



INSTITUTO  
FEDERAL  
Pernambuco

# SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE NOVOS HÍBRIDOS CONTENDO EUGENOL E O NÚCLEO 1,2,4-OXADIAZOL

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL EVALUATION OF NEW HYBRIDS CONTAINING EUGENOL AND THE 1,2,4-OXADIAZOLE CORE

**Evellyn Thaís Ventura Gomes<sup>1</sup>**  
vllventura@gmail.com

**Dr. Tonny Cley Campos Leite<sup>2</sup>**  
tonny.leite@barreiros.ifpe.edu.br

**Prof. Dr. Jonh Anderson Macêdo Santos<sup>3</sup>**  
jonh.santos@barreiros.ifpe.edu.br

---

## RESUMO

Na busca constante por novos compostos farmacológicos, a hibridização molecular é uma ferramenta consagrada na química medicinal pela qual dois ou mais grupos farmacofóricos são combinados para criar um composto denominado de híbrido. Espera-se que este híbrido mantenha as características dos compostos originais, demonstrando melhorias em sua ação farmacológica. Nesse sentido, nesse trabalho relatamos a síntese de um híbrido molecular inédito formado pelo eugenol e o núcleo 1,2,4-oxadiazol e a avaliação da sua atividade antibacteriana. O eugenol tem sido aplicado há bastante tempo como um agente antimicrobiano de base natural, enquanto o núcleo 1,2,4-oxadiazol é um composto que possui propriedades biológicas e está presente em diversos fármacos comercialmente disponíveis. Assim, inicialmente foram sintetizados diferentes arilamidoximas com rendimentos que variaram de 78 a 87%. A submissão da benzoamidoxima a reação de O-acilação com o 2-clorocloreto de acetila seguido da ciclodesidratação térmica levou ao 5-(clorometil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol (**4**) em um rendimento de 80%. A partir da estratégia sintética desenvolvida foi possível obter o composto híbrido desejado em um rendimento de 70% por meio da reação de substituição nucleofílica entre o eugenol (**1**), fragmento A, e o 5-(clorometil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol (**4**), fragmento B. As estruturas dos compostos sintetizados foram confirmadas através de ressonância magnética e espectrometria de massas. Após a realização da síntese do híbrido molecular, o mesmo foi submetido a avaliação antibacteriana frente duas bactérias gram-positivas e apresentou uma moderada atividade contra as bactérias *S. aureus* e *S. Pyogenese* com CIM de 1000 µg/mL. Portanto, os resultados obtidos demonstram que a nova estrutura sintetizada é auspiciosa quanto ao desenvolvimento de novos híbridos com potencial terapêutico.

Palavras-chave: síntese; eugenol; 1,2,4-oxadiazol; antimicrobiano; híbrido.

Instituto Federal de Pernambuco. *Campus* Barreiros. Curso de Licenciatura em Química.

4 de junho de 2023.

## ABSTRACT

In the constant search for new pharmacological compounds, molecular hybridization is a consecrated tool in medicinal chemistry for which two or more pharmacophoric groups are combined to create a new compound called hybrid. It is expected that this hybrid maintains the characteristics of the original compounds, showing improvements in its pharmacological action. In this sense, in this work we report the synthesis of an unprecedented molecular hybrid formed by eugenol and the 1,2,4-oxadiazole nucleus and the evaluation of its antibacterial activity. Eugenol has been applied for quite some time as a natural-based antimicrobial agent, while the 1,2,4-oxadiazole nucleus is a compound that possesses biological properties and is present in various commercially available drugs. Thus, initially they synthesized different arylamidoximes with yields that varied from 78 to 87%. Submission of benzamidoxime to the reaction of O-acylation with acetyl 2-chlorochloride followed by thermal cyclodehydration raised 5-(chloromethyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (4) in a yield of 80%. From the synthetic strategy developed, it was possible to obtain the desired hybrid compound with a yield of 70% by means of the nucleophilic substitution reaction between eugenol (1), fragment A, and 5-(chloromethyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (4), fragment B. As structures two synthesized compounds were confirmed by magnetic resonance and mass spectrometry. After the synthesis of the molecular hybrid, it was subjected to antibacterial evaluation against two gram-positive bacteria and showed moderate activity against the *S. aureus* and *S. Pyogenese* bacteria with a MIC of 1000 µg/mL. Therefore, the results obtained show that the new synthesized structure is auspicious for the development of new hybrids with therapeutic potential.

Keywords: synthesis; eugenol; 1,2,4-oxadiazole; antimicrobial; hybrid.

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças causadas por agentes infecciosos são uma das principais causas de morte no mundo (FERREIRA *et al.*, 2021). A evolução dos microrganismos ultrapassou a descoberta de novas substâncias ativas, concomitante com o aumento no uso indevido de compostos antimicrobianos acarretou o surgimento e a propagação da resistência antimicrobiana (GALLAGHER; BAKER, 2020; AZEVEDO-BARBOSA *et al.*, 2021).

Ao longo da história as infecções microbianas têm causado temor na sociedade. Apesar dos casos terem diminuído no decorrer do tempo, sua resistência a antibióticos vem se desenvolvendo cada vez mais. Nos últimos tempos a bactéria *Staphylococcus aureusum* já se revelava resistente a penicilina, a qual era sensível a esse antibiótico e considerada de fácil tratamento na maior parte dos casos. (BRAS *et al.*, 2007). Na década de 70 manifestaram-se dois novos modelos de bactérias, a Gram-positiva e a Gram-negativa, que apresentam tipos distintos de resistência. Atualmente, está sendo possível notar o surgimento de microrganismos extremamente resistentes ou com exíguas opções terapêuticas para tratamento com medicamentos já disponíveis.

Levando em consideração que o quadro de doenças infecciosas tem aumentado exponencialmente, tornando-se um dos grandes problemas para saúde

pública em todo mundo e a imensa necessidade na descoberta de novos agentes antimicrobianos para o tratamento de doenças acarretadas por microrganismos resistentes, neste trabalho, descrevemos a síntese, caracterização e avaliação antimicrobiana de novos híbridos moleculares formados pela combinação das propriedades biológicas do eugenol e do núcleo 1,2,4-oxadiazol, destinada a descobrir novos agentes antimicrobianos.

A pesquisa destinada a descobrir novos agentes antimicrobianos é uma das grandes necessidades atuais (AZEVEDO-BARBOSA *et al.*, 2021), tendo em vista que as doenças infecciosas são uma das principais causas de morte no mundo (FERREIRA *et al.*, 2021). A evolução dos microrganismos ultrapassou a descoberta de novas substâncias ativas, ao mesmo tempo que o aumento da utilização indevida de compostos antibacterianos conduziu ao surgimento e disseminação da resistência microbiana (GALLAGHER; BAKER, 2020; AZEVEDO-BARBOSA *et al.*, 2021).

Estima-se que as infecções causadas por bactérias multirresistentes causam pelo menos 700.000 mortes de pessoas a cada ano em todo o mundo, um número que deve aumentar para 10 milhões em 2050 (BASSETTI *et al.*, 2021). O número previsto de mortes causadas por infecções resistentes a medicamentos nas próximas décadas pode ser comparado com a taxa global de fatalidade da atual pandemia de SARS-CoV-2 (COVID-19). Um aspecto, muitas vezes deixado em segundo plano, no combate a pandemia de COVID-19 é o alto número de infecções secundárias, frequentemente associadas a bactérias multirresistentes, que são observadas especialmente em pacientes hospitalizados e naqueles com o sistema imunológico já comprometido (MIETHKE *et al.*, 2021). Além disso, o uso massivo de antibióticos para o (co)tratamento de pacientes contaminados com COVID-19 (VAUGHN *et al.*, 2020) pode acarretar um efeito devastador na disseminação da resistência bacteriana (HSU, 2020; RAWSON *et al.*, 2020) e provavelmente outras consequências clínicas, econômicas e sociais negativas poderão ser observadas em breve (MIETHKE *et al.*, 2021).

Apesar da disponibilidade de quimioterápicos e antibióticos, o surgimento de cepas bacterianas resistentes caracteriza uma necessidade significativa para a síntese de antibióticos mais seguros e potentes. Nesse sentido, a hibridização molecular surge como uma alternativa eficiente no desenvolvimento de compostos protótipos por meio da conjugação de unidades farmacológicas distintas em uma única molécula. De forma concisa pode-se considerar hibridização molecular como uma adjeção de fragmentos bioativos distintos em uma única estrutura molecular.

O eugenol e o 1,2,4-oxadiazol exibem um amplo escopo de aplicações medicinais, o que tem gerado um crescente interesse nos últimos anos. A preparação dos compostos será realizada de acordo com uma abordagem racional envolvendo métodos computacionais que predizem os compostos com maiores potenciais bioativos, reduzindo tempo e custos. Os compostos sintetizados que exibirem atividade biológica promissora poderão ser patenteados.

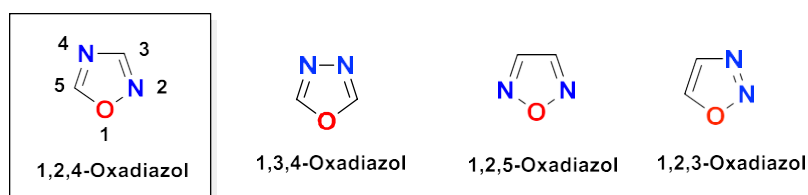
## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 1,2,4-Oxadiazóis: Aspectos gerais, Métodos de Preparação e Aplicações Biológicas

Os oxadiazóis são compostos heterocíclicos de cinco membros contendo três heteroátomos no anel, sendo dois átomos de nitrogênio e um átomo de oxigênio, dois átomos de carbono, além de duas ligações duplas, propiciando um caráter aromático. Existem quatro isômeros constitucionais descritos na literatura para esta classe de compostos, os quais se diferem pela posição dos heteroátomos. Destes, os que mais se destacam são o 1,3,4-oxadiazol e o 1,2,4-oxadiazol (PATEL *et al.*, 2014). É importante ressaltar que o 1,2,3-oxadiazol não apresenta utilidade prática, visto que é instável e se decompõe com facilidade (CUNHA *et al.*, 2015).

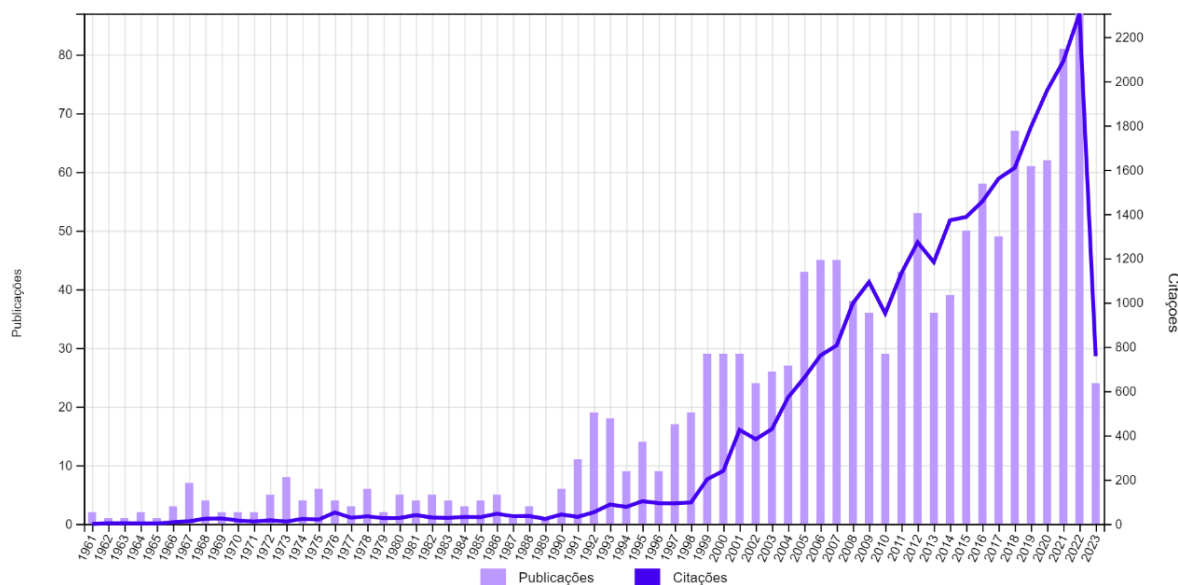
Como mostrado na (Figura 1), os átomos do ciclo são numerados começando pelo oxigênio (posição 1) e os demais na direção dos átomos de nitrogênio que leve aos menores números possíveis.

**Figura 1** - Estrutura do 1,2,4-oxadiazol e seus isômeros



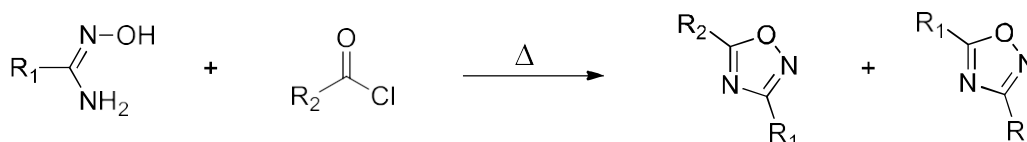
Fonte: o autor (2023)

Os 1,2,4-oxadiazóis vêm adquirindo bastante destaque nas últimas décadas, pois estes compostos apresentam muitas aplicações na indústria farmacêutica para a descoberta de medicamentos, materiais cintilantes e indústria de corantes (TEJAS *et al.*, 2022). No gráfico obtido através da plataforma *Web Of Science*, empregando a palavra-chave *1,2,4-oxadiazole*, é possível observar um grande número de artigos e citações sobre os 1,2,4-oxadiazóis, demonstrando que a pesquisa sobre esses compostos tem se expandindo exponencialmente ano a ano. Cabe salientar que apenas nos cinco meses iniciais do primeiro semestre de 2023 foram verificados 758 citações e 24 publicações sobre o tema (Figura 2).

**Figura 2** - Número de citações e publicações sobre os 1,2,4-oxadiazóis até 2023

Fonte: Web of Science (2023)

Há diversas variações quanto aos métodos para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis, a maioria delas são baseadas na heterociclicização de derivados de *O*-aciloamidoximas ou cicloadição 1,3-dipolar de *N*-óxidos de nitrilas. A primeira obtenção sintética do 1,2,4-oxadiazol foi relatada por Tiemann e Krüger em 1884, que nomearam estes heterocíclicos originalmente como furo[ab1]diazóis, devido a sua semelhança com o anel furano. Nessa proposta inicial, Tiemann e Krüger empregaram amidoximas e cloretos de acila como reagentes de partida, resultando na produção de dois produtos, como mostrado no (Figura 3). Esta reação sofreu modificações devido o longo tempo reacional, baixo rendimento, formação de subprodutos e dificuldade de purificação (BIERNACKI *et al.*, 2020).

**Figura 3** - Primeira síntese dos 1,2,4-oxadiazóis relatado por Tiemann e Krüger

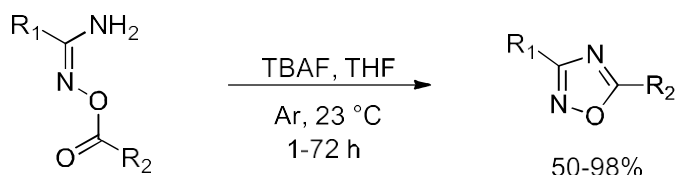
R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = metil ou fenil

Fonte: o autor (2023)

A necessidade de aquecimento na etapa de ciclização, normalmente, requer altas temperaturas (até 140 °C) por longos períodos e consiste em uma das principais limitações da química dos 1,2,4-oxadiazóis. O emprego de um catalisador para essa reação, como por exemplo a piridina, melhora a eficácia da síntese e permite que a reação seja realizada a temperatura ambiente (BAYKOV *et al.*, 2023). O primeiro método desenvolvido para síntese dos 1,2,4-oxadiazóis em temperatura ambiente foi descrito por Gangloff e colaboradores em 2001. Após tratamento com fluoreto de tetrabutilamônio (TBAF), as *O*-aciloamidoximas foram convertidas nos 1,2,4-

oxadiazóis correspondentes com facilidade e sem a necessidade de aquecimento. O TBAF atua como uma base forte em tetrahidrofurano (THF) anidro (Figura 4).

**Figura 4** - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis via ciclização de O-aciloamidoxima em temperatura ambiente

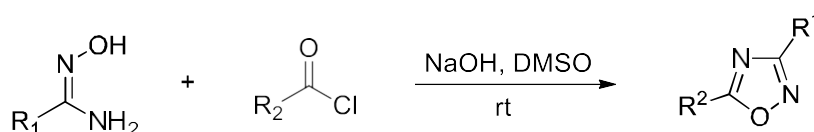


Fonte: o autor (2023)

Além disso, reações assistidas por micro-ondas de amidoximas com cloretos de acila/ésteres de ácidos carboxílicos na presença de um catalisador ( $\text{NH}_4\text{F}/\text{Al}_2\text{O}_3$  ou  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) também foi descrita (FREITAS *et al.*, 2007; KABOUDIN; SAADATI, 2005). Existem diversos benefícios do uso da irradiação de micro-ondas quando comparado as metodologias sintéticas clássicas, a citar: diminuição considerável do tempo reacional, altos rendimentos e purificação simples. Adicionalmente, os volumes de solventes orgânicos voláteis são reduzidos drasticamente, o que é atualmente desejado em uma abordagem sintética ambientalmente correta (BAYKOV *et al.*, 2023).

Em 2017 houve relatos de novas abordagens sintéticas na obtenção de 1,2,4-oxadiazóis. Baykov e colaboradores relataram um estudo sobre o primeiro procedimento sintético para a síntese do 1,2,4-oxadiazóis a partir de amidoximas e ésteres metílicos ou etílicos na presença de uma superbases  $\text{NaOH}/\text{DMSO}$  (Figura 5).

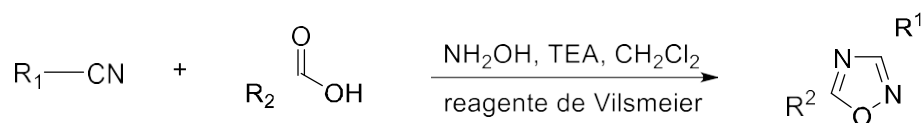
**Figura 5** - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis promovida por superbases



Fonte: o autor (2023)

Em outro procedimento sintético, Zarei (2018) relatou a preparação de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-disubstituídos- por meio da reação de amidoximas com ácidos carboxílicos via ativação do grupo  $-\text{COOH}$  através empregando o reagente de Vilsmeier (Figura 6).

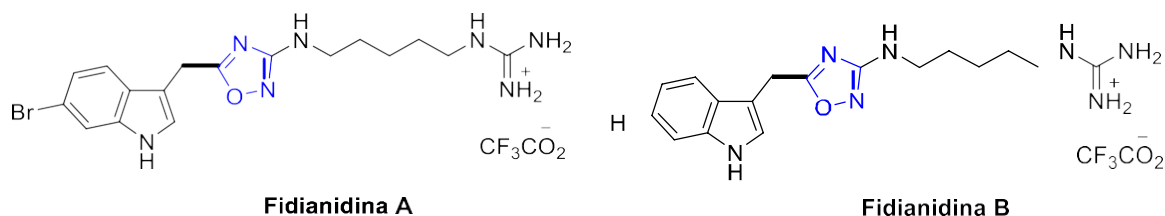
**Figura 6** - Uso do reagente de Vilsmeier para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis



Fonte: o autor (2023)

Em contrapartida aos diversos relatos da literatura referente às várias maneiras sintéticas para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis, Carbone e colaboradores, em 2011, descreveram o isolamento de dois 1,2,4-oxadiazóis de base natural obtidos a partir da espécie de molusco marinho *Phidiana militaris*. Os organismos marinhos têm uma grande representatividade quanto a descoberta de moléculas bioativas, ele tem acarretado bastante interesse por suas diversas atividades farmacológicas (MUNRO *et al.*, 2010). Os produtos naturais foram denominados de Fidianidinas A e B. A estrutura desses compostos é caracterizada pela presença de um anel 1,2,4-oxadiazol que faz ligação com o sistema indol através de uma ponte de metileno, além de um grupo de aminoalquilguanidina ligado em C-30 (Figura 7). As Fidianidinas A e B e seus derivados têm atraído bastante interesse desde a sua descoberta, uma vez que essas moléculas exibem atividades antitumoral (CARBONE *et al.*, 2011), analgésica (BUCHANAN; PETERSEN; CHAMBERLAND, 2013), neuroprotetora (JIANG *et al.*, 2015) e anti-inflamatória (XU *et al.*, 2022).

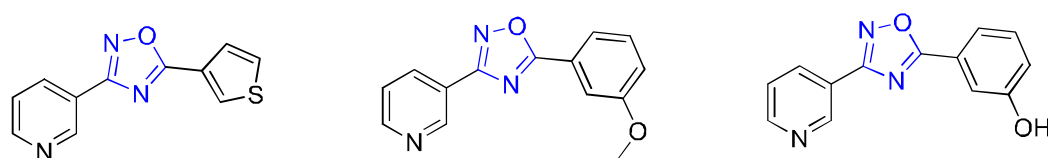
**Figura 7** - Estrutura dos produtos naturais Fidianidinas A e B



Fonte: o autor (2023)

Recentemente, Ticona e colaboradores (2022), isolaram três novos 1,2,4-oxadiazóis (Figura 8) a partir de tubérculos da planta *Neowerdermannia vorwerkii*, os quais apresentaram citotoxicidade para duas linhagens de células tumorais (SK-HEP-1 e Caco-2).

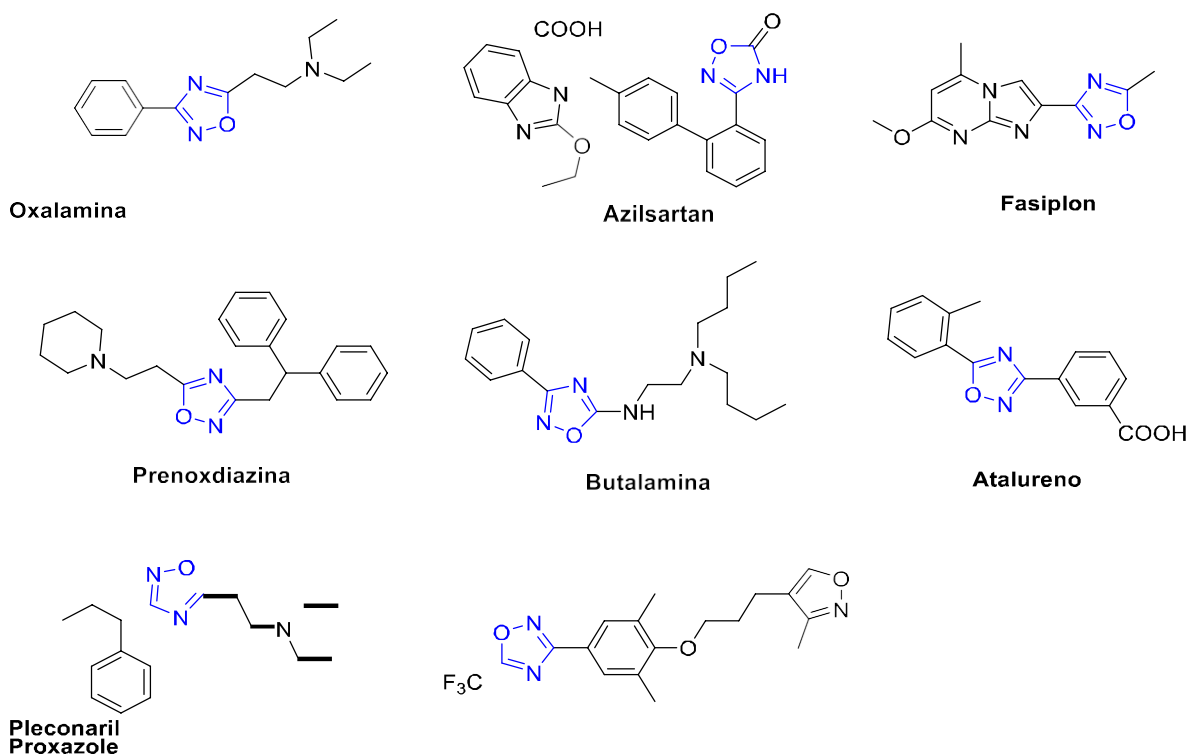
**Figura 8** - 1,2,4-Oxadiazóis isolados da espécie *Neowerdermannia vorwerkii*



Fonte: o autor (2023)

Os primeiros estudos sobre a atividade biológica dos 1,2,4-oxadiazóis foram publicados apenas no início de 1940, no esteio do aumento do interesse por esse heterocíclico devido a descoberta da sua capacidade de se rearranjar para outros sistemas heterocíclicos por via fotoquímica (BIERNACKI *et al.*, 2020), e 20 anos depois, a oxalamina (Figura 5), um supressor de tosse, foi fornecida ao mercado farmacêutico como o primeiro medicamento comercial da classe contendo um anel 1,2,4-oxadiazólico. Nas últimas quatro décadas, o núcleo 1,2,4-oxadiazol foi extensivamente explorado, produzindo uma grande variedade de moléculas com funções biológicas variadas. Azilsartan (um anti-hipertensivo), fasiplon (um ansiolítico não benzodiazepínico), prenoxdiazina (um supressor da tosse), butalamina (um vasodilatador), atalureno (um medicamento para tratamento da distrofia muscular de Duchenne), proxazol (um medicamento usado para distúrbios gastrointestinais funcionais) e o pleconaril (um medicamento antiviral) (Figura 9) são alguns dos medicamentos disponibilizados comercialmente tendo em sua estrutura o heterocíclico 1,2,4-oxadiazol (HENDAWY, 2022).

**Figura 9** - Estruturas de alguns fármacos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazólico



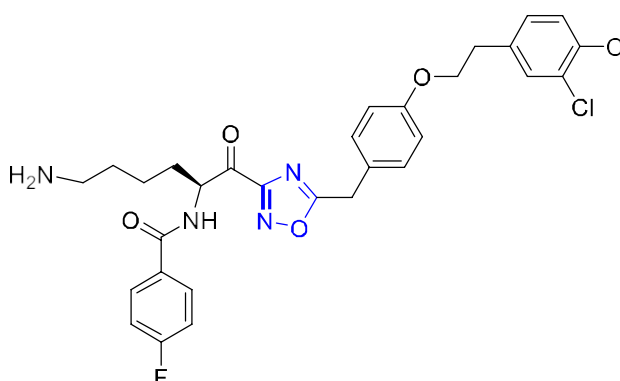
Fonte: o autor (2023)

Além disso, na literatura tem sido reportada diversas aplicações dos 1,2,4-oxadiazóis, como por exemplo podemos citar as atividades antiviral contra o vírus da dengue, anti-infeccioso, antileishmania (TEJAS *et al.*, 2022), antimalárica (BIERNACKI 2020), anti-inflamatório, antitumoral (ATMARAM *et al.*, 2022), anti-Alzheimer (TICONA *et al.*, 2022), antimicrobiano, antiasmático, antidiabético, entre outras (CUNHA 2015).



Com um múltiplo conjunto de derivados 1,2,4-oxadiazólicos diretamente associados a diferentes ações terapêuticas, há relatos do emprego de derivados do 1,2,4-oxadiazol com propriedade antiasmática ( $IC_{50}=0,0025\mu M$ ), que agiu como inibidores da enzima humana triptase, de modo que está concatenada aos efeitos imediatos e a longo prazo da asma (Figura 10) (CUNHA *et al.*, 2015).

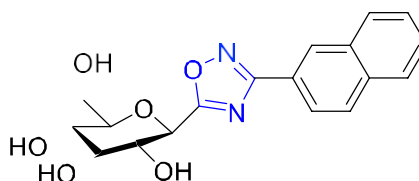
**Figura 10** - Derivado de 1,2,4-oxadiazol com atividade antiasmática



Fonte: o autor (2023)

Já para o tratamento da diabetes, Cunha e colaboradores (2015) descreveram a síntese do 3- $\beta$ -D-glicopiranosil-1,2,4-oxadiazóis com substituintes em C-3, no qual, um dos diversos derivados do 1,2,4-oxadiazol utilizado no estudo apresentou a capacidade de inibir a enzima glicogênio fosforilase com  $IC_{50} = 12 \mu M$  (Figura 11).

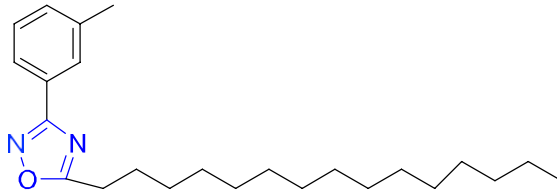
**Figura 11** - Composto com atividade antidiabética



Fonte: o autor (2023)

A utilização de derivados do 1,2,4-oxadiazóis com enfoque nas propriedades anti-inflamatórias tem sido explorada por uma quantidade maior de pesquisadores (Figura 12). Cunha relatou atividade dos compostos sintetizados que foi observada à medicamentos anti-inflamatórios conhecidos, como ibuprofeno e aspirina, referente a síntese de 1,2,4-oxadiazol derivado de ácido graxo contendo hidrocarboneto linear ligado ao C-5, que funcionou como inibidor da enzima hidrólise de amida de ácido graxo (FAAH).

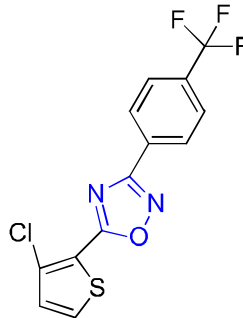
**Figura 12** - Exemplo de oxadiazol com atividade antiinflamatória



Fonte: o autor (2023)

O câncer é uma doença caracterizado por um crescimento e espalhamento descontrolado de células anormais que possuem centenas de manifestações diferentes. Em concordância com Cunha (2015), Zhang e colaboradores sintetizaram derivados de 3,5-diaril-1,2,4-oxadiazol com capacidade de induzir apoptose caracterizado pela autodestruição da célula (Figura 13).

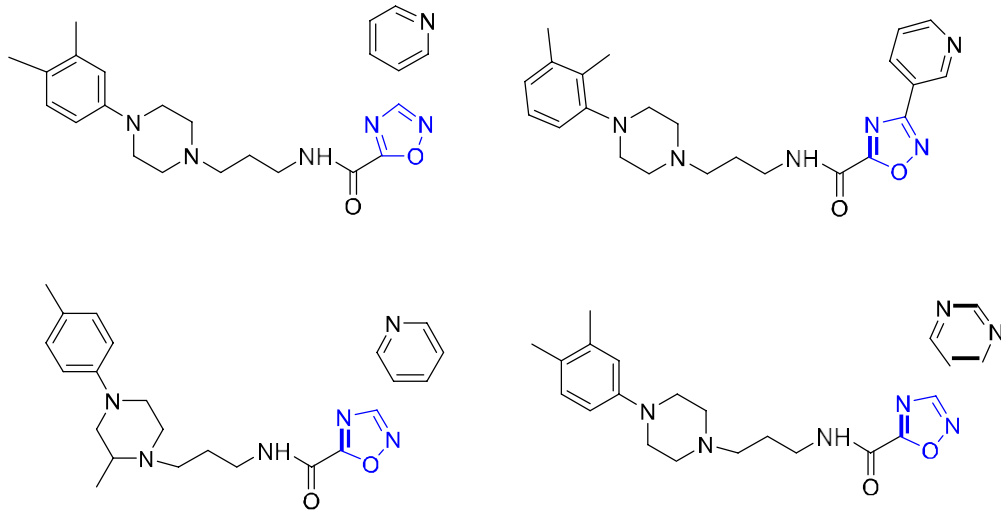
**Figura 13** - Exemplo de derivado com propriedade antitumoral sintetizado por Zhang



Fonte: o autor (2023)

Com uma variante no produto sintetizado, Koryakova e colaboradores obtiveram o derivado 1,2,4-oxadiazóis-5-carboxamida e avaliaram a capacidade de inibição da enzima glicogênio sintase quinase 3 (GSK 3) (Figura 14) (CUNHA *et al.*, 2015).

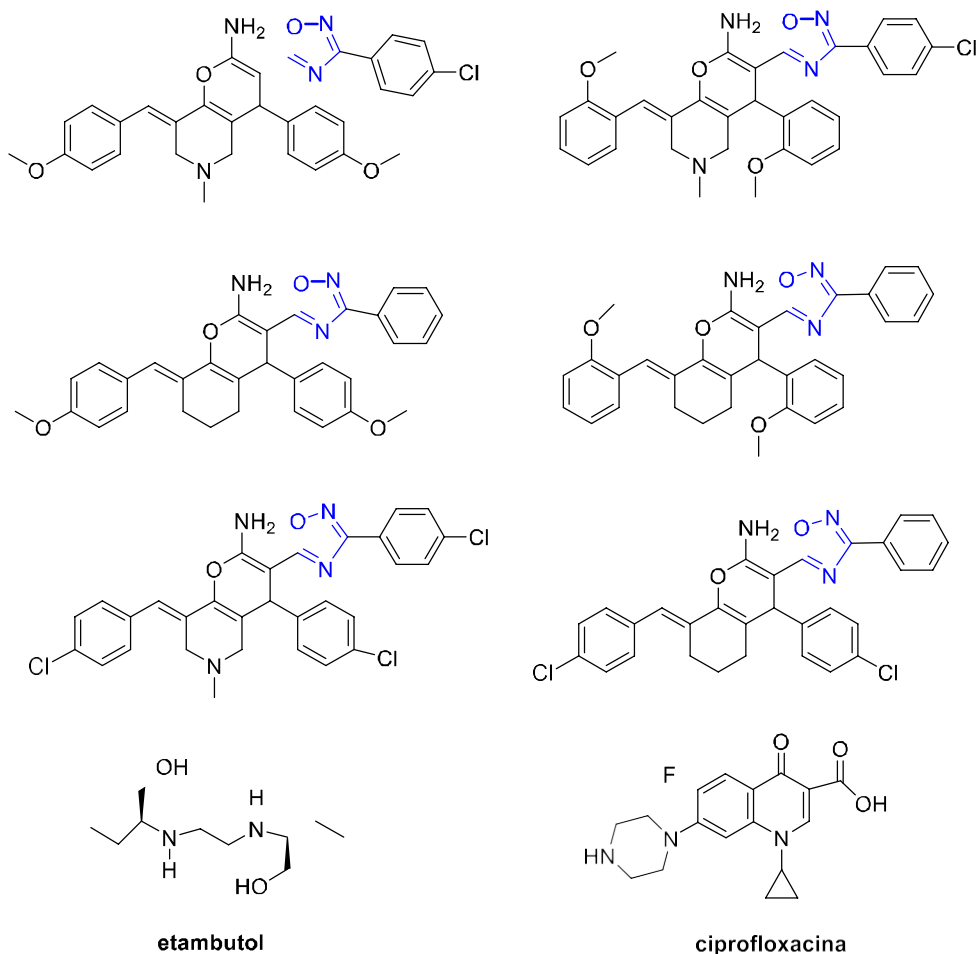
**Figura 14** - Derivados de 1,2,4-oxadiazol-5-carboxamida sintetizados por Koryakova



Fonte: o Autor (2023)

Um outro destaque diante das propriedades biológicas do 1,2,4-oxadiazol são as relacionadas as atividades antimicrobiana. Pois, de modo geral, os antibióticos são compostos que agem diretamente com os micro-organismos que causam infecções. Normalmente as moléculas do composto sintetizado interferem no metabolismo e na reprodução do microrganismo, através da inibição de alguma proteína que seja indispensável para manter o microrganismo vivo. Kumar e colaboradores sintetizaram novos derivados do 1,2,4-oxadiazol e realizou testes frente a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 15), aplicando etambutol e ciprofloxacina (Figura 15), que logo apresentaram uma concentração mínima inibitória mais eficiente em relação aos padrões utilizados (AGUIAR *et al.*, 2015).

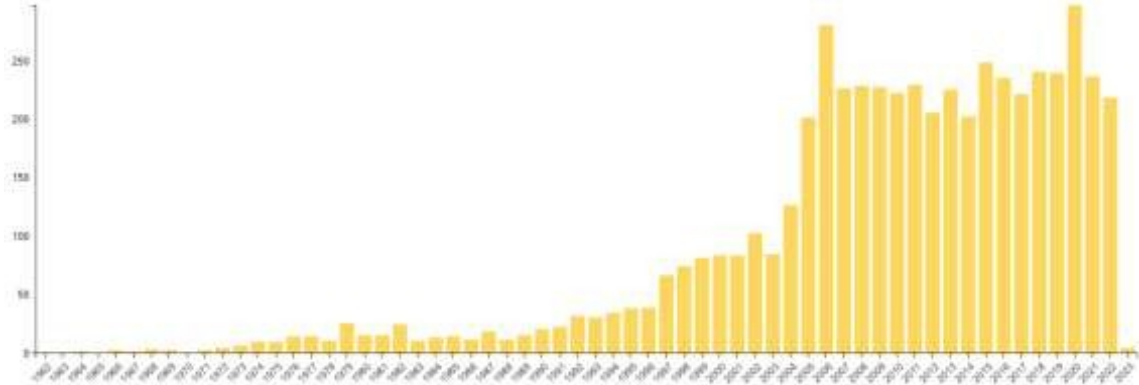
**Figura 15 - Oxadiazóis bioativos contra *Mycobacterium tuberculosis***



Fonte: o autor (2023)

Com o intuito de destacar ainda mais a relevância dos compostos 1,2,4-oxadiazólicos foi realizado um levantamento sobre os depósitos de patentes utilizando a palavra-chave “1,2,4-oxadiazoles” no banco de dados PatentInspiration. Desde a primeira patente depositada, que apresentava um método novo para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis com autoria de Donald W. Kaiser na década de 40 (COSTA; FREITAS; FREITAS, 2018), número de patentes sobre os 1,2,4-oxadiazóis vem aumentado bastante, e isso pode ser comprovado pelos 5405 depósitos registrados até o momento sobre esse heterocíclico, dos quais, 1235 foram desenvolvidas nos últimos cinco anos, demonstrando o quanto tem avançado tecnologicamente a química dos 1,2,4-oxadiazóis (Figura 16).

**Figura 16** - Número de patentes publicadas sobre os 1,2,4-oxadiazóis até 2023

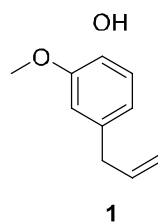


Fonte: PatentInspiration (2023)

## 2.2 O Eugenol e suas Aplicações

O eugenol cuja fórmula molecular química é  $C_{10}H_{12}O_2$  (4-alil-2-metoxifenol) (Figura 17) é um composto bioativo fenólico que apresenta coloração amarelada e baixa solubilidade em água (2,46 g/L em 25°C), mas é bem solúvel em solventes orgânicos. Este produto natural pode ser encontrado no óleo essencial de diversas plantas aromáticas, como por exemplo na *Cinnamomum verum* J. Presl (Caneleira-verdadeira), *C. loureirii* Ness. (Canela Saigon), *Myristica fragrans* Houtt. (Noz-moscada), *Ocimum gratissimum* forssk. (Manjeriçã), *Cinnamomum Camphora* (Cânfora) e *Ocimum basilicum* L. (Manjeriçã doce). O eugenol é produzido pelas plantas como parte de sua estratégia de defesa contra microorganismos e animais, e como atrativo floral de insetos polinizadores (KAUFMAN *et al.*, 2015).

**Figura 17** - Estrutura do eugenol



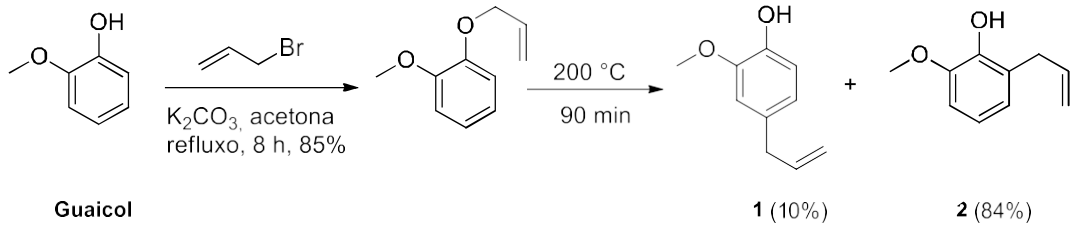
Fonte: o autor (2023)

A principal fonte natural do eugenol é a espécie *Syzygium aromaticum* (Cravo-da-índia), uma árvore pertencente à família Myrtaceae. Até agora, o eugenol foi encontrado em 33 espécies de plantas. (BEGUM *et al.*, 2022). Haja vista que a árvore do cravo-da-índia é muito explorada pelo setor industrial por motivo característico do seu óleo essencial manifestar diversas propriedades farmacológicas e compor a classe de óleos essenciais do GRAS (Generally recognized as safe). A maior produção do óleo do cravo-da-índia está localizada na Indonésia, enquanto no Brasil a maior produção ocorre no estado da Bahia (LIMA *et al.*, 2019). O eugenol constitui cerca de 45% a 90% do óleo total do cravo-da-Índia e

é responsável pelo seu aroma característico (ABDOU; ULANOWSKA *et al.*, 2021).

O eugenol pode ser obtido sinteticamente a partir da reação de alilação do guaicol (2-metoxifenol) com o brometo de alila. Como mostrado na figura 18, o produto majoritário da reação é o *o*-eugenol (**2**) (MORAES *et al.*, 2020). O eugenol também pode ser obtido pela despolimerização da lignina (KEROSENWALA *et al.*, 2013)

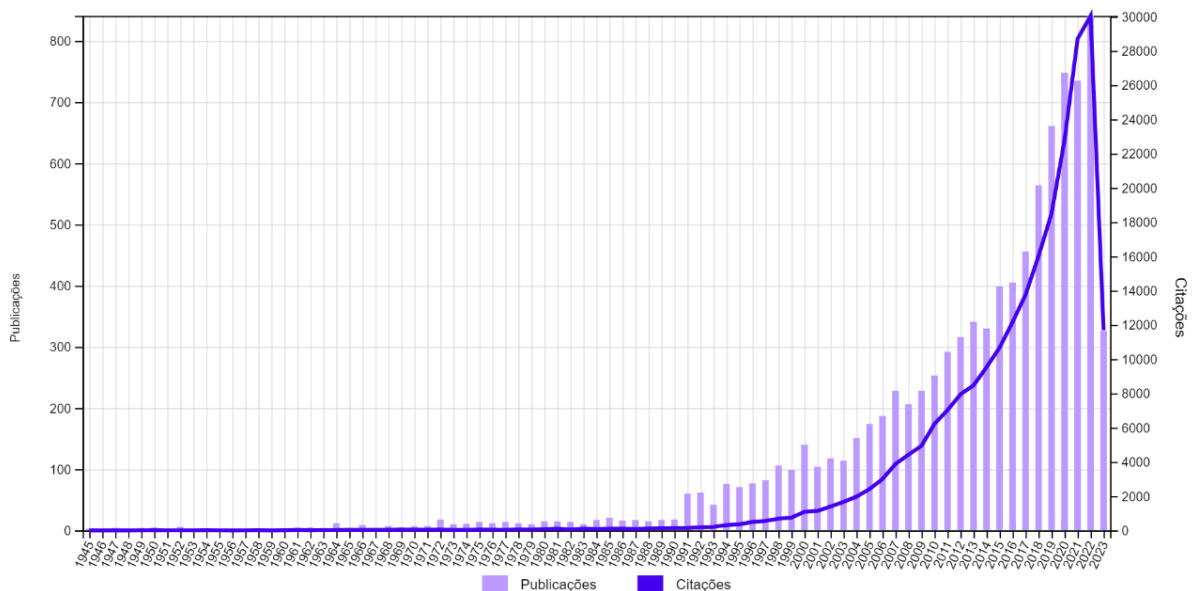
**Figura 18** - Síntese do eugenol e do-*o*-eugenol a partir do guaicol



Fonte: o autor (2023)

Muitos estudos têm relatado o potencial terapêutico do eugenol, evidenciando sua importância como um dos principais componentes bioativos de origem natural para promoção da saúde humana. Na figura 19 é apresentado um gráfico obtido após pesquisa na base de dados *Web of Science* utilizando a palavra “*Eugenol*”, no qual é possível observar um crescimento bem considerável de artigos publicados e citações nos últimos anos.

**Figura 19** - Evolução do número de artigos publicados e citações sobre o eugenol



Fonte: Web of Science (2023)

O eugenol tem uma vasta utilidade nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosméticas, entre outras. No meio alimentício, o eugenol é um importante aditivo que dar sabor aos alimentos (SOUZA *et al.*, 2022). Além disso, o eugenol e seus derivados possuem uma ação multidirecional exibindo uma grande multiplicidade de propriedades biológicas e farmacológicas, que incluem as atividades anti-inflamatória (BITTENCOURT-MERNAK *et al.*, 2021), antioxidante (PONTES *et al.*, 2021), analgésica (HWANG *et al.*, 2020), anti-hiperglicêmica (FAWZY *et al.*, 2021), antiplaquetária (MA *et al.*, 2015), antitumoral (ABDULLAH *et al.*, 2021), entre outras (BAROT; SAXENA, 2021).

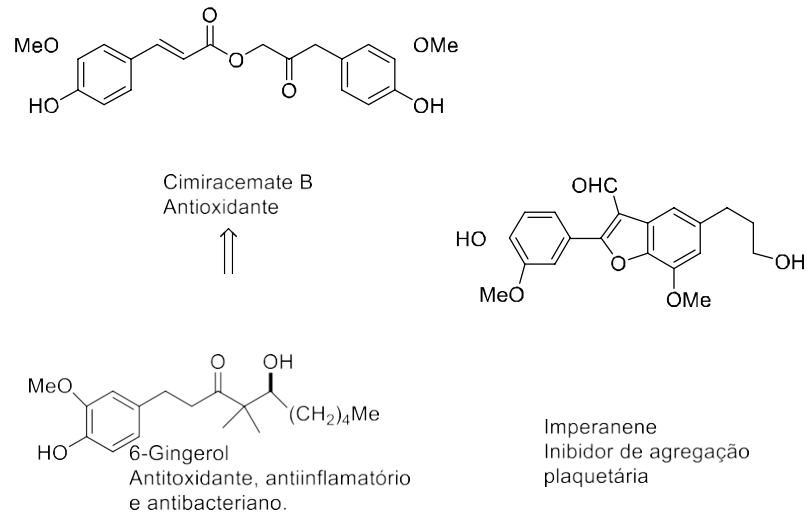
Padhy *et al.*, (2022) relatou que o eugenol tem uma funcionalidade diferente frente a doenças cancerígenas, agindo por meio de vias diferentes, torna-o um antineoplásico promissor. A ação analgésica do eugenol dá-se por sua ação moduladora em canais iônicos divergentes, os quais medem a sinalização nociceptiva em neurônios (LIMA) *et al.*, 2019). Frente aos fungos o eugenol causa alteração na morfologia, o eugenol perturba a função da membrana celular, inibe os fatores de virulência e previne a formação de biofilme fúngico (ULANOWSKA; OLAS, 2021), ruptura da membrana citoplasmática e inibição de algumas enzimas, em alguns fungos, o eugenol, atua não só como fungicida, mas também atua como alfatoxigênio, inibindo a produção de aflatoxina (SOUZA *et al.*, 2022).

Paidi *et al.* (2021) relatou que o eugenol foi capaz de inibir a ligação entre a proteína Spike S1 e a Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2). A proteína Spike é uma glicoproteína transmembranar presente na superfície do SARS-COV-2 que reconhece e se liga ao receptor da ACE2 nas células humanas, desencadeando a COVID-19 (HUANG *et al.*, 2020), o que corrobora um possível emprego do eugenol no tratamento do novo coronavírus.

Além disso, o eugenol apresenta uma exibição antimicrobiana contra diversos patógenos humanos, incluindo um amplo grupo de bactérias e fungos Gram-positivos e Gram-negativos e uma série de parasitas (ULANOWSKA; OLAS, 2021). Investigações sobre o mecanismo antibacteriano do eugenol tem demonstrado que este composto atua danificando a membrana e a parede celular de bactérias, resultando no vazamento de componentes intracelulares (JEYAKUMAR; LAWRENCE, 2021). O eugenol também pode inibir a atividade da ATPase ligada à membrana da *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (GILL; HOLLEY, 2006) e é capaz de produzir espécies reativas de oxigênio intracelular (ROS) que podem causar a morte celular (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

O interesse da comunidade científica pelo eugenol é ainda justificado pelo fato deste composto ser um importante material de partida empregado na síntese de diversos produtos naturais e bioativos como, por exemplo, na obtenção do 6-Gingerol<sup>21</sup>, Cimiracemate<sup>B22</sup>, IMPERANENE<sup>23</sup>, OBOVATOL<sup>24</sup> e XH-1425 (Figura 20). (LIMA *et al.*, 2019; ULANOWSKA *et al.*, 2021).

**Figura 20** - Exemplos de produtos naturais e compostos bioativos obtidos a partir do eugenol



Fonte: o autor (2023)

### 2.3 Hibridização Molecular

A hibridização molecular (HM) surge como uma das mais importantes ferramentas empregadas por químicos medicinais para o planejamento e desenvolvimento de novos compostos bioativos (KONIDALA *et al.*, 2021). A HM é uma estratégia clássica de conjugação de estruturas de compostos bioativos distintos em uma única molécula, tendo em vista uma abordagem de modificação molecular para obter múltiplos ligantes/compostos com vantagens farmacocinéticas. (ARAÚJO *et al.*, 2015, BOSQUESI *et al.*, 2011). A partir a hibridização molecular é exequível a formação de híbridos moleculares a partir de duas ou mais moléculas de características distintas, sendo elas de origem sintética ou natural. (SUNIL *et al.*, 2019).

O composto híbrido molecular, também denominada de droga híbrida, droga conjugada, codroga (HALMUTHUR *et al.*, 2020), biterapia covalente, amálgama molecular, cruzamento molecular, fusão molecular etc. (SUNIL *et al.*, 2019), têm sido usados com frequência na literatura (HALMUTHUR *et al.*, 2020). A hibridização molecular surge através da associação de dois princípios ativos distintos. Essa abordagem é realizada com o intuito de obter i) sinergismo da ação farmacológica; ii) terapia de dupla ação farmacológica; ou ii) modulação de efeitos secundários indesejáveis. Além disso, os híbridos produzidos são estruturas rígidas que podem ter interações mais eficazes com os alvos moleculares (ARAÚJO *et al.*, 2015). Promissoriamente exibem maior eficácia que os compostos de origem, a hibridização molecular surgiu como uma ferramenta promissora para desenvolver novas gerações de candidatos a medicamentos seguros e altamente eficientes contra várias doenças, incluindo infecções microbianas, infecções virais e câncer. (HALMUTHUR *et al.*, 2020).



Atualmente pode-se analisar o aumento de caso de doenças infecciosas, Halmuthur e colaboradores relataram o aumento do caso de mortalidade relacionado à resistência antimicrobiana (RAM), chegando a uma estatística de um milhão de pessoas mortas anualmente em todo o mundo. A hibridização molecular faz uma analogia entre a evolução biológica proposta por Darwin e a evolução química das moléculas. Assim, moléculas-mãe dão origem a uma geração de moléculas-filha híbridas, resultantes de combinações de subunidades estruturais. (ARAÚJO *et al.*, 2015). A HM surge como uma ferramenta útil na concepção de novos protótipos de drogas. Esses farmacóforos combinados interagem com o local ativo de diferentes alvos e oferecem a possibilidade de superar a resistência aos medicamentos (SUNIL *et al.*, 2019).

Tendo em vista que surgimento de cepas bacterianas multirresistentes estão crescendo involuntariamente, a hibridização molecular, dentre várias ferramentas de química medicinal para combater a ameaça, oferecem uma estratégia promissora para lidar com o problema da resistência às drogas (HALMUTHUR *et al.*, 2020).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Reagentes, materiais e equipamentos

Os reagentes e solventes utilizados foram obtidos dos fornecedores *Sigma Aldrich*, *Cinética* e *Vetec*, geralmente usados na sua forma comercial (P.A.). Nos casos em que houve a necessidade de purificação, assim, o hexano e o acetato de etila (AcOEt) foram destilados utilizando coluna de Vigreux antes do uso. Nas colunas cromatográficas para purificação dos compostos obtidos foi utilizando sílica gel 60 (*Merck*, 70-230 mesh) como fase estacionária e diferentes combinações de proporções de Hexano:Acetato como fase móvel. O acompanhamento das reações foi realizado através de cromatografia em camada delgada (CCD), onde foi utilizado placas prontas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub>. Para revelação dos compostos foi utilizada luz UV, solução de KMnO<sub>4</sub> e solução etanólica ácida [(EtOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (9,5:0,5)] sob aquecimento.

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram realizados utilizando como solvente CDCl<sub>3</sub> ou DMSO-*d*<sub>6</sub> e foram registados em um espectrômetro *Varian Unity Plus* 300 MHz ou em um espectrômetro *Varian VRMNS* 400 MHz. Para os espectros de RMN <sup>1</sup>H, os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao pico do CDCl<sub>3</sub> (7,27) ou ao pico central do DMSO-*d*<sub>6</sub> (2,50 ppm) e para o espectro de RMN <sup>13</sup>C, os deslocamentos foram obtidos em relação aos picos centrais do CDCl<sub>3</sub> (77) e DMSO-*d*<sub>6</sub> (39,51 ppm). Todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em Hertz (Hz).

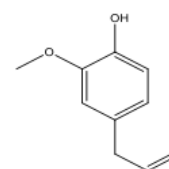
#### 3.2 Procedimentos experimentais

##### 3.2.1 Obtenção do Eugenol

O eugenol (**1**) foi obtido a partir da extração do cravo-da-índia. O método empregado foi o de hidrodestilação. Em um balão de fundo redondo, contendo 25 g de cravo-da-índia, foi adicionado 100 mL de água. Uma mistura de óleo essencial e água foi obtida a partir da destilação da amostra. Em seguida foi adicionada 20 mL de diclorometano a mistura e a fase orgânica é separada. O eugenol, com alto grau de

Instituto Federal de Pernambuco. *Campus* Barreiros. Curso de Licenciatura em Química.  
4 de junho de 2023.

pureza, foi isolado através de uma extração ácido-base, no qual, a fase orgânica foi tratada com 20 mL de uma solução de NaOH (5%) e na sequência a solução aquosa foi acidulada com uma solução de HCl diluído até atingir um pH = 2,0 e extraída com diclorometano (20 mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi removido sob pressão reduzida.

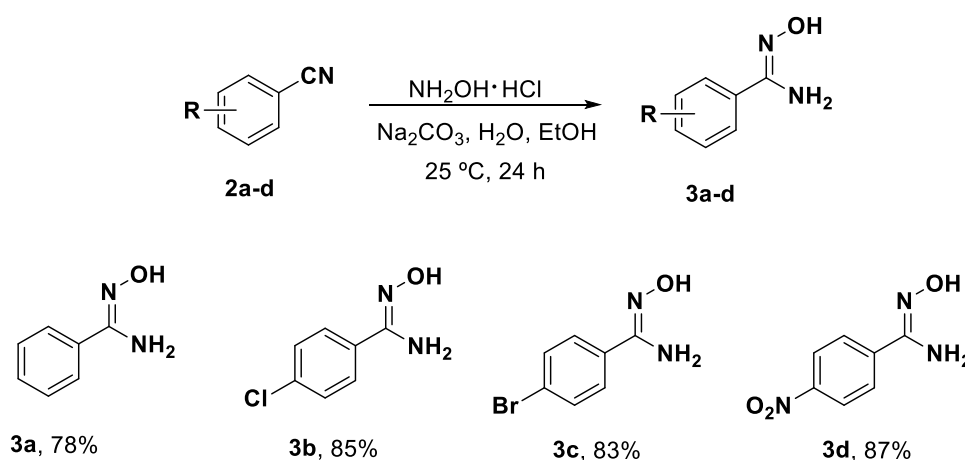


Eugenol

### 3.2.2 Sínteses das Amidoximas

A síntese das arilamidoximas foi baseada na metodologia desenvolvida por Srivastava *et al.* (2009), com algumas modificações. 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 benzonitrila em 10 mL de etanol. A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente. 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. Após o término da 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 seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, agente secante. Em seguida a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida, sendo a amostra obtida por cristalização em clorofórmio:hexano (4:6), fornecendo a benzoamidoxima.

**Figura 21** – Síntese das arilamidoximas

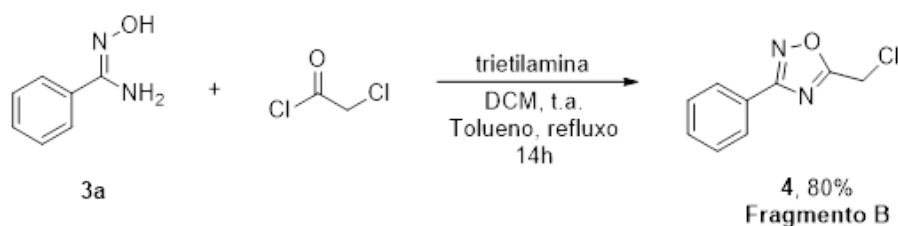


Fonte: o autor (2023)

### 3.2.3 Sínteses do 5-(Chlorometil) -3-fenil-1,2,4-oxadiazol

Em um balão de fundo redondo a benzoaminoxima (5 mmol) foi dissolvida em diclorometano (25 mL) Após isso, a trietilamina (Et<sub>3</sub>N) foi adicionada (1,2 equiv/6mmol) e a reação permaneceu em agitação por 5 min, então o sistema reacional foi resfriado a 0° C e o cloreto de ácido (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>O) (1,5 equiv / 7,5 mmol) foi adicionado gota a gota. A mistura reacional permaneceu em agitação por aproximadamente 6h até a confirmação da formação do intermediário por CCD, então o solvente foi removido sob pressão reduzida. Em seguida, no mesmo balão foi adicionado tolueno (10 mL) e a mistura reacional foi refluxada por 12h. Após esse tempo a mistura reacional foi resfriada até a temperatura ambiente, lavada com água (15 mL) e extraída com diclorometano (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub>, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica hexano/acetato de etila (95:5). Obtendo o produto final desejado (figura 22).

**Figura 22** – Síntese do 1,2,4-oxadiazol



Fonte: o autor (2023)

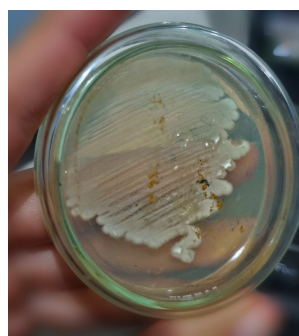
### 3.2.4 Atividade Antibacteriana

As linhagens de bactérias foram obtidas da Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA). Para este ensaio foram utilizadas quatro bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 01), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138) e *E. coli* (UFPEDA 224), bem como, uma bactéria Gram-negativa: *K. Pneumoniae* (figura 23).

**Figura 23** – Bactérias repicadas *Staphylococcus Aureus* e *Streptococcus Pyogenes*.



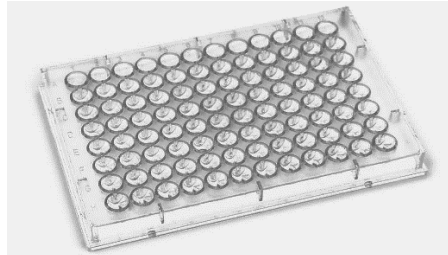
*Staphylococcus aureus*



*Streptococcus Pyogenes*

O ensaio de susceptibilidade será realizado pela metodologia da microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) segundo o National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS (2002;2003). A determinação da CIM foi feita em placas de 96 poços estéreis (figura 24), próprias para microdiluição. Todos os ensaios serão realizados em triplicata e os mesmos repetidos duas vezes.

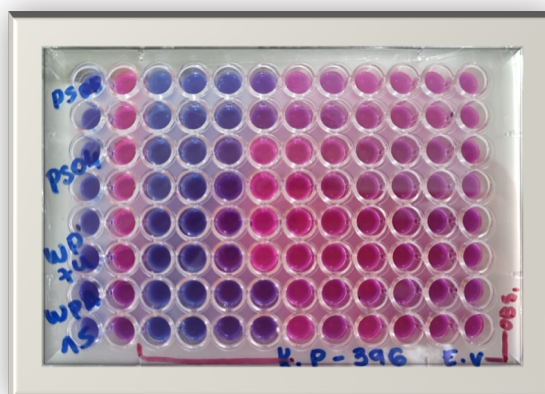
**Figura 24** – Placa de 96 poços



Fonte: o autor (2023)

Inicialmente foi adicionado em cada poço 90  $\mu\text{L}$  do meio Caldo Muller Hinton (CMH) e posteriormente, a partir da terceira coluna (A3), adiciona-se 90  $\mu\text{L}$  do extrato na concentração de 8 mg/mL. Esta alíquota será homogeneizada e transferida para a quarta coluna (A4) e assim por diante até a décima segunda coluna (A12), que recebe o extrato na concentração de 0,015 mg/mL. Esta última alíquota (90  $\mu\text{L}$ ) depois de homogeneizada é descartada. Por último, serão adicionados 10  $\mu\text{L}$  da suspensão do microrganismo-teste na concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL para bactérias e  $1,5 \times 10^5$  UFC/mL para leveduras, esta concentração será determinada através da comparação visual com o padrão na concentração de 0,5 na escala de Mc Farland conforme o NCCLS (2002). Logo, cada poço receberá um volume final de 100  $\mu\text{L}$  (90  $\mu\text{L}$  de meio e extrato e 10  $\mu\text{L}$  do microrganismo). As placas com o meio, extrato e microrganismo serão incubadas por 24 horas (37 °C) para bactérias e 48 horas (28 °C) para leveduras. Posteriormente serão adicionados 30  $\mu\text{L}$  de rezasurina (0,1 mg/mL) para análise quantitativa do crescimento microbiano nos poços e determinação da atividade antimicrobiana relativa de cada diluição das amostras (figura 25). Para a determinação da CMM repica-se uma alíquota de 5  $\mu\text{L}$ , das concentrações que apresentarem atividade na placa do CIM, em placas de Petri contendo AMH. Estas placas serão incubadas a 37 °C por 24 horas para bactérias e 28 °C por 48 horas para leveduras. A CMM é considerada a menor concentração do extrato onde não há crescimento celular sobre a superfície do AMH.

**Figura 25** – Revelação da placa de 96 poços

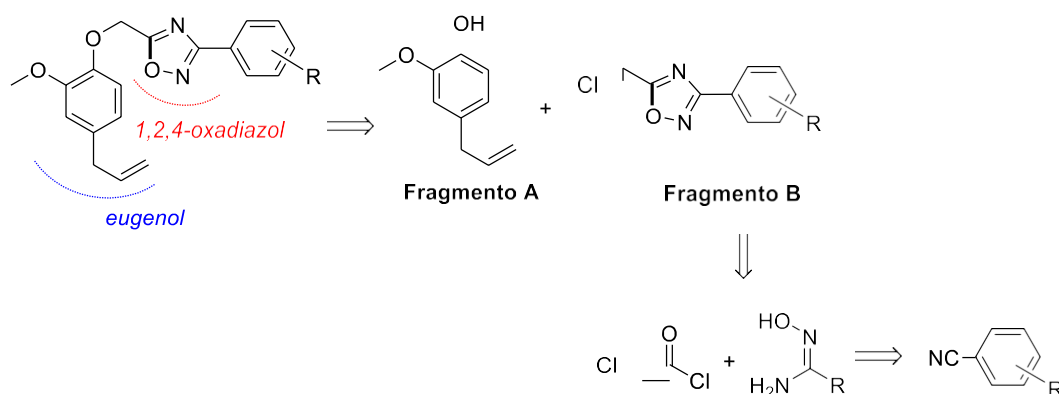


Fonte: o autor (2023)

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese dos novos compostos híbridos foi planejada de acordo com a análise retrossintética apresentada na figura. A desconexão na ligação C-O do produto desejado levou aos fragmentos A e B. O fragmento A é o eugenol, um produto natural comercialmente disponível, e o fragmento B é um 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído, que pode ser obtido sinteticamente. Como mostrado na figura 26, o 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído é possível de ser preparado a partir de uma reação entre a amidoxima com o cloreto de 2-clorocetila, enquanto o eugenol é obtido através da extração do cravo da Índia.

**Figura 26** - Análise retrossintética dos novos híbridos moleculares

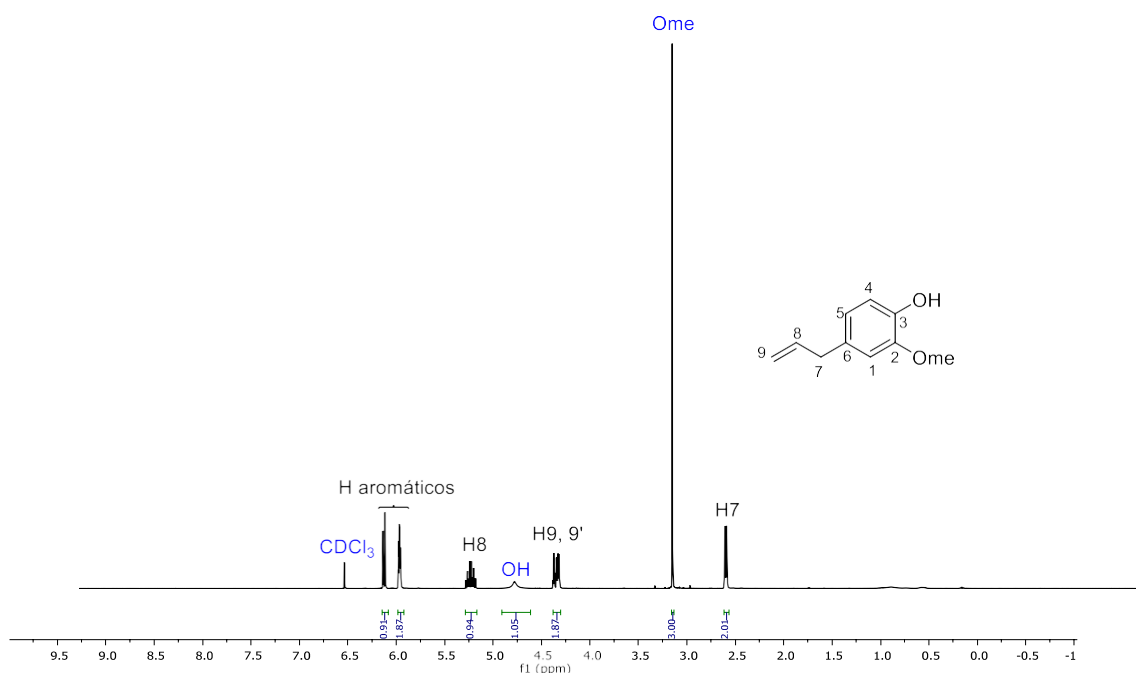


Fonte: o autor (2023)

Assim, inicialmente foi realizado a extração do eugenol a partir do cravo da Índia por meio do método de hidrodestilação seguindo o protocolo de Guan et al. (2007) com algumas modificações. Na hidrodestilação, o cravo da Índia a ser destilado fica em contato direto com a água, e quando esta entra em ebulição, arrasta os compostos voláteis consigo inclusive o óleo, e quando condensa, forma uma mistura heterogênea, com duas fases, devido à diferença de polaridade e densidade entre a água e o óleo (SILVA; LIMA; COSTA, 2010). O eugenol foi obtido na forma de um óleo viscoso incolor em um rendimento de 5% a partir de 20g de cravo da Índia. Tais resultados estão de acordo com os dados da literatura (KHALIL *et al.*, 2017).

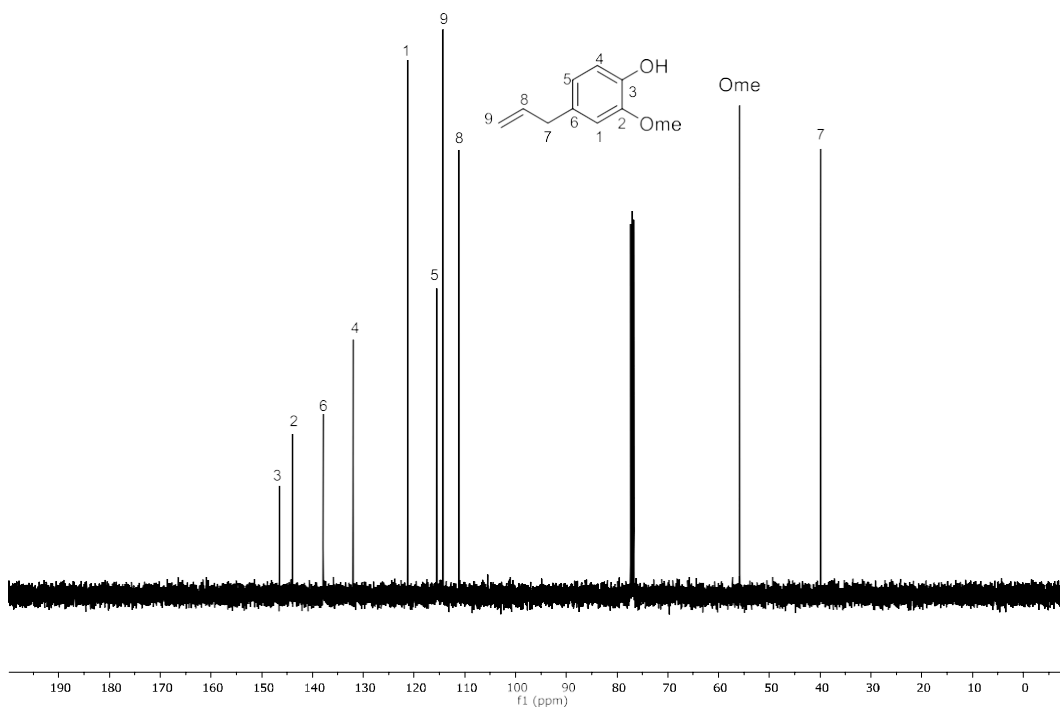
A caracterização do composto foi realizada a partir de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 27) foram observados todos os sinais do composto, o que comprovou a sua obtenção. Analisando o espectro, verifica-se que a soma das integrais é igual a 12 que corresponde ao número de hidrogênios da molécula. Vale destacar o sinal em  $\blacktriangleright$  3,33 ppm com multiplicidade duplete ( $J_{7,8} = 6,8$  Hz) referente aos hidrogênios H7, o simpleto em  $\blacktriangleright$  3,88 ppm referente aos hidrogênios do grupo OCH<sub>3</sub> e o sinal em  $\blacktriangleright$  5,51 ppm com multiplicidade simpleto que corresponde ao hidrogênio da hidroxila. Os demais sinais aparecem como multipletos nas regiões entre em  $\blacktriangleright$  5,04 – 5,11 ppm (H9 e H9'),  $\blacktriangleright$  5,91- 6,01 ppm (H8),  $\blacktriangleright$  6,68 – 6,70 ppm (aromático) e  $\blacktriangleright$  6,84 – 6,86 ppm (aromático). Os resultados apresentados corroboram os dados relatados na literatura (KAR MAHAPATRA *et al.*, 2009).

**Figura 27** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do eugenol



Fonte: o autor (2023)

**Figura 28** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do eugenol



Fonte: autor (2023)

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 28) do composto tornou a caracterização do fragmento B inequívoca, pois foi possível observar a partir do espectro todos os sinais correspondentes dos átomos de carbono da molécula. Nesse espectro, verifica-se a presença de 10 sinais que refletem o número de carbonos quimicamente diferente da molécula. A atribuição dos sinais do RMN  $^{13}\text{C}$  foi realizada com base nos dados descritos na literatura (*ELGENDY; KHAYYAT, 2008*).

Na tabela 1, estão sumarizados os dados espectroscópicos do eugenol.

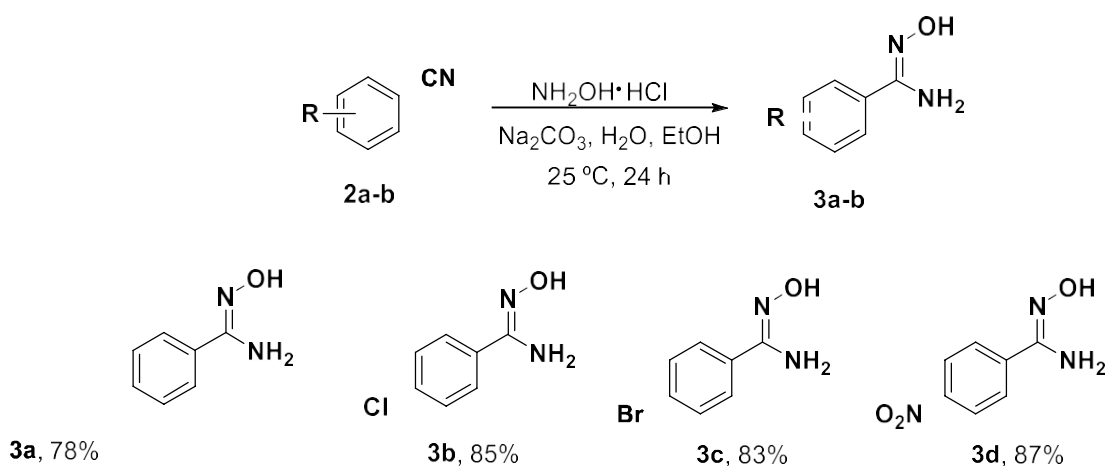
**Tabela 1** - Dados espectroscópicos do eugenol

Estrutura	RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ )
	<p>♥ 6,84 – 6,86 (m, 1H, <math>J = 8,4</math> Hz, H<sub>aromático</sub>), 6,68 – 6,70 (m, 2H, H<sub>aromático</sub>), 5,91- 6,01 (m, 1H, H-8), 5,51 (s, 1H, OH), 5,04 – 5,11 (m, 2H, H-9 e H9'), 3,88 (s, 3H, OMe), 3,33 (d, 2H, <math>J = 6,8</math> Hz, H-7).</p>	<p>♥ 146,4 (C-3); 143,9 (C-2); 137,8 (C-6); 131,9 (C-4); 121,1 (C-1); 115,5 (C-5); 114,2 (C-9); 111,1 (C-8); 55,8 (OMe); 39,9 (C-7).</p>

Fonte: o autor (202)

Paralelamente a extração do eugenol foi realizado a síntese de diferentes 1,2,4-oxadiazóis. A síntese de 1,2,4-oxadiazóis está amplamente descrita na literatura (QIU *et al.*, 2022; TU *et al.*, 2022; BODA; NUKALA, MANCHAL, 2022). A maior parte dos métodos passam pela síntese de uma arilaminoxima. Nesse sentido, inicialmente foi realizada a síntese de diferentes arilaminoximas a partir da reação de diferentes arilnitrilas com cloridrato de hidroxilamina em meio básico de acordo com o procedimento descrito por Srivastava *et al.* (2009) (Figura 29).

**Figura 29 - Síntese de diferentes arilaminoximas**

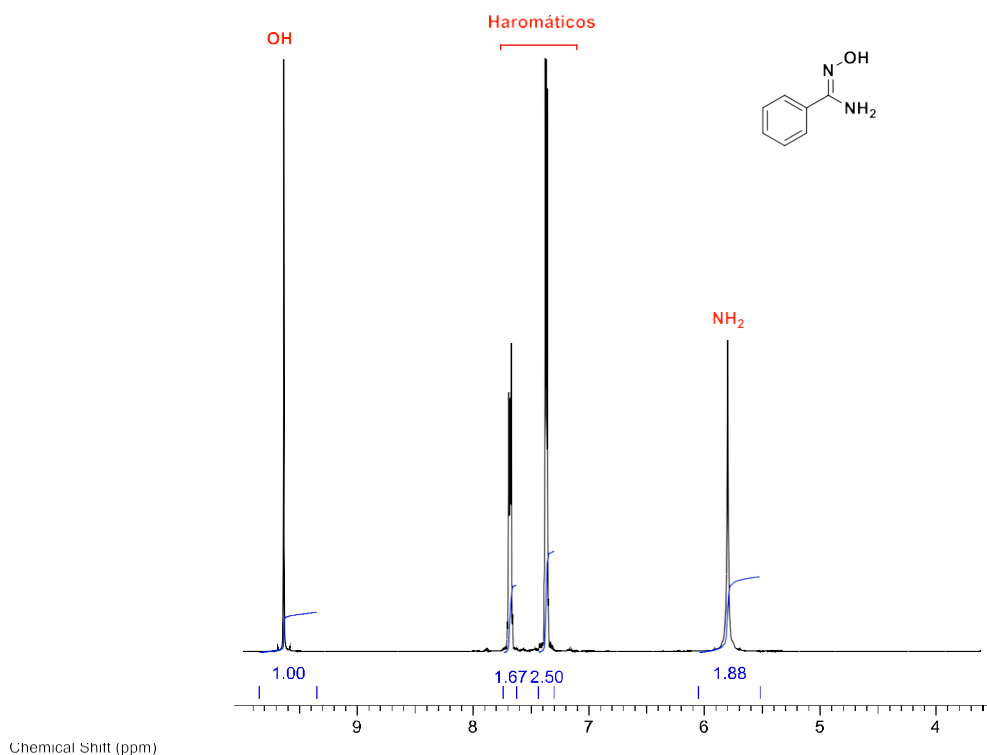


Fonte: o autor (2023)

Os compostos **3a-c** foram obtidos em 24 h e em rendimentos que variaram de 78% a 87%. Estes compostos foram purificados por recristalização e caracterizados por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ . De tal modo, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **3a** revelou presença de quatro sinais que condiz com a quantidade de hidrogênios quimicamente diferentes na estrutura do composto **3a**. Além disso, o somatório das integrais é igual a oito, que corresponde ao total de hidrogênio da estrutura analisada. Em 9,63 ppm é observado a presença de um simpleto atribuído ao hidrogênio ácido (H-1) pertencente ao grupo isonitroso (NOH). Na região entre 7,70 a 7,66 ppm revela um multiplete com integral igual a dois, enquanto que na região entre 7,39-7,35 ppm há outro multiplete com integral igual a três, sendo estes sinais atribuídos aos hidrogênios aromáticos. Um outro sinal que merece destaque é um simpleto que aparece em 5,81 ppm, atribuído aos hidrogênios H-2 do grupo  $\text{NH}_2$  (Figura 30).



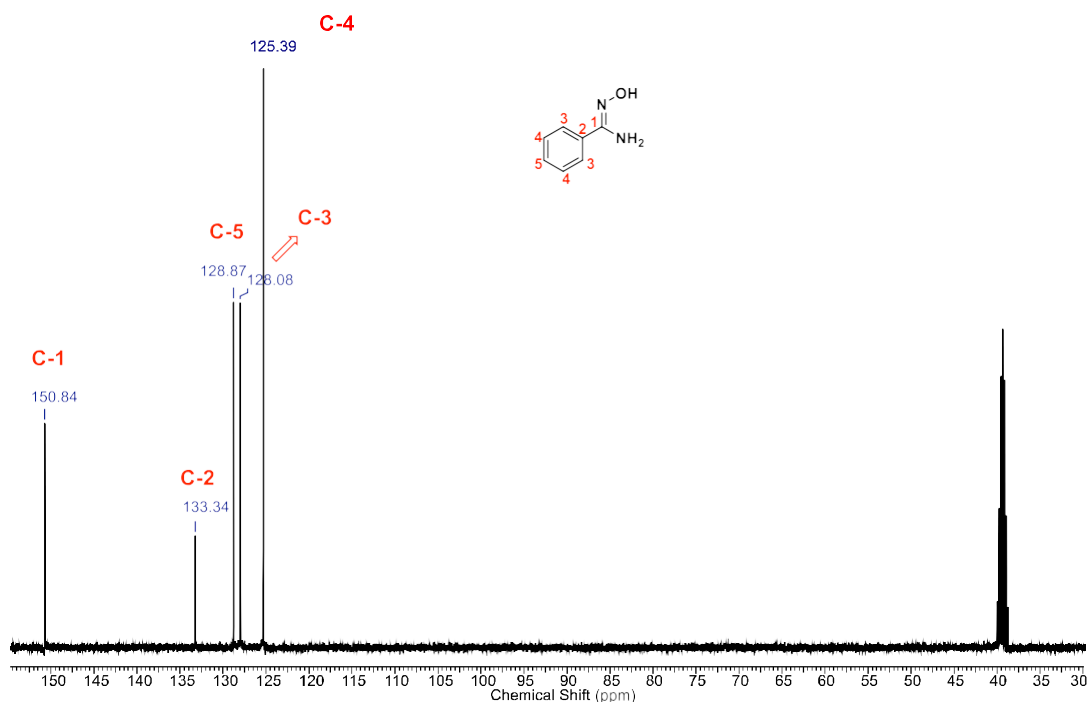
**Figura 30** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) benzoamidoxima **3a**



Fonte: o autor (2023)

Na figura 31 é apresentado o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **3a** e nela nota-se cinco sinais de carbonos quimicamente diferentes. O sinal em 150,8 ppm foi atribuído ao carbono C-1, por estar diretamente ligado a dois átomos de nitrogênios que o desblindam e desloca seu sinal para uma região de campo baixo. O sinal em 133,3 ppm refere-se ao carbono C-2 devido o mesmo sofrer desblindagem em virtude da sua proximidade com a função amidoxímica que retira densidade eletrônica e também por se tratar de um carbono não hydrogenado, que é caracterizado por uma menor intensidade do sinal. O sinal em 128,9 ppm foi atribuído ao carbono C-5 devido ao efeito de ressonância da função amidoxímica que retira elétrons nas posições *para* e *orto*. Os sinais em 128,1 e 125,4 ppm foram atribuídos aos carbonos C-4 e C-3, respectivamente. Os sinais de C-3 quanto o de C-4 é gerado por dois carbonos quimicamente equivalentes, que aumentam a intensidade do sinal.

Figura 31 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) benzoamidoxima **3a**



Fonte: o autor (2023)

Os dados espectroscópicos das demais amidoximas estão sumarizados na tabela 2.

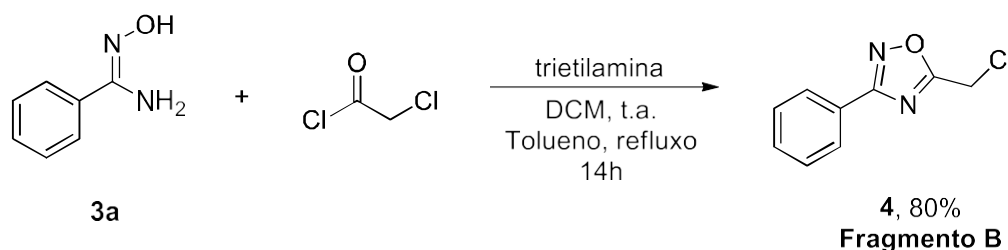
Tabela 2 - Dados espectroscópicos dos compostos **3a-d**

Composto	Estrutura	RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ )
<b>3a</b>		$\delta$ 9,63 (s, 1H, OH); 7,70-7,66 (m, 2H, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 7,39-7,35 (m, 3H, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 5,81 (s, 2H, $\text{NH}_2$ ).	$\delta$ 150,8; 133,3; 129,0; 128,9; 128,1.
<b>3b</b>		$\delta$ 9,73 (s, 1H, OH); 7,69 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 7,43 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 5,86 (s, 2H, $\text{NH}_2$ ).	$\delta$ 147,9; 133,4; 132,2; 128,1; 127,1.
<b>3c</b>		$\delta$ 9,74 (s, 1H, OH); 7,63 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 7,57 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 5,86 (s, 2H, $\text{NH}_2$ ).	$\delta$ 150,0; 132,5; 131,0; 127,4; 122,1.
<b>3d</b>		$\delta$ 10,16 (s, 1H, OH); 8,25 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 7,97 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, $\text{H}_{\text{aromático}}$ ); 6,08 (s, 2H, $\text{NH}_2$ ).	$\delta$ 149,4; 147,5; 139,5; 126,4; 123,4.

Fonte: o autor (2023)

Tendo preparado o composto 2, na sequência foi realizada a síntese 1,2,4-oxadiazol, fragmento B (4), seguindo a metodologia de Leal et al. (2017), na qual o composto 2 foi submetido a uma reação de substituição a carbonila com um cloreto de ácido seguido da ciclização do intermediário formado (Figura 32).

**Figura 32 - Síntese do oxadiazol (composto 3)**



Fonte: o autor (2023)

O composto 4 (fragmento B) foi então obtido em um bom rendimento a partir da metodologia utilizada. A confirmação da síntese do produto foi realizada utilizando RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Tais espectros foram elucidativos para a comprovação da síntese do composto. Os dados espectroscópicos podem ser encontrados na tabela 3.

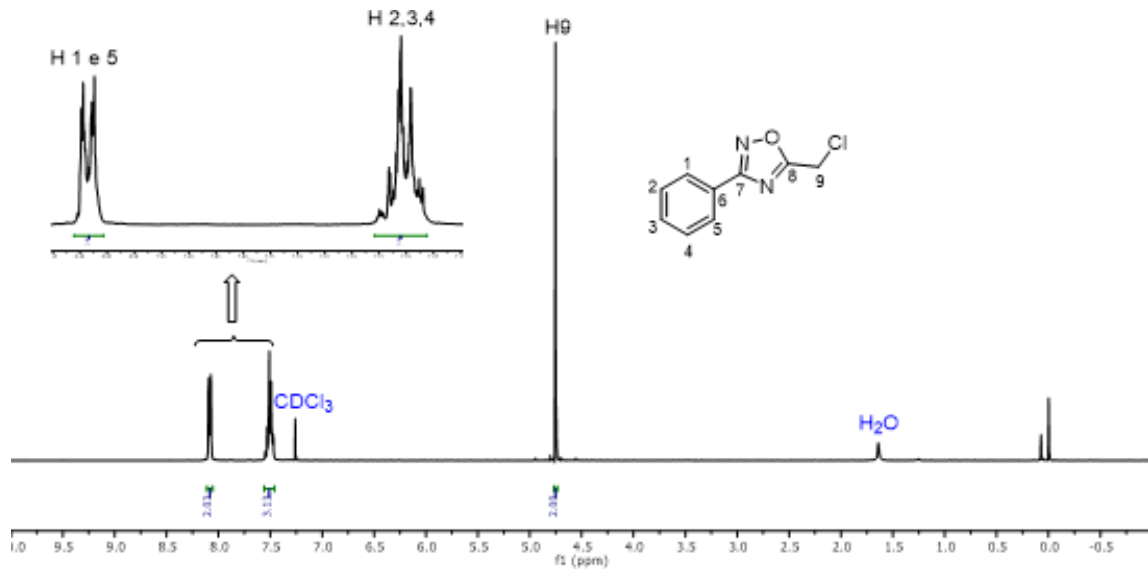
**Tabela 3 - Dados espectroscópicos do composto 4.**

Estrutura	RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ )
	♥ 8,07 – 8,10 (m, 2H, H <sub>aromático</sub> ), 7,53 - 7,47 (m, 3H, H <sub>aromático</sub> ), 4,75 (s, 2H, H-9).	♥ 174,3; 168,8; 131,5; 128,9; 121,1; 127,5; 1; 126,1; 33,3.

Fonte: o autor (2023)

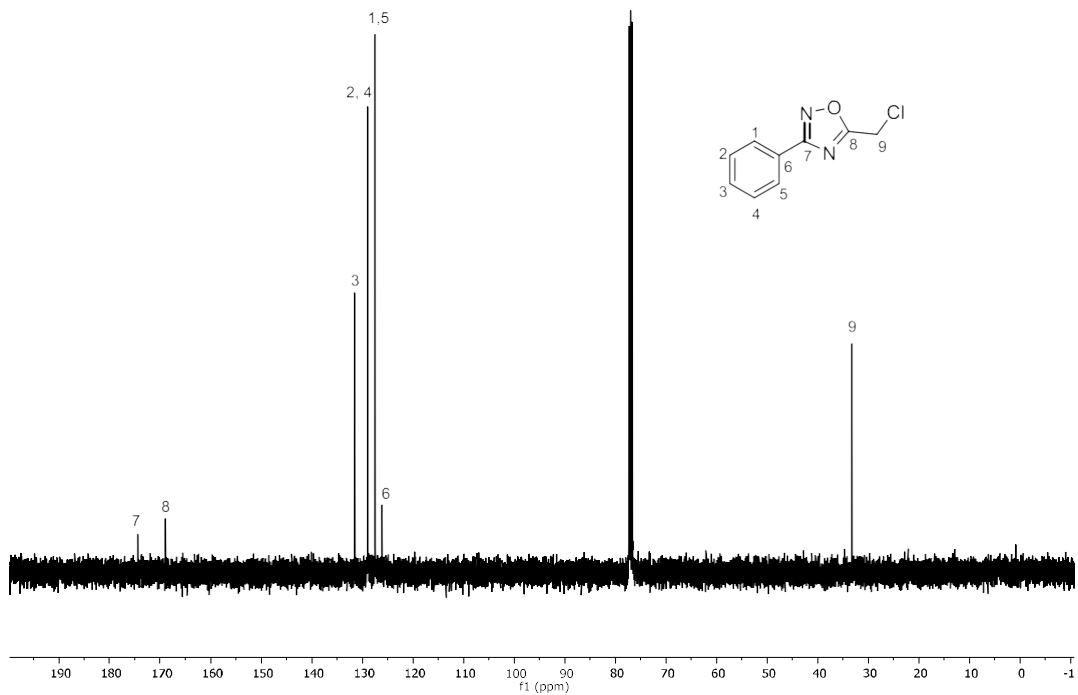
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  é possível observar que estão presentes os sinais de todos os hidrogênios da molécula. O multipletto com integral igual a dois entre 8,10 a 8,07 ppm correspondem aos prótons H1 e H5 da molécula. Os sinais com integral 3 entre 7,53 - 7,47 ppm correspondem aos prótons H2, H3 e H4. O sinal com integral 2 e multiplicidade simpleto em 4,75 ppm corresponde aos prótons metilênicos H9 (Figura 33).

**Figura 33** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto **4**



Fonte: o autor (2023)

**Figura 34** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do fragmento A

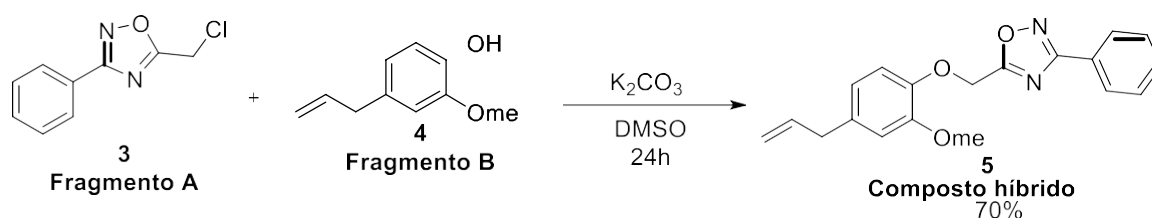


Fonte: o autor (2023)

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **4** é apresentado na figura 28 e observa-se a presença de sete sinais que corresponde exatamente a quantidade de carbonos quimicamente diferente da molécula. Além disso, verifica-se a presença dos sinais característicos dos compostos **4**, como é o caso dos sinais em 174,3 e 168,8 ppm referentes aos carbonos do anel 1,2,4-oxadiazólico.

A síntese do novo composto híbrido (Figura 35) foi realizada baseada na metodologia de Anaissi-Afonso *et al.* (2018), porém com algumas modificações. A reação foi realizada empregando o dimetilsulfóxido (DMSO) no lugar do dimetilformamida (DMF), visto que o rendimento foi superior quando o DMSO foi usado como solvente. Além disso, foram testadas outras bases para avaliar a mudança do rendimento da reação, porém o carbonato de potássio foi a base que levou ao melhor resultado.

**Figura 35 - Síntese do composto híbrido**

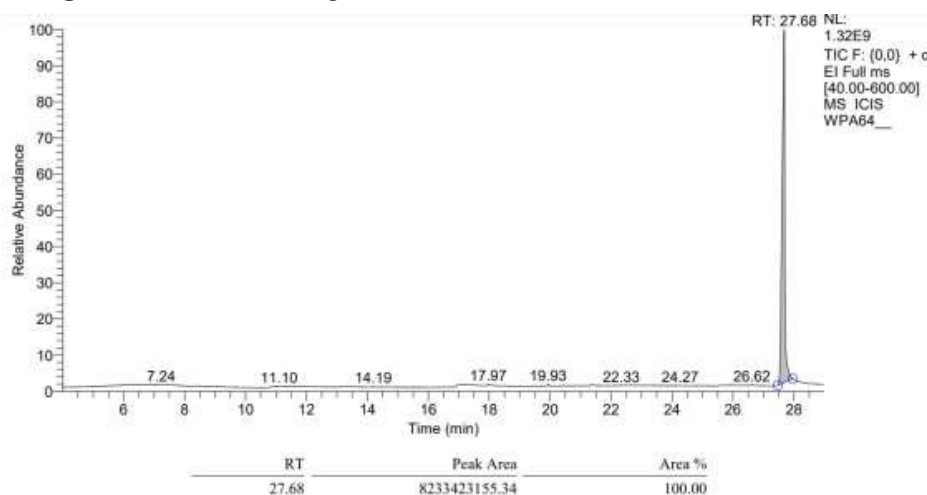


Fonte: o autor (2023)

O novo híbrido molecular formado pelo eugenol e o núcleo 1,2,4-oxadiazol foi obtido em 24 h e com um rendimento de 70%. A caracterização do híbrido final foi realizada por diferentes técnicas espectrométricas: espectrometria de massas e por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

O espectrômetro usado na caracterização é acoplado a um cromatograma gasoso, nesse sentido foi possível comprovar a pureza da amostra. Na figura 36 é apresentado o cromatograma do híbrido, o qual apresentou tempo de retenção de 27,68 min e uma elevada pureza.

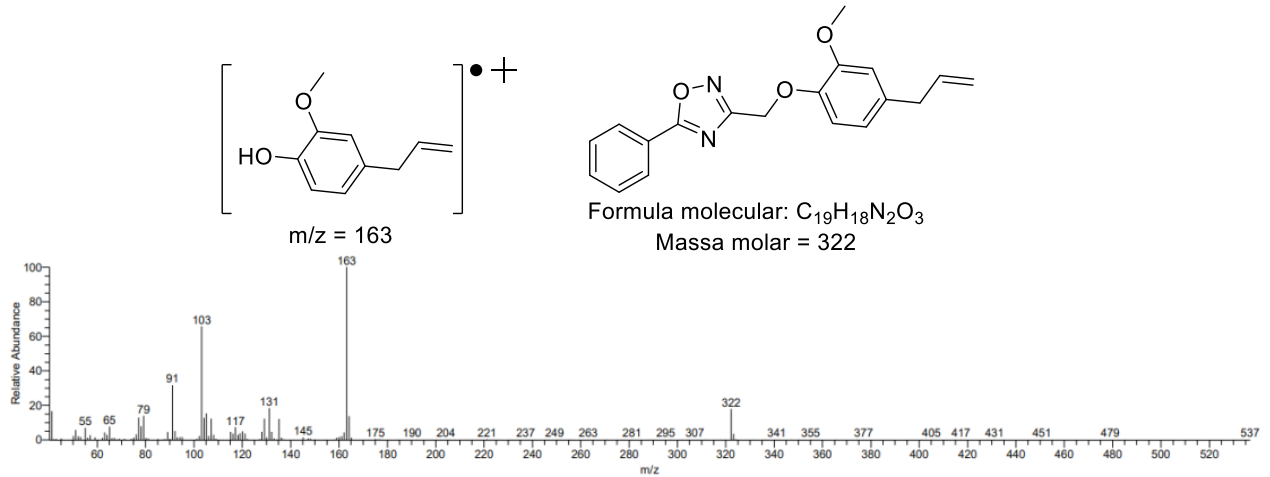
**Figura 36 - Cromatograma do híbrido molecular**



Fonte: o autor (2023)

No espectro de massas (Figura 37) é possível observar os picos do íon molecular ( $m/z = 322$ ) e também o pico base do composto, que é a fração do eugenol da molécula ( $m/z = 163$ ).

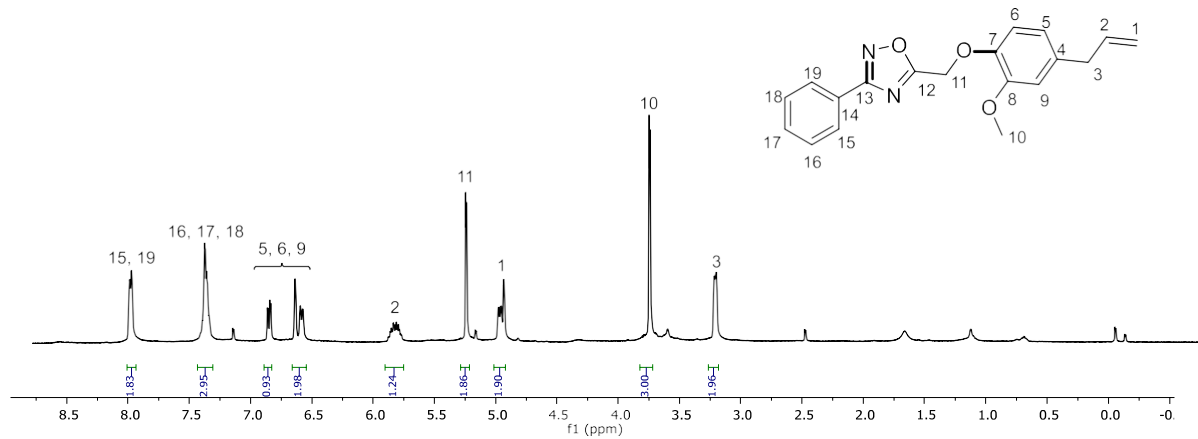
**Figura 37** - Espectro de massas do híbrido molecular obtido



Fonte: o autor (2023)

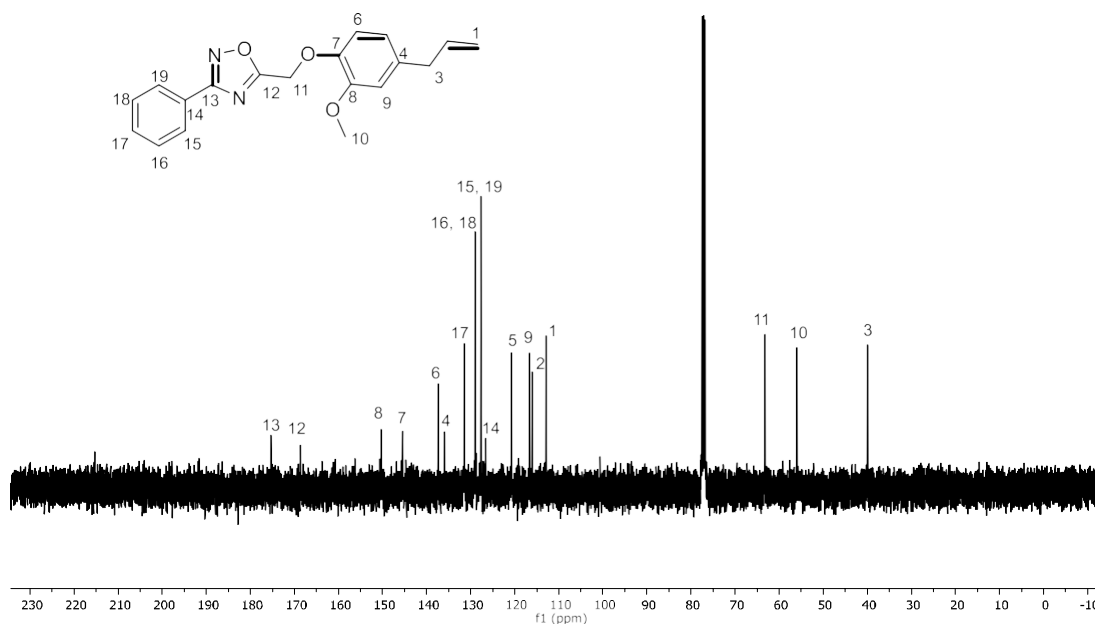
O espectro de RMN  $^1H$  do híbrido corroborou a formação do produto. No espectro (figura 38) é possível observar as integrais dos sinais, que somam 18 prótons, o que coincide com o número de hidrogênios da molécula.

**Figura 38** - Espectro do RMN  $^1H$  do composto híbrido



Fonte: o autor (2023)

No espectro se observa os sinais dos fragmentos A e B, o que comprova a obtenção do híbrido. Em 3,88 ppm se observa o sinal dos prótons da metila (H10) presente no fragmento A e em 5,43 ppm se observa o sinal do metileno (H11) do fragmento B. Além disso também estão presentes os sinais dos prótons aromáticos dos dois fragmentos, entre 8,17 – 6,76, que são característicos para esse tipo de hidrogênio. Os demais sinais da molécula estão descritos na figura 39.

**Figura 39** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto híbrido

Fonte: o autor (2023)

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 39) do híbrido apresentou todos os sinais dos 19 carbonos da molécula. Os sinais do carbono C3 em 39,8 ppm e do carbono C11 em 63,0 são elucidativos para a síntese do híbrido, visto que o primeiro está presente na porção do fragmento A e o segundo sinal está presente na porção do fragmento B. Além disso, o sinal em 55,8 ppm originado pelo carbono 10 vem da porção do fragmento A, enquanto os sinais em 175,2 ppm e 168,4 dos carbonos C13 e C12, respectivamente, advindos da porção do fragmento B corroboram para a confirmação da obtenção do híbrido.

Concluídas as etapas sintéticas e com o composto híbrido molecular 5 purificado e caracterizado, deu-se início ao estudo das atividades antibacterianas, utilizando as bactérias *S. aureus* (UFPEDA 01) e *S. Pyogenese* (ATCC 19615). O método empregado para avaliação da atividade antibacteriana foi o de microdiluição em caldo e determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM). A CIM é a concentração mais baixa possível para que um agente antibacteriano impeça completamente o desenvolvimento do microrganismo (FERREIRA *et al.*, 2020).

Os resultados obtidos nos ensaios estão expressos em CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) e podem ser analisados na tabela 7.

**Tabela 7** - Avaliação da atividade antibacteriana do novo híbrido molecular **2** por meio da determinação do CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )

Composto	Bactéria	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. Pyogenese</i>
<b>2</b>	1000	1000

Fonte: o autor (2023)

Segundo os dados apresentados na tabela 7, observa-se que o novo híbrido molecular exibiu um CIM de 1000 µg/mL frente as bactérias *S. aureus* (UFPEDA 01) e *S. Pyogenese* (ATCC 19615), o que consiste em uma atividade moderada, de acordo com a escala de Morales *et al.*, (2008). A atividade do novo híbrido molecular contra *S. aureus* e *S. Pyogenese* são de grande relevância, uma vez que a *S. aureus* está associada a diversas doenças como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia (SANTOS *et al.*, 2007), enquanto que a *S. Pyogenese* é responsável por infecções na faringe e amígdalas (SCALABRIN *et al.*, 2003).

Lima *et al.* (2022) relataram resultados semelhantes aos descritos neste trabalho ao avaliar a atividade antimicrobiana de 1,2,4-oxadiazóis contra diferentes cepas fúngicas e bacterianas. Todavia, recentemente, baixos valores de CIM foram relatados recentemente por híbridos moleculares contendo o eugenol ou o núcleo 1,2,4-oxadiazol (OLIVEIRA *et al.*, 2023; SHAIKH *et al.*, 2023).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A síntese de avaliação antimicrobiana de novos híbridos contendo o eugenol e o núcleo 1,2,4-oxadiazol é uma disquisição voltada para o campo da química orgânica e farmacologia, que tem a pretensão de desenvolver novos compostos com potencial antimicrobiano. A síntese de novos híbridos moleculares pode ser realizada por meio de diversos métodos químicos, visando garantir eficiência e um rendimento positivo nas obtenções de seus produtos. Nesta perspectiva, foi obtido um novo híbrido molecular formado por dois materiais de partida de bases distintas, um é o eugenol que é um composto natural obtido a partir do óleo do cravo-da-índia, que tem um destaque positivo quando se refere a seu papel como agente antimicrobiano, enquanto o outro é o núcleo 1,2,4-oxadiazol que é uma estrutura química que é incessantemente associada a diversas propriedades biológicas, incluindo a atividade antimicrobiana. A estratégia sintética adotada levou a preparação do novo híbrido molecular em um bom rendimento e sua estrutura foi caracterizado por espectroscopia de massas e por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C que comprovaram a síntese do mesmo. O híbrido molecular sintetizado foi avaliado quanto ao seu potencial antimicrobiano e os resultados demonstraram uma atividade antibacteriana moderada. Os resultados finais da avaliação antimicrobiana permitem que seja possível determinar o potencial terapêutico e a seletividade - refere-se à capacidade que o composto terá de “atacar” especificamente os microrganismos, sem afetar de maneira negativa a saúde humana, desses novos híbridos contendo o eugenol e o núcleo 1,2,4-oxadiazol, como também sua possível aplicação em tratamentos médicos.



## REFERÊNCIAS

ABDOU, A. et al. Synthesis of eugenol derivative by the ring opening of epoxide eugenol and its analysis through chemical reactivity: a DFT approach. **Natural Product Research**, p. 1–9, 13 out. 2022.

AGUIAR, A. P. DE; CUNHA, F. S. Síntese e Bioatividade de 1,2,4-Oxadiazóis. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2509–2530, 4 out. 2015.

APAZA TICONA, L. et al. Antitumoral activity of 1,2,4-oxadiazoles compounds isolated from the *Neoverdermannia vorwerkii* in liver and colon human cancer cells. **Phytochemistry**, v. 201, p. 113259, set. 2022.

ARAÚJO, C. R. M. et al. Drug development by molecular hybridization: a medicinal chemistry practice class using paracetamol and sulfadiazine tablets and the virtual **TOOLSciFinder<sup>®</sup>**. **Química Nova**, 2015.

ATMARAM, U. A.; ROOPAN, S. M. Biological activity of oxadiazole and thiadiazole derivatives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 9-10, p. 3489–3505, maio 2022.

BASSETTI, M.; GARAU, J. Current and future perspectives in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 76, n. Supplement\_4, p. iv23–iv37, 1 nov. 2021.

BAYKOV, S. V.; SHETNEV, A. A.; SEMENOV, A. V.; BAYKOVA, S. O.; BOYARSKIY, V. P. Room temperature synthesis of bioactive 1,2,4-oxadiazole. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n6, 2023.

Baykov, S.; Sharonova, T.; Shetnev, A.; Rozhkov, S.; Kalinin, S.; Smirnov, A.V. The First One-Pot Ambient-Temperature Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles from Amidoximes and Carboxylic Acid Esters. *Tetrahedron* **2017**, 73, 945–951.

BEGUM, S. N.; RAY, A. S.; RAHAMAN, C. H. A comprehensive and systematic review on potential anticancer activities of eugenol: From pre-clinical evidence to molecular mechanisms of action. **Phytomedicine**, v. 107, p. 154456, dez. 2022.

Biernacki, K., Daško, M., Ciupak, O., Kubiński, K., Rachon, J., & Demkowicz, S. (2020). *Novel 1,2,4-Oxadiazole Derivatives in Drug Discovery. Pharmaceuticals*, 13(6), 111. doi:10.3390/ph13060111.

BOSQUESI, P. L. et al. Anti-Inflammatory Drug Design Using a Molecular Hybridization Approach. **Pharmaceuticals**, v. 4, n. 11, p. 1450–1474, 27 out. 2011.

BRITO, F. **MEC UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE INSTITUTO DE QUÍMICA PRODUTOS NATURAIS MARINHOS NA PRODUÇÃO DE FÁRMACOS**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

[https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/23021/MFC%202020.2\\_\(Mateus%20de%20Freitas%20Brito\).pdf](https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/23021/MFC%202020.2_(Mateus%20de%20Freitas%20Brito).pdf). Acesso em: 27 jul. 2023.

Instituto Federal de Pernambuco. *Campus Barreiros*. Curso de Licenciatura em Química. 4 de junho de 2023.

BUCHALLA, C. M.; WALDMAN, E. A.; LAURENTI, R. A mortalidade por doenças infecciosas no início e no final do século XX no Município de São Paulo. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 4, p. 335–344, dez. 2003.

BUCHANAN, J. C.; PETERSEN, B. P.; CHAMBERLAND, S. Concise total synthesis of phidianidine A and B. **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 45, p. 6002–6004, 6 nov. 2013.

CAMCI, M.; KARALI, N. Bioisosterism: 1,2,4-Oxadiazole Rings. **ChemMedChem**, 2 mar. 2023.

CAMPOS, H. S. Mycobacterium tuberculosis resistente: de onde vem a resistência? **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 7, n. 1, p. 51–64, 1 jun. 1999.

CARBONE, M; LI, Y.; IRACE, C.; MOLO, E.; CIMINO, G. et al. Structure and Cytotoxicity of Phidianidines A and B: First Finding of 1,2,4-Oxadiazole System in a Marine Natural Product. **Organic Letters**, v. 13, n. 10, p. 2516–2519, 20 abr. 2011.

**Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI Guidelines**. Disponível em: <https://clsi.org/>.

COSTA, E. C. S.; FREITAS, J. J. R.; FREITAS, J. C. R. Inovação e propriedade intelectual dos 1,2,4-oxadiazóis: uma prospecção tecnológica fundamentada em base de dados de patentes e periódicos. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 713-718, 2018.

DENNY, T. N; MSci, MPhil; Laura Andrews, EM; Mattia Bonsignori, MD; Kyle Cavanaugh, MBA; et al. Implementation of a Pooled Surveillance Testing Program for Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections on a College Campus - Duke University, Durham, North Carolina, August 2-October 11, 2020. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 69, n. 46, p. 1743–1747, 20 nov. 2020.

DHAMELIYA, T. M; CHUDASMA, S. J; PATEL, T. M; DAVE, B. P. A review on synthetic account of 1,2,4-oxadiazoles as anti-infective agents. **Molecular Diversity**, v. 26, n. 5, p. 2967–2980, 5 jan. 2022.

DIDEHDAR, M.; CHEGINI, Z.; SHARIATI, A. Eugenol: A novel therapeutic agent for the inhibition of *Candida* species infection. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 9 ago. 2022.

FERREIRA, R. D., SOARES, R. D. A., CARVALHO, L. A. de, SILVA, G. A. DA, OLIVEIRA, C. A.; SILVA, G. A. E. determinação da concentração inibitória mínima de conservantes alimentares para o controle de *salmonella typhimurium*. **Holos**, v.4, p.1–14, 2020.

Freitas, J.J.R.; de Freitas, J.C.R.; da Silva, L.P.; de Freitas Filho, J.R.; Kimura, G.Y.; Srivastava, R.M. Microwave-induced one-pot synthesis of 4-[3-(aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-butan-2-ones under solvent free conditions. **Tetrahedron Lett.** **2007**, *48*, 6195–6198.

Instituto Federal de Pernambuco. *Campus Barreiros*. Curso de Licenciatura em Química. 4 de junho de 2023.

GALLAGHER, P.; BAKER, S. Developing new therapeutic approaches for treating infections caused by multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*: *Acinetobacter baumannii* therapeutics. **Journal of Infection**, v. 0, n. 0, 25 out. 2020.

Gangloff, A.R.; Litvak, J.; Shelton, E.J.; Sperandio, D.; Wang, V.R.; Rice, K.D. Synthesis of 3,5-Disubstituted-1,2,4-Oxadiazoles Using Tetrabutylammonium Fluoride as a Mild and Efficient Catalyst. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1441–1443.

HENDAWY, O. M. A comprehensive review of recent advances in the biological activities of 1,2,4-oxadiazoles. *Arch Pharm*, v. 355, n. 7, 2022.

Kaboudin, B.; Saadati, F. Novel method for the synthesis of 1,2,4-oxadiazoles using alumina supported ammonium fluoride under solvent-free condition. *J. Heterocycl. Chem.* **2005**, 42, 699–701. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

KAR MAHAPATRA, S. et al. Eugenol protects nicotine-induced superoxide mediated oxidative damage in murine peritoneal macrophages in vitro. **European Journal of Pharmacology**, v. 623, n. 1-3, p. 132–140, nov. 2009.

KAUFMAN, T. S. The Multiple Faces of Eugenol. A Versatile Starting Material and Building Block for Organic and Bio-Organic Synthesis and a Convenient Precursor Toward Bio-Based Fine Chemicals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2015.

KEROSENEWALA, J. et al. Eugenol: extraction, properties and its applications on incorporation with polymers and resins—a review. **Polymer Bulletin**, 8 ago. 2022.

KHALIL, A. A.; RAHMAN, U. U. R.; KHAN, M. R.; SAHAR, A.; MEHMOOD, T.; KHAN, M. Essential oil eugenol: sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives. **RSC Advances**, v. 7, n. 52, p. 32669–32681, **2017**.

KUCUKOGLU, K. et al. Synthesis, in silico and in vitro evaluation of new 3,5-disubstituted-1,2,4-oxadiazole derivatives as carbonic anhydrase inhibitors and cytotoxic agents. **Journal of Molecular Structure**, v. 1276, p. 134699, 15 mar. 2023.

LEAL, J. G.; SAUER, A. C.; MAYER, J. C. P.; STEFANELLO, S. T.; GONÇALVES, D. F.; SOARES, F. A. A.; DORNELLES, L. Synthesis and electrochemical and antioxidant properties of chalcogenocyanate oxadiazole and 5-heteroarylchalcogenomethyl-1H-tetrazole derivatives. *New Journal of Chemistry*, v. 41, n. 13, p. 5875–5883, **2017**.

LIMA, J. A. C.; COSTA, E. C. SANTOS; BEZERRA, G. B.; SILVA, J. F.; CAIANA, R. R. A.; DE FREITAS FILHO, J. R.; **FREITAS, J. C. R.** Synthesis, antimicrobial evaluation and in silico studies of the (E)-3-(aryl)-5-styryl-1,2,4-oxadiazoles. *Bioscience Journal*, v. 38, p. e38005-e38017, 2022.

LIMA, J. A. DA C. et al. O ESTADO DA TÉCNICA DO EUGENOL: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA FUNDAMENTADA EM BASE DE DADOS DE PATENTES E PERIÓDICOS. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, 3 jul. 2019.

Instituto Federal de Pernambuco. *Campus Barreiros*. Curso de Licenciatura em Química. 4 de junho de 2023.

LIU, T.; CHEN, S.; DU, J.; XING, S.; LI, R.; et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel (4-(1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl)-2-aminoacetamide derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. v. 227, p. 113973–113973, 5 jan. 2022.

MANOEL DE MEDEIROS, D. Article. **Rev. Virtual Quim**, v. 2021, n. 6, p. 1330–1337,[s.d.].

MIETHKE, M; PIERONI, M; WEBER T; BRONSTRUP, M; HAMMANN, P; et al. Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. **Nature Reviews. Chemistry**, v. 5, p. 1–24, 19 ago. 2021.

OLIVEIRA, L.M., SIQUEIRA, F.S., SILVA, M.T.; MACHADO, J. V. C.; CORDEIRO, C.F.; DINIZ, L. F.; CAMPOS, M. A.; FRANCO, L. L.; SOUZA, T. B.; HAWKES, J. A.; CARVALHO, D. T. Synthesis and antimicrobial activity of molecular hybrids based oneugenol and chloramphenicol pharmacophores. **Folia Microbiol**, 2023.

PADHY, I. et al. Molecular Mechanisms of Action of Eugenol in Cancer: Recent Trends and Advancement. **Life**, v. 12, n. 11, p. 1795, 6 nov. 2022.

PARIKH, P. H; PATEL, M. J; PATEL, P. K; TIMANIYA, J. B. Design, synthesis, and characterization of novel substituted 1,2,4-oxadiazole and their biological broadcast. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, n. 3, p. 538–548, 18 jan. 2020.

SAMPATH KUMAR, H. M.; HERRMANN, L.; TSOGOEVA, S. B. Structural hybridization as a facile approach to new drug candidates. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, n. 23, p. 127514, 1 dez. 2020.

SANTOS, A. L. DOS et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, dez. 2007.

SANTOS, A. L. DOS, SANTOS, D. O., FREITAS, C. C. DE, FERREIRA, B. L. A., AFONSO, I. F., RODRIGUES, C. R., & CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 43, n. 6, p.413–423, 2007.

SANTOS, A. L. DOS; SANTOS, D. O; FREITAS, C. C. DE; FERREIRA, B. L. A; AFONSO, I.F; et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, dez. 2007.

SCALABRIN, R.; BUSS, G. D.; IAMAGUCHI, K. C. S.; CARDOSO, C. L.; GARCIA, L. B. Isolamento de *Streptococcus pyogenes* em indivíduos com faringoamigdalite e teste de susceptibilidade a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 69, n.6, p. 814-818, 2003.

SHAIKH, A. L. N.; BHOYE, M.; NANDURKAR, Y.; PAWAR, H. R.; BOBADE, V.; MHASKE, P. C. An efficient synthesis of new 3,5-bis(2-arylthiazol-4-yl)-1,2,4-oxadiazole derivatives and their antimicrobial evaluation. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 60, n. 6, 2023.

SOUZA, V. V. M. A. et al. Citral, carvacrol, eugenol and thymol: antimicrobial activity and its application in food. **Journal of Essential Oil Research**, p. 1–14, 20 fev. 2022.

SRIVASTAVA, R. M.; PEREIRA, M. C.; FAUSTINO, W. W. M.; COUTINHO, K.; ANJOS, J. V.; MELO, S. J. Synthesis, mechanism of formation, and molecular orbital calculations of arylamidoximes. **Monatsh. Chem.** v. 140, p. 1319-1324, **2009**.

TICONA, L. A.; SÁNCHEZ, A. R.; BASTANTE, M. H.; SERBAN, A. M.; HERNÁIZ, M.J. M. Antitumoral activity of 1,2,4-oxadiazoles compounds isolated from the *Neowerdermannia vorwerkii* in liver and colon human cancer cells. **Phytochemistry**, v. 201, 2022.

Tiemann, F.; Krüger, P. Ueber Amidoxime und Azoxime. *Berichte Der Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, 17, 1685–1698.

ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p.3671, 1 jan. 2021.

ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p.3671, 1 jan. 2021.

USMAN, M.; FAROOQ, M.; HANNA, K. Environmental side effects of the injudicious use of antimicrobials in the era of COVID-19. **Science of The Total Environment**, v. 745, p. 141053, nov. 2020.

WYMAN, K. A. et al. Synthesis of Potential Antiviral Agents for SARS-CoV-2 Using Molecular Hybridization Approach. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 5923, 1 jan. 2022.

ZHANG, J.; LI, J-C.; JIA-LI, C.; CHENG, Z-Q.; SUN, J-Z.; et al. Synthesis and evaluation of coumarin/1,2,4-oxadiazole hybrids as selective BChE inhibitors with neuroprotective activity. v. 21, n. 11, p. 1090–1103, 10 jul. 2018.

