

Síntese, elucidação da arquitetura molecular e avaliação do potencial citotóxico de um promissor candidato a fármaco derivado de amidoxima**Synthesis, elucidation of molecular architecture and evaluation of the cytotoxic potential of a promising drug candidate derived from amidoxime**

DOI:10.34117/bjdv6n9-149

Recebimento dos originais: 10/08/2020

Aceitação para publicação: 08/09/2020

Herbert Igor Rodrigues de Medeiros

Bacharel em Farmácia

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455

e-mail: igorpls_15@hotmail.com

Bruna Barbosa Maia da Silva

Bacharel em Farmácia

Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco

Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, Recife - PE, 52171-900

e-mail: brunambsilva1@gmail.com

Carlos Eduardo Rodrigues Aguiar

Ensino Médio Completo

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Sítio Olho D'água da Bica, s/n, Cuité - PB, 58175-000

Thiago Araújo de Medeiros Brito

Graduado em Farmácia

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455

e-mail: thiago.farmacia.brito@gmail.com

Fernando Emanuel de Sousa Ferreira

Bacharel em Farmácia

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455

e-mail: ferdnan2010@hotmail.com

Natan Dias Fernandes

Bacharel em Farmácia

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455

e-mail: natandhias@gmail.com

Érika Paiva de Moura

Bacharel em Farmácia

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa - PB, 58033-455
e-mail: erikapivascc@hotmail.com

Francisco Cesino de Medeiros Júnior

Doutor em Zootecnia

Instituição: Instituto Federal do Maranhão

Endereço: Estr. Puraque - Zona Rural, Codó - MA, 65400-000

e-mail: cesinocaico@yahoo.com.br

RESUMO

As amidoximas são uma classe de compostos muito importantes, uma vez que sua aplicabilidade é diversa nos mais variados campos do conhecimento. Especificamente, a benzamidoxima possui importantes atividades biológicas, tais como: hipotensivas, tripanossomicidas e tuberculostáticas. Diante das diversas atividades da classe das amidoximas, no presente trabalho objetivou-se sintetizar um candidato a fármaco derivado desta promissora classe de biomoléculas, a 4-metilbenzamidoxima, e avaliar sua toxicidade frente à *Artemia salina*. A 4-metilbenzamidoxima foi sintetizada a partir da reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico, posteriormente foi caracterizada pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN 1H e 13C, enquanto que a CL₅₀ das artêmias foi determinada através do *software* POLO-PC. Como resultado, a 4-metilbenzamidoxima foi obtida em bom rendimento, na forma de um sólido cristalino, caracterizada e a CL₅₀ encontrada através do *software* POLO-PC, com 95% de confiança, foi de 18,553 µg/mL, o que é uma elevada toxicidade. Desta forma, é de extrema importância conhecer não só as propriedades biológicas dos produtos sintéticos, mas também os seus respectivos potenciais tóxicos para que se possa aplicá-los de modo seguro. Diante do exposto, a atividade citotóxica positiva encontrada poderá funcionar como uma pré-avaliação para substâncias com potenciais farmacológicos e serem utilizadas em estudos de modificação estrutural para serem possíveis candidatos a fármacos.

Palavras-chave: Benzamidoxima, Candidato a fármaco, *Artemia salina*.

ABSTRACT

Starch is a very important class of compounds, since its applicability is diverse in the most varied fields of knowledge. Specifically, benzamidoxima has important biological activities, such as: hypotensive, trypanosomicidal and tuberculostatic. In view of the various activities of the amidoxime class, this study aimed to synthesize a drug candidate derived from this promising class of biomolecules, 4-methylbenzamidoxima, and to evaluate its toxicity against *Artemia salina*. 4-Methylbenzamidoxime was synthesized from the reaction between benzonitrile and hydroxylamine hydrochloride in a hydroethanolic medium, later characterized by IR and 1H and 13C NMR spectroscopic techniques, while the LC₅₀ of the brine shrimp was determined using the POLO-PC software. As a result, 4-methylbenzamidoxima was obtained in good yield, in the form of a crystalline solid, characterized and the LC₅₀ found through the POLO-PC software, with 95% confidence, was 18.553 µg / mL, which is a high toxicity. Thus, it is extremely important to know not only the biological properties of synthetic products, but also their respective toxic potentials so that they can be applied safely. In view of the above, the positive cytotoxic activity found may function as a pre-assessment for substances with pharmacological potential and be used in studies of structural modification to be possible candidates for drugs.

Keywords: Benzamidoxima, drug candidate, *Artemia salina*.

1 INTRODUÇÃO

As amidoximas são compostos sintéticos e suas aplicabilidades são bem diversificadas. Elas possuem fórmula geral $RC(=NOH)NH_2$, onde R pode ser um hidrogênio, um grupo alquila ou arila (FREITAS et al., 2015). A síntese da primeira amidoxima foi realizada por Lossen e Schifferdecher em 1873, onde a nomearam de “isuretina”. Entretanto, apenas em 1884 o termo amidoxima foi utilizado, com a síntese da mandelamidoxima e benzamidoxima por Tiemann e Kruger (1884). A importância das amidoximas e seus derivados são indiscutíveis, pois são utilizadas em diversas áreas, principalmente na química sintética, agindo como intermediários para síntese de compostos heterocíclicos, por exemplo: os imidazóis (TANG, et al., 2014), oxadiazóis (BARROS, et al., 2014), benzimidazóis (ZHU, et al., 2012), dentre outros (ADIB, et al., 2010; XU, et al., 2015).

As atividades biológicas e farmacológicas das amidoximas são amplamente descritas pela literatura, onde podem atuar como: antimicrobiano (NINGAIAH, et al., 2013; SAULTER, et al., 2005), fungicida (RHEINHEIME, et al., 2000;), antimalárico (QUATTARA, et al., 2009; QUATTARA, et al., 2009), antioxidante (NINGAIAH, et al., 2013), analgésico (ABELE, LUKEVICS, 2001;), anti-helmíntico (FYLAKTAKDOU, et al., 2008), dentre outras aplicações. As amidoximas são utilizadas como precursores das amidinas, empregadas como pró-droga destes compostos (Rahmathullah, et al., 2008). Boykin (2002) relatou o uso de amidoximas como pró-farmacos das amidinas sendo administradas oralmente, apresentam uma potente atividade antimicrobiana, particularmente a bis-*O*- metilamidoxima, que em 2002 já estava em ensaios clínicos de Fase II. Além disso, derivados de amidoximas contendo ácidos dicarboxílicos foram patenteados, pois comportaram-se como potenciais agentes terapêuticos e profiláticos contra o câncer, pneumonia por *Pneumocystis carinii*, dentre outros (CLEMENT, et al., 2013; CLEMENT, et al., 2013).

Estas também atuam como agente quelante formando complexos com vários metais em solução, desempenhando inúmeras aplicações industriais, como por exemplo: Na remoção e recuperação de diferentes íons metálicos em solução aquosa (LIU, et al., 2011; LIN, LU, ZENG, 1993; HAZER, KARTAL, 2010), na adsorção e armazenamento de CO_2 (MAHURIN, et al., 2014), na preparação de biosensor de H_2 (ZHANG, et al., 2012), dentre outros. Dentre às amidoximas, destaca-se a benzamidoxima e esta possui diversas atividades, tais como: antitripanossomicidas, tuberculostáticas e hipotensivas (LOPES et al., 2005).

Diante da avaliação biológica nos estudos de novos compostos terapêuticos, o uso da mortalidade de organismos simples tem sido bastante aproveitado para o supervisionamento de

uma resposta biológica (MEYER et al., 1982; CASTELLO-BRANCO, 2009). O ensaio de letalidade por exemplo, serve como um teste precedente no estudo de substâncias que tenham um potencial atividade biológica, pois este permite a avaliação e a descoberta da toxicidade geral. Um dos microorganismos em destaque é a *Artemia salina* Leach, um microcrustáceo marinho conhecido como “camarão salmoura” (Pimentel, et al 2011). Este ser, é uma espécie empregada na avaliação prévia da toxicidade de substâncias de origem natural ou sintética (BELÉM et al., 2015), uma vez que é um método simples, rápido e de baixo custo (MERINO et al., 2015).

Na parte farmacológica e farmacêutica, observou-se que o uso deste crustáceo se concentrou nas pesquisas envolvendo produtos naturais, como na avaliação da atividade moluscicida, larvicida (LUNA, et al. 2005), anticonvulsivante (BAGHERI, et al. 2010), citotoxicidade em células de câncer hepático humano (GARCEZ, et al. 2005), dentre outros. Este ensaio também é muito usado na área da ecotoxicologia, para a avaliação da toxicidade de efluentes e poluentes ambientais (PETERS et al., 1997), além de servir para identificar toxinas produzidas por cianobactérias (Garcia-Rodriguez, et al., 2004). Na área de síntese, estudos mostram o uso da *A. salina* para a determinação da toxicidade de diversas substâncias (CHOHAN, et al. 2010). Diante dos potenciais biológicos e farmacológicos que as amidoximas vem apresentando, o presente estudo teve como objetivo sintetizar um candidato a fármaco derivado destas biomoléculas e avaliar sua toxicidade frente à *Artemia salina*.

2 METODOLOGIA

2.1 EQUIPAMENTOS E ANÁLISE DE DADOS

A reação foi realizada utilizando solventes e reagentes na sua forma comercial (P.A.), enquanto que o monitoramento da reação aconteceu por meio da cromatografia em camada delgada (CCD). Para a visualização da CCD, foi utilizada luz ultravioleta. As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN® modelo *Unity Plus-300* utilizando como solvente o clorofórmio deuterado. Este espectrômetro foi calibrado usando tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de ^1H e ^{13}C , e todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz). O ponto de fusão foi realizado no *Electro-thermal* série IA 9100 *Digital Melting Point*. O espectro de infravermelho foi obtido em espectrofotômetro de IV com Transformada de Fourier.

2.2 PROCEDIMENTO PARA SÍNTESE DA 4-METILBENZAMIDOXIMA

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL foram adicionados o cloridrato de hidroxilamina (1,04 g; 15 mmol), o carbonato de sódio (0,78 g; 7,50 mmol) e a água (20 mL). Depois colocou-se o balão em um banho ultrassônico até cessar a efervescência. Após o término da efervescência, adicionou-se a benzonitrila (0,51 mL; 0,51 g; 5,00 mmol) e o etanol (20 mL), e outra vez levou-se o balão ao banho ultrassônico sob temperatura de 55°C, por 20 minutos. Após a comprovação do término da reação através da CCD, concentrou-se a mistura reacional utilizando um evaporador rotatório à pressão reduzida. Ao sistema bifásico formado, adicionou-se acetato de etila (70 mL) e lavou-se a fase orgânica com solução saturada de cloreto de amônio (2 x 40 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (2 x 40 mL). Depois a fase orgânica foi secada sob MgSO₄ anidro. O solvente foi removido utilizando um evaporador rotativo e o produto bruto foi cristalizado usando o sistema clorofórmio:hexano.

2.3 BIOENSAIO TOXICOLÓGICO

O bioensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach foi baseado no protocolo descrito por Meyer et al. (1982). Foram utilizados 10 mg da 4-metilbenzamidoxima, a qual foi adicionado 50 µL de dimetilsulfóxido. A solução foi homogeneizada e o volume completado para 5 mL com água salinizada filtrada (água salina artificial preparada a partir de 38 g de sal marinho *Marinex*® em 1 L de água destilada) a pH = 8,0. Desta solução foram retiradas alíquotas de 375, 250, 187,5, 125, 87,5, 62,5 e 25 µL que foram transferidas para outros balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com o mesmo solvente, obtendo-se concentrações de 150, 100, 75, 50, 35, 25 e 10 µg/mL para a solução aquosa de benzamidoxima.

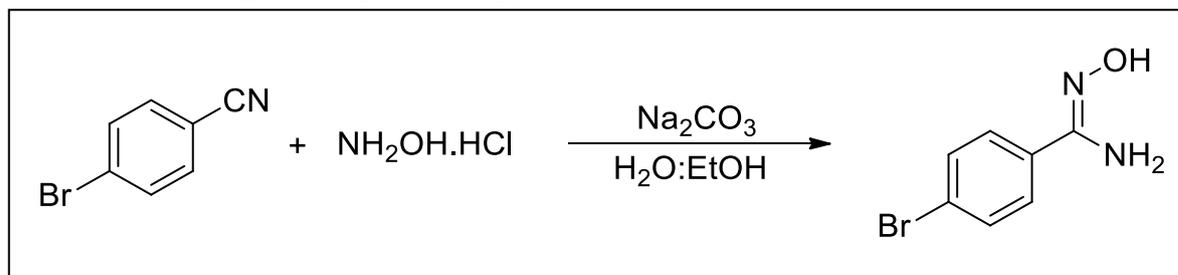
O teste foi acompanhado por controle positivo, onde utilizou-se o dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) e controle negativo utilizando apenas água marinha artificial e dimetilsulfóxido. Os cistos da *Artemia salina* (± 30 mg) foram incubados sob iluminação artificial por 48 horas para que houvesse a eclosão das larvas, e estas, separadas em 10 grupos, com 10 artêmias cada. O primeiro e o segundo grupo receberam a solução controle positivo (solvente e dicromato de potássio) e controle negativo (solvente e dimetilsulfóxido) e os 8 seguintes receberam a solução aquosa da 4-metilbenzamidoxima em diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas, após este período foram contabilizadas as larvas vivas e mortas. O experimento foi realizado em triplicata para cada substância-teste.

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

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese da 4-metilbenzamidoxima a partir da reação entre a benzonitrila e cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico, conforme demonstra a Figura (1).

Figura 1. Esquema da reação de síntese da 4-metilbenzamidoxima.

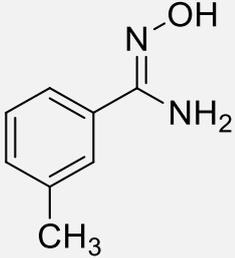


Fonte: Próprio autor, 2020.

Deste modo, empregando o método descrito por Barros et al. (2011), com algumas modificações, a 4-metilbenzamidoxima foi obtida com 79% de rendimento na forma de um sólido cristalino, cujo o ponto de fusão variou de 145-146 °C, valor esse, está próximo ao relatado por Andrade, Freitas Filho e Freitas (2016). Adicionalmente, a 4-metilbenzamidoxima foi caracterizada pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN ^1H e ^{13}C , cujos os dados obtidos foram: no infravermelho (Pastilha de KBr), principais bandas de vibração, 3496, 3372, 3052, 1919, 1665, 1588, 1392, 938, 825, 751 cm^{-1} ; no espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), sinais em ppm, 9,51 (s, 1H, OH); 7,56 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$); 7,16 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$); 5,74 (s, 2H, NH_2); 2,30 (s, 3H, CH_3). No espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz), sinais em ppm: δ 150,6; 138,1; 130,2; 128,4; 125,0; 20,6.

Uma vez sintetizado e caracterizado a 4-metilbenzamidoxima, a próxima etapa do trabalho foi avaliar a sua toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, no qual os valores da taxa de mortalidade desta substância variaram entre 0 e 100 %, visando determinar a concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}). A CL_{50} encontrada através do *software* POLO-PC, com 95% de confiança, foi de 17,825 $\mu\text{g}/\text{mL}$ com intervalo de confiança nos limites 17,380 a 18,270 $\mu\text{g}/\text{mL}$, conforme a Tabela (1).

Tabela 1 – Resultado do teste de toxicidade frente à *Artemia salina*.

Composto	CL ₅₀ (µg/mL)	Intervalo de Confiança
	17,825	17,380 a 18,270 µg/mL

Fonte: Próprio autor, 2020.

De acordo com Merino et al. (2015), o valor da CL₅₀ igual a 17,825 µg/mL comprova que a 4-metilbenzamidoxima apresenta elevada toxicidade, uma vez que esse valor se enquadra nos índices inferiores a 100 µg/mL. Em geral, extratos e substâncias com alta toxicidade contra a *Artemia salina* sugerem alto potencial para atividades biológicas, sendo, portanto, muito útil à utilização deste bioensaio, no direcionamento de estudos na busca de substâncias bioativas (AMARANTE, et al., 2011). O controle negativo não levou a morte de nenhuma larva, enquanto que a CL₅₀ do controle positivo foi semelhante ao descrito por Belem et al. (2015). Com isto, a CL₅₀ encontrada para a 4-metilbenzamidoxima no bioensaio toxicológico frente a *Artemia salina* servirá como motivação para futuros estudos envolvendo outras amidoximas e seus derivados.

4 CONCLUSÃO

Em suma, a 4-metilbenzamidoxima foi sintetizada em bom rendimento (79%) utilizando a irradiação de ultrassom e sua estrutura confirmada por diferentes técnicas espectroscópica. A avaliação de toxicidade da 4-metilbenzamidoxima frente às larvas da *Artemia Salina* Leach resultou na CL₅₀ 17,825 µg/mL, valor esse que implica em elevada toxicidade.

Diante disto, os resultados encontrados servirão de motivação para futuros estudos envolvendo esta molécula, uma vez que a mesma demonstra ser bastante promissora e que, através de estudos farmacológicos e de modelagem estrutural, otimize seu potencial e a qualifique como um novo candidato a fármaco.

REFERÊNCIAS

- ABELE, E; LUKEVICS, E. Furan and hiophene oximes: synthesis, reactions, and biological activity (review). **Chemical heterocyclic compounds**, 37, 141, 2001.
- ADIB, M., ANSARI, S.; MOHAMMADI, A.; BIJANZADEH, H. R. A novel, one-pot, solvent-, and catalyst-free synthesis of 2-aryl/alkyl-4(3H)-quinazolinones. **Tetrahedron Letters**, 51, 30, 2010.
- BAGHERI, S.; SAHEBKAR, A.; GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; MALMIR, M.; IRANSHAHI, M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal Ferula species. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.
- BARROS, C. J. P.; DE FREITAS, J. J. R.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS FILHO, J. R. Synthesis of amidoximes using an efficient and rapid ultrasound method. **Journal of the Chilean Chemical Society**, vol.56, n.2, p 721-722, 2011.
- BARROS, C. J. P.; DE SOUZA, Z. C.; FREITAS, J. J. R.; DA SILVA, P. B. N.; MILITÃO, G. C. G.; SILVA, T. G.; FREITAS, J. C. R.; FREITAS FILHO, J. R. 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. **J. Chil. Chem. Soc.** 2014, vol. 59, n. 1, p. 2359-2362, 2014.
- BELEM, V. A.; LIMA, F. G. C.; BARROS, L. M.; DUARTE A. E. Estudo da toxicidade e atividade antifúngica de Lantana camara L. (Verbenaceae) como ferramenta de preservação da espécie. **Caderno de Cultura e Ciência**, ano IX, vol. 13, n. 2, p. 51-59, 2015.
- BOYKIN, D. W. Antimicrobial activity of the DNA minor groove binders furamidine and analogs. *J. Braz. Chem. Soc.*, São Paulo, v. 13, n. 6, p. 763-771, Nov.2002.
- CASTELLO BRANCO, A. C. S. Avaliação da toxicidade crônica pré-clínica de *Foeniculumvulgare*mill. 2009. 136f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- CHOHAN, Z.; SUMRRA, S.; YOUSOUFI, M.; HADDA, T. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium(IV) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010.
- CLEMENT, B.; KOTTHAUS, J.; KOTTHAUS, J.; SCHADE, D. PentamidinAmidoximsäureesters als Prodrugs und ihre Verwendung als Arzneimitteln. EP 2550963 A1, Jan, 30, 2013.
- CLEMENT, B.; KOTTHAUS, J.; KOTTHAUS, J.; SCHADE, D. Pentamidine amidoxime acid esters as prodrugs and use thereof as drugs. PTC Int. Appl. WO 2013014059, A1, Jan, 31, 2013.
- FREITAS FILHO, J. R.; da SILVA, R. L.; da SILVA, E. E.; SANTOS, J. A. M.; de FREITAS, J. J. R.; FREITAS, J. C. R. Amidoximas: Aplicações e Principais Estratégias Sintéticas. **Revista Virtual Química**. vol. 7, n. 6, p. 2549-2596, 2015.
- FYLAKTAKDOU, K. C.; HADJIPAVLOU- LITINA, D. J.; LITINAS, K. E.; VARELLA, E. A.; NICOLAIDES, D. N. Recent developments in the chemistry and in the biological applications of amidoximes. **Current Pharmaceutical Design**, 14, 1001, 2008.
- GARCEZ, F.; GARCEZ, W.; MARTINS, M.; MATOS, M.; GUTERRES, Z.; MANTOVANI, M.; et al. Cytotoxic and genotoxic butanolides and Lignans from *Aiouea trinervis*. **Planta Medica**, v. 71, n. 10, p. 923-927, 2005.
- GARCIA-RODRIGUEZ, A.; CAETANO, G. G. I.; BORGES, M. B.; SANTOS, C. A.; CARDOSO, G. S. Toxicidade por microcystis sp. E, Goiás: Estudo dos efeitos tóxicos em camundongos e Artemia salina. **Estudos**, vol. 31, n. 9, p.1595-1606, 2004.
- HAZER, O.;KARTAL, S. Use of amidoximated hydrogel for removal and recovery of U (VI) ion from water samles. **Talanta**, 82, 1974, 2010.

- LIN, W.; LU, Y.; ZENG, H. J. Studies of the preparation, structure, and properties of an acrylic chelating fiber containing amidoxime groups. **Journal of Applied Polymer Science**, 47, 45. 1993.
- LIU, X.; CHEN, H.; WANG, C. H.; QU, R. J.; JI, C. N.; SUN, C. M.; XU, Q.; Polymer. Adv. Tech. 22, 2032, 2011.
- 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.
- LOSSEN, W.; SCHIFFERDECKER, P. Ueber Isuretín, eine dem Harnstoff isomere base. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 1873, 166, 295.
- LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 199-206, 2005.
- MAHURIN, S. M.; GORKA, J.; NELSON, K. M.; MAYES, R. T.; DAI, S. Enhanced CO₂/N₂ selectivity in amidoxime-modified porous carbon. **Carbon**, 67, 457, 2014.
- MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J. D.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Planta Médica**, vol. 17, n. 4, p.1031-1040, 2015.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.
- NINGAIAH, S.; BHADRAIAH, U. K.; KESHAVAMURTHY, S.; JAVARASETTY, C. Novel pyrazoline amidoxime and their 1,2,4-oxadiazole analogues: Synthesis and pharmacological screening. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 23, 4532, 2013.
- PETERS, E. C.; GASSMAN, N. J.; FIRMAN, J. C.; OBER, R. H.; RICHMOND, R. H.; POWER, E. A. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, vol. 16, n. 1, p. 12-40, 1997.
- PIMENTEL, M. F.; JÚNIOR, F.C.G.S; SANTAELLA, S.T; LOTUFO, L.V.C. O Uso de *Artemia* sp. como Organismo-Teste para Avaliação da Toxicidade das Águas Residuárias do Beneficiamento da Castanha de Caju Antes e Após Tratamento em Reator Biológico Experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, 2011.
- QUATTARA, M.; WEIN, S.; DENOYLLÉ, S.; ORTIAL, S.; DUAND, T.; ESCALE, R.; VIAL, H.; VO-HOANG, Y. Design and synthesis of amidoxime derivatives for orally potent C-alkylamidinebased antimalarial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 19, 624, 2009.
- QUATTARA, M.; WEIN, S.; DENOYLLÉ, S.; ORTIAL, S.; DUAND, T.; ESCALE, R.; VIAL, H.; VO-HOANG, Y. N-substituted bis-C-alkylloxadiazolones to amidoximes or amidines and prodrug candidates of potent antimalarials. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 19, 5233, 2009.
- RAHMATHULLAH, S. M.; TIDWELL, R. R.; JONES, S. K. J. E.; BOYKIN, D. W. H. Carbamate prodrugs of N-alkylfuramidines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 43, 174, 2008.
- RHEINHEIME, J.; ROE, I.; GROTE, T.; LORENZ, G.; STRATHMANN, S. German patente 19,837,794 AI, 2000.
- SAULTER, J. Y.; KURIAN, J.; TRIPANIER, L. A.; TIDWELL, R. R.; BRIDGE, A. S.; BOYKIN, D. W.; STEPHENS, C. E.; ANBAZHAGAN, M.; HALL, J. E. Unusual dehydroxylation of antimicrobial amidoxime prodrugs by cytochrome b5 and nadh cytochrome b5 reductase. **Drug Metabolism and Disposition**, 33, 1886, 2005.

TANG, D.; LI, X.-L.; GUO, X.; WU, P.; LI, J. -H.; WANG, K.; JING, H. - W. Copper and zinc co-catalyzed synthesis of imidazoles via the activation of sp^3 C - H and N - H bonds. **Tetrahedron**, 70, 4038, 2014.

TIEMANN, F. Ueber die Einwirkung von Hydroxylamin auf Nitrile. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, 17, 126, 1884.

XU, H.; MA, S.; XU, Y.; BIAN, L.; DING, T.; FANG, X.; ZHANG, W.; REN, Y. Copper-Catalyzed One-pot Synthesis of 1,2,4-Triazoles from nitriles and hydroxylamine. **The journal of organic chemistry**, 80, 1789, 2015.

ZHANG, L.; WANG, X.; ZHAO, Y.; ZHU, Z.; FONG, H. Electrospun carbonnano-felt surface-attached with Pd nanoparticles for hydrogen sensing application. **Materials Letters**, 68, 133, 2012.

ZHU, J.; CHEN, Z.; XIE, H.; LI, S.; WU, Y. An efficient method to access 2-fluoroalkylbenzimidazoles by PIDA oxidation of amidines. **Journal of fluorine chemistry**, 133, 134, 2012.