



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
POGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ABNER LINS DANTAS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTICANCER, ANTIMICROBIANO E PREDIÇÕES
IN SILICO DE DERIVADOS 1,2,4-OXADIAZÓLICOS**

Recife

2024

ABNER LINS DANTAS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTICANCER, ANTIMICROBIANO E PREDIÇÕES
IN SILICO DE DERIVADOS 1,2,4-OXADIAZÓLICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientador (a): Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva

Recife

2024

Catalogação na fonte:
Bibliotecária: Kyria Macedo, CRB4 1693

D192a	Dantas, Abner Lins Avaliação do potencial anticancer, antimicrobiano e predições in silico de derivados 1,2,4-oxadiazólicos / Abner Lins Dantas. – 2024. 85 f. : il., tab. Orientadora: Teresinha Gonçalves da Silva. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2024. Inclui referências. 1. Neoplasias. 2. Anti-Infeciosos. 3. Oxidiazóis. 4. Simulação de Acoplamento Molecular. I. Silva, Teresinha Gonçalves da (orientadora). II. Título. 617.6 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2024 - 123)
-------	---

ABNER LINS DANTAS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTICANCER, ANTIMICROBIANO E PREDIÇÕES
IN SILICO DE DERIVADOS 1,2,4-OXADIAZÓLICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Ciências da Saúde, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e medicamentos.

Aprovado em: 05/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Erik Jonne Vieira de Melo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Carlson Helder Reis de Carvalho Junior (Examinador Externo)
University of Manchester

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que em toda sua graça me sustentou até aqui.

Agradeço aos meus pais, Anthony Dantas e Adriana Lins por serem a minha base de tudo e por sempre me apoiarem nessa jornada de construção da vida acadêmica. Sem vocês, este projeto não seria possível.

Aos meus irmãos, Aline Glória e Anthony Gabriel e a toda a minha família que de forma direta ou indireta contribuiu e contribui para a minha jornada.

Ao meu avô Matias Dantas e a minha tia Rozangela Dantas por sempre apoiarem meu desejo sem fim de estudar e expandir minhas fronteiras intelectuais.

A Clarissa Nunes por ser a melhor amiga e fiel escudeira.

A Carlson Júnior por ter me acompanhado desde a graduação como banca de TCC e como amigo desde vidas passadas.

A Professora Dra. Teresinha Gonçalves, que me acolheu no Biofarmatox e me orientou da melhor forma possível, sendo coerente, coesa, paciente e sempre aberta ao diálogo, característica tão necessária no processo de orientando com o orientador.

A Dra. Elizabeth Fernanda de Oliveira Borba e ao Dr. Erik Jonne por estarem sempre disponíveis para me orientar na parte experimental dos meus testes, assim como estimulando discussões interessantes e pertinentes ao projeto.

A comissão examinadora por aceitar o convite e por com toda a certeza trazer sugestões de melhorias e de correções para esta dissertação.

Aos meus colegas integrantes dos Laboratório de Farmacotoxicologia de Produtos Bioativos (Biofarmatox), por tantas horas, experimentos, discussões e cafés compartilhados. Sem a ajuda de vocês, nada disso seria viável.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pelo apoio Financeiro.

Obrigado!

"Ora et labora, Deus adest sine mora"

Ordem dos Beneditino

RESUMO

Derivados 1,2,4-oxadiazóis são compostos heterocíclicos que apresentam diversas atividades farmacológicas, tais como antiasmática, antidiabética, anti-inflamatória, anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e atividade antipsicótica. Devido a versatilidade farmacológica dessa classe de compostos, este trabalho teve como objetivo avaliar as atividades anticâncer e antimicrobiana, uma vez que o câncer e a resistência aos antimicrobianos são dois grandes problemas no cenário de saúde global. Para isso, a atividade citotóxica e o potencial anticâncer de uma série de dez compostos 1,2,4-oxadiazóis foram avaliados frente a linhagens de células tumorais humanas (HL-60, K562, HT-29 e MCF-7) e uma saudável (RAW 264.7). A atividade antimicrobiana dos compostos foi avaliada frente a bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*) e Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*), além de leveduras, como a *Candida albicans* e *Candida guilliermondii*, por meio dos testes de difusão em disco de papel e teste de microdiluição em placa. Predições *in silico* a respeito do perfil farmacológico das moléculas foi realizada utilizando *docking* molecular e de plataformas de bioinformática preditivas de dados farmacocinéticos e toxicológicos. As moléculas B1, B2, B3 e B9, respectivamente (1-(5-(*p*-toluil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona; 1-(5-(*m*-toluil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona; 1-(5-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona e 4-(5-(*p*-tolil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona), foram testadas em várias concentrações para determinar a CI_{50} em HL-60, que foi a linhagem mais sensível. O composto que apresentou o menor CI_{50} (8,07 $\mu\text{g/mL}$) foi o B2. Este composto foi então selecionado para avaliar a capacidade de produzir alterações morfológicas em células HL-60 nas concentrações correspondentes ao valor da CI_{50} e $2 \times CI_{50}$, sendo observadas alterações condizentes de processos apoptóticos. Nos testes antimicrobianos, a CMI e CMF em *C. albicans* foram 312,5 $\mu\text{g/mL}$ e 625 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, para o composto B1. Foi realizado o *docking* molecular para os alvos biológicos tubulina e EGFR, e os compostos B2 e B3 apresentaram potencial de interação com os alvos testados. A predição farmacocinética evidenciou que B2 e B3 satisfazem todos os critérios estabelecidos por Lipinski e Veber. A predição toxicológica para ambos compostos mostrou toxicidade oral relativamente baixa com DL_{50} de 1.270 mg/kg. Portanto, alguns compostos derivados 1,2,4-oxadiazóis apresentaram atividade anticâncer e relativo potencial antimicrobiano, assim como baixo potencial tóxico, o que os tornam candidatos para futuros testes visando a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos.

Palavras-chave: câncer; antimicrobianos; oxadiazóis; docking molecular.

ABSTRACT

1,2,4-oxadiazole derivatives are heterocyclic compounds that have diverse pharmacological activities, such as anti-asthmatic, antidiabetic, anti-inflammatory, anticancer, antioxidant, antimicrobial and antipsychotic activity. Due to the pharmacological properties of the class of compounds, this work aimed to evaluate the anticancer and antimicrobial activities, since cancer and antimicrobial resistance are two major problems in the global health scenario. To this end, the cytotoxic activity and anticancer potential of a series of ten 1,2,4-oxadiazole compounds were evaluated against human tumor cell lines (HL-60, K562, HT-29 and MCF-7) and a healthy (CRU 264.7). The antimicrobial activity of the compounds was evaluated against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*), as well as yeasts, such as *Candida albicans* and *Candida guilliermondii*, using diffusion tests on a paper disk and microdilution test on a plate. In silico predictions regarding the pharmacological profile of the molecules were made using molecular docking and bioinformatics platforms predictive of pharmacokinetic and toxicological data. Molecules B1, B2, B3 and B9, respectively (1-(5-(p-tolyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)propan-2-one; 1-(5-(m-tolyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)propan-2-one; 1-(5-(4-chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)propan-2-one and 4-(5-(p-tolyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)butan-2-one), were tested at various concentrations to determine the IC₅₀ in HL-60, which was the most sensitive strain. The compound that presented the lowest IC₅₀ (8.07 µg/mL) was B2. This compound was then selected to evaluate the ability to produce morphological changes in HL-60 cells at concentrations corresponding to the IC₅₀ value and 2 x IC₅₀, sending visual changes consistent with apoptotic processes. In antimicrobial tests, the MIC and CMF in *C. albicans* were 312.5 µg/mL and 625 µg/mL, respectively, for compound B1. Molecular docking was carried out for the biological targets tubulin and EGFR, and compounds B2 and B3 had the potential to interact with the tested targets. The pharmacokinetic prediction showed that B2 and B3 meet all the criteria established by Lipinski and Veber. The toxicological prediction for both compounds showed relatively low oral toxicity with an LD₅₀ of 1,270 mg/kg. Therefore, some 1,2,4-oxadiazole compounds present anticancer activity and relative antimicrobial potential, as well as low toxic potential, which make them candidates for future tests through research and development of new medicines.

Keywords: cancer; antimicrobials; oxadiazoles; molecular docking.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Isômeros constitucionais de oxadiazóis.	16
Figura 2 -	Estrutura química dos compostos B1, B2, B3 e B9	39
Figura 3 -	Análise morfológica das células HL-60 submetidas a 72h de incubação com o composto B2, coradas pelo kit panótipo rápido e capturadas por fotomicrografia	42
Figura 4 -	Redocking da colchicina e erlotinibe na estrutura da tubulina e EGFR, respectivamente, demonstrando a similaridade entre as conformações originais (em vermelho) e as obtidas pelo redocking (em azul).	47
Figura 5 -	Vista detalhada das conformações de acoplamento mais favoráveis dos compostos B2 e B3 no sítio ativo da tubulina.	50
Figura 6 -	Vista detalhada das conformações de acoplamento mais favoráveis dos compostos B2 e B3 no sítio ativo do EGFR.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de casos e de mortes mais comuns por cânceres no mundo	20
Tabela 2 - Estimativa de novos casos de câncer no Brasil entre 2023-2025.	20
Tabela 3 - Série dos 10 compostos 1,2,4-oxadiazólicos.	30
Tabela 4 - Percentual de inibição dos compostos frente às linhagens tumorais utilizando-se uma concentração única de 25 µg/mL.	37
Tabela 5 - CI_{50} dos compostos na linhagem HL-60 realizado pelo teste do MTT após 72h de incubação.	38
Tabela 6 - Resultados observados no teste de difusão em disco de papel para as bactérias.	43
Tabela 7 - Resultados observados no teste de difusão em disco de papel para as leveduras.	44
Tabela 8 - Resultados observados no teste de microdiluição em placa para os compostos B1, B2 e B3 frente aos microrganismos <i>B. subtilis</i> e <i>C. Albicans</i> .	45
Tabela 9 - Valores de RMSD obtidos pelo redocking dos ligantes co-cristalizados da tubulina e EGFR.	48
Tabela 10 - Predição das energias livres de ligação (kcal/mol) e interações moleculares de B2, B3 e colchicina na tubulina.	48
Tabela 11 - Predição das energias livres de ligação (kcal/mol) e interações moleculares de B2, B3 e erlotinibe em EGFR.	51
Tabela 12 - Predição das propriedades farmacocinéticas, toxicológicas e físico-químicas <i>in silico</i> dos 1,2,4-oxadiazóis B2 e B3.	54

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1	QUÍMICA MEDICINAL.....	14
2.2	COMPOSTOS DERIVADOS OXADIAZÓLICOS.....	15
2.3	ESTUDOS IN SILICO.....	18
2.4	CÂNCER.....	19
2.4.1	<i>Epidemiologia do câncer.....</i>	<i>19</i>
2.4.2	<i>Etiologia do câncer.....</i>	<i>21</i>
2.4.3	<i>Tratamento do câncer.....</i>	<i>23</i>
2.5	INFECÇÕES BACTERIANAS.....	24
2.6	INFECÇÕES FÚNGICAS.....	26
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
4	METODOLOGIA.....	30
4.1	OBTENÇÃO DE COMPOSTOS OXADIAZÓLICOS.....	30
4.2	LINHAGENS CELULARES E CULTIVO.....	31
4.3	MICRORGANISMOS.....	31
4.4	EXPERIMENTOS.....	31
4.4.1	<i>Atividade citotóxica frente a linhagens cancerígenas pelo teste do MTT.....</i>	<i>31</i>
4.4.2	<i>Análise morfológica.....</i>	<i>32</i>
4.4.3	<i>Teste de difusão em disco de papel para determinação da atividade antimicrobiana.....</i>	<i>33</i>
4.4.4	<i>Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima microbida (CMM) dos compostos.....</i>	<i>34</i>
4.4.5	<i>Docking molecular.....</i>	<i>34</i>
4.4.6	<i>Avaliação in silico das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas.....</i>	<i>35</i>

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS TUMORAIS PELO TESTE DO MTT.....	37
5.2	ANÁLISE MOROFLÓGICA.....	41
5.3	TESTE DE DIFUSÃO EM DISCO DE PAPEL.....	42
5.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRACAO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) E CONCENTRAÇÃO MÍNIMA MICROBICIDA (CMM) DOS COMPOSTOS.....	44
5.5	DOCKING MOLECULAR.....	46
5.6	AVALIAÇÃO IN SILICO DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS.....	53
6	CONCLUSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

O oxadiazol é um heterociclo de cinco membros contendo nitrogênio e oxigênio que tem sido comumente utilizado como uma estrutura privilegiada no planejamento e síntese de novas moléculas bioativas (Hemming, 2008). Em especial, os 1,2,4-oxadiazóis imitam um bioisómero de éster ou amida resistentes à hidrólise e são importantes no design de novas moléculas para uma diversa gama de atividades biológicas, como anticancer, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antiviral, antimicrobiana, antidepressivo, antiangiogênica, analgésica, sedativa, anti-edema e anti-parasitário (Boys et al., 2006; Hamzé et al., 2003; Feng et al., 2000; Fleckenstein et al., 1996; Kumar et al., 2009).

Apesar dos extensos esforços dirigidos ao desenvolvimento de terapias eficazes para combater o câncer nas últimas duas décadas, este continua a ser um desafio ameaçador em todo o mundo. Embora as terapias convencionais contra o câncer não sejam discriminatórias entre células normais e malignas, a terapia direcionada atua bloqueando vias bioquímicas essenciais ou oncoproteínas que são necessárias para o crescimento e sobrevivência das células tumorais, matando seletivamente as células cancerígenas em relação às células normais (Sudhakar, 2009). Neste sentido, é importante que seja avaliado a capacidade que os compostos 1,2,4-oxadiazólicos possuem em atuar em proteínas oncogênicas específicas como o EGFR e a Tubulina.

Assim como o câncer, outro problema a ser enfrentado são o número crescente de resistência dos microrganismos, principalmente em pacientes imunossuprimidos, como àqueles com câncer (Walsh, 2013). Desde o início do século XX, os antibióticos têm sido indispensável para o tratamento de infecções bacterianas. No entanto, alguns anos após o surgimento da penicilina, foi possível identificar cepas resistentes (Finch, 2012). Várias medidas foram propostas para contornar o problema, dentre elas o uso racional de antibióticos e o incentivo ao desenvolvimento de novos medicamentos (WHO, 2001). Neste contexto é imprescindível que os compostos 1,2,4-oxadiazólicos sejam testados para averiguar sua provável capacidade antimicrobiana e antifúngica.

Em se tratando do processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos foi apenas no início de 1900 que a pesquisa moderna de medicamentos se desenvolveu e até hoje busca identificar moléculas e mecanismos moleculares atrelados a patologias (Hefti, 2008; Hughes et al., 2011; Mohs & Greig, 2017; Villoutreix, 2021). Esse processo de descoberta engloba processos experimentais *in vitro* e *in vivo* mas também procedimentos experimentais em ambiente computacional (Hughes et al., 2011). A junção destes métodos fornecem uma melhor predição da afinidade, seletividade, eficácia, potência, estabilidade molecular e biodisponibilidade oral de novos fármacos (Doytchinova, 2022; Hughes et al., 2011; Smith, 2002).

A investigação do potencial terapêutico de compostos 1,2,4-oxadiazólicos têm se mostrado promissor, com uma diversa gama de atividades biológicas comprovadas através de ensaios *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. Diante do que foi exposto, este trabalho visa contribuir para o conhecimento farmacológico desta classe de compostos a fim de contribuir para a descoberta de novos medicamentos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 QUÍMICA MEDICINAL

O termo química medicinal foi cunhado pela primeira vez após a Segunda Guerra Mundial, mas o conceito em si, de utilização de produtos químicos para tratamento de enfermidades remonta aos tempos antigos, onde os povos antigos detinham o conhecimento de que certas ervas possuíam efeitos terapêuticos, como os sumérios que utilizavam o ópio há cerca de 2.100 a.C. (Norm et al., 2004) e a erva *Ma huang* era utilizada para tratar febres desde 3.000 a.C. (WHC, 2023). Após a Segunda Guerra Mundial, houve um avanço significativo na compreensão da farmacologia a nível molecular a ponto de se conseguir expressar a atividade biológica de um composto como propriedades moleculares quantitativas. No surgimento da síntese racional de medicamentos, os cientistas começaram a manipular moléculas a fim de observar as alterações resultantes nas suas atividades biológicas. Isto permitiu os cientistas determinarem as características cruciais de uma molécula que contribuem para a sua atividade biológica. Este ensaio denomina-se estudo de relação estrutura-atividade e é utilizado até os tempos atuais como técnica nos processos de descoberta e desenvolvimento de medicamentos (Bernard, 1962).

No século XXI, a química medicinal procura não apenas desenvolver, mas também aperfeiçoar novas moléculas bioativas, melhorando produtos farmacêuticos já existentes. Aperfeiçoamento este, por otimização da estrutura, e consequentemente, das propriedades das moléculas, para melhorar interações com alvos, metabolismo, toxicidade e dinâmica de distribuição, desenvolvendo medicamentos cada vez mais seletivos e com efeitos colaterais limitados (Mak et al., 2012).

O processo de descoberta e desenvolvimento de medicamentos é demorado e dispendioso financeiramente, incluindo os métodos de design de medicamentos auxiliados por computador. Estes softwares fornecem informações valiosas sobre descobertas experimentais e mecanismos de ação, além de sugestões para estruturas moleculares a serem sintetizadas (Talele et al., 2010; Clark, 2006). Muitas destas técnicas são geralmente mais baratas e rápidas do que a maioria dos métodos de ensaio experimental, então, grandes bases de dados de compostos são frequentemente testados *in silico* antes de serem submetidos a testes *in vitro*. Atualmente os projetos de concepção de medicamentos começam com milhares de

compostos provindos de bancos de dados que são submetidos a ferramenta de triagem virtual, que busca computacionalmente moléculas com atividades biológicas de interesse (Ripphausen et al., 2010). Dependendo das informações obtidas, a triagem virtual pode ser dividida em baseada em estrutura e baseada em ligantes. No primeiro caso, é utilizado a estrutura 3D de um alvo e no último, são levados em consideração ligantes estabelecidos de um alvo conhecido (Liao & Nicklaus, 2010).

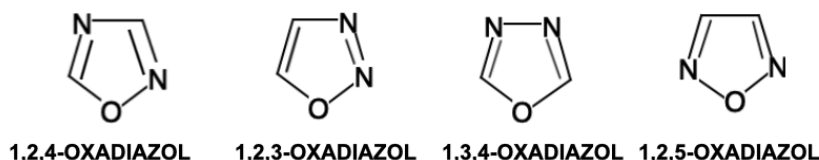
2.2 COMPOSTOS DERIVADOS DE OXADIAZÓIS

Compostos heterocíclicos podem ser definidos como compostos de estrutura cíclica que apresentam pelo menos um átomo de carbono do anel substituído por outro átomo que não seja carbono. Estes átomos diferentes do carbono são denominados heteroátomos, sendo o nitrogênio, o oxigênio e o enxofre, os mais comuns. Eles configuram uma classe de compostos orgânicos com diversas aplicações na química medicinal e sintética, como em moléculas bioativas com atividades antibacteriana (EL-Salam et al., 2013; Azab et al., 2013), antifúngica (Cao et al., 2014), antiviral (Salem et al., 2013), anti-inflamatória (El-sawy et al., 2013) e antitumoral (Chen et al., 2014; Arab et al., 2013; Mabkhot, 2013). A atividade biológica exibida pelos heterociclos é devida ao seu potencial de ligação com várias enzimas, tanto aos sítios ativos quanto às estruturas de bolsas enzimáticas, através de uma gama de interações intermoleculares, como van der Waals e forças hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e ligações metálicas (Pearce, 2017).

O anel heterocíclico oxidiazol é largamente utilizado na química medicinal como um núcleo para sintetizar e desenvolver compostos bioativos singulares e estruturalmente diversos. Possuem em sua estrutura um átomo de oxigênio, dois átomos de nitrogênio e duas ligações duplas, de baixo caráter aromático, apresentando diferentes isômeros constitucionais 1,2,4-oxidiazol, 1,3,4-oxidiazol, 1,2,5-oxidiazol e 1,2,3-oxidiazol de acordo com a posição dos nitrogênios (Cunha & de Aguiar, 2015) (Figura 1). Este composto tem um núcleo extremamente estável que pode fornecer uma nuvem eletrostática $\pi-\pi$ (empilhamento) e fortes ligações de hidrogênio com alvos biológicos (Bostrom et al., 2012). Desde o início dos anos 2000, medicamentos à base de oxidiazol chegaram a comercialização, como o Atularen para distrofia muscular de Duchenne (Morkouss, 2020), a Oxalamina utilizada antitussígeno (Ceyhan et al., 2002), o Amenavir para tratamento do herpes zóster

(Shirahi et al., 2021), o Raltegravir para tratamento do HIV/AIDS (Hicks & Gulick, 2009), e o Pleconaril utilizado para prevenção de exacerbações de asma e resfriado (Florea et al., 2003).

Figura 1: Isômeros constitucionais de oxadiazóis



Ácidos graxos são ácidos carboxílicos que se originam a partir de óleos e gorduras naturais que sofrem clivagem e apresentam quimicamente uma cadeia longa alifática que pode ser saturada ou insaturada e são derivados de triagliceróis ou fosfolipídios (Biermann et al., 2000). Em sua maioria, os ácidos graxos de origem natural apresentam uma cadeia não ramificada, variando de 4 a 28 átomos de carbono e o comprimento das caudas alifáticas determinam se os ácidos graxos são de cadeia curta (≤ 5 átomos de carbono), de cadeia média (≥ 6 átomos de carbono) ou de cadeia longa (≥ 14 átomos de carbono) (Józwiak, et al., 2020; Amiri et al., 2018). Sua utilização tem se dado no desenvolvimento de biomoléculas farmacologicamente ativas por meio de transformações simples (Gunstone, 1996), como a reação da porção carboxílica para produzir éster estável ou ligação de amida (Irby, 2017), mas também na indústria como combustíveis, surfactantes e catalisadores (Fawzy, et al., 2022; Ilikti, et al., 2008; El-sayed et al., 2017).

Moléculas bioativas contendo porções oxidiazol vem sendo demonstradas como importantes agentes anticâncer ao inibir diversos alvos biológicos (Shetnev et al., 2019; Krasavin et al., 2019), como telomerase, anidrase carbônica, histona desacetilase, proteossomos, timidilato sintetase, topoisomerase II, sirtuínas, polimerização de tubulina, proteínas quinase (FAK, PI3Ks), receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) (Shetnev et al., 2019; Benassi et al., 2020; Khanfar et al., 2010).

O isômero 1,3,4-oxadiazol mostra importantes aplicações que se estendem da indústria farmacêutica a indústria de corantes (Salahuddin et al., 2017), assim como apresenta atividades biológicas como anticancerígena, antiparasitária, antimicrobiana, antidepressiva, antituberculose e anti-inflamatória (Bajaj et al., 2015;

Bala et al., 2012; Khalilullah et al., 2023; Bajaj et al., 2018). Os derivados de 1,2,5-oxadiazóis se mostraram como compostos biologicamente ativos com propriedades citotóxicas (Boiani, M., 2001; Fershat & Makhova, 2020). O isômero 1,2,3-oxadiazol é pouco explorado devido a instabilidade molecular que se dá pela abertura do anel heterocíclico, resultando em formações de diazometanos substituídos (Nguyen, 1985).

Em 1884, Tiemann e Kruger sintetizaram o anel heterocíclico 1,2,4-oxadiazol e classificaram-o como azoxima ou furo[ab1]diazol (Tiemann & Kruger, 1884), e desde então permaneceu como sendo o isômero mais estudado. No período de 1940 os estudos de atividade biológica se iniciaram e em 1960 o primeiro medicamento contendo o anel 1,2,4-oxadiazol foi descrito e inserido no mercado como antitussígeno, a Oxolamina (Anderson et al., 1942; Silvestrini & Catanese, 1964; Silvestrini, 1960). Por volta de 1964, outros químicos voltaram o seu olhar para esta molécula e foi observado o seu rearranjo fotoquímico para outros sistemas heterocíclicos (Newman, 1968; Newman, 1968). Desde a década de 1960, o heterocilco 1,2,4-oxadiazol vêm sendo explorado e tem apresentado uma vasta gama de compostos com atividades biológicas tais como anticancerígena, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antiviral, antimicrobiana, antidepressiva, antiangiogênica, analgésica, sedativa, antiedematogênica, antiparasitário e anti-Alzheimer. Esse núcleo tem também potencial inibidor de desacetilase humana sirtuína 2 (HDSirt2), anidrase carbônica (CA), histona desacetilase (HDAC), quinase rearranjada durante transfecção (RET), proteína de ligação à penicilina (PBP2a), bomba de efluxo, ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) e butirilcolinesterase (BChE), bem como afinidade com receptores σ_1 , σ_2 , orexina, opioide kappa (KOR) e estradiol (ER) (Wei et al., 2017; Parra et al., 2005; Xiong et al., 2019; Yan et al., 2019). Para além do 1,2,4-oxadiazol-oxalamina, outros medicamentos foram desenvolvidos e comercializados contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol como: a prenoxiazina, outro antitussígeno; a butalamina, que atua como vasodilatador; o fasiplon, um ansiolítico não-benzodiazepínico; o pleconaril, um antiviral; o atalureno, utilizado para tratar distrofia muscular de Duchenne; e o proxazol, utilizado para distúrbios gastrointestinais (Coupar et al., 1969; Rotbart et al., 2001; McDonald et al., 2017).

Derivados 1,2,5-oxadiazóis (furazanos) e seus 2-óxidos (furoxanos) ocupam uma importante posição entre os numerosos heterocíclicos e seus primeiros derivados

de furazan e furoxan foram sintetizados desde o ano de 1800. Estes compostos vêm sendo estudados e a química dos furoxanos foi sistematizada por Khmel`nitsky et al. (1996). A síntese e reações de furazanos monocíclicos e derivados de furoxano foram abordadas em uma revisão (Sheremetev et al., 2001). Estas moléculas apresentam atividade antiparasitária (Rai et al., 2009; Guglielmo et al., 2014), citotóxica e anticancer (Stepanov et al., 2015; Zhao et al., 2012; Chegaev et al., 2011; Lai et al., 2010; Li et al., 2015; Duan et al., 2015), assim como apresentam potencial inibitório de várias isoformas da anidrase carbônica humana e potencial terapêutico em modelos animais de glaucoma (Chegaev et al., 2014).

2.3 ESTUDOS *IN SILICO*

O processo de pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos é dispendioso e dura em média de 12 a 15 anos (Boobis et al., 2002; Rognan, 2017). Em uma tentativa de otimizar o processo, foram desenvolvidos métodos de investigação *in vitro* e *in vivo* (Myers & Baker, 2001; Dimasi et al., 2003). Nas duas últimas décadas têm surgido modelos alternativos que utilizam ambientes computacionais como laboratórios experimentais, chamados de abordagens *in silico*. A maior parte destes testes *in silico* são utilizados em paralelo com os testes tradicionais *in vitro* e *in vivo* para que haja uma modelagem precisa dos dados. Estes dados servirão para aplicações que vão desde a otimização de ligantes até a caracterização de propriedades farmacológicas fundamentais de moléculas, como absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (Ekins et al., 2007). Para a previsão da hipótese do novo medicamento, os métodos *in vivo* e *in vitro* são utilizados no início, mas nesta nova geração de medicamentos modernos, o processo de concepção e desenvolvimento de novos medicamentos são utilizados os métodos computacionais (Noori & Spanagel, 2013; Andrade et al., 2016).

Existem diferentes técnicas utilizadas em projetos de desenvolvimento de medicamentos *in silico* como homologia, *docking* molecular, minimização de energia e QSAR (relação quantitativa estrutura-atividade), entre outros. O design de medicamentos *in silico* pode ser agregado em todos os estágios de desenvolvimento de medicamentos, desde o estágio de descoberta pré-clínica até o estágio final de desenvolvimento clínico (Boobis et al., 2002; Ekins et al., 2007; Butina et al., 2022). O processo de pesquisa e desenvolvimento auxiliado por métodos *in silico* melhora a

eficácia e eficiência da descoberta, assim como diminui o uso de animais, os custos e o tempo, além de aumentar a previsibilidade (Tao et al., 2015; Alqahtani et al., 2017).

O *docking* molecular é um tipo de técnica de modelagem *in silico* que permite a predição da orientação de ligação entre uma molécula com outra, ou seja, entre um ligante e um receptor quando ambos interagem para formar um complexo estável (Mukesh & Rakesh, 2011). Através da identificação da orientação preferida de ligação das moléculas é possível prever o perfil de energia, força e estabilidade. O docking molecular vêm sendo utilizado para prever a orientação de ligação de pequenas moléculas candidatas a medicamentos ao seu alvo biomolecular, como proteínas e ácidos nucleicos, com o objetivo de determinar seus parâmetros de ligação provisórios. Isso estabelece dados brutos para o desenvolvimento racional de medicamentos baseado em estrutura com melhor eficácia e mais especificidade (Guedes et al., 2014). O objetivo do acoplamento ligante-proteína é explorar, dentro de uma estrutura proteica tridimensional conhecida, as dezenas de milhares de possíveis lugares de ligação. Estes lugares de ligação são avaliados por uma função de pontuação (*scoring function*) (Fenu et al., 2007) que orienta e determina os lugares do ligante. O *scoring function* é o componente mais importante do *docking* molecular (Huang et al., 2010; Brooijmans & Kuntz, 2003; Wang & Lin, 2003) e possui três importantes funções principais como: 1) determinar o modo de ligação e o local de ligação de um ligante a uma proteína (Hermann et al., 2007); 2) prever a afinidade de ligação absoluta entre a proteína e ligante no processo de otimização do composto líder (Joseph-mccarthy et al., 2007; Jorgensen, 2009); e 3) identificar possíveis estruturas de drogas para um determinado alvo protéico ao pesquisar um grande banco de dados de ligantes (*virtual screening*) (Seifert et al., 2007; Schneider, 2010).

2.4 CÂNCER

2.4.1 Epidemiologia do câncer

O câncer é umas das doenças mais preocupantes quando se pensa em saúde pública, devido ao número pouco expressivo de terapias eficazes que levam a uma alta taxa de mortalidade (Yang et al., 2020). Segundo dados da Organização Pan-Americana de Saúde e da Organização Mundial de Saúde, o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, sendo responsável por 9,6 milhões de mortes em

Tabela 1.Número de casos e de mortes mais comuns de cânceres no mundo

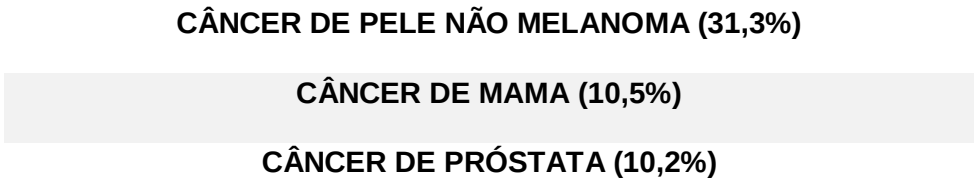
CÂNCERES MAIS COMUNS	CÂNCERES QUE MAIS MATAM
PULMÃO (2,09 milhões)	PULMÃO (1,76 milhão)
MAMA (2,09 milhões)	COLORRETAL (862 mil)
COLORRETAL (1,8 milhão)	ESTÔMAGO (783 mil)
PRÓSTATAS (1,28 milhões)	FÍGADO (782 mil)
CÂNCER DE PELE NÃO- (1,04 milhões)	MAMA (627 mil)
ESTÔMAGO (1,03 milhões)	ESTÔMAGO (1,03 milhões)

Fonte: OPAS-OMS. Disponível em: < [https://www.paho.org/pt/topicos/cancer#:~:text=O câncer é a segunda,de baixa e média renda.](https://www.paho.org/pt/topicos/cancer#:~:text=O%20c%C3%A2ncer%20%C3%A9%20a%20segunda,de%20baixa%20e%20m%C3%A9dia%20renda.)> Acessado em 1, Jan, 2024.

2018. A Tabela 1 ilustra os casos de câncer mais comuns e os que mais causam mortes no mundo (OPAS-OMS, 2023).

Segundo estimativa para os anos de 2023 a 2025 do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o Brasil apresentará 704 mil novos casos de câncer (Tabela 2). Os dados mostram que as regiões Sul e Sudeste apresentam cerca de 70 % da incidência, sendo maior em homens do que mulheres. Além disto, nas mulheres a incidência maior é o cancer de mama, sendo que em regiões de maior IDH se sobressaem os cânceres de cólon e reto e nas regiões de menor IDH o câncer de colo de útero (INCA, 2023).

Tabela 2. Estimativa de novos casos de câncer para o Brasil entre 2023-2025



CÂNCER DE CÓLON E RETO (6,5%)

CÂNCER DE PULMÃO (4,6%)

CÂNCER DE ESTÔMAGO (2,9%)

Fonte: Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: < <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/introducao> >. Acessado em 1, Jan, 2024.

O Instituto Nacional de Câncer dos EUA (NCI-USA) relata alguns fatores de risco que aumentam a probabilidade de se desenvolver câncer como a idade, uso de álcool, dieta, hormônios, obesidade, radiação, luz solar, tabagismo, imunossupressão, agentes infecciosos, inflamação crônica e contato com substâncias reconhecidamente oncogênicas (NCI, 2023).

2.4.2 Etiologia do câncer

A etiologia do câncer está correlacionada diretamente com fatores hereditários somados a condições ambientais (Cheng et al., 2019). O estabelecimento do câncer se dá pela proliferação descontrolada de qualquer tipo celular presente no corpo e podem ser divididos em benignos e malignos, quando estabelecidos *in situ* ou quando invadem outros tecidos, respectivamente (Cooper, 2000). No processo de desenvolvimento do câncer, uma gama de vias inflamatórias e imunológicas são ativadas. No mecanismo inflamatório do câncer é ativado a via extrínseca e no mecanismo imunológico é ativado a via intrínseca, a partir de deficiências somáticas e mutações genéticas que ativam as vias de sinalização e aumentam a resposta inflamatória (Gun et al., 2019).

No processo de regulação do ciclo celular estão envolvidos os inibidores de quinase dependentes de ciclina (CDK) que agem formando complexos com as proteínas quinases e a proteína p53, que age de forma supressora de tumor atuando na supressão da transição da fase G1 para a fase S no processo de divisão celular (Hochegger et al., 2008; Kim et al., 2009). Os fatores de crescimento epidérmico (EGF) e fibroblástico (FGF), assim como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) são agentes mitógenos que também podem ativar o mecanismo do ciclo

celular, assim como algumas citocinas e hormônios (Salazar & Malumbres, 2017). Estes sinais mitogênicos podem ser produtos da expressão de oncogenes ou de constituintes da matriz celular, como as integrinas (Gavalas et al., 2013; Sherwood et al., 1971; Joimel et al., 2010). Os produtos da expressão de proto-oncogenes, como alguns fatores de transcrição e ciclinas, realizam a transdução do sinal mitogênico da membrana para o núcleo celular (Malumbres & Barbacid et al., 2001; He et al., 2015).

O início e a progressão do cancer são considerados um processo de múltiplas etapas onde células normais são transformadas em versões malignas através de alterações genéticas progressivas (Hyndman, 2016). Há, no mínimo, três classes de genes fundamentais neste processo, que são os proto-oncogenes, os genes supressores de tumor e os genes envolvidos no mecanismo de reparo do DNA. Eventos de mutação, deleção ou amplificação nesses genes podem desregular os mecanismos de crescimento e diferenciação celular. Estes eventos são seguidos de seleção clonal agressiva com capacidade de proliferação, de evasão dos mecanismos de crescimento celular normal, invadindo e destruindo tecidos normais e saudáveis (Lodish et al., 1999). DNAs alterados podem ser detectados por um mecanismo de reparo celular, conhecido como reparo por excisão. Após detecção, o segmento alterado é removido através de um corte da fita de DNA lesionada por meio da endonuclease, seguido pela remoção da distorção pela exonuclease. A lacuna deixada é compensada pela ressíntese da sequência de nucleotídeos que é comparada com a fita restante não danificada, usando uma polimerase e depois pela junção da nova sequência com a antiga em sua extremidade livre, utilizando uma ligase (Siddiqui et al., 2015).

Durante a fase de promoção, está bem estabelecido que a divisão celular e os agentes que aumentam a divisão celular, como o fator de crescimento epitelial, sejam requeridos, pois a lesão precisa perpetuar em toda a descendência desta célula filha. Porém, o entrincheiramento permanente da lesão genética inicial não é a única mudança durante a promoção (Rivera, 2012).

O intervalo entre o final da promoção e o surgimento de um tumor maligno reconhecível é chamado de progressão (Wheelock et al, 1981). Durante a progressão, a população de células tumorais expande-se muitas vezes e as próprias células tornam-se cada vez mais aberrantes (KAUR et al. 2014).

A malignidade pode ser definida como a condição permanente de um tecido em que prolifera sem limite e invade e lesiona tecidos normais adjacentes. É a capacidade de invasão local que é a definição acertada do tecido maligno e que distingue a proliferação maligna da benigna (Robbins & Cotran, 1979).

2.4.3 Tratamento do câncer

As estratégias para o tratamento do câncer podem ser tradicionais ou modernas e a seleção da estratégia é guiada pelas informações de localização, gravidade e tipo de cancer (Abbas & Rehman, 2018). Os métodos tradicionais mais utilizados são cirurgia, quimioterapia e radioterapia e os modernos são terapia hormonal, antiangiogênica, células-tronco, imunoterapia e imunoterapia baseada em células dendríticas (Charmsaz et al., 2019). Destas modalidades, a cirurgia é a mais eficaz em um estágio inicial da progressão da doença. A radioterapia pode lesionar células, tecidos e órgãos saudáveis, enquanto a quimioterapia, apesar de reduzir a morbidade e mortalidade, é um agente causador de lesão celular de forma não específica, atingindo também células saudáveis de divisão e crescimento rápido (Moses et al, 2003). Outros problemas associados a quimioterapia consistem no desenvolvimento de mecanismos de evasão da ação dos medicamentos por parte das células, tornando-se resistentes, seja por redução da captação ou aumento de efluxo (Shapira et al., 2011) e também dificuldades na determinação da dose, na falta de especificidade, no metabolismo rápido dos medicamento e dos efeitos colaterais (Mondal et al., 2014).

A quimioterapia consiste numa terapia padrão para tratar o câncer e teve no início da década de 1970 a introdução de importantes medicamentos como a bleomicina, a vinblastina e a cisplatina. Estes medicamentos causavam uma série de efeitos colaterais como vômito intenso, em uma época onde os fármacos antieméticos ainda não estavam disponíveis no mercado. Este cenário levou o Instituto Nacional de Câncer dos EUA (NCI) a pesquisar fármacos citostáticos para novos tratamentos do câncer (Murkherje, 2010). Ao passar dos anos, modelos animais foram estabelecidos para se entender o processo de metástase e partir desse momento foram descobertos vários mecanismos em biologia molecular que serviram para desenvolver novos medicamentos anticancer (Schirrmacher, 2017), com os anticorpos monoclonais e das terapias direcionadas por meio de inibidores de pequenas moléculas (MAbs). Nos

últimos anos, dois tipos de imunoterapia se sobressaíram em oncologia, que foram os MABs inibitórios de *checkpoint* e células T transfectadas com receptor específico de antígeno quimérico (células CART-T). Outros tratamentos também foram desenvolvidos como as terapias biológicas, vacinas antitumorais e vírus oncolíticos (OVs) (Koeppen & Stanton, 2018).

Os medicamentos de primeira geração no tratamento do câncer foram os citotóxicos, que foram descobertos através da triagem de compostos que matam células tumorais (Workman, 2015). A ideia primordial que sustenta estes fármacos consiste na impressão de que células cancerígenas replicam seu DNA e se dividem com maior frequência que células saudáveis. Esta ideia levou ao desenvolvimento de fármacos com mecanismo de ação direcionados ao âmbito molecular, como é o caso do paclitaxel, que atua como inibidor de microtúbulos, bloqueando o mecanismo de divisão celular (Marsham et al., 1999).

2.5 INFECÇÕES BACTERIANAS

Nos tempos atuais, os antibióticos são indispensáveis para tratar doenças infecciosas, no entanto, a crescente resistência antimicrobiana, juntamente com a baixa demanda no desenvolvimento de novos medicamentos, representa uma grande ameaça para a saúde (Cheng e al., 2016). Em 2013, 9.2 milhões de mortes foram notificadas devido a infecções (WHO, 2013; Gupta et al., 2019). Nesse contexto, o uso racional de antibióticos surge como principal mecanismo no combate à resistência antimicrobiana. A eficácia do tratamento com antibióticos é determinada por múltiplos fatores como o próprio antibiótico, o patógeno alvo e o sistema corporal do paciente (Czock et al., 2009; Jareel et al., 2015). Mesmo com a indústria farmacêutica produzindo novos antibióticos nos últimos 30 anos, a resistência a estes medicamentos, por parte dos microrganismos, aumentou principalmente pelo fato das bactérias possuírem capacidade genética de transmitir e adquirir resistência a medicamentos (Cohen, 1992).

Bactérias multi-resistentes a quase todos antibióticos disponíveis no mercado se desenvolveram devido ao uso não racional de antibióticos e estudos mostram que estas bactérias carregam um gene de super-resistência denominado NDM-1 (Hsueh, 2010). Os mecanismos de ação dos principais antibióticos no mercado estão

direcionados a síntese da parede celular, ao processo de tradução e de replicação do DNA. Os mecanismos de resistência incluem expressão de enzimas que modificam ou degradam antibióticos, como as β -lactamases e aminoglicosídeos (Poole, 2002); modificações de componentes celulares como a parede celular na resistência a vancomicina; ribossomos na resistência a tetraciclina (Jayaramam, 2009); e expressão de bombas de efluxo, que fornecem resistência simultânea contra vários antibióticos (Knetsch & Koole, 2011).

Ná última década surgiram várias estratégias para superar a resistência a antibióticos, como a combinação de outras moléculas com os antibióticos que não surtem mais efeito terapêutico, o que aparentemente restaura a atividade antibacteriana desejável (Brown, 2015; Rana et al., 2018).

Os mecanismos de ação antimicrobianos de medicamentos conhecidos são: a 1) biossíntese de proteínas bacterianas; a 2) Inibição da síntese de ácidos nucléicos; 3) biossíntese de parede celular; e 4) destruição da parede celular bacteriana (Vaou et al., 2021). Na biossíntese de proteínas bacterianas temos a inibição da síntese proteica visando as subunidades ribossômicas bacterianas como uma abordagem eficaz. Neste mecanismo, temos as classes de antibióticos de macrolídeos, tetraciclina, aminoglicosídeos e oxazolidinonas. Estes inibem a síntese protéica ao alterar a forma do ribossomo para que ele não consiga ler o códon do mRNA corretamente assim como interage com a base oscilante do anticódon do tRNA (Walsh, 2003). No mecanismo de inibição da síntese de ácidos nucléicos, temos antibióticos como as fluoroquinolonas atuando na DNA girase, ao inibir uma topoisomerase tipo II e uma topoisomerase IV, necessárias para separar o DNA bacteriano, inibindo assim a divisão celular (Maxwell, 1997). Os fármacos que atuam na biossíntese da parede celular têm como alvo enzimas bifuncionais, como as transglicosilases e transpeptidases. Fármacos com este mecanismo são a penicilina, as cefalosporinas e vancomicina (Schneider et al., 2010). Na destruição da parede celular bacteriana, temos um mecanismo de ligação ao componente lipídico do lipopolissacarídeo, como é o caso da polimixina, e assim, causar alterações estruturais por meio da troca de fosfolipídeos que podem resultar em desequilíbrio osmótico e morte bacteriana (Poyrel et al., 2017).

As bactérias podem mostrar resistência a agentes antibacterianos através de uma variedade de mecanismos, como: 1) bomba de efluxo; 2) modificação estrutural

de porinas; 3) inativação enzimática; 4) destruição do agente antibacteriano; e 5) alteração dos sítios alvos (Vaou et al., 2021). Na bomba de efluxo, o agente antibacteriano é bombeado mais rapidamente do que o tempo necessários para ser difundido nas células bacterianas e, conseqüentemente, a concentração intrabacteriana torna-se muito inferior ao valor eficaz (Levy et al., 1992). A resistência aos antibióticos através deste mecanismo de bomba de efluxo pode ser observada em uma ampla gama de bactérias e fungos patogênicos Gram-positivos e Gram-negativos, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinobacter baumannii* e *Candida albicans* (Tegos et al., 2011). No mecanismo de modificação estrutural de porinas, o influxo de antibióticos é controlado através de uma variação na estrutura da porina que resulta em alteração da permeabilidade da membrana e é um mecanismos para escapar dos agentes antibacterianos (Dé et al., 2001). Este tipo de mecanismos de escape é encontrado em patógenos Gram-negativos, como *Acinobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. (Pagès et al., 2008). Na inativação enzimática, o processo ocorre por modificação de grupos funcionais. Estes produtos modificados causam o bloqueio da síntese proteica, uma vez que não conseguem se ligar aos ribossomos (Shaw et al., 1993; Over et al., 2011). O mecanismo de destruição do agente antibacteriano consiste na decomposição química de antibióticos ou agentes antibacterianos através da alteração do tipo químico, sendo a degradação mediada pela ligação da enzima hidrolítica, β -lactamase, ao anel β -lactâmico da penicilina, cefalosporinas e carbapenêmicos (Blair et al., 2015; Dever et al., 1991). Outro mecanismo de resistência é a alteração do local de ligação ao medicamento no qual o agente antibacteriano não é capaz de reagir com o sítio bacteriano alvo e resulta em uma redução importante na atividade antibacteriana do agente (Sprat, 1994). Espécies de enterococcos podem apresentar este tipo de mecanismo de resistência à vancomicina, nas quais os genes van HAX codificam uma nova via de enzimas que induzem modificações estruturas, mudando da ligação amida na estrutura do peptidoglicano D-Ala-D-Ala para a ligação éster na estrutura D-Ala-Ala, resultando na redução da afinidade de ligação ao antibiótico (Bugg et al., 1993).

2.6 INFECÇÕES FÚNGICAS

As infecções fúngicas são responsáveis por mais de 1,6 milhões de mortes por ano (Almeida et al., 2019), estando atreladas aos graves problemas de saúde nos

países em desenvolvimento. Neste sentido, os antibióticos surgem como uma importante ferramenta de luta contra estas doenças infecciosas, ao diminuir os índices de morbidade (Salpeter et al., 2016).

Um dos grandes problemas no tratamento de doenças fúngicas tem sido a resistência que estes micro-organismos adquirem a determinados compostos, exigindo assim, a descoberta de novos medicamentos (Bastos et al., 2011; Newman & Cragg, 2016). Estas falhas terapêuticas no tratamento de certas cepas fúngicas foram descritas em diversos estudos clínicos, dermatológicos, epidemiológicos, farmacológicos e relatos de casos (Aldardeer et al., 2020; Asadzadeh et al., 2017; Fisher et al., 2018; Hassanmoghdam et al., 2019; Reinhardt et al., 2020).

As infecções causadas por *Candida* spp. são responsáveis por 80% das infecções fúngicas sistêmicas (Alvarez-Moreno et al., 2018; Gamaletsou et al., 2018). A candidíase geralmente se manifesta como infecções cutâneo-mucosas superficiais, mas também pode progredir para a forma disseminada, a candidemia (Lamoth et al., 2018). *Candida albicans* é a espécie mais frequente entre os fungos patógenos atuais, seguida por outras espécies de *Candida* como a *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e a *Candida tropicalis*, assim como espécies não-*Cândida* como *Cryptococcus neoformans* e bolores como *Aspergillus fumigatus* (Lass-Flörl, 2009).

O tratamento de doenças fúngicas humanas depende principalmente da disponibilidade de agentes antifúngicos. As classes dos antifúngicos utilizados na medicina são divididos em sete classes que incluem polienos, análogos de pirimidina, azóis, caninas, alilaminas, tiocarbamatos e morfolinas (Thompson, G.R.; Cadena, J.; Patterson, T.F. 2009). Os polienos pertencem a uma classe de compostos naturais que têm como alvo o ergosterol da membrana fúngica e criam poros que permitem que pequenas moléculas se difundam pela membrana resultando em morte celular. Os principais exemplos são a anfotericina B e a nistatina (Canuto & Roderio, 2002). Os análogos de pirimidina possuem apenas o 5-fluorocitosina como representante da classe e geralmente é utilizado em combinação com polienos (Polak & Scholer, 1975; Gehrt, 1995; Sanglard, 2002). Os azóis, assim como as alilaminas, tiocarbamatos e morfolinas, inibem a biossíntese do ergosterol através da inibição de citocromos p450 (Sanglard, 2002; Skaggs, 1996). Os azóis são divididos em duas classes, os imidazoles, que incluem o cetoconazol, miconazol e clotrimazol; e os triazóis que incluem o fluconazol, itraconazol e posaconazol (Sheehan, 1999).

Os mecanismos de resistencia presentes nos patógenos fúngicos são: 1) alterações de transporte; 2) alterações de alvo; 3) utilização de vias compensatórias; e 4) presença de estruturas multicelulares complexas. No primeiro, as alterações de transporte que levam à resistencia antifúngica são mediadas por vários tipos de transportadores em fungos, como os transportadores de cassete de ligação ao ATP (Gaur, 2005; Prasad, 2006). No segundo mecanismo, as alterações alvo são mecanismos de resistencia conhecidos para a classe dos azóis. A resistência é mediada por alterações em Erg11/Cyp51 envolvendo mutação ou regulação ascendente de seus genes (Marichal, 1999). No terceiro mecanismo, as células de levedura podem modificar a sua vantagem a biossíntese de metabólitos tóxicos que são derivados da exposição a antifúngicos. O desenvolvimento da resistência aos azóis por mutações no ERG3 é uma ilustração deste princípio (Kelly, 1995). No mecanismo de resistencia antifúngica pela presença de estruturas multicelulares complexas têm os biofilmes que são formados em superfícies sintéticas ou naturais por uma densa rede de leveduras e filamentos geralmente incorporados em uma matriz extracelular (Chandra, 2001; Ramage, 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial anticancer e atividade antimicrobiana *in vitro* e estudo *in silico* de derivados oxadiazólicos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

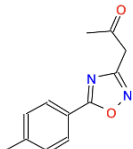
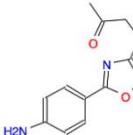
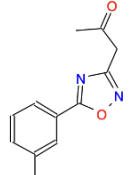
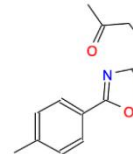
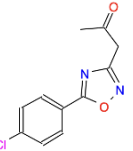
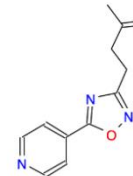
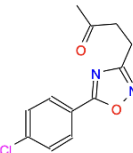
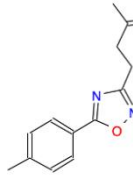
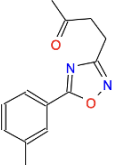
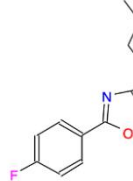
- * Realizar triagem de dez derivados oxazolidínicos utilizando linhagens celulares de câncer humano e uma saudável;
- * Determinar a IC₅₀ dos compostos mais ativos frente a células tumorais;
- * Avaliar alterações morfológicas causadas pelo composto mais ativo por meio de microscopia óptica;
- * Avaliar *in silico*, via docking molecular, a atividade preditiva dos compostos mais promissores frente a alvos anticancerígenos;
- * Avaliar atividade antimicrobiana dos derivados frente a microrganismos através de teste de difusão em disco, diluição em microplaca;

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS OXADIAZÓLICOS

Uma série de dez compostos oxadiazólicos foram sintetizados, caracterizados e fornecidos pelo Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LASOQuim) do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob a coordenação do Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas (Tabela 3).

Tabela 3. Série dos 10 compostos 1,2,4-oxadiazólicos

ESTRUTURA	NOMENCLATURA	CÓDIGO	ESTRUTURA	NOMENCLATURA	CÓDIGO
	1-(5-(<u>p-toluid</u>))-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona	B1		4-(5-(4-aminofenil))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B6
	1-(5-(<u>m-toluid</u>))-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona	B2		4-(5-(<u>p-tolil</u>))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B7
	1-(5-(4-clorofenil))-1,2,4-oxadiazol-3-il)propan-2-ona	B3		4-(5-(piridin-4-il))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B8
	4-(5-(4-clorofenil))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B4		4-(5-(<u>p-tolil</u>))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B9
	4-(5-(<u>m-tolil</u>))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B5		4-(5-(4-fluorofenil))-1,2,4-oxadiazol-3-il)butan-2-ona	B10

4.2 LINHAGENS CELULARES E CULTIVO

Para o teste de citotoxicidade em células de câncer foram utilizadas linhagens aderidas: HT-29 (carcinoma de cólon), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), RAW 264.7 (macrófago murino); e linhagens suspensão: K562 (leucemia mieloide crônica) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda). As células foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro e mantidas no Laboratório BIOFARMATOX do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. As células foram cultivadas em garrafas de cultura de células (volume de 250 mL) e mantidas em meio de cultura RPMI 1640 (K562, HL-60 e MCF-7) e DMEM (HT-29, RAW 264.7) suplementados com soro fetal bovino a 10% e com antibióticos a 1%, penicilina e estreptomicina. As células foram mantidas sob incubação em estufa a 37 °C e 5% de CO₂. O acompanhamento do crescimento celular foi realizado através de microscópio invertido.

4.3 MICRORGANISMOS

Neste estudo foram utilizados 6 microrganismos pertencentes à coleção do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e na Coleção de Culturas da Micoteca - URM do Departamento de Mitologia da UFPE: *Straphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Escherichia coli* UFPEDA 224, *Bacillus subtilis* UFPEDA 16, *Klebsiella pneumonia* UFPEDA 396, *Candida albicans* URM 5825, *Candida guilliermondii* URM 5936.

4.4 EXPERIMENTOS

4.4.1 Atividade citotóxica frente a linhagens cancerígenas pelo teste do MTT

O ensaio do MTT [brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] consiste em um ensaio colorimétrico que avalia a atividade citotóxica ou proliferativa de diversos compostos. O MTT é um sal tetrazólio, solúvel em água, que é convertido em cristais de formazan, com coloração púrpura, após a clivagem do anel tetrazólio mediado por desidrogenases mitocondriais e citoplasmáticas. Após a solubilização dos cristais de formazan e medição da densidade óptica pelo espectrofotômetro, é possível avaliar a viabilidade celular, onde a intensidade do produto colorido formado

após a solubilização do formazan é diretamente proporcional ao número de células viáveis presentes na amostra (Mosmann, 1983).

As células tumorais foram semeadas em placas de 96 poços nas seguintes concentrações: HT-29, MCF-7 e RAW 264.7 (2×10^5 células/mL), K562 e HL-60 ($0,3 \times 10^6$ células/mL). Em seguida, os compostos previamente dissolvidos em DMSO (dimetilsufóxido), foram diluídos em meio DMEM (HT-20, RAW 264.7) e RPMI 1640 (K562, HL-60, MCF-7) para então serem plaqueadas nas concentrações desejadas.

Na triagem inicial foi determinado o percentual de inibição de crescimento celular (%IC) de todos os derivados na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ frente às linhagens citadas. Os compostos que nessa concentração inibiram o crescimento celular em mais de 70% foram submetidos a teste de citotoxicidade em diferentes concentrações para calcular a concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular (CI_{50}) em 72 h. Para isto, os compostos foram diluídos em série para obtenção das concentrações finais de 0,19 – 25,0 $\mu\text{g/mL}$. A doxorrubicina foi utilizada como padrão na concentração (0,078 - 10 $\mu\text{g/mL}$). Após o período de incubação das células com os compostos, foi adicionado em cada poço 25 μL de solução de MTT (5 mg/mL). As placas foram deixadas por 3 h em estufa a 37 °C e ao final deste período, o sobrenadante foi aspirado. Para a realização da leitura, foi adicionado 100 μL de DMSO em cada poço para a dissolução dos cristais de formazan (Alley et al., 1998; Mosmann, 1983). A absorbância foi medida em um leitor de microplacas (Modelo 3550 BIO-RAD, Inc.) no comprimento de onda de 560 nm. Os experimentos foram analisados através da média e desvio padrão de dois experimentos independentes realizados em triplicata. O percentual de inibição de crescimento celular (%IC) foi determinado considerando a média do controle negativo como 100% de viabilidade. A porcentagem de inibição x log da concentração foi registrada e suas CI_{50} e os respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados a partir de regressão não linear no programa *GraphPad Prism* versão 8.0.1 demo.

4.4.2 Análise morfológica

As células foram plaqueadas em placas de 24 poços com o composto teste de melhor CI_{50} (B2) e incubadas por 72 horas. As concentrações utilizadas para o estudo de mecanismo de ação foram estimadas a partir do valor da CI_{50} de 72 h encontrada

no teste do MTT, desta forma, as concentrações escolhidas foram: a CI_{50} e o dobro da CI_{50} . A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo em todos os testes. Após o período de incubação das células com o composto B2, uma alíquota de 50 μ L da suspensão de células foi adicionado na centrífuga de lâmina (cytopub). Na sequência, as lâminas foram coradas de acordo com o protocolo do kit panótipo rápido, lavadas com água destilada para remover o excesso de corante e colocadas para secar para serem visualizadas em microscópio óptico.

A análise morfológica do núcleo e do citoplasma foi feita com auxílio de um microscópio óptico, no aumento de 400 X, acoplada a uma câmera, sempre comparando com o controle positivo e negativo. O registro das alterações foi feito por captura de tela. As imagens escolhidas para exposição foram as mais representativas.

4.4.3 Teste de difusão em disco de papel para determinação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos compostos foi avaliada pela metodologia de difusão em ágar, utilizando-se discos de papel de filtro com diâmetro de 6 mm, realizado conforme *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) para se conhecer o perfil de atividade dos compostos oxadiazólicos. Para este teste, alíquotas de 30 μ L dos compostos da concentração de 2.050 μ g/mL foram impregnados nos discos de papel. Uma suspensão de micro-organismo teste ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL para bactérias e $1,5 \times 10^5$ UFC/mL para leveduras) foi determinada através de comparação visual com um padrão na concentração de 0,5 na escala de Mc Farland e transferida 0,1 mL para a placa de Petri de (15 x 90 mm) contendo meio sólido AMH (Ágar Mueller-Hinton). A semeadura foi realizada através do método Spread-plate e o espalhamento com Swab. Posteriormente, os discos impregnados com os compostos foram adicionados de forma equidistante sobre as placas inoculadas. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h (bactérias e leveduras). Após o período, o halo de inibição do crescimento microbiano foi medido em mm com o auxílio de um paquímetro. Como controle positivo utilizou-se clorafenicol para bactérias e itraconazol para leveduras, todos os testes foram realizados em triplicata e os mesmos repetidos três vezes.

4.4.4 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima microbicida (CMM) dos compostos

Realizou-se o ensaio de suscetibilidade através da metodologia da microdiluição em caldo para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) e Concentração Mínima Fungicida (CMF) segundo CLSI (2002; 2003). A determinação da concentração inibitória foi realizada utilizando-se placas com 96 poços. Foi adicionado em cada poço 100 µL de meio Caldo Muller Hinton para bactérias e RPMI tamponado com MOPS na concentração de 0,165 mol/L para levedura e posteriormente, a partir da primeira coluna (A1), 100 µL dos produtos na concentração de 5.000 µg/mL (2.500 µg/mL no poço). Esta alíquota foi homogeneizada e transferida para a segunda coluna (A2) e assim por diante até a décima segunda coluna (A12), que recebeu os produtos na concentração de 2,44 µg/mL. Nesta última, a alíquota (100 µL) depois de homogeneizada foi descartada. Por último foi adicionada uma alíquota de 10 µL do micro-organismo preparada conforme o método anterior.

As microplacas com meio, extrato e micro-organismos foram incubadas por 24 horas a 37 °C para bactérias e leveduras. Posteriormente foram adicionados 10 µL de resazurina na concentração de 0,1% para análise quantitativa do crescimento microbiano nos poços e determinação da atividade antimicrobiana relativa de cada diluição das amostras. Para a determinação da Concentração Mínima Microbicida (CMM) foi replicada uma alíquota de 10 µL das concentrações que apresentaram atividade a olho nu na microplaca do CMI, em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton (bactéria) e Sabouraud (levedura). Estas placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. A CMM foi considerada a menor concentração do extrato onde não houve crescimento celular sobre a superfície do meio ágar em placa de Petri. Como controle positivo utilizou-se clorafenicol para bactérias e itraconazol para leveduras, todos os testes foram realizados em triplicata e repetidos três vezes.

4.4.5 Docking molecular

As estruturas tridimensionais dos ligantes que apresentaram o melhor Cl_{50} (**B2** e **B3**) foram construídas utilizando o software Avogadro 1.2.0 (Hanwell et al., 2012) e otimizadas pelo método semi-empírico PM6 (Stewart, 2007) implementado no

MOPAC2016. Os ligantes foram transformados no formato “.pdb” e preparados para *docking* fundindo os hidrogênios apolares, calculando a carga parcial pelo método Gasteiger e definindo as ligações rotativas do pacote AutoDockTools-1.5.6. A estrutura tridimensional da tubulina (PDB: 1SA0) e EGRF (PDB: 4HJO) foram obtidas do *RCSB Protein Data Bank* em formato “.pdb” e preparadas removendo resíduos de água e outros heteroátomos, fundindo hidrogênios apolares, adicionando hidrogênios polares e cargas de Kollman. O *grid* box para cada situação foi definido tomando como ponto central o ligante co-cristalizado de cada estrutura, atingindo os aminoácidos pertencentes ao sítio de ligação, utilizando-se para a tubulina os valores $x = 118.026$; $y = 89.818$; $z = 6.327$, com dimensões de $40 \times 40 \times 40$; e para o EGRF os valores de $x = 24.77$; $y = 9.194$; $z = -0.003$, com dimensões de $38 \times 44 \times 40$ pontos. Cada ligante foi submetido a um total de 100 execuções do algoritmo genético Lamarckiano.

Os parâmetros listados foram validados através de um estudo de redocking envolvendo a colchicina e o erlotinibe co-cristalizados nas estruturas selecionadas para o *docking*, considerando-se adequados os parâmetros capazes de reproduzir, *in silico*, as conformações co-cristalizadas com valor de *Root Mean Standard Deviation* (RMSD) $\leq 2 \text{ \AA}$ (Hawkins et al., 2008; Carlson et al., 2016; Bell; Zhang, 2019). As poses de acoplamento resultantes, bem como imagens mostrando interações enzima-ligante, foram geradas e analisadas usando AutoDockTools, o BIOVIA Discovery Studio Visualizer (2023).

4.4.6 Avaliação *in silico* das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas

As análises de Log P_{ow} consensual (cLogP), massa molecular (MM), N° de doadores de ligação de hidrogênio (nDLH), N° de aceptores de ligação de hidrogênio (nALH), N° de violações da regra de Lipinski e de Veber, absorção gastrointestinal (GI), Área da Superfície Polar Topológica (TPSA), o percentual de absorção oral teórica (%ABS), permeação na barreira hematoencefálica (BHE) e solubilidade em água foram realizadas através da plataforma digital de bioinformática SwissADME, a qual reúne a contribuição de diferentes autores na área de química medicinal e quimioinformática para processar diferentes análises *in silico* (Daina; Michielin; Zoete, 2017).

Com o auxílio do programa *Osiris Property Explorer* foi possível avaliar o potencial de toxicidade crônica de B2 e B3 analisando sua probabilidade de desenvolver mutagenicidade, tumorigenicidade, irritabilidade e interferência na reprodução humana, o que é indicado no *software* através de cores, em que a cor vermelha indica alto risco, a cor amarela risco moderado e a cor verde baixo risco. Enquanto isso, a estimativa da DL_{50} e a classe de toxicidade foram determinadas a partir da plataforma online ProTox-II, considerando-se as classes: Classe I: fatal por ingestão ($LD_{50} \leq 5$ mg/kg); Classe II: fatal por ingestão (5 mg/kg $< LD_{50} \leq 50$ mg/kg); Classe III: tóxico por ingestão (50 mg/kg $< LD_{50} \leq 300$); Classe IV: prejudicial se ingerido (300 mg/kg $< LD_{50} \leq 2.000$); Classe V: pode ser prejudicial se ingerido (2.000 mg/kg $< LD_{50} \leq 5.000$ mg/kg); Classe VI: não tóxico ($LD_{50} > 5000$ mg/kg).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULA TUMORAIS PELO TESTE DO MTT

O resultado da triagem citotóxica, na concentração única de 25 µg/mL, encontra-se na Tabela 4 e os valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de dois experimentos independentes. Que realizados em triplicata.

Tabela 4. Percentual de inibição dos compostos frente às linhagens tumorais utilizando-se uma concentração única de 25 µg/mL

	LINHAGENS CELULARES (%)				
CÓDIGO	HL-60	K562	HT-29	MCF-7	RAW 264.7
B1	89,5 $\pm$ 1,9	29,4 $\pm$ 6,8	20,8 $\pm$ 2,4	53,0 $\pm$ 2,2	10,7 $\pm$ 0,3
B2	97,4 $\pm$ 0,1	66,6 $\pm$ 2,5	50,0 $\pm$ 3,3	72,8 $\pm$ 1,7	19,8 $\pm$ 1,9
B3	96,6 $\pm$ 0,5	55,7 $\pm$ 2,6	43,5 $\pm$ 0,7	59,8 $\pm$ 1,6	14,8 $\pm$ 2,8
B4	59,7 $\pm$ 1,2	40,6 $\pm$ 1,6	50,1 $\pm$ 1,5	55,5 $\pm$ 1,5	20,8 $\pm$ 2,7
B5	34,1 $\pm$ 6,5	3,0 $\pm$ 2,6	19,5 $\pm$ 2,4	10,4 $\pm$ 4,3	11,1 $\pm$ 3,6
B6	37,0 $\pm$ 2,3	13,2 $\pm$ 5,0	30,9 $\pm$ 6,3	30,2 $\pm$ 3,2	19,4 $\pm$ 2,1
B7	44,3 $\pm$ 2,5	1,5 $\pm$ 4,4	35,7 $\pm$ 2,1	25,3 $\pm$ 2,2	25,0 $\pm$ 3,6
B8	23,4 $\pm$ 2	21,9 $\pm$ 5,4	20,5 $\pm$ 6,5	53,0 $\pm$ 2,5	6,4 $\pm$ 2,1
B9	73,1 $\pm$ 0,5	64,8 $\pm$ 0,2	38,5 $\pm$ 2,2	66,9 $\pm$ 3,9	21,6 $\pm$ 3,4
B10	12,2 $\pm$ 3,1	43,0 $\pm$ 1,1	28,1 $\pm$ 2,4	57,9 $\pm$ 0,9	5,5 $\pm$ 3,8
DOX	92,5 $\pm$ 2,1	87,2 $\pm$ 0,8	73,9 $\pm$ 0,4	72,1 $\pm$ 0,6	89,2 $\pm$ 2,7

Nesta triagem inicial evidenciou-se que os compostos B1, B2, B3 e B9 apresentaram porcentagem de inibição superior a 70% na linhagem HL-60. Os compostos B2 e B3 apresentaram porcentagem de inibição acima de 90%, seguidos pelos moléculas B1 com 89% e B9 com 73%. Todos os compostos testados apresentaram baixos percentuais de inibição para a linhagem de célula não tumoral RAW 264.7, inferindo uma provável baixa citotoxicidade para células saudáveis. Isto é uma característica importante, pois a maioria dos fármacos citotóxicos usados na

clínica são pouco seletivos. Quando comparados com a doxorrubicina, utilizada como controle positivo, observou-se que as moléculas B1, B2 e B3 apresentaram porcentagens de inibição semelhantes.

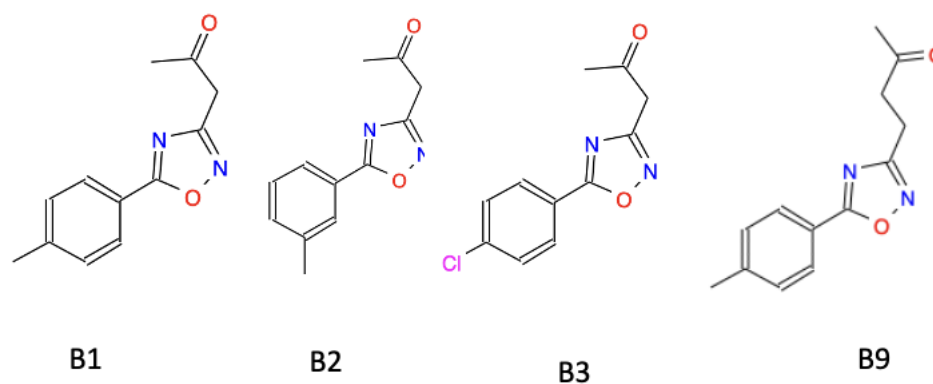
A partir destes resultados, os compostos mais promissores (B1, B2, B3 e B9) foram selecionados para o teste de determinação da CI_{50} na linhagem celular tumoral HL-60. Os resultados estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5. CI_{50} dos compostos oxadiazólicos na linhagem HL-60 realizado pelo teste do MTT após 72 h de incubação.

CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			
CÓDIGO	CI_{50} $\mu\text{g/mL}$	INTERVALO DE CONFIANÇA 95%	R QUADRADO
B1	16,1	14,0 - 18,5	0,9
B2	8,0	7,1 - 9,1	0,9
B3	14,3	10,9 - 17,3	0,8
B9	18,6	12,3 - 37,7	0,8
DOX	0,2	0,16 - 0,24	0,9

Os valores analisados de CI_{50} dos compostos variaram entre 8,0 a 14,3 $\mu\text{g/mL}$ dentro da linhagem testada. Estas variações podem ser atribuídas aos substituintes presentes nas posições 3 e 4 nos anéis herocíclicos dos oxadiazóis (Figura 2) e de características inerentes a linhagem celular.

Figura 2. Estrutura química dos compostos B1, B2, B3 e B9



Bommera et al. (2021) sintetizaram derivados 1,2,4-oxadiazol ligados a 5-Fluoracil que foram testados pelo teste do MTT em três linhagens celulares tumorais de mama (MCF-7, MDA, MB-231), cancer de pulmão (A549) e câncer de próstata (DU-145). Como resultado, os autores mostraram que dos dez compostos, cinco apresentaram boa atividade, com valores de CI_{50} de $0,011 \pm 0,009$ a $19,4 \pm 8,11 \mu M$ e o etoposídeo, utilizado como controle positivo, apresentou valores que foram de $1,91 \pm 0,84$. a $3,08 \pm 0,135 \mu M$.

Mansouri et al. (2020) desenvolveram um trabalho com uma série de moléculas incorporar às bases uracil, 5-Fluoracil e 6-azauracil ao 1,2,4-oxadiazol via ligante benzílico para potencializar seus efeitos anticancer. Foi realizado uma triagem inicial em células de linhagem A375 e os dois compostos mais ativos foram investigados em células HT-1080, A-549, MCF-7 e MDA-MB-231. Os valores de CI_{50} obtidos variaram de 0,88 a $8,37 \mu M$, em comparação com a doxorrubicina utilizada como controle positivo que apresentou valores que variaram de 0,93- $3,41 \mu M$.

Apesar dos trabalhos experimentais com o isômero 1,2,4 dos heterocíclis oxadiazol, é abundante também os trabalhos como o isômero 1,3,4-oxadiazol. Zheng et al. (2010) sintetizam um grupo de 21 moléculas de derivados 2-cloropiridina associados a 1,3,4-oxadiazol diferentemente substituídos na posição 5 e foi avaliado o potencial anticancer. Dezesesseis destes compostos mostraram atividade antiproliferativa contra células de linhagens tumorais de câncer gástrico (SGC-7901),

sendo oito com valores de CI_{50} comparáveis com o 5-Fluorocil, fármaco de referência para tratamento de câncer gástrico utilizado como controle positivo, e oito 50% mais baixos. Os resultados de CI_{50} de dois compostos exibiram atividade de $1,61 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ e $2,56 \pm 0,11 \mu\text{g/mL}$.

Zhang et al. (2011) sintetizaram uma série de compostos derivados 1,3,4-oxadiazóis possuindo um 1,4-benzodioxano, anteriormente reconhecido como uma unidade estrutural química garantidora de boa biodisponibilidade e baixa citotoxicidade em outros potenciais medicamentos anticancer. Neste estudo, todos os compostos apresentaram atividade antitumoral frente as linhagens celulares HepG2, HeLa, SW1116 e BGC823, com valores de CI_{50} pelo menos 55% inferior ao 5-Fluoracil utilizada como controle positivo. Nas linhagens HepG2, dois compostos apresentaram os CI_{50} de $7,21 \mu\text{M}$ e $8,54 \mu\text{M}$. Em outro estudo deste mesmo grupo de pesquisadores (ZHANG et al., 2012) foi desenvolvido um trabalho de síntese de compostos 1,3,4-oxadiazol contendo uma porção pirazina que foram testados nas linhagens de células (HepG2, HeLa, SW1116 e BGC823). O resultado mostrou que os melhores valores de CI_{50} encontrados foram nas células HepG2, com CI_{50} de $4,22\text{-}5,79 \mu\text{M}$, e SW1116 com CI_{50} de $2,46\text{-}5,06 \mu\text{M}$. Ambos os resultados foram semelhantes ou mais eficazes que a estaurosporina utilizada como controle positivo, que apresentou CI_{50} $6,73 \mu\text{M}$ para HepG2 e CI_{50} $4,95 \mu\text{M}$ para SW1116.

Conjugados de quinolona com 1,3,4-oxadiazol foram sintetizados e avaliados por Sun et al. (2013). Destes, sete apresentaram atividade anticancer *in vitro* superior ao 5-Fluoracil contra as linhagens tumorais humanas HepG2, SGC-7901 e MCF-7. Dois compostos apresentaram atividade superior contra HepG2 (CI_{50} $1,2 \pm 0,2 - 0,8 \pm 0,2 \mu\text{M}$) em relação ao 5-Fluoracil (CI_{50} $21,9 \pm 1,4 \mu\text{M}$).

Quando confrontado os resultados obtidos neste trabalho com a literatura estudada, é possível verificar que o núcleo heterocíclico oxadiazol, em especial os núcleos 1,2,4-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazol, funcionam muito mais como uma espécie de andaime estrutural para construção de moléculas maiores acopladas por meio de técnicas da química farmacêutica como a hibridização (Jampleck, 2019), do que utilizadas sozinhas, mesmo que com resíduos de sua síntese, como é o caso das moléculas testadas no nosso trabalho que continham um resíduo de ácido carboxílico. Isto se deve a sua superfície aromática que por meio de uma nuvem de elétrons π

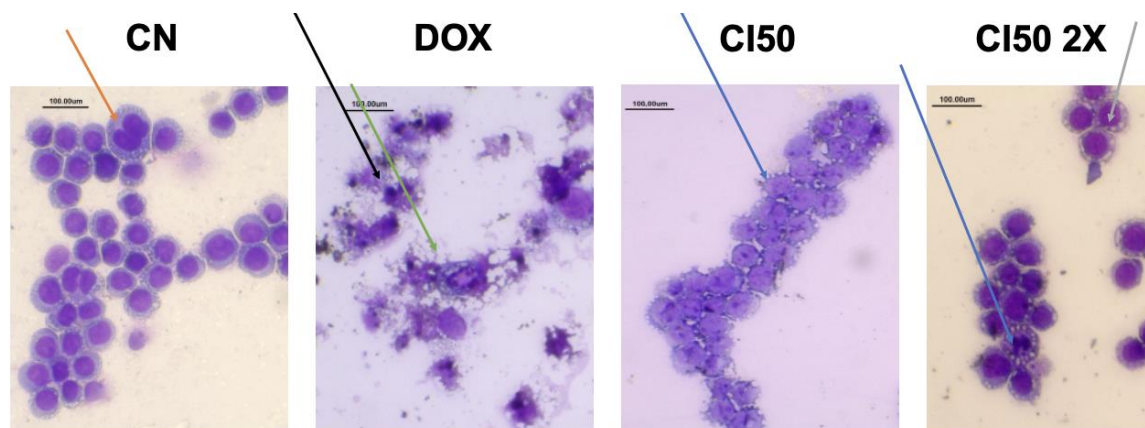
interagem com o alvo biológico como enzimas, direcionando a molécula ao ligante, ao distanciar adequadamente os substituintes (Bostrom et al., 2012). É possível analisar que na maior parte dos trabalhos experimentais presentes na literatura, os núcleos oxadiazólicos estão ligados a moléculas com atividade anticancer já bem estabelecida e como resultado obtiveram o complexo com valores de CI_{50} iguais ou melhores que o a molécula ou fármaco já estabelecido sozinhos. Espera-se que em trabalhos futuros sejam desenvolvidas e testadas compostos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol complexado com outras moléculas já bem estabelecidas com atividade anticancer para avaliar se o núcleo oxadiazol favorece às moléculas trazendo mais estabilidade e aumentando seu potencial anticancer.

5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA

A morfologia das células HL-60 foi avaliada pelo método de coloração com o Kit panótipo rápido após exposição das células ao composto B2 por 72 h (Figura 3). A análise mostrou que o composto B2 foi capaz de alterar morfologicamente as células. As células do controle negativo (Figura 3) apresentaram morfologia típica de células não aderidas como membrana celular íntegra, citoplasma apresentado de forma homogênea, membrana plasmática e núcleos bem delimitados, assim como também foi possível visualizar célula em processo de mitose, indicando o estado proliferativo da linhagem celular. As células expostas ao controle positivo (doxorubicina) apresentaram corpos apoptóticos com intensa fragmentação celular, restos celulares e núcleos picnóticos. As células expostas ao composto B2 na concentração de $1 \times CI_{50}$ ($8 \mu\text{g/mL}$) apresentaram intensa vacuolização celular, assim como perda da clareza entre as delimitações da membrana plasmática e o núcleo, com intensa fragmentação desta membrana. As células expostas ao composto B2 na concentração de $2 \times IC_{50}$.

CI₅₀ (16 µg/mL) apresentaram intensa vacuolização interna e condensação da cromatina (Figura 3).

Figura 3. Análise morfológica das células HL-60 após 72h de incubação com o composto B2, coradas pelo kit panótipo e capturadas por fotomicrografia.



Seta laranja - Célula em processo de mitose. Seta preta - Picnose. Seta verde- Restos celulares (debris). Seta azul - Vacúolos. Seta cinza. Condensação nuclear

CN: controle negativo. DOX: doxorubicina. CI50: Concentração inibitória 50 %. CI50 2X: O dobro da Concentração inibitória 50 %.

As características observadas indicam que o composto B2, assim como a doxorubicina induzem a morte celular pelo processo de apoptose e necrose. Morfologicamente, a presença de apoptose é observada pelo encolhimento da membrana celular, presença de picnose, condensação da cromatina e compactação do citoplasma. A presença de bolhas na membrana citoplasmática é seguida por estas condições que causam o rompimento do núcleo (Savil & Fadok, 2000; Kurosaka et al., 2003). No processo de necrose, há uma morte celular que resulta em um inchaço das organelas celulares, ruptura da membrana plasmática e eventual lise da célula, com derramamento de conteúdo intracelular no tecido circundante (Ruffolo et al., 1964).

5.3 TESTE DE DIFUSÃO EM DISCO DE PAPEL

Os resultados observados no teste de difusão em disco de papel foram expressos em milímetros (mm) através da medição dos halos de inibição microbiana. Os resultados para as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas estão descritos na

Tabela 6 e os resultados para a levedura foram expressos na Tabela 7. Os discos receberam 30 µL dos compostos diluídos em DMSO na concentração de 2.050 µg/mL e o controle positivo utilizado foi o antibiótico clorafenicol na concentração de 30 µg/mL.

Tabela 6. Resultados observados no teste de difusão em disco de papel para as bactérias.

COMPOSTOS	1 - <i>Staphylococcus aureus</i>	224 - <i>Escherichia coli</i>	16 - <i>Bacillus subtilis</i>	396 - <i>Klebsiella Pneumoniae</i>
B1	-	-	14	-
B2	-	-	-	-
B3	-	-	11,7	-
B4	-	-	-	-
B5	-	-	-	-
B6	-	-	-	-
B7	-	-	-	-
B8	-	-	-	-
B9	7,6	-	11,5	-
B10	9,5	-	-	-
CLORAFENICOL	34,3	34,3	34,3	34,3

(-): Não apresentou halo de inibição significativo no teste de difusão em disco de papel. Os resultados foram expressos em milímetros (mm).

Pode-se observar que apenas os compostos B9 e B10 apresentaram halo inibitório contra *Staphylococcus aureus* com os halos de inibição de 7,6 mm e 9,5 mm, respectivamente. Em *Bacillus subtilis*, três compostos apresentaram halo de inibição, foram eles B1 com formação de halo de 14 mm, B3 com 11,7 mm e o B9 com 11,5 mm. Não se observou atividade frente às cepas de *Escherichia coli* e *Klebsiella*

pneumoniae. Como quadro geral, os compostos apresentaram atividade apenas em bactérias Gram-positivas.

Tabela 7. Resultados observados no teste de difusão em disco de papel para as leveduras.

COMPOSTOS	1007 - <i>Candida albicans</i>	6403- <i>Candida guilliermondii</i>
B1	9,2	-
B2	-	-
B3	-	-
B4	-	-
B5	-	-
B6	-	-
B7	-	-
B8	-	-
B9	-	-
B10	-	-
ITRACONAZOL	10,7	9,2

(-): Não apresentou halo de inibição significativo no teste de difusão em disco de papel. Os resultados foram expressos em milímetros (mm).

Observou-se que apenas o composto B1 apresentou halo de inibição frente a *Candida albicans* com 9,2 mm e nenhum composto apresentou atividade frente a *Candida guilliermondii*.

Estes resultados serviram de triagem inicial para realizar o teste de microdiluição em placa para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida e fungicida dos compostos.

5.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) E CONCENTRAÇÃO MÍNIMA MICROBICIDA (CMM) DOS COMPOSTOS

Após a determinação dos compostos que apresentaram alguma atividade no teste de difusão em disco de papel, sucedeu-se o teste de microdiluição em placa. Os compostos testados foram o B1, B3 e B9 que apresentaram halo de inibição no teste de difusão em disco, para *Bacillus subtilis* e o composto B1 para *Candida albicans*.

Como demonstrado na Tabela 8, não foi possível identificar nem a CMI nem a CMB para *B. Subtillis*. No teste realizado com *C. albicans* foi possível determinar a CMI em 312,5 µg/ mL e a CMF em 625 µg/ mL.

Tabela 8. Resultados observados no teste de microdiluição em placa para os compostos B1, B2 e B3 frente aos microrganismos *B. subtilis* e *C. Albicans*.

COMPOSTOS	B. SUBITILLIS		C. ALBICANS	
	CMI	CMB	CMI	CMF
B1	-	-	312,5 µg/mL	625 µg/mL
B3	-	-	-	-
B9	-	-	-	-

(-): Não apresentou halo de inibição significativo no teste de difusão em disco de papel

Existem muitos mecanismos de resistência bacteriana a medicamentos conhecidos, cada um deles torna um patógeno difícil de ser vencido com agentes comumente utilizados (CROFTS et al., 2017). Esforços tem sido feitos para encontrar a possibilidade de bloquear especificamente a função de efluxo em células procarióticas. Se encontrado um medicamento capaz de agir através deste mecanismo de ação de bloqueio de função de bomba de efluxo, será causado a perda da capacidade das bactérias em combater os efeitos dos antibióticos e assim restaurar a sensibilidade dos patógenos aos medicamentos (Sun et l., 2014; Aygul, 2015).

Heynes et al. (2017) descobriu uma nova classe inibidora de bomba de efluxo em células procarióticas baseado em derivados 2-imidazolininas. Apesar do composto sozinho não apresentar propriedades antibacterianas pronunciadas, eles potenciaram os efeitos da novobiocina em cepas de *E. Coli*, inibindo a bomba de efluxo expressa

nessa bactéria. A partir destes resultados, Shetnev et al. (2019) teve a idéia de explorar o anel 1,2,4-oxadiazol como um núcleo alternativo para o promissor derivado 2-imidazolina desenvolvendo assim uma série de compostos de dois heterocíclicos híbridos. Com esta série de compostos foi realizado uma triagem para a atividade antibacteriana através do teste de microdiluição em placa determinado pelo CLSI com bactérias Gram-negativa e Gram-positivas não patogênicas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*), assim como três cepas patogênicas, incluindo *E. coli* e *Enterobacter spp.* Os mais relevantes apresentaram valores de concentração CMI de 8 e 32 µg/ mL, e os menos relevantes apresentaram CMI de mais de 256 µg/ mL.

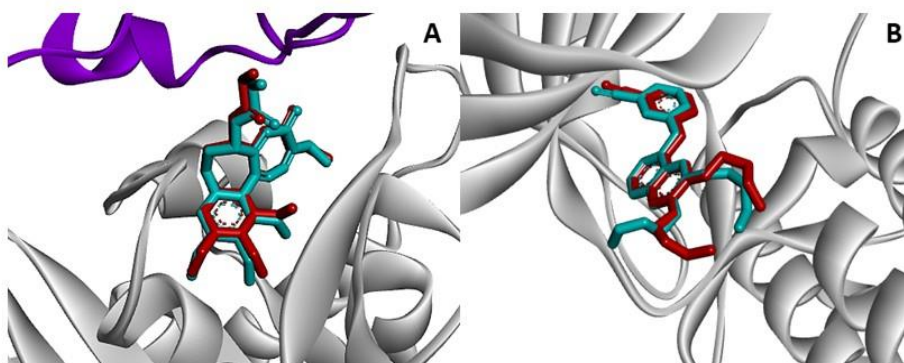
5.5 DOCKING MOLECULAR

Mesmo se apresentando como um núcleo heterocíclico bastante promissor, muitas lacunas ainda devem ser preenchidas quando se trata da atividade biológica dos 1,2,4-oxadiazóis, especialmente seu mecanismo de ação anticâncer. Diante disso, os dois oxadiazóis mais ativos (B2 e B3) frente as células cancerígenas foram submetidos ao estudo de *docking* molecular a fim de gerar maiores informações a respeito dos padrões moleculares envolvidos na atividade anticâncer destes compostos.

Como dito anteriormente, o exato mecanismo farmacológico envolvido na atividade anticancerígena destes compostos ainda não é totalmente compreendido, sendo notado uma vasta exploração deste núcleo, especialmente nos últimos 40 anos, que tem demonstrado sua provável ação sobre uma ampla variedade de alvos farmacêuticos (Biernacki et al., 2020). Entretanto, a maior parte dos estudos *in vitro* e *in silico* envolvendo o mecanismo de ação dos 1,2,4-oxadiazóis destacam o envolvimento de dois alvos principais: a tubulina (Zareian et al., 2016; Polothi et al., 2019; Diab et al., 2021; Lingam et al., 2023) e o receptor do fator de crescimento epidérmico (do inglês *epidermal growth factor receptor* – EGFR) (Sagam et al., 2021; Unadkat et al., 2021; Lavunuri et al., 2023; Salama et al., 2023). Tal fato sustenta a hipótese de que a atividade destes compostos sobre células cancerígenas esteja ligada a interação com estes alvos, justificando sua seleção para os estudos de *docking* molecular em questão.

Primeiramente, foi realizado o redocking com os ligantes co-cristalizados dos alvos selecionados (colchicina para a tubulina e erlotinibe para o EGFR) a fim de validar os parâmetros que seriam aplicados nos estudos de docking molecular posteriores. Nesta etapa, foi possível atestar a eficiência dos parâmetros elencados para o estudo, uma vez que as configurações espaciais dos ligantes obtidas durante o redocking mostraram-se semelhantes às configurações que constam no banco de dados PDB obtidas por cristalografia (Figura 4).

Figura 4. Redocking da colchicina e erlotinibe na estrutura da tubulina e EGFR, respectivamente, demonstrando a similaridade entre as conformações originais (em vermelho) e as obtidas pelo redocking (em azul).



Além da interpretação visual (Figura 4), foi possível calcular matematicamente o grau de similaridade tridimensional existente entre os átomos das moléculas a partir do valor de *Root Mean Standard Deviation* (RMSD). Quanto mais próximo de zero estiver o RMSD, maior será a similaridade entre as moléculas obtidas pelo redocking e seus padrões biológicos que constam no PDB. São considerados adequados valores de $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$, indicando que os parâmetros elencados para o *docking* são confiáveis, uma vez que foram capazes de reproduzir computacionalmente as configurações dos ligantes notadas no meio biológico (Hawkins et al., 2008; Carlson et al., 2016; Bell; Zhang, 2019). Diante disso, foi possível notar que os parâmetros elencados para o *docking* com os alvos selecionados apresentaram valores de $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$ (Tabela 9), sendo, portanto, considerados adequados para as simulações envolvendo os compostos B2 e B3.

Tabela 9. Valores de RMSD obtidos pelo redocking dos ligantes co-cristalizados da tubulina e EGFR.

Proteína	Ligante co-cristalizado	RMSD (Å)
Tubulina	Colchicina	0,68
EGFR	Erlotinibe	1,01

O próximo passo foi realizar as simulações computacionais dos compostos B2 e B3 no sítio de ligação da colchicina presente na estrutura da tubulina (Tabela 10). Quanto menores forem os valores de energia livre de ligação associados, maior será a favorabilidade e estabilidade energética da interação entre os componentes envolvidos no *docking* (Kashid et al., 2013; Rudrapal; Chetia, 2020). Nesse contexto, é relevante observar que B2 e B3 formaram complexos energeticamente favoráveis com a tubulina, exibindo valores reduzidos de energia livre de ligação. Cada valor de energia foi obtido por meio de distintas interações com os aminoácidos que compõem o sítio ativo dessa proteína, como resumido na Tabela 10.

Tabela 10. Predição das energias livres de ligação (kcal/mol) e interações moleculares de B2, B3 e colchicina na tubulina.

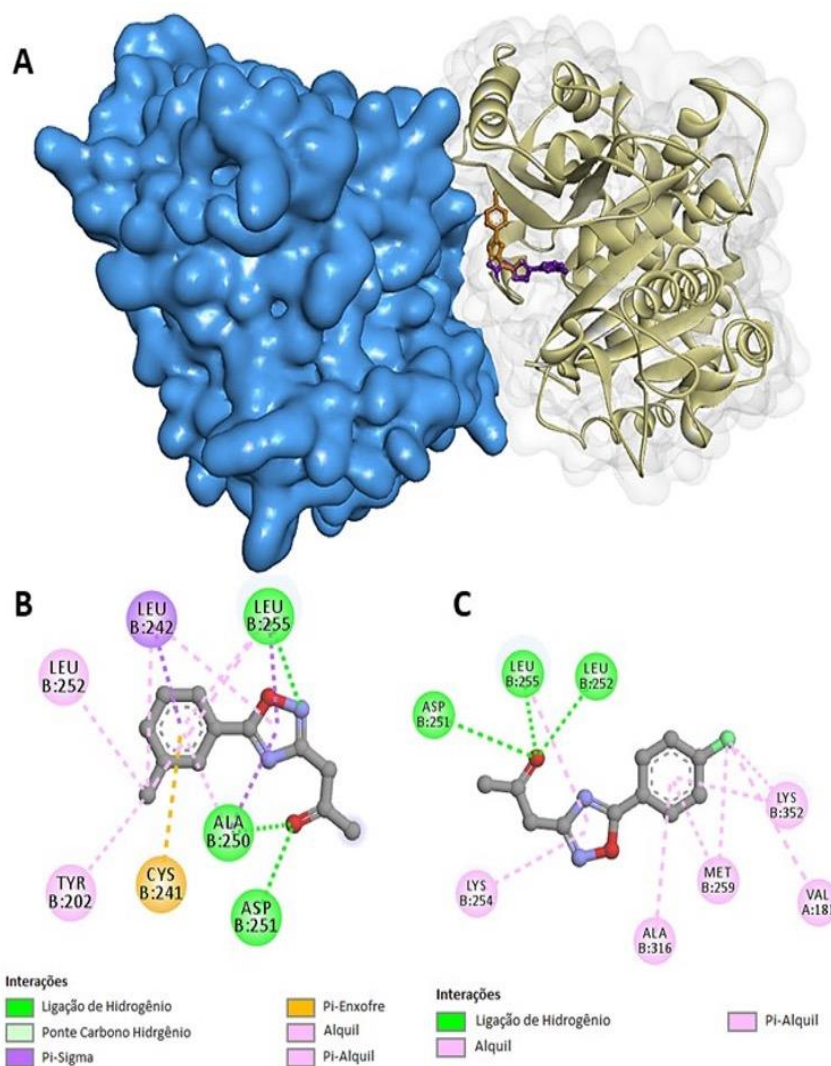
Entrada	Composto	Energia livre de ligação (kcal/mol)	Aminoácidos em interação
1	B2	-6,72	Tyr202, Cys241, Leu242, Ala250, Asp251, Leu252 e Leu255
2	B3	-6,58	Val181, Asp251, Leu252, Leu255, Lys254, Met259, Ala316 e Lys352
3	Colchicina	-8.79	Ala180, Val238, Cys241, Leu248, Leu250, Leu255, Met259, Val315, Ala316 e Lys352

A região de ligação da colchicina está localizada entre as subunidades α e β da tubulina, onde os aminoácidos se agrupam para formar três áreas de interação. As zonas 1 (interface da subunidade α) e 3 (mais profundas na subunidade β) são consideradas acessórias, facilitando a ligação com os ligantes. Contudo, os pontos principais de interação estão concentrados na zona 2, que é a região principal da subunidade β , abrigando a maior parte da estrutura dos ligantes. Cada parte da colchicina (anéis A, B e C) interage com suas respectivas áreas, levando à concepção de análogos projetados para mimetizar esse comportamento (Massarotti et al., 2012). Ambos oxadiazóis apresentaram energias favoráveis ao interagirem com esse domínio de ligação (Tabela 10).

Ao ancorar na interface entre as subunidades α e β da tubulina (Figura 5A), as nuvens de elétrons π presentes no anel aromático e no núcleo 1,2,4-oxadiazólico B2 formaram interações Pi-enxofre com Cys241 e Ala250, interações Pi-Sigma com os resíduos de Leu242, Ala250 e Leu255, além de formarem outras interações hidrofóbicas do tipo Alquil e Pi-Alquil com Tyr202, Leu242, Leu252 e Leu255. Adicionalmente, o nitrogênio oxadiazólico e a cetona livre de B2 atuam como aceptores de ligações de hidrogênio estabelecidas com Ala250, Asp251 e Leu 255 (Figura 5B).

De forma semelhante, os anéis benzeno e 1,2,4-oxadiazólico de B3 formaram importantes interações hidrofóbicas ao ancorarem na interface entre as subunidades α e β da tubulina (Figura 2A), formando interações do tipo Alquil e Pi-Alquil com Val181, Lys254, Leu255, Met259, Ala316 e Lys352. Além disso, três ligações de hidrogênio foram estabelecidas com os resíduos de Asp251, Leu252 e Leu255 (Figura 5C).

Figura 5. Vista detalhada das conformações de acoplamento mais favoráveis dos compostos B2 e B3 no sítio ativo da tubulina.



Legenda: A. Conformação menos energética de B2 (violeta) e B3 (laranja) no sítio de ligação da tubulina e mapa de interações intermoleculares 2D com os aminoácidos formadas por B2 (B) e B3 (C).

Os 1,2,4-oxadiazóis B2 e B3 também foram empregados nos estudos de *Docking* molecular envolvendo o EGFR, um importante alvo farmacológico das estratégias de terapia alvo do câncer. Ambos os compostos também formaram complexos energeticamente favoráveis com o domínio tirosina quinase desse receptor, estabelecendo diferentes interações com os aminoácidos presentes no sítio de ligação do erlotinibe (Tabela 11).

Tabela 11. Predição das energias livres de ligação (kcal/mol) e interações moleculares de B2, B3 e erlotinibe em EGFR.

Entrada	Composto	Energia livre de ligação (kcal/mol)	Aminoácidos em interação
1	B2	-6,61	Val702, Ala719, Lys721, Leu753, Leu764 e Leu766
2	B3	-6,63	Leu 694, Val702, Ala719, Lys721, Leu768, Met769, Leu 820 e Asp831
3	Erlotinibe	-8.35	Leu694, Val702, Ala719, Lys721, Leu764, Gln767, Met769, Leu820 e Thr830

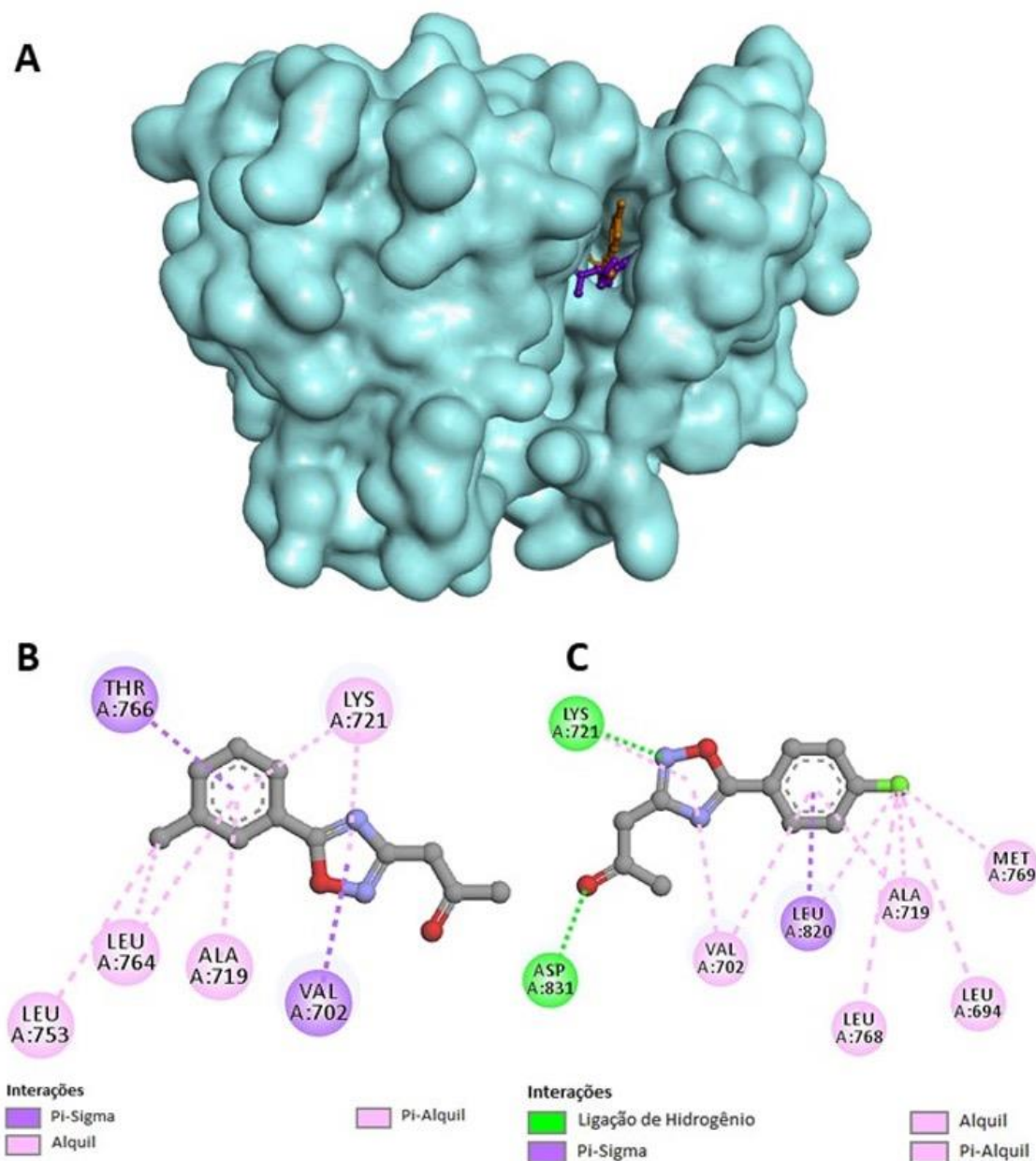
Os diferentes subtipos de EGFRs compõem uma família de receptores de tirosina quinase que controlam a sinalização celular proliferativa e têm funções cruciais tanto na fisiologia normal quanto em condições proliferativas, como o câncer (Mitsudomi; Yatabe, 2010). A inibição destes receptores impacta diretamente sobre os mecanismos de multiplicação e sobrevivência da célula cancerígena, fomentando o desenvolvimento de novos inibidores que possam ser utilizados na terapêutica do câncer (Huang; Jiang; Shi, 2020).

Foi possível observar que o 1,2,4-oxadiazol B2 ancorou de forma satisfatória na porção hidrofóbica do sítio ativo do EGFR (Figura 6A), com suas porções benzênica e oxadiazólica protagonizando a formação de interações hidrofóbicas do tipo Pi-Sigma, Pi-Alquil e Alquil com os resíduos de Val702, Ala719, Lys721, Leu753, Leu764 e Leu766 (Figura 6B).

Por sua vez, B3 também ocupou o sítio de ligação do erlotinibe de forma favorável (Figura 6A). Seu átomo de cloro estabeleceu interações do tipo Alquil com Leu694, Ala719, Leu768, Met769 e Leu820, com as demais interações hidrofóbicas sendo estabelecidas entre seus anéis e os aminoácidos Val702, Ala719 e Leu820.

Adicionalmente, o nitrogênio oxadiazólico e a cetona livre de B3 atuaram como aceptores de ligações de hidrogênio estabelecidas com Lys721 e Asp831 (Figura 6C)

Figura 6. Vista detalhada das conformações de acoplamento mais favoráveis dos compostos B2 e B3 no sítio ativo do EGFR.



Legenda: A. Conformação menos energética de B2 (violeta) e B3 (laranja) no sítio de ligação do EGFR e mapa de interações intermoleculares 2D com os aminoácidos formadas por B2 (B) e B3 (C).

De forma geral, ambos os 1,2,4-oxadiazóis apresentaram potencial de interação com os alvos testados, ancorando de forma satisfatória em seus sítios de ação, apresentando energias livres de ligação que se aproximaram dos ligantes co-cristalizados e não desenvolvendo interações desfavoráveis. Estes achados fomentam a hipótese de que estes compostos possam desenvolver suas ações anticancerígenas ao interagir com esses alvos farmacológicos, direcionando estudos posteriores que possam avaliar mais a fundo como se dar a interação desta classe de protótipos com estes alvos. Esses resultados ressaltam o potencial farmacológico destes 1,2,4-oxadiazóis, chamando atenção para esta classe farmacêutica. No entanto, é crucial ter um entendimento aprofundado das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de uma molécula para que ela se torne um candidato viável a um novo fármaco, uma vez que a não adequação destas propriedades estão entre as principais razões para falhas durante a fase de ensaios clínicos de novos medicamentos (Rosenbaum, 2016). Entender estas propriedades é ainda mais importante quando se trata de novos agentes anticancerígenos, uma vez que os fármacos atuais para o tratamento do câncer sofrem com diversas limitações desta natureza, apresentando problemas de toxicidade, solubilidade e estabilidade (Kaur et al., 2022). Sendo assim, compostos que apresentem boas propriedades farmacocinéticas e toxicológicas têm maior potencial de se tornarem bons representantes desta classe farmacêutica futuramente, protagonizando as estratégias de pesquisa e desenvolvimentos de novos fármacos.

5.6 AVALIAÇÃO *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS

Após a realização dos ensaios de *docking* molecular, o próximo passo foi realizar *in silico* a avaliação das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas dos 1,2,4-oxadiazóis mais promissores nas avaliações anteriores (B2 e B3), a fim de avaliar seu potencial farmacêutico a partir de suas características físico-químicas e farmacológicas (Tabela 12). Nesse sentido, diferentes ferramentas *in silico* foram empregadas para o melhor conhecimento das propriedades físico-químicas e farmacêuticas dos compostos em desenvolvimento, trazendo como vantagens seu baixo custo, boa eficácia e rapidez, justificando sua extensa aplicação em estratégias de química medicinal (Macedo et al., 2013).

Tabela 12. Predição das propriedades farmacocinéticas, toxicológicas e físico-químicas *in silico* dos 1,2,4-oxadiazóis B2 e B3.

Propriedades	Resultados obtidos	
	B2	B3
cLogP	2,24	2,42
MM	216,24	236,65
nDLH	0	0
nALH	4	4
Lipinski	0	0
Veber	0	0
Absorção GI	Alta	Alta
TPSA	55,99 Å ²	55.99 Å ²
%ABS	89,68%	89,68%
Permeação BHE	Sim	Sim
Solubilidade em água	Solúvel	Solúvel
Toxicidade Crônica	Irritante	Irritante
Classe de Toxicidade	4	4
Estimativa da DL ₅₀	1270 mg/kg	1270 mg/kg

Legenda - cLogP: Log Po/w consensual; MM: Massa molecular em g/mol; nDLH: N° de doadores de ligação de hidrogênio; nALH: N° de aceptores de ligação de hidrogênio; Lipinski: N° de violações da regra de Lipinski; Veber: N° de violações da regra de Veber; TPSA: área de superfície polar topológica em Å²; %ABS: percentual de absorção oral teórica; Absorção GI: Absorção gastrointestinal; BHE: barreira hematoencefálica; DL₅₀: dose necessária para matar 50% da população testada.

A partir desses resultados, foi possível avaliar o potencial deste composto e de seus possíveis derivados a partir de dados farmacocinéticos. Nesse contexto, o primeiro aspecto a ser abordado nos resultados apresentados na Tabela 1 diz respeito à lipofilicidade dos 1,2,4-oxadiazóis B2 e B3, representada por seus valores de cLogP. Segundo a argumentação de Barreiro e Fraga (2015), a lipofilicidade dos fármacos tem uma influência direta em suas características farmacocinéticas, desempenhando um papel crucial na regulação dos processos de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação desses compostos no organismo humano. Além de

sua atuação na etapa de farmacocinética, a lipofilicidade também tem influência em outros estágios do comportamento farmacêutico, influenciando diretamente na dissolução dos ativos na etapa farmacotécnica de seu funcionamento, bem como nas interações moleculares estabelecidas com seus alvos farmacológicos (etapa farmacodinâmica) (Tavares, 2004). A literatura defende a existência de uma faixa ideal de lipofilicidade para um fármaco, a qual engloba valores de LogP entre 1 e 3. Conforme evidenciado na Tabela 12, tanto B2 quanto B3 apresentam valores de cLogP situados dentro dessa faixa ideal de lipofilicidade, indicando propriedades farmacocinéticas promissoras para tais compostos.

A adequação farmacocinética foi corroborada pelos resultados observados na avaliação da adequação dos compostos às regras de Lipinski e Veber. Ao examinar 2.245 fármacos com notáveis padrões de biodisponibilidade oral, Lipinski desenvolveu um conjunto de critérios que se tornaram um dos principais pontos iniciais no processo de desenvolvimento de novas moléculas promissoras. Segundo o autor, um composto candidato a fármaco apresentará padrões satisfatórios de biodisponibilidade oral ao atender a determinados parâmetros físico-químicos, que incluem uma massa molecular (MM) inferior a 500 Daltons, um coeficiente de partição (cLogP) inferior a 5, no máximo cinco grupos doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) e no máximo dez grupos aceptadores de ligação de hidrogênio (nALH) (Lipinski, 2004). Por sua vez, Veber observou que compostos favoráveis seriam aqueles que apresentassem 10 ou menos ligações rotáveis em sua estrutura e valor de TPSA $\leq 140 \text{ \AA}^2$ (Veber et al., 2002).

Conforme observado na Tabela 12, ambos os oxadiazóis satisfazem todos os critérios estabelecidos por Lipinski e Veber, confirmando o favorável potencial farmacocinético, evidenciado pela avaliação de cLogP, e fortalecendo a previsão de uma absorção eficaz desse composto quando administrado por via oral.

Boa absorção também foi indicada na avaliação gerada pela própria plataforma SwissADME, indicando uma expectativa de alta absorção quando estes compostos forem administrados por via oral. A partir do valor obtido para a Área da Superfície Polar Topológica (Topological Polar Surface Area – TPSA), foi possível calcular o percentual teórico de absorção oral (%ABS) do composto utilizando a fórmula matemática $\%ABS = 109 - (0,345 \times TPSA)$ (ZHAO et al., 2002), resultando em uma expectativa de absorção de 89,68% do conteúdo administrado. Além disso, o

potencial de penetrar na BHE observado na avaliação computacional (Tabela 12) ressalta a boa capacidade de distribuição de B2 e B3, sendo importante especialmente em patologias que acometem o sistema nervoso central.

Quanto à solubilidade em água, foi observado que B2 e B3 apresentam um bom padrão de lipofilicidade, sendo capaz de ser absorvido e bem distribuído, sustentando a possibilidade de se dissolver no meio aquoso do organismo, viabilizando assim o processo farmacotécnico do fármaco, sua disseminação nos meios extracelulares e disponibilidade para interagir com seu alvo farmacológico.

A boa solubilidade observada para B2 e B3 é especialmente importante quando se trata da pesquisa de novos fármacos antineoplásicos, uma vez que a baixa hidrosolubilidade dos quimioterápicos atuais faz com que estas moléculas apresentem problemas como: baixas taxas de biodisponibilidade, dificuldades de distribuição, padrões de liberação descontrolada e dificuldade de atingir altas concentrações em seus sítios ativos. Estas limitações atrapalham sua efetividade e favorecem a atuação destes fármacos em sítios ativos não-tumorais, impactando diretamente na qualidade e segurança dos tratamentos (Kaur et al., 2022; Eshaghi et al., 2023).

Os resultados obtidos neste trabalho apontam uma boa adequação físico-química e farmacocinética dos 1,2,4-oxadiazóis B2 e B3, ressaltando o potencial farmacêutico destes compostos. A avaliação *in silico* contribui para o melhor entendimento das características toxicológicas destes compostos. Ao utilizar a plataforma ProTox-II (Tabela 12), observou-se um valor estimado de DL₅₀ de 1270 mg/kg para a administração oral de ambos oxadiazóis, caracterizando-as como compostos com toxicidade oral relativamente baixa. De acordo com a plataforma, estes compostos enquadraram-se na Classe de Toxicidade IV, ressaltando uma toxicidade aguda não tão pronunciada mas que pode ser prejudicial ao ser ingerida. No entanto, considerando-se os baixos valores de CI₅₀ e o alto valor de DL₅₀ destes compostos, estima-se que os mesmos sejam capazes de desempenhar suas funções farmacológicas gerando menores problemas às células sadias dos pacientes, o que é de suma importância quando se trata do desenvolvimento de novos antineoplásicos (Kaur et al., 2022).

Em relação à toxicidade crônica avaliada pelo *Osiris Property Explorer*, B2 e B3 apresentaram baixo risco de se comportarem como mutagenicos, tumorigenicos e de interferirem na reprodução humana. Entretanto, foi observado um alto risco de

gerarem efeitos irritantes à longo prazo (Tabela 4). Porém, cabe destacar que este efeito foi associado a presença da porção lateral “C-C-CO-C” presente nestes compostos, a qual pode ser modificada em estratégias futuras, mantendo-se o núcleo 1,2,4-oxadiazólico.

Em conjunto, estes resultados evidenciam ótimas características farmacocinéticas, físico-químicas e perfil toxicológico moderado dos 1,2,4-oxadiazóis B2 e B3, caracterizando-os como fortes candidatos a fármacos, uma vez que problemas dessa natureza estão entre as principais falhas daqueles fármacos que iniciam o processo de descoberta de novos medicamentos. Esses resultados fomentam a aplicação destes compostos e seus derivados em futuras estratégias de química medicinal, utilizando-se de suas boas características no estudo *in silico*.

6 CONCLUSÃO

A triagem citotóxica foi realizada com dez compostos 1,2,4-oxadiazóis, sendo que deste, quatro compostos (B1, B2, B3 e B9) apresentaram percentual de inibição de mais de 70% na linhagem de celular tumoral HL-60. O composto mais promissor (B2) foi selecionado para o estudo de análise morfológica e foi observado achados que indicam a indução de morte celular pelo processo de apoptose e necrose. Os compostos mais promissores, B2 e B3 apresentaram baixa citotoxicidade frente a linhagem de célula normal, indicando possível seletividade. No estudo de *docking* molecular com estas duas moléculas frente a dois alvos biológicos envolvidos no processo de estabelecimento do câncer, a tubulina e o EGFR (receptor de crescimento epidérmico), observou-se que ambas as moléculas apresentaram potencial de interação com os alvos selecionados.

O estudo de potencial atividade antimicrobiana mostrou alguns compostos apresentaram atividade para bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. subtilis*) mas nenhum composto apresentou atividade frente as Gram-negativas (*E. coli* e *K. pneumoniae*). Os compostos que no teste de difusão em disco de papel apresentaram halo de inibição (B1, B3 e B9) foram selecionados para o teste de microdiluição em placa. Para as leveduras, apenas o composto B1 apresentou halo de inibição frente a *C. albicans* e nenhum composto apresentou halo de inibição frente a *C. guilliermondii*. No teste de microdiluição em placa não foi possível obter a concentração mínima inibitória (CMI) nem a concentração mínima bactericida para os compostos testados em bactérias, mas foi possível encontrar a CMI e a concentração mínima fungicida (CMF) do composto B1 para *C. albicans*.

No teste de predição farmacocinética foi possível observar que B2 e B3 apresentaram valores de cLogP situados dentro da faixa ideal de lipofilicidade, estando adequados às regras de Lipinski e Veber, apresentando assim parâmetros que se encaixam em uma boa biodisponibilidade oral. O ensaio toxicológico *in vitro* estimou que os compostos se enquadram na Classe de Toxicidade IV, onde os fármacos não apresentam uma toxicidade aguda tão pronunciada mas que podem ser prejudiciais se ingeridos.

A partir deste estudo observou-se que alguns dos compostos derivados de 1,2,4-oxadiazóis apresentaram bom potencial anticâncer, assim como relativo potencial antimicrobiano e um baixo perfil tóxico. Estes resultados apontam para a necessidade de se continuar os testes com estes compostos com a finalidade de serem eleitos como candidatos a novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- AZAB, M.E.; YOUSSEF, M.M.; EL-BORDANNY, E.A. Synthesis and antibacterial evaluation of novel heterocyclic compounds containing a sulfonamido moiety, **Molecules**, 18, pp. 832-844
- MASSAROTTI, A.; COLUCCIA, A.; SILVESTRI, R.; SORBA, G.; BRANCALE, A. 2012. The Tubulin Colchicine Domain: a Molecular Modeling Perspective, **ChemMedChem**, 7 (1) 33-42.
- ALDARDEER, N.F.; ALBAR, H.; AL-ATTAS, M.; ELDALI, A.; QUTUB, M.; HASSANIEN, A.; ALRADDADI, B. 2020. Antifungal resistance in patients with Candidaemia: a retrospective cohort study. **BMC Infectious Diseases**, vol. 20, no. 1, pp. 55.
- AYGÜL, A. 2015. The Importance of Efflux Systems in Antibiotic Resistance and Efflux Pump Inhibitors in the Management of Resistance. **Mikrobiyol. Bul.** 49, 278–291.
- ALQAHTANI, S. 2017. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**; 2, 13(11): 1147-58.
- ANDRADE, E.L.; BENTO, A.F.; CAVALLI, J.; OLIVEIRA, S.K.; FREITAS, C.S.; MARCON, R.; SCHWANKE, R.C.; SIQUEIRA, J.M.; CALIXTO, J.B. 2016. Non-clinical studies required for new drug development-Part I: early in silico and in vitro studies, new target discovery and validation, proof of principles and robustness of animal studies. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**; 24: 49.
- ASADZADEH, M.; AHMAD, S.; AL-SWEIH, N.; KHAN, Z. 2017. Epidemiology and molecular basis of resistance to fluconazole among clinical Candida parapsilosis isolates in Kuwait. **Microbial Drug Resistance**, vol. 23, no. 8, pp. 966-972.
- AN, J.; et al. 2011. Antibacterial and synergy of aflavononol rhamnoside with antibiotics against clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). **Phytomedicine**. v. 18, p. 990–993.

SUDHAKAR, A. 2009. History of cancer, ancient and modern treatment methods, **J. Cancer Sci.** Ther. 01, iev.

ABDEL-MAWGOUD, A.M. 2018. Stephanopoulos G. Synth. Syst. **Biotechnologista.** 2018;3:3.

ALMEIDA, F.; RODRIGUES, M.L; COELHO, C. 2019. The still underestimated problem of fungal diseases worldwide. **Frontiers in Microbiology**, vol. 10, pp. 214.

ALVAREZ-MORENO, C.A.; CORTES, J.A.; DENNING, D.W. 2018. Burden of fungal infections in Colombia. **Journal of Fungi**, vol. 4, no. 2, pp. 41.

ALLEY, M. C.; SCUDIÈRE, D. A.; MONKS, A.; HURSEY, M. L.; CZERWINSKI, M. J.; FINE, D. L.; ABBOTT, B. J.; MAYO, J. G.; SHOEMAKER, R. H.; BOYD, M. R. 1988. Feasibility of drug *screening* with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Research**, v. 48, p. 589-601.

ALI, M.A.; SHAHARYAR, M. 2007. Oxadiazole Mannich Bases: Synthesis and Antimycobacterial Activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 17, 3314–3316.

ANDERSON, G.W.; FAITH, H.E.; MARSON, H.W.; WINNEK, P.S.; ROBLIN, R.O. 1942. Studies in Chemotherapy. VI. Sulfanilamido Heterocycles. **J. Am. Chem. Soc.**, 64, 2902–2905.

ABD-ELLAH, H.S.; ABDEL-AZIZ, M.; SHOMAM, M.E.; BESHAR, E.A.M.; KAOUD, T.S.; AHMED, A.S.F.F. 2017. New 1,3,4-Oxadiazole/Oxime Hybrids: Design, Synthesis, Anti-Inflammatory, COX Inhibitory Activities and Ulcerogenic Liability. **Bioorg. Chem.**, 74, 15–29.

AMIRI, M.; YOUSEFNIA, S.; FOROOTAN, F.S.; PEYMANI, M.; GHAEDI, K.; NASR-ESFAHANI, M.H. 2018. Vários papéis das proteínas de ligação a ácidos graxos (FABPs) no desenvolvimento e patogênese de cânceres. **Gene**;676:171–183.

BOMMERA, R.K.; KETHIREDDY, S.; GOVINDAPUR, R.R.; EPPAKAYALA, L.. 2021. Synthesis, biological evaluation and docking studies of 1,2,4-oxadiazole linked 5-fluorouracil derivatives as anticancer agents. **BMC Chem.** May 4;15(1):30.

BOSTROM, J.; HOGNER, A.; LLINAS, A.; WELLNER, E.; PLOWRIGHT, A.T. 2012. Oxadiazoles in medicinal chemistry. **J Med Chem** 55(5):1817–1830.

BAJAJ, S.; ASATI, V.; SINGH, J.; ROY, P.P. 2015. 1,3,4-Oxadiazoles: An emerging scaffold to target growth factors, enzymes and kinases as anticancer agents. **Eur. J. Med. Chem.** 2015, 97, 124–141.

BELL, E.W.; ZHANG, Y. 2019. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **Journal of cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 1-9.

BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Visualizer, **Release** 19.1, San Diego: Dassault Systèmes, 2023. <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling-simulation/biovia-discovery-studio/>.

BIERNACKI, K. et al. 2020. Novel 1, 2, 4-oxadiazole derivatives in drug discovery. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 111.

BOOBIS, A.; GUNDERT-REMY, U.; KREMERS, P.; MACHERAS, P.; PELKONEN, O. 2002. In silico prediction of ADME and pharmacokinetics: Report of an expert meeting organised by COST B15. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**; 1, 17(4-5): 183-93.

BUTINA, D.; SEGALL, M.D.; FRANKCOMBE, K. 2002. Predicting ADME properties in silico: methods and models. **Drug discovery today**; 6, 7(11): S83-8.

BALA, S.; SAINI, V.; KAMBOJ, S.; PRASAD, D.N. 2012. Review Exploring Antiinflammatory Potential of 1,3,4-Oxadiazole Derivatives as Promising Lead. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, 17, 84–89.

BERNARD, L. 1962. Medicine at the Court of Louis XIV, **Med. Hist.**, 6, 201–213.

BENASSI, A.; DORIA, F.; PIROTA, V. 2020. Groundbreaking anticancer activity of highly diversified oxadiazole scaffolds. **Int J Mol Sci**.

BROOIJMANS, N.; KUNTZ, I.D. 2003. Molecular recognition and docking algorithms. **Annu Rev Biophys Biomol Struct** 32:335–373

BROWN, D. 2015. Antibiotic resistance breakers: can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? **Nat Rev Drug Discov.**;14(12):821–32.

BAJAJ, S.; ROY, P.P.; SINGH, J. 2018. 1,3,4-Oxadiazoles as Telomerase Inhibitor: Potential Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, 17, 1869–1883.

- BOIANI, M. 2001. 1,2,5-Oxadiazole N-oxide derivatives as potential anti-cancer agents: Synthesis and biological evaluation. Part IV. **Eur. J. Med. Chem.**, 36, 771–782.
- BIERMANN, U.; FRIEDT, W.; LANG, S.; LUHS, W.; MACHMULLER, G.; METZGER, J.; O, RUSH-GEN.; KLAAS, M.; SCHAFER, H.J.; SCHENEIDER, M.P. 2000. **Angew. Chem.**;112:2292–2310.
- BASTOS, G.M.; NOGUEIRA, N.A.P.; SOARES, C.L.; MARTINS, M.R.; ROCHA, L.Q.; TEIXEIRA, A.B. 2011. In vitro determination of the antimicrobial potential of homemade preparations based on medicinal plants used to treat infectious diseases. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada** 32: 113-120.
- BUGG, T.D.; WRIGHT, G.D.; DUTKA-MALEN, S.; ARTHUR, M.; COURVALIN, P.; WALSH, C.T. 1991. Molecular Basis for Vancomycin Resistance in *Enterococcus Faecium* BM4147: Biosynthesis of a Depsipeptide Peptidoglycan Precursor by Vancomycin Resistance Proteins VanH and VanA. **Biochemistry**, 30, 10408–10415.
- BERENBLUM, I. & ARMUTH, V. 1981. Two independent aspects of tumour promotion. **Biochimica et biophysica Acta**, 651, 51-63.
- BOSTROM, J.; HOGNER, A.; LLINÀS, A.; WELLNER, E.; PLOWRIGHT, A.T. 2012. Oxadiazoles in Medicinal Chemistry. **J. Med. Chem.**, 55, 1817–1830.
- BANERJEE, A.G.; DAS, N.; SHENGULE, S.A.; SRIVASTAVA, R.S.; SHRIVASTAVA, S.K. 2015. Synthesis, Characterization, Evaluation and Molecular Dynamics Studies of 5, 6-Diphenyl-1,2,4-Triazin-3(2 H)-One Derivatives Bearing 5-Substituted 1,3,4-Oxadiazole as Potential Anti-Inflammatory and Analgesic Agents. **Eur. J. Med. Chem**, 101, 81–95.
- BLAIR, J.M.A.; WEBBER, M.A.; BAYLAY, A.J.; OGBOLU, D.O.; PIDDOCK, L.J.V. 2015. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Nat. Rev. Microbiol.** 13, 42–51.
- BOYS, M.L.; SCHRETZMAN, L.A.; CHANDRAKUMAR, N.S.; TOLLEFSON, M.B.; MOHLER, S.B.; DONS, V.L.; PENNING, T.D.; RUSSEL, M.A.; WENDT, J.A.; CHEN, B.B.; et al. 2006. Convergent, parallel synthesis of a series of b-substituted 1,2,4-oxadiazole butanoic acids as potent and selective avb3 receptor antagonists, **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 16 839e844.

- CHANDRA, J.; KUHN, D.M.; MUKHERJEE, P.K.; HOYER, L.L.; MCCORMICK, T.; GHANNOUM, M.A. 2001. Formação de biofilme pelo patógeno fúngico *Candida albicans*: desenvolvimento, arquitetura e resistência a medicamentos. **J Bacteriol** 183:5385–5394.
- CZOCK, D.; MARKERT, C.; HARTMAN, B.; KELLER, F. 2009. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobial drugs. **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.** 5, 475–487.
- CROFTS, T.S.; GASPARRINI, A.J.; DANTAS, G. 2017. Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. **Nat. Rev. Microbiol.** 15, 422–434.
- CARLSON, H.A.; SMITH, R.D.; DAMM-GANAMET, K.L.; STUCKEY, J.A.; AHMED, A., CONVERY, M.A.; SOMERS, D.O.; KRANZ, M.; ELKINS, P.A.; CUI, G.; PEISHOFF, C.E.; LAMBERT, M.H.; DUNBAR, J.B. 2016. CSAR 2014: A Benchmark Exercise Using Unpublished Data from Pharma, **J. Chem. Inf. Model.** 56 (6) (2016) 1063–1077.
- COHEN, M.L. 1992. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. **Science** 257, 1050-1055.
- CEYHAN, B.B.; KARAKURT, S. 2002. Effect of oxolamine on cough sensitivity in COPD patients. **Respir Med** 96(1):61–63.
- CLARK, D.E. 2006. What has computer-aided molecular design ever done for drug discovery? **Expert Opin Drug Discov.**; 1(2):103–110
- CUNHA, F.S.; DE AGUIAR, A.P. 2015. Síntese e Bioatividade de 1,2,4-Oxadiazóis. **Revista Virtual Química**, v. 7 (6), p. 2509-2530.
- COUPAR, I.M.; HEDGES, A.; METCALFE, H.L.; TURNER, P. 1969. Effect of aminophylline, butalamine and imolamine on human isolated smooth muscle. **J. Pharm. Pharmacol.**, 21, 474–475.
- CHENG, G.; DAI, M.; AHMED, S.; HAO, H.; WANG, X.; YUAN, Z. 2016. Antimicrobial drugs in fighting against antimicrobial resistance. **Front. Microbiol.** 7:470.
- CHARMSAZ, S.; COLLINS, D.M.; PERRY, A.S.; et al. 2019. Novel strategies for cancer treatment: highlights from the 55th IACR annual conference. **Cancers**; 11: 1125.

COOPER, G.M. 2000. A Célula: Uma Abordagem Molecular. 2a edição. Sunderland (MA): Sinauer Associates. O Desenvolvimento e as Causas do Câncer. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>>

CHEGAEV, K.; LAZZARATO, L.; TAMBOLI, Y.; BOSCHI, D.; BLANGETTI, M.; SCOZZAFAVA, A.; CARTA, F.; MASINI, E.; FRUTERO, R.; SUPURAN, C.T.; GASCO, A. 2014. **Bioorg. Med. Chem.** 22 3913.

CAO, X.; SUN, Z.; CAO, Y.; WANG, R.; CAI, T.; CHU, W.; HU, W.; YANG, Y. 2014. Design, synthesis, and structure—activity relationship studies of novel fused heterocycles-linked triazoles with good activity and water solubility. **J Med Chem.** 8;57(9):3687-706.

CHEN, Y.; YU, K.; TAN, N.Y.; QIU, R.H.; LIU, W.; LUO, N.L.; TONG, L.; AU, C.T.; LUO, Z.Q.; YIN, S.F. 2014. Synthesis, characterization and anti-proliferative activity of heterocyclic hypervalent organoantimony compounds **Eur. J. Med. Chem.**, 79, pp. 391-398.

CHEN, Y.; YU, K.; TAN, N.Y.; QIU, R.H.; LIU, W.; LUO, N.L.; TONG, L.; AU, C.T.; LUO, Z.Q.; YIN, S.F. 2014. Synthesis, characterization and anti-proliferative activity of heterocyclic hypervalent organoantimony compounds **Eur. J. Med. Chem.**, 79, pp. 391-398.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, M02-A11. 11. **Ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2012.

CHENG, Y.; HE, C.; WANG, M.; MA, X.; MO, F.; YANG, S.; HAN, J.; WEI, X. 2019. Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: Mechanisms and advances in clinical trials. **Signal Transduct. Target. Ther.**; 4:62.

CLEAVER, J.E. 1978. DNA repair and its coupling to DNA replication in eukaryotic cells. **Biochimica et biophysica Acta**, 516, 489-516.

CANUTO, M.M. & RODERO, F.G. 2002. Resistência a medicamentos antifúngicos a azolos e polienos. **Lancet Infecta Dis**2: 550–563.

CHEGAEV, K.; RIGANTI, C.; LAZZARATO, L.; ROLANDO, B.; GUGLIELMO, S.; CAMPIA, I.; FRUTERO, R.; BOSIA, A.; GASCO, A. 2011. **ACS Med. Chem. Lett.** 2 494.

DUAN, W.; LI, J.; INKS, E.S.; CHOU, C.J.; JIA, Y.; CHU, X.; LI, X.; XU, W.; ZHANG, Y. 2015. **J. Med. Chem.** 58 4325.

de OLIVEIRA, C.S.; LIRA, B.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; LORENZO, J.G.F.; de ATHAYDE-FILHO, P.F. 2012. Synthetic Approaches and Pharmacological Activity of 1,3,4-Oxadiazoles: A Review of the Literature from 2000–2012. **Molecules**, 17, 10192–10231.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13.

DIAB, R.T. et al. 2021. Design and synthesis of a new series of 3, 5-disubstituted-1, 2, 4-oxadiazoles as potential colchicine binding site inhibitors: antiproliferative activity, molecular docking, and SAR studies. **New Journal of Chemistry**, v. 45, n. 46, p. 21657-21669.

DIAMOND, L.; O'BRIEN, T.G.; BAIRD, W.M. 1980. Tumour Promoters and the Mechanism of Tumour Promotion. **Advances in Cancer Research**, 32, 1-74.

DÉ, E.; BASLÉ, A.; JAQUINOD, M.; SAINT, N.; MALLÉA M.; MOLLE, G.; PAGÈS, J.M. 2001. A New Mechanism of Antibiotic Resistance in Enterobacteriaceae Induced by a Structural Modification of the Major Porin. **Mol. Microbiol.**, 41, 189–198.

DIMASI, J.A.; HANSEN, R.W.; GRABOWSK, H.G. 2003. The price of innovation: new estimates of drug development costs. **J Health Econ** 22:151–185

DEVER, L.A.; DERMODY, T.S. 1991. Mechanisms of Bacterial Resistance to Antibiotics. **Arch. Intern. Med.** 151, 886–895.

DOYTCHINOVA, I. 2022. Drug design–past, present, future. **Molecules**, 27, 1496.

EKINS, S.; MESTRES, J.; TESTA, B. 2007. In silico pharmacology of drug discovery: methods of virtual ligand screening and profiling. **Br J Pharmacol** 152 (1):9–20

EL-SAWY, E.R.; MANDOUR, A.H.; EL-HALLOUTY, S.M.; SHAKER, K.H.; ABO-SALEM, H.M. 2013. Synthesis, antimicrobial and anticancer activities of some new N-methylsulphonyl and N-benzenesulphonyl- 3-indolyl heterocycles. 1st cancer update. **Arab. J. Chem.**, 6, pp. 67-78.

ESHAGHI, M.M. et al. 2023. Improving quercetin anticancer activity through a novel polyvinylpyrrolidone/polyvinyl alcohol/TiO₂ nanocomposite. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 81, p. 104304.

EL-SAWY, E.R.; EBAID, M.S.; ABO-SALEM, H.M.; AL-SEHEMI, A.G.; MANDOUR, A.H. 2013. Synthesis, anti-inflammatory, analgesic and anticonvulsant activities of some new 4,6-dimethoxy-5- (heterocycles)benzofuran starting from naturally occurring visnagin. **Arab. J. Chem.**, 7, pp. 914-923.

EL-SSAYED, W.A.; EL-ESSAWY, F.A.; ALI, O.M.; NASR, B.S.; ABDALLA, M.M.; ABDEL-RAHMAN, A.A.H. 2010. Anti-HIV Activity of New Substituted 1,3,4-Oxadiazole Derivatives and Their Acyclic Nucleoside Analogues. *Zeitschrift Naturforsch. Sect. C* **J. Biosci**, 64, 773–778.

EL-SALAM, N.M.A.; MOSTAFA, M.S.; AHMED, G.A.; ALOTHMAN, O.Y. 2013. Synthesis and antimicrobial activities of some new heterocyclic compounds based on 6-chloropyridazine-3 (2H) –thione **J. Chem.** pp. 1-8.

EL-SAYED, R.; ALMALKI, M.H.K. 2017. Síntese de Heterociclos de Cinco e Seis Membros Usando Nitrilos Ativados para Aplicações Industriais. **J. Oleo Sci.**;66(8):925–938

FERSHTAT, L.L.; MAKHOVA, N.N. 2020. 1,2,5-Oxadiazole-Based High-Energy-Density Materials: Synthesis and Performance. **ChemPlusChem**, 85, 13–42

FENG, D.D.; BIFTU, T.; CANDELORE, M.R.; CASCIERI, M.A.; COLLWEL, L.F.; DENG M L.; FEENEY, W.P.; FOORESTE, M.J.; HOM, G.J.; MACINTYRE, D.E.; et al. 2000. Discovery of an orally bioavailable alkyl oxadiazole b3 adrenergic receptor agonist, Bioorg. **Med. Chem. Lett.** 10,1427e1429.

FLECKENSTEIN, A.E.; KOPAJITIC, T.A.; BOJA, J.W.; CARROL, F.I.; KUJAR, M.J. 1996. Highly potent cocaine analogs cause long-lasting increases in locomotor activity, **Eur. J. Pharmacol.** 311, 109e114.

FLOREA, N.R.; MAGLIO, D.; NICOLAU, D.P. 2003. Pleconaril, a novel antipicornaviral agent. **Pharmacotherapy** 23(3):339–348.

FRIEDMAN, S.J.; SKEHAN, P. 1981. Malignancy and the Cell Surface. In *The Transformed Cell* (1. L. CAMERON & T. B. POOL, eds.) pp 67-133. **Academic Press**; New York, London, Toronto, Sydney and San Francisco.

FINCH, R.; et al. 2012. Antimicrobial chemotherapy, 6 edn. Oxford University Press
 Foo J, Choi N, Leder K, Mumenthaler S, Pao W, Michor F, Mallick P, Heise N (2015)
 The Impact of microenvironmental heterogeneity on the evolution of drug resistance in
 cancer cells. **Cancer Inf** 19.

FISHER, M.C.; HAWKINS, N.J.; SANGLARD, D.; GURR, S.J. 2018. Worldwide
 emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food
 security. **Science**, vol. 360, no. 6390, pp. 739-742.

FENU, L.A.L.R.; GOOD, A.C.; BODKIN, M.; ESSEX, J.W. 2007. Structure-based drug
 discovery. **Springer**, Dordrecht, p 24

FAWZY, A.; EL-SAYED, R.; AL-BAHIR, A.; MORAD, M.; ALTHAGAFI, I.;
 ALTHAGAFY, K. 2022. Avaliação de novos surfactantes projetados como inibidores
 ecológicos para a corrosão do aço em ambiente ácido e avaliação de suas
 características biológicas e superficiais: aspectos termodinâmicos, cinéticos e
 mecanicistas. **J. Aderindo. Sci. Tecnologia.**;36(18):1993–2019.

GAHMBERG, C.G. & ANDERSSON, L.C. 1982. Surface glycoproteins of malignant
 human leucocytes. **Biochimica et biophysica Acta**, 651, 65-83.

GUPTA, M.; SHARMA, R.; KUMAR, A. 2019. Comparative potential of simvastatin,
 Rosuvastatin and Fluvastatin against bacterial infection: an in silico and in vitro study.
Orient Pharm Exp Med. 1–17.

GLOMB, T.; SZYMANKIEWICZ, K.; ŚWIA TEK, P. 2018. Anti-Cancer Activity of
 Derivatives of 1,3,4-Oxadiazole. **Molecules** 2018, 23, 3361.

GULNAZ, A.R.; MOHAMMED, Y.H.E.; KHANUM, S.A. 2019. Design, Synthesis and
 Molecular Docking of Benzophenone Conjugated with Oxadiazole Sulphur Bridge
 Pyrazole Pharmacophores as Anti Inflammatory and Analgesic Agents. **Bioorg.
 Chem**.

GAMALETSOU, M.N.; WALSH, T.J.; SIPSAS, N.V. 2018. Invasive fungal infections in
 patients with hematological malignancies: emergence of resistant pathogens and new
 antifungal therapies. Turkish Journal of Haematology : **Official Journal of Turkish
 Society of Haematology**, vol. 35, no. 1, pp. 1-11.

- GEHRT, A.; PETER, J.; PIZZO, P.A.; WALSH, T.J. 1995. Efeito do aumento do tamanho do inóculo de fungos filamentosos patogênicos em MICs de agentes antifúngicos pelo método de microdiluição de caldo. **J Clin Microbiol** 33: 1302–1307.
- GENNARI, C.; CASTOLDI, D.; SHARON, O. 2007. Product with taxol-like tumor activity: approaches to eleutherobin and 10. dicytostatin. **Pure and Appl Chem.**; 79:173-80.
- GRANDER, D. 1998. How do mutated oncogenes and tumor suppressor genes cause cancer? **Med. Oncol.** 15, 20–26.
- GUNSTONE, F.D. 1996. Fatty Acid and Lipids Chemistry. **Springer New York**, NY. 1 Edition . ISBN 978-0-7514-0253-7., 252 pages.
- GAUR, M.; CHOUDHURY, D.; PRASAD, R. 2005. Inventário completo de proteínas ABC em levedura patogênica humana, *Candida albicans*. **J Mol Microb Biotech** 9: 3–15.
- GUEDES, I.A.; DE MAGALHÃES, C.S.; DARDENNE, L.E. 2014. Receptor-ligand molecular docking, **Biophysical Reviews.** 6: 75-85.
- GUN, S.Y.; LEE, S.W.L.; SIEOW, J.L.; WONG, S.C. 2019. Targeting immune cells for cancer therapy. **Redox Biol.**;25:101174
- GAVALAS, N.G.; LIONTOS, M.; TRACHANA, S.P.; et al. 2013. Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer. **Int J Mol Sci.**
- GUGLIELMO, S.; CORTESE, D.; VOTTERO, F.; ROLANDO, B.; KOMMER, V.P.; WILLIAMS, D.L.; FRUTTERO, R., GASCO, A. 2014. New praziquantel derivatives containing NO-donor furoxans and related furazans as active agents against *Schistosoma mansoni*. **Eur. J. Med. Chem.** 84 135.
- HOCHEGGER, H.; TAKEDA, S.; HUNT, T. 2008. Cyclin-dependent kinases and cell-cycle transitions: Does one fit all? **Nat Rev Mol Cell Biol.**
- HARRISON, M.; HOLEN, K.; LIU, G. 2009. Beyond taxanes: a review of novel agents that target mitotic tubulin and microtubules, kinases, and kinesins, **Clin. Adv. Hematol. Oncol.** 7 54e64.

HERMANN, J.C.; MARTI-ARBONA, R.; FEDOROV, A.A.; FEDOROV, E.; ALMO, S.C.; SHOICHET, B.K.; RAUSHEL, F.M. 2007. Structure-based activity prediction for an enzyme of unknown function. **Nature** 448(7155):775–779

HAMZÉ, A.; HERNANDEZ, J.F.; FULCRAND, P.; MARTINEZ, J. 2003. Synthesis of various 3- substituted 1,2,4-oxadiazole-containing chiral β - and α -amino acids from Fmoc-protected aspartic acid, **J. Org. Chem.** 68, 7316e7321.

HUANG, L.; JIANG, S.; SHI, Y. 2020. Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001–2020). **Journal of hematology & oncology**, v. 13, p. 1-23.

HE, T.; QI, F.; JIA, L.; et al. 2015. Tumor cell-secreted angiogenin induces angiogenic activity of endothelial cells by suppressing miR-542-3p. **Cancer Lett**;368:115-25.

HEFTI, F. F. 2008. Requirements for a lead compound to become a clinical candidate. **BMC Neurosci.** 9, S7.

HAYNES, K.M.; ABDALI, N.; JHAWAR, V.; ZGURSKAYA, H.I.; PARKS, J.M.; GREEN, A.T.; BAUDRY, J.; RYBENKOV, V.V.; SMITH, J.C.; WALKER, J.K. 2017. Identification and Structure–Activity Relationships of Novel Compounds that Potentiate the Activities of Antibiotics in Escherichia coli. **J. Med. Chem.** 60, 6205–6219.

HICKS, C. & GULICK, R.M. 2009. Raltegravir: the first HIV type 1 integrase inhibitor. **Clin Infect Dis** 48(7):931–939.

HAWKINS, P.C.D.; WARREN, G.L.; SKILLMAN, A.G.; NICHOLSS, A. 2008. How to do an evaluation: pitfalls and traps, **J. Comput. Aided Mol. Des.** 22 179–190, <https://doi.org/10.1007/s10822-007-9166-3>.

HASSANMOGHADAM, F.; SHOKOHI, T.; HEDAYATI, M.T.; ASLANI, N.; HAGHANI, I.; NABILI, M.; LOTFALI, E.; MOAZENI, M. 2019. High prevalence of itraconazole resistance among Candida parapsilosis isolated from Iran. **Current Medical Mycology**, vol. 5, no. 3, pp. 43-46.

HEMMING, K. 2008. 1,2,4-Oxadiazoles. in: R.K. Alan, A.R. Christopher, F.V.S. Eric, J.K.T. Richard (Eds.), Comprehensive Heterocyclic Chemistry III. **Elsevier**, Oxford, pp. 243e314.

HANWELL, M.D.; CURTIS, D.E.; LONIE, D.C.; VANDERMEERSCH, T.; ZUREK, E.; HUTCHISON, G.R.. 2017. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform, **J. Cheminform.** 4 (1) 17.

HYNDMAN, I. J. 2016. Review: the Contribution of both Nature and Nurture to= Carcinogenesis and Progression in Solid Tumours. **Cancer Microenvironment**, v. 9, n. 1, p. 63–69.

HUGHES, J.P.; REES, S.; KALINDJIAN, S.B.; PHILPOTT, K.L. 2011. Principles of early drug discovery. **Br. J. Pharmacol.**, 162, 1239–1249.

HUANG, S.Y.; GRINTER, S.Z.; ZOU, X. 2010. Scoring functions and their evaluation methods for protein–ligand docking: recent advances and future directions. **Phys Chem Chem Phys** PCCP 12(40):12899–12908.

HU, Y.; ZHANG, J.; KONG, W.; ZHAO, G.; YANG, M. 2007 . Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food Chem.** 220:1–8.

HSUEH, P.R. 2010. New Delhi metallo- β -lactamase-1 (NDM-1): an emerging threat among Enterobacteriaceae. **J Formos Med Assoc.**;109(10):685–687.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/introducao>>

IRBY, D.; DU, C.; LI, F. 2017. Lipid-Droga Conjugado para Melhorar a Entrega de Medicamentos. **Mol. Pharm.** ;14(5):1325–1338.

JOSEPH-MCCARTHY, D.; BABER, J.C.; FEYFANT, E.; THOMPSON, D.C.; HUNBLET, C. 2007. Lead optimization via high-throughput molecular docking. **Curr Opin Drug Discov Devel** 10(3):264–274

JORGENSEN, W.L. 2009. Efficient drug lead discovery and optimization. **Acc Chem Res** 42(6):724–733

JOIMEL, C.; SORIA, J.; et al. 2010. Stimulation of angiogenesis resulting from cooperation between macrophages and MDA-MB-231 breast cancer cells: Proposed molecular mechanism and effect of tetrathiomolybdate. **BMC Cancer**;10.

JOHNS, B.A.; WEATHERHEAD, J.G.; ALLEN, S.H.; THOMPSON, J.B.; GARVEY, E.P.; FOSTER, S.A.; JEFFREY, J.L.; MILLER, W.H. 2009. 1,3,4-Oxadiazole Substituted Naphthyridines as HIV-1 Integrase Inhibitors. Part 2: SAR of the C5 Position. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 19, 1807–1810.

JAMPILEK, J. 2019. Heterocycles in Medicinal Chemistry. **Molecules**, 24, 3839.

JÓZWIAK, M.; FILIPOWSKA, A.; FIORINO, F.; STRUGA, M. 2020. Atividades anticancerígenas dos ácidos graxos e seus derivados heterocíclicos. **Eur. J. Pharmacol.** 2020:172937.

JAYARAMAN, R. 2009. Antibiotic resistance: an overview of mechanisms and a paradigm shift. **Curr Sci India.**;96(11):1475–1484.

JARRELL, A.S.; KRUEER, R.M.; JOHNSON, D.; LIPSETT, P. A. 2015. Antimicrobial pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Surg. Infect.** 16, 375–379. 10.1089/sur.2014.180

JAYASHANKAR, B.; LOKANATH RAI, K.M.; BASKARAN, N.; SATISH, H.S. 2009. Synthesis and Pharmacological Evaluation of 1,3,4-Oxadiazole Bearing Bis(Heterocycle) Derivatives as Anti-Inflammatory and Analgesic Agents. **Eur. J. Med. Chem.**, 44, 3898–3902.

KIM, Y.K.; YU, J.; HAN, T.S.; et al. 2009. Functional links between clustered microRNAs: Suppression of cell-cycle inhibitors by microRNA clusters in gastric cancer. **Nucleic Acids Res.**

KOEPPEN, B.M. & STANTON, B.A. (eds): BERNE & ABBAS, Z.; REHMAN, S. 2018. An overview of cancer treatment modalities. **Neoplasms**; 1: 139–157.

KELLY, S.L.; LAMB, D.C.; CORRAN, A.J.; BALDWIN, B.C.; KELLY, D.E. 1995. Modo de ação e resistência aos antifúngicos azólicos associados à formação de 14 α -metilergosta-8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol. **Biochem Bioph Res Co**207: 910–91

KAUR, J.; SOTO-VELASQUEZ, M.; DING, Z.; GHANBARPOUR, A.; LILL, M.A.; van RIJN, R.M.; WATTS, V.J.; FLAHERTY, D.P. 2019. Optimization of a 1,3,4-Oxadiazole Series for Inhibition of Ca²⁺/Calmodulin-Stimulated Activity of Adenylyl Cyclases 1 and 8 for the Treatment of Chronic Pain. **Eur. J. Med. Chem**, 162, 568–585.

KNUDSON, A.G. 2001. Two genetic hits (more or less) to cancer. **Nature reviews. Cancer.**; 1:157-62.

KNETSCH, M.L.W.; KOOLE, L.H. 2011. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. **Polymers Basel.**;3:340–366.

KRASAVIN, M.; SHETNEV, A.; SHARANOVA, T.; BAYKOV, S.; KALININ, S.; NOCENTINI, A.; SHAROYKO, V.; POLI, G.; TUCCINARDI, T.; PRENUKHINA, S.;

TENNIKOVA, T.B.; SUPURAN, C.T. 2019. Continued exploration of 1,2,4-oxadiazole periphery for carbonic anhydrase-targeting primary arene sulfonamides: discovery of subnanomolar inhibitors of membrane-bound hCA IX isoform that selectively kill cancer cells in hypoxic environment. **Eur J Med Chem** 164:92–105.

KHANFAR, M.A.; HILL, R.A.; KADDOUMI, A.; EL SAYED, K.A. .2010. Discovery of novel GSK-3 β inhibitors with potent in vitro and in vivo activities and excellent brain permeability using combined ligand- and structure-based virtual screening. **J Med Chem** 53(24):8534–8545.

KASHID, A.M. et al. 2013. Synthesis, biological screening and ADME prediction of benzylindole derivatives as novel anti-HIV-1, anti-fungal and anti-bacterial agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 10, p. 4633-4640.

KAUR, S.; GURDEEP S.; KIRANDEEP K. 2014. Cancer stem cells: An insight and future perspective. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 10 p. 846-852.

KUROSAKA, K., TAKAHASHI, M., WATANABE, N. and

KOBAYASHI, Y., 2003. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. **Journal of Immunology** (Baltimore, Md.: 1950), vol. 171, no. 9, pp. 4672-4679.

KAUR, J. et al. 2022. Recent advances in developing polymeric micelles for treating cancer: Breakthroughs and bottlenecks in their clinical translation. **Drug Discovery Today**, v. 27, p. 1495–1512.

KHALILULLAH, H.J.; AHSAN, M.; HEDAITULLAH, M.; KHAN, S.; AHMED, B. 2012. 1,3,4-Oxadiazole: A Biologically Active Scaffold. **Mini-Rev. Med. Chem.**, 12, 789–801

KUMAR, D.; PATEL, G.; JOHNSON, E. O.; SHAH, K. 2009. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 19, 2739.

LAI, Y.; SHEN, L.; ZHANG, Z.; LIU, Q.; ZHANG, Y.; JI, H.; TIAN, J. 2010. Synthesis and biological evaluation of furoxan-based nitric oxide-releasing derivatives of glycyrrhetic acid as anti-hepatocellular carcinoma agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 20 6416.

LASS-FROL, C. 2009. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. **Mycoses**52: 197–205.

LI, X.; WANG, X.; XU, C.; HUANG, J.; WANG, C.; WANG, X.; HE, L.; LING, Y. 2015. **Med. Chem. Commun.** 6 1130.

LODISH, H.; BERK, A.; ZIPURSKY, L.; MATSUDAIRA, P.; BALTIMORE, D.; DARNELL, J. 1999. Cancer, in: LODISH, H.; BERK, A.; ZIPURSKY, L.; MATSUDAIRA, P.; BALTIMORE, D.; DARNELL, J. (Eds.), **Molecular Cell Biology**, W. H. Freeman and Company, New York, pp. 1054–1084.

LORIAN, V. 1986. Antibiotics in Laboratory Medicine. **Copyright**. 2ed.

LIAO, C.; NICKLAUS, M.C. 2010. Computer tools in the discovery of HIV-1 integrase inhibitors. **Future Med Chem.**;2(7):1123–1140

LI KHMELNITSKII, S.S.; NOVIKOV, T.I. 1996. Godovikova Khimiya Furoksanov. Stroenie i Sintez (The Chemistry of Furoxans. Structure and Synthesis) (**Moscow: Nauka**)

LI KHMELNITSKII, S.S.; NOVIKOV, T.I. 1996. Godovikova Khimiya Furoksanov. Reaktsii i Primenenie (The Chemistry of Furoxans. Reactions and Application) (**Moscow: Nauka**).

LEVY, S.B. 1992. Active Efflux Mechanisms for Antimicrobial Resistance. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 36, 695–703.

LINGAM, J. et al. 2023. Design, synthesis, anticancer evaluation and molecular docking studies of 1, 2, 4-oxadiazole incorporated indazole-isoxazole derivatives. **Synthetic Communications**, v. 54, n. 1, p. 66-76.

LAVUNURI, S.; NADH, R.V.; RAPETI, S.K. 2023. Anti-Proliferative, Anti-EGFR and In Silico Studies of a Series of New Imidazole Tethered 1, 2, 4-Oxadiazoles. **Polycyclic Aromatic Compounds**, p. 1-14.

LAMOTH, F.; LOCKHART, S.R.; BERKOW, E.L.; CALANDRA, T. 2018. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, vol. 73, suppl. 1, pp. i4-i13.

LLIKTI, H.; BENABDALLAH, T.; BENTAYEB, K. 2008. Othman A. A. Derrich Z. Redução de cetonas α,β -insaturadas usando um sistema Zn/NiCl₂ em meios aquosos na presença de surfactantes aniônicos e catiônicos. **S. Afr. J. Chem.** 2008;61:31–36.

MYERS, S.; BAKER, A. 2001. Drug discovery—an operating model for a new era. **Nat Biotechnol** 19:727–730

MUKESH, B.; RAKESH, K. 2011. Molecular docking: a review. **IJRAP**. 2: 1746-1751.

MANSOURI, A.E.; OUBELLA, A.; MEHDI, A.; et al. 2021. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of new 1,3,4-oxadiazole homonucleosides and their double-headed analogs as antitumor agents. **Bioorganic Chemistry**. Mar;108:104558.

MOSMANN, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 16, p. 55-63.

MARSHAM, P.R. et al. 1999. Design and synthesis of potent non-polyglutamatable quinazoline antifolate thymidylate synthase inhibitors. **J. Med. Chem.** 42, 3809–3820.

MAK, P.A.; S. RAO, S.P.; PING TAN, M.; LIN, X.; CHYBA, J.; TAY, J.; NG, S.H.; TAN, B.H.; CHERIAN, J.; DURAISWAMY, J.; BIFANI, P.; LIM, V.; LEE, B.H.; LING MA, N.; BEER, D.; THAYALAN, P.; KUHEN, K.; CHATTERJEE, C.; SUPEK, F.; GLYNNE, R.; ZHENG, J.; BOSHOF, H.I.; BARRY, C.E.; DICK, T.; PETHE, K.; CAMACHO, R.L. 2012. A high-throughput screen to identify inhibitors of ATP homeostasis in non-replicating Mycobacterium tuberculosis, **ACS Chem. Biol.**, 7, 1190–1197.

MCDONALD, C.M.; CAMPBELL, C.; TORRICELLI, R.E.; FINKEL, R.S.; FLANIGAN, K.M.; GOEMANS, N.; HEYDEMANN, P.; KAMINSKA, A.; KIRSCHENNER, J.; MUNTONI, F.; et al. 2017. Ataluren in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy (ACT DMD): A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. **Lancet**, 390, 1489–1498.

MITSUDOMI, T.; YATABE, Y. 2010. Epidermal Growth Factor Receptor in Relation to Tumor Development: EGFR Gene and Cancer: EGFR and Cancer. **FEBS J.**, 277, 301–308.

MONDAL, J.; PANIGRAHI, A.K.; KHUDA-BUKHSH, A.R. 2014. Conventional chemotherapy: problems and scope for combined therapies with certain herbal products and dietary supplements. **Austin J Mol Cell Biol**; 1: 10.

MACEDO, K.G.; DE MELO FILHO, C.C.; ANDRADE, C.H. 2013. Avaliação in silico da toxicidade de fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 10, n. 1, p. 1-1.

MOSES, M.A.; BREM, H.; LANGER, R. 2003. Advancing the field of drug delivery: taking aim at cancer. **Cancer Cell**; 4(5): 337–341.

MARICHAL, P.; KOYMANS, L.; WILLEMSSENS, S.; et al. 1999. Contribuição de mutações no citocromo P450 14 α -demetilase (Erg11p, Cyp51p) para a resistência azol em *Candida albicans*. **Microbiologia** 145: 2701–2713.

MUKHERJEE, S: 2010. The Emperor of All Maladies: A Biography of Cancer. **Scribner, a Division of Simon and Schuster**, Inc., New York.

MAXWELL, A. 1997. DNA Gyrase as a Drug Target. **Trends Microbiol.**, 5, 102–109.

MORKOUSS, S.S. 2020. Treatment with Ataluren for Duchene muscular dystrophy. **Pediatr Neurol Briefs** 34:12.

MOHS, R. C., AND GREIG, N. H. 2017. Drug discovery and development: Role of basic biological research. **Alzheimers Dement.** (NY) 3, 651–657.

MALUMBRES, M.; BARBACID, M. 2001. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer. **Nat Rev Cancer**.

NAZREEN, S.; ALAM, M.S.; HAMID, H.; YAR, M.S.; SHAFI, S.; DHULAP, A.; ALAM, P.; PASHA, M.A.Q.; BANO, S.; ALAM, M.M.; et al. 2014. Design, Synthesis, in Silico Molecular Docking and Biological Evaluation of Novel Oxadiazole Based Thiazolidine-2,4-Diones Bis-Heterocycles as PPAR- γ Agonists. **Eur. J. Med. Chem.**, 87, 175–185.

NEWMAN, H. 1968. Photochemistry of 3,5-diphenyl-1,2,4-oxadiazole II. Photolysis in protic media. **Tetrahedron Lett.**, 9, 2421–2424.

NEWMAN, H. 1968. Photochemistry of 3,5-diphenyl-1,2,4-oxadiazole I. Photolysis in aprotic media. **Tetrahedron Lett.**, 9, 2417–2420.

NORM, S.; KRUSE, P.R.; KRUSE, E. 2004. History of opium poppy and morphine, **Dan. Medicinhist.** Arbog, 33, 171–184.

NOORI, H.R.; SPANAGEL, R. 2013. In silico pharmacology: drug design and discovery's gate to the future. **In Silico Pharmacology**; 1(1): 1-2.

NEWMAN, D.J. & CRAGG, G.M. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products** 79: 629-661.

NGUYEN, M.T.; HEGARTY, A.F.; ELGUERO, J. 1985. Can 1,2,3-Oxadiazole be Stable? **Angew. Chem.** Int. Ed. Engl., 24, 713–715.

NACIONAL INSTITUTE CANCER. RISK FACTORS FOR CANCER. 2023.
<https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk>

OVER, U.; GUR, D.; UNAL, S.; MILLER, G.H.; 2001. Aminoglycoside Resistance Study Group. The Changing Nature of Aminoglycoside Resistance Mechanisms and Prevalence of Newly Recognized Resistance Mechanisms in Turkey. **Clin. Microbiol. Infect.**, 7, 470–478.

OPAS-OMS. 2023. **CANCER.** Disponível em:
[<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer#:~:text=O câncer é a segunda,de baixa e média renda.>](https://www.paho.org/pt/topicos/cancer#:~:text=O%20c%C3%A2ncer%20%C3%A9%20a%20segunda,de%20baixa%20e%20m%C3%A9dia%20renda.>)

PAGÈS, J.-M.; JAMES, C.E.; WINTERHALTER, M. 2008. The Porin and the Permeating Antibiotic: A Selective Diffusion Barrier in Gram- Negative Bacteria. **Nat. Rev. Microbiol.**, 6, 893–903.

PARRA, M.; HIDALGO, P.; ALDERETE, J. 2005. New supramolecular liquid crystals induced by hydrogen bonding between pyridyl-1,2,4-oxadiazole derivatives and 2,5-thiophene dicarboxylic acid. **Liq. Cryst.**, 32, 449–455.

POLOTHI, R. et al.2019. Synthesis and biological evaluation of 1, 2, 4-oxadiazole linked 1, 3, 4-oxadiazole derivatives as tubulin binding agents. **Synthetic Communications**, v. 49, n. 13, p. 1603-1612, 2019.

POYREL, L.; JAYOL, A.; NORRDMANN, P. 2017. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. **Clin. Microb. Rev.**, 30, 557–596.

POLAK, A. & SCHOLER, H.J. 1975. Modo de ação da 5-fluorocitosina e mecanismos de resistência. **Quimioterapia**21: 113–130.

PEARCE, S. 2017. The importance of heterocyclic compounds in anti- cancer drug design. **Int J Drug Discov** 18(2):66–70.

PINNER, A.; CARO, N. 1984. Ueber Die Einwirkung von Hydrazin Auf Imidoäther. *Berichte Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 27, 3273–3291.

POOLE, K.2002. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. **J Appl Microbiol.**;92(suppl):55–64.

PRASAD, R.; GAUR, N.A.; GAUR, M.; KOMATH, S.S. 2006. Bombas de efluxo na resistência a medicamentos de *Candida*. **Infectar Alvos de Drogas de Desordem**6: 69–83.

PATEL, K.D.; PRAJAPATI, S.M.; PANCHAL, S.N.; PATEL, H.D. 2014. Review of Synthesis of 1,3,4-Oxadiazole Derivatives. **Synth. Commun.**, 44, 1859–1875.

ROBBINS, S.L. & COTRAN, R.S. 1979. Neoplasia and Clinical Aspects of Neoplasia. **In The Pathologic Basis of Disease**. pp 141-212. W.B. Saunders & Co.; Philadelphia, London and Toronto.

RIVERA, M. C. A. 2012. 4NQO carcinogenesis: a model of oral squamous cell carcinoma. **International Journal of Morphology**, v. 30, p. 309-314.

RUFFOLO, P.R. 1964. The pathogenesis of necrosis. I. Correlated light and electron microscopic observations of the myocardial necrosis induced by the intravenous injection of papain. **Am J Pathol**, Nov 45(5):741-56.

RAI, G.; THOMAS, C.J.; LEISTER, W.; MALONEY, D.J. 2009. **Tetrahedron Lett.** 50 1710.

RANA, R.; SHARMA, R.; KUMAR, A. 2018. Repurposing of Existing Statin drugs for treatment of Microbial Infections: How much Promising? **Infect Disord Drug Targets**.

REINHARDT, L.C.; NASCENTE, P.S.; RIBEIRO, J.S.; GUIMARÃES, V.B.S.; ETGES, A.; LUND, R.G. 2020. Sensitivity to antifungals by *Candida* spp samples isolated from cases of chronic atrophic candidiasis (CAC). *Brazilian Journal of Biology* = **Revista Brasileira de Biologia**, vol. 80, no. 2, pp. 266-272.

RIPPHAUSEN, P.; NISIUS, B.; PELTASON, L.; BAJORATH, J. 2010. Quo Vadis, virtual screening? A comprehensive survey of prospective applications. **J Med Chem.** ;53(24):8461–8467.

RUDRAPAL, M.; CHETIA, D. 2020. Virtual screening, molecular docking and QSAR studies in drug discovery and development programme. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 10, n. 4, p. 225-233.

ROGNAN, D. 2017. The impact of in silico screening in the discovery of novel and safer drug candidates. **Pharmacology & therapeutics**; 1, 175: 47-66.

- ROSENBAUM, S.E. 2016. Basic pharmacokinetics and pharmacodynamics: An integrated textbook and computer simulations. 1. ed. **John Wiley & Sons**.
- RUPE, H.; LABHHARDT, H. 1900. Eine Neue Synthese von Phenyloxytriazolen. *Berichte Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 33, 233–246.
- ROBERTSON, M. 1983. What happens when cellular oncogenes collide with immunoglobulin genes? **Nature** (Lond.), 302, 474-475.
- ROTBART, H.A.; WEBSTER, A.D. 2001. Treatment of Potentially Life-Threatening Enterovirus Infections with Pleconaril. **Clin. Infect. Dis.**, 32, 228–235.
- SALPETER, S.R.; BUCKLEY, N.S.; ORMISTON, T.M.; et al. 2006. Meta-análise: Efeito de β -agonistas de longa duração em exacerbações graves da asma e mortes relacionadas à asma. **Anais de Medicina Interna** 144(12): 904–912.
- SHEREMETEV, A.B.; MAKHOVA, N.N.; FRIEDRICHSEN, W. 2001. Adv. Heterocycl. **Chem.** 78 65.
- SHEEHAN, D.J.; HITCHCOCK, C.A.; SIBLEY, C.M. 1999. Agentes antifúngicos azólicos atuais e emergentes. **Clin Microbiol Rev**12: 40–79.
- SKAGGS, B.A.; ALEXANDER, J.F.; PIERSON, C.A.; et al. 1996. Clonagem e caracterização do gene *Saccharomyces cerevisiae* C-22 sterol desaturase, codificando um segundo citocromo P-450 envolvido na biossíntese de ergosterol. **Gene**169:105–109.
- SMITH, A. 2002. Screening for drug discovery: The leading question. **Nature**, 418, 453–459.
- SUN, J.; ZHU, H.; YANG, Z.-M.; ZHU, H.-L. 2013. Synthesis, molecular modeling and biological evaluation of 2-aminomethyl-5-(quinolin-2-yl)-1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione quinolone derivatives as novel anticancer agent. **Eur. J. Med. Chem.** 60, 23–28
- STEWART, J.P.P. 2007. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements, **J. Mol. Model.** 13 1173–1213.
- SIDDIQUI, I. A. et al. 2015. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1348, n. 1, p. 20–31.

SAMALA, R. et al. 2023. One-Pot synthesis of some new phthalazine-piperazine-1, 2, 4-oxadiazole hybrids: anticancer evaluation, molecular docking and ADMET studies. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 43, n. 10, p. 9175-9192.

SAGAM, R.R. et al. 2021. In- vitro Anticancer and Molecular Docking Studies of 4-Azaindole- 1, 2, 4- Oxadiazole Hybrids. **ChemistrySelect**, v. 6, n. 30, p. 7670-7673.

SANGLARD, D. 2002. Resistência de patógenos fúngicos humanos a drogas antifúngicas. **Curr Opin Microbiol** 5: 379–385.

STEPANOV, A.I.; ASTRAT`EV, A.A.; SHEREMETEV, A.B.;LAGUTINA, N.V.; PALYSAEVA, N.V.; YU TYURIN, A.; ALEKSANDROVA N.S.; SADCHIKOVA, N.P.; YU SUPONITSKY, K.; ATAMANENKO, O.P.; KONYUSGKIN, L.D.; SEMENOV, R.V.; FIRGANG, S.I.; KISELYOV, A.S.; SEMENOVA, S.M.; SEMENOV, V.V. 2015. **Eur. J. Med. Chem.** 94 237.

ZHAO, J.; GOU, S.; SUN, Y.; FANG, L.; WANG, Z. 2012. *Inorg. Chem.* 51 10317.

STOLLÉ, R. 1899. Ueber Die Ueberführung Der Secundären Säurehydrazide in Derivate Des Furodiazols, Pyrrodiazols Und Thiodiazols. *Berichte Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 32, 797–798.

SALEM, M.S.; SAKR, S.I.; EL-SENOUSY, W.M.; MADKOUR, H.M.F. 2013. Synthesis, antibacterial, and antiviral evaluation of new heterocycles containing the pyridine moiety *Arch. Pharm. Weinh.*, 346, pp. 766-773.

SALAHUDINN.; MAZUMDER, A.; YAR, M.S.; MAZUMDER, R.; CHAKRABOORTHY, G.S.; AHSAN, M.J.; RAHMAN, M.U. 2017. Updates on synthesis and biological activities of 1,3,4-oxadiazole: **A review. Synth. Commun.**, 47, 1805–1847.

SCHNEIDER, T.; SAHL, H.-G. 2010. An Oldie but a Goodie—Cell Wall Biosynthesis as Antibiotic Target Pathway. **Int. J. Med. Microbiol.**, 300, 161–169.

SAVILL, J. & FADOK, V., 2000. Corpse clearance defines the meaning of cell death. **Nature**, vol. 407, no. 6805, pp. 784-788.

SPRATT, B.G. 1994. Resistance to Antibiotics Mediated by Target Alterations. *Science*, 264, 388–393.

SILVESTRINI, B.; CATANESE, B. 1964. Ricerche sul metabolismo del 5-beta-dietilamino-3-alfa-fenilpropil-1,2,4- oxadiazolo. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, 103, 447–450.

SWAAN, P.W.; EKINS, S. 2005. Reengineering the pharmaceutical industry by crash-testing molecules. **Drug Disc Today** 10: 1191–1200.

SUN, J.; DENG, Z.; YAN, A. 2014. Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 453, 254–267.

SILVESTRINI, B. 1960. Un antitosse-antinfiammatorio, l'Oxolamina (Perebron). **Minerva Medica**, 51, 4091–4094.

SCHIRRMACHER, V. 2017. Quo Vadis Cancer Therapy? Fascinating discoveries of the last 60 years. **Lambert Academic Publishing**, pp1-353.

SHAPIRA, A.; LIVNEY, Y.D.; BROXTERMAN, H.J.; et al. 2011. Nanomedicine for targeted cancer therapy: towards the overcoming of drug resistance. **Drug Resist Updat**; 14(3): 150–163.

SCHWAB, M.; ALITALO, K.; VARMUS, H.E.; BISHOP, J.M.; GEORGE, D. 1983. A cellular oncogenes (c-Ki-ras) is amplified, over-expressed and located within karyotypic abnormalities in mouse adrenocortical tumour cells. **Nature** (Lond.), 303, 497-501.

STODDART, R.W. 1979. Nuclear glycoconjugates and Their Relation to Malignancy. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, 54, 199-235.

SHETNEV, A.; BAYKOV, S.; KALININ, S.; BELOVA, A.; SHAROYKO, V.; ROZHKOV, A.; ZELENKOV, L.; TARASENKO, M.; SADYKOV, E.; KORSAKOV, M.; KRASAVIN, M. 2019. 1,2,4-Oxadiazole/2-imidazoline hybrids: multi-target-directed compounds for the treatment of infectious diseases and cancer. **Int J Mol Sci**.

SHIKARI, K.; YASUMOTO, S.; TOYAMA, N.; FUKUDA, H. 2021. Amenamevir, a helicase–primase inhibitor, for the optimal treatment of Herpes Zoster. **Viruses**.

SHYMA, C.P.; BALAKRISHNA, K.; PEETHAMBAR, K.S.; VIJESH, M.A. 2015. CSynthesis, Characterization, Antidiabetic and Antioxidant Activity of 1,3,4-Oxadiazole Derivatives Bearing 6-Methyl Pyridine Moiety. **Scholars Research Library Der Pharma Chemica**, 7, 137–145.

SAHIN, G.; PALASKA, E.; EKIZOGLU, M.; ÖZALP, M. 2002. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some 1,3,4-Oxadiazole Derivatives. **Farmaco**, 57, 539–542.

SINGH, P.; SHARMA, P.; SHARMA, J.; UPADHYAY, A.; KUMAR, N. 2012. Synthesis and Evaluation of Substituted Diphenyl-1,3,4-Oxadiazole Derivatives for Central Nervous System Depressant Activity. **Org. Med. Chem. Lett.**, 2, 8.

SALAZAR-ROA, M.; MALUMBRES, M. 2017. Fueling the Cell Division Cycle. **Trends Cell Biol.**

SEIFERT, M.H.; KRAUS, J.; KRAMER, B. 2007. Virtual high-throughput screening of molecular databases. **Curr Opin Drug Discov Devel** 10(3):298–307 .

SCHNEIDER, G. 2010. Virtual screening: an endless staircase? **Nat Rev Drug Discov** 9(4):273–276.

SHERWOOD, L.M.; PARRIS, E.E.; FOLKMAN, J. 1971. Tumor Angiogenesis: Therapeutic Implications. **N Engl J Med.**

SHAW, K.J.; RATHER, P.N.; HARE, R.S.; MILLER, G.H. 1993. Molecular Genetics of Aminoglycoside Resistance Genes and Familial Relationships of the Aminoglycoside Modifying Enzymes. **Microbiol. Rev.**, 57, 138–163.

TAO, L.; ZHANG, P.; QIN, C.; CHEN, S.Y.; ZHANG, C.; CHEN, Z.; ZHU, F.; YANG, S.Y.; WEI, Y.Q.; CHEN, Y.Z. 2015. Recent progresses in the exploration of machine learning methods as in-silico ADME prediction tools. **Advanced Drug Delivery Reviews**; 23, 86: 83- 100.

TEGOS, G.P.; HAYNES, M.; STROUSE, J.J.; KHAN, M.M.T.; BOLOGA, C.G.; OPREA, T.I.; SKLAR, L.A. 2011. Microbial Efflux Pump Inhibition: Tactics and Strategies. **Curr. Pharm. Des.**, 17, 1291–1302.

THOMPSON, G.R.; CADENA, J.; PATTERSON, T.F. 2009. Overview of antifungal agents. **Clin Chest Med** 30: 203–215.

TALELE, T.T.; KHEDKAR, S.A.; RIGBY, A.C. 2010. Successful applications of computer aided drug discovery: moving drugs from concept to the clinic. **Curr Top Med Chem.**; 10(1):127–141.

TARFAH, AL-W.; SABB, A.; ELKAEED, E.B.; ELDEHNA, W.M. 2020. Avanços recentes de agentes anticâncer à base de cumarina: Uma revisão atualizada. **Bioorg. Chem.**; 103:104163.

TAVARES, L.C. 2004. QSAR: a abordagem de Hansch. **Química Nova**, v. 27, p. 631-639.

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

TANTRAY, M.A.; KHAN, I.; HAMID, H.; ALAM, M.S.; DHULAP, A.; KALAM, A. 2018. Synthesis of Benzimidazole-Linked-1,3,4-Oxadiazole Carboxamides as GSK-3 β Inhibitors with in Vivo Antidepressant Activity. **Bioorg. Chem.** 2018, 77, 393–401.

UNADKAT, V. et al. 2021. Rational design-aided discovery of novel 1, 2, 4-oxadiazole derivatives as potential EGFR inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 114, p. 105124, 2021.

VAOU,N.;STAVROPOULOU,E.; VOIDAROU, C.; TSIGALOU, C.; BEZIRTZOGLU, E. 2021. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. **Microorganisms**, 9, 2041.

VILLOUTREIX, B., O. 2021. Post-pandemic drug discovery and development: Facing present and future challenges. **Front. Drug. Discov.** 1.

VARMUS, H. 2006. The new era in cancer research. **Science** 312, 1162–1165.

WHEELLOCK, E.F.; WINHOLD, K.J.; LEVICH, J. 1981. The Tumor Dormant State. **Advances in Cancer Research**, 34, 107-140.

WARREN, L.; BUCK, C.A.; TUSZYNSKI, G.P. 1978. Glycopeptide Changes and Malignant Transformation. A possible role for carbohydrate in malignant behaviour. **Biochimica et biophysica Acta**, 516, 97-127.

WALLACHA, D.F.H. 1969. Generalised membrane defects in cancer. **New England Journal of Medicine**, 280, 761-767.

WHC - whole health Chicago. 2023.
<https://wholehealthchicago.com/blog/2010/02/14/ephedra-ma-huang>

WALSH, F. 2013. Antibiotics resistance ‘as big a risk as terrorism’—**medical chief**.
<http://www.bbc.co.uk/news/health-21737844>

WORKMAN, P. 2005. Genomics and the second golden era of cancer drug development. **Mol. Biosyst.** 1, 17–26.

WALSH, C. 2003. Where Will New Antibiotics Come From? **Nat. Rev. Microbiol.**, 1, 65–70.

WANG, J.C.; LIN, J.H. 2013. Scoring functions for prediction of protein–ligand interactions. **Curr Pharm Design** 19(12):2174–2182

WHO (**WORLD HEALTH ORGANIZATION**). 2023. WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000–2011. Geneva: Department of Health Statistics and Information Systems; 2013.

WHO (**WORLD HEALTH ORGANIZATION**). 2001. WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance.

XIONG, H.; YANG, H.; LEI, C.; YANG, P.; HU, W.; CHENG, G. 2019. Combinations of furoxan and 1,2,4-oxadiazole for the generation of high performance energetic materials. **Dalton Trans.**, 48, 14705–14711.

YAN, T.; CHENG, G.; YANG, H. 2019. 1,2,4-Oxadiazole-Bridged Polynitropyrazole Energetic Materials with Enhanced Thermal Stability and Low Sensitivity. **ChemPlusChem** 2019, 84, 1567–1577.

YADAGIRI, B.; GURRALA, S.; BANTU, R.; NAGARAPU, L.; POLEPALLI, S.; SRUJANA, G.; JAIN, N. 2015. Synthesis and Evaluation of Benzosuberone Embedded with 1,3,4-Oxadiazole, 1,3,4-Thiadiazole and 1,2,4-Triazole Moieties as New Potential Anti Proliferative Agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 25, 2220–2224.

ZAREIAN, B. et al. 2016. Synthesis, molecular docking study, and cytotoxic activity of 3, 4-diaryl-5-(4-pyridinyl)-1, 2, 4-oxadiazole. **Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 394-401.

ZHAO, Y. H.; ABRAHAM, M. H.; LE, J.; HERSEY, A.; LUSCOMBE, C. N.; BECK, G.; SHERBORNE, B.; COOPER, I. 2002. Rate-limited steps of human oral absorption and QSAR studies. **Pharmaceutical research**, v. 19, n. 10, p. 1446-1457.

ZHENG, Q.-Z.; ZHANG, X.-M.; XU, Y.; CHENG, K.; JIAO, Q.-C.; ZHU, H.-L. 2010. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of 2-chloropyridine derivatives possessing 1,3,4-oxadiazole moiety as potential antitumor agents. **Bioorganic Med. Chem**, 18, 7836–784.

ZHANG, X.-M.; QIU, M.; SUN, J.; ZHANG, Y.-B.; YANG, Y.-S.; WANG, X.-L.; TANG, J.-F.; ZHU, H.-L. 2011. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies

of 1,3,4-oxadiazole derivatives possessing 1,4-benzodioxan moiety as potential anticancer agents. **Bioorganic Med. Chem.** 2011, 19, 6518–6524.

ZHANG, Y.-B.; WANG, X.-L.; LIU, W.; YANG, Y.-S.; TANG, J.-F.; ZHU, H.-L. 2012. Design, synthesis and biological evaluation of heterocyclic azoles derivatives containing pyrazine moiety as potential telomerase inhibitors. **Bioorganic Med. Chem.** 2012, 20, 6356–6365.