

Morais, MFS, Medeiros, HIR, Jorge, MT, Costa, ECS, Freitas, JCR & Carmo, ES. (2020). Synthesis of 2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol and evaluation of its potential the toxicological and antifungal. *Research, Society and Development*, 9(7): 1-19, e601974523.

Síntese do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol e avaliação do seu potencial toxicológico e antifúngico

Synthesis of 2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol and evaluation of its potential the toxicological and antifungal

Síntesis del 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol y evaluación de su potencial toxicológico y antifúngico

Recebido: 14/05/2020 | Revisado: 16/05/2020 | Aceito: 20/05/2020 | Publicado: 30/05/2020

Maria Franncielly Simões de Moraes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7850-002X>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: frannciellysimoes@gmail.com

Herbert Igor Rodrigues de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0478-9769>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: igorpls_15@hotmail.com

Maria Thaynara Jorge

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9162-6882>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: thaynarajorgef68@gmail.com

Érick Caique Santos Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4687-0725>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: erick.caique.sc@gmail.com

Juliano Carlo Rufino Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4617-4084>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: julianocrf@gmail.com

Egberto dos Santos Carmo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1396-4645>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

Resumo

Nos últimos anos, as micoses têm se tornado um grave problema de saúde pública, principalmente, devido ao aumento do número de pessoas com imunodeficiência, inata ou adquirida, e pelo surgimento de microrganismos multiresistentes decorrente do uso indiscriminado de antibióticos. A fim de minimizar esses problemas, compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazólico são alvo de inúmeros estudos farmacológicos e toxicológicos visando desenvolver novos antimicrobianos mais potentes e seletivos. Deste modo, o presente estudo objetivou avaliar o potencial toxicológico e antifúngico do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol. A síntese do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol foi realizada a partir da reação entre a benzamidoxima e o salicilato de etila. A avaliação do potencial toxicológico foi realizado utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* Leach. A avaliação do potencial antifúngico foi realizada frente a diferentes cepas de fungos potencialmente patogênicos, por meio da técnica de microdiluição seriada. Após 24h de reação, o composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol foi obtido com 72% de rendimento, apresentando um ponto de fusão de 159-160°C e os dados de RMN ¹H e ¹³C corroboram a sua estrutura. O composto apresentou baixa toxicidade frente as artêmias, com uma CL₅₀ de 565,100 µg/mL, enquanto que a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Fungicida Mínima apresentaram valores iguais de 4000 µg/mL para o fungo *Rhizopus orizae*. Estes resultados estimulam outros estudos, uma vez que o composto apresentou baixa toxicidade e espectro de ação reduzido, o que favorece o tratamento de infecções fúngicas específicas.

Palavras-chave: 1,2,4-oxadiazol; Potencial toxicológico; Potencial antifúngico.

Abstract

In recent years, mycoses have become a serious public health problem, mainly due to the increase in the number of people with immunodeficiency, innate or acquired, and the appearance of multiresistant microorganisms due to the indiscriminate use of antibiotics. In order to minimize these problems, compounds containing the 1,2,4-oxadiazolic ring are the target of numerous pharmacological and toxicological studies aimed at developing new, more potent and selective antimicrobials. Thus, the present study aimed to evaluate the toxicological and antifungal potential of the compound 2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol. The synthesis of compound 2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol was carried

out from the reaction between benzamidoxime and ethyl salicylate. Toxicological potential was evaluated using the microcystacean *Artemia salina* Leach. The evaluation of the antifungal potential was carried out against different strains of potentially pathogenic fungi, using the serial microdilution technique. After 24h of reaction, the compound 2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol was obtained with 72% yield, had a melting point of 159-160°C and the ¹H and ¹³C NMR data corroborate its structure. The compound showed low toxicity against the brine shrimp, with an LC₅₀ of 565,100 µg/mL, while the Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Fungicidal Concentration showed equal values of 4000 µg/mL for the fungus *Rhizopus oryzae*. These results encourage other studies, since compound showed low toxicity and reduced spectrum of action, which favours the treatment of specific fungal infections.

Keywords: 1,2,4-oxadiazole; Toxicological potential; Antifungal potential.

Resumen

En los últimos años, las micosis se han convertido en un grave problema de salud pública, principalmente debido al aumento en el número de personas con inmunodeficiencia, innata o adquirida, y la aparición de microorganismos multirresistentes debido al uso indiscriminado de antibióticos. Para minimizar estos problemas, los compuestos que contienen el anillo 1,2,4-oxadiazólico son el objetivo de numerosos estudios farmacológicos y toxicológicos destinados a desarrollar nuevos antimicrobianos más potentes y selectivos. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial toxicológico y antifúngico del compuesto 2- (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) fenol. La síntesis del compuesto 2- (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) fenol se realizó a partir de la reacción entre benzamidoxima y salicilato de etilo. La evaluación del potencial toxicológico se realizó utilizando el microcrustáceo *Artemia salina* Leach. La evaluación del potencial antifúngico se realizó contra diferentes cepas de hongos potencialmente patógenos, utilizando la técnica de microdilución en serie. Después de 24 h de reacción, se obtuvo el compuesto 2- (3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) fenol con un rendimiento del 72%, presentando un punto de fusión de 159-160°C y los datos de ¹H NMR y ¹³C corroboran su estructura. El compuesto mostró baja toxicidad contra los camarones de salmuera, con una CL₅₀ de 565,100 µg / ml, mientras que la concentración inhibitoria mínima y la concentración fungicida mínima mostraron valores iguales de 4000 µg / ml para el hongo *Rhizopus oryzae*. Estos resultados alientan otros estudios, ya que el compuesto mostró baja toxicidad y espectro de acción reducido, lo que favorece el tratamiento de infecciones fúngicas específicas.

Palabras clave: 1,2,4-oxadiazol; Potencial toxicológico; Potencial antifúngico.

1. Introdução

Os fungos são seres eucariotos, heterotróficos e ubiqüitários que se disseminam na natureza através do ar, água, animais e insetos. Estes podem causar infecções denominadas micoses, as quais, de acordo com o órgão ou tecido afetado, podem ser classificadas como: superficiais, subcutâneas ou sistêmicas (Ferreira, 2015; Mezzari et al., 2017; Menezes, Lima, 2017; Pizani, Santos, 2017).

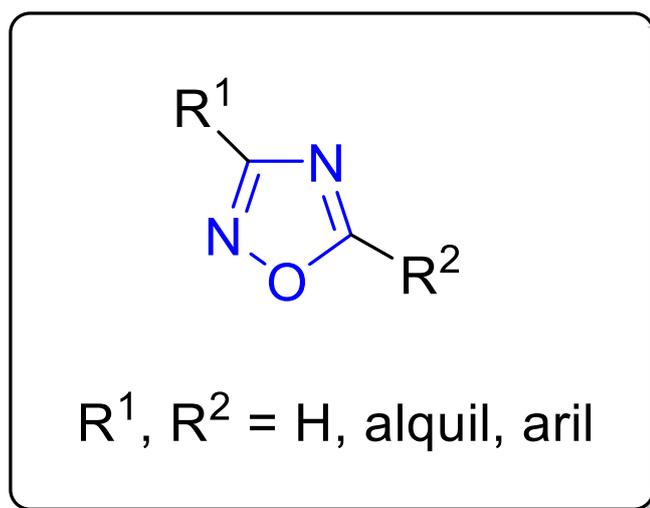
Em sua maioria, os fungos são saprófitos, entretanto, diversas espécies são capazes de provocar doenças nos humanos, como: *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp. e *Rhizopus* spp. Outros fungos, como por exemplo, os dermatófitos e leveduras do gênero *Candida* spp., estão entre os maiores causadores de micoses humanas. Estima-se que entre 10 a 15% da população mundial desenvolve, ao longo da vida, infecções causadas por dermatófitos (Sidrim, Rocha, 2003).

As micoses vêm se tornando um grave problema de saúde pública nos últimos anos, devido, principalmente, ao aumento do número de pessoas com imunodeficiência, seja inata ou adquirida (Murray, Rosenthal, Pfaller, 2014). Além disso, esta situação vem sendo agravada devido ao crescente uso de antimicrobianos de largo espectro (Katzung, Masters, Trevor, 2014), e de seu uso, na maioria dos casos, de forma indiscriminada, acarretando no surgimento de novas cepas de microrganismos mais resistentes.

O aumento da incidência de infecções fúngicas sistêmicas e dos casos resistência microbiana, sinaliza para a necessidade de novos compostos eficazes, não tóxicos e que representem uma abordagem inovadora e promissora para o tratamento das micoses na população.

Nesse contexto, a literatura descreve vários estudos utilizando compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazólico (Figura 1) com promissora atividade antimicrobiano (Cunha, Aguiar, 2015; Gobec et al., 2015; Kahrstrom, 2015).

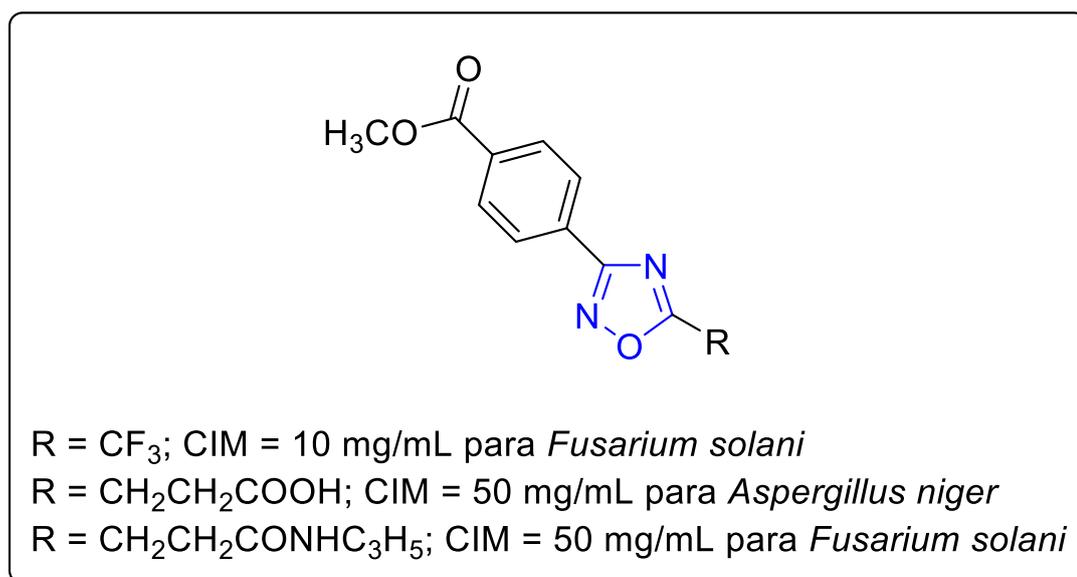
Figura 1. Estrutura do anel 1,2,4-oxadiazólico destacado em azul.



Fonte: Próprios autores, 2020.

Os 1,2,4-oxadiazóis são heterocíclicos que podem atuar como: antiasmático, antidiabético, agente anti-inflamatório, agente antitumoral, agente neuroprotetor, imunossupressor, antioxidante e agente antimicrobiano (Cunha, Aguiar, 2015; Gobec et al., 2015; Kahrstrom, 2015). Tale et al. (2011) destacaram a atividade antifúngica de diferentes compostos 1,2,4-oxadiazólicos frente aos fungos *Aspergillus niger* e *Fusarium solani* (Figura 2).

Figura 2. Exemplos de compostos 1,2,4-oxadiazólicos com ação antifúngica.



Fonte: Próprios autores, 2020.

Diante do exposto, o trabalho tem como foco avaliar o potencial toxicológico e antifúngico do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) fenol visando contribuir para o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento de infecções de modo mais seguro e eficaz.

2. Metodologia

2.1 Materiais, Reagentes e Equipamentos

Foram utilizados reagentes e solventes na sua forma comercial (P.A.), dos fornecedores Sigma-Aldrich, Dinâmica 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-*d*₆ (2,50 ppm) ou CDCl₃ (7,26 ppm) para os espectros de hidrogênio, em relação ao pico central do DMSO-*d*₆ (39,7 ppm) ou CDCl₃ (77,00 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*.

2.2 Procedimentos Experimentais

2.2.1 Síntese da Benzamidoxima

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 benzonitrila 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 (na proporção de 70:30), até observar-se o consumo total da benzonitrila. Finalizada a reação, o etanol foi evaporado, formando duas fases, a fase aquosa e a benzamidoxima insolúvel em água. A benzamidoxima foi extraída desse sistema bifásico 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 (na proporção de 40:60), fornecendo a benzamidoxima pura.

2.2.2 Síntese do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5 il)fenol

Em um balão de fundo redondo de capacidade de 25 mL foram adicionados a benzamidoxima (119 mg; 0,875 mmol), o carbonato de potássio (603 mg; 0,437 mmol), o salicilato de etila (83,5 mg; 0,5 mmol) e 10 mL de um sistema de solventes dimetilformamida:tolueno (3:1, v/v). A este balão acoplou-se um sistema de refluxo e a mistura reacional foi deixada sob agitação e aquecimento ($130\pm 5^{\circ}\text{C}$) por 24 horas. Após o término da reação, comprovada por CCD, adicionou-se 20 mL de acetado de etila e 20 mL de água destilada. A fase orgânica foi separada com um funil de separação, seca com MgSO_4 anidro, e o solvente removido utilizando o evaporador rotativo sob pressão reduzida. Purificou-se o 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol em cromatografia em coluna de vidro utilizando como fase estacionária a sílica gel e como fase móvel diferentes gradientes de polaridade, que iniciou com hexano e terminou com uma mistura de hexano: acetato de etila na proporção de 95:5, respectivamente.

2.2.3 Bioensaio Toxicológico

O bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina* Leach, seguindo o protocolo descrito por Meyer et al. (1982). Assim, foram utilizados 40 mg do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol com a adição de 100 μL de dimetilsulfóxido. Posteriormente, a solução foi homogeneizada e água salinizada filtrada (água salina artificial preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1 L de água destilada) em $\text{pH} = 8,0$ foi adicionado até completar 20 mL de volume final.

Desta solução, foram retiradas alíquotas de 12,5, 62,5, 125, 187,5, 250, 312,5, 375, 500, 625, 1000 e 1250 μL , que foram transferidas para tubos de ensaios de 2,5 mL e os volumes completados com a solução salina, obtendo-se concentrações de 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 800 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ para a solução da amostra. O teste foi acompanhado por controle positivo (dicromato de potássio) e controle negativo (dimetilsulfóxido).

Os cistos da *Artemia salina* (20 mg) foram incubados sob iluminação artificial por 48 horas, para que houvesse então, a eclosão das artêmias. Após a eclosão, estas foram separadas

e transferidas para um total de 42 tubos de ensaio, contendo dez artêmias cada, tendo em vista que o bioensaio foi realizado em triplicada para cada concentração e para cada controle (positivo e negativo).

O primeiro e o segundo grupo receberam a solução controle positivo (solvente e dicromato de potássio) e controle negativo (solvente e dimetilsulfóxido) e as doze seguintes receberam a solução aquosa do composto nas diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas. Após este período, foram contabilizadas as artêmias, baseando-se na mortalidade ou perda de mobilidade dos organismos.

2.2.4 *Análise Estatística*

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

2.2.5 *Cultura dos Fungos*

O potencial antifúngico do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol foi determinado frente aos fungos leveduriformes *Candida tropicalis* HU-01, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum spp.* LM-03 e *Rhodotorula spp.* LM-014, bem como os filamentosos *Aspergillus flavus* LM-027, *Aspergillus niger* LJB-01, e *Rhizopus orizae* LM-64. Todos os microrganismos utilizados foram provenientes do laboratório de Microbiologia (J11) do Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) ou concedidos pela professora Edeltrudes de Oliveira Lima do laboratório de Micologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os fungos foram cultivados em meio Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) com cloranfenicol e incubados respectivamente a 28°C por 7-15 dias (filamentosos) e a 36°C por 24-48 horas (leveduras). As suspensões dos microrganismos foram padronizadas utilizando o Espectrofotômetro Bel Photonics SP 1102, com transmitância de 70% e comprimento de onda de 530 nm, correspondendo a uma concentração de 10⁶ UFC/mL.

2.2.6 *Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)*

A CIM foi realizada através da técnica de microdiluição em placas com 96 cavidades de acordo com as recomendações da norma técnica de 2008 M38-A2 e M27-A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2008). As microplacas foram cultivadas

em triplicatas a uma temperatura de 36°C para leveduras, por um período de 24 a 48 horas e a 28°C para filamentosos por 7-15 dias. Após o período de cultivo, a análise das microplacas foi realizada visualmente, onde a turvação caracteriza o crescimento fúngico. Os valores de CIM foram determinados como a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos fungos, com concentração final de 3,9 µg/mL.

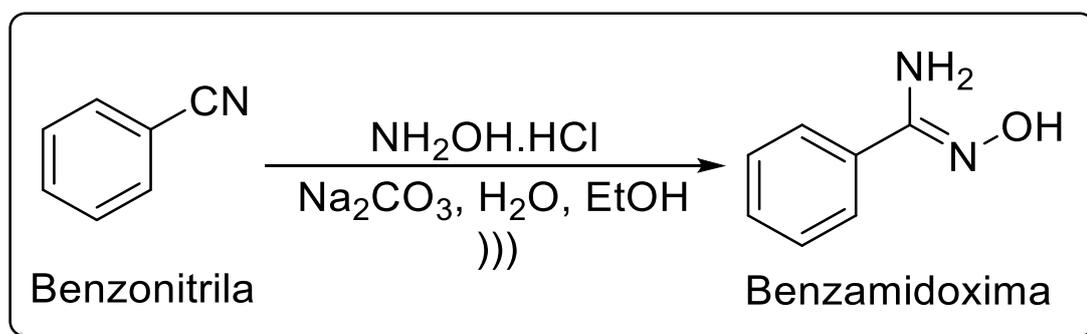
2.2.7 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A análise da CFM foi realizada após a determinação da CIM, retirando-se alíquotas de 20 µL das cavidades onde não houve crescimento fúngico. Em seguida, semearam-se as alíquotas em ASD, sem qualquer substância antifúngica e foi realizada a incubação do sistema de acordo com o tipo de microrganismo. As análises foram feitas em triplicata e o resultado foi determinado pela média geométrica das CFM obtidas. O valor da CFM foi determinado como a menor concentração onde não houve crescimento fúngico superior a três unidades formadoras de colônia (UFC) (Rasooli, Abyaneh, 2004).

3. Resultados e Discussão

Durante os últimos anos, a literatura vem descrevendo a atividade antimicrobiana de diferentes compostos 1,2,4-oxadiazólicos (Cunha, Aguiar, 2015; Gobec et al., 2015; Kahrstrom, 2015; Freitas et al., 2012; Bora et al., 2014). Motivados por essas pesquisas, e na perspectiva de obter um composto eficaz e estruturalmente simples, o trabalho foi iniciado com a síntese da benzamidoxima utilizando o protocolo de Almeida et al. (2018), com algumas modificações, conforme descrito na Figura 3.

Figura 3. Esquema sintético da benzamidoxima.

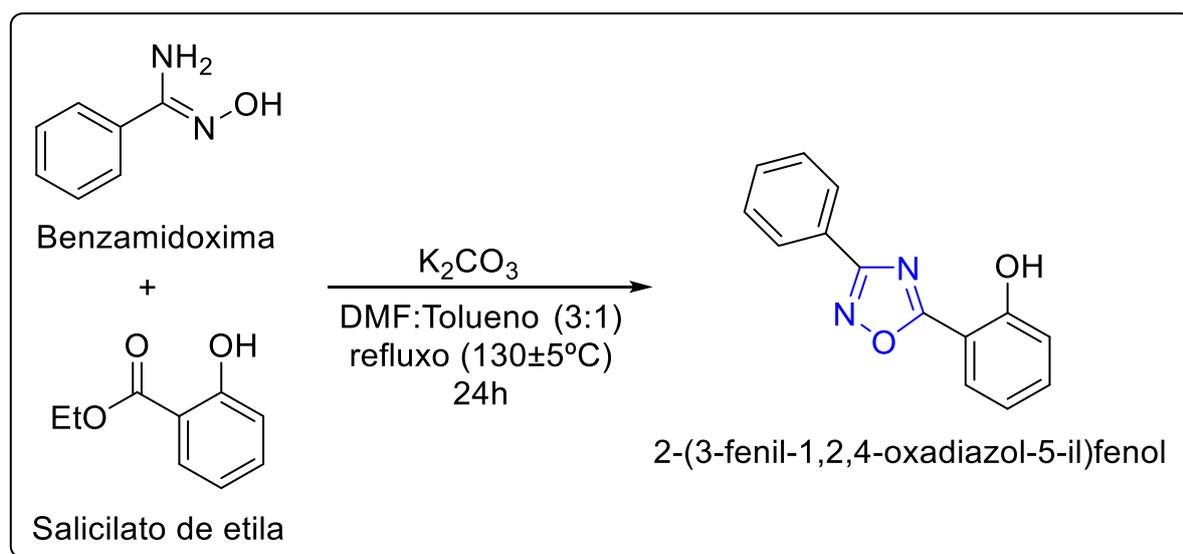


Fonte: Próprios autores, 2020.

A benzamidoxima foi obtida na forma de um sólido branco com 81% de rendimento após um tempo reacional de 60 minutos. O seu ponto de fusão foi 78-79°C, valor este semelhante (78,5°C) ao descrito por Srivastava et al. (1997).

Uma vez sintetizado a benzamidoxima foi iniciada a síntese do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol, conforme descrito na Figura 4.

Figura 4. Esquema sintético do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol.



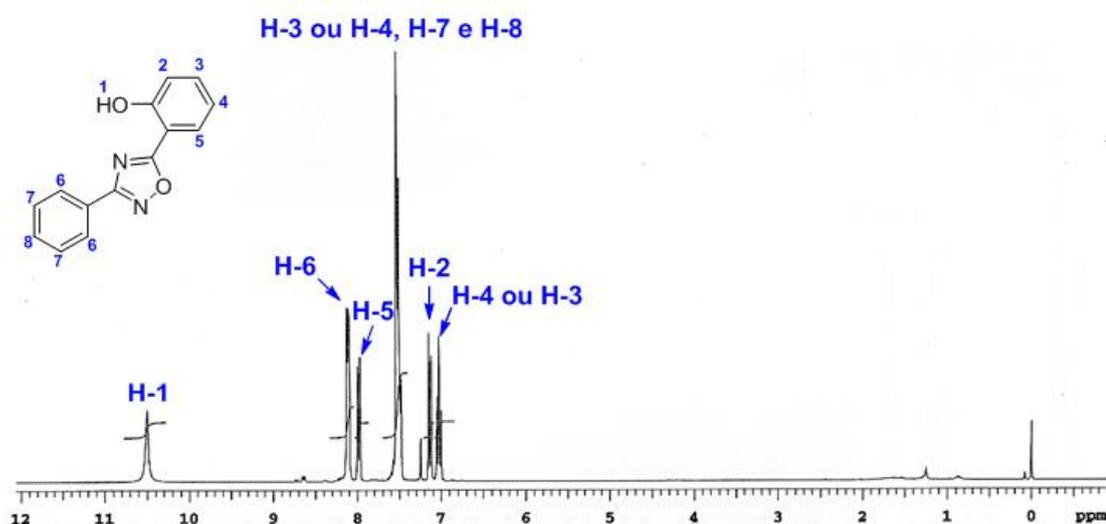
Fonte: Próprios autores, 2020.

O 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol, após a purificação em coluna cromatográfica, foi obtido na forma de sólido branco com 72% de rendimento, sendo este valor de rendimento superior ao descrito por Barbosa et al. (2017). Ele apresentou ponto de fusão de 159-160°C, semelhante ao valor (158-160°C) encontrado por Gupta et al. (2014), e sua estrutura foi confirmada através de RMN ¹H e ¹³C.

Analisando o espectro de RMN ¹H do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol (Figura 5), constatou-se que o somatório das áreas das integrais sob cada sinal foi 10, valor este igual a quantidade de hidrogênios presentes em sua estrutura. O sinal do tipo simpleto em 10,51 ppm foi atribuído ao hidrogênio H-1, devido está diretamente ligado a um oxigênio fenólico, enquanto que o segundo sinal mais desblindado, em 8,12 ppm, foi atribuído ao hidrogênio H-6, o qual apresentou um multiplicidade do tipo duplete de duplete com constantes de acoplamento equivalentes a 7,2 Hz (acoplamento *J*³ com H-7) e 1,8 Hz (acoplamento *J*⁴ com H-8).

Os sinais em 7,99 e 7,14 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-5, respectivamente, ambos com multiplicidade do tipo duplete com constantes de acoplamento 8,4 e 8,1 Hz. O sinal do tipo multiplete, em 7,54 a 7,48 ppm, foi atribuído aos hidrogênios H-3 ou H-4, H-7 e H-8. Por fim, o sinal menos desblindado, em 7,03 ppm, foi atribuído ao H-4 ou H-3, onde apresentou uma multiplicidade do tipo duplete de duplete com constantes de acoplamento 7,8 e 7,5 ppm.

Figura 5. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol.



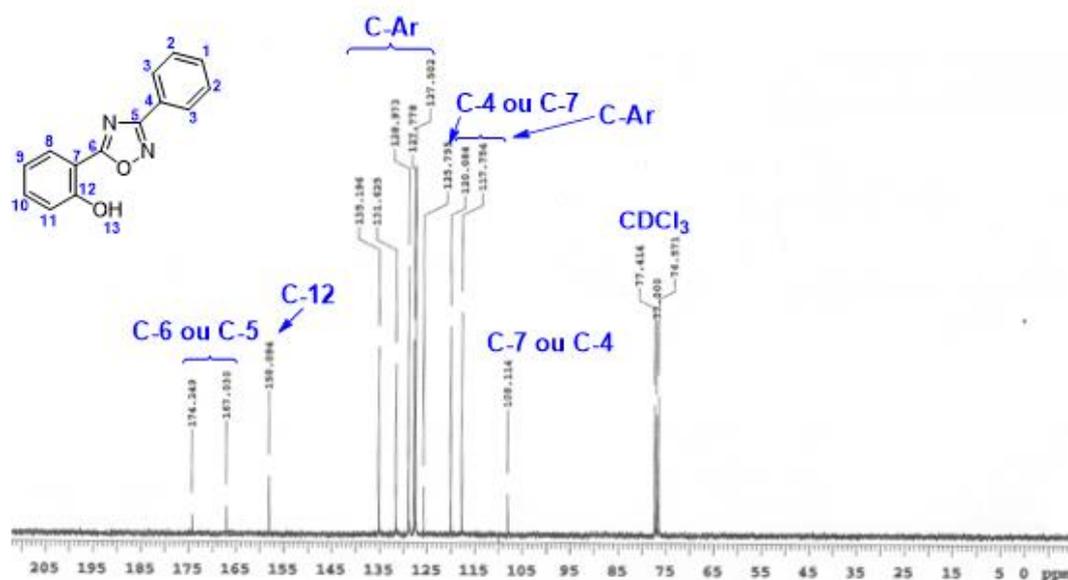
Fonte: Próprios autores, 2020.

Com relação ao espectro de RMN ^{13}C do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol (Figura 6), observou-se a presença de 12 carbonos quimicamente diferentes. Os sinais mais desblindados, em 174,2 e 167,0 ppm, foram atribuídos aos carbonos do anel heterocíclico C-6 e C-5, o que corrobora a formação do anel heterocíclico. Este assinalamento dos sinais foi devido a estes carbonos apresentarem maior tempo de relaxação, implicando em um sinal de baixa intensidade, além disso, o efeito de anisotropia diamagnética é mais intenso, devido estarem em um anel que contém duplas ligações sendo compartilhadas por heteroátomos.

O sinal em 158,1 ppm foi atribuído ao carbono C-12, uma vez que, está diretamente ligado a átomo de oxigênio. Com relação aos sinais em 125,8 e 108,1 ppm foram atribuídos aos hidrogênios C-4 e C-7, devido a baixa intensidade dos sinais ocasionada pelo fato de não

estarem ligados átomos de hidrogênios o que aumenta o tempo de relaxação. Os demais sinais são referentes aos outros carbonos aromáticos presentes na estrutura deste composto.

Figura 6. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol.

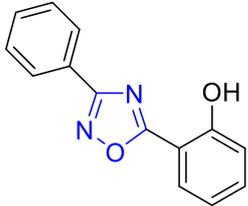


Fonte: Próprios autores, 2020.

Após a síntese, purificação e caracterização do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol, o próximo passo foi avaliar seu potencial toxicológico utilizando a *Artemia salina*, devido esse bioensaio ser simples, rápido, sensível e de baixo custo (Rajabi et al., 2015; Bezerra et al., 2017).

O valor da taxa de mortalidade da solução contendo o composto variou entre 0 e 100%, visando determinar a concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}), com um intervalo de confiança de 95%, listada na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado da CL₅₀ composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol frente as artêmias.

2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol	CL ₅₀	Intervalo de Confiança
	565,100 µg/mL	579,227 a 550,98 µg/mL

Fonte: Próprios autores, 2020.

De acordo com Merino et al. (2015), o valor da CL₅₀ igual a 565,100 µg/mL implica em dizer que o oxadiazol apresenta baixa toxicidade, resultado este promissor, tendo em vista que os agentes antifúngicos não podem apresentar toxicidade frente as células humanas. Avaliado sua toxicidade, a próxima etapa foi avaliar seu potencial antifúngico através da determinação da menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico. As CIMs deste composto estão sumarizadas na Tabela 2, para as sete cepas.

Tabela 2. Valores da Concentração inibitória mínima (CIM) do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol

Espécie de Fungo	CIM
<i>Candida tropicalis</i> HU-01	+
<i>Geotrichum</i> LM-03	+
<i>Rhodotorula</i> LM-014	+
<i>Trichosporon inkin</i> LM-67	+
<i>Aspergillus flavus</i> LM-27	+
<i>Aspegillus niger</i> LJB-01	+
<i>Rhizopus oryzae</i> LM-64	4000

[+] Crescimento fúngico

Fonte: Próprios autores, 2020.

De acordo com a Tabela 1, o composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol apresentou atividade antifúngica somente contra o fungo filamentosos *Rhizopus oryzae* LM-64 com CIM igual 4000 µg/mL. Os resultados da Concentração fungicida mínima (CFM) frente ao fungo *Rhizopus oryzae* LM-64 estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração fungicida mínima (CFM) do 4 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol

CFM ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Rhizopus orizae</i> LM-64
Inibitória	4000
Fungicida	4000

Fonte: Próprios autores, 2020.

O resultado para CFM foi equivalente ao da CIM, 4000 $\mu\text{g/mL}$, como destacado na Tabela 2. Uma provável justificativa para estes valores de CIM e CFM é devido a baixa solubilidade do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol em água ($c\text{LogS} = -5,084$), uma vez que 80% dos fármacos comerciais possuem valores de $c\text{LogS}$ maiores que o calculado através do *software Osiris DataWarrior*. Vale salientar que, a solubilidade em água de um composto afeta drasticamente os seus fatores farmacocinéticos e farmacodinâmicos, isto deve-se ao fato de que um composto deve ter um certo grau de hidrofiliidade para poder atravessar a membrana biológica e alcançar seu destino. (Tavares, 2004).

O uso de compostos 1,2,4-oxadiazólicos para o tratamento de infecções fúngicas vêm sendo amplamente investigado nos últimos anos, por exemplo,

Srivastava et al. (2003), avaliaram a atividade antifúngica de cinco 1,2,4-oxadiazóis frente à levedura *Candida albicans*, e obtiveram CIMs que variaram entre 0,2 a 0,4 $\mu\text{g/mL}$.

Embora o composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol tenha apresentado um espectro de ação reduzido, isso pode caracterizar uma vantagem, uma vez que otimizando sua estrutura, este pode ser empregado no tratamento de infecções fúngicas específicas, sem comprometer a microbiota natural (Krishana et al., 2015).

O *Rhizopus oryzae* faz parte do ecossistema fúngico que causa a deterioração de alimentos, especialmente de frutas (Cantabrana, Perise, Hernandez, 2015). Neste sentido, o composto sintetizado pode ser aprimorado, e ser utilizado como protótipo para fins agrícolas, impedindo o crescimento do fungo nas frutas de interesse.

Em vista desses resultados, o composto oxadiazólico aqui testado, consiste em uma classe promissora para estudos adicionais, tais como: estudos de *docking molecular*, *in vitro*, *in vivo* e estudos de modificação em sua estrutura para otimização das atuais propriedades, ou seja, estudos que possam potencializar sua atividade, bem como, elucidar seu mecanismo de ação.

4. Considerações Finais

Neste trabalho, foi descrito uma síntese eficiente do 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol a partir da benzamidoxima e do salicilato de etila sob refluxo. Este composto 1,2,4-oxadiazólico foi obtido com 72% de rendimento após 24 horas e apresentou ponto de fusão de 159-160°C. Ele foi caracterizado pela espectroscopia de ressonância magnética nuclear onde foi possível observar os deslocamentos químicos que enfatizam a formação do produto desejado.

O composto apresentou baixa toxicidade frente as artêmias, com uma CL_{50} de 565,100 $\mu\text{g/mL}$. O mesmo mostrou uma leve inibição fúngica com CIM e CFM igual a 4000 $\mu\text{g/mL}$, provavelmente devido a sua baixa solubilidade aquosa. Entretanto, este trabalho estimula novos estudos que versem à síntese dessa classe de compostos visando sua aplicação como antimicrobiana.

Além disso, o fato do composto 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenol ter apresentado um espectro de ação reduzido, implica indubitavelmente em uma vantagem, uma vez que mudanças em sua estrutura pode diminuir o valor da CIM e CFM e assim enquadrar-se como agente fungicida, viabilizando o seu emprego no tratamento de infecções fúngicas específicas, sem comprometer a microbiota natural.

Referências

Almeida, CLA, Santos, JAM, Santos, CS, Santos, FA, Vicente, DA, Nascimento, AAPL, Freitas, JCR. (2018). Benzamidoxime-Mediated Crotylation of Aldehydes Using Potassium (Z) and (E)-Crotyltrifluoroborates. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 62 (1), 1-10. doi: 10.29356/jmcs.v62i1.577.

Barbosa, MVS, Silva, ER, Lima, JAC, Silva, JF, Campos, ARN, Freitas, JCR. (2017). 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*, 3 (2), 17-23. doi: 10.20438/ecs.v3i2.80.

Bezerra, JJWA, Costa, AR, Silva, MAP, Rocha, MI, Boligon, AA, Rocha, JBT, Barros, LM, Kamdem, JP. (2017). Chemical composition and toxicological evaluation of *hyptis suaveolens* (L.) Poiteau (Lamiaceae) in *Drosophila melanogaster* and *Artemia salina*. *South African Journal of Botany*, 113 (1), 437-442. doi: 10.1016/j.sajb.2017.10.003.

Bora, RO, Dar, B, Pradhan, V, Farooqui, M. (2014). [1, 2, 4]-oxadiazoles: synthesis and biological applications. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, 14 (4), 355-369. doi: 10.2174 / 1389557514666140329200745.

Cantabrana, I, Perise, R, Hernandez, I. (2015). Uses of rhizopus oryzae in the kitchen. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2 (2), 103-111. doi: 10.1016/j.ijgfs.2015.01.001.

Clsi. (2008). Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica: Norma Aprovada – Segunda Edição. *Anvisa*, 22 (15), 1-51.

Cunha, FS, Aguiar, AP. (2015). Síntese e bioatividade de 1,2,4-oxadiazóis. *Revista Virtual de Química*, 7 (6), 2509-2530. doi: 10.5935/1984-6835.20150150.

Ferreira, AVB. (2005). Fungos: os primórdios do sexo. *Ciências Hoje*, 37 (218), 34-41.

Freitas, JJR, Silva, EE, Regueira, JLLF, Andrade, AS, Calvalcante, PMM, Oliveira, RN, Freitas filho, JR. (2012). 1,2,4-oxadiazóis: síntese e aplicações. *Revista Virtual de Química*, 4 (6), 670-691. doi: 10.5935/1984-6835.20120051.

Gobec, M, Tomasic, T, Markovic, T, Mlinaric-rascan, I, Dolenc, MS, Jakopin, Z. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory properties of 1,2,4-oxadiazole analogs of resveratrol. *Chem-biological Interact*, 240 (1), 200-207. doi: 10.1016 / j.cbi.2015.08.018.

Gupta, PK, Hussain, MK, Asad, M, Kant, R, Mahar, R, Shukla, SK, Hajela, KA. (2014). Metal-free tandem approach to prepare structurally diverse n-heterocycles: synthesis of 1,2,4-oxadiazoles and pyrimidinones. *New Journal of Chemistry*, 38 (1), 3062-3070. doi: 10.1039/C4NJ00361F.

Kahrstrom, CT. (2015). Resistance is costly for candida. *Nature Reviews Microbiology*, 13 (4), 189. doi: 10.1038/nrmicro3454.

Katzung, BG, Masters, SB, Trevor, AJ. (2014). *Farmacologia básica e clínica*. Porto Alegre: Amgh editora.

Krishna, C, Bhargavi, MV, Rao, CP, Krupadanam, GLD. (2015). Synthesis and antimicrobial assesment of novel coumarins featuring 1,2,4-oxadiazole. *Medicinal Chemistry Research*, 24 (10), 3743-3751. doi: 10.1007 / s00044-015-1399-4.

Menezes, CP, Lima, P, Ala, OEL. (2017). Cladosporium spp: morfologia, infecções e espécies patogênicas. *Act Brasiliensis*, 1 (1), 23-27. doi: 10.22571/Actabra1120176.

Merino, FJZ, Oliveira, VB, Paula, CS, Cansian, FC, Souza, AM, Zuchetto, M, Hirota, BCK, Duarte, AFS, Kulik, JD, Miguel, MD, Miguel, OG. (2015). 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 Medicas*, 17 (4), 1031-1040. doi: 10.1590/1983-084x/14_137.

Meyer, BN, Ferrigni, NR, Putnam, JE, Jacobsen, LB, Nichols, DJ, Mc Laughlin, JL. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45 (5), 31-34. doi: 10.1055 / s-2007-971236.

Mezzari, A, Hernandes, KM, Fogaça, RFH, Calil, LN. (2017). Prevalência de micoses superficiais e cutâneas em pacientes atendidos numa atividade de extensão universitária. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, 21 (2), 151-156. doi: 10.22478/ufpb.2317-6032.2017v21n2.24162.

Murray, P, Rosenthal, KS, Pfaller, MA. (2014). *Microbiologia médica*. Rio de Janeiro: Elsevier brasil.

Perrin, DD, Amarego, WLF. (1996). *Purification of laboratory chemicals*. Pergamon press: Oxford.

Pizani, AT, Santos, MO. (2017). Criptococose em pacientes hiv positivos: revisão sistemática da literatura. *Revista Saúde Unitoledo*, 1 (1), 90-106.

Rajabi, S, Ramazani, A, Hamidi, M, Najidaru, T. (2015). *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23 (1), 20. doi: 10.1186 / s40199-015-0105-x.

Rasooli, I, Abyaneh, MR. (2004). Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 15 (6), 479-483. doi: 10.1016 / j.foodcont.2003.07.002.

Sidrim, JJC, Rocha, MFG. (2003). *Micologia médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Srivastava, RM, Brinn, IM, Machuca-herrera, JO, Faria, HB, Carpenter, GB, Andrade, D, Venkatesh, CG, Morais, LPF. (1997). Benzamidoximes: structural, conformational and spectroscopic studies. *Journal of Molecular Structure*, 406 (1), 159-167. doi: 10.1016/S0022-2860(96)09452-5.

Srivastava, RM, Lima, AA, Viana, OS, Silva, MJC, Catanho, MTJA, Morais, JOF. (2003). Antiinflammatory property of 3-aryl-5-(n-propyl)-1,2,4-oxadiazoles and antimicrobial property of 3-aryl-5-(n-propyl)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazoles: their syntheses and spectroscopic studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11 (8), 1821-1827. doi: 10.1016 / s0968-0896 (03) 00035-x.

Tale, R, Rodge, AH, Keche, AP, Hatnapure, GD, Padole, PR, Gaikwad, GS, Turkar, SS. (2011). Synthesis and anti-bacterial, anti-fungal activity of novel 1,2,4-oxadiazole. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3 (2), 496-505.

Tavares, LC. (2004). Qsar: a abordagem de hansch. *Quim Nova*, 27 (4), 631-639.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Maria Franncielly Silva Moraes – 30%

Herbert Igor Rodrigues de Medeiros – 20%

Maria Thaynara Jorge - 15%

Erick Caique dos Santos Costa – 15%

Juliano Carlo Rufino Freitas – 10%

Egberto dos Santos Carmo – 10%