OLIVEIRA, Romário Jonas¹; SANTOS, Francirenildo Andrade²; MEDEIROS, Herbert Igor Rodrigues³; SANTOS, Cosme Silva⁴; FREITAS FILHO, João Rufino⁵; FREITAS, Juliano Carlo Rufino^{6*}

^{1,4,5} Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, cep 52171900, Recife-PE, Brasil
(fone: +55 81 3320 6000)

^{2,3,6} Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Acesso Professora Maria Anita Furtado Coelho, s/n, Sítio Olho D'água da Bica, cep 58175000, Cuité-PB, Brasil
(fone: +55 83 3372 1900)

* Autor correspondente
e-mail: julianocrufino@yahoo.com.br

Received 29 July 2018; received in revised form 11 September 2018; accepted 02 October 2018

RESUMO

As amidoximas são uma classe de compostos orgânicos que apresentam uma ampla variedade de aplicações tecnológicas, biológicas e farmacológicas. Atualmente, existem várias metodologias que visam à preparação desses compostos, contudo, alguns estudos toxicológicos de arilamidoximas estruturalmente simples ainda permanecem inexplorados. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi realizar a síntese e o bioensaio toxicológico de diferentes arilamidoximas frente à *Artemia salina* Leach. As arilamidoximas foram sintetizadas a partir da reação entre diferentes arilnitrilas e cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico, e caracterizadas por ponto de fusão, IV, RMN ¹H e RMN ¹³C. O bioensaio toxicológico das arilamidoximas foi realizado utilizando à *Artemia salina* Leach e a CL₅₀ foi determinada através do software POLO-PC. Como resultado, as arilamidoximas foram obtidas em tempo reacionais que variaram de 15 a 45 minutos e com bons rendimentos (55 a 91%). O bioensaio toxicológico indicou que todas as arilamidoximas testadas apresentaram toxicidade que variaram de alta a moderada com CL₅₀ de 18,553 a 273,313 µg/mL. Adicionalmente, a melhor atividade foi observada para a arilamidoximas contendo o grupo metila na posição *meta*. Em suma, a atividade toxicológica encontra para as arilamidoximas reforça o potencial farmacológico desses compostos, e pode motivar os pesquisadores a promoverem modificações estruturais nestes compostos a fim de os tornarem futuros fármacos.

Palavras-chave: Química Sintética, Bioensaio Toxicológico, Arilamidoximas, *Artemia salina*.

ABSTRACT

Amidoximes are a class of organic compounds that present a wide variety of technological, biological and pharmacological applications. Currently, there are several methodologies aimed at the preparation of these compounds, however, some toxicological studies of structurally simple arylamidoximes remain unexplored. Therefore, the objective of this work was to perform the synthesis and toxicological bioassay of different arylamidoximes against *Artemia salina* Leach. The arylamidoximes were synthesized from the reaction between different arylnitriles and hydroxylamine hydrochloride in hydroethanolic medium and characterized by melting point, IR, ¹H NMR, and ¹³C NMR. Toxicological bioassay of the arylamidoximes was carried out using *Artemia salina* Leach and the LC₅₀ was determined using the POLO-PC software. As a result, the arylamidoximes were obtained in reaction times ranging from 15 to 45 minutes and in good yields (55 to 91%). The toxicological bioassay indicated that all arylamidoximes tested showed toxicity ranging from high to moderate with LC₅₀ from 18.553 to 273.313 µg/mL. In addition, the best activity was observed for the arylamidoximes containing the methyl group in the *meta* position. In short, the toxicological activity found for arylamidoximes reinforces the pharmacological potential of these compounds and may motivate researchers to promote structural modifications in these compounds in order to make them future drugs.

INTRODUÇÃO

As amidoximas são uma classe de compostos orgânicos que, de acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* – IUPAC (2014), possuem uma estrutura geral $RC(NH_2)=NOH$, onde R pode ser um átomo de hidrogênio, um grupo alquila ou arila. Esses compostos orgânicos, assim como seus derivados, vêm atraindo a atenção de vários centros de pesquisa e da indústria farmacêutica, por apresentarem uma ampla variedade de aplicações tecnológicas, biológicas e farmacológicas (Freitas Filho *et al.*, 2015; Ovdichuk e Hordiyenko, 2016). Na química sintética, por exemplo, as amidoximas e seus derivados são importantes substratos de partida para a preparação de diferentes compostos heterocíclicos, a citar benzimidazóis (Zhu *et al.*, 2014), quinazolininas (Kumar *et al.*, 2005), benzotiadiazinas (Zienkiewicz *et al.*, 2007), oxadiazóis (Cai *et al.*, 2015), imidazóis (Tang *et al.*, 2014) e triazóis (Xu *et al.*, 2015) (Figura 1).

Figura 1. Compostos heterocíclicos preparados a partir de amidoximas.

A literatura descreve o emprego das amidoximas atuando como catalisador na reação de acoplamento cruzado do tipo Suzuki e Sonogashira, visando à construção de novas ligações C-C (Zhao *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2012). Já no âmbito industrial e tecnológico esses compostos podem atuar como adsorventes de gases (Mahurin *et al.*, 2014), agentes complexantes de íons metálicos em solução aquosa (Bolotin e Bokacha, 2016) e na

preparação de biossensores de hidrogênio (Zhang *et al.*, 2012). As amidoximas podem desempenhar uma grande variedade de atividades biológicas e farmacológicas como, por exemplo, leishmanicida (Tabélé *et al.*, 2018), antitumoral (Bolotin *et al.*, 2017), antibacteriana (Fylaktakidou *et al.*, 2008), antitrombótica (Gustafsson e Elg, 2003), dentre outras atividades (Freitas Filho *et al.*, 2015; Fylaktakidou *et al.*, 2008), conforme apresentadas na Figura 2. Além dessas aplicações, as amidoximas têm sido empregadas como bioprecusores de amidinas (Ovdichuk e Hordiyenko, 2016).

Figura 2. Atividades biológicas de compostos contendo uma porção amidoxímica.

Estes bioprecusores, também denominados de pró-fármacos, são medicamentos administrados em sua forma inativa e sua estrutura molecular permite superar as barreiras farmacológicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas, contornando algumas dificuldades como, a baixa solubilidade, absorção oral insuficiente, permeabilidade inadequada da

barreira hematoencefálica ou metabolismo pré-sistêmico, caso o fármaco fosse administrado em sua forma ativa (Kotthaus *et al.*, 2011).

Cabe destacar que um número crescente de fármacos e candidatos a novos medicamentos contém em sua estrutura grupos funcionais básicos, a citar as amidinas e guanidinas (Figura 3), contudo, a presença dessas funções químicas na estrutura de um fármaco acarreta em uma diminuição da sua biodisponibilidade oral, impedindo uma adsorção gastrointestinal eficiente, pois, esses grupos são facilmente protonados sob pH fisiológico (Neve *et al.*, 2012). A fim de contornar isto, uma alternativa é a utilização das amidoximas como pró-fármacos das amidinas.

As vantagens do uso das amidoximas como pró-fármacos das amidinas são várias como, por exemplo, sua menor basicidade dificulta sua protonação nas condições fisiológicas; e são mais facilmente absorvidas pelo trato gastrointestinal, o que melhora sua biodisponibilidade após administração (Clement, 2002).

Além disso, a enzima denominada de mARC (*mitochondrial Amidoxime Reducing Component* – Componente Redutor de Amidoxima Mitocondrial) pode biotransformar as amidoximas nas amidinas (Llamas *et al.*, 2017). A enzima mARC associada às proteínas transportadoras de elétrons do citocromo b5 e citocromo b5 redutase, formam um sistema enzimático de três componentes que catalisa a redução de pró-fármacos *N*-hidroxilados (Krompholz *et al.*, 2012). O mecanismo de ação da enzima mARC está sumarizado na Figura 4.

Figura 4. Mecanismo de ação da mARC.

Fonte: Adaptado de Krompholz *et al.*, 2012.

Diante dessas observações, muitas moléculas biologicamente ativas contendo o grupo amidina em sua estrutura têm sido obtidas na forma das correspondentes amidoximas, a citar a pentamidina, uma droga com atividade antiprotozoária, na qual a substituição de ambos os grupos amidínicos por grupos amidoxímicos resultou no aumento da biodisponibilidade e

solubilidade (Clement e Raether, 1985; Clement *et al.*, 1992).

Após os estudos de Clement e colaboradores (1985 e 1992), essa estratégia vem sendo aplicada em muitos compostos, cujos pró-fármacos amidoxímicos transformam-se em suas formas ativas após administração (Gustafsson e Elg, 2003; Clement *et al.*, 2013; Froriep *et al.*, 2013; Schade *et al.*, 2014) (Figura 5).

Cabe destacar que as amidoximas apresentam a vantagem de serem sinteticamente mais estáveis quando comparadas as amidinas, tornando-as bioprecusores ainda mais relevantes (Ovdiichuk e Hordiyenko, 2016). A literatura dispõe de várias metodologias para a preparação de amidoximas e uma excelente revisão foi descrita por Freitas Filho e colaboradores (2015), no entanto, as principais rotas sintéticas utilizadas para obtenção desses compostos são através da reação entre a nitrila e a hidroxilamina ou cloridrato de hidroxilamina utilizando diferentes condições reacionais como, por exemplo, a irradiação de ultrassom (Barros *et al.*, 2011), ou sistema água-etanólico em temperatura ambiente (Srivastava *et al.*, 2009) ou utilizando terc-butóxido de potássio e DMSO com temperatura inicial de 5 °C e em seguida a temperatura ambiente (Bouhlef *et al.*, 2010), respectivamente mostrados no Esquema 1.

Esquema 1. Rotas sintéticas utilizadas para preparação de amidoximas.

Apesar do grande potencial tecnológico, farmacológico e biológico das amidoximas (Freitas Filho *et al.*, 2015; Fylaktakidou *et al.*, 2008), o bioensaio toxicológico de arilamidoximas estruturalmente simples frente à *Artemia salina* permanece inexplorado, embora

este tipo de teste seja utilizado para nortear o planejamento de um novo fármaco com perfil toxicológico desejado.

O bioensaio envolvendo *Artemia salina* é considerado um método simples, de fácil manuseio e cultivo, reprodutível e de baixo custo (Luna *et al.*, 2005), pois, não é necessário a utilização de equipamentos especiais nem o uso de camundongos e acomoda facilmente um alto número de náuplios (larvas), amparando a validação estatística garantindo a confiabilidade do método. Além disso, atende as principais necessidades rotineiras de triagens de toxicidade (Bednarczuk, *et al.*, 2010; Rajabi *et al.*, 2015), o que é evidenciado pelo número de artigos e citações referentes ao tema (Figura 6).

Figura 6. Pesquisa no banco de dados da plataforma Web of ScienceTM utilizando o termo “*Artemia salina*”.

As artêmias são amplamente utilizadas como indicadores de toxicidade de substâncias e extratos brutos de plantas, utilizando a Concentração Letal para matar 50% (CL₅₀) como parâmetro para avaliar a atividade biológica da citotoxicidade. Os resultados dos testes de sensibilidade desses crustáceos são considerados confiáveis e assemelham-se aos testes em humanos (Diniz *et al.*, 2012; Meyer *et al.*, 1982; Araujo e Cunha, 2010).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar a síntese de diferentes arilamidoximas e realizar o bioensaio toxicológico frente à *Artemia salina* Leach, uma vez que não há relatos sobre esse estudo na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais, Reagentes e Equipamentos

Em geral, foram utilizados reagentes e solventes na sua forma comercial (P.A.), dos fornecedores Sigma-Aldrich, Vetec e Cinética. Os solventes utilizados foram purificados conforme o protocolo de Perrin e Armarego (1996). O acompanhamento das reações foi realizado através de cromatografia em camada delgada (CCD). Os espectros de ressonância magnética nuclear foram registrados em um espectrômetro Varian Unity Plus de 300 MHz. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao pico residual do DMSO-d₆ (2,5 ppm) para os espectros de hidrogênio, em relação ao pico central do DMSO-d₆ (39,7 ppm) para os espectros de carbono. Todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz). Os pontos de fusão foram realizados no Electro-thermal série IA 9100 Digital Melting Point. Os espectros no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier no instrumento Bruker Modelo IFS66, sendo as amostras preparadas como filmes finos ou pastilhas de KBr.

2.1.1 Procedimentos Experimentais

2.1.1.1 Procedimento Geral para Síntese das Arilamidoximas

A preparação das arilamidoximas foi baseada na metodologia descrita por Barros e colaboradores (2011) com algumas modificações visando a otimização do rendimento. Deste modo, em um balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL foram dissolvidos o cloridrato de hidroxilamina (208,47 mg; 3 mmol) e carbonato de sódio (158,98 mg; 1,5 mmol) em 10 mL de água destilada à temperatura ambiente, em seguida foi adicionado 1,0 mmol da nitrila desejada em 10 mL de etanol. A mistura reacional foi colocada em um banho ultrassônico sob temperatura de 55 ± 5 °C. O término da reação foi comprovado por CCD, utilizando como sistema de eluição hexano:acetato de etila (7:3),

até observar-se o consumo total da nitrila. Finalizada a reação, o etanol foi evaporado, formando duas fases, a fase aquosa e o produto insolúvel em água. Os produtos obtidos em forma de óleo foram extraídos do meio aquoso com acetato de etila (3 x 15mL). A fase orgânica foi separada e secada com Na₂SO₄. Em seguida a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida, sendo o produto obtida e purificada por cristalização em clorofórmio:hexano (4:6), fornecendo as arilamidoximas.

Benzamidoxima (2a): Obtido como um sólido branco (99,4 mg, 73%); P.F. 79-80 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,63 (s, 1H, OH); 7,70-7,66 (m, 2H, H_{aromático}); 7,39-7,35 (m, 3H, H_{aromático}); 5,81 (s, 2H, NH₂). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 150,8; 133,3; 128,9; 128,1; 125,0. IV (Pastilha de KBr): ν 3453, 361, 3057, 2369, 2293, 1649, 1529, 1387, 927, 691 cm⁻¹.

2-Metilbenzamidoxima (2b): Obtido como um sólido branco (82,6 mg, 55%); P.F. 145-147 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,30 (s, 1H, OH); 7,28-7,25 (m, 2H, H_{aromático}); 7,22-7,16 (m, 2H, H_{aromático}); 5,70 (s, 2H, NH₂); 2,34 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 152,3; 136,2; 134,3; 130,1; 128,8; 128,4; 125,3; 19,7. IV (Pastilha de KBr): ν 3479, 3362, 2918, 2356, 1655, 1588, 1377, 905, 771 cm⁻¹.

3-Metilbenzamidoxima (2c): Obtido como um sólido branco (106,6 mg, 71%); P.F. 91-92 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,57 (s, 1H, OH); 7,50 (sl, 1H, H_{aromático}); 7,47 (d, 1H, J = 8,2 Hz, H_{aromático}); 7,25 (dd, 1H, J = 7,8 e 7,4 Hz, H_{aromático}); 7,18 (d, 1H, J = 7,8 Hz, H_{aromático}); 5,75 (s, 2H, NH₂); 2,32 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 151,0; 137,1; 133,3; 129,5; 128,0; 126,0; 122,6; 21,1. IV (Pastilha de KBr): ν 3452, 3349, 3042, 2370, 2278, 1648, 1588, 1386, 933, 894, 707 cm⁻¹.

4-Metilbenzamidoxima (2d): Obtido como um sólido branco (123,1 mg, 82%); P.F. 145-146 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,52 (s, 1H, OH); 7,56 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H_{aromático}); 7,16 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H_{aromático}); 5,73 (s, 2H, NH₂); 2,31 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 150,8; 138,2; 130,5; 128,6; 125,3; 20,8. IV (Pastilha de KBr): ν 3499, 3370, 3054, 1918,

1667, 1588, 1391, 937, 825, 751 cm⁻¹.

4-Bromobenzamidoxima (2e): Obtido como um sólido branco (172,0 mg, 80%); P.F. 136-137 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,74 (s, 1H, OH); 7,63 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H_{aromático}); 7,57 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H_{aromático}); 5,86 (s, 2H, NH₂). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 150,0; 132,5; 131,0; 127,4; 122,1. IV (Pastilha de KBr): ν 3474, 3356, 3150, 2361, 1657, 1587, 1388, 919, 835, 740 cm⁻¹.

4-Clorobenzamidoxima (2f): Obtido como um sólido branco (135,5 mg, 80%); P.F. 133-135 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,73 (s, 1H, OH); 7,69 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{aromático}); 7,43 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{aromático}); 5,86 (s, 2H, NH₂). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 147,7; 131,2; 129,9; 125,9; 124,9. IV (Pastilha de KBr): ν 3478, 3372, 3153, 1659, 1492, 1414, 1097, 1016, 965, 802, 736 cm⁻¹.

4-Nitrobenzamidoxima (2g): Obtido como um sólido amarelado (164,8 mg, 91%); P.F. 168-170 °C; RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 10,16 (s, 1H, OH); 8,25 (d, 2H, J = 9,0 Hz, H_{aromático}); 7,97 (d, 2H, J = 9,0 Hz, H_{aromático}); 6,08 (s, 2H, NH₂). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 149,4; 147,5; 139,5; 126,4; 123,4. IV (Pastilha de KBr): ν 3463, 3358, 3111, 1662, 1602, 1517, 1341, 927, 864, 704 cm⁻¹.

2.1.1.2 Bioensaio Toxicológico

O ensaio de toxicidade contra *Artemia salina* Leach teve como base o método proposto por Meyer e colaboradores (1982). Os ovos de *A. salina* (20 mg) foram incubados em uma salina artificial (a água salina foi preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1,0 L de água destilada à temperatura ambiente, entre 22-29 °C), por um período de 48 horas em um aquário adaptado. Um dos compartimentos do aquário permaneceu escuro e o outro claro, utilizando-se uma fonte de luz em que os náuplios foram atraídos. Em seguida foram adicionadas em tubos de ensaio, 10 larvas recém-eclodidas contendo 5 mL de cada uma das soluções testadas e do controle. Esses tubos foram divididos em nove grupos, no qual o primeiro e segundo grupo receberam a solução controle positivo (dicromato de potássio e solução salina) e controle negativo (100 µL de DMSO e 4,9 mL de solução salina), respectivamente. Os grupos restantes receberam a solução da amidoxima em

diferentes concentrações. Essas concentrações foram preparadas da seguinte maneira: em um tubo de ensaio a amidoxima (10 mg) foi solubilizada em DMSO (50 µL) e o volume do tubo foi completado para 5 mL com água salinizada a pH 8,0. Desta solução foram retiradas alíquotas de 375, 250, 187,5, 125, 87,5 62,5 e 25 µL, sendo cada uma delas transferidas para balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com água destilada, obtendo-se concentrações de 150, 100, 75, 50, 35, 25 e 10 µL/mL da amidoxima apropriada. As amostras foram submetidas à iluminação artificial por 24 horas e após esse tempo realizou-se a contabilidade, onde na contagem do número de larvas foram consideradas mortas aquelas que permaneceram imóveis por mais de 10 segundos após agitação suave dos tubos (Lhullier *et al.*, 2006). Adicionalmente, o procedimento 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).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese das arilamidoximas (**2a-g**) por meio da reação das arilnitrilas (**1a-g**) com cloridrato de hidroxilamina na presença de carbonato de sódio, utilizando etanol e água como solventes conforme mostrado no Esquema 2.

Esquema 2. Preparação das arilamidoximas **2a-g**.

A Tabela 1 apresenta o tempo e o rendimento das arilamidoximas (**2a-g**) obtidas.

De acordo com a Tabela 1, as arilamidoximas (**2a-g**) foram obtidas em tempo reacionais que variaram de 15 a 45 minutos e com rendimentos entre 55 a 91%. Adicionalmente, os dados obtidos na caracterização estrutural das arilamidoximas (**2a-g**) estão de acordo com a literatura (Barros *et al.*, 2011, Andrade, Freitas Filho e Freitas, 2016).

Analizando o espectro de RMN de ¹H do composto **2a** (Figura 7) constatou-se que o

somatório das integrais sobre cada sinal foi 8, número este igual a quantidade de hidrogênios presentes na estrutura do composto de interesse. O sinal em 9,63 ppm, do tipo simpleto, foi atribuído ao hidrogênio ácido (H-1) do grupo isonitroso (NOH). Os dois multipletos compreendidos nas regiões de 7,70 a 7,60 ppm e 7,40 a 7,30 ppm foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos (H-3, H-4 e H-5), uma vez que esses hidrogênios sofrem o efeito de anisotropia diamagnética intensificado pela ressonância do anel (Pavia *et al.*, 2015). O sinal em 5,81 ppm, do tipo simpleto, foi atribuído ao hidrogênio H-2 do grupo NH₂.

Figura 7. Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) do composto **2a**.

Analizando o espectro de RMN ¹³C do composto **2a** (Figura 8) constatou-se a presença de cinco sinais, indicando a presença de cinco carbonos quimicamente diferentes. O sinal em 150,8 ppm foi atribuído ao carbono C-1, devido o mesmo sofrer o efeito de anisotropia diamagnética e está diretamente ligado a dois heteroátomos (Pavia *et al.*, 2015). O sinal em 133,3 ppm foi atribuído ao carbono C-2 devido o mesmo sofrer o efeito anisotrópico, está ligado a unidade amidoxímica e ser um “carbono quartenário” o que aumenta seu tempo de relaxação, levando a um sinal de baixa intensidade. Com relação aos sinais em 128,9; 128,1 e 125,0 foram atribuídos aos carbonos C-3, C-4 e C-5.

Figura 8. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **2a**.

Uma vez obtidas as arilamidoximas (**2a-g**), partiu-se para o bioensaio toxicológico frente à *Artemia salina* Leach. A escolha por esse bioensaio foi motivada por se tratar de ensaio simples, rápido, reprodutivo e útil como teste preliminar durando o planejamento de moléculas biologicamente ativas. Adicionalmente, há na literatura diversos trabalhos que apresentam uma excelente correlação entre os ensaios de toxicidade frente à *A. Salina* com distintas atividades biológicas, tais como, antifúngicas, antiviral, antimicrobiana, parasiticida, antitumoral, tripanossomicida, dentre outras (Rahman e Choudhary, 2001; Pisutthanan *et al.*, 2004). Os resultados do bioensaio toxicológico das diferentes arilamidoximas (**2a-g**) estão apresentados na Tabela 2.

De acordo com a Tabela 2, as arilamidoximas (**2a-g**) apresentaram toxicidade que variaram de moderada a alta, uma vez que os valores de CL_{50} tiveram uma variação entre 18,553 a 273,313 $\mu\text{g/mL}$ (Merino *et al.*, 2015). Segundo Nguta e colaboradores (2011), quanto menor o valor da CL_{50} mais tóxico é o composto frente à *A. salina* e maior é a sua atividade citotóxica, assim o composto **2c** com CL_{50} de 18,553 demonstrou ser o mais citotóxico (Tabela 2, teste 3). Em contrapartida a menor toxicidade foi observada para o composto **2b** com CL_{50} de 273,313 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 2, teste 2). Comparando-se os valores de CL_{50} dos compostos **2b**, **2c** e **2d** verificou-se que o composto com o grupo metila ($-\text{CH}_3$) na posição *orto* foi o menos tóxico em relação aos compostos contendo este mesmo grupo nas posições *meta* e *para* (Tabela 2, testes 2, 3 e 4), fornecendo subsídios para conjectura sobre uma possível influência dos efeitos estéricos e eletrônicos do grupo metila na atividade biológica.

Cabe ressaltar que grupos elétron-retiradores favorecem a ionização de compostos em solução aquosa, o que dificulta a passagem dos mesmos através das membranas biológicas, um bom exemplo de grupo elétron-retirador é o nitro ($-\text{NO}_2$). Esta tendência foi constatada nos compostos avaliados, uma vez que o composto **2g**, o qual contém o grupo $-\text{NO}_2$ apresentou uma CL_{50} superior à dos compostos **2a**, **2c** e **2d** (Tabela 2, testes 1, 3, 4 e 7).

Constatou-se que não houve diferença entre a CL_{50} dos grupos $-\text{Cl}$ e $-\text{NO}_2$, uma vez que apresentaram valores de 78,810 $\mu\text{g/mL}$ e 79,795 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Tabela 2, testes 6 e 7). Este resultado foi particularmente interessante, uma vez que o grupo $-\text{NO}_2$ atua como desativante forte, enquanto que o grupo $-\text{Cl}$ atua como desativante fraco, logo se esperava uma variação mais significativa da CL_{50} devido essas características influenciarem na ionização da molécula em meio aquoso. Também constatou-se que a diferença de eletronegatividade dos grupos $-\text{Br}$ e $-\text{Cl}$, presentes nos compostos **2e** e **2f**, acarretou em CL_{50} divergentes (Tabela 2, testes 5 e 6).

Tabela 2. Concentração letal (CL_{50}) das arilamidoximas frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

Teste	Amidoxima	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	2a	40,724
2	2b	273,313
3	2c	18,553
4	2d	35,474
5	2e	38,549
6	2f	78,810
7	2g	79,795

Fonte: Dados da pesquisa.

REFERÊNCIAS

Uma vez que o composto **2c** demonstrou ser o mais tóxico frente à *A. salina*, decidiu-se investigar seu perfil físico-químico teórico, a citar, a sua lipofilicidade, realizando a determinação do seu coeficiente de partição (cLogP) utilizando o programa OSIRIS Property Explorer®. A escolha deste parâmetro foi devido o mesmo está diretamente relacionado com a biodisponibilidade oral de acordo com a Regra dos Cinco de Lipinski (Lipinski *et al.*, 2001). O resultado desse cálculo demonstrou que o composto **2c** possui um cLogP igual a 1,71. De acordo com esse resultado, o composto **2c** apresentou lipofilicidade inferior a 5,0, que de acordo com Lipinski, é uma característica importante para uma boa absorção e permeação de um fármaco.

CONCLUSÕES

As arilamidoximas sintetizadas neste estudo foram caracterizadas via IV, RMN de ¹H e RMN de ¹³C, onde os dados espectroscópicos corroboraram com os dados descritos na literatura. Cabe ressaltar que as arilamidoximas sintetizadas (**2a-g**) apresentaram rendimentos que variando de bons a ótimos (55 a 91%). Dentre as arilamidoximas sintetizadas, o composto **2g** destacou-se por apresenta o melhor rendimento (91%) após 40 minutos de reação.

O bioensaio toxicológico realizado nesse trabalho com as diferentes arilamidoximas (**2a-g**) indicou que esses compostos apresentam uma atividade toxicológica acentuada, com destaque para o composto **2c**, o qual apresentou uma CL₅₀ de 18,553 µg/mL, conforme relatado na literatura, compostos com valores de CL₅₀ abaixo de 100 µg/mL são considerados tóxicos e quanto menor esse valor maior a citotoxicidade (Nguta *et al.*, 2011). Adicionalmente, o cálculo teórico de lipofilicidade para o composto **2c**, foi inferior a 5,0, indicando que o mesmo apresenta uma boa absorção, permeação e biodisponibilidade.

No mais, os resultados obtidos sinalizam para as potencialidades das amidoximas e estimula futuros estudos visando à síntese e modificação estrutural desses compostos para potencialização das suas atividades biológicas buscando a descoberta de novos candidatos a fármacos.

1. Andrade, D., Freitas Filho, J. R., Freitas, J. C. R. Química Nova, **2016**, 39, 1235.
2. Araújo, M.G.F., Cunha, W.R.; Veneziani, R.C.S. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., **2010**, 31, 205.
3. Barros, C.J.P., Freitas, J.J.R., Oliveira, R.N., Freitas Filho, J.R. J. Chil. Chem. Soc., **2011**, 56, 721.
4. Bolotin, D.S., Demakova, M.Y., Legin, A.A., Suslonov, V.V., Nazarov, A.A., Jakupec, M.A., Kepplerb, B.K., Kukushkina, V.Y. New J. Chem., **2017**, 41, 6840.
5. Bolotina, D.S., Bokacha, N.A. Coord. Chem. Rev. **2016**, 313, 62.
6. Bouhel, A., Curti, C., Dumètre, A., Laget, M., Crozet, M. D., Azas, N., Vanelle, P. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2010**, 18, 7310.
7. Cai, J., Wei, H.T., Hong, K.H., Wu, X.Q., Cao, M., Zong, X., Li, L.S., Sun, C.L., Chen, J.Q., Ji, M. Eur. J. Med. Chem. **2015**, 96, 1.
8. Clement B., Immel M., Terlinden R., Wingen F.J. Arch. Pharm., **1992**, 325, 61.
9. Clement B., Raether W. Arzneim. Forsch. A., **1985**, 35, 1009.
10. Clement, B. Drug Metab. Rev. **2002**, 34, 565.
11. Clement, B., Kotthaus, J., Kotthaus, J., Schade, D. Dabigatran-amidoxime acid esters as prodrugs and use thereof as pharmaceuticals. Eur. Pat. 2550966 A1 20130130. 2013.
12. Diniz, J.F., Dantas, I.C., Felismino, D.C., Chaves, T.P.; Sobrinho, L.C. Rev. Biol. Farm., **2012**, 07, 18.
13. 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. Rev. Virtual Quim., **2015**, 7, 2549.
14. Froriep, D., Clement, B., Bittner, F., Mendel, R.R., Reichmann, D., Schmalix, W., Havemeyer, A. Xenobiotica, **2013**, 43, 780.
15. Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E., Varella, E.A., Nicolaides, D.N. Curr. Pharm. Des. **2008**, 14, 1001.
16. Gustafsson D., Elg, M. Thromb. Res., **2003**, 109, 9.

17. International Union of Pure and Applied Chemistry, Compendium of Chemical Terminology. Gold Book, **2014**.
18. Kotthaus, J., Hungeling, H., Reeh, C., Kotthaus, J., Schade, D., Wein, S., Wolfram, S., Clement, B. Bioorg. Med. Chem. **2011**, *19*, 1907.
19. Krompholz, N., Krischkowski, C., Reichmann, D., Garbe-Schönberg, D., Mendel, R., Bittner, F., Clement, B., Havemeyer, A. Chemical Research in Toxicology. **2012**, *25*, 2443.
20. Kumar, V., Mohan, C., Gupta, M., Mahajan, M.P. Tetrahedron. **2005**, *61*, 3533.
21. Lhullier C., Horta P.A., Falkenberg, M. Ver. Bras. Farmacogn., **2006**, *16*, 158.
22. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. Adv. Drug Deliv. Ver. **2001**, *46*, 3.
23. Llamas, A., Chamizo-Ampudia, A., Tejada-Jimenez, M., Galvan, A., Fernandez, E. Biofactors. **2017**, *43*, 486.
24. Mahurin, S.M., Gorka, J., Nelson, K.M., Mayes, R.T., Dai, S. Carbon. **2014**, *67*, 457.
25. Merino, F., Oliveira, V., Paula, C., Cansian, F., Souza, A., Zuchetto, M., Hirota, B., Duarte A., Kulik, J., Miguel, M., Miguel, O. Rev. Bras. Plant. Medici., **2015**, *17*, 1031.
26. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnan, J.E., Jacobsen, I.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. J. Med. Chem. Plant. Res., **1982**, *45*, 31.
27. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnan, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J. J. Med. Chem. Plant. Res., **1982**, *45*, 31.
28. Neve, E.P.A., Nordling, A., Andersson, T.B., Hellman, U. Diczfalussy, U., Johansson, I., Sundberg, M.I. J. Bio. Chem. **2012**, *287*, 6307.
29. Nguta, J.M., Mbaria, J.M., Gakuya, D.W., Gathumbi, P.K. Kabasa, J.D. Kiama, S.G. Pharmacologyonline, **2011**, *2*, 458.
30. Овдійчук, О.В., Гордієнко, О.В. J. Org. Pharm. Chem. **2016**, *14*, 53.
31. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., Vyvyan, J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 5ª ed norte-americana, Cengage Learning: São Paulo, 2015, cap. 5 e 7.
32. Perrin, D.D., Amarego, W.L.F. Purification of Laboratory Chemicals, 3ª ed., Pergamon Press: Oxford, 1996.
33. Web of Science™, agosto de 2018.
34. Pisutthanan, S., Plianbangchang, P., Pisutthanan, N., Ruanruay, S., Muanrit, O. Nares. Univ. J., 2004, *12*, 13.
35. Rahman, A., Choudhary, M.I., Thomsen, W.J. Bioassay techniques for drug development. CRC Press; 1ª Ed. Harwood academic publishers, 2001.
36. Rajabi, S., Ramazani, A., Hamidi M., Naji T. J. Pharm. Sci., **2015**, *23*, 20.
37. Schade, D., Kotthaus, J., Riebling, L., Kotthaus, J., Mueller-Fielitz, H., Raasch, W., Koch, O., Seidel, N., Schmidtke, M., Clement B. J. Med. Chem., **2014**, *57*, 759.
38. Srivastava, R. M., Pereira, M. C., Faustino, W. W., Coutinho, K., Anjos, J. V., Melo, S. Monatshefte Für Chemie, **2009**, *140*, 1319.
39. Tabélé, C., Faiões, V.S., Grimaud, F., Santos, E.C.T., Khoumeri, O., Curti, C., Vanelle, P. Eur. J. Med. Chem. **2018**, *148*, 154.
40. Tang, D., Li, X.L., Guo, X., Wu, P., Li, J.H., Wang, K., Jing, H.W. Tetrahedron. **2014**, *70*, 4038.
41. Wu, Z.C., Huang, Y., Lu, Y.N., Tao, T.X., Zhang, Z. Cat. Comm., **2012**, *29*, 158.
42. Xu, H., Ma, S., Xu, Y., Bian, L., Ding, T., Fang, X., Zhang, W., Ren, Y. J. Org. Chem. **2015**, *80*, 1789.
43. Zhang, L., Wang, X., Zhao, Y., Zhu, Z., Fong, H. Mater. Lett. **2012**, *68*, 133.
44. Zhao, Y.; Li, J.; Zhao, L.; Zhang, S.; Huang, Y.; Wu, X.; Wang, X. Chem. Eng. J. **2014**, *235*, 275.
45. Zhu, J., Chen, Z., Xie, H., Li, S., Wu, Y. J. Flu. Chem., **2012**, *133*, 134.
46. Zienkiewicz, J., Fryszkowska, A., Zienkiewicz, K., Guo, F., Kaszynski, P., Januszko, A., Jones, D. The J. Org. Chem. **2007**, *72*, 3510.

Figura 3. Drogas e candidatos a novos medicamentos contendo grupos funcionais amidinas e guanidinas em suas estruturas.

Figura 5. Exemplos de substituição de grupos amidínicos por grupos amidoxímicos.

Tabela 1. Dados reacionais das arilamidoximas (**2a-g**).

Nitrila	Amidoxima	Tempo (min)	Rendimento (%)
1a	2a	15	73
1b	2b	45	55
1c	2c	30	71
1d	2d	20	82
1e	2e	45	80
1f	2f	45	80
1g	2g	40	91

Fonte: Dados da pesquisa.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura MS1. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da Benzamidoxima (**2a**).

Figura MS2. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 2-Metilbenzamidoxima (**2b**).

Figura MS3. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) do 3-Metilbenzamidoxima (**2c**).

Figura MS4 Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) do 4-Metilbenzamidoxima (**2d**).

Figura MS5. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 4-Bromobenzamidoxima (**2e**).

Figura MS6. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 4-Clorobenzaminoxima (**2f**).

Figura MS7. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 4-Nitrobenzaminoxima (**2g**).
Espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C dos Compostos Sintetizados

Figura MS8. Espectro de RMN ^1H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) da Benزامinoxima (**2a**).

Figura MS9. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) da Benzamidoxima (2a).

Figura MS10. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-Metilbenzamidoxima (2b).

Figura MS11. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do 2-Metilbenzamidoxima (2b)

Figura MS12. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 3-Metilbenzamidoxima (**2c**).

Figura MS13. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do 3-Metilbenzamidoxima (**2c**).

Figura MS14. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-Metilbenzamidoxima (**2d**).

Figura MS15. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do 4-Metilbenzamidoxima (2d).

Figura MS16. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-Bromobenzamidoxima (2e).

Figura MS17. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do 4-Bromobenzamidoxima (2e).

Figura MS18. Espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do 4-Clorobenzamidoxima (**2f**).

Figura MS19. Espectro de RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) do 4-Clorobenzamidoxima (**2f**).

Figura MS20. Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do 4-Nitrobenzamidoxima (2g).

Figura MS21. Espectro de RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz) do 4-Nitrobenzamidoxima (2g).