, R. J.; SILVA, B. B. M.; SILVA, J. F.; LIMA, J. A. C.; ARAÚJO, T. S. S.; SANTOS, C. S. Síntese e bioensaio toxicológico frente às larvas de artemia salina do nPROPIL 4,6-DI-O-Acetil-2,3-Didesoxi- α -D-Eritro-Hex-2-Enopiranosídeo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55512-55519, 2020.

CAMPOFELICE, A.; LENTINI, L.; DI LEONARDO, A.; MELFI, R.; TUTONE, M.; PACE, A.; PIBIRI, I. Strategies against nonsense: oxadiazoles as translational readthrough-inducing drugs (TRIDs). **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 13, p. 3329, 2019.

CARBONE, M.; LI, Y.; IRACE, C.; MOLLO, E.; CASTELLUCCIO, F.; DI PASCALE, 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.

CARVALHO, F. D. PD&I: o uso racional “nasce” antes do medicamento. **Série Uso Racional de Medicamentos: fundamentação em condutas terapêuticas e nos macroprocessos da Assistência Farmacêutica**. OPAS/OMS. Brasília, v. 1, n. 2, p. 1-5, 2016.

DANTAS, M. M.. **Síntese e Avaliação Toxicológica da Benzamidoxima Frente à Artemia salina Leach**. 2019. Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2019.

DANTAS, P. R. A. **Estudo das condições relacionais para síntese do 1, 2, 3,-triazol 1, 4-dissubstituído e avaliação toxicológica**. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Bacharelado em Farmácia, Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2023.

ELOY, F.; LENAERS, R. J. C. R. The Chemistry of Amidoximes and Related Compounds. **Chemical Reviews**, v. 62, n. 2, p. 155-183, 1962.

FREITAS, J. C. R.; FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. J. R.; SILVA, M. C.; MATA, M. M. S.; FREITAS, J. R.; BARBOSA, M. V. S.; ACIOLI, B. M. M. G.; BEZERRA, G. B. 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. de.; FREITAS, J. C. R. de.; SILVA, L. P. da.; FREITAS FILHO, J. R. de.; KIMURA, G. Y. V.. SRIVASTAVA, R. M. Microwave-induced one-pot synthesis of 4-[3-(aryl)-1, 2, 4-oxadiazol-5-yl]-butan-2-ones under solvent free conditions. **Tetrahedron letters**, v. 48, n. 35, p. 6195-6198, 2007.

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

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

HARADA, T. N. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais**. 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande. 2009.

HASSAN, A.; KHAN, A. H.; SALEEM, F.; AHMAD, H.; KHAN, K. M. A patent review of pharmaceutical and therapeutic applications of oxadiazole derivatives for the treatment of chronic diseases (2013–2021). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 32, n. 9, p. 969-1001, 2022.

HENDAWY, Omnia M. A comprehensive review of recent advances in the biological activities of 1, 2, 4-oxadiazoles. **Archiv der Pharmazie**, v. 355, n. 7, p. 2200045, 2022.

IJIRI, J. S.; SANTOS, M. F. L.; MARQUES JUNIOR, J.; SANTOS, W. B.; BATALINI, C. Síntese de ésteres aromáticos mono, bi e tridentados via metodologia verde e avaliações biológicas. **Disciplinarum Scientia Naturais e Tecnológicas**, v. 25, n. 1, p. 37-51, 2024.

JAKOPIN, Ž.; ILAŠ, J.; BARANČOKOVÁ, M.; BRVAR, M.; TAMMELA, P.; DOLENC, M. S.; TOMAŠIČ, T.; KIKELJ, D. Discovery of substituted oxadiazoles as a novel scaffold for DNA gyrase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 130, p. 171-184, 2017.

JAMPILEK, Josef. Heterocycles in medicinal chemistry. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 3839, 2019.

LOPES, P. G. M.; SPADER, T.; ALVES, S. H.; DORNELLES, L. **Perspectivas sobre atividades antimicrobianas de compostos derivados 1,2,4-oxadiazólicos**. Saúde. vol. 31, n. 1-2, p. 57-58, 2005.

MACHADO, S. L.; SANTOS, L. V.; COSTA, W. F.; DIAS FILHO, B. P.; SARRAGIOTTO, M. H. Synthesis, toxicity towards brine shrimp (*Artemia salina* Leach) and antimicrobial activity evaluation of 3, 5-diphenylchlorinated-1, 2, 4-oxadiazoles. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 27, n. 2, p. 107-110, 2005.

MATA, M. M. S.; BARBOSA, M. V. S.; FREITAS, J. R.; ACIOLI, B. M. M. G.; BEZERRA, G. B.; CUNHA FILHO, M.; FREITAS, J. J. R.; FREITAS, J. C. R.; FREITAS FILHO, J. R. Synthesis, characterization, cytotoxic and antimicrobial evaluation of 2-(3-aryl-1, 2, 4-oxadiazol-5-yl)-ethanethiol. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 6, p. 1330-1337, 2021.

MAYER, J. C. P. **1, 2, 3-triazolil-1, 2, 4-oxadiazóis derivados de N-óxidos N-heterocíclicos benzofundidos: síntese, caracterização físico-química, reatividade e estudo computacional**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria. 2021.

MAYORGA, P.; PÉREZ, K. R.; CRUZ, S. M.; CÁCERES, A. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 897-903, 2010.

MEDEIROS, H. I. R. de.; MEDEIROS, I. L. de.; SILVA, B. B. M. da.; AGUIAR, C. E. R.; FERREIRA, F. E. de S.; FERNANDES, N. D.; BRITO, T. A. de M.; MEDEIROS JÚNIOR, F. C. de. Síntese e Avaliação Toxicológica da Benzamidoxima Frente a Larvas de *Artemia Salina* Leach. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 57940-57945, 2020.

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 medicinais**, v. 17, 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 medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

MISHRA, A.; MISHRA, P.; TEKADE, M.; GUPTA, R.; RAJPOOT, K.; MOHAMED, F. H.; TEKADE, R. K. Toxicology in drug research. In: Essentials of Pharmacotoxicology. **Drug Research**, Volume 1. Academic Press, p. 29-56, 2023.

MONTEIRO, C. M. de O. **Síntese, caracterização e avaliação da toxicidade do 3-(aril)-5-(heptadecil)-1, 2, 4-oxadiazol através do bioensaio com artemia salina leach**. Bacharelado em Farmácia, Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde. 2023.

MUKESH, B; VANDANA, S. Antimicrobial activities of 1,3,4-oxadiazoles: a review. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, v. 2, n. 6, p. 1738 – 1742, 2011.

NICOLAIDES, D. N.; VARELLA, E. A. The chemistry of amidoximes. **Acid Derivatives (1992)**, v. 2, p. 875-966, 1992.

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, J. A. M.; MACEDO, A. D. B.; RAULINO, J. L. C.; RAULINO, A. M. D.; SANTANA, R. A. C.; CAMPOS, A. R. N. Determinação do teor de água de cactáceas pelos métodos padrão em estufa e micro-ondas. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 1027-1037, 2015.

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

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, 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. 1, p. 20, 2015.
- REGUEIRA, J. L. L.; FREITAS, J. J. R.; FREITAS FILHO, J. R. de. Preparação de 1, 2, 4-oxadiazol: sequência didática aplicada em disciplina de síntese orgânica na graduação. **Química Nova**, v. 39, p. 1019-1025, 2016.
- ROMERO, D. H.; BARRADAS, O. G.; PERALTA, R. C.; PAVÓN, E. S. Heterociclos: pequeñas y maravillosas estructuras en el organismo humano. **Revista Digital Universitaria**, v. 19, n. 4, 2018.
- RYAN, N. J. Ataluren: first global approval. **Drugs**, v. 74, p. 1709-1714, 2014.
- SILVA, M. G.; FURTADO, M. M.; OSÓRIO, A. T.; MORAIS, I. C. P; AMARAL, M. P. M.; COELHO, G. A.; 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, A. F. de.; REIS JÚNIOR, A. M. dos.; PEREIRA, G. R.; LEITE, J. G.; VERDIN, M. P.; MACEDO, M. F. de S.; QUINTÃO, M. P. B.; DE SOUZA, M. C.; PEREIRA, P. C. X.; SOUZA, J. H. K. de. Desenvolvimento de novas drogas / Development of new drugs. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 3, p. 9913–9927, 2022.
- SOUZA, G. B. de, NOGUEIRA, A. R. de A., RASSINI, J. B. Determinação de matéria seca e umidade em solos e plantas com forno de micro-ondas doméstico. Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica, 33, 9p. 2002.
- SRIVASTAVA, R. M.; PEREIRA, M. C.; FAUSTINO, W. W. M.; COUTINHO, K.; ANJOS, J. V.; MELO, S. J. Synthesis, mechanism of formation, and molecular orbital calculations of arylamidoximes. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, v. 140, p. 1319-1324, 2009.
- TAKEMOTO, T.; TAKAGI, N.; NAKAJIMA, T.; KOIKE, K. Studies on the constituents of Quisqualis Fructus. I. On the amino acids (author's transl). **Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan**, v. 95, n. 2, p. 176-179, 1975.
- TICONA, L. A.; SÁNCHEZ, Á. R.; BASTANTE, M. H.; SERBAN, A. M.; HERNÁIZ, M. J. Antitumoral activity of 1, 2, 4-oxadiazoles compounds isolated from the Neowerdermannia vorwerkii in liver and colon human cancer cells. **Phytochemistry**, v. 201, p. 113259, 2022.
- TIEMANN, F.; KRÜGER, P. Ueber amidoxime und azoxime. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 17, n. 2, p. 1685-1698, 1884.
- VIANA, M. R. da S. **Síntese e caracterização do 3-fenil-5-heptadecil-1, 2, 4-oxadiazol utilizando a irradiação de micro-ondas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde. 2019.
- 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. **Revinter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 36-57, 2014.